



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE BIOSURFACTANTES.

Ana Luisa Olivas-Tarango, José Carlos Espinoza-Hicks, Blanca Estela Rivera-Chavira, María de Lourdes Ballinas-Casarrubias, Gpe. Virginia Nevárez-Moorillón. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito Universitario Campus II Código Postal 31125, Chihuahua, Chih., Correo Electrónico vnevare@uach.mx

Palabras clave: biosurfactantes, bacterias, hidrocarburos.

Introducción. A lo largo de las últimas cuatro décadas, se han liberado millones de toneladas de contaminantes, atentando contra la salud pública y la sustentabilidad ambiental. La aplicación de biosurfactantes es una excelente alternativa, ya que auxilian en la recuperación de hábitats contaminados. Los biosurfactantes son componentes extra e intracelulares que aumentan el área superficial de los contaminantes hidrofóbicos en suelo o agua, aumentando así su solubilidad y consecuentemente su degradación microbiana (1). Es de gran importancia el aislar microorganismos diferentes a los reportados como productores de biosurfactantes, de sitios contaminados y de sitios no contaminados, utilizando diferentes estrategias de aislamiento.

Metodología. Se partió de la muestra de suelo proveniente de sitios contaminados con metales pesados, hidrocarburos y/o materia orgánica y de sitios sin contaminación. Se inoculó en Agar Soya Trypticaseína (TSA), Nutritivo (NA), Nutritivo en dilución (1:10) y Eosina y Azul de metileno (EMB), con pH de 5, 7 y 9, con temperaturas de 8 °C, 32 y 45 °C. También se utilizaron matraces con 108 mL de M9 con benzoato de sodio al 0.2% y celulosa al 1% a 30 °C 7 días. La metodología para búsqueda y caracterización bioquímica de cepas productoras de biosurfactante se realizó conforme a lo reportado en la bibliografía (2, 3). Se realizó la lectura de tensión superficial utilizando el método de anillo de duNouy y la lectura de formación de emulsiones para cada cepa seleccionada. (2)

Resultados. Se aislaron un total de 802 cepas, la mayoría proveniente de muestras contaminadas. Las mejores condiciones de aislamiento fueron el medio TSA con diferentes temperaturas y pHs (41.6%), seguido del medio mineral M9 adicionado con celulosa como fuente de carbono con un 5.86%, medio nutritivo (NA) a 8° C con un pH de 5 (5.23%), el medio EMB 32° C con un pH neutro obtuvo un 3.99% de aislamiento y finalmente medio nutritivo con dilución a 32° C a un pH 7 (2.86%) (Figura 1). Sólo el 22.19% de las cepas resultó positivo en la producción de biosurfactantes. La caracterización de las cepas correspondió a 2 *Micrococcus varians*, 3 Enterobacterias, 3 *Acinetobacter sp.*, 1 *Rhodococcus sp.*, 1 *Corynebacterium sp.*, 2 *Micrococcus sedentarius*, 2 *Micrococcus roseus* y 1 *Micrococcus kristinae*. El mejor resultado de tensión superficial obtenido fue por la cepa *Hafnia alvei* con un valor de 47 dinas/cm², seguida por

Acinetobacter sp. y *Micrococcus varians* con 48 y 49 dinas/cm² respectivamente; mostrando buenos resultados comparados con el control SDS que obtuvo 38 dinas/cm².

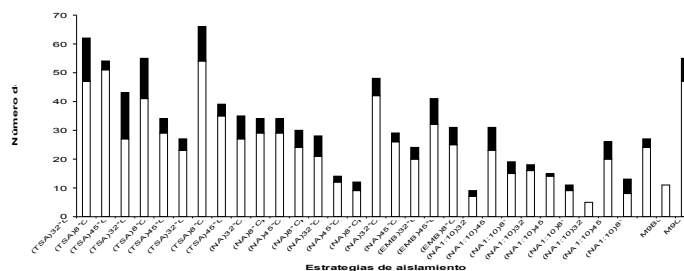


Fig. 1. Diferentes estrategias de aislamiento de bacterias productoras de biosurfactantes y número de cepas con capacidad de producir biosurfactantes en cada estrategia.

Los porcentajes de emulsión de todas las cepas analizadas demuestran que la emulsión formada por *Micrococcus kristinae* (60%) fue la más alta y estable de todas. Otra cepa perteneciente a este género, *Micrococcus varians* alcanzó un 61%.

Conclusiones. Los substratos de TSA a diferentes temperaturas y pH fueron las mejores condiciones de aislamiento así como la utilización de celulosa como fuente de carbono en medio mineral. Un 22.19% de las cepas aisladas produjo biosurfactantes. El 60% de las cepas seleccionadas fueron Gram positivas; los géneros que más comúnmente se encontraron fueron *Micrococcus*, *Rhodococcus* y *Enterobacter*. Las cepas pertenecientes al género *Micrococcus* muestran los mejores resultados en índice de emulsión (60-70%) y de reducción de la tensión superficial (48-61 dinas/cm²).

Bibliografía.

- Bodour A.A., Drees K.P., Maier R.M. Distribution of Biosurfactant-Producing Bacteria in Undisturbed and Contaminated Arid Southwestern Soils. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 3280-3287. 2003.
- Chen Ch. Y., Baker S.C., Darton R.C. The application of a high throughput analysis method for the screening of potential biosurfactants from natural sources. *Journal of Microbiological Methods*. 70: 503-510. 2007.
- Brenner D., Krieg N., Staley J. Manual Bergey. Second Edition. Vol 2. 1989.