

Sabina Viramontes Ramos, Martha Cristina Portillo Ruiz y Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón

# **Bacterias** que se nutren de hidrocarburos

La contaminación por los hidrocarburos es un gran problema ambiental. Su constitución química hace difícil su remoción, por lo que se han buscado nuevas formas de eliminarlos. Una de las más eficaces reside en la actividad de los microorganismos que convierten los hidrocarburos en dióxido de carbono y agua. Esto, gracias a moléculas de propiedades únicas: los biosurfactantes.

#### Contaminación por hidrocarburos y biorremediación

eguramente han escuchado acerca de los derrames de hidrocarburos en los océanos, o bien de la problemática que generan las refinerías y las gasolinerías al descargar combustibles en suelos o en cuerpos acuíferos. Estos compuestos han mostrado ser tóxicos, mutagénicos, carcinogénicos e inhibidores del crecimiento de los organismos; por si fuera poco, su constitución los hace recalcitrantes; es decir, se resisten a cualquier mecanismo de degradación, sea químico o biológico. Lo anterior ha dado como resultado una creciente atención al desarrollo de tecnologías innovadoras para enfrentar estos problemas.

Una forma de reducir los efectos causados por los hidrocarburos reside en la actividad de los microorganismos. Cuando éstos desarrollan su potencial metabólico completo, pueden usar dichos compuestos para crecer y reproducirse, al tiempo que producen dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O). Aunque pueda parecer increíble, esto es posible debido a que los hidrocarburos contienen carbono (C), hidrógeno (H), azufre (S), nitrógeno (N) y oxígeno (O), elementos necesarios para el desarrollo de cualquier organismo vivo. En términos técnicos, este proceso se conoce como restauración biológica o biorremediación.

Como el petróleo y sus derivados están constituidos por numerosos compuestos químicos, ningún microorganismo puede degradar por sí solo todos sus constituyentes, sino que necesita agruparse con otros y formar consorcios microbianos. Éstos tienen mayor poder biodegradativo porque su información genética es más completa. Además, se establece una compleja interacción entre las especies

#### Potencial metabólico

Capacidad de una célula para llevar a cabo los procesos bioquímicos que le permiten producir la energía y los materiales básicos necesarios para sus procesos vitales.



microbianas: algunas atacan a un compuesto y otras culminan su degradación, por lo que son más eficientes que los cultivos puros.

Inmiscible Incapacidad de ciertas sustancias para combinarse o mezclarse y formar una solución homogénea.

Los biólogos han aislado bacterias de suelos contaminados con petróleo y han observado que una especie, identificada como Pseudomonas aeruginosa, es capaz de crecer al utilizar petróleo como única fuente de carbono, aunque lo hace cada vez más lentamente. Esto se debe a que los microorganismos primero degradan las fracciones más sencillas del crudo (componentes de cadenas lineales y cortas) y después los compuestos más complejos (aromáticos, ramificados o con más de 20 carbonos).

ficie o interfaz entre dos fluidos inmiscibles; en este caso, el agua y los hidrocarburos del petróleo. Por esta razón también se llaman tensoactivos.

Uno de los principales géneros de bacterias degradadoras de hidrocarburos es Pseudomonas, carac-

Surfactante proviene del inglés surfactant (surface

active agent), que significa agente activo de la superficie. Este término hace referencia al hecho de que

dichas moléculas alteran las condiciones de la super-

# ¿Cómo actúan los microorganismos en la biorremediación?

En cualquier lugar, hay un número limitado de organismos. El estudio de la diversidad microbiana y de la dinámica de sus poblaciones está aumentando, lo cual ha permitido profundizar en el conocimiento de la composición de las comunidades en suelos contaminados, así como de su evolución en cuanto a los procesos de biodegradación. Con estos estudios podemos saber cuáles son los microorganismos capaces de adaptarse y crecer en sitios contaminados con hidrocarburos.

Se han sugerido varias líneas de investigación para el tratamiento biológico de los sitios contaminados por hidrocarburos del petróleo. En una de ellas se utilizan microorganismos, ya sean nativos del sitio o introducidos del'exterior, que pueden degradar los hidrocarburos de manera directa, o bien proveer moléculas con propiedades únicas que permiten que otras bacterias lleven a cabo la degradación. Estas moléculas son los surfactantes producidos por organismos vivos (biosurfactantes).



terizado por una versatilidad metabólica que otorga gran resistencia a los ambientes agresivos. En condiciones específicas, las bacterias Pseudomonas producen biosurfactantes del tipo glicolípidos (glicosignifica que contienen un azúcar, y lípido, una cadena hidrocarbonada). Específicamente, producen ramnolípidos (ramno- hace referencia a un azúcar de seis carbonos; su nombre proviene de la planta de la cual se aisló por primera vez: Rhamnus frangula), los cuales contienen una o dos unidades de ramnosa ligadas a una o dos cadenas de ácidos grasos de 8 a 12 átomos de carbono. Los ramnolípidos son quizá los biosurfactantes más estudiados, con más de 30 tipos diferentes conocidos hasta ahora.

## ¿Cómo trabajan los biosurfactantes?

Por lo general, dos fluidos no se pueden mezclar cuando tienen diferente grado de polaridad. Pensemos en el ejemplo más común: agua y aceite. Una molécula polar es aquella que tiene zonas con cargas eléctricas opuestas y que puede interactuar atractivamente con otras moléculas de su mismo tipo. Siguiendo con nuestro ejemplo, la molécula del agua tiene regiones cargadas positivamente (los átomos de hidrógeno) que sienten atracción por la región negativa de otras moléculas de agua (el átomo de oxígeno). Estas atracciones hacen que las moléculas de agua "se sientan cómodas" cuando están rodeadas por otras moléculas de agua. Por otro lado, las moléculas de aceite, al igual que las de otros hidrocarburos del petróleo, son moléculas no polares: poseen cadenas de carbonos e hidrógenos dispuestas de manera simétrica. Así pues, no es que existan fuerzas de repulsión entre una molécula de agua y una de aceite; simplemente, cada molécula "prefiere" estar entre otras semejantes a ella. ¡Recuerdan el antiguo adagio: "lo semejante disuelve a lo semejante"?

Tal como mencionamos, las moléculas de agua forman interacciones atractivas con sus vecinas. Estas interacciones son enlaces químicos débiles. Llevar una molécula del interior hacia la superficie implica "romper" algunos de estos enlaces débiles, lo que tiene un costo en energía. Pues bien, a la energía necesaria para romper estos enlaces y llevar a la superficie una determinada cantidad de moléculas se le conoce como tensión superficial, definida como la energía requerida para incrementar el área de la superficie de un líquido. Haciendo un análisis dimensional, también se puede expresar como la fuerza tangencial por unidad de longitud que tensa a la superficie. Imaginemos que, entre cuatro personas, sostenemos una sábana por los extremos y la tensamos para evitar que se deforme; mientras más tensión apliquemos, más difícil será deformarla (incluso es posible sostener un peso sobre la sábana y conservar su forma si aplicamos la tensión suficiente). El cociente de la fuerza que aplica cada persona entre la longitud de su lado es la tensión superficial de la sábana. Si la superficie en cuestión es la interfaz entre dos fluidos distintos, entonces se denomina tensión interfacial; su definición es igual, y esta tensión será menor mientras más afines (más miscibles) sean las moléculas de ambos fluidos y viceversa.

A diferencia de las sustancias polares y no polares que describimos anteriormente, los surfactantes son moléculas anfifilicas (anfi- significa a ambos lados, y fílico, afinidad por); es decir, tienen afinidad tanto por las moléculas polares como por las no polares, pues poseen grupos polares (hidrofílicos) y no polares (hidrofóbicos). Esto hace que dichas moléculas "se sientan muy cómodas" en la interfaz de ambos fluidos; sólo orientan su extremo polar hacia las moléculas de agua y la parte no polar hacia las moléculas de aceite. Cuando esto ocurre, la tensión superficial se reduce y a ello se debe el nombre de tensoactivos o surfactantes.





Micela

Formación geométrica de moléculas que tienen una cabeza polar (hacia el exterior) y una cola no polar (hacia el interior) adheridas a una partícula que se encuentra en un medio en el cual no es soluble.

Dina

Unidad de medida que se define como la fuerza que, aplicada a la masa de un gramo. le comunica una aceleración de un centímetro en un segundo al cuadrado.

En otras palabras, dado que todas las moléculas de agua "prefieren" estar en el seno del líquido (incluidas aquellas que están en la superficie), podemos pensar en la tensión superficial como una fuerza que tiende a arrastrar a las moléculas de la superficie del líquido hacia su interior. Sin embargo, cuando hay moléculas anfifilicas en la interfaz agua-aceite, las moléculas de agua pueden estar "cómodamente" en la superficie, puesto que se encuentran con el extremo polar del surfactante con el que tienen atracción, v no con las moléculas de aceite, con las que se repelen. Al disminuir la tensión interfacial, se reducen las fuerzas de repulsión entre fases disimilares, lo que permite su mezcla y su interacción.

La tensión superficial se mide en unidades de energía/área o, de manera equivalente, en unidades de fuerza/distancia. Así, la tensión superficial del agua pura es de 72 dinas/cm, que equivale a colgar una masa de 750 g a lo largo de 1 m de longitud (algo así como la fuerza que ejerce una toalla húmeda cuando se cuelga en un tendedero).

Cuando un surfactante se adiciona a los sistemas aire-agua o agua-aceite, se observa una reducción en el valor de la tensión superficial. En el caso del agua, este valor puede disminuir hasta 25 dinas/cm; es decir, menos de la mitad (como cuando la toalla ya se secó). En 1998, Adria Bodour y Raina Miller explicaron este fenómeno mediante un experimento llamado técnica de colapso de la gota: cuando se aplica una gota de agua sin surfactantes a una superficie aceitosa, forma una esfera, debido a que las moléculas del agua son repelidas de la superficie hidrofóbica; en contraste, si la gota de agua contiene surfactantes, la tensión interfacial entre la gota y la superficie se reduce, lo que resulta en la extensión de la gota de agua sobre la superficie aceitosa (véase la Figura 1).

La Figura 2 muestra cómo la tensión superficial varía con la concentración de surfactante. Conforme esta última se incrementa, la tensión superficial disminuye de 72 hasta 25-30 dinas/cm y el surfactante empieza a agregarse para formar micelas. Esto se conoce como concentración crítica de micelas (CMC) y ocurre cuando la interfaz se satura de moléculas de surfactante. Cuando estas moléculas ya no caben en la superficie, se agrupan de tal manera que las "colas" hidrofóbicas se unen entre sí y quedan expuestas las "cabezas" hidrofílicas. Estos agregados son recibidos favorablemente por las moléculas de

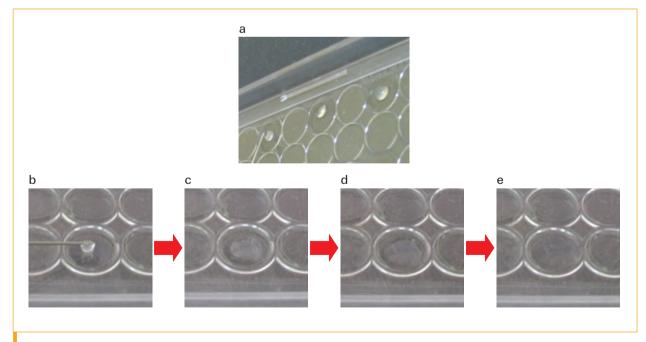


Figura 1. Resultados para la prueba de colapso de la gota: a) depósito de gotas de cultivo de bacterias no productoras de biosurfactantes en una placa aceitosa; b) depósito de Pseudomonas aeruginosa productora de biosurfactantes en la placa aceitosa; c)-d) extensión de la gota en el pozo, y el colapso total del cultivo en el pozo que contenía aceite (Viramontes y cols., 2010)

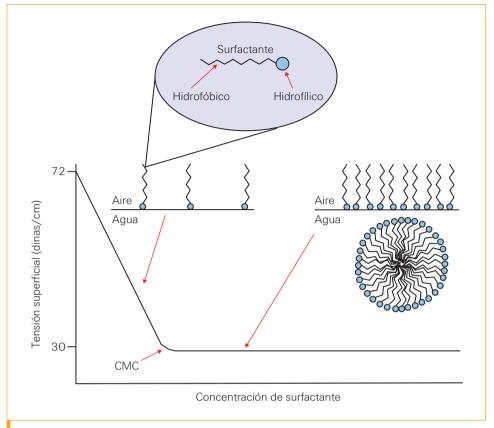


Figura 2. Gráfica que muestra la relación entre la tensión superficial, la concentración de surfactante y el comportamiento de las moléculas individuales de surfactantes a concentraciones inferiores y superiores a la concentración crítica de micelas (CMC) (Cassidy y cols., 2002).

agua, que les ofrecen su cara más "atractiva". Entre 50 y 100 monómeros de surfactante forman una micela. Las micelas formadas se acumulan en las interfaces y actúan como agentes humectantes. La capacidad del surfactante de reducir la tensión superficial está basada en este proceso dinámico.

A concentraciones por debajo de la CMC, los surfactantes parten la interfaz aire-agua para maximizar el contacto de la "cabeza" hidrofílica con el agua y minimizar el de la "cola" hidrofóbica. A concentraciones de surfactante por encima de la CMC, todos los sitios de la superficie están ocupados y los surfactantes empiezan a formar micelas, se acumulan compuestos hidrofóbicos dentro de éstas y dan lugar a microemulsiones. Una emulsión se forma cuando una fase líquida se dispersa como gotitas microscópicas en otra fase continua líquida. Cuando las bacterias están creciendo en la interfaz agua-aceite, la emulsificación incrementa el área superficial de las gotitas.

De esta manera, las bacterias pueden tener contacto directo con decenas de gotitas de aceite encapsuladas por el biosurfactante. En función de lo anterior, se ha sugerido que las bacterias son capaces de tomar el contaminante hidrocarbonado del centro micelar por fusión con la membrana celular, que está compuesta por una bicapa lipídica (véase la Figura 3).

## ¿Todos los biosurfactantes son iguales? ¿Cómo se producen?

Es razonable suponer que los diferentes grupos de biosurfactantes tienen distintas funciones en el proceso de crecimiento de los microorganismos que los producen; más aún, el producto depende del microorganismo involucrado, y muchos parecen producir mezclas complejas de biosurfactantes. Como sus estructuras químicas y sus propiedades de superficie son diferentes, es posible que un grupo

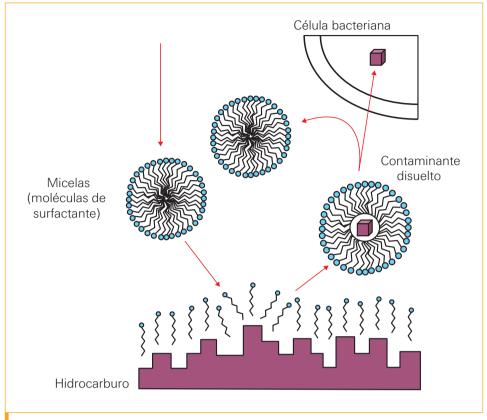


Figura 3. Posible mecanismo de asimilación de contaminantes hidrofóbicos mediados por surfactantes: la bacteria toma el contaminante de una micela (Schippers y cols., 2000).

de biosurfactantes tenga ventajas en un lugar específico, mientras que otro llegue a ser más apropiado en un lugar distinto, lo que vuelve difícil hacer generalizaciones con respecto a su función natural.

Los biosurfactantes pueden quedarse pegados a la célula (intracelulares), o bien pueden ser secretados (extracelulares). La cantidad y el rendimiento del biosurfactante liberado en relación con la cantidad del que queda unido a la célula dependen del sustrato, de las condiciones ambientales, de la etapa de crecimiento y de los parámetros del proceso, tales como aereación, temperatura y pH. En un inicio, se partió de la hipótesis de que la producción de biosurfactantes se debía a la presencia de sustratos hidrofóbicos en el medio de cultivo. Sin embargo, en los últimos trabajos de investigación se ha reportado que las fuentes de carbono solubles en agua también pueden usarse para producirlos, aun cuando sigue suponiéndose que los sustratos insolubles son más efectivos en la liberación de estos compuestos. Por lo tanto, una de las principales áreas de investigación de los biosurfactantes corresponde al uso de sustratos económicos para su producción. Por ejemplo, se han evaluado como materias primas sustancias como glucosa, sacarosa, melasas, licor de maíz, glicerol, parafina y aceites de soya, girasol y oliva, entre otros. Se encontró que Pseudomonas aeruginosa puede aprovechar todos éstos para crecer y producir ramnolípidos.

#### Conclusión

Los rápidos avances biotecnológicos han llevado a generar un interés considerable en el desarrollo de métodos biológicos para la producción de surfactantes a escala industrial. Debido a su aceptación ecológica, baja toxicidad, naturaleza biodegradable, diversidad, efectividad en condiciones extremas, producción en fuentes renovables y a partir de una gran variedad de microorganismos, los biosurfactantes están ganando terreno sobre los surfactantes químicos.

### Aereación

Proceso en el que se produce un contacto entre el aire y el agua con el objetivo de oxigenarla o de excluir gases o sustancias volátiles.

La producción de biosurfactantes por parte de microorganismos nativos de los ambientes contaminados con hidrocarburos los provee de ventajas en biorremediación, debido a que ellos pueden utilizar fuentes de carbono insolubles en agua para crecer. La identificación y selección de cepas microbianas con estas capacidades pueden llevar a la caracterización de sus biosurfactantes. Considerando que éstos tienen una gran variedad de estructuras moleculares, también se debe saber que sus propiedades químicas diferentes pueden ser explotadas comercialmente en las industrias alimentaria, petroquímica, cosmética y farmacéutica. Asimismo, en el sector ambiental, resultan ser prometedoras para la biorremediación y el tratamiento de aguas residuales con el fin de remover compuestos tóxicos y peligrosos.

#### **Sabina Viramontes Ramos**

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua.

sviramon@uach.mx

#### **Martha Cristina Portillo Ruiz**

Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua.

mportillo@uach.mx

#### **Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón**

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua.

vnevare@uach.mx

#### Referencias específicas

Barrios, Y. (2011), "Biorremediación: una herramienta para el saneamiento de ecosistemas marinos contaminados con petróleo", Biotecnología Aplicada, 28: 60-68. Disponible en <a href="http://scielo.sld.cu/scielo.php?">http://scielo.sld.cu/scielo.php?</a> script=sci arttext&pid=S1027-285220110002 00002>, consultado el 14 de febrero de 2020.

Cassidy, D. et al. (2002), "In situ rhamnolipid production at an abandoned petroleum refinery", Journal of Soil and Sediment Contamination, 11(5):769-787.

De la Rosa, N., E. Sánchez y M. Ortiz (2014), "Biosurfactantes y su papel en la biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas", Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal, 4(1):47-67. Disponible en <a href="https://www.researchgate.net/publica-">https://www.researchgate.net/publica-</a> tion/305848428 Biosurfactantes y su papel en la biorremediacion\_de\_suelos\_contaminados\_con\_plaguicidas>, consultado el 20 de febrero de 2020.

León, M., A. Contreras y J. Ramos (2016), "Biosurfactantes en la industria petrolera", Semilleros, 2(1): 48-59. Disponible en <a href="https://core.ac.uk/download/pdf/">https://core.ac.uk/download/pdf/</a> 155272480.pdf>, consultado el 14 de febrero de 2020.

López, J. et al. (2006), "Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo", Nova, 4(5):82-90. Disponible en <a href="http://hemeroteca.">http://hemeroteca.</a> unad.edu.co/index.php/nova/article/view/351/1203>, consultado el 14 de febrero de 2020.

Pérez, R. et al. (2008), "Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo",

Revista CENIC Ciencias Biológicas, 39(1):44-51. Dis-181214889004>, consultado el 14 de febrero de 2020.

Quintana, R. y L. Valerio (2013), "Pseudomonas: bacterias con potencial para degradar petróleo", EcoCria, 5(2): 3-5. Disponible en <a href="https://www.researchgate.net/">https://www.researchgate.net/</a> profile/Rafael\_Quintana4/publication/305983299\_ Pseudomonas Bacterias con potencial para degradar\_petroleo/links/57a7e95508aee07544c1fe11/ Pseudomonas-Bacterias-con-potencial-para-degradar-petroleo.pdf>, consultado el 14 de febrero de 2020.

Raiger, L. y N. López (2009), "Los biosurfactantes y la industria petrolera", Química Viva, 3(8):146-161. Disponible <a href="https://www.redalyc.org/pdf/863/86320633002">https://www.redalyc.org/pdf/863/86320633002</a>. pdf>, consultado el 20 de febrero de 2020.

Ron, E. y E. Rosenberg (2001), "Natural roles of biosurfactants", Environmental Microbiology, 3(4):229-236.

Schippers, C., K. Gebner, T. Müller y T. Scheper (2000), "Microbial degradation of phenanthrene by addition of a sophorolipid mixture", Journal of Biotechnology, 83:189-198.

Toribio, J. et al. (2014), "Pseudomonas sp productoras de biosurfactantes", Tlamati Sabiduría, 5(2):66-82. Disponible en <a href="http://tlamati.uagro.mx/t52/t529.pdf">http://tlamati.uagro.mx/t52/t529.pdf</a>, consultado el 14 de febrero de 2020.

Viramontes, S. et al. (2010), "Selection of biosurfactant/ bioemulsifier – producing bacteria from hydrocarbon - contaminated soil", Brazilian Journal of Microbiology, 41:668-675.