

**BIOSURFACTANTES EN PROCESOS DE BIODEGRADACIÓN DE
HIDROCARBUROS**

**RUTH YESENIA QUIROGA MATEUS
NATHALIA ANDREA TELLEZ ANAYA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2015

**BIOSURFACTANTES EN PROCESOS DE BIODEGRADACIÓN DE
HIDROCARBUROS**

**RUTH YESENIA QUIROGA MATEUS
NATHALIA ANDREA TELLEZ ANAYA**

Trabajo de Grado para optar al título de
Especialista en Química Ambiental

Director:

MARIANNY YAJAIRA COMBARIZA MONTAÑEZ PhD

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2015

Dedicado a

 Mi ángel guardián, mi padre Gilberto Téllez.
 Mi madre Martha Anaya por su infinito amor y comprensión.
 A mi hermano Gilberto por ser un apoyo incondicional.
 A Johanna, por ser la mejor hermana y amiga.
Y a mi hermano Mario, que es la luz, amor y fuerza de mi familia.

Nathalia A Téllez Anaya

Dedicado a

 Dios, por bendecirme con sabiduría e inteligencia.
 Mis padres, por su amor y apoyo ilimitado.
 Mis hermanos a quienes amo y son mi ejemplo de lucha.
 JJGF por su ayuda, amor y paciencia.
Amigos y compañeros por enseñarme el valor de la amistad.

Ruth Y Quiroga Mateus

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	14
1. NATURALEZA DE LOS BIOSURFACTANTES	17
1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS BIOSURFACTANTES	21
1.1.1. Biosurfactantes según su carga.....	21
1.1.2 Biosurfactantes según su composición química.	23
1.1.3. Biosurfactantes según su peso molecular.....	24
1.1.4 Biosurfactantes según su origen microbiológico.	27
1.2 PROCESOS DE BIODEGRADACIÓN CON GLICOLÍPIDOS.....	31
1.2.1 Propiedades Fisicoquímicas de los Glicolípidos	33
1.2.2 Trehalolípidos.	34
1.2.3 Soforolípidos.	35
1.2.4 Ramnolípidos.	36
2. CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS.....	56

LISTAS DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Fuentes de carbono para la producción de BSs	30
Tabla 2. Características generales de los Biosurfactantes de Glicolípidos	32

LISTAS DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Representación de la Estructura química de un BS	20
Figura 2. Esquema del comportamiento del BS según su concentración.	21
Figura 3. Representación esquemática de BSs.....	22
Figura 4. Estructura de la Surfactina.....	24
Figura 5. Estructuras químicas generales de los glicolípidos microbianos	26
Figura 6. Estructura química del Liposán.....	29
Figura 7. Procedimientos de biodegradación de hidrocarburos.	34
Figura 8. Estructura química <i>Trehalolípidos</i>	35
Figura 9. Estructura química <i>Soforolípidos</i> : a) S. lactónicos – b) S. ácido.....	36
Figura 10. Estructura química de los Ramnolípidos: a). monoramnolípido b) diramnolípido	37
Figura 11. Síntesis de un <i>Ramnolípidos</i> (BS) para degradación metabólica de un hidrocarburo.....	43

LISTAS DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Características de los grupos hidrofóbicos e hidrofílicos	56
ANEXO B. Tipos de Micelas en una solución bicomponente.....	57
ANEXO C. Clasificación de Biosurfactantes.	58
ANEXO D.. Representación esquemática de la formación de micelas según el HLB.....	59

LISTAS DE ABREVIATURAS

CMC: Concentración Micelar Crítica

OAc: O - acetilado

S.: *Soforolípidos*

HLB: Equilibrio Hidrófilo-Lipófilo

BS: Biosurfactante

BSs: Surfactantes naturales

RESUMEN

TITULO: BIOSURFACTANTES EN PROCESOS DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS.*

AUTORES: RUTH YESENIA QUIROGA MATEUS, NATHALIA ANDREA TELLEZ ANAYA. **

PALABRAS CLAVE: BIOSURFACTANTES, BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS, PSEUDOMONAS AERUGINOSA, RAMNOLÍPIDOS, TENSIÓN SUPERFICIAL.

DESCRIPCION:

Entre las técnicas actuales de recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos empleadas en la industria del petróleo, se destaca el uso de microorganismos. Sin embargo la eficiencia de esta técnica, depende fuertemente de la capacidad de asimilación del hidrocarburo contaminante por parte del microorganismo. Los surfactantes tienen la capacidad de dispersar moléculas orgánicas hidrofobicas haciéndolas solubles y fácilmente asimilables por microorganismos. Es bien sabido que el uso de surfactantes de origen natural o sintético, incrementa dramáticamente la eficiencia en los procesos de biorremediación. En la actualidad los surfactantes extraídos a partir de fuentes naturales están siendo usados en procesos de biorremediación, debido a sus propiedades interfaciales y a sus características de inocuidad hacia el medio ambiente.

Considerando que las aplicaciones de los Biosurfactantes están ligadas directamente a su origen biosintético; en este documento se consigna el análisis de la información científica relacionada con estas moléculas en términos de clasificación general, origen y usos en procesos de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Para lograr esta meta se utilizaron bases de datos, referenciales, artículos, tesis, libros y documentos disponibles para consulta en la biblioteca de la Universidad Industrial de Santander. La información recopilada fue organizada y analizada para producir el presente documento de consulta, que puede ser utilizado como referencia para futuros trabajos sobre el tema.

* Trabajo de Grado.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Marianny Yajaira Combariza. Química PhD

ABSTRACT

TITLE: BIOSURFACTANTS IN HYDROCARBON BIODEGRADATION PROCESSES.*

AUTHORS: RUTH YESENIA QUIROGA MATEUS, NATHALIA ANDREA TELLEZ ANAYA.**

KEYWORDS: BIOSURFACTANTS, HYDROCARBON BIODEGRADATION, PSEUDOMONAS AERUGINOSA, RHAMNOLIPIDS, SURFACE TENSION.

DESCRIPTION:

Between current recovery techniques soils contaminated with hydrocarbons used in petroleum industry, the use of microorganisms stands out. However the efficiency of this technique depends strongly on the assimilative capacity of the hydrocarbon contaminant by the microorganisms. Surfactants have the ability to disperse hydrophobic organic molecules making them soluble and easily assimilated by microorganisms. It is well known that the use of surfactants of natural or synthetic origin, dramatically increases efficiency in bioremediation processes. Surfactants currently extracted from natural sources are being used in bioremediation processes, because of its interfacial properties and safety characteristics for the environment.

Whereas the applications of biosurfactants are directly linked to their biosynthetic origin; this document contains the analysis of the scientific information relating to these molecules in terms of overall classification, origin and use in the process of remediation of soils contaminated with hydrocarbons. To achieve this goal reference databases, articles, theses, books and documents available for consultation at the library of the Industrial University of Santander were used. The information collected was organized and analyzed to produce the present consultation document, which can be used as a reference for future work on the topic

::

* Bachelor Thesis

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Marianny Yajaira Combariza. Química PhD

INTRODUCCIÓN

Muchas actividades antropogénicas, especialmente las relacionadas con sistemas productivos traen como resultado problemas de contaminación que tienen efectos adversos en la biota y afectan el equilibrio de los ecosistemas. Como respuesta tecnológica a estos problemas surgen métodos químicos, físicos, biológicos o sus combinaciones, encaminados a degradar contaminantes y a recuperar recursos naturales y ecosistemas.

Grandes desastres ambientales a nivel mundial han tenido como protagonistas a las compañías petroleras que intencional o accidentalmente derraman hidrocarburos en aguas y suelos. El impacto negativo de estos vertimientos promueve el interés en desarrollar métodos de detección, seguimiento y descontaminación de estos recursos (Mulligan, 2005). Según Wilkinson et al., (2002) las fugas y los desagües durante la entrega y procesamiento de crudo son inevitables en la actividad petrolera, alcanzando hasta un 57% del total de la contaminación encontrada en el suelo. La contaminación de suelos por hidrocarburos presenta adicionalmente riesgos como explosión, toxicidad, muerte de especies y afectación a ecosistemas. En términos de toxicidad, la presencia de hidrocarburos en suelos es tan grave que afecta directamente los tejidos y membranas celulares en las plantas provocando alteraciones en el metabolismo que inhiben el crecimiento e interrumpen los procesos de respiración y transpiración (Valdez, 2011). Por estas razones a nivel global se considera que este tipo de contaminación tiene los mayores impactos negativos al medio ambiente (Wilkinson et al., 2002).

Una de las técnicas más innovadoras en procesos de remediación ambiental se relaciona con el uso de microorganismos para la descomposición de

contaminantes orgánicos (hidrocarburos de petróleo, pesticidas, plastificantes, solventes clorados, etc.) e inorgánicos (metales, complejos e iones). En el caso en particular de los contaminantes orgánicos provenientes de derrames de crudo (hidrocarburos hidrofóbicos alifáticos y aromáticos), sus características fisicoquímicas promueven su adsorción irreversible en suelos lo cual limita su disponibilidad al ataque microbiano (Knaebel et al., 1994). Para facilitar la disponibilidad de moléculas hidrofóbicas al ataque de microorganismos se utilizan surfactantes, capaces de formar estructuras micelares (Ron et al., 2002).

Existen numerosas aproximaciones para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos, las más comunes utilizan surfactantes sintéticos para lavar los suelos, pero existe una clara preocupación sobre los impactos de estas sustancias al medio ambiente y a los organismos vivos. Los surfactantes naturales constituyen por consiguiente una alternativa viable para reemplazar los compuestos sintéticos ya que sus propiedades fisicoquímicas son muy similares. Adicionalmente su naturaleza biodegradable, baja toxicidad, solubilidad y eficiencia en la degradación de los residuos procedentes de la industria del petróleo los hace superiores a los sintéticos (Ishigami, 2003).

Los Biosurfactantes no son novedosos pues forman parte de las estrategias de sobrevivencia de los microorganismos, permitiendo en el desarrollo celular la formación de biopelículas y la adaptación a condiciones de vida difíciles (Saini et al., 2008). Los surfactantes también intervienen en los procesos de asimilación de fuentes de carbono utilizadas como alimento por los microorganismos. Por ejemplo cuando la fuente de carbono es un sustrato insoluble, como un hidrocarburo alifático o aromático, los Biosurfactantes facilitan su difusión a la célula mediante alteraciones de la membrana celular (Biosurfactantes intracelulares) o por emulsificación del medio (Biosurfactantes extracelulares) (Healy et al., 1997; Mulligan, 2005). Según Ron et al. (2002) la producción de BSs está asociada con la capacidad de los microorganismos de utilizar los

hidrocarburos como sustratos. Sin embargo, muchos investigadores consideran que los microorganismos degradadores de contaminantes hidrofóbicos, son capaces de utilizar surfactantes naturales producidos por otras especies para biodegradar los contaminantes hidrofóbicos.

Considerando la importancia de estos compuestos en los procesos de biorremediación de hidrocarburos, esta monografía se enfoca en el análisis detallado de la literatura científica relacionada con Biosurfactantes y sus aplicaciones medioambientales. La búsqueda de información se concentró en el origen y los usos de Biosurfactantes como agentes dispersantes en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. El documento contiene información sobre los tipos de surfactantes naturales, de acuerdo con su origen biológico, y su importancia como dispersantes en procesos de recuperación de residuos de hidrocarburos en suelos.

1. NATURALEZA DE LOS BIOSURFACTANTES

En la actualidad, la degradación de aceites o hidrocarburos se lleva cabo mediante el uso de algunas especies de microorganismos. El empleo de microorganismos en la industria de petróleo, se ha venido impulsando y ha despertado el interés por técnicas de remediación amigables al medio ambiente que disminuyan el impacto y deterioro ambiental.

Las técnicas de recuperación de zonas afectadas por la contaminación de la industria petroquímica donde se hace uso de especies de microorganismos han ido disminuyendo a nivel industrial, el uso de surfactantes de tipo sintético como único medio de degradación, recuperación y disminución de daños ambientales del sector petrolero.

En el proceso de obtención de crudo se estiman pérdidas de 0,08 a 0,46% del total de la producción, este hidrocarburo termina convirtiéndose en uno de los principales contaminantes de aguas y suelos (Bognolo, 1999). Estos compuestos también pueden contaminar y acumularse tanto en suelos como en cuerpos de agua, siendo los ecosistemas acuáticos los más sensibles a este tipo de contaminación (Krepsky et al., 2007). Algunos compuestos presentes en el hidrocarburo pueden causar graves daños a los ecosistemas terrestres, como por ejemplo alterando la información genética de un organismo, lo que provoca la formación de tumores en los tejidos vivos y causa la muerte del individuo. Por estas razones la industria petrolera utiliza procesos químicos, físicos, biológicos o sus combinaciones, para degradar contaminantes y a recuperar recursos naturales y ecosistemas. Dentro de los procesos biológicos se destaca la biorremediación que utiliza microorganismos con la capacidad de metabolizar contaminantes ambientales como los hidrocarburos. Sin embargo la eficiencia de la técnica

depende en gran medida en la asimilación del hidrocarburo por el microorganismo, lo cual se logra mediante la adición de surfactantes (naturales o sintéticos) al medio de reacción.

En la actualidad los surfactantes naturales (BSs) se utilizan ampliamente debido a sus propiedades interfaciales, comparables a las de los sintéticos, y a sus características de inocuidad hacia el medio ambiente. Estas moléculas, con capacidad para alterar propiedades interfaciales, pueden ser biosintetizadas por seres vivos. Existe gran interés en los surfactantes derivados de microorganismos porque en muchos casos los organismos con capacidad de metabolizar hidrocarburos también producen BSs para facilitar su asimilación. El interés en microorganismos que puedan usar hidrocarburos provenientes del petróleo como fuente de carbono data de la década de los 50's del siglo XX, según Wilkinson et al., (2002), cuando se reportaron por primera vez casos de bloqueo en las líneas de suministro del combustible en aviones por presencia de biomasa microbiana. Estudios posteriores confirmaron que la especie de hongo filamentoso (*Cladosporium*) y varios tipos de bacterias eran capaces de asimilar los hidrocarburos presentes en los depósitos de combustible de los aviones (Wilkinson et al., 2002).

Los BSs son moléculas anfifílicas producidas por microorganismos que tienden a reducir la tensión superficial e interfacial de las soluciones, así como, a formar emulsiones (Shavandi et al., 2011; Freitas et al., 2009). Contienen un segmento liposoluble (soluble en aceite) y otro hidrosoluble (soluble en agua o disolventes polares). La solubilidad parcial tanto en agua como en aceite permite al surfactante ocupar la interface. Los BSs son producidos, intra o extracelularmente, por bacterias, hongos y levaduras durante su crecimiento en diversos sustratos; De ahí sus variadas y complejas características fisicoquímicas y estructurales (Shavandi et al., 2011; Mukherjee et al., 2006). Los BSs forman parte de las estrategias de sobrevivencia de los microorganismos, pues intervienen en el

desarrollo celular, formar biopelículas que les permiten sobrevivir en condiciones adversas (Saini et al., 2008). Los microorganismos sintetizan al Biosurfactante (BS) cuando la fuente de carbono es parcialmente soluble o insoluble en agua, de esta manera son forzados a sintetizar moléculas con propiedades tensioactivas que favorezcan la bioasimilación de los sustratos insolubles (Supaphol et al., 2011).

Una gran cantidad de microorganismos productores de BSs, han sido aplicados en procesos de biorremediación de sitios contaminados con metales pesados, plaguicidas organofosforados, hidrocarburos totales del petróleo y aceites sintéticos, ya que los BSs incrementan su biodisponibilidad y biodegradabilidad (Banat et al., 2000; Yañez et al., 2011). De acuerdo con Pacwa-Plociniczak et al. (2011) y Bognolo (1999) las ventajas más importantes de los BSs sobre sus análogos sintéticos son su baja toxicidad y alta biodegradabilidad, lo que los clasifica como amigables con el medio ambiente.

Todos los BSs constan de dos partes: una polar (hidrófila) con afinidad por el agua y una no polar (hidrofóbica) (Figura 1). La parte hidrofóbica de los BSs suele estar formada por ácidos grasos de cadenas largas, hidroxiácidos grasos o α -alkil- α -hidroxiácidos grasos. En contraparte la porción hidrofílica de la molécula puede ser un carbohidrato, aminoácido, péptido cíclico, fosfato, ácido carboxílico o alcohol. Las características de los grupos que representan estas partes en el BS se presenta en el Anexo A.

La Concentración Micelar Crítica (CMC) de estos compuestos generalmente oscila entre 1 y 200 mg/L y sus masas moleculares entre 500 a 1500 Da (Mulligan and Gibbs, 2004). Un rasgo característico de BSs es el balance hidrofílico/lipofílico (HLB *Hydrophilic/Lipophylic Balance*) que especifica la porción de los componentes hidrófilos e hidrófobos en sustancias tensioactivas (Lang, 2002).

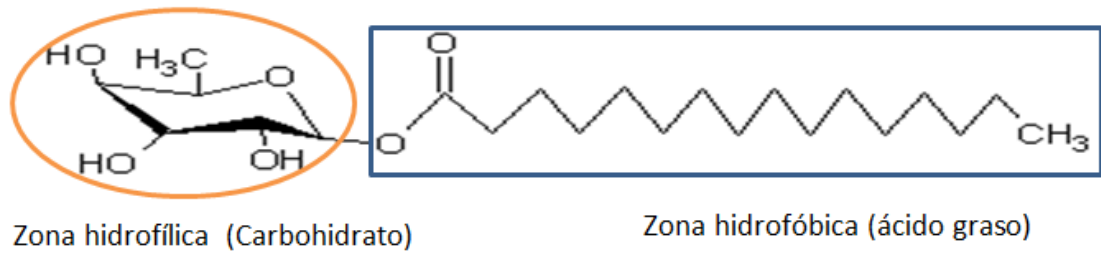


Figura 1. Representación de la Estructura química de un BS

Fuente: Autoras.

Los BSs más activos pueden reducir la tensión superficial del agua de 72 a 30 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ y la tensión interfacial entre el agua y n-hexadecano de 40 a 1 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ (Desai and Banat, 1997). La efectividad de la actividad del BS depende de su concentración; En concentraciones por encima del CMC las moléculas de biotensioactivo se asocian para formar micelas, bicapas y vesículas (Anexo B). Si la concentración está por debajo de la CMC, solo se observara monómero de tensioactivo que funcionan para la movilidad del contaminante (Figura 2).

La formación de micelas permite que los BSs reduzcan la tensión superficial e interfacial y aumenten la solubilidad y biodisponibilidad de los compuestos orgánicos hidrófobos (Whang *et al*, 2008). La CMC se usa comúnmente para medir la eficiencia de tensioactivo. BSs eficientes tienen una baja CMC, lo que significa que se requiere menos BS para disminuir la tensión superficial (Desai and Banat, 1997).

En los procesos de biorremediación los BSs actúan de dos maneras: La primera incluye el aumento de la biodisponibilidad del sustrato para los microorganismos, mientras que la segunda consiste en la interacción del microorganismo con el sustrato aumentando la hidrofobicidad en el sustrato para que este pueda ser degradado más fácilmente por la célula bacteriana. Mediante la reducción de la tensión superficial e interfacial los BSs inducen un aumento de la movilidad y la

biodisponibilidad de los hidrocarburos. La adición de BSs mejora la biodegradación de hidrocarburos en su movilización, solubilización o emulsificación.

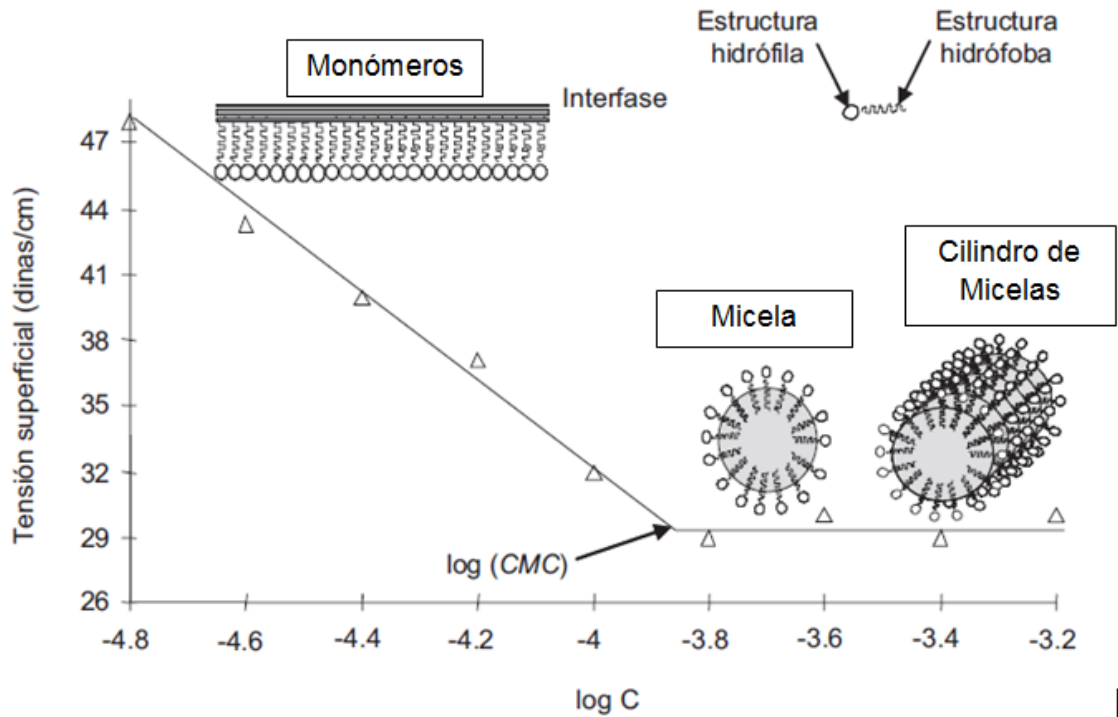


Figura 2. Esquema del comportamiento del BS según su concentración.

Fuente: JIMÉNEZ et al., 2010.

1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS BIOSURFACTANTES

Los BSs se clasifican por su carga iónica, composición química, peso molecular, propiedades físico-químicas, modo de acción y origen microbiano (Pacwa-Plociniczak et al, 2011), ver Anexo C.

1.1.1. Biosurfactantes según su carga. Según su comportamiento en solución los BSs se clasifican de la siguiente manera (Metha et al., 2010):

- Aniónicos. Son usados principalmente en la industria de jabones y detergentes. Contiene por lo menos uno grupo polar soluble (Carboxilato, sulfonato, sulfato o fosfato) unido a una cadena hidrocarbonada hidrófoba. Su solubilidad en el agua dependerá del largo de la cadena, entre más extensa menos hidrofílica será. (Figura 3)
- Catiónicos. En ellos se encontrara uno o varios grupos amonio terciario o cuaternario y su aplicación será en detergentes, tratamiento de textiles, cosmética y como sustancias activas antimicrobianas.
- No iónicos. En solución acuosa no forman iones, debido a que las propiedades hidrofílicas son llevadas a cabo por grupos amino, amido, éter o hidroxilo.
- Anfotéricos. Combinación en la misma molécula de un grupo con tendencia aniónica y el otro con tendencia catiónica. Como ejemplo de estos BSs están los aminoácidos, las betainas o los fosfolípidos. Dependiendo del valor de pH del medio, su comportamiento será aniónica si el valor está por debajo de 7 y catiónica si el pH se encuentra por encima de 7.

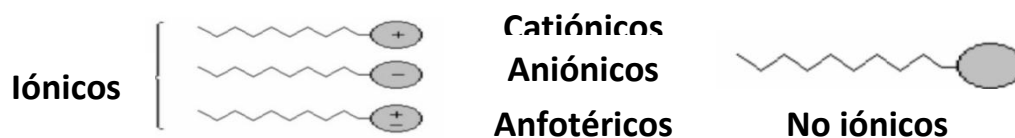


Figura 3. Representación esquemática de BSs.

Adaptado y modificado: (Branco and De Angelis, 2012)

Este tipo de moléculas se caracterizan también por su balance hidrofílico-lipofílico (HLB), los compuestos solubles en agua presentan un alto HLB, mientras los compuestos solubles en aceite presentan un bajo HLB. (Mondragón, 2011); Anexo D.

1.1.2 Biosurfactantes según su composición química. Los BSs pueden clasificarse de acuerdo con su composición química en: glicolípidos, ácidos grasos, fosfolípidos, lípidos, lipopéptidos y biosurfactantes poliméricos. (Desai and Banat, 1997; Kaloorazi and Sabet, 2013)

- Glicolípidos: Son hidratos de carbono en combinación con el ácido alifático de cadena larga o ácido hidroxialifáticos. El grupo de BSs con aplicaciones ambientales más estudiado hasta el momento es el de los Glicolípidos que, según explica Desai y Banat (1997), pueden ser combinaciones de carbohidratos con ácidos alifáticos de cadena larga o con ácidos hidroxialifáticos. Por otra parte, para Kaloorazi y Sabet (2013), los glicolípidos se clasifican en: ramnolípidos, Trehalolípidos y Soforolípidos.
- Lipopéptidos: Sustancias antimicrobianas. Que tiene como cabeza polar un péptido y en su cola hidrofóbica un lípido, de ahí la derivación de su nombre. Existen una gran variedad de lipopéptidos cíclicos incluyendo decapeptidos (gramicidinas) y lipopéptidos (polimixina) producidos por *Bacillus brevis* y *Bacillus polymyxa* respectivamente, que además de funcionar como antibióticos, poseen actividad surfactante. (Desait and Banat, 1997).

La especie *Bacillus subtilis* produce un lipopéptido cíclico llamado surfactina (Figura 4), que ha sido clasificado como el biotensioactivo más activo que se ha descubierto hasta la fecha (Cooper et al., 1981). La surfactina tiene una CMC en agua de 25 mg / L y reduce la tensión superficial a 27 mN / m.

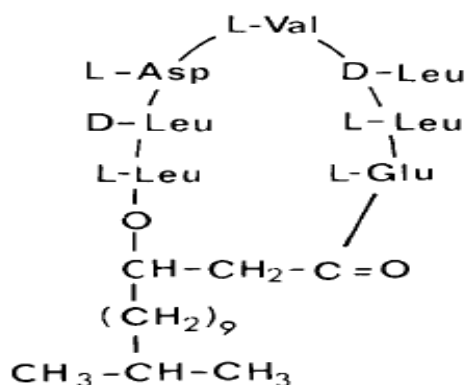


Figura 4. Estructura de la Surfactina

Fuente: Ron et al., 1999

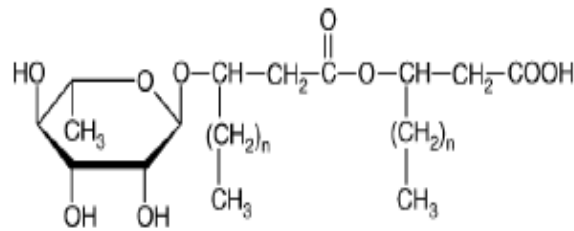
- Ácidos grasos, fosfolípidos y lípidos neutros: Varias bacterias y levaduras producen grandes cantidades de ácido graso y tensoactivos de fosfolípidos durante su crecimiento y desarrollo. Este tipo de compuestos son capaces de generar microemulsiones ópticamente transparentes de alcanos en agua.
- Polímeros: Los biotensioactivos poliméricos mejor estudiados son emulsano, liposán, manoproteína y otros complejos de proteínas de polisacáridos.

1.1.3. Biosurfactantes según su peso molecular. En función de su estructura y peso molecular los BSs se clasifican en bajo y alto peso molecular. Los primeros están constituidos por estructuras que no superan los 800 Da, en su mayor parte glicolípidos, lipopéptidos, lípidos polioles, fosfolípidos, ácidos grasos y sulfonilípidos. Estos BSs actúan disminuyendo la tensión superficial e interfacial. Los segundos tienen peso molecular superior a 800 Da y en su mayoría son moléculas poliméricas anfipáticas como polisacáridos, proteínas, lipoproteínas y lipo-polisacáridos que estabilizan las emulsiones, pero que no reducen significativamente la tensión superficial e interfacial del líquido en que se encuentran (Ron and Rosenberg, 2002).

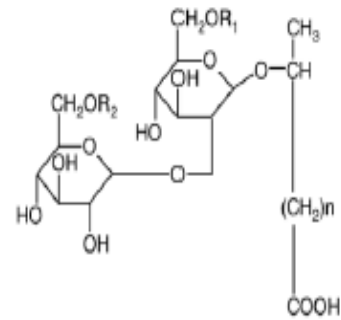
Dentro de los BSs de bajo peso molecular se destacan los glicolípidos (Figura 5). Los glicolípidos son disacáridos acilados con ácidos grasos de cadena larga o ácidos grasos hidroxilados (Ron and Rosenberg, 1999). De esta familia, los más estudiados son los Ramnolípidos que se producen por especies como *Pseudomonas*. La función principal de estos BSs es reducir la tensión superficial entre fases existentes entre la superficie del suelo y el hidrocarburo a eliminar, ya que este corresponde a una mezcla de tipo heterogénea.

Existen también otros tipos BSs pertenecientes a la familia de los glicolípidos como lo son los Trehalolípidos y los Soforolípidos.

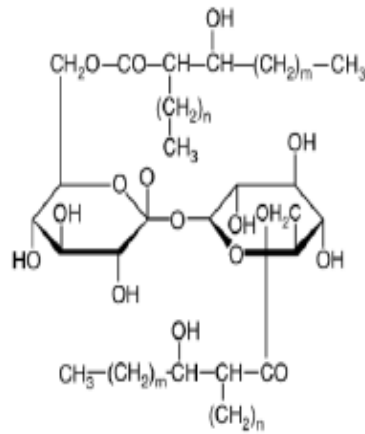
- Trehalolípidos: Según investigaciones de los autores Pacwa-Plociniczak et al. (2011) la forma de actuación de los Trehalolípidos es aprovechar la disponibilidad y crecimiento del BS en el hidrocarburo, haciendo uso de él hidrocarburo como un sustrato en la reacción de síntesis.
- Los Ramnolípidos y Soforolípidos, son los encargados de mejorar los procesos de degradación permitiendo la recuperación del hidrocarburo.
- Se han llevado a cabo extensos estudios sobre el dimicolato de trehalosa producido por *Rhodococcus erythropolis* con especial referencia a su actividad interfacial y a su posible aplicación en el en la recuperación de petróleo. (Kim et al., 1990).



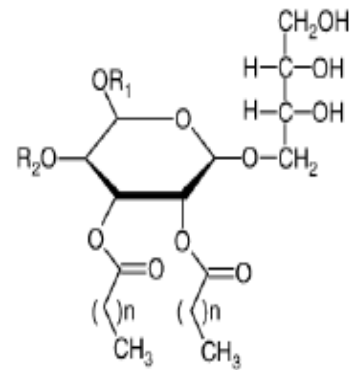
Monoramnolípido



Soforolípido ácido



Dimicolato de trehalosa



Lípido de manosileritritol

Figura 5. Estructuras químicas generales de los glicolípidos microbianos

Fuente: Yáñez and Wong, 2013.

Los BS de alto peso molecular suelen ser polisacáridos, proteínas, lipoproteínas, lipopolisacáridos o mezclas de estos polímeros. Estos BSs no son tan eficaces en cuanto a la reducción de la tensión superficial entre fases, pero son buenos emulsionantes. Además se ha demostrado que son muy eficaces a bajas concentraciones y poseen una considerable afinidad por el sustrato. Algunos BS de alto peso molecular son sintetizados por levaduras, idea que es particularmente interesante debido a la condición de calidad alimentaria de muchas de ellas (Ron and Rosenberg, 1999).

1.1.4 Biosurfactantes según su origen microbiológico. Los BSs pueden ser producidos por una gran variedad de microorganismos como bacterias, hongos filamentosos y levaduras (Banat, 1995); estos compuestos generalmente son metabolitos secundarios excretados por los microorganismos durante la fase estacionaria de crecimiento (Sulbarán et al., 1990).

Los BSs presentan una alta actividad de superficie y propiedades emulsificantes, su principal papel fisiológico es el de incrementar la biodisponibilidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos con el fin de permitir su biodegradación y reducir la tensión interfacial del sistema (Bagheri et al., 2009).

Los surfactantes microbianos son moléculas complejas que cubren un amplio rango de estructuras químicas incluyendo péptidos, ácidos grasos, fosfolípidos, glicolípidos, antibióticos, lipopéptidos, etc. Los microorganismos también producen en algunos casos, surfactantes que son combinaciones de muchas estructuras químicas como los surfactantes microbianos poliméricos. Muchos surfactantes microbianos han sido purificados y sus estructuras químicas son conocidas.

Fue señalado en el estado del arte de Yáñez y Wong (2013), que a partir de muestras de sedimentos, suelos y agua de sitios contaminados con compuestos hidrofóbicos, se han aislado hongos y bacterias capaces de sintetizar BSs y así favorecer la biodegradación de hidrocarburos. A continuación se señalan algunos microorganismos que producen los principales BSs.

- Familia Glicolípidos: algunos microorganismos capaces de sintetizar este tipo de BSs son:

Cándida lipolytica Y-917 (LESIK et al., 1989).

Cándida apícola IMET 43747

Pseudomonas aeruginosa 44TI (ROBERT *et al.*, 1989)
Rhodococcus erythropolis (SHULGA *et al.*, 1990)
Rhodococcus sp. H13-A (SINGER and FINNERTY, 1990)
Rhodococcus sp. ST-5 (ABU-RUWAIDA *et al.*, 1991)
Phaffia rhodozyma (LESIK *et al.*, 1991)
Rhodococcus sp. 33 (NEU *et al.*, 1992)
Pseudomonas aeruginosa UG2 (SCHEIBENBORGEN *et al.*, 1994)

- Familia de los Lipopéptidos

Bacillus licheniformis 86 (HOROWTTZ *et al.*, 1990)
Bacillus licheniformis JF-2 (MCINERNEY *et al.*, 1990)
Pseudomonas fluorescens (NEU *et al.*, 1990)
Bacillus subtilis (GEORGIUO *et al.*, 1992)
Bacillus sp C-14 (ELISEEV *et al.*, 1991)
Phaffia rhodozyma (LESIK *et al.*, 1989)
Penicillium spiculisporum (BAN and SATO, 1993)
Bacillus pumilus A1 (MORIKAWA *et al.*, 1992)

Una visualización aproximada de una estructura química de un BS producido por bacterias (sistema biológico) se detalla a continuación el Liposán o también conocido como compuesto activo de la atorvastatina (Figura 6) que es un BS extracelular que se compone en un 83% de carbohidratos y en un 17% de proteína y son producidos por *Saccharomyces cerevisiae* (Cameron *et al.*, 1988).

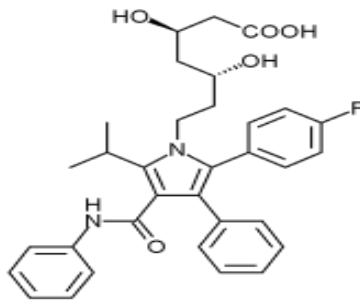


Figura 6. Estructura química del Liposán

Dentro de las características de los BSs se distingue que:

- Los BSs son compuestos extracelulares, biodegradables y tienen baja toxicidad. Los glicolípidos de *Rhodococcus* sp., son 50% menos tóxicos que el surfactante Tween80.
- Los BSs pueden ser producidos a partir de materias primas baratas (residuos y subproductos industriales). La utilización de sustratos baratos es de particular importancia para reducir los costos de producción de BS para aplicaciones farmacéuticas, cosméticas y alimenticias. (Yáñez and Wong, 2013)

Identificar la fuente de carbono en la producción de BSs es fundamental ya que se podrá establecer la aplicación ambiental adecuada del mismo, así como también, mejorar la eficiencia en la tensoactividad tanto interfacial como superficial de la molécula. Debido a que las fuentes de carbono son parcialmente hidrofílicas o hidrofóbicas, es importante que los residuos del cual se hará el aislamiento de los microorganismos para la síntesis del tensoactivo tengan baja solubilidad (Banat *et al.*, 2000).

Se identifican principalmente como materia prima barata la glicerina residual, residuos de aceites vegetales, residuos de frutas y residuos de la industria de alimentos debido a las altas cantidades que se obtienen (Yáñez y Wong, 2013).

Dentro de la Tabla 1, se detalla las principales fuente de carbono para la producción de BSs del grupo Glicolípidos.

Tabla 1. Fuentes de carbono para la producción de BSs

BS	Microorganismo	Fuente de Carbono
Ramnolípido		
RL-1, -2, -3	<i>Pseudomonas sp.</i> DM2874	n-Tetradecano
RL-1 y -2	<i>P. aeruginosa</i> DM 7107	Aceite de Soya
RL-1 y -2	<i>P. aeruginosa</i> UI 29791	Aceite de Maíz
RL-A y -B	<i>P. aeruginosa</i> BOP 101	n-Parafina
Trehalolípido		
Trehalosa-tetraester	<i>R. erythropolis</i> DSM 43215	n-Decano
STL-1 y -2	<i>R. erythropolis</i> SD-74	n-Hexadecano
Soforolípido		
SL mezcla	<i>C. bombicola</i> ATCC 22214	Suero de leche
SL mezcla	<i>C. bombicola</i> CBS 6009	Glucosa esteres
SL mezcla (SL-1: 73%)	<i>C. bombicola</i> ATCC 22214	Aceite de canola
SL (lactona)	<i>C. apicola</i> IMET 43747	Aceite de girasol

Fuente: Modificado de Yáñez y Wong, 2013.

Según Yáñez y Wong (2013), la ruta para conseguir una buena producción de BSs se deriva de la exploración, aislamiento y adaptación, pasando por la selección de cepas potencialmente productoras. También es necesaria una fuente de carbono apropiada teniendo presente las condiciones del cultivo, separación y purificación. Lo anterior, soporta la apropiada identificación del surfactante microbiano útil.

1.2 PROCESOS DE BIODEGRADACIÓN CON GLICOLÍPIDOS

La contaminación ambiental es un problema que requiere de la inversión e implementación de nuevas tecnologías que permitan aprovechar recursos naturales como una solución para cubrir las necesidades de recuperación de espacios contaminados y deteriorados por procesos industriales. Estos procesos de recuperación en la actualidad tienen alto grado de desarrollo y entre ellos se destacan las técnicas de biorremediación. En los procesos de biorremediación se persigue la conservación, recuperación y reutilización de desechos industriales presenten en agua o suelos utilizando microorganismos o compuestos derivados de ellos. Estos procesos tienen la ventaja de ser amigables con el medio ambiente, es decir, que su uso no genera impactos secundarios a los ecosistemas.

Para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo se utilizan dos estrategias principales. La primera consiste en emplear microorganismos capaces de asimilar hidrocarburos como fuente de energía y carbono (Ron and Rosenberg, 2001). Estos microorganismos son ubicuos en la naturaleza y tienen la capacidad de biodegradar hidrocarburos saturados de cadenas cortas, largas, además de compuestos aromáticos como hidrocarburos aromáticos policíclicos. (Rosenberg et al., 1998)

Como segunda estrategia se destaca el uso de biotensioactivos y microorganismos productores de BSs. Los BSs forman parte de las estrategias de sobrevivencia de los microorganismos, pues intervienen en el desarrollo celular, forman biopelículas, y les permiten sobrevivir en condiciones adversas (Saini et al., 2008). Las diversas estructuras químicas de los BSs, como se explicó en la sección anterior, permiten su utilización en la degradación de hidrocarburos principalmente porque permiten hacer el contaminante disponible para asimilación por microorganismos.

Como se explicó anteriormente, los glicolípidos constituyen el grupo de BSs más utilizados en procesos de biorremediación. Estas sustancias, de bajo peso molecular, son eficientes en la reducción de la tensión interfacial. De acuerdo con su estructura química se definen como combinaciones de carbohidratos con un ácido alifático de cadena larga (Ron and Rosenberg, 2002)

Tabla 2. Características generales de los Biosurfactantes de Glicolípidos

	Clase	Origen microbiano	Funciones
Biosurfactantes de glicolípidos	<i>Trehalolípidos</i> Peso 800-3000Da	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Arthrobacter sp.</i> , <i>Nocardia sp.</i> , <i>Corynebacterium sp.</i>	Mejorar la biodisponibilidad de hidrocarburos
	<i>Soforolípidos</i> Peso 460-705Da	<i>Torulopsis bombicola</i> , <i>Torulopsis petrophilum</i> , <i>Torulopsis apicola</i>	Recuperación de hidrocarburos a partir de heces y lodos; eliminación de metales pesados de los sedimentos
	<i>Ramnolípidos</i> Peso 400-700Da	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas sp.</i>	Mejorar la degradación de hidrocarburos. Emulsificación de aceites Eliminación metales pesados.

Fuente: Adaptación documento original Pacwa-Plociniczak et al., 2011.

Los glicolípidos a su vez se subdividen en *Trehalolípidos*, *Sophorolípidos* y *Ramnoolípidos* que son disacáridos que están acilados con una cadena larga de ácidos grasos o ácidos grasos hidroxilados (Ron and Rosenberg, 2002). Algunas de las características generales de los glicolípidos se consignan en la Tabla 2.

1.2.1 Propiedades Fisicoquímicas de los Glicolípidos. Los surfactantes de origen biológico tienen varias ventajas sobre sus contrapartes sintéticas: son biodegradables y no se acumulan en el ambiente, tienen bajo nivel de toxicidad y lo más importante es que presentan propiedades físicas y químicas superiores a las de los surfactantes sintéticos. Sin embargo, hacen falta estudios para encontrar procesos eficientes de obtención para que puedan ser económicamente competitivos respecto a los surfactantes químicos de bajo costo (Nitschke and Costa, 2007; Satpute, et al., 2010; Franzetti et al, 2011). Los BSs se acumulan en la interfase entre dos fluidos inmiscibles o entre un fluido y un sólido.

Existen dos procedimientos para la biodegradación de hidrocarburos mediadas por el uso de glicolípidos (Figura 7). En el primero, denominado mecanismo de movilidad, se utiliza el biosurfactante (BS) en concentraciones por debajo de la concentración micelar crítica (CMC). De esta forma se reduce la tensión superficial e interfacial entre los sistemas de suelo/agua o aire/agua. Este fenómeno permite aumentar la superficie de contacto entre el suelo y el hidrocarburo disminuyendo la fuerza de atracción que los unía (fuerza capilar). En el segundo, denominado mecanismo de solubilidad, se utiliza el BS por encima de su CMC. De esta forma se producen micelas normales capaces de solubilizar hidrocarburos y hacerlos disponibles para su asimilación por los microorganismos (Urum and Pekdemir, 2004).

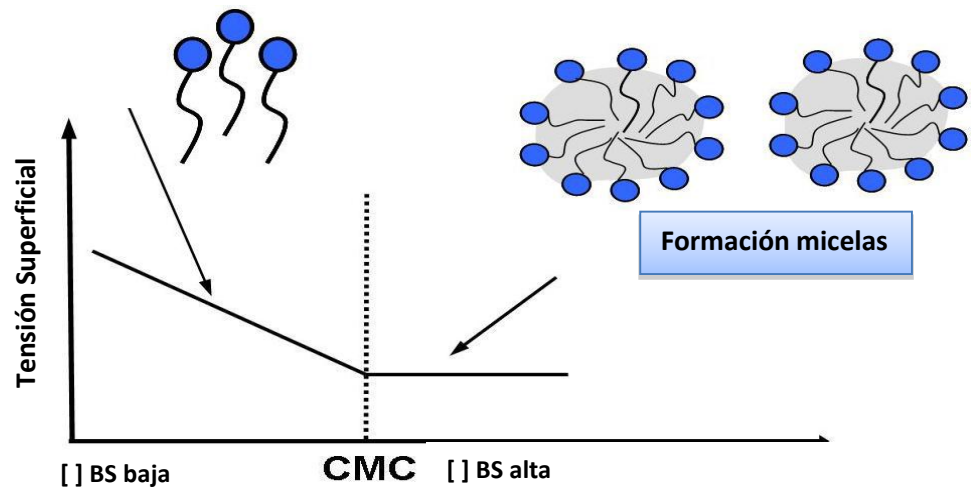


Figura 7. Procedimientos de biodegradación de hidrocarburos.

Fuente: Adaptación del documento original Pacwa-Plociniczak et al., 2011.

1.2.2 Trehalolípidos. Los trehalolípidos (Figura 8) son los compuestos más ampliamente utilizados en las técnicas de biorremediación debido a que mejoran la biodisponibilidad de hidrocarburos (Franzetti et al., 2011). Están compuestos por el disacárido trehalosa unido al carbono C-6 y C-6' del ácido micólico, este tipo de BS generalmente se encuentra asociado a la mayoría de las especies de *Mycobacterium*, *Nocardia* y *Corynebacterium* (Desai and Banat, 1997).

El ácido micólico está compuesto de una cadena larga de ácidos grasos α -ramificado o α -hidroxiácidos. Los trehalípidos producidos por diferentes microorganismos varían únicamente en el tamaño y estructura del ácido micólico, el número de átomos de carbono y el grado de insaturación (Rahman and Gakpe, 2008).

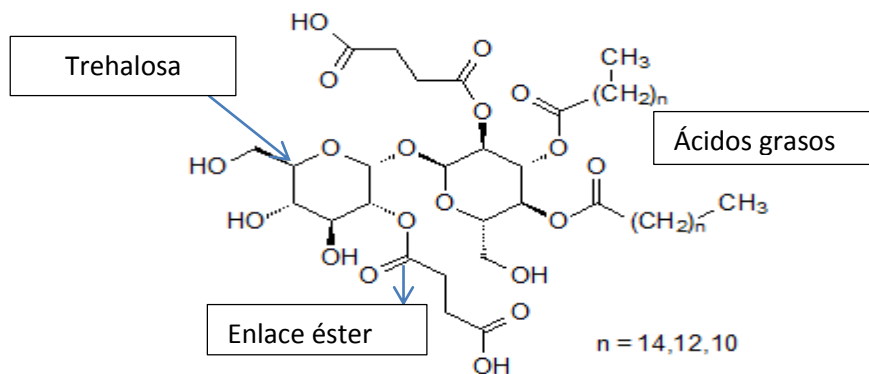


Figura 8. Estructura química Trehalolípidos

Fuente: (Adaptado y modificado) William C. AOCS 2014

1.2.3 Soforolípidos. Se componen de un disacárido de sofrosa unido mediante enlace β-glucosídico (Figura 9) y una cadena de ácido graso. Están constituidos del carbohidrato dimérico Sofrosa unido a una cadena larga hidrofóbica de ácidos grasos de 16 a 18 átomos de carbono con una o más insaturaciones. Estos BSs son una mezcla de al menos 6 a 9 diferentes sofrosidos (Desai and Banat, 1997).

Los sofrolípidos pueden existir en forma ácida, cuando la cola de ácido graso es libre; o en la forma lactónica, cuando el extremo carboxílico del ácido graso se conecta a la cabeza sofrosa por esterificación intramolecular. Las propiedades químicas de los sofrolípidos dependen de su forma y composición, por ejemplo los *Sofrolípidos* lactónicos tiene mejor actividad en la disminución de la tensión superficial que los sophorolípidos ácidos. (Van Bogaert et al., 2008).

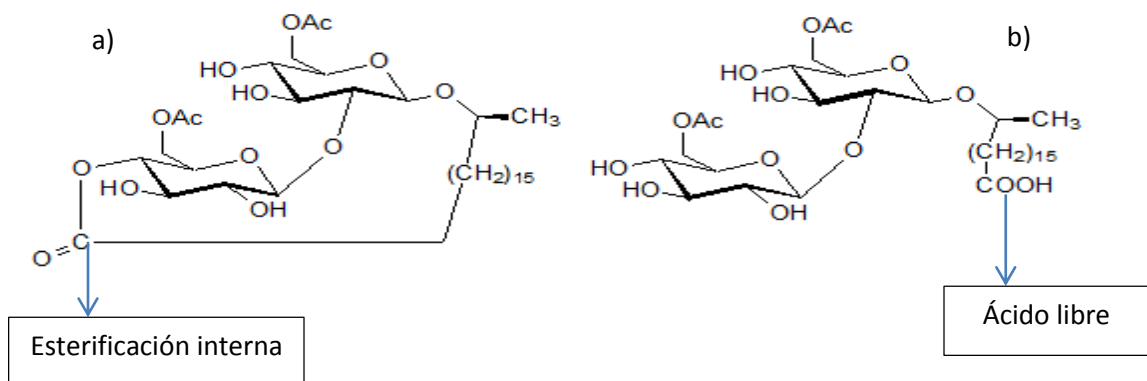


Figura 9. Estructura química Soforolípidos: a) S. lactónicos – b) S. ácido

Fuente: (Adaptado y modificado) William C. AOCS 2014

Los Soforolípidos son sintetizados en altas concentraciones por levaduras no patógenas como son *Torulopsis magnoliae*, *Torulopsis bombicola*, *Torulopsis petrophilum*, *Cándida apícola* y *Cándida bogoriensis* (en contraste con los ramnolípidos, que son producidos mayormente por cepas bacterianas pertenecientes al género *Pseudomonas*). (Van Bogaert et al., 2008).

En el proceso de biodegradación de hidrocarburos en suelos los BSs más utilizados y aprovechados son los *Ramnolípidos* y los *Soforolípidos*.

Haciendo uso de *Soforolípidos* como agentes microbianos de degradación de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en condiciones de experimentales se produjo una remoción entre 85% y 97% del total de la cantidad de hidrocarburo; esto indica un gran potencial en esta clase de BS para la remediación de suelos contaminados. (Kang et al., 2010).

1.2.4 Ramnolípidos. Los *Ramnolípidos* son sustancias no tóxicas producidas por algunas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Las *Pseudomonas* son bacterias gram-negativas en forma de barra que se encuentran en los suelos que producen lípidos extracelulares conocidas como ramnolípidos. La vía metabólica que

interviene en la biosíntesis de los ramnolípidos está estrechamente ligada a la ruta de biosíntesis de ácidos grasos y también se relaciona con moléculas que contienen L-ramnosa o sus precursores, tales como el alginato (Maier and Soberón-Chávez 2000). La ruta de biosíntesis involucra la participación de ramnosiltransferasas RhIB y RhIC. Adicionalmente se conoce que un exceso en la fuente de carbono y un estrés en la fuente de nitrógeno, favorecen la producción de Ramnolípidos (Soberón et al., 2005). Las principales formas de Ramnolípidos contienen uno (monoramnolípidos) o dos (diramnolípidos) azúcares de ramnosa ligados a uno o dos de ácido 3-hidroxicanoico (Figura 10).

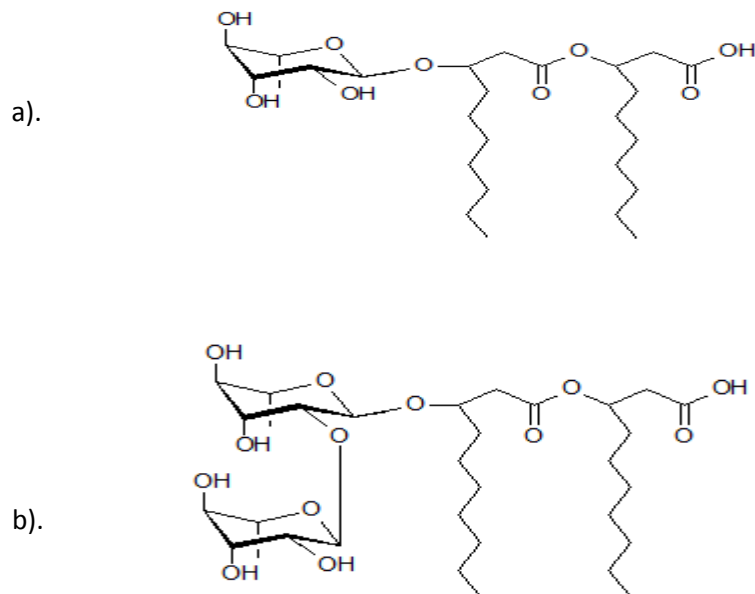


Figura 10. Estructura química de los Ramnolípidos: a). monoramnolípidos b) diramnolípidos

Fuente: (Adaptado y modificado) William Cristie, AOCS 2014

Los ramnolípidos, se emplean principalmente en la degradación de hidrocarburos, pues han demostrado que facilitan el metabolismo de hidrocarburos pesados en crudos. Se ha reportado una eficiencia de remoción de crudo del 92.34% y del diesel del 95,29% (Obayori et al., 2009).

El microorganismo productor de surfactante, el medio de cultivo (fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo, elementos traza (Mg, Fe, Mn, etc.)) y las condiciones de crecimiento (temperatura, aireación, pH, etc.) determinan la cantidad y estructura del BS a nivel laboratorio (Bodour and Maier, 2003). En la actualidad se conocen hasta 28 diferentes homólogos estructurales de *ramnolípidos* producidos por cepas de *P. aeruginosa*. La existencia de diferentes homólogos marca diferencias en la forma y la composición de los ramnolípidos condición que interviene directamente en las propiedades fisicoquímicas de estos BSs. (Benincasa et al., 2004)

En lo referente a la fuente de carbono, se ha reportado que la producción de ramnolípidos por el género *Pseudomonas* es estimulada por diferentes tipos de sustratos insolubles, los cuales van desde hidrocarburos alifáticos y aromáticos hasta aceites de origen vegetal (Rashedi et al., 2005). Los *ramnolípidos* pueden emulsionar hidrocarburos y otros sustratos hidrofóbicos para ponerlos a disposición del microorganismo. Algunos ramnolípidos tienen actividad antimicrobiana contra varias bacterias, levaduras, y cepas fúngicas.

En la Figura 11 se observa un diagrama de producción y acción de los ramnolípidos. Inicialmente los compuestos orgánicos proporcionan una fuente rica de energía y carbono para los procesos metabólicos, biológicos y de degradación que llevan a cabo los microorganismos en el medio que se desenvuelven. Cuando la fuente alimentadora es un hidrocarburo, cuya característica principal es su carácter hidrofóbico, el microorganismo lleva a cabo una serie de reacciones de síntesis (paso 1 – Figura 11) que resultan en la formación del BS (paso 2 - Figura 11) que entra en contacto directo con el hidrocarburo mediante un proceso de emulsificación, es decir, se lleva a cabo la formación de micelas que permiten el encapsulamiento del hidrocarburo. De esta forma se facilita la ingesta del hidrocarburo por el agente microbiano (paso 3 - Figura 11) generando en la célula microbiana una nueva distribución estructural y modificando su pared celular

((paso 4 - Figura 11) permitiendo que estos interactúen con el medio y la degradación del compuesto orgánico.

Nitschke and Costa, (2007) han reportado valores de la CMC para ramnolípidos biosintetizados por *Pseudomonas aeruginosa* a partir de aceites vegetales de algodón (CMC = 86.79 mg/L), maíz (CMC = 43.21 mg/L), soya (CMC = 54.56 mg/L) y palma (CMC = 40.19 mg/L). Sin embargo, aunque los valores de CMC son variables, no se observa ningún efecto en los valores de la tensión superficial mínima de estos ramnolípidos que en promedio se registran a 30.86 mN/m.

Turkovskaya et al. (2001) Reportan el aislamiento de una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* designada 50.3, a partir de suelos contaminados con hidrocarburos. Esta cepa es capaz de usar glucosa o glicerol como fuentes de carbono, para producir un BS ramnolípido termoestable (Turkovskaya et al., 2001). Así mismo existe la *Pseudomonas Putida* PCL 1445, que a nivel industrial produce un tipo de BS de origen lipopéptido, capaz de inhibir la formación de biopelículas.

El *ramnolípido* se puede usar como agente de lavado para eliminar el estireno, después de un día se logra 70% de eliminación que aumenta a 88,7% después de 5 días. El método de biodegradación de estireno se lleva a cabo mediante un lavado empleando biomasa anaerobia como tensoactivo, se procede a enjuagar el suelo previamente tratado y por último se lleva a cabo el protocolo de tratamiento de lixiviados. (Mulligan et al., 2014).

Ensayos realizados con varios BSs indicaron que los ramnolípidos producidos por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (especialmente los de la cepa UG2), resultan más eficaces para eliminar la contaminación de suelos generada por hidrocarburos, debido a que describen alta actividad emulsificante, baja concentración micelar crítica y una alta afinidad por moléculas orgánicas hidrofóbicas. (Mata-Sandovau et al., 2000).

La necesidad de BSs se debe a las ventajas de fácil producción a partir de recursos renovables y la posible reutilizar por la regeneración, alta especificidad y menor toxicidad, biodegradabilidad, pantalla BSs, excelente actividad superficial en comparación con los sintéticos a pesar de sus estructuras moleculares voluminosas muestran una mayor compatibilidad ambiental y también elevada termoestabilidad, pH y condiciones de salinidad. (Francy et al., 1991; Jain et al., 1992; Van Dyke et al., 1993)

La explotación de las actividades microbianas y metabolitos, es en la actualidad un foco de atención para las empresas preocupadas por el deterioro ambiental debido a que presenta algunas ventajas como las siguientes:

- Los productos naturales son generalmente inofensivas y menos perjudicial para el medio ambiente.
- Los procesos microbianos no requieren altas temperaturas y por lo tanto hay bajo consumo de energía.
- Los costos de los productos microbianos no se ven afectados por el precio del petróleo crudo y pueden ser producidos utilizando sustratos de partida económicos o incluso materiales de desecho.
- Los productos microbianos o las actividades microbianas pueden ser estimulados in situ dentro del depósito, permitiendo un desempeño total del tratamiento haciéndolo potencialmente a rentable. (Green Chemistry and Biosurfactant Research. Descargado por la Universidad Industrial de Santander, marzo de 2014)

Los procesos de biorremediación involucran el uso de compuestos biodegradables, compatibles con las condiciones ambientales como lo son

compuestos nitrogenados y fosforados o la adición de bacterias. El aumento en la velocidad de reacción con la que se lleve a cabo los procesos de biodegradación está directamente relacionado con la disponibilidad de los elementos o fuentes generadores de energía (nutrientes y oxígeno), las condiciones químicas y ambientales donde se llevaran cabo dichos procesos de síntesis (pH, humedad) y el medio propicio para el crecimiento y reproducción de las especies microbianas. Cuando el crecimiento bacteriano es lento debido a las condiciones precarias de ciertos lugares o cuando los compuestos a degradar son resistentes como en el caso de los hidrocarburos, la adición de emulsificantes es de gran ventaja para estimular el proceso de biorremediación actuando, así, como catalizadores de la reacción de biodegradación. (Mulligan et al., 2014)

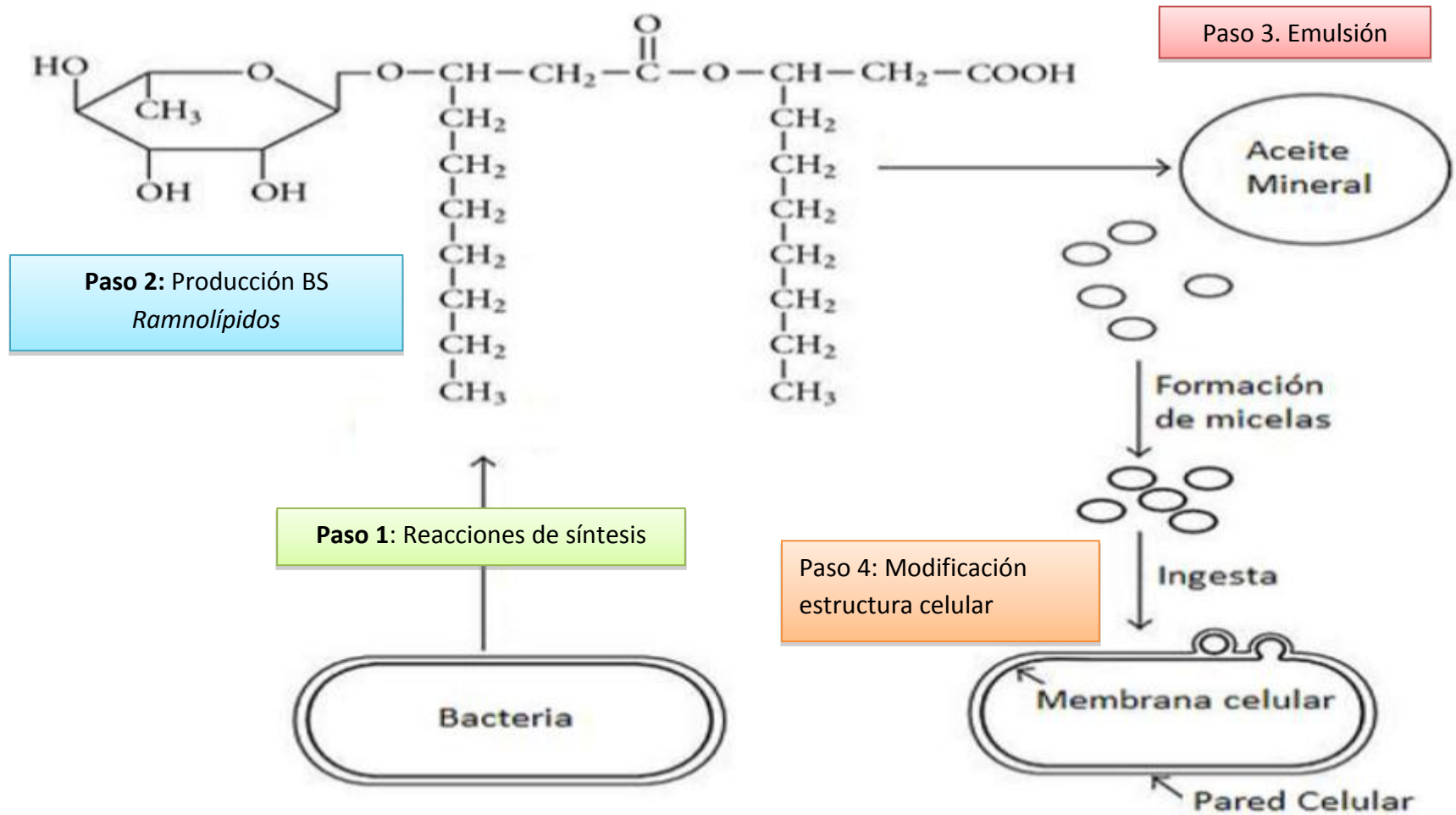
Al llevar a cabo una comparación entre diversos sustratos hidrofóbicos tales como aceites vegetales, grasas y alcoholes de cadena larga generan altos niveles de producción de ramnolípidos (100-165 mg/g sustrato) en contraste con el uso de sustratos solubles tales como la glucosa y el ácido succínico (12-36 mg/g sustrato). Adicionalmente, el uso de aceites reciclados demuestra un alto potencial, generando niveles de producción de 0.34 g de Ramnolípidos por gramo de sustrato (Haba et al., 2000); haciendo usos de sustratos generados en procesos de industrialización o desechos de actividades domésticas los costos implícitos en los procesos de producción de *Ramnolípidos* podrían reducirse notablemente ya que este sería un producto formado por una cadena de reacciones de metabolismo y comportamiento biológico del agente microbiano empleado, es decir, la producción del BS sería generado a través de un proceso de reutilización de desechos de hidrocarburos, bien sea de uso industrial o doméstico.

La técnica de biorremediación empleada para recuperar, reutilizar y degradar algunos de los desechos procedentes de la industria petrolera presenta un alto costo en su implementación lo que despierta la necesidad de llevarse a cabo el

aumento en la producción de surfactantes naturales (BSs). Los BSs determinados bajo el conocimiento genético del microorganismo con las condiciones óptimas para el crecimiento y reproducción de dichos microorganismos, conduce a generar mejoría en las condiciones químicas y físicas del medio en el que actuara el biocompuesto. Sin embargo, la naturaleza del compuesto delimita la función real de BS y la capacidad de degradación del mismo frente al compuesto orgánico. La optimización de esas condiciones puede llevar a una producción elevada y segura de BSs (Armas Díaz y col., 2013).

Los beneficios de emplear BSs en la industria petrolera destacan actividades como; La recuperación mejorada del petróleo, mejora el drenaje de aceite en pozo, estimula la liberación de petróleo atrapado humectación de superficies sólidas, reducción de la viscosidad del aceite, disminución de la tensión interfacial. (Yañez and Wong, 2013)

Figura 11. Síntesis de un *Ramno*lípidos (BS) para degradación metabólica de un hidrocarburo.



Fuente: (Adaptado y modificado) Cortés y Barragán, 2013

2. CONCLUSIONES

Hoy en día muchos de los procesos de deterioro y contaminación ambiental, son efecto de la poca sostenibilidad y el descontrol con los que se han venido desarrollando los procesos industriales. Avances tecnológico para la mejorar los procesos de explotación, transporte y refinación de hidrocarburos han sido causantes de la pérdida irreparable de recursos naturales como suelos, cuencas hídricas y aire. El conocimiento e implementación de técnicas de remediación basadas en biomoléculas con actividad interfacial y superficial provenientes de microorganismos resulta beneficioso para el desarrollo de procesos amigables con el medio ambiente que no generen efectos secundarios.

Los BSs son compuestos provenientes de síntesis metabólica de microorganismos, que mediante procesos de movilidad, solubilidad y emulsificación permiten llevar a cabo la degradación de hidrocarburos, eliminándolos de suelos o cuencas hídricas y permitiendo la recuperación de ecosistemas.

El modo de acción de los BSs radica en su capacidad para solubilizar compuestos hidrofóbicos generando la disminución de la tensión superficial e interfacial entre la zona de contacto y el hidrocarburo. Uno de los parámetros para medir la efectividad de un BSs es tener en cuenta la concentración micelar crítica (CMC).

Los agentes tensioactivos de origen microbiano (BSs) aumentan la biodisponibilidad de los hidrocarburos y no dañan el medio ambiente; de igual forma representan un gran avance en los procesos de extracción de petróleo y en la biodegradación de ambientes contaminados.

Una de las clasificaciones existentes de los BSs tiene como principio fundamental el peso molecular de la sustancia; existen de dos tipos, los constituidos por moléculas de bajo peso molecular constituidos por glicolípidos y los polímeros de elevado peso molecular que están compuestos por polisacáridos.

Los BSs pertenecientes a la familia de los Glicolípidos, en especial los Ramnolípidos, son los BSs más empleado en la industria del petróleo debido a su gran efectividad en la degradación de hidrocarburos, pues han demostrado que facilitan el metabolismo de hidrocarburos presentes en crudos o petróleo sin refinar.

Las industrias petroleras, debido a su gran responsabilidad como causante del deterioro y contaminación ambiental, en nuestro país, deberían estar amparadas y reguladas bajo políticas de gobierno que permitan el control y evaluación del impacto ecológico que se generan en sus procesos diarios, obligando a llevar a cabo el estudio e implementación de técnicas que reduzcan los efectos secundarios de la industrialización.

RECOMENDACIONES

Los ramnolípidos son los BSs más empleados en la industria del petróleo, diversas especies de *Pseudomonas* se destacan por su capacidad para producir Ramnolípidos, futuros trabajos podrían fundamentarse en esta familia de microorganismos capaces de producir BSs debido a la amplia investigación y documentación actual que se encuentra en lo referente a sus aplicaciones efectivas en la degradación de hidrocarburos.

BIBLIOGRAFÍA

ARMAS DIAZ, A.; BENAVIDES SALDANA, A.; BARBOZA TENA, M.; CHERO FLOREANO, Y. E. Producción Microbiana de BSs y Polisacáridos. Curso de Biotecnología. Escuela profesional de ingeniería agroindustrial. Facultad de Ingeniería Industrial y de Sistemas. Universidad Nacional Federico Villareal. Lima, Peru. 2013.

BAGHERI T., SHOURIAN M., ROOSTAAZAD R., ROUHOLAMINI A., REZA M. and AKBARI K. An Efficient Biosurfactant-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MR01, Isolated from Oil Excavation Area in South of Iran. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. **2009**, 1-11.

BANAT, I. M. Characterization of Biosurfactants and their Use in Pollution Removal - State of the Art (Review). *Biosurfactants and Bioremediation. Acta Biotechnol.* **1995**, 3, 251-267.

BANAT, I. M.; MAKKAR, S. R.; CAMEOTRA, S. S. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol.* **2000**, 53, 495-508.

BENINCASA M, ABALOS A, OLIVEIRA I, MANRESA A. Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie Van Leeuwenhoek Int J Gen Mol Microbiol.* **2004**, 85, 1-8.

BODOUR, A. A., AND MAIER, R. M. Biosurfactants: Types, Screening Methods, and Applications. *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. New York: Wiley. **2003**, 750-770.

BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **1999**, 156, 41-52.

BRANCO I, DE ANGELIS L. E6 FARM 23-BIOTENSOATIVOS: Uma alternativa mais limpa para as indústrias de cosméticos. Pós em Revista ISSN 2176 7785 – QUALIS C. 2012

CAMERON D. R., COOPER D. G., NEUFELD R. J. The mannoprotein of *Saccharomyces cerevisiae* is an effective bioemulsifier. *Appl Environ Microbiol*. **1988**, 54, 1420-1425.

COOPER, D. G., MACDONALD C. R., S. DUFF J. B, and KOSARIC N. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation additions. *Appl. Environ. Microbiol.*, **1981**, 42, 408-412.

CORTÉS-CAMARGO S., BARRAGÁN-HUERTA B. E. PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES POR MICROORGANISMOS HALÓFILOS. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Av. Wilfrido Massieu s/n, Unidad Profesional Adolfo López Mateos. CP 07738. DF. México. 2013

DESAI, J. D. and BANAT, M. I. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and molecular biology reviews*. **1997**, 61 (1), 47-64.

FRANCY D. S., THOMAS J. M., RAYMOND R. L. and WARD C. H. Emulsification of hydrocarbons by subsurface bacteria. *J. Ind Microbiol*. **1991**, 8 (4), 237-246.

FRANZETTI A., GANDOLFI I., BERTOLINI V., RAIMONDI C., PISCITELLO M., PAPACCHINI M., BESTETTI G. Phylogenetic characterization of bioemulsifier-producing bacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **2011**, 65, 1095-1099.

FREITAS, F., ALVES, V., CARVALHEIRA, M., COSTA, N., OLIVEIRA, R., REIS, M. Emulsifying behavior and rheological properties of extracellular polysaccharide produced by *Pseudomonas oleovorans* grown on glycerol byproduct. *Carbohydrate Polymers*. **2009**, 78, 549-556.

HABA, E., ESPUNY, M.J., BUSQUETS, M. and MANRESA, A. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. *J. Appl. Microbiol.* **2000**, 88, 379-387.

HEALY, M.G., DEVINE, C.M., MURPHY, R. Microbial Production of biosurfactants. *Studies in environmental science*. **1997**, 66, 179-195.

ISHIGAMI, Y. Characterization and Functionalization of Biosurfactants. *Structure-Performance relationships in Surfactants*; Ueno, M., Esumi, K., Eds; CRC, 2003, vol. 112.

JAIN, D.K., LEE, H., TREVORS, J.T. Effect of addition of *Pseudomonas aeruginosa* UG2 inocula or biosurfactants on biodegradation of selected hydrocarbons in soil. *J. Ind. Microbiol.* **1992**, 10, 87–93.

JIMÉNEZ, D., MEDINA, S. A., GRACIDA, J. N. Propiedades, Aplicaciones y Producción de Biotensoactivos. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **2010**, 26 (1), 65-84.

KALLOORAZI, N. A. and SABET, M. F. Biosurfactants: Properties and Applications. *Journal of Biology and today's world*. **2013**, 2, 235-241.

KANG, S. W., KIM, Y. B., SHIN, J. D., KIM, E. K. Enhanced biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial biosurfactant, Sophorolipid. *Appl. Biochem Biotechnol*. **2010**, 160, 780-790.

KIM J. S., POWALLA M., LANG S., WAGNER F., LUNSDORF H., WRAY V. Microbial glycolipid production under nitrogen limitation and resting cell conditions. *J Biotechnol*. **1990**, 13, 257-266.

KNAEBEL, D. B.; FEDERLE, T. W.; MCAVOY, D. C.; VESTAL, J. R. Effect of mineral and organic soil constituents on microbial mineralization of organic compounds in a natural soil. *Appl Environ Microbiol*. **1994**, 60, 4500–4508.

KREPSKY, N., DA SILVA, F.S., FONTANA, L.F. and CRAPEZ, MAC. Alternative methodology for isolation of biosurfactant-producing bacteria. *Brazilian Journal of Biology*. **2007**, vol. 67, p.117-124.

LANG, S. Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci*. **2002**, 7, 12–20.

MAIER, R.M. AND SOBERÓN-CHÁVEZ, G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: Biosynthesis and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **2000**, 54, 625–633.

MATA-SANDOVAU, J., KARN, J. TORRENT, A. The influence of surfactants and biosurfactants on the bioavailability of hydrophobic organic pollutants in subsurface environments. *Int. Contam. Ambient*. **2000**, 16 (4), 193-203.

MEHTA, S. K.; SHARMA, S.; METHA, N.; SINGH, S. In *Biosurfactans*; Ramkrishna, S., Eds.; Advances in experimental medicine and biology; Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, LLC: New York. **2010**, 672, 102-120.

MONDRAGÓN, L. Aislamiento y caracterización de cepas bacterianas aerobias autoctónas de yacimientos petroleros productoras de BSS para su aplicación en técnicas de meor. Tesis. Instituto politécnico Nacional. México, DF. 2011

MULLIGAN, C. N. and GIBBS, B. F. Types, Production and Applications of Biosurfactants. Proc. Indian natn Sci Acad. **2004**, B70, 1, 31-55.

MULLIGAN, C. N.; Environmental applications for biosurfactants. Environmental Pollution. **2005**, 133, 183-198.

MULLIGAN, C. N.; Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. Current Opinion in Colloid & Interface Science. **2009**, 14, 372-378.

MULLIGAN, C. N.; SHARMA, S. K.; MUDHOO, A.; MAKHIJANI, K. Green Chemistry and Biosurfactant Research. *Biosurfactants: Research Trends and Applications*; Mulligan, C. N., Sharma, S. K., Mudhoo, A., Eds; CRC, 2014, pp.1-30.

MUKHERJEE, S., PALASHPRIYA, D. RAMKRISHNA, S. Towards commercial production of micro-bial surfactants. *Trends in Biotechnology*. **2006**, 24, 509-515.

NITSCHKE M., AND COSTA, S.G.V.A.O. Biosurfactants in food industry. *Trends in food science and technology*. **2007**, 18, 252-259.

OBAYORI, O.S.; ILORI, M.O.; ADEBUSOYE, S.A.; OYETIBO, G.O.; AMUND, O.O. Degradation of hydrocarbons and biosurfactant production by *Pseudomonas* sp strain LP1. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, 25 (9), 1615-1623.

PACWA-PLOCINICZAK, M.; PLAZA, G. A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; CAMEOTRA, S. S. Environmental Applications of Biosurfactants: Recent Advances. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, 12, 633-654.

RAHMAN P. and GAKPE. Production, Characterisation and Applications of Biosurfactant-Review. *Biotechnology.* **2008**, 7(2), 360-370.

RASHEDI H., MAZAHERI A.M., BONAKDARPOUR B. Y JAMSHIDI E. Environmental importance of rhamnolipid production from molasses as a carbon source. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* **2005**, 2, 59–62.

RON, E. Z. and ROSENBERG, E. High and Low molecular mass microbial surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol.* **1999**, 52, 154-162

RON, E. Z. and ROSENBERG, E. Natural roles of biosurfactants. *Environmental Microbiology.* **2001**, 3, 229-236.

RON, E. Z. and ROSENBERG, E. Biosurfactants and oil bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology.* **2002**, 13, 249-252.

ROSENBERG E., NAVON-VENEZIA S., ZILBER-ROSENBERG I., RON E. Z. Rate limiting steps in the microbial degradation of petroleum hydrocarbons. In *Soil and Aquifer Pollution*. Edited by Rubin, H. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag. **1998**, 159-172.

SAINI, H., BARRAGÁN-HUERTA, B. E., LEBRÓN-PALER, A., PEMBERTON, J. E., VÁZQUEZ, R. R., BURNS, A. M., MARRÓN, M. T., SELIGA, C. J., GUNATILAKA, A. A. L., MAIER, R. M. Efficient Purification of the biosurfactant viscosin from *Pseudomonas libanensis* strain M9-3 and its physicochemical and biological properties. *Journal of Natural Products*. **2008**, 71, 1011-1015.

SATPUTE K. S., BANAT I. M., DHAKEPHALKAR P. K., BANPURKAR A. G., CHOPADE B. K. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. *Biotechnology advances*. **2010**, 28, 436-450.

SHAVANDI, M., MOHEBALIA, G., HADDADIB, A., SHAKARAMIA, H., NUHIC, A. Emulsification potential of a newly isolated biosurfactant-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. strain TA6. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. **2011**, 82, 477-482.

SOBERÓN-CHÁVEZ G, LÉPINE F. and DÉZIEL E. Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, 68, 718–725.

SULBARÁN M., BAHASAS A., VELÁSQUEZ W. y ROJAS J. Caracterización de BSs Producidos por *Pseudomonas fluorescens* Aisladas de Emulsiones de Petróleo Pesado. *Ciencia*. **1990**, 13 (2), 228-239.

SUPAPHOL S, JENKINS S.N., INTOMO P., WAITE IS & O'DONNELL A.G. Microbial community dynamics in mesophilic anaerobic co-digestion of mixed waste. *Bioresour. Technol.* **2011**, 102, 4021–4027.

TURKOVSKAYA O. V., DIMITREIVA T. V. and MURATOVA A. Y. A biosurfactant producing *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Appl. Biochem. Microbiol.* **2001**, 37, 71-75

URUM, K. and PEKDEMIR, T.; Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing. *Chemosphere*. **2004**, 57, 1139-1150.

VALDEZ, C. W.; Tratamiento fisicoquímico de residuos oleosos. Tesis de Ingeniería de Petróleos, Facultad de Ingeniería de Petróleo, Gas natural y Petroquímica, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú, 2011.

VAN BOGAERT, I.N.A., DEVELTER, D., SOETAERT, W., AND VANDAMME, E.J. Cerulenin inhibits de novo sphorolipid synthesis of *Candida bombicola*. *Biotechnology Letters*. **2008**, 30(10),1829–1832.

VAN DYKE, M.I., COUTURE, P., BRAUER, M., LEE, H., TREVORS, J.T., Pseudomonas aeruginosa UG2rhamno lipid biosurfactants: structural characterisation and their use in removing hydrophobic compounds from soil. *Can. J. Microbial*. **1993**, 39 (11), 1071–1078.

WHANG, L.M.; LIU, P.W.G.; MA, C.C.; Cheng, S.S. Application of biosurfactant, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *J. Hazard. Mater*. **2008**, 151, 155–163.

WILKINSON, S.; NICKLIN, S.; FAULL, J. L.; Biodegradation of fuel oils and lubricants: Soil and water bioremediation options. *Biotransformations: Bioremediation Technology for Health and Environmental Protection*. **2002**, 36, 69-100.

WILLIAM C. AOCS. (online) **2014**. Lipid Library 2014. Disponible en <http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/rhamno/index.htm>

YÁÑEZ, J. L., BELTRANENA E., CERVANTES M., and ZIJLSTRA R. T. Effect of phytase and xylanase supplementation or particle size on nutrient digestibility of diets containing distillers dried grains with solubles (DDGS) co-fermented from wheat and corn in ileal-cannulated grower pigs. *J. Anim. Sci.* **2011**, 89, 113-123.

YAÑEZ, O. and WONG, A. BSs microbianos, producción potencial con residuos agroindustriales de Chiapas. *BioTecnología.* **2013**, 17 (3), 13-28.

ANEXOS

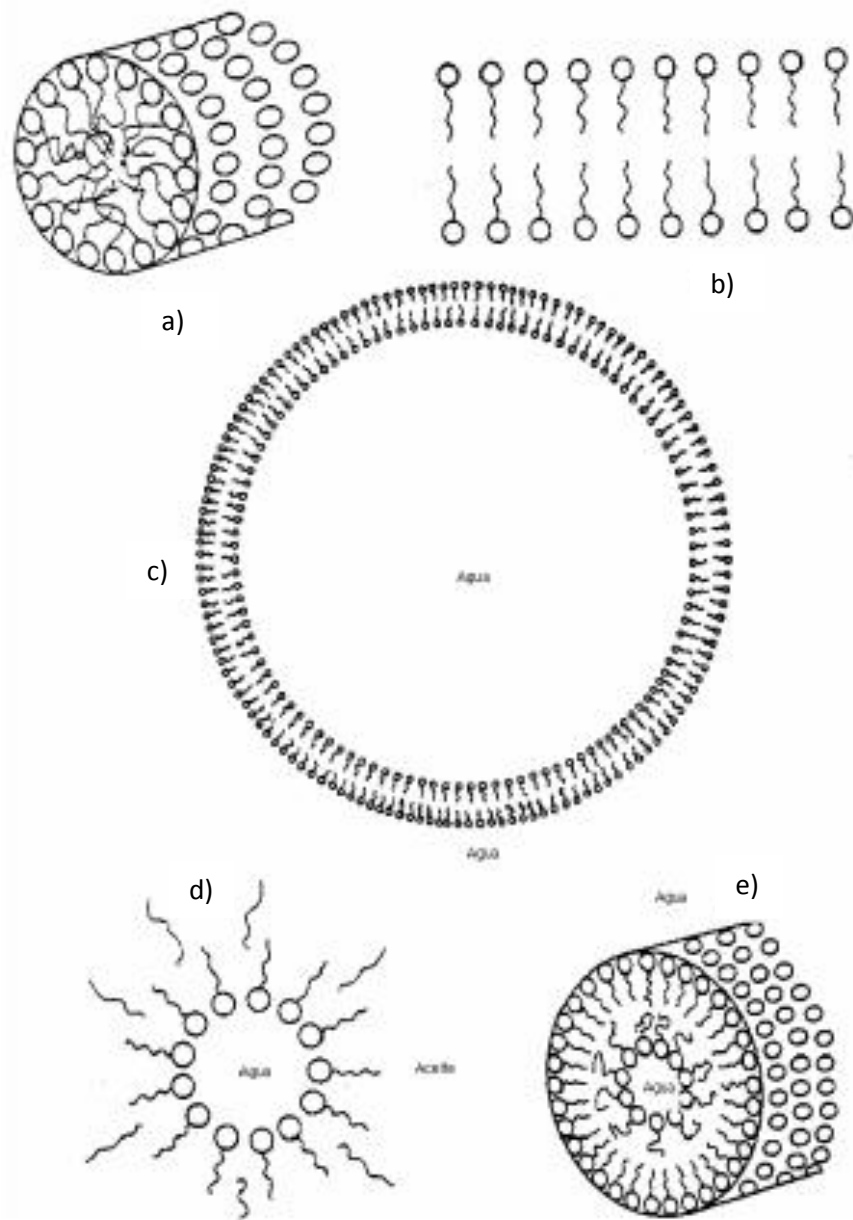
ANEXO A. Características de los grupos hidrofóbicos e hidrofílicos

Grupo	Característica
Hidrofóbico	<ul style="list-style-type: none">• Cadenas continuas de carbono e hidrógenos• Terminales de grupos ácidos o carbonilos• La Concentración Micelar Critica (CMC) disminuye con el número de Carbonos• CMC aumenta con la presencia de átomos polares (O₂, N, S).
Hidrofílico	<ul style="list-style-type: none">• Heteroátomos que participan en los puentes de hidrógeno o interacciones dipolo (O₂, N, S).• Carbonos enlazados a dos átomos de oxígeno,• CMC alto cuando tiene átomos cargados (aniones)• CMC aumenta si al compuesto entra a interaccionar una nueva cabeza hidrofílica

Fuente: BELLO, J. 2000.

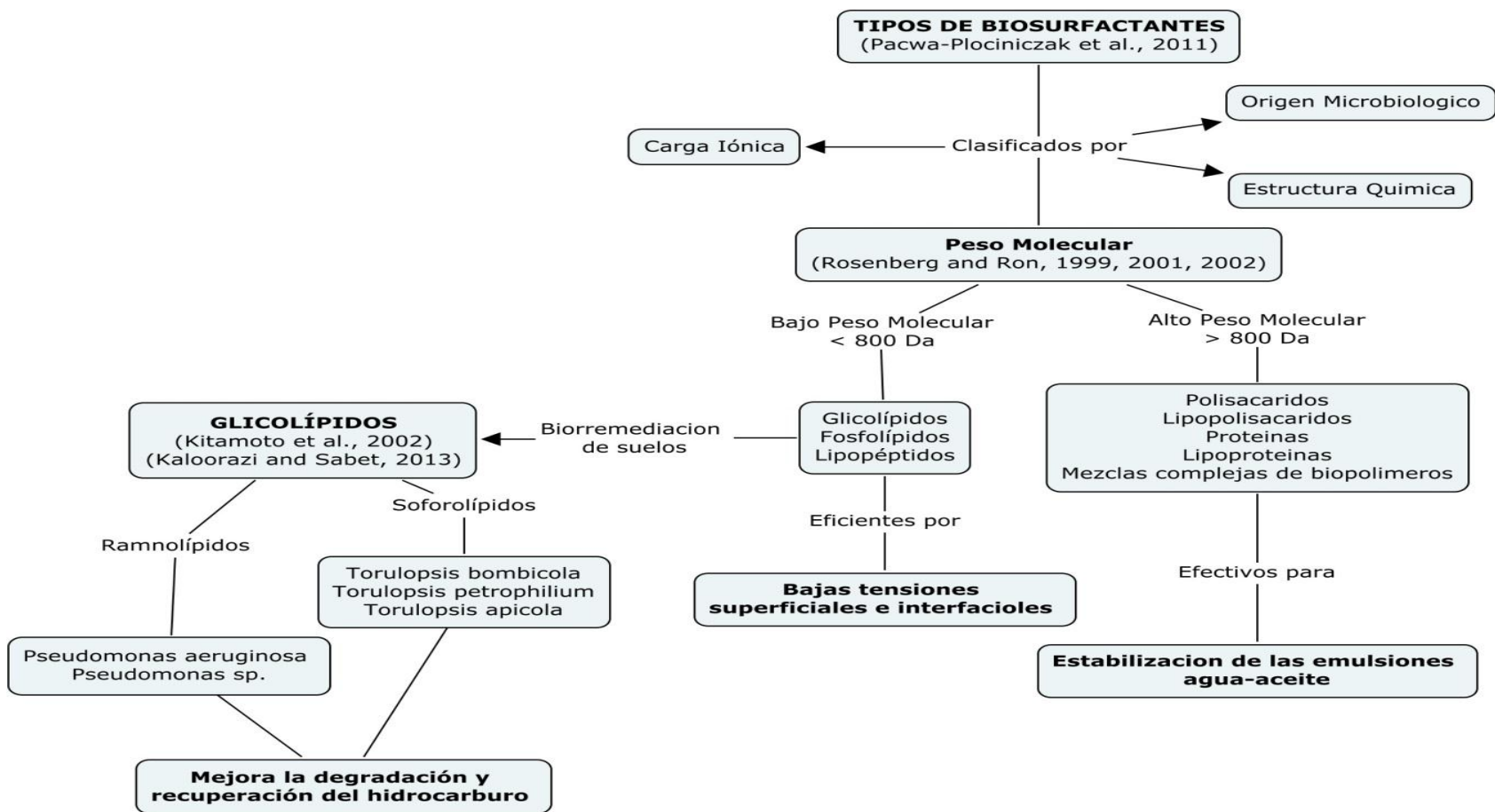
ANEXO B. Tipos de Micelas en una solución bicomponente.

a) Cilíndrica, b) Bicapa, c) Vesícula bicapa, d) Micela inversa y e) Microtubulo.



Fuente: GALÁN, J. 2008.

ANEXO C. Clasificación de Biosurfactantes.



Fuente: Autoras

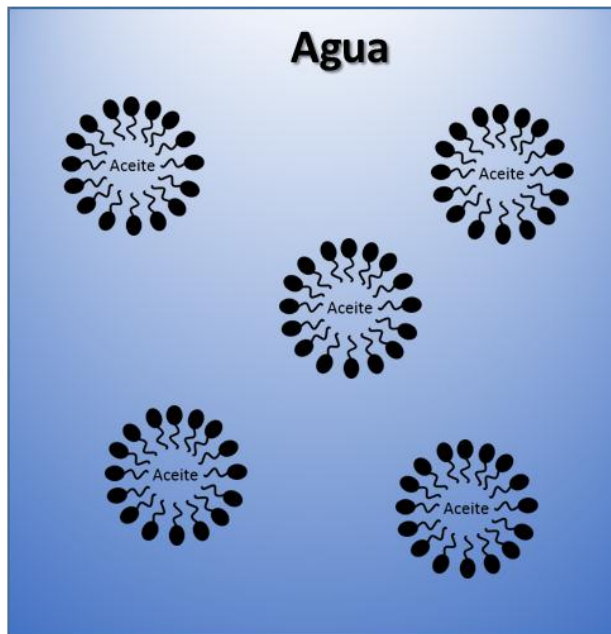
ANEXO D.. Representación esquemática de la formación de micelas según el HLB

ESTRUCTURA MOLECULAR DE UN SURFACTANTE

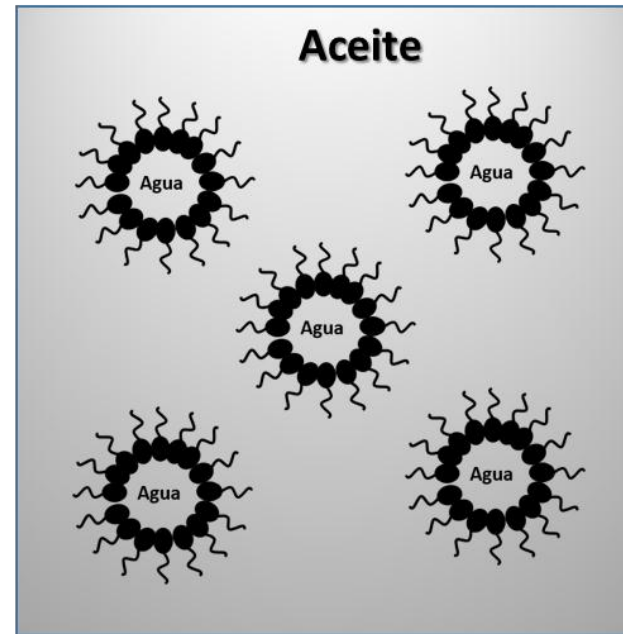
Cabeza Hidrofílica
Aceite/Agua



Cola Lipofílica
Agua/Aceite



Alto HLB
(Hidrofílico)



Bajo HLB
(Hidrofóbico)