



ESTUDIO COMPARATIVO DE SUSTRATOS CONVENCIONALES Y RESIDUALES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES CON APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DEL PETRÓLEO

Teresa Roldán-Carrillo^a, Juan Leobardo Santiago-Rosales^a, Lucero Vargas-Neri^a, Gladys Castorena-Cortés^a y Patricia Olguín-Lora^a.

^aInstituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas, Norte 152, San Bartolo Atepehuacán. Del. Gustavo A. Madero. 07730, México, D.F. Tel: 91756901; *E-mail: toldan@imp.mx, leobardo_santiago@hotmail.com

RESUMEN

Los biosurfactantes (BS) son moléculas anfipáticas producidas por bacterias, levaduras y hongos, que incluyen péptidos, glicolípidos, lipopéptidos, ácidos grasos y fosfolípidos, con capacidad de reducir la tensión superficial (TS) e interfacial (TI) entre fluidos. Estos compuestos pueden tener aplicación en la industria del petróleo, en la recuperación mejorada de hidrocarburos vía microbiana, que utiliza microorganismos y sus bioproductos, entre ellos los biosurfactantes. Para competir con los surfactantes químicos, los BS deben tener un costo de producción bajo y ser efectivos en actividad tensoactiva; por lo que para disminuir sus costos se puede utilizar sustratos económicos, como residuos agro-industriales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de producción de biosurfactante con un microorganismo, utilizando dos tipos de sustratos, uno convencional "aceite de soya (AS)" y otro residual "aceite gastado de cocina (AGC)". El microorganismo utilizado fue la cepa IMP-12, que corresponde a *Pseudomonas*. La producción de biosurfactante con la cepa IMP-12, se evaluó con los dos sustratos (AS y AGC) a nivel matraz, mediante la determinación de TS y la prueba de dispersión de aceite (DA). La cepa IMP-12 mostró capacidad para producir BS con ambos sustratos, mostrando un comportamiento similar en cuanto a la disminución de TS (27 mN/m). En cambio, la DA fue mejor con el AGC, produciendo halos de 9 cm, mientras que el AS produjo halos de 7 cm.

El aceite gastado de cocina es una fuente alternativa viable para la producción de biosurfactante. Al emplearse un residuo contaminante se tiene un beneficio económico y ambiental. Además el biosurfactante tiene potencial aplicación en la industria del petróleo.

1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de aceites vegetales se ha ido incrementando en la última década, alcanzando una producción de 168 millones de toneladas en 2014 (Oil World, 2014). Esta producción representa una cantidad semejante de residuos obtenidos después del uso de estos aceites, cuyo tratamiento implica un alto costo (Rosillo-Calle *et al.*, 2009). Estos residuos generalmente no se disponen de forma correcta y se estima que 1 L de aceite contamina 1000 L de agua (Guerrero *et al.*, 2011). Por lo anterior, la posibilidad de reutilizar estos residuos resulta interesante desde el punto de vista ambiental y económico.



Una de las aplicaciones de estos residuos puede ser en la producción de biosurfactantes (BS), la cual se ha realizado con diferentes sustratos (De Lima *et al.*, 2009; Abbasi *et al.*, 2012; Ahmed y Hassan, 2012). Los BS son moléculas biológicas (orgánicas) con propiedades surfactantes o tensoactivas producidas principalmente por microorganismos y excretados al medio extracelular. Algunas de las ventajas de los BS sobre los surfactantes químicos, son su biodegradabilidad, baja toxicidad, biocompatibilidad, especificidad y la amplia variedad de estructuras químicas disponibles (Bordoloi y Konwar 2009). Los BS tienen aplicación en varias industrias, entre ellas, la petrolera, donde existe la necesidad de contar con tecnologías eficaces, competitivas, de menor costo y que generen el mínimo impacto al medio ambiente. Dentro de estas tecnologías está la recuperación mejorada de hidrocarburos vía microbiana y los procesos de biorremediación, que utilizan microorganismos y sus bioproductos, entre ellos los biosurfactantes (Xia *et al.*, 2013).

2. TEORÍA

Diversos estudios con microorganismos para la producción de biosurfactantes, indican que la cantidad y calidad de biosurfactantes producidos por este microorganismo, se encuentran influenciados por diversos factores, como la concentración de nitrógeno y de iones, el pH, la temperatura y la aireación; sin embargo, uno de los principales factores es la naturaleza de la fuente de carbono. Los surfactantes se han utilizado ampliamente para diversos fines dentro de las industrias, pero la mayoría son sintetizados de forma química. En los últimos años los biosurfactantes han adquirido una gran importancia y una gran demanda de usos debido a sus ventajas de biodegradabilidad, a que pueden ser producidos a partir de recursos renovables y su funcionalidad en condiciones extremas (Banat, 1995). Los biosurfactantes pueden ser producidos a partir de fuentes de carbono miscibles e inmiscibles, es por ello que se plantea la posibilidad de utilizar sustratos inmiscibles en agua de bajo costo, como los aceites vegetales y aceites gastados (Medina *et al.*, 2011).

El uso de fuentes de carbono residuales amplía el panorama de los biosurfactantes, ya que de ser posible el uso de estos sustratos se estaría atacando el problema de la reducción de costos de producción de biosurfactantes, además de la disminución de la contaminación por desechos de diversas industrias.

3. PARTE EXPERIMENTAL

El microorganismo utilizado en este trabajo fue la cepa IMP-12, que corresponde a *Pseudomonas*. Se llevó a cabo la producción de BS con la cepa IMP-12 cultivada en diferentes sustratos miscibles (dextrosa y melaza) e inmiscibles (aceite de soya, glicerol y hexadecano) donde se evaluó la producción de biosurfactante mediante la TS. Con el mejor sustrato de la evaluación preliminar y con un sustrato residual, se hizo un estudio comparativo a nivel matraz. Se realizó una cinética en la cual se evaluó un sustrato de tipo comercial como es el AS contra un sustrato residual (AGC), para determinar la posibilidad de implementar un material de desecho como una fuente de carbono viable para la producción de BS. La cinética tuvo una duración de 72 h, con muestreos a las 0, 3, 9, 15, 18, 21, 24, 48 y 72 h, donde se evaluó la TS mediante el método de Wilhelmy con un Tensiómetro Krüss K-100 y la DA con el método de Youssef *et al.* (2004). Todos los sistemas y mediciones se realizaron por duplicado y con su respectivo control.



4. RESULTADOS

La evaluación preliminar de la cepa IMP-12, indicó que es un microorganismo capaz de producir biosurfactantes, ya que al cultivarla con diferentes sustratos disminuye la tensión superficial (Tabla 1), con preferencia hacia las fuentes de carbono de tipo inmisible, como el aceite de soya (AS), produciendo una disminución de la tensión superficial (TS) hasta de 30 mN/m con este sustrato. Sin embargo, para disminuir el costo de producción, se evaluó la posibilidad de utilizar aceite gastado de cocina (AGC) como fuente de carbono.

Tabla 1. Evaluación de la producción de biosurfactante mediante tensión superficial, con la cepa IMP-12, cuando es cultivada con diferentes sustratos.

Sustrato	Tensión superficial (mN/m)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Dextrosa	66.20	58.6	54.15	42.05
Melaza	57.37	66.35	60.75	59.85
Glicerol	69.10	65.03	49.05	42.5
Aceite de soya	52.07	30.45	29.95	30.2
Hexadecano	72.59	56.2	59.84	53

La comparación de la producción de biosurfactante con aceite de soya (AS) y con aceite gastado de cocina (AGC), se realizó mediante la evaluación de la tensión superficial (TS) como se muestra en la Figura 1, mientras que la Figura 2 muestra la dispersión de aceite (DA) que provoca el bioproducto de la cepa IMP-12. Se observó que con ambos sustratos se tiene un comportamiento similar, provocando una disminución de la TS cercana a los 30 mN/m a las 24 h y la máxima disminución de la TS (27 mN/m) se alcanzó a las 48 h. Este último valor se mantuvo estable hasta las 72 h del cultivo del microorganismo.

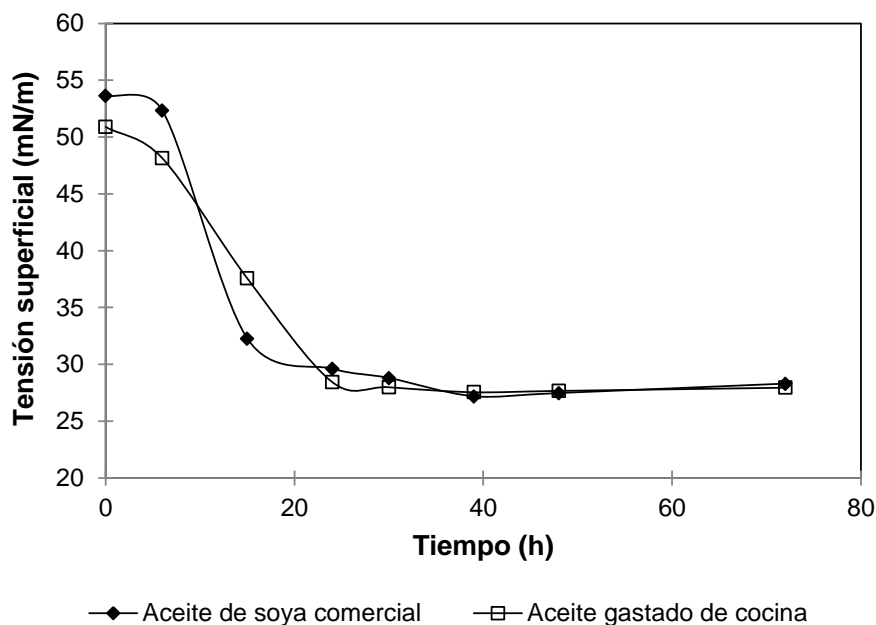


Figura 1. Evaluación de la producción de biosurfactante mediante la determinación de tensión superficial (TS), en el cultivo de la cepa IMP-12, a 30 °C con dos sustratos.



Por otro lado, al evaluar el efecto que tuvieron estas dos fuentes de carbono sobre la DA respecto al tiempo, se observó que los halos de dispersión obtenidos cuando se usa el AGC, son mayores a los obtenidos con AS comercial. Ambas cinéticas mostraron un comportamiento similar, alcanzando el halo máximo de dispersión a las 48 horas de incubación, con valores de aproximadamente 7 y 9 cm para el AS comercial y el AGC respectivamente. Esta variación en los halos de dispersión puede deberse a que el aceite gastado de cocina presenta una mayor variabilidad en la cantidad de componentes, en comparación con el aceite de soya comercial, que siempre está conformado por los mismos ácidos grasos.

Estos resultados muestran que el sustrato es determinante e importante para la producción de biosurfactantes, como ha sido reportado en otros trabajos (Akhavan *et al.*, 2005). También muestran la factibilidad de producir el biosurfactante con un residual (AGC), obteniendo valores de actividad tensoactiva similares a lo reportado para los mejores biosurfactantes con $TS < 30$ mN/m y $DA > 5$ cm (Youssef *et al.*, 2004). Además, utilizando sustratos de tipo residual (como el AGC), se puede disminuir el costo de producción de BS, haciendo más competitivas estas biomoléculas para su aplicación.

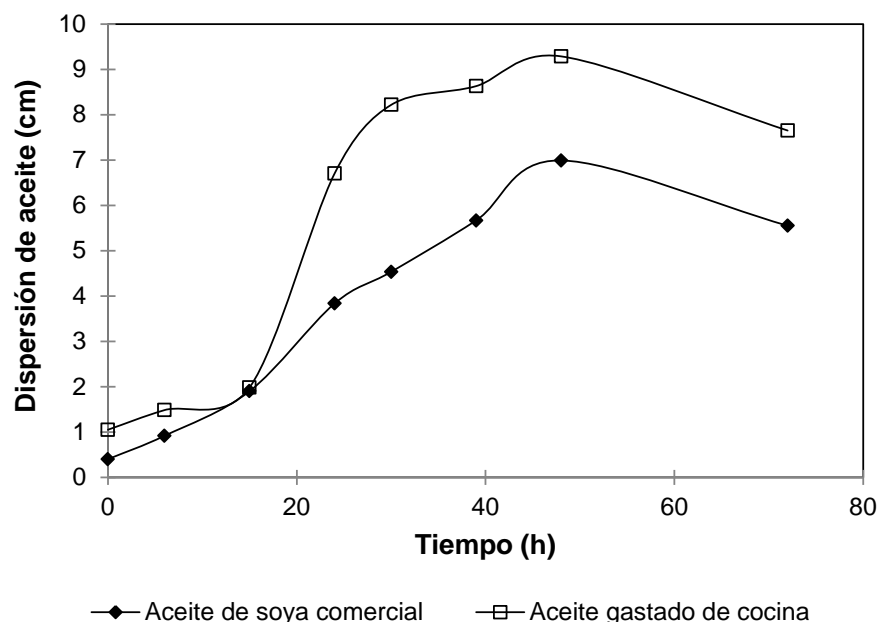


Figura 2. Evaluación de la producción de biosurfactante mediante la determinación de la dispersión de aceite (DA) en el cultivo de la cepa IMP-12, a 30 °C con dos sustratos.

5. CONCLUSIONES

La cepa IMP-12 mostró capacidad para producir BS con todos los sustratos evaluados, sin embargo el mejor fue AS que es un sustrato inmiscible. La comparación de la producción de BS cuando se utiliza AS y AGC como sustratos, indicó que no hay diferencia significativa cuando se determina mediante la TS, siendo similares de 27 mN/m. Pero cuando se determina mediante la DA, se observó



que el AGC tuvo mejor actividad tensoactiva, con halos de dispersión de aproximadamente el 30% más grandes.

El uso de fuentes de carbono residuales como el aceite gastado de cocina (AGC) amplía el panorama de los biosurfactantes, ya que es una fuente alternativa viable para la producción de éstos. Al ser un residual contaminante, se elimina un problema ambiental como la disminución de la contaminación por desechos de diversas industrias, con un beneficio técnico, ecológico y económico. Además, se estaría atacando el problema de costos de producción de biosurfactantes, reduciendo los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbasi H., Hamed M. M., Lotfabad T. B., Zahiri H. S., Sharafi H., Masoomi F., Moosavi-Movahedi A. A., Ortiz A., Amanlou M., Noghabi K. A. (2012). Biosurfactant-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MA01 isolated from spoiled apples: Physicochemical and structural characteristics of isolated biosurfactant, *J. Biosci. Bioeng.* 113 (2): 211-219.
2. Ahmed E. F., Hassan S. S. (2012). Effect of media composition (carbon and nitrogen sources) on the production of bioemulsifier from *Serratia marcescens* S10. *J. Biotechnol. Research Center*, 6(2): 9-14.
3. Akhavan Sepahy A., Mazaheri Assadi M., Saggadian V., Noohi A. (2005). Production of biosurfactant from Iranian oil fields by isolated *Bacilli*. *Int. J. Environ. Sci. & Technol.* 1 (4): 287-293.
4. Banat I.M. (1995). Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review. *Bioresource Technol.* 51 (1): 1-12.
5. Bordoloi, N.K. Konwar, B.K. (2009). Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons. *J. of Hazardous Materials*: 170(1):495-505.
6. De Lima C.J.B., Contiero J. (2009). Use of soybean oil fry waste for economical biosurfactant production by isolated *Pseudomonas aeruginosa* using response surface methodology. *Current Trends in Biotechnol. and Pharmacy* 3(2): 162-171.
7. Guerrero C.A., Guerrero R.A., Sierra F.E. (2011). Biodiesel Production from Waste Cooking Oil. In *Biodiesel-Feedstocks and Processing Technologies*, Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-713-0. Ch. 2, 23-44.
8. Medina, S., Jiménez, D., Gracida, J., Gutiérrez, M., Díaz, I., (2011). Modeling rhamnolipids production by *Pseudomonas aeruginosa* from immiscible carbon source in a batch system. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 8: 471-482.
9. Oil World (2014).
<http://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/infoboletinsemanal.aspx?IdArticulo=1084>
10. Rosillo-Calle F., Pelkmans L., Walter A. (2009). A Global overview of vegetable oils, with reference to Biodiesel.
<http://www.bioenergytrade.org/downloads/vegetableoilstudyfinaljune18.pdf>
11. Xia W.J., Luo Z.B., Dong H.P., Yu L. (2013). Studies of biosurfactant for microbial enhanced oil recovery by using bacteria isolated from the formation water of petroleum reservoir. *Petrol. Sci. Technol.* 31: 2311-2317.
12. Youssef N. H., Duncan K. E., Nagle D.P., Savage K. N., Knapp R.M., McInerney M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactante production by diverse microorganisms. *J. Microbiol. Methods*, 56: 339-347.