Biopolímeros microbianos y surfactantes

Papá: en la escuela aprendimos que los microbios pueden utilizarse para limpiar los residuos grasos. Cuando lavamos, utilizamos detergentes para eliminar las grasas de los platos ¿Los microbios también utilizan detergentes?



Tony Gutierrez

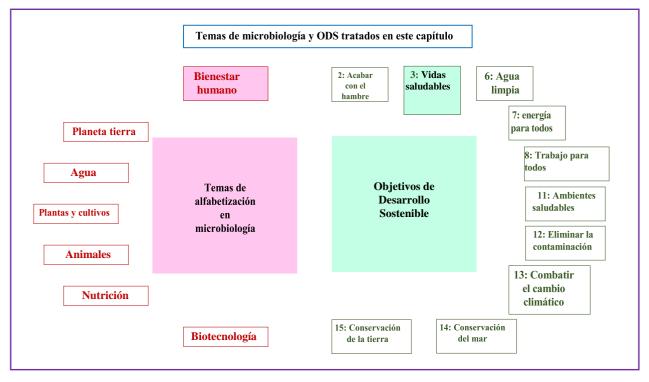
Biopolímeros microbianos y surfactantes

Sinopsis

"El agua y el aceite no se mezclan". Todos conocemos este tópico, pero a veces tenemos que forzarlos a mezclarse, por ejemplo, cada vez que nos lavamos después de una buena comida, utilizando agua limpia para eliminar los restos aceitosos de comida en la vajilla. Para que se mezclen, añadimos detergente líquido, que contiene un detergente o surfactante/tensioactivo. Los microbios también necesitan forzar la mezcla de agua y aceite/grasa, por ejemplo, cuando degradan los vertidos de petróleo en el mar y los utilizan como alimento. Para ello, producen biosurfactantes y bioemulsionantes, que descomponen el petróleo en gotitas diminutas, aumentando así la superficie del petróleo y, por tanto, la cantidad accesible para su degradación: aumentan su "biodisponibilidad". Los biosurfactantes y los bioemulsionantes desempeñan un papel clave en la biología y la ecología de muchos microbios. Sin embargo, no sólo son importantes para los microbios, sino también para nosotros. Se utilizan en la elaboración de muchos alimentos y bebidas, y en casi todos los sectores de la industria moderna actual (en textiles, construcción, productos de cuidado personal, medicina, etc.).

La Microbiología y el Contexto Social

La microbiología: biosurfactantes, bioemulsionantes, biodisponibilidad de sustratos hidrófobos, biodegradabilidad y baja toxicidad frente a homólogos sintéticos derivados de la petroquímica: mejora de los procesos de biorremediación. Contexto social: preferencias crecientes por lo "natural" y lo "bio" frente a lo "sintético" y lo "químico", especialmente en alimentación, sostenibilidad: materias primas químicas renovables frente a hidrocarburos fósiles,



Biopolímeros microbianos y surfactante: la Microbiología

1. Surfactantes microbianos. Los surfactantes son sustancias que actúan en la superficie: se puede comprobar cuando se añade una gota de detergente líquido a un recipiente que contiene una sartén grasienta. El aceite de la superficie del agua se aleja del punto en el que añadimos la gota de detergente gracias a su actividad superficial. Las sustancias tensioactivas tienen grupos químicos "amantes del agua" (hidrófilos) y "amantes del aceite" (hidrófobos). Esto permite que los tensioactivos interactúen simultáneamente con sustancias acuosas y no acuosas y, por tanto, que el agua y las sustancias hidrosolubles se mezclen con el aceite y las sustancias solubles en aceite. Ejemplos comunes son los jabones y detergentes, que son en gran medida tensioactivos que permiten eliminar las sustancias aceitosas de las manos, ollas, sartenes y otras superficies.

Hoy en día, todos los sectores de la industria moderna utilizan tensioactivos de una forma u otra, como en la confección de ropa y otros tejidos, como ingredientes en alimentos y bebidas, en la tinta de bolígrafos e impresoras, y la lista es interminable. Un problema importante con muchos de los tensioactivos que se utilizan hoy en día es que son sintéticos, lo que significa que no son naturales, sino que se producen en la industria utilizando petróleo como material de base. Esto plantea problemas, ya que cuando estos tensioactivos sintéticos entran en el medio ambiente, pueden causar daños a los ecosistemas naturales, ya que muchos de estos compuestos pueden ser tóxicos para las células vivas, especialmente cuando se liberan en el medio ambiente en grandes cantidades. También preocupa que los tensioactivos sintéticos, cuando se utilizan como ingredientes en alimentos y bebidas, puedan no ser inocuos para los seres humanos.

Por otro lado, los surfactantes producidos a partir de fuentes biológicas (es decir, los biosurfactantes), a menudo por microbios o plantas, suelen ser mucho menos tóxicos y, por tanto, menos problemáticos que los sintetizados a partir del petróleo. Por ello, existe un gran interés por descubrir nuevos tipos de biosurfactantes para aplicaciones industriales y biotecnológicas. Los biosurfactantes procedentes de microbios han despertado un interés creciente en los últimos años debido a sus menores niveles de toxicidad, su mayor degradabilidad y el aumento de la demanda de alternativas naturales a los surfactantes sintéticos por parte de los consumidores. En los últimos años, el medio marino se ha reconocido como una fuente rica y relativamente sin explotar para descubrir biosurfactantes microbianos. Desde el punto de vista de la ecología, estos polímeros desempeñan importantes funciones en el medio marino, donde pueden intervenir en la adhesión microbiana a superficies sólidas y la formación de biopelículas, la emulsificación de productos petroquímicos (petróleo crudo, gasóleo y otros hidrocarburos contaminantes) para mejorar la biodegradación (que se analiza más adelante), y otras funciones. Los ingresos del mercado mundial generados por los biosurfactantes superaron los 1.500 millones de USD en 2019 y se prevé que crezcan por encima del 5,5% entre 2020 y 2026.

2. *Polímeros microbianos.* Los polímeros son moléculas de gran tamaño formadas por muchas unidades más pequeñas -bloques de construcción- llamadas monómeros, unidas por enlaces químicos, como los conocidos plásticos, también fabricados a partir del petróleo.

Los biopolímeros son polímeros producidos por seres vivos (especialmente microbios y plantas) y revisten especial interés para aplicaciones biotecnológicas e industriales. Esto se debe a que pueden presentar una serie de ventajas para muchos procesos comerciales, como poseer una gran superficie en la que pueden expresarse múltiples grupos reactivos, la capacidad de conferir propiedades texturizantes y estabilizantes a las formulaciones de procesos y productos (por ejemplo, la textura suave de los yogures en la paleta), y la capacidad de presentar resistencia a la tracción y al cizallamiento.

Los biopolímeros se componen principalmente de polisacáridos, pero también pueden contener proteínas y/o lípidos. Al igual que los surfactantes, algunos polímeros también pueden ser tensioactivos y, como tales, ser capaces de interactuar con sustancias acuosas y no acuosas. En este caso, los polímeros se denominan comúnmente emulsionantes (bioemulsionantes si se derivan de fuentes biológicas) y se utilizan ampliamente para producir emulsiones de agua (o sustancias solubles en agua) con aceite (o sustancias solubles en aceite). Ejemplos típicos son los aderezos para ensaladas, que utilizan emulgentes para crear emulsiones de un aceite alimentario (por ejemplo, aceite de oliva) con vinagre (la fase acuosa). Algunos polímeros son polianiónicos, es decir, tienen muchas cargas negativas en su superficie, lo que les permite unirse a metales cargados positivamente, por lo que pueden utilizarse en la recuperación y limpieza de zonas contaminadas con metales tóxicos.

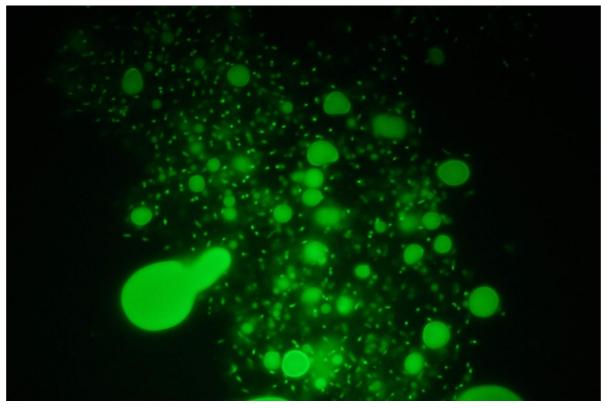
Como en el caso de los biosurfactantes, los microorganismos del medio marino están reconocidos como una buena fuente para descubrir nuevos tipos de biopolímeros. Además, los polímeros de origen microbiano pueden presentar un mayor rendimiento y una mayor diversidad funcional que los producidos sintéticamente utilizando productos petroquímicos como material de base. Un ejemplo típico de biopolímero microbiano es la goma xantana, muy utilizada en muchas aplicaciones, como los aderezos para ensaladas que se compran en el supermercado. La goma xantana es un polímero hidrocoloide comercial producido por la bacteria Xanthomonas campestris. Además de poseer propiedades tensioactivas, la goma xantana es también un formador de viscosidad (es decir, aumenta la viscosidad de las soluciones), lo que la convierte en un componente importante de muchos productos sanitarios y formulaciones de procesamiento de alimentos, por ejemplo, se utiliza para mejorar la vida útil y la textura de los alimentos sin gluten, y se puede encontrar como ingrediente en algunos aderezos para ensaladas, helados, salsas y cremas. Se ha utilizado ampliamente en la industria alimentaria como aditivo alimentario autorizado por sus propiedades espesantes, estabilizantes, emulsionantes, antioxidantes y de alta viscosidad. Incluso se ha utilizado para facilitar la extracción de petróleo crudo de yacimientos subterráneos.

3. Los tensioactivos microbianos en la lucha contra los vertidos de petróleo. Ya sea en tierra o en el mar, los vertidos de petróleo pueden ser devastadores, causando enfermedades y la muerte de muchos tipos diferentes de seres vivos y la destrucción de ecosistemas enteros. El petróleo crudo y sus productos petroquímicos refinados (como el gasóleo o la gasolina) son muy hidrófobos y, por tanto, muy poco solubles en agua. Cuando el petróleo se vierte en el medio ambiente, no se mezcla con la fase acuosa. En el mar, flotará en la superficie debido a su menor densidad en relación con el agua, y se verá como manchas de petróleo. Hay varias especies de microbios, principalmente bacterias, que pueden utilizar los hidrocarburos que componen el petróleo crudo (y sus productos refinados) como fuente de alimento. Este es uno de los métodos más importantes y eficaces de la naturaleza para limpiar los lugares contaminados por petróleo. Algunas de estas bacterias petrolívoras sólo pueden alimentarse de petróleo y de unos pocos compuestos afines, por lo que son bastante especiales. Estas bacterias se encuentran en todos los mares y océanos del mundo, en cantidades extremadamente bajas, son como centinelas, flotando en la columna de agua o en el lecho marino hasta que encuentran petróleo, como cuando se produce un vertido, y entonces empiezan a masticarlo. Es un ejemplo más de que debemos agradecer a los microbios el maravilloso e importante trabajo que realizan, en este caso para mantener limpios nuestros mares y océanos (véase también el MicroStar Abo en la Galería Microstars).

Uno de los principales problemas a los que se enfrentan las bacterias que se alimentan de petróleo es que no pueden entrar en él para comérselo: sólo pueden permanecer en el

exterior de un charco o gota de petróleo, por lo que sólo pueden acceder a su superficie. Por tanto, el factor que limita la velocidad de degradación del petróleo suele ser la superficie de la interfase agua-aceite. Para aumentar la superficie de la interfaz, las bacterias que se alimentan de petróleo producen biosurfactantes (parecidos a un jabón o detergente). Los biosurfactantes se liberan en el agua de mar, donde pueden entrar en contacto directo con el petróleo. Esto ayuda a descomponer el petróleo en pequeñas gotas, como si se tratara de una emulsión, lo que aumenta enormemente la relación petróleo/agua y, por tanto, la disponibilidad de petróleo para las bacterias, en otras palabras, aumenta la biodisponibilidad del petróleo para las bacterias. Los biosurfactantes también aumentan la solubilidad de los hidrocarburos del petróleo, de los que se alimentan las bacterias.

En caso de vertido de petróleo en el mar, se suelen utilizar dispersantes químicos sintéticos como primera línea de respuesta, ya que actúan como biosurfactantes dispersando (o emulsionando) el petróleo y aumentando la solubilidad de los hidrocarburos del petróleo para que las bacterias que lo degradan lo utilicen como alimento. Sin embargo, los dispersantes son sustancias químicas fabricadas sintéticamente en una planta química. Como no son naturales, preocupa su posible toxicidad para la vida marina, de la que existen pruebas. Por ello, los científicos están estudiando el desarrollo de nuevos tipos de dispersantes cuya composición esté formada en gran parte, o en su totalidad, por ingredientes naturales, como los que producen las bacterias que degradan el petróleo y otros microbios.



Surfactantes producidos por microbios durante un vertido de petróleo. Bacterias productoras de biosurfactantes (pequeños puntos verdes brillantes) teñidas con naranja de acridina y vistas al microscopio de epifluorescencia. Los biosurfactantes que producen estas bacterias han provocado la emulsificación del petróleo en pequeñas gotitas (mostradas como manchas verdes).

Relevancia para los Objetivos de Desarrollo Sostenible y los Grandes Retos

Objetivo 3. Garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades (mejorar la salud y la confianza de los consumidores en los ingredientes de sus alimentos, bebidas y otros productos). Aunque una fracción significativa de la demanda del mercado de ingredientes tensioactivos (surfactantes y emulgentes) se satisface actualmente mediante síntesis a partir de productos petroquímicos, una tendencia importante en las industrias alimentaria y sanitaria es la adopción de ingredientes "naturales" con beneficios percibidos para la salud de los consumidores. La legislación europea está empujando al mercado hacia alternativas más naturales y sostenibles a los tensioactivos y emulgentes de síntesis química, impulsada en cierta medida por la concienciación de los consumidores y una consideración conceptual por el medio ambiente. Impulsada en parte por el hecho de que las nuevas directivas de la UE han establecido la prohibición del uso de varios tensioactivos comerciales, existe una fuerte demanda en el sector de la alimentación y las bebidas para sustituir los emulgentes con los siguientes números E: E-431 a 436 Sorbatos y Estearatos, y los E-471 a 495 mono- y di-glicéridos de ácidos grasos. Estos emulgentes se derivan sintéticamente o proceden de fuentes animales, por lo que no está permitido su uso en alimentos ecológicos según la directiva 2092/91 de la UE (49ª edición). Por ello, existe una demanda de alternativas nuevas y naturales que sustituyan a estos emulgentes.

En la industria cosmética, una cuestión importante sobre los tensioactivos es su seguridad biológica, específicamente relacionada con la irritación de la piel. Los tensioactivos más utilizados en esta industria son los tensioactivos sintéticos no iónicos y aniónicos. Los éteres de óxido de etileno no iónicos son compuestos en gran medida impuros y se ha cuestionado su seguridad. Los sulfatos aniónicos y el jabón pueden provocar graves reacciones cutáneas. Dada también la escasa biodegradabilidad de los tensioactivos y emulgentes sintéticos, urge sustituirlos por alternativas naturales no tóxicas, estables y respetuosas con el medio ambiente, cualidades atractivas y demandadas por los consumidores. Varios emulgentes alimentarios naturales de origen vegetal (por ejemplo, la lecitina) utilizados por las industrias alimentarias se producen cada vez más a partir de cultivos modificados genéticamente (MG) en todo el mundo, en particular de soja MG, lo que crea algunas limitaciones para las industrias alimentarias reacias a utilizar productos basados en MG, debido a la percepción pública o a las políticas reguladoras. El suministro de compuestos naturales con las características deseadas iguales a las de los productos tradicionalmente disponibles a partir de animales/plantas añadirá muchos beneficios económicos, sociales y medioambientales. Para ello, los microorganismos que producen biosurfactantes, bioemulsionantes y polímeros son alternativas comercialmente prometedoras a este tipo de productos químicos derivados de la petroquímica, o incluso de plantas y animales, ya que suelen ser fuentes insostenibles. Pero a pesar de las ventajas potenciales de producir estas sustancias químicas a partir de microorganismos, su producción comercial suele ser limitada debido a los rendimientos típicamente bajos y a los elevados costes de producción, lo que constituye un importante cuello de botella que los científicos y la industria intentan resolver.

- Objetivo 6. Gestión sostenible del agua y el saneamiento. Tanto las aguas residuales domésticas como algunas aguas naturales contaminadas por productos químicos contienen componentes grasos/aceitosos cuya eliminación microbiana durante el tratamiento se ve facilitada por los tensioactivos y emulsionantes producidos por los microbios participantes. Así pues, los biosurfactantes y los bioemulsionantes son fundamentales para la limpieza biológica de las aguas, tanto en procesos naturales como artificiales.
- Objetivo 12. Lograr una gestión ambientalmente racional de los productos químicos y los residuos. Muchos de los tratamientos de final de proceso de sustancias químicas que de otro modo contaminarían el medio ambiente, es decir, los tratamientos de ingeniería de aguas

residuales industriales antes de su vertido al medio ambiente, implican compuestos grasos/aceitosos cuya biodegradación implica y de hecho requiere la participación de biosurfactantes y bioemulsionantes producidos por los microbios implicados.

Objetivo 14. Reducir la contaminación marina (reducir los impactos de la contaminación por petróleo y desarrollar medidas de mitigación para tratar los vertidos de petróleo). Los dispersantes que actualmente se almacenan en todo el mundo para su uso en caso de vertidos de petróleo se consideran no tóxicos para la mayoría de los animales acuáticos. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la exposición a concentraciones medias y altas de determinados dispersantes provoca una disminución significativa del asentamiento y la supervivencia de las larvas de dos especies comunes de coral (Porites asteroides y Montastraea faveolata) y de los corales de aguas profundas (Leiopathes glaberrima, Paramuricea tipo B3 y Callogorgia delta). La creciente concienciación de la sociedad sobre los peligros medioambientales asociados al uso de dispersantes químicos ha suscitado un mayor interés por el uso de biosurfactantes de origen natural, que suelen asociarse a una baja toxicidad, una alta biodegradabilidad, una mejor compatibilidad medioambiental y pueden obtenerse de forma sostenible a partir de microorganismos. El desarrollo de una nueva generación de dispersantes que sean tanto o más eficaces que los dispersantes sintéticos comerciales, rentables y con efectos secundarios mínimos cuando entran en contacto con los organismos marinos y los seres humanos, o son ingeridos por ellos, es una vía que ha cobrado fuerza desde el vertido de petróleo de la plataforma Deepwater Horizon en 2010. Uno de los principales problemas recurrentes es la producción de cantidades suficientes de biosurfactantes a partir de microbios, teniendo en cuenta que se utilizan cientos de kilogramos para tratar grandes vertidos de petróleo.

Participación de los alumnos

1. Debate en clase

- a. Presente a los alumnos imágenes de algunos vertidos de petróleo históricos, como el del desastre de Deepwater Horizon ocurrido en el Golfo de México en abril de 2010, o el del vertido del Exxon Valdez ocurrido en Prince William Sound, Alaska, en marzo de 1989. Echa un vistazo a las imágenes que muestran las mareas negras y discute el impacto que causaron en la vida marina, los ecosistemas y las economías locales (por ejemplo, la pesca, el turismo).
- b. Debatir los problemas y retos asociados al desarrollo de sustancias tensioactivas (biosurfactantes/bioemulsionantes y polímeros) para su comercialización. Muchos tipos diferentes de microorganismos producen estas sustancias químicas, y la industria y los consumidores están deseando utilizarlas en lugar de las que se producen a partir del petróleo. Pero, ¿por qué se utilizan tan pocos de los producidos a partir de microbios?

2. Ejercicios

a. Mire en la despensa de su cocina, y también en su supermercado local, y eche un vistazo a sus alimentos procesados favoritos (y no favoritos), como helados, mantequilla/margarina, aliños para ensaladas, chocolatinas, platos precocinados y otros. Fíjese en la sección de ingredientes del envase y compruebe si en la lista aparece algún tensioactivo, emulsionante o polímero: suelen aparecer con el número "E", que suele proceder de la petroquímica. Pero también puede encontrar tensioactivos, emulgentes y polímeros derivados de plantas o microorganismos, como lecitina (normalmente de soja), goma gellan y goma xantana (de bacterias), goma arábiga (de acacia), goma guar (de

leguminosas), agar y carragenano (de algas rojas) y alginato (de algas pardas). En algunos cosméticos y soluciones lavaojos, se puede encontrar hialuronato (un polímero tensioactivo) que es producido por la bacteria estreptococo del grupo A.

Base empírica, lecturas complementarias y material didáctico

- Banat, I. M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M. G., Fracchia, L., et al. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87, 427–444. doi:10.1007/s00253-010-2589-0.
- Chen, W. C., Juang, R. S., and Wei, Y. H. (2015). Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. *Biochemical Engineering Journal* 103, 158–169.doi:10.1016/j.bej.2015.07.009.
- Desai, J. D., and Banat, I. M. (1997). Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61, 47–64. doi:10.1016/S0140-6701(97)84559-6.
- Nikolova, C., Gutierrez, T. (2020) Biosurfactants and their applications in the oil and gas industry: current state of knowledge and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, (under peer review).

Glosario

Acuoso - agua propiamente dicha o una sustancia capaz de disolverse en agua.

Bioemulsionantes - igual que los emulsionantes, pero derivados de fuentes biológicas. Biogénicos - derivados de una fuente biológica o un ser vivo.

Bio-surfactantes - igual que los tensioactivos, pero derivados de fuentes biológicas.

Emulgentes - grupo de sustancias químicas generalmente de alto peso molecular (moléculas grandes) con grupos hidrófilos e hidrófobos que emulsionan (mezclan) sustancias acuosas (solubles en agua) y no acuosas (no solubles en agua, por ejemplo, aceite).

Hidrófilo - amante del agua, capaz de disolverse o mezclarse en agua, o de interactuar con moléculas de agua.

Hidrófobas - que detestan el agua o el aceite, capaces de disolverse o mezclarse en aceite, pero no en agua.

No acuoso - el propio aceite o una sustancia incapaz de disolverse en agua.

Sustancias tensioactivas - tensioactivos y emulgentes con grupos hidrófilos e hidrófobos.

Surfactantes - grupo de sustancias químicas de bajo peso molecular (moléculas pequeñas) con grupos hidrófilos e hidrófobos que reducen la tensión entre las moléculas de agua y aceite.