

NOTA CIENTÍFICA

Biodegradación de xantano por *Bacillus pumilus*

Biodegradation of xanthan gum by *Bacillus pumilus*

Juliana Gimenez, Maite Baztan y Graciela Pucci

Centro de estudio e investigación en microbiología aplicada – Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud – Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Ruta Pcial N 1 km 4 Comodoro Rivadavia CP 9000 Chubut Argentina.

*Autora para correspondencia

Email Juliana Gimenez: juJia11a.g11nenez.lipsa@gmail.com,

Email Maite Baztan: maitebaztan@hotmail.com

Email Graciela Pucci: puccigraciela@gmail.com

Resumen

La goma xantano es utilizada en la industria hidrocarburífera para la extracción terciaria del petróleo. En su utilización en la cuenca del Golfo San Jorge, se observaron inconvenientes con la pérdida de estructura del gel que se forma. Se buscó el agente causal de la pérdida de estructura del gel. Se aisló e identificó a *Bacillus pumilus* como la bacteria capaz de crecer utilizando la goma xantano como única fuente de carbono y energía, modificando la viscosidad del gel y así cambiando sus propiedades.

Palabras claves: goma xantano; viscosidad; *Bacillus pumilus*.

Abstract

Xanthan gum is used in the oil industry for the tertiary extraction of petroleum. In its use in the basin of the Gulf of San Jorge, there were problems with the loss of gum structure. Strain identified by *Bacillus pumilus* was isolated from oil water industry and was grown in the medium with xanthan as carbon source. This change modifies the viscosity of the gum and thus changing its properties.

Keywords: Xanthan; viscosity; *Bacillus pumilus*.

Citación:

Gimenez J., M. Baztan & G. Pucci. 2018. Biodegradación de xantano por *Bacillus pumilus*. Revista peruana de biología 25(1): 043 - 073 (Febrero 2018). doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v25i1.13914>

Presentado: 26/10/2017

Aceptado: 15/12/2017

Publicado online: 27/02/2018

Información sobre los autores:

JG aislamiento e identificación de las cepas; MB: realizó la curva de disminución de la viscosidad; GP: realizó los espectros de IR y redactó el trabajo. JG, MB, GP: revisaron y aprobaron el manuscrito.

Los autores no incurrir en conflictos de intereses.

Journal home page: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/index>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Peruana de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citadas. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con editor.revperubiol@gmail.com.

Introducción

El xantano es un polímero de importancia industrial, producido por *Xanthomonas campestris*. La composición química corresponde a un heteropolisacárido cuya estructura primaria consiste en pentasacáridos repetidos formados por dos unidades de glucosa, dos unidades de manosa y una unidad de ácido glucurónico. Es una estructura compleja que puede ser atacada por enzimas bacterianas (Chen et al. 2014, Liu et al. 2005, Yang et al. 2014). Uno de los usos de la goma xantano es en la industria petrolera, en la recuperación de la extracción hidrocarburos ya que con su inyección se busca desplazar el petróleo del yacimiento, incrementando el factor de recobro recuperación. La preparación de la goma xantano para la recuperación de hidrocarburos se realiza con la utilización de agua de recuperación secundaria, que posee una carga bacteriana. Además, el agua contiene grandes cantidades de sales disueltas que pueden alterar la viscosidad de la goma xantano.

El objetivo de este trabajo fue reconocer las bacterias en aguas provenientes de la industria petrolera con capacidad de utilizar la goma xantano, identificar los géneros capaces de utilizar la goma xantano en la muestra de agua de recuperación de la cuenca del Golfo San Jorge y conocer las curvas de disminución de viscosidad de la goma xantano.

Material y métodos

Aislamiento de cepas degradadoras de xantano.- Muestras de agua provenientes de la industria petrolera para la formación de geles se colocaron, 1 mL en 9 mL del medio de cultivo mineral más xantano (g L⁻¹: NaCl 5, K₂PO₄ 1, KPO₄H₂ 1, (NH₄)₂SO₄ 1, MgSO₄ 0.2, KNO₃ 3, extracto de levadura 0.02 y agregado de 1% de goma xantano). Se cultivaron durante una semana a 28 °C. De este resultado se realizó el aislamiento en el mismo medio solidificado con agar-agar 15 g.

Identificación.- La identificación de las cepas seleccionadas se realizó por FAMES. La extracción de los ácidos grasos de membrana se realizó sobre 40 mg de bacterias comenzando con una saponificación con alcohol metílico-hidróxido de sodio-agua 150 mL: 45 g: 150 mL, seguida de una metilación con ácido clorhídrico 6 N y alcohol metílico, 325 mL: 275 mL, y a continuación una extracción con n-hexano-metil terbutil éter (1:1) y lavado con hidróxido de sodio-agua, 10.8 g – 900 mL (Härtig et al. 2005).

Los ácidos grasos se determinaron como metil ésteres por cromatografía gaseosa, usando una columna capilar Ultra 2 de 25 m de longitud y 0.2 mm de diámetro. El análisis se llevó a cabo con un cromatógrafo HP 6890 series II GC, inyección 'splitless'; presión inicial 10 psi; programa de temperatura: 170 – 288 °C a 28 °C/min, 288 – 310 °C a 60 °C/min, 1.5 min de permanencia a 310 °C, detector por ionización de llama (Pucci & Pucci 2006). La integración de los picos se efectuó mediante HP 10.01 Chem Station, los ácidos grasos fueron identificados utilizando Sherlock 6.0 (MIDI Inc. Newark Del.) con el estándar Agilent 'Calibration standards kit for the microbial identification system'. La composición en ácidos grasos fue calculada como porcentaje del área de pico.

Experiencia de biodegradación.- Se utilizaron bioreactores conteniendo 100 mL de medio de cultivo con xantano por triplicado a los se incubó a 28 °C en frascos color caramelo y con el sistema respirométrico OxiTop® se determinó del consumo de oxígeno.

Disminución de la viscosidad.- La disminución de la viscosidad del medio de cultivo fue medido por la utilización del viscosímetro Brookfield DV-E viscometer (Brookfield) at 25 ± 1 °C con 1 minuto de rotación a diferentes velocidades utilizando spindle S00 y S01 a una concentración del medio de 1.5 gr/L utilizando comunidad degradadora de xantano.

Espectroscopia de Infrarrojo.- El análisis espectroscópico infrarrojo se realizó al medio de cultivo con xantano, al inicio y al final de la experiencia, utilizando el equipo Varian, operados en la ventana espectral de 400 a 4000 cm⁻¹ con 32 scans/muestra con una resolución de 4 cm⁻¹ (Su et al. 2003).

Resultados y discusión

En la búsqueda de bacterias con capacidad de disminuir la viscosidad del xantano, desarrollaron 8 cepas de las cuales la que presentó mejor desarrollo y capacidad de disminución de la viscosidad fue una sola, identificada por la composición de sus ácidos grasos de membrana como *Bacillus pumilus*. La cepa de *B. pumilus* fue cultivada en el medio que contenía la goma xantano como única fuente de carbono y energía, la viscosidad del medio de cultivo decreció y aumento la turbidez del medio por el desarrollo de la bacteria que se volvía a recuperar en placa de cultivo.

La determinación del consumo de oxígeno (Fig. 1), indicó que la goma xantano fue despolimerizada por enzimas que generaría el *B. pumilus* que posteriormente incorporaría y utilizaría los monómeros producidos, la presencia de estas clases de enzimas extracelulares fueron encontradas en otros géneros de *Bacillus* (Cadmus et al. 1982) y resultados similares de cambio de viscosidad en los primeros 48 horas también fueron reportados por *Cellulomonas* sp. (Liu et al. 2005), la degradación enzimática de la goma xantano libera azúcares que permiten desarrollar a las bacterias (Cadmus 1989). La disminución de la viscosidad produce la pérdida de funcionalidad de la goma por la que es usada en la industria petrolera. Este cambio también se evidenció en el espectro de IR con una modificación de los picos a 3200 y 1400 cm⁻¹.

La actividad hidrolítica de *B. pumilus* sería el agente causal de la pérdida de estructura del gel lo cual generaría problemas en

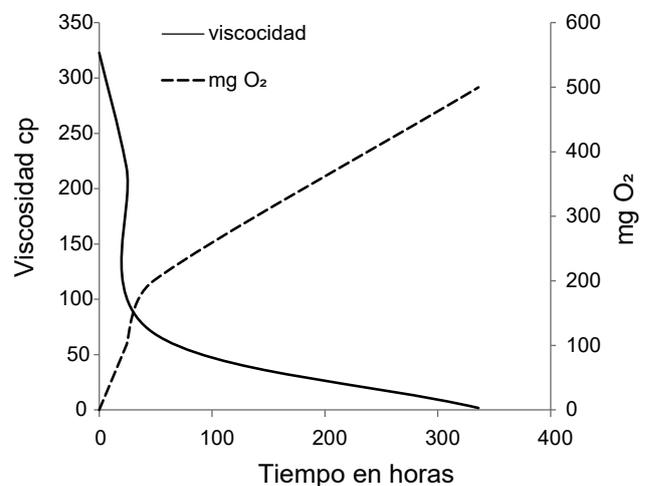


Figura 1. Disminución de la viscosidad de la goma xantano y el consumo de oxígeno por la presencia de *Bacillus pumilus*.

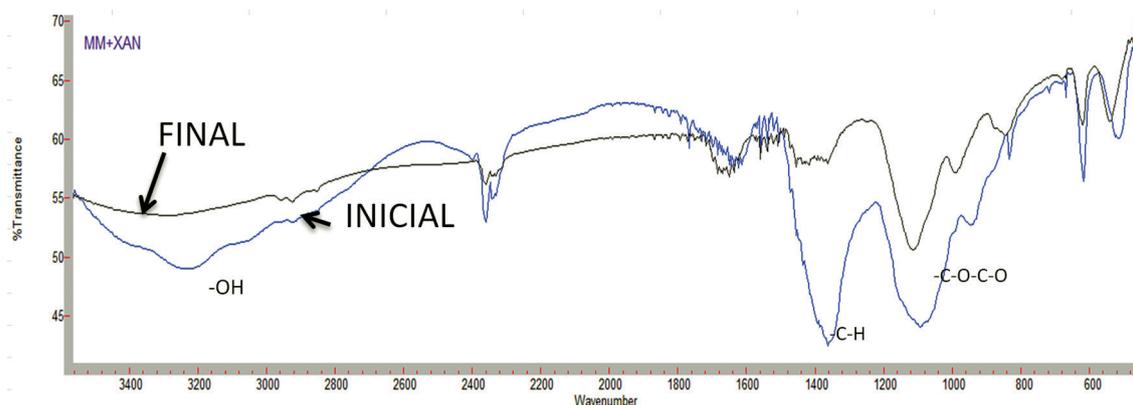


Figura 2. Espectro de infrarrojo de inicio y el final de la experiencia.

el uso de la goma xantano en la actividad petrolera de la cuenca del Golfo San Jorge.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el centro de investigación CE-IMA, al personal no docentes por la preparación de los medios de cultivo y limpieza del material, Mirta Leiva y Mirian Robledo

Literatura citada

- Liu H., C. Huang, W. Dong, Y. Du, X. Bai, & X. Li. 2005. Biodegradation of xanthan by newly isolated *Cellulomonas* sp. LX, releasing elicitor-active xantho-oligosaccharides-induced phytoalexin synthesis in soybean cotyledons. *Process Biochemistry* 40(12):3701-3706. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.05.006>
- Yang F., L. Yang, X. Guo, X. Wang, L. Li, Z. Liu, & X. Li. 2014. Production and purification of a novel xanthanlyase from a xanthan-degrading *Microbacterium* sp. strain XT11. *The Scientific World Journal*. Article ID 368434, 8 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/368434>
- Cadmus M.C., L.K. Jackson, K.A. Burton, R.D. Plattner & M.E. Slodki. 1982. Biodegradation of xanthan gum by *Bacillus* sp. *Applied and Environmental Microbiology* 44(1):5-11.
- Chen X., M. Wang, F. Yang, W. Tang & X. Li. 2014. Isolation and characterization of xanthan-degrading *Enterobacter* sp. nov. LB37 for reducing the viscosity of xanthan in petroleum industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30(5):1549-1557. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1578-8>
- Su L., W.K. Ji, W.Z. Lan & X.Q. Dong. 2003. Chemical modification of xanthan gum to increase dissolution rate. *Carbohydrate Polymers* 53(4):497-499. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00287-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00287-4)

