



CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Artículo original de investigación

Surfactante microbiano para la biorrestauración de ecosistemas impactados con hidrocarburos y metales pesados

Arelis Abalos Rodríguez ^{1*} <https://orcid.org/000-0002-0007-5825>
Yaima Barrios San Martín ² <https://orcid.org/0000-0002-8274-434X>
Odalys Rodríguez Gámez ¹ <https://orcid.org/0000-0001-6511-7064>
María I. Sánchez López ³ <https://orcid.org/0000-0003-3982-486X>
Heydi F. Toledo León ² <https://orcid.org/000-0002-6268-9646>
Isabel A. Aguilera Rodríguez ¹ <https://orcid.org/0000-0003-0940-213X>

¹ Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

² Empresa Comercializadora de Combustibles. La Habana, Cuba

³ Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana. La Habana, Cuba

*Autor para la correspondencia: aabalos@uo.edu.cu

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

RESUMEN

Introducción: Los ramnolípidos, surfactantes microbianos glicolipídicos, poseen excelentes propiedades superficiales, son biodegradables, con baja toxicidad y alta efectividad en condiciones extremas de pH, temperatura y salinidad. Exhiben actividad antimicrobiana frente a bacterias y hongos. Su empleo en biorremediación y biodegradación de hidrocarburos y la remoción de metales pesados en ambientes contaminados son las aplicaciones más estudiadas. **Objetivo:** Evaluar el proceso de biorrestauración de suelos contaminados por la industria petrolera nacional aplicando un crudo de ramnolípidos. **Métodos:** Se empleó el crudo de ramnolípidos del cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* Y3-B1A en medio mineral con glicerol como fuente de carbono. La concentración de vanadio se determinó por espectroscopía de absorción atómica con plasma inductivamente acoplado, mientras que la efectividad de los biosurfactantes y el seguimiento analítico de la biodegradación se evaluó gravimétricamente. **Resultados:** Se logró 85,4 % de remoción de vanadio. La utilización del crudo de biosurfactante Y3-B1A estimuló en un 62 % la biodegradación de los hidrocarburos presentes en suelos. La aplicación del crudo Y3-B1A en suelos impactados en la refinería Níco López de La Habana, utilizando la técnica de bioestimulación en parcelas; permitió alcanzar un 34 % de la biodegradación para hidrocarburos totales y aromáticos, en tanto que para la fracción de grasas y aceites fue del 86 %. **Conclusiones:** La biorrestauración de ecosistemas con ramnolípidos demostró ser una alternativa respetuosa con el medio ambiente y con ventajas económicas. Los resultados obtenidos condicionaron la aplicación del crudo en la biorrecuperación de suelos contaminados en la base de supertanqueros de Matanzas y se introdujeron en la docencia de pregrado y postgrado en las universidades de Oriente y La Habana.

Palabras clave: ramnolípidos; biorremediación; hidrocarburos; metales pesados

Microbial surfactants for bioremediation of ecosystems impacted with hydrocarbons and heavy metals

ABSTRACT

Introduction: Rhamnolipids, microbial glycolipidic surfactants, possess excellent surface properties, are biodegradable, with low toxicity and high effectiveness under extreme conditions of pH, temperature and salinity. They exhibit antimicrobial activity against bacteria and fungi. Their use in bioremediation and biodegradation of hydrocarbons and the removal of heavy metals in contaminated environments are the most studied applications. **Objective:** To evaluate the bioremediation process of soils contaminated by the national oil industry by applying a rhamnolipid crude oil. **Methods:** It was used rhamnolipid crude from *Pseudomonas aeruginosa* Y3-B1A culture in mineral medium with glycerol as carbon source. It was determined the vanadium concentration by inductively coupled plasma atomic absorption spectroscopy, while biosurfactant effectiveness and analytical monitoring of biodegradation was evaluated gravimetrically. **Results:** It was achieved 85.4% vanadium removal. The use of biosurfactant crude Y3-B1A stimulated the biodegradation of hydrocarbons present in soils by 62%. The application of Y3-B1A crude oil in impacted soils in the Níco López refinery in Havana, using the bio stimulation technique in plots; allowed reaching 34% of biodegradation for total and aromatic hydrocarbons, while it was 86% for the fraction of fats and oils. **Conclusions:** Bioremediation of ecosystems with rhamnolipids proved to be an environmentally friendly alternative with economic advantages. The obtained results conditioned the application of crude oil in the bioremediation of contaminated soils in the supertanker base of Matanzas and were introduced in undergraduate and graduate teaching in the universities of Oriente and La Habana.

Keywords: rhamnolipids; bioremediation; bioremediation; hydrocarbons; heavy metals

INTRODUCCIÓN

Los ramnolípidos (RL) son biosurfactantes glicolipídicos característicos de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. Comúnmente se describen como una mezcla de homólogos de variada composición. ⁽¹⁾ Estructuralmente el enlace éster (COOR) y el enlace glicosídico (COC) (figura1) son los responsables de las propiedades químicas y físico-químicas de los ramnolípidos. ^(2,3) Estas moléculas son estables a temperaturas elevadas, muy solubles en álcalis y solventes polares, muy poco solubles en agua e insolubles en ácidos minerales y hexano. ⁽⁴⁾ En la molécula el β -hidroxiácido aporta las propiedades hidrofóbicas mientras que, el anillo de α -L-ramnopiranos (C₆H₁₂O₅) y el grupo carboxilo (COOH) las propiedades hidrofílicas. El carboxilo además, determina el carácter aniónico del biosurfactante y es el responsable de las reacciones de esterificación.

Los ramnolípidos reducen la tensión superficial del agua desde 72 mN/m hasta (28-30) mN/m y la interfacial de 43 a 1mN/m. ^(5,6,7,8,9) La formación de micelas ocurre en el rango de 10 mg/L a 200 mg/L y estabilizan emulsiones o/w por 60 d y más con índices de emulsificación superiores al 50 %. ^(10,11,12,13) Biológicamente los ramnolípidos exhiben actividad antitumoral y antimicrobiana. ^(8,14,15,16,17,18)

Debido a sus propiedades físico-químicas y biológicas estos surfactantes microbianos tienen múltiples aplicaciones. La más frecuente es con fines ambientales. Se ha demostrado que los ramnolípidos pueden emplearse para remover hidrocarburos (biorremediación y biodegradación) y metales pesados lo que permite la biorrestauración de ecosistemas impactados. La capacidad de los ramnolípidos de combinarse con iones metálicos específicos ha estimulado el uso de estos surfactantes en su remoción de ecosistemas diversos, sin embargo, las investigaciones en matrices de suelos, sedimentos y aguas son limitadas. ^(19,20) Los metales más estudiados son cadmio, zinc, mercurio, cobre, hierro, níquel, plomo y cromo. ^(9,21) Recientemente se ha evaluado la aplicación de ramnolípidos en la eliminación de vanadio de lodos petrolizados. ⁽²²⁾

Las primeras aplicaciones de los surfactantes microbianos en la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos estaban dirigidas a su empleo en la bioestimulación de microorganismos degradadores y posteriormente; se fueron aplicando en la extracción directa de hidrocarburos. ^(23,24) La estabilidad y eficiencia de los ramnolípidos en la extracción de hidrocarburos en suelos, así como los porcentajes de eliminación alcanzados en la remediación de ecosistemas impacta-

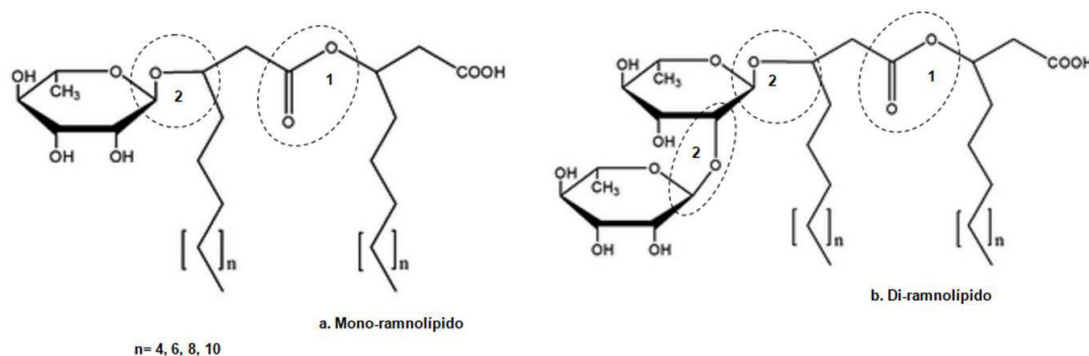


Fig. 1. Estructura general de los mono (a) y di (b) ramnolípidos. Con línea de puntos se identifican los enlaces éster (1) y glicosídico (2) Fuente: Elaboración propia

dos, facilita su aplicación en la recuperación asistida de crudo en los pozos petroleros. ⁽²⁵⁾

El empleo de ramnolípidos y otros surfactantes microbianos es una tecnología ecoamigable muy difundida en los últimos años para recuperar sitios contaminados por el efecto positivo en la biodegradación de hidrocarburos y remoción de metales pesados. ^(20,26,27,28,29,30) El objetivo del trabajo es evaluar el proceso de biorrestauración de suelos contaminados por la industria petrolera nacional aplicando un crudo de ramnolípidos de la cepa *Pseudomonas aeruginosa* Y3-B1A.

MÉTODOS

La obtención del crudo de ramnolípidos Y3-B1A se realizó en el laboratorio, mientras que la evaluación de la aplicación del surfactante ramnolípido Y3B1A se efectuó en suelos contaminados por metales pesados e hidrocarburos del petróleo de la refinería Níco López por un período de 6 meses.

Producción y obtención del crudo de ramnolípidos Y3-B1A

La producción de ramnolípidos por la cepa autóctona *Pseudomonas aeruginosa* Y3-B1A se llevó a cabo en reactor de 1L, utilizando medio mínimo mineral (MMM) y glicerol (4 % m/v) como fuente de carbono. Se añadió una concentración de biomasa inicial de 2,1 g/L y 1,25 % de inductor (caldo libre de células de un cultivo de 96 h con la misma fuente de carbono) en 4l ciclos de 60 h de cultivo semicontinuo. El cultivo se mantuvo a 130 r/min con un flujo de aire de 1 vvm, pH = 7 g y 0,5 g de antiespumante. Al finalizar el cultivo se determinó la productividad volumétrica y la concentración de ramnolípidos. La productividad volumétrica (PV) se determinó según la ecuación 1, en tanto que la cuantificación de los ramnolípidos se realizó espectrofotométricamente utilizando ramnosa como patrón y curva de calibrado para el cálculo. ⁽³¹⁾ Se utilizó un factor de 3 para la conversión ramnosa/ramnolípido. ⁽⁸⁾

$$PV = \frac{dP}{dt} \quad (1)$$

donde: P = concentración de ramnolípidos, t = tiempo

El crudo de ramnolípidos Y3-B1A (figura 2) para la biorrestauración de sitios contaminados con hidrocarburos y metales pesados, se obtuvo del caldo agotado libre de células obtenido por centrifugación (5000 rpm, 15 min) del cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* Y3-B1A. La inactivación de la viabilidad celular se realizó con calor húmedo (121 °C; 15 min).

Remoción de vanadio

La remoción de vanadio se realizó tratando 1g de suelo contaminado con 10 mL del crudo Y3-B1A (240 mg/L) por 72 h en agitación. La determinación analítica se realizó por espectroscopía de emisión atómica de plasma inductivamente acoplado (ICP-AES). Se utilizaron soluciones patrones certificadas de vanadio. El porcentaje de metal extraído (% extraído) se calculó según la ecuación (2), teniendo en cuenta la concentración de metal en la solución inicial (control) y la concentración de metal en la muestra, luego del tratamiento con el surfactante Y3-B1A (C remanente).

$$\% M_{\text{extraído}} = \frac{C_{\text{control}} - C_{\text{remanente}}}{C_{\text{control}}} \times 100 \quad (2)$$

Remoción de hidrocarburos aplicando el crudo Y3-B1A

Los ramnolípidos Y3-B1A se aplicaron en parcelas (figura 3) de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando la variante de biorremediación por bioestimulación. Las parcelas se ubicaron en terrenos de la refinería Níco López, empleando 50 L de crudo Y3-B1A.



Fig. 2. Crudo ramnolípido Y3-B1A obtenido del cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* Y3-B1A en MMM con glicerol como fuente de carbono

Cuantificación de la remoción de hidrocarburos aplicando los crudos ORA9 y Y3-B1A

Se realizó mediante la determinación gravimétrica de los hidrocarburos totales, previa extracción con solvente. ⁽³²⁾ En todos los casos se corrigen las muestras respecto a un control y se determina el porcentaje de biodegradación según la ecuación 3.

$$\% Hs_{extraídos} = \frac{Hs_{en\ el\ suelo} - Hs_{no\ extraídos}}{Hs_{en\ el\ suelo}} \times 100 \quad (3)$$

Análisis estadístico

Los resultados, promedio de 3 mediciones independientes, se procesaron con el programa estadístico Statgraphics Centurión XV 15.2.14 con un nivel de significación ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

Producción y obtención del crudo de ramnolípidos Y3-B1A: Se obtuvieron 180,78 g/L de ramnolípidos con una productividad volumétrica a 0,753 g/ Lh en 60 h de cultivo.

Remoción de vanadio: Con el crudo de biosurfactante Y3-B1A se alcanzó un 85,5 % de eliminación de vanadio. La concentración del crudo utilizada fue de 240 mg/L, equivalente a 2,0 x CMC.

Remoción de hidrocarburos: La bioestimulación de la población degradadora de hidrocarburos utilizando el crudo de ramnolípidos Y3-B1A (0,1 L/m²) permitió la biodegradación del 36,7 % de hidrocarburos totales y un 63,7 % de la fracción aromática (tabla 1); lográndose un incremento de degradación superior al 30 % respecto a otras estrategias de biorremediación.

DISCUSIÓN

Producción y obtención del crudo de ramnolípidos Y3-B1A

La combinación de concentración de biomasa inicial óptima con la adición de inductor en 4 ciclos de cultivo discontinuo incrementó la productividad volumétrica y la producción de ramnolípidos, aspecto novedoso en la investigación. Se plantea que la concentración de inductores endógenos favorece la



Fig. 3. Biorremediación de suelos contaminados con petróleo en la refinería Níco López aplicando bioestimulación con ramnolípidos Y3-B1A. Fuente: Barrios Y y Toledo H

Tabla 1. Biodegradación de hidrocarburos en parcelas de la refinería Níco López aplicando ramnolípidos Y3-B1A durante 30 d. Letras iguales no presentan diferencias significativas ($\alpha = 0,05$)

Fracción	% biodegradación
Hidrocarburos totales del petróleo (TPH)	36,7 a \pm 3,3
Grasas y aceites	37,1 a \pm 3,3
Saturados	0,1 a \pm 0,1
Aromáticos	63,7 a \pm 5,3
Resinas	28,3 b \pm 1,5
Asfaltenos	22,7 b \pm 7,5

Fuente: Elaboración propia

excreción de la enzima ramnosiltransferasa, que es clave en la síntesis de los ramnolípidos.⁽²⁴⁾ La obtención del crudo por centrifugación y posterior inactivación de la viabilidad celular por calor húmedo permitió disponer de un producto apto para aplicaciones ambientales de biorrestauración de ecosistemas sin altos costos por concepto de recuperación y purificación respecto a otros métodos como la extracción con solventes.^(13,33)

Remoción de vanadio

El carácter iónico de los ramnolípidos determina su empleo en la remoción de metales pesados debido a la afinidad de los cationes por los surfactantes de cargas negativas.⁽³⁴⁾ Aplicando el biosurfactante de *Candida sphaerica* se observó una remoción similar a la alcanzada con el crudo Y3-B1A, al tratar contaminación por cadmio y plomo. Chen y colaboradores, aplicando soluciones de ramnolípidos al 0,8 % a sedimentos contaminados con metales pesados, obtuvieron valores de remoción de Cd y Cu superiores al 80 %, mientras que la remoción de Pb y Cr fue de 63,54 % y 47,85 %, respectivamente. El tiempo de contacto fue de 12 h.^(35,36)

La investigación demostró que existe una relación directa entre la extracción y la concentración de metal. No obstante, el tiempo de contacto y la relación ramnolípidos/agua son factores de gran influencia en la remoción del metal.⁽³⁰⁾ La interacción metal-biosurfactante es un campo poco estudiado. Los mecanismos por los cuales ocurre la unión metal-surfactante incluyen el intercambio iónico, asociación ión-contraión e interacción electrostática.⁽³⁷⁾ Sin embargo, la capacidad de los biosurfactantes para formar complejos con los metales es la principal razón por la cual se utilizan en la remediación de ambientes contaminados con metales pesados. Específicamente los biosurfactantes aniónicos, que es el caso de los ramnolípidos (ver figura 1), forman enlaces iónicos con los metales, generando complejos no iónicos o compuestos de coordinación de gran estabilidad.⁽³⁸⁾

Remoción de hidrocarburos

Se plantea que la adición de ramnolípidos incrementa la biodegradación de hexadecano, octadecano, n-parafinas y otras mezclas de hidrocarburos y mejora, además, el proceso de biorremediación de lodos y suelos petrolizados. Experiencias previas en el lavado de suelos contaminados con petróleo aplicando el crudo ramnolípidico ORA9, donde se obtuvo el 57 % de remoción de hidrocarburos de arena contaminada, establecieron las premisas del empleo del crudo Y3-B1A en condiciones de bioestimulación de una población degradadora de hidrocarburos.⁽³⁹⁾

La biodisponibilidad del contaminante es un factor limitante para el éxito del proceso de biodegradación.⁽⁴⁰⁾ El mecanismo por el cual los surfactantes microbianos son capaces de remover hidrocarburos del suelo ocurre en 2 pasos: a) la movilización (concentraciones menores que la CMC) asociada con la reducción de las tensiones superficial e interfacial, reducción de la fuerza capilar y el ángulo de contacto y b) la solubilización (concentraciones mayores que la CMC) debido a la formación de las micelas.

Las investigaciones sobre el tema no coinciden en la manera de presentar los mecanismos de eliminación de hidrocarburos en suelos impactados aplicando ramnolípidos o biosurfactantes en general, no obstante, el mecanismo propuesto para la remoción y biodegradación de los hidrocarburos coincide en: a) incremento de la biodisponibilidad del sustrato para los microorganismos y b) interacción del ramnolípidos con la superficie celular ya sea por emulsificación, micelización o solubilización.^(41,42) Estas propuestas implican la reducción de la tensión superficial y cambios en la membrana celular para aumentar la hidrofobicidad, facilitando la asociación de sustratos hidrofóbicos con las células bacterianas.⁽²⁷⁾ Esta asociación se debe a reacciones químicas del grupo carboxilo con grupos amino, fosfatos, hidroxilos de los diferentes componentes de la membrana celular.⁽⁴³⁾ Se demostró, además, que la bioestimulación con el crudo Y3-B1A

no causa toxicidad al suelo, al detectarse una tasa de mortalidad del 5 % en el modelo biológico (*Eisenia andrei*) evaluado. ⁽¹³⁾

Conclusiones

La aplicación del surfactante microbiano rhamnolípido Y3-B1A es una opción válida y segura para la eliminación de vanadio de sedimentos contaminados y favorece la biodegradación de hidrocarburos; constituyendo una alternativa prometedora para la biorrestauración de ecosistemas impactados por procesos del petróleo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdel-Mawgoud AM, Lépine F, Déziel E. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010;86:1323-36.
2. Jarvis FG, Johnson MJ. A Glyco-lipide produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Am Chem Soc.* 1949;71:4124-6.
3. Edwards JR, Hayashi JA. Structure of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch. Biochem. Biophys.* 1965;111:415-21.
4. Akbari S, Abdurahman NH, Yunus RM, Fayaz F, Alara OR. Biosurfactants -a new frontier for social and environmental safety: a mini review. *Biotechnol. Res. Innov.* 2018a;2:81-90.
5. Najmi Z, Ebrahimipour G, Franzetti A, Banat IM. Investigation of physico-chemical properties and characterization of produced biosurfactant by selected indigenous oil- degrading bacterium. *Iran. J. Public Health.* 2018;47:1151-9.
6. Tiwary M, Dubey AK. Characterization of biosurfactant produced by a novel strain of *Pseudomonas aeruginosa*, isolate ADMT1. *J. Surfactants Deterg.* 2018;21:113-25.
7. Gogoi D, Bhagowati P, Gogoi P, Bordoloi NK, Rafay A, Dolui SK, Mukherjee AK. Structural and physico-chemical characterization of a dirhamnolipid biosurfactant purified from *Pseudomonas aeruginosa*: Application of crude biosurfactant in enhanced oil recovery. *RSC Adv.* 2016;6:70669-81.
8. Abalos A, Pinazo A, Infante R, Casals M, García F, Manresa A. Physico-chemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir.* 2001;17:1367-71.
9. Rodríguez O, Abalos A, Vilasó E, Cabrera JG. Screening and characterization of biosurfactant-producing bacteria isolated from contaminated soils with oily wastes. *J. Environ. Treat. Tech.* 2017;5:5-11.
10. Lang S, Wullbrandt D. Rhamnolipids- biosynthesis, microbial production and application potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1999;51:22-32.
11. Gargouri B, Contreras MM, Ammar S, Segura-Carretero A, Bouaziz M. Biosurfactant production by the crude oil degrading *Stenotrophomonas* sp. B-2: chemical characterization, biological activities and environmental applications. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2017;24:3769-79.
12. Shahalyan F, Safahieh A, Abyar H. Evaluation of Emulsification Index in Marine Bacteria *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* sp. *Arab. J. Sci. Eng.* 2015;40:1849-54.
13. Barrios Y, Toledo H, Abalos A, Acosta S, Sánchez MI. Aplicación de rhamnolípido de *Pseudomonas* sp. Y3-B1A en la biodegradación de hidrocarburos a diferentes escalas. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 2022;38:373-87.
14. Zhao J, Wu Y, Alfred AT, Xin X and Yang S. Chemical structures and biological activities of rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* M14808. *J Chem Pharm Res.* 2013;5:177-82.
15. Magalhães L, Nitschke M. Antimicrobial activity of rhamnolipids against *Listeria monocytogenes* and their synergistic interaction with nisin. *Food Control;* 2013;29:138-42.
16. Dashtbozorg SS, Invally K, Sancheti A, Ju LK. Antimicrobial applications of rhamnolipids agriculture and wound healing. In: *Microbial biosurfactants and their environmental and industrial applications* [Internet]. 2019 [citado 19 sep 2023];4. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/b21950>
17. Firdose A, Msarah MJ, HazrinNH, Aqma WS. Extraction and antimicrobial activity of rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* UKMP14T. *Malays.J.Microbiol.* 2021;17:103-12.
18. Zhao F, Wang B, Yuan M, Ren S. Comparative study on antimicrobial activity of mono-rhamnolipid and di-rhamnolipid and exploration of cost-effective antimicrobial agents for agricultural applications. *Microbial Cell Factories* [Internet]. 2022 [citado 19 sep 2023];21:221. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01950-x>
19. Chellaiah ER. Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Appl. Water Sci* [Internet]. 2018 [citado 19 sep 2023];8:154. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0796-5>
20. Kholghi N, Amani H, Malekmahmoodi S, Amiri A. investigation on heavy metal removal from a crude oil contaminated soil using rhamnolipid biosurfactant as a new eco-friendly method. *Tenside Surfactants Deterg.* 2020;57:515-520.
21. Elemba M, Ijah UJ. Removal of lead and chromium from soil using biosurfactants produced by bacterial isolates from spent lubricating oil contaminated soil. *International Journal of Advanced Research.* 2016;4(5):201-11.
22. Barrios Y, Toledo H, Abalos A, Marqués AM, Sánchez MI. Rhamnolipids application for the removal of vanadium from contaminated sediment. *Curr. Microbiol.* 2021;78:1949-60.
23. Pirog TP, Konon AD, Savenko IV. Microbial surfactants in environmental technologies. *Biotechnol. Acta.* 2015;8:21-39.
24. Vigneshwaran C, Jerold M, Vasantharaj K, Sivasubramanian V. A Review on biosurfactants and its environmental applications. *J. Environ. Sci. Toxicol. Food Technol.* 2016;10:152-60.
25. Vilasó JE, Rodríguez O, Abalos A. Extracción de petróleo en suelo contaminado empleando rhamnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* ORA9. *Rev. Int. Contam. Ambie* [Internet]. 2017 [citado 19 sep 2023];33:485-93. Disponible en: <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.03.11>
26. Usman M, Dadrasnia A, Lim K, Mahmud A, Ismail S. Application of biosurfactants in environmental biotechnology; remediation of oil and heavy metal. *AIMS Bioeng.* 2016;3:289-304.
27. Akbari S, Nour A, Farhan AH. Biosurfactants as promising multifunctional agent: A mini review. *Int. J. Innov. Res. Sci. Stud.* 2018;1:1-5.
28. Eslami P, Hajfarajollah H y Bazsefidpar S. Recent advancements in the production of rhamnolipid biosurfactants by *Pseudomonas aeruginosa*. *RSC Advances.* 2020;10:34014-32.

29. Slizovskiy I, Kelsey Y, Hatzinger P. Surfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils: efficacy and toxicological consequences to earthworms. *Environ. Toxicol. Chem.* 2011;30:112-23.
30. Rodríguez O, Pérez R, Aguilera I, Pérez RM, Abalos A. Remoción de cobre de aguas contaminadas empleando rhamnolípidos. *Rev. Cubana Quím.* 2020;32:511-52.
31. Rodríguez O, Vilasó JE, Aguilera I, Abalos A. Validación por verificación del método colorimétrico de la antrona para la cuantificación de rhamnolípidos. *Rev. Cubana Quím.* 2013;XXV:287-94.
32. Urum K, Pekdemir T, Copur M. Surfactants treatment of crude oil contaminated soils. *J Colloid Interface Sci.* 2004;276:456-64.
33. Abalos A, Rodríguez O, Barrios Y. La química analítica en la separación, purificación, caracterización y cuantificación de rhamnolípidos. *Revista CNIC Ciencias Químicas [Internet].* 2023 [citado 19 sep 2023];54:147-65. Disponible en: <https://revista.cnic.cu/index.php/RevQuim/article/view/4069>
34. Gong Y, Zhao D, Wang Q. An overview of field-scale studies on remediation of soil contaminated with heavy metals and metalloids: Technical progress over the last decade. *Water Res.* 2018;147:440-60.
35. Luna JM, Rufno RD, Sarubbo LA. Biosurfactant from *Candida sphaerica* UCP0995 exhibiting heavy metal remediation properties. *Process Saf Environ Prot.* 2016;102: 558-66.
36. Chen T, Liang J, He J, Hu X, Ge Z, Liu J. A novel rhamnolipid producing *Pseudomonas aeruginosa* ZS1 isolate derived from petroleum sludge suitable for bioremediation. *AMB Express [Internet].* 2017 [citado 19 sep 2023];7:120. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0418-x>
37. Rufino R, Luna J, Campos-Takaki G, Ferreira S, Sarubbo L. Application of the biosurfactant produced by *Candida lipolytica* in the remediation of heavy metals. *Chem Eng Trans.* 2012;27:61-6.
38. Akintunde TA., Abioye OP, Oyeleke SB, Boboye BE, Ijah UJ. Remediation of iron using rhamnolipid-surfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Res. J. Environ. Sci.* 2015;9:169-77.
39. Abalos A, Rodríguez O, Pérez RM. Evaluación del empleo de microorganismos en la remoción de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba.* 2022;12(1):1055-8.
40. Feng L, Jiang X, Huang Y, Wen D, Fu T, Fu R. Petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation assisted by isolated bacterial consortium and sophorolipid. *Environ. Pollut [Internet].* 2021 [citado 19 sep 2023]; 273: 116476. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116476>
41. Franzetti A, Gandolfi I, Bestetti G, Banat IM. Biosurfactant and Bioremediation, Successes and Failures, En: Plaza G, editor. *Trends in Bioremediation and Phytoremediation, Research Signpost;* 2010.145-56.
42. Pacwa-Płociniczak M, Płaza GA, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS. Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* 2011;12:633-54.
43. Shao B, Liu Z, Zhong H, Zeng G, Liu G, Yu M, Liu Y, Yang X, Li Z, Fang Z, Zhang J, Zhao C. Effects of rhamnolipids on microorganism characteristics and applications in composting: A review. *Microbiol Res.* 2017;200:33-44.

Agradecimientos

Las autoras del trabajo agradecen la colaboración de: Dayana M. Beyra Fernández por el apoyo brindado en la aplicación de los surfactantes microbianos Y3-B1A en la refinería Níco López, Silvia Acosta Díaz, José Gregorio Cabrera Gómez, Ranyer Hayes García, Francisca González Hernández, Sara N. Jiménez Volkerink por su contribución en las diferentes etapas de investigación para lograr las publicaciones. A las Dr.C. Ana Marqués, Magda Grifoll y principalmente a Angels Manresa de la Universidad de Barcelona por facilitar el equipamiento necesario para la caracterización físico-química del crudo Y3-B1A y la evaluación de la biodegradación de los hidrocarburos previa aplicación del crudo rhamnolípido. Un agradecimiento especial a las estudiantes Ana Julia Villa Zamora y Amalia Plá Pérez por participar creativamente en la evaluación de surfactantes microbianos en la remoción de hidrocarburos. Las autoras agradecen también, al Centro de Estudios de Biotecnología Industrial de la Universidad de Oriente, el departamento de Microbiología de la facultad de Biología de la Universidad de La Habana, la Unión CubaPetróleo, el Centro de Investigación del Petróleo, la Empresa Comercializadora de Combustibles y la Refinería Níco López. A los profesores Dr. C. Rosa María Pérez Silva, Dr. C. Pedro D. Muné Bandera y Luis E. Bergues Cabrales por sus valiosas sugerencias.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, ni con la investigación presentada.

Contribuciones de los autores

- Conceptualización: Arelis Abalos Rodríguez
- Curación de datos: Yaima Barrios San Martín, Isabel Arelis Aguilera Rodríguez, Heidy Flora Toledo León
- Análisis formal: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín, María Isabel Sánchez López, Odalys Rodríguez Gámez
- Adquisición de fondos: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín
- Investigación: Yaima Barrios San Martín
- Metodologías: Yaima Barrios San Martín
- Administración de proyecto: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín
- Recursos: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín
- **Software:** Yaima Barrios San Martín
- Supervisión: Arelis Abalos Rodríguez, María Isabel Sánchez López, Odalys Rodríguez Gámez
- Validación: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín, María Isabel Sánchez López
- Visualización: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín
- Redacción-borrador original: Arelis Abalos Rodríguez, Yaima Barrios San Martín
- Redacción-revisión y edición: Arelis Abalos Rodríguez

Financiamientos

La investigación fue financiada por los proyectos Biosurfactantes producidos por microorganismos y su uso en la industria petrolera del Centro de Investigación del Petróleo (Ceinpet) y Biorrecuperación de ecosistemas contaminados con hidrocarburos aplicando surfactantes de origen microbiano de la Universidad de Oriente.

Recibido: 28/07/2024

Aprobado: 28/09/2024

Cómo citar este artículo

Abalos A, Barrios Y, Sánchez MI, Rodríguez O, Toledo HF, Aguilera IA. Surfactante microbiano para la biorrestauración de ecosistemas impactados con hidrocarburos y metales pesados. *An Acad Cienc Cuba* [internet] 2024 [citado en día, mes y año];14(4):e1655. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1655>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial) © Los autores, 2024.

