

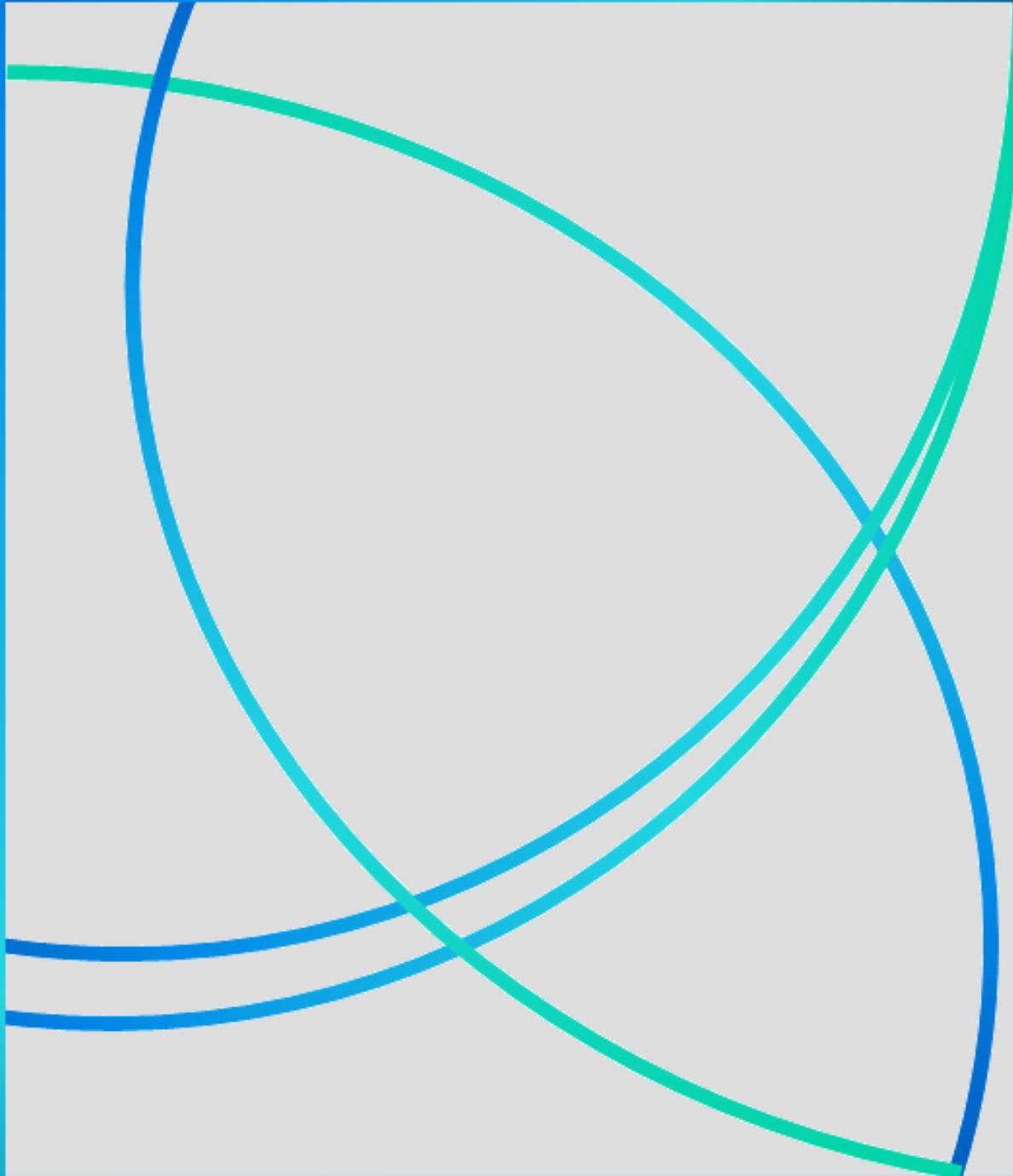


Depósito Legal ppi 201502ZU4668

Vol. 25, N° 2

Abril - Junio 2017

CIENTICIA



Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa
Depósito Legal: pp 199302ZU47
ISSN: 1315-2076

**An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia**

Vol. 25, Nº 2, Abril - Junio, 2017

ISSN: 1315-2076

Depósito legal pp 199302ZU47

CIENCIA

An International Refereed Scientific Journal of the Facultad Experimental de Ciencias at the Universidad del Zulia devoted to publish original research in Biology, Chemistry, Computer Sciences, Mathematics and Physics
Maracaibo, Venezuela

REGINA VALLEJO, Executive Editor
CARLOS DE LA CRUZ, Honorary Editor

Editorial Board

Miguel de la Guardia, Universidad de Valencia (España) Orlando Ferrer, Universidad del Zulia (Venezuela)
Ralp Sturgeon, National Reserch Center (Canadá) Jenny Pantoja, Universidad del Zulia (Venezuela)
Eduardo R. Chávez, McGill University (Canadá) Carlos Durante, Universidad del Zulia (Venezuela)
Jerome O. Nriagu, The University of Michigan (USA) José Fermín, Universidad del Zulia (Venezuela)
Mario Werner, The George Washington University (USA) Milton Quero, Universidad del Zulia (Venezuela)
Sergio M. Rezende, UFPE (Brasil) Doris Parra, Universidad del Zulia (Venezuela)
Antonio A. Costa, UFPE (Brasil) Jeanette Zárraga, Universidad del Zulia (Venezuela)
Jean L. Salager, Universidad de Los Andes (Venezuela) Fredy Ysambertt, Universidad del Zulia (Venezuela)
Héctor Severeyn, Universidad del Zulia (Venezuela) Merlin Rosales, Universidad del Zulia (Venezuela)
Edixo Rosales, Universidad del Zulia (Venezuela)

Secretary

Betzabet Méndez

This Journal is covered in:

Analytical Abstracts (RSC), Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA)
Bibliography and index of Geology, Biosis, Chemical Abstracts, Latindex, Physics
Abstracts, Revencyt, Zoological Record, Zentralblatt für Mathematik / Mathematics
Abstracts

This Journal is supported by Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico
(CONDES) de la Universidad del Zulia

Aim and Scope

CIENCIA publishes original papers, preliminary Communications, technical notes, and reviews dealing with modern scientific aspects of Biology, Computer Sciences, Mathematics, Physics and Chemistry. Relevant papers in Environmental Chemistry and Food Chemistry are also invited to be submitted. Manuscripts should be addressed to: Dra. Marynes Montiel (Executive Editor) or Dr. Regina Vallejo (Associate Editor). Editorial Office of CIENCIA, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Telephone/Fax: +58 261 4127719. Maracaibo, Venezuela. E-mail: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Web Page: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia>.

Description

Manuscripts submission is understood to imply that the article is original and unpublished and is not being considered for publication elsewhere. CIENCIA accepts papers in Spanish and English only. There are no pages charge. Manuscripts should conform in layout and style to the papers published in this issue. See the "Instruction for Authors" that appear in every issue of CIENCIA.

Publication

CIENCIA (ISSN 1315-2076/Legal Deposit pp 199302ZU47) is a publication of the Experimental Faculty of Sciences at the Universidad del Zulia. Vol. 1 (1993) and Vol. 2 (1994) appeared with two issues each year. From Vol. 3 (1995) until Vol. 8 (2000), three issues per year. From Vol. 9 (2001) in ahead, this publication appeared with four issues each year. Vol. 24 appears in 2016. The articles published in this Journal are protected by Copyright.

CIENCIA

Alcance

CIENCIA publica artículos originales, comunicaciones preliminares, notas técnicas, comunicaciones cortas y revisiones relacionadas con todos los aspectos científicos modernos de la Biología, Ciencias de la Computación, Matemáticas, Física y Química. Artículos significativos en el área de Química Ambiental y Química de los Alimentos también pueden ser publicados en CIENCIA. Los manuscritos deben ser dirigidos a Dra. Regina Vallejo (Editora Ejecutiva). Oficina Editorial de CIENCIA, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Teléfono/Fax: +58 261 4127719. E-mail: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Página Web: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia>.

Descripción

El envío de un manuscrito a CIENCIA supone que éste es original y no ha sido publicado ni está siendo considerada su publicación en otra revista. CIENCIA acepta manuscritos en español y en inglés. No hay cobro por página. Los manuscritos deben adaptarse al estilo de los artículos publicados en este número. Los autores deben guiarse por las condiciones expuestas en la sección de "Instrucciones para Autores", que aparecen en cada número de CIENCIA.

Publicación

CIENCIA (ISSN 1315-2076/Depósito legal pp 199302ZU47) es una publicación de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. El Vol. 1 (1993) y el Vol. 2 (1994) aparecieron con dos números al año. Desde el Vol. 3 (1995) hasta el Vol. 8 (2000) la revista tuvo tres números al año. Desde el Vol. 9 (2001) en adelante, sale con cuatro números al año. El Vol. 25 corresponde al año 2017. Los artículos publicados en esta revista están protegidos por Copyright.

CIENCIA

Revista Científica de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia
Vol. 25 Nº2, Abril - Junio 2017

BIOLOGÍA/BIOLOGY

Pg.

Identificación de pigmentos de carácter ácido en soluciones de ramnolípidos crudos producidos por una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*

Identification of acidic pigments in solutions of crude rhamnolipids produced by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*

56

Julio Otoniel Rojas, William Velásquez, Balmore Guerrero, Zarack Chacón y María Ball
(Mérida, Venezuela)

QUÍMICA/ CHEMISTRY

Absorption and Elimination of Allelochemicals MBOA for Weed During Seedling Growth

Absorción y eliminación de aleloquímicos MBOA para malezas durante el crecimiento de las plántulas

63

Alberto Oliveros-Bastidas, Francisco Macias and J.M. González Molinillo
(Mérida, Venezuela)

Evaluation of air quality inside a painting factory through the use of gas sensors

Evaluación de la calidad del aire interior de una fábrica de pinturas por medio del empleo de sensores de gases

75

Mehdi Dhia, Khalil Zaghdoudi, Angel Morales Rubio and Miguel de la Guardia
(Valencia , España)

Identificación de pigmentos de carácter ácido en soluciones de ramnolípidos crudos producidos por una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*

Julio Otoniel Rojas^{1,*}, William Velásquez², Balmore Guerrero¹, Zarack Chacón¹ y María Ball³

¹Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos, Departamento de Biología

²Laboratorio de Análisis Instrumental, Departamento de Química

³Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología
Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela

Recibido: 18-05-16 Aceptado: 23-02-17

Resumen

Trabajos recientes señalan que las soluciones de ramnolípidos crudos producidos por *P. aeruginosa* son más eficientes en la remoción del petróleo que los purificados debido a la presencia de otros metabolitos, principalmente los de carácter ácido. Entre los principales metabolitos ácidos se encuentran algunos pigmentos de fenazina y ácidos orgánicos. Con la finalidad de identificar pigmentos de carácter ácido en soluciones de ramnolípidos crudos provenientes de la cepa de *P. aeruginosa* BioMI-E5, en el presente trabajo se purificaron mediante cromatografía de adsorción para sustancias hidrofóbica y anfífilas con Amberlilta XAD 2. Se separaron a través de una cromatografía de capa fina utilizando placas de sílica gel y posteriormente fueron analizados por Espectroscopía Infrarroja con Transformadas de Fourier (IRTF). Se detectaron cuatro pigmentos fluorescentes en las soluciones de ramnolípidos crudos. El análisis IRTF registró grupos funcionales que se correspondieron con los presentes en los pigmentos de fenazina más frecuentemente registrados en cultivos de *P. aeruginosa*. Se detectó la presencia de grupos carboxílicos que demuestran el carácter ácido en estos pigmentos. Los resultados confirman que estos pigmentos forman parte del conjunto de metabolitos ácidos presentes en soluciones de ramnolípidos crudos producidos por *P. aeruginosa* BioMI-E5.

Palabras clave: Pigmentos ácidos, ramnolípidos, *Pseudomonas aeruginosa*, remoción de hidrocarburos.

Identification of acidic pigments in solutions of crude rhamnolipids produced by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Recent studies indicate that the unpurified rhamnolipids produced by *P. aeruginosa* are more efficient in removing oil, due to the presence of other metabolites, primarily acidic. Among the main acid metabolites are organic acids and some phenazines pigments. In order to identify acidic pigments in solutions of crudes rhamnolipids produced by *P. aeruginosa* strain BioMI-E5, in this study were purified them by adsorption chromatography to hydrophobic and amphiphilic substances with Amberlilta XAD 2. They were separated by a thin layer chromatography using silica gel plates and then were analyzed by Infrared Spectroscopy Fourier Transform (FTIR). Four fluorescent pigments were detected in solutions of crude rhamnolipids. FTIR analysis showed functional groups which correspond to those present in phenazines pigments most frequently registered in cultures of *P. aeruginosa*. The presence of

*Autor para la correspondencia: oroja@ula.ve

carboxylic groups was detected which demonstrates the acid character in these pigments. The results confirm that these pigments are part of the set of acidic metabolites that are present in crudes solutions of rhamnolipids produced by *P. aeruginosa* strain BioMI-E5.

Key words: Acidic pigments, rhamnolipids, *Pseudomonas aeruginosa*, removal of hydrocarbons.

Introducción

Entre los biosurfactantes más utilizados en biorremediación están los ramnolipidos. Estas sustancias son producidas en proporciones importantes por *Pseudomonas aeruginosa* (1). Se han realizado varios estudios sobre la remoción o recuperación de crudo con ramnolipidos purificados (2, 3, 4, 5) o parcialmente purificados (6, 7). Sin embargo, se ha demostrado que los sobrenadantes libres de células provenientes de cultivos de la cepa *P. aeruginosa* 112, son más eficientes que los ramnolipidos purificados (utilizados a una concentración de 5 mg/ml) en la remoción de petróleo ligero en arenas contaminadas artificialmente. Gudiña et al., 2015, señalan que la mejora en los porcentajes de remoción (desde $55,0 \pm 3,4$ hasta $64,2 \pm 3,5\%$) puede deberse a otros metabolitos presentes en los sobrenadantes (8). Estos resultados coinciden con los obtenidos en los trabajos realizados con ramnolipidos crudos contenidos en los sobrenadantes de cultivo de la cepa *P. aeruginosa* BioMI-E5, que resultaron ser más eficientes que los ramnolipidos purificados en la remoción de una mezcla de hidrocarburos en un sistema modelo. Los resultados demuestran que la mayor remoción de los hidrocarburos (100%) se debe a la caída del pH en las soluciones de ramnolipidos crudos hasta un valor igual o menor a 5,8. Esta acidificación podría originarse en la acumulación de metabolitos ácidos producidos conjuntamente con los ramnolipidos (9).

P. aeruginosa produce además de los ramnolipidos, dependiendo de las condiciones de cultivo y de la cepa, metabolitos ácidos tales como pigmentos de la familia de las fenazinas (10) y ácidos orgánicos (11), entre otros. Entre los pigmentos de fenazinas más frecuentemente

producidos se encuentran: piocianina, hidroxifenazina, ácido fenacín 1 carboxílico y ácido 2 hidroxifenacín 1 carboxílico (12)(figura 1). Estos pigmentos de fenazinas promueven la sobrevivencia de *P. aeruginosa* en condiciones anaeróbicas, a través de la transferencia extracelular de electrones (13). También se han asociado al mantenimiento de la homeostásis celular y a la alteración del flujo de carbono hacia el metabolismo central (14). Estas sustancias contribuyen a la arquitectura y formación de las biopelículas y actúan como señales celulares que regulan los patrones de expresión de algunos genes (10).

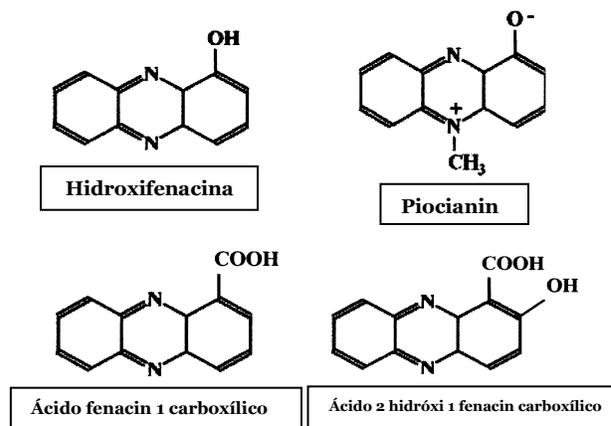


Figura 1. Estructura química de los pigmentos de fenazinas más comúnmente producidos por *Pseudomonas aeruginosa*. Obsérvese abajo la presencia de grupos carboxílicos (COOH) pertenecientes a los pigmentos de carácter ácido, como el ácido fenacín 1 carboxílico y el ácido 2 hidroxifenacín 1 carboxílico.

Los pigmentos producidos por *P. aeruginosa* BioMI-E5 podrían formar parte del conjunto de metabolitos ácidos contenidos en las soluciones de ramnolipidos crudos, que registraron una mayor remoción

del petróleo en el trabajo señalado previamente (9). Con la finalidad de corroborar esta hipótesis, en el presente trabajo se procedió a identificar la presencia de pigmentos de carácter ácido en soluciones de ramnolípidos crudos producidos por la cepa *P. aeruginosa* BioMI-E5 mediante cromatografía de adsorción para sustancias hidrofóbicas y anfífilicas con Amberlita XAD 2, posteriormente fueron separados mediante cromatografía de capa fina (TLC) y analizados a través de Espectroscopía Infrarroja con Transformadas de Fourier (IRTF).

Metodología

Microorganismo

Los ensayos fueron realizadas con la cepa *P. aeruginosa* BioMI-E5, aislada de Orimulsión, nombre comercial de las emulsiones de petróleo pesado (producido en la Faja Petrolífera del Orinoco) en agua y comercializadas tiempo atrás por PDVSA. Esta cepa ha sido identificada mediante secuenciación del ADNr 16S en un trabajo previo (9), la cual fue caracterizada como productora de ramnolípidos de tipo I y III (15). Para su conservación fue mantenida en congelación a -20°C , con 20 % de glicerol en caldo nutritivo.

Medio de cultivo para la producción de los pigmentos y los ramnolípidos

Se utilizó el medio mínimo salino MMS bajo las mismas condiciones de cultivo reportadas por Rojas et al., 2015 (9), con la siguiente composición: NaH_2PO_4 4 g, K_2HPO_4 4 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 g, MgSO_4 0,2 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 mg, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 mg, solución de elementos trazas 0,5 ml, H_2O destilada hasta 1 L. El pH sin ajustar del medio fue de 6,8. El medio se complementó con la solución de elementos trazas de la siguiente constitución por litro de agua destilada: $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 20 mg; H_3BO_3 , 30 mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 20 mg; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 3 mg; CuSO_4 , 1 mg y $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2,6 mg. La fuente de carbono utilizada fue glicerol (1,5% p/v).

Obtención de soluciones de ramnolípidos crudos

Los sobrenadantes provenientes de los cultivos realizados en réplicas de tres señalados en el punto anterior con la cepa *P. aeruginosa* BioMI-E5, fueron obtenidos mediante una centrifugación (4500 g durante 15 min), y posteriormente esterilizados mediante autoclave (121°C , 15 psi durante 15 min). Estos sobrenadantes fueron denominados soluciones de ramnolípidos crudos.

Detección de ramnolípidos

Se utilizó la técnica del agar CTBA (Bromuro de Cetil-trimetil-amonio)-azul de metileno (16), modificada para detectar ramnolípidos en medios líquidos. Por cada 2 ml de solución de ramnolípidos (sobrenadante), contenidos en tubos de 5 ml, se agregaron 20 μL de solución madre de azul de metileno (40 mg/ml) y 10 μL de solución madre de CTBA (10 mg/ml). Se homogenizaron suavemente y se dejaron en reposo a $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 12 h en un cuarto de cultivo (en oscuridad). Pasado este tiempo, se realizaron observaciones de la formación de un precipitado azul intenso correspondiente a la presencia del complejo azul de metileno-ramnolípidos. Como control se utilizaron 2 ml de medio MMS sin inocular y una muestras de ramnolípidos purificados, obtenida esta últimas en un trabajo anterior (9). Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

Análisis de pigmentos

Los pigmentos presentes en las soluciones de ramnolípidos crudos fueron purificados mediante cromatografía en columna de adsorción para sustancias hidrofóbicas y anfífilicas, con Amberlita XAD 2 (marca Sigma de diámetro de poro 90 Å y tamaño 20-60). La columna fue equilibrada con buffer fosfato 0,1 M a pH 6,1. Durante la cromatografía, las primeras fracciones sin color (ácidos grasos libres y los ramnolípidos)(16), fueron descartadas. Los pigmentos que formaron una banda de color amarillo intenso durante la separación cromatográfica, fueron recuperados mediante eluciones con metanol (16). Las fracciones metanólicas de color amarillo se concentraron a un décimo de su volumen inicial (10X), mediante rotaevaporación (40°

C), para posteriormente ser liofilizadas (Liofilizador marca Labconco modelo freez dry system/freezone 4.5).

Los pigmentos fueron separados mediante cromatografía TLC a partir de la fracción metanólica concentrada, para lo cual se utilizaron placas de sílica gel 60 con fluoresceína (marca Alugram Sil G/UV254 de Macherey- Nagel) en una mezcla de agua destilada/ etanol/HCl (15:2:1), como fase móvil.

Se utilizó HCl 1M en la mezcla de corrida, en vez de hidróxido de amonio propuesto en la metodología original (17), ya que de esta manera se logró mejorar la resolución en la separación de los pigmentos. Posteriormente, se analizaron los grupos funcionales presentes en las moléculas de los pigmentos mediante IRTF (16). Este análisis se llevó a cabo en un equipo Perkin Elmer FTIR spectrum modelo RXI, utilizando pastillas de KBr, sobre las cuales se colocaron las muestras de las fracciones metanólicas de los pigmentos.

Resultados y discusión

Los sobrenadantes obtenidos a partir de la cepa *P. aeruginosa* BioMI-E5 presentaron color amarillo verdoso, indicando la posible presencia de pigmentos. También se evidenció, en la prueba de detección de ramnolípidos, la formación de precipitados visibles de color azul intenso, lo cual indicó la presencia de estos surfactantes (9,16), producido conjuntamente con los pigmentos.

Durante el análisis, se detectaron cuatro pigmentos fluorescentes revelados con luz ultravioleta (región del UV lejano). Estos pigmentos presentaron valores R_f de 0,23; 0,30; 0,40; 0,65 y fluorescencias de color amarillo, verde, azul y azul pálido, para los pigmentos denominados α , β , γ y δ , respectivamente. No se registraron manchas correspondientes a los ramnolípidos cuando se corrieron muestras del sobrenadante y de ramnolípidos purificados. Estos resultados demuestran que las manchas fluorescentes registradas en la cromatografía TLC no corresponden a ramnolípidos (figura 2).

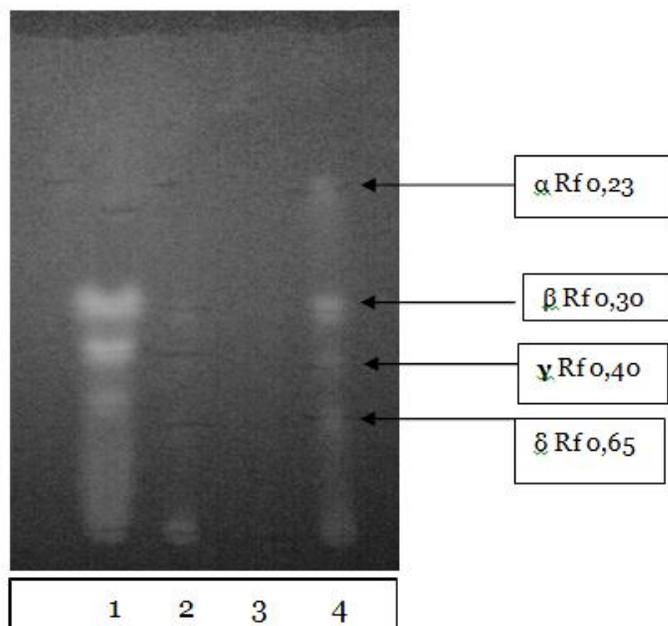


Figura 2. Cromatografía TLC, en placas de sílica gel 60 con fluoresceína, de los pigmentos fluorescentes producidos por *Pseudomonas aeruginosa* BioMI-E5.

1: Solución metanólica concentrada de los pigmentos (10X)

2: Sobrenadante de los cultivos realizados con la cepa *Pseudomonas aeruginosa* BIOMI-E5.

3: Ramnolípidos purificados libres de pigmentos (control)

4: Solución metanólica no concentrada de los pigmentos.

La fase móvil utilizada fue: agua destilada, etanol, HCl 1M (15:2:1). Los pigmentos fueron revelados utilizando una lámpara UV en el ultravioleta lejano.

La huella del espectro IRTF registró la presencia de grupos funcionales carboxilos, lo cual demuestra el carácter ácido de estos pigmentos. Los grupos funcionales detectados se corresponden con los presentes en pigmentos pertenecientes a la familia de las fenazinas, frecuentemente producidos por *P. aeruginosa* (figura 1) (10, 12, 14), sin embargo su presencia no se había asociado a un mejor desempeño en las propiedades de las soluciones de ramnolípidos crudos. No se registraron grupos funcionales de moléculas pertenecientes a otros metabolitos pigmentados, como por ejemplo pioverdina, producidos por *P. aeruginosa* (12). *P. aeruginosa* BioMI-E5 produce principalmente piocianina (18, 19) y ácido fenazin 1 carboxílico, los cuales probablemente ocasionan las coloraciones amarillas y verdosas que tomaron los cultivos. El pigmento ácido fenazin 1 carboxílico se caracteriza por presentar un color amarillo y su mezcla con la piocianina, de color azul, podría producir tal coloración verdosa (10, 20). La coloración naranja intensa producida por el ácido 2 hidroxifenazin 1 carboxílico (10), no se registró en ninguno de los cultivos realizados bajo las condiciones de estudio. No obstante, dado la complejidad y variedad de compuestos pigmentados producidos por *P. aeruginosa* (12), son necesarios posteriores análisis con otras técnicas como por ejemplo resonancia magnética nuclear protónica (RMNH+) para poder demostrar que *P. aeruginosa* BioMI-E5 produce únicamente los pigmentos pertenecientes a la familia de las fenazinas, registrados en el presente trabajo.

Los pigmentos que produce *P. aeruginosa* pueden contribuir a la acidificación de los cultivos bien sea directamente, cuando se acumulan pigmentos de carácter ácido, tales como el ácido fenazin 1 carboxílico y el ácido 2 hidroxifenazin 1 carboxílico (figura 1). También pueden propiciar la acidificación de manera indirecta, ya que se ha demostrado que la piocianina (pigmento perteneciente a las fenazinas) conduce a la acumulación de ácido pirúvico, que a su vez se re-direcciona hacia la vía fermentativa (14). Como consecuencia se producen metabolitos ácidos tales como ácido láctico, succínico y acético en los medios de cultivo (11,14). Además de los pigmentos de

carácter ácido detectados en el presente trabajo, *P. aeruginosa* BioMI-E5 también produce ácido acético (15) que aunque no ha sido demostrado aún, podría originarse de las vías fermentativas descritas anteriormente.

Los resultados obtenidos hasta ahora indican que la acidificación registrada en los cultivos de *P. aeruginosa* BioMI-E5 que incrementa la remoción del petróleo hasta un 100% (9), se debe a la acumulación tanto de pigmentos de carácter ácido como de ácido acético (15). Pero, debido a que el metabolismo de *P. aeruginosa* es muy complejo, se hacen necesarios estudios posteriores con otras técnicas para determinar si la cepa en estudio produce también metabolitos ácidos tales como ácido láctico, cítrico, succínico y acético que han sido reportados en otras cepas (11, 14). Estos cultivos dado su carácter ácido también son muy importantes en los estudios de recuperación mejorada del petróleo mediante microorganismos, conocidos como MEOR (por sus siglas en inglés: Microbial Enhanced Oil Recovery) (1, 21, 22, 23, 24, 25) ya que combinan la presencia de biosurfactantes con metabolitos ácidos como pigmentos y ácido acético, entre otros.

Conclusiones

La cepa *P. aeruginosa* BioMI-E5, bajo las condiciones de cultivo establecidas en el presente trabajo, produjo cuatro pigmentos fluorescentes conjuntamente con los ramnolípidos. Los resultados de los análisis mediante IRTF permitieron detectar la presencia de grupos funcionales carboxílicos, lo cual demuestra el carácter ácido de los pigmentos. Estos resultados permiten concluir que entre los metabolitos que acidifican los cultivos de *P. aeruginosa* BioMI-E5 se encuentran los pigmentos de carácter ácido. No se logró, con las técnicas utilizadas, detectar otros compuestos, como por ejemplo ácidos orgánicos, encontrados en cultivos realizados con otras cepas.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CDCHTA de la Universidad de Los Andes por el soporte financiero al presente trabajo mediante el proyecto CDCHTA C-1320-05-03-B.

Referencias bibliográficas

1. RAIGER L. J., LÓPEZ N. I. *Rev Quím Viva* 3:146-161. 2009.
2. LAI C., HUANG Y. C., WEI Y. H., CHANG J. S. *J Hazard Mater* 167(1-3):609-614. 2009.
3. HELMY Q., KARDENA E., NURACHMAN Z., WISJNUPRAPTO. *Inter J Civil Environm Engineer IJCEE* 10(01):7-14. 2010.
4. Yan P., Lu M., Guan Y., Zhang W., Zhang Z. *Bioresour Technol* 102:10252- 10259. 2011.
5. REIS R. S., PACHECO G. J., PEREIRA A. G., FREIRE D. M. G. Biodegradation- Life of Science Chapter 2, Biosurfactants: production and applications. INTECH (2013)
6. <http://cdn.interchopen.com/pdfs-wm/45092.pdf>. Fecha de consulta 01/08/16
7. VAN DYKE M. I., COUTURE P., BRAUER M., LEE H., TREVORS J. T. *Can J Microbiol* 39(11):1071-1078. 1993.
8. VILASÓ C. J. E., RODRÍGUEZ G. O., ÁBALOS R., A., *Rev. Int. Contam. Ambie* 33(3):485-493. 2017.
9. GUDIÑA E. J., RODRIGUES A. I., ALVES E., ROSÁRIO DOMINGUES M., TEIXEIRA J. A., RODRIGUES L. R. *Bioresour Technol* 177: 87-93. 2015.
10. ROJAS J. O., VELÁSQUEZ W., CHACÓN Z., BALL M. *CIENCIA* 23(1):39-50. 2015.
11. PIERSON III L. S., PIERSON E. A. *Appl Microbiol Biotechnol* 86:1659-1670. 2010.
12. ESCHBACH M., SCHREIBER K., TRUNK K., BUER J., JAHN D., SCHOBERT M. *J Bacteriol* 186(14):4596-4604. 2004.
13. BUDZIKIEWICZ H. *FEMS Microbiol Rev* 104:209-228. 1993.
14. WANG Y., KERN S., NEWMAN D. *J Bacteriol* 192(1):365-369. 2010.
16. PRICE-WHELAN A., DIETRICH L. E. P., NEWMAN D., K. *J Bacteriol* 189(17): 6372-6381. 2007.
17. SULBARÁN M. M., BAHASAS A., VELÁSQUEZ W., ROJAS J. O. *CIENCIA* 13(2):228-239. 2005.
18. HEYD M., KOHNERT A., TAN T. H., NUSSER M., KIRSCHHÖFER F., BRENNER-WEISS G., FRANZREB M., BERENSMEIER S. *Anal Bioanal Chem* 391:1579-1590. 2008.
19. MONTICELLO D. J., BAKKER D., FINNERTY W. R. *Appl Environ Microbiol* 49 (4):756-760. 1985.
20. MORENO S., ROJAS J. O. *CIENCIA* 10(3): 203-214. 2002.
21. MONTILLA J. C. Selección, identificación y caracterización fenotípica y fisiológica de *Pseudomonas* fluorescentes aisladas de muestras de petróleo pesado venezolano (Para obtener el título de Licenciado en Biología). Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida (Venezuela) pp. 58. 2002.
22. ASAFF A., GRACIDA J. *X Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*. 1-1 Puerto Vallarta, Jalisco (México). 2003.
23. www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/.../CIX-14.pdf. Fecha de consulta 01/08/16.
24. YOUSSEF N. SIMPSON D. R., DUNCAN K. E., MCINERNI M. J., FOLMSBEE M., FINCHER T., KNAPP R. M. *Appl Environ Microbiol* 73:1239-1247. 2007.
25. AL-SULAIMANI H., JOSHI S., AL-WAHAIBI Y., AL-BAHRY S., ELSHAFIE A., AL-BEMANI A. *Biotechnol Bioinf Bioeng* 1(2): 147-158. 2011.
26. PRASAD N., DASGUPTA S., CHAKRABORTY M., GUPTA S., *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 78 012017.
27. CUI Q. F., ZHENG W. T., YU L., XIU J. L., ZHANG Z. Z., LUO Y. J., *PET SCI TECHNOL* 35(11): 1174-1179. 2017.
28. GASSARA F., SURI N., VOORDOUW G., *J HAZARD MATER* 324: 94-99. 2017.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

CIENCIA

Vol. 25, N° 2 (2017)

Esta revista fue producida y editada en formato digital en el mes de julio de 2017
por el personal de la **Revista CIENCIA**, Oficina de Publicaciones Científicas de la
Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.

Maracaibo - Venezuela

www.luz.edu.ve

www.serbi.luz.edu.ve

produccioncientifica.luz.edu.ve