

## ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD DEGRADADORA DE BACTERIAS DE SUELO SOBRE GAS OIL

Perez Brandán Carolina<sup>1</sup>, Acosta Ma. Eugenia<sup>1</sup>, Torres Nancy<sup>1</sup>, Plaza Gloria<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Naturales- CIUNSa- Cátedra de Microbiología

<sup>2</sup>Fac.de Ingeniería-INENCO- CIUNSa - Universidad Nacional de Salta

Av. Bolivia 5150, CP 4400, Salta. Argentina.

Email: [c\\_perez\\_brandan@hotmail.com](mailto:c_perez_brandan@hotmail.com); [cperez@unsa.edu.ar](mailto:cperez@unsa.edu.ar)

### RESUMEN

Se estudia el comportamiento de bacterias del suelo, aisladas de sitios contaminados con hidrocarburos con el interés de utilizarlas en ensayos de bioaumentación para el tratamiento de residuos empetrolados.

Se analizan las curvas de absorbancia de cada cepa bacteriana aislada, frente a medios de cultivo con gas oil, como única fuente de carbono, y en medios de cultivo comunes enriquecidos.

Se obtienen comportamientos característicos de crecimiento de cada cepa. Asimismo se cuantifica la remoción del gas oil a niveles del 80%-85% en 15 días de incubación, que demuestra la afinidad de las bacterias inoculadas por el contaminante.

**Palabras Claves:** Bioremediación, bacterias autóctonas, adaptación, curvas de crecimiento.

### INTRODUCCIÓN

El estudio de la comunidad bacteriana es de suma importancia ya que constituye el mejor sistema para la eliminación de hidrocarburos y de sus mezclas en suelos. La variación de dichas comunidades tiene efectos en los procesos del ecosistema ya sea en la utilización de sustratos (hidrocarburos) que les sirven como fuente de carbono o en la invasión microbiológica por interacción competitiva con microorganismos patógenos. (Pucci et al, 2003).

La capacidad degradadora depende de las poblaciones que compongan la comunidad y del tipo de enzimas que las especies empleen para degradarlo. Debido a las características del mismo, la comunidad bacteriana sufre una adaptación selectiva, de forma tal, que aumenta el porcentaje relativo de bacterias degradadoras de hidrocarburos; por otra parte se da una transmisión horizontal de información genética mediante plásmidos, lo que determina una mayor capacidad degradativa en la comunidad (Valderrama et al, 1995). Desde este punto de vista es muy probable que sea mejor el aislamiento y multiplicación de microorganismos indígenas del suelo que la importación de bacterias provenientes de otros campos petroleros, con diferentes suelos y condicione climáticas.

Con el desarrollo de este trabajo se pretende iniciar el estudio del enorme potencial que nos brinda y representa la bioremediación microbiana, a partir de la generación de biomasa aclimatada a sustratos relacionados, relativamente fáciles de biodegradar, de manera de obtener nuevas tecnologías para atender la conservación, recuperación y saneamiento de suelos contaminados, contribuyendo de esta manera al mantenimiento de un ambiente sustentable.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El hidrocarburo utilizado en este trabajo fue gas oil. El suelo contaminado con hidrocarburos utilizado para la obtención de las cepas microbianas, es una muestra representativa proveniente de la localidad de Lomitas, al Norte de la Provincia de Salta, Argentina. El lodo de petróleo (27% HTP/ST) fue provisto por una empresa del Norte de la Provincia.

Se cuantificaron las bacterias degradadoras de hidrocarburos mediante el método de recuento en placa, utilizando medio de cultivo HTP (medio de cultivo mineral suplementado con gas oil). Se utilizó como fuente de carbono gas oil. Las cajas fueron incubadas a 32° C durante 13 días. A partir de los cultivos mixtos de microorganismos se aislaron y se seleccionaron las colonias de acuerdo a sus características morfológicas y de tinción de gram. Los cultivos puros se conservaron a 5° C.

Se realizaron pruebas para confirmar la capacidad de utilizar hidrocarburos como única fuente de carbono de las bacterias aisladas, tomando como parámetro de evaluación el aumento en la masa celular. Para ello se realizaron curvas de Absorbancia a cada bacteria seleccionada, (método colorimétrico). Se utilizaron dos variantes:

1) Erlenmeyers con medio de cultivo suplementado con gas oil (Medio HTP). 2) Erlenmeyers con caldo común (Medio CC). Asimismo se determinó, el consumo de gas oil de cada cepa bacteriana aislada y de un inóculo comercial mediante el método de extracción con cloroformo, según norma ASTM-Dd1178 para medio líquido modificada.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Meses (2002)	Recuento Microbiano
Julio	6,4x10 <sup>7</sup>
Agosto	7,9x10 <sup>7</sup>
Septiembre	5,4x10 <sup>7</sup>
Octubre	4,1x10 <sup>7</sup>
Noviembre	5,7x10 <sup>7</sup>
Diciembre	8,3x10 <sup>7</sup>

Tabla 1. Recuento de bacterias degradadoras de hidrocarburos en suelos de Lomitas. Julio a Diciembre de 2002.

En la Tabla 1 se observan los valores promedio del número de bacterias degradadoras de hidrocarburos realizados mensualmente durante los meses de Julio a Diciembre de 2002. Los resultados muestran la presencia de bacterias degradadoras en suelos contaminados con hidrocarburos en donde se realizó el estudio ( $10^7$  ufc/g. de suelo).

Se realizaron cultivos puros de tres colonias, seleccionadas por su mayor frecuencia de aparición. Las mismas fueron descritas, como N1, A2 y R3, debido al aspecto morfológico que presentaban.

Se observa, en las curvas de absorbancia, que las tres cepas no presentan dificultad alguna en desarrollarse en el medio mineral suplementado con gas oil, constatado esto por el incremento de la masa microbiana, esto demuestra la capacidad de utilizar, como única fuente de carbono, el hidrocarburo incorporado. Tanto en el medio HTP como en el enriquecido se llegan a valores de densidad óptica promedio de 0,600 a 0,700.

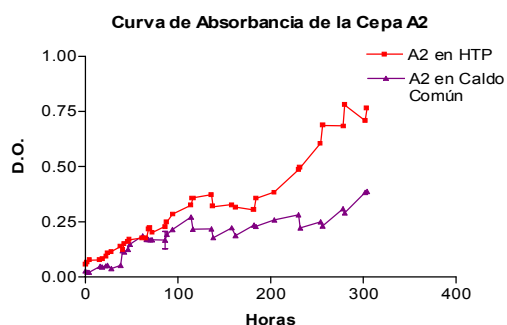


Gráfico 1. Curva de Absorbancia de la cepa A2.

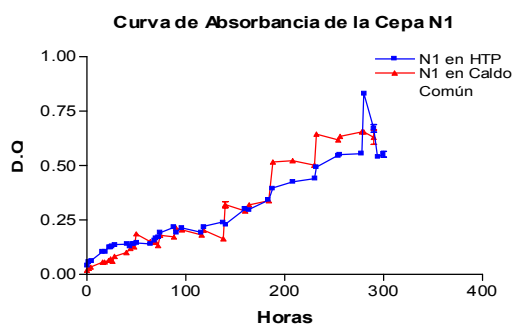


Gráfico 2. Curva de Absorbancia de la cepa N1.

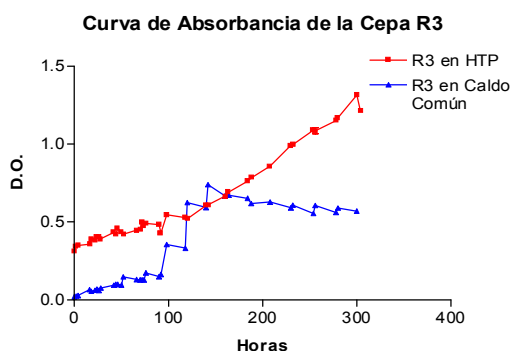


Gráfico 3. Curva de Absorbancia de la cepa R3

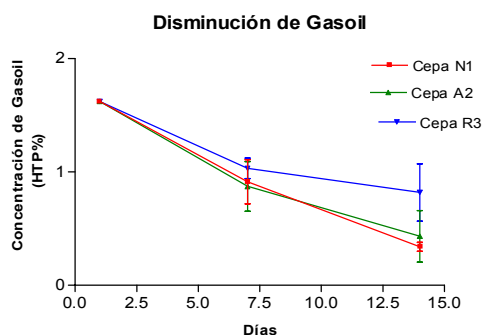


Gráfico 4. Disminución de Gas Oil.

Considerando la utilización de gas oil como única fuente de carbono por las tres cepas bacterianas se observa que la biodegradación del contaminante llega a valores similares en los tres casos, lo cual concuerda con el alcance de la fase estacionaria, en las respectivas curvas de crecimiento de cada cepa.

La remoción del gas oil fue de hasta un 80% a los 15 días de incubación a 32° C, con un 2% de inoculación bacteriana.

## CONCLUSIONES

Es posible aislar bacterias autóctonas degradadoras de hidrocarburos con características de crecimiento propias, las cuales presentan una buena afinidad por el contaminante empleado en este trabajo. Para los microorganismos en estudio es necesario un periodo de aproximadamente 300 horas para una degradación importante del gas oil.

Los valores de degradación del gas oil del 85% muestran la posibilidad de utilizarlas en combinación, en campo, para el biotratamiento de residuos empetrollados, mediante el empleo de técnicas de bioaumentación de bacterias.

## ABSTRACT

The behavior of bacteria isolated from soils contaminated with hydrocarbons was studied with the interested to use them in bioaugmentation techniques for the treatment of petroleum waste.

The curves of absorbance for each isolates strains, were analyzed in two kinds of media, one of this used gas oil as only source of carbon, the other was a common media. Typical growing behaviors was obtained, that certainty confirms the capacity of the strains to consume the contaminant. The gas oil remotion was quantificated to levels of 85% in 15 days of incubation.

## BIBLIOGRAFIA

Valderrama Blanco, B. (2000). "Microbiología del Petróleo y sus derivados". Instituto de Biotecnología. Universidad Autónoma de México.

Pucci, G.; Acuña, A.; Pucci, H. (2003). Aplicación del Potencial de Utilización de Sustratos por una comunidad bacteriana agredida con concentraciones crecientes de cloruro de sodio. ISBN: 99083-6-8. I. I. Biología del Suelo.