

Selección de microorganismos nativos de suelos contaminados con hidrocarburos con potencial uso en procesos de biorremediación ambiental

Miguel Ernesto Cando Delgado²⁶

Introducción

En la presente investigación, se hace una valoración de la capacidad biodegradadora de microorganismos nativos aislados de muestras de suelo contaminado con bunker, producto de una matriz contaminada ubicada en la planta termoeléctrica El Descanso, localizada a 15 km al noreste de la ciudad de Cuenca en la provincia del Azuay, Ecuador, en donde se produjo un problema ambiental grave de contaminación de suelo con bunker que es un producto de desecho en la generación eléctrica, por las condiciones topográficas de la zona, se formó un lago artificial, como se aprecia en el figura 1.

Figura 1
Matriz contaminada con bunker



Con el propósito de mitigar los efectos en el medio ambiente, en primera instancia aproximadamente 1.200 galones de bunker fueron recogidos y depositados en contenedores

26 Universidad Politécnica Salesiana, Laboratorios Ciencias de la Vida, Cuenca-Ecuador.

de metal. Esta investigación es soporte para implementar un proceso de biorremediación, a través de la introducción de especies de microorganismos para aumentar la concentración microbiota del suelo (bioaumentación).

Materiales y métodos

Se tomaron cinco muestras de suelo a una profundidad de 20 cm, las mismas que se depositaron en fundas plásticas para posteriormente ser trasladadas al laboratorio, muestras de 1gr en peso fueron diluidas a diferentes concentraciones y depositadas en terrenos selectivos PDA, TSA, y Nutritivo, se incubaron a una temperatura de 28° C, posteriormente, se aislaron un grupo de microorganismos (20 bacterias y 18 hongos) mediante cultivos puros, se conservaron a pico de clarín. Estos microorganismos fueron evaluados mediante pruebas de antagonismo y tolerancia, en donde un factor de mucha importancia es la capacidad de los microorganismos de tomar al bunker como única fuente de carbono, de acuerdo a los resultados se establece el uso de dos bacterias, mediante el uso de medios selectivos, características de desarrollo, análisis macroscópico, análisis microscópico y características bioquímicas, se clasifica taxonómicamente una bacteria como *Streptomyces sp.* que se codificó como B1, la otra bacteria se codificó como B8 (bacilo) para el establecimiento y concentración de los inóculos bacterianos en los tratamientos, se parte de unidades formadoras de colonias UFC/ml. para determinar la concentración de conidios, las dos bacterias se cultivaron en matraces con medio de cultivo TSA MERCK.

Tratamientos

Figura 2
Proceso de degradación de los hidrocarburos
en unidades experimentales (botellas de 250 ml)

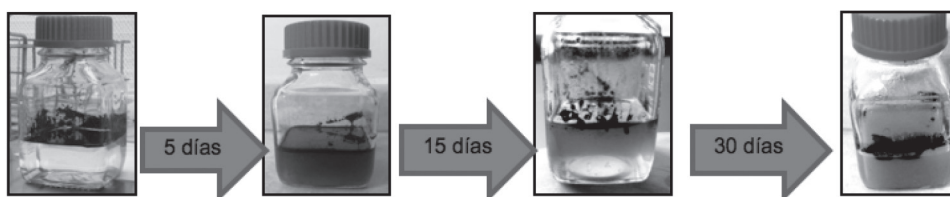


Tabla 1
Tratamientos

T1	Terreno mineral + Tween 80 + Bunker + <i>Streptomyces sp</i> (B1).
T2	Tripticasa Soya (liquido)+ Tween + Bunker + <i>Streptomyces sp.</i> (B1).
T3	TSA (liquido) + Bunker + consorcio microbiano no definido (<i>Streptomyces sp</i> (B1)+B8).

Cada tratamiento se hace con dos repeticiones, se usa un terreno mineral y caldo de cultivo Tripticasa Soya (TS).

T1. 100 ml de terreno mineral con el medio Agar Tripticasa Soya, 2 ml de bunker y 3 ml del inóculo de *Streptomyces sp* (B1).

T2. 100 ml de Agar líquido Tripticasa Soya, 2 ml de bunker, Tween 80 y 3 ml del inóculo de *Streptomyces sp* (B1).

T3. 100 ml Tripticasa Soya; 2 ml de bunker, y 3 ml. de la solución bacteriana del consorcio microbiano formado por los microorganismos B₁ *Streptomyces sp* (B1) y B₈.

Para el análisis y valoración de los niveles de biodegradación de hidrocarburos, se considera un grupo de compuestos aromáticos policíclicos denominados HAPs: para este caso: Acenafteno, Nafataleno Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluorantreno, Pireno, b (a) Antraceno, Criseno, (b) Fluorantreno, B (k) Fluoranthene, B (a) Pireno, db (a,h) Antraceno, B (g,h,i) Perylene, Indeno.

Para los análisis y valoración de los niveles de biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) se hizo por cromatografía de gases método (APHA/AWWA/WEF Standard methods N° 6640 B).

Resultados

El análisis estadístico utilizado es un DCA (diseño completamente al azar) para este caso, un ANOVA con un solo factor; para el efecto se usa el paquete estadístico MINITAB 15 se establecen diferencias entre las medias de nivel, considerado los valores de F y el valor de P. De acuerdo al análisis podemos inferir que entre los tratamientos T3 y T2 no existe diferencia significativa, y que entre el T3 con respecto al T1 sí hay diferencia significativa, siendo el T1 el menor.

En el análisis de los hidrocarburos aromáticos Policíclicos HAPs, y según los valores evaluados, estos presentan significancia estadística, en cinco de sus catorce compuestos, en los nueve compuestos restantes no existe diferencia significativa, aunque estos presentan elevados niveles de biodegradación.

Los compuestos de los HAPs que presentan significatividad son: El Naftaleno con un porcentaje de degradación del 99.02% siendo el mejor tratamiento el T3; El Fenantreno presenta un porcentaje del 99.79% de degradación, siendo el T3 el mejor tratamiento; El b (b) Fluorantreno, presenta un porcentaje de degradación del 97, 76% siendo el T2 el mejor tratamiento; El b (K) Fluorantreno, presentan un porcentaje de degradación de 97, 74%, siendo el T2 el mejor tratamiento; El b (g,h,i) Perileno, presenta un porcentaje de degradación del 97.77% siendo el mejor tratamiento el T3.

La degradación de hidrocarburos es mayor cuando se emplean consorcios microbianos debido a que estos actúan con mayor rapidez, además de su acción dirigida a grupos específicos de hidrocarburos, como se demuestra en la investigación.

Referencias

- Alexander, M.
1994 "Biodegradation y Bioremediation". *Academic Press*, pp. 302.
- Arroyo, M.
s.f. *Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos*. GEOCISA: Protección Ambiental de Suelos.
- BARTHA
2002 *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Madrid: Pearson Education.
- Coyne, M.
s.f. *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. Madrid: Paraninfo. FLACSO.
- Eweis, J., Ergas, Z., Chang D. y Schroeder E.
1999 "Principios de Biorrecuperación" *tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos*. España. McGraw-Hill.
- Fontaine, G
2003 *Petróleo y desarrollo sostenible en Ecuador. Las reglas del juego*. Quito:
- Gómez Orea, D.
2004 *Recuperación de espacios degradados*. Mundi-Prensa.
- Hurtig y San Sebastián
2002 "Cáncer en la Amazonía del Ecuador (1985-1998), Instituto de Epidemiología y Salud Pública Manuel Amunárriz". Quito.
- Maldonado y Narváez, A.
2001 *Ecuador ni es ni será ya país amazónico. Inventario de impactos petroleros*. Quito: Acción Ecológica.
- Mera, J.
2005 "Análisis y optimización de un sistema de tratamiento de suelos contaminados por hidrocarburos aplicado en el centro de producción y factibilidad CPF bloque de AGIP OIL". Universidad Central del Ecuador, FIGEMPA, Escuela de Ingeniería Ambiental.
- Morris, L. y Gealt, M.
1997 *Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos*. Madrid: McGraw-Hill.
- Orozco, C., Pérez, A., Rodríguez, F., Gonzales, M., y Nieves, A. J.
2003 *Contaminación ambiental. Una visión desde la química*. Thomson.
- Parra, E.
2003 *Petróleo y gas natural. Industria, mercados y precios*. Madrid: Akal.
- Roldán, M., Blasco Plá, R., Huertas, M., Caballero, F., Moreno, C., Martínez, M. y Luque, R.
2005 *Biotecnología ambiental*. Madrid: Tébar.
- Viñas Canals, M.
2005 "Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica". Madrid.
- Yong, R. N, A. M. O. Mohamed y Warkentin, B. P
1992 *Principles of Contaminant Transport in Soils*. Netherlands: Elsevier Science.