

# "Aislamiento y caracterización de microorganismos potencialmente degradadores de hidrocarburos aromáticos policíclicos"



Detorre Lucas,<sup>1</sup> Quiroga Flavia,<sup>1</sup> Romaniuk Albertina,<sup>1</sup> Carbajal María Laura<sup>2</sup> & Curutchet, Gustavo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Alumnos de "Biorremediación y Biodepuraciones" de la Licenciatura en Biotecnología, UNQ

<sup>2</sup> Docentes responsables de la asignatura "Biorremediación y Biodepuraciones", Lic. en Biotecnología, UNQ

Departamento de CyT, UNQ. R. Saenz Peña 352, CP1876, Bernal, Argentina

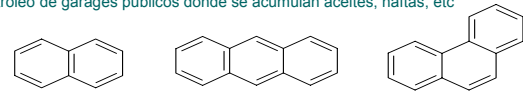
E-mails: <ldetorre@alu.unq.edu.ar> <fquiroga@unq.edu.ar> <albertinar@gmail.com>

## Introducción

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) son un grupo de hidrocarburos que se caracterizan por ser moléculas con dos o más anillos aromáticos de seis carbonos fusionados, generalmente anillos de benceno. El interés en el desarrollo de métodos de remediación de los mismos radica fundamentalmente en las propiedades carcinogénicas, mutagénicas y teratógenicas que poseen algunos de ellos. Ante los problemas de contaminación de suelos y aguas, uno de los métodos más prometedores para la remoción de PAHs en ambientes contaminados son las biorremediaciones. Un amplio número de bacterias aisladas de sitios contaminados han mostrado ser capaces de degradar y utilizar hidrocarburos como única fuente de carbono y energía. El género aislado con mayor frecuencia es *Pseudomonas*, aunque también se han descrito miembros de los géneros *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Nocardia* y *Rhodococcus*, entre otros.

## Objetivo

El objetivo de este trabajo es el aislamiento e identificación de microorganismos que sean capaces de degradar algunos de los constituyentes de la fracción aromática del petróleo, en particular aquellas capaces de utilizar como única FCE al naftaleno, el PAHs de estructura más simple, de baja toxicidad y de fácil detección en el laboratorio de la materia biorremediaciones y biodepuraciones. Para ello se utilizaron muestras de suelos con contaminación de derivados del petróleo de garages públicos donde se acumulan aceites, naftas, etc



Naftaleno Antraceno Fenantreno

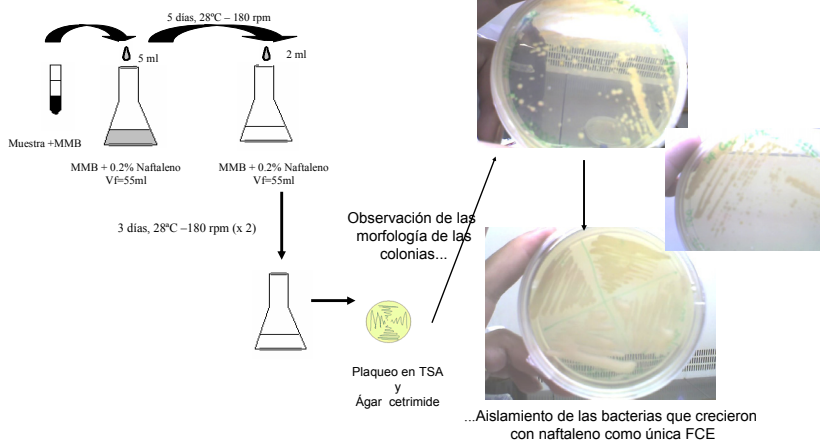
Estructuras de distintos hidrocarburos aromáticos policíclicos

## Materiales y Métodos

### (A) Aislamiento de los microorganismos

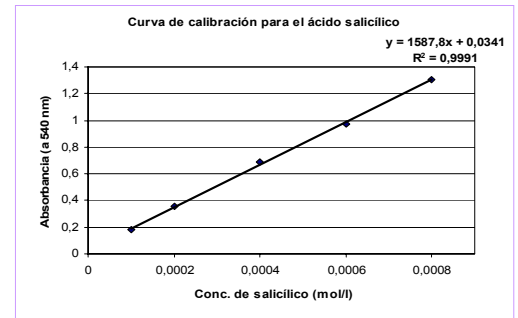
➤ **Origen y toma de las muestras:** garage UNQ, suelos con manchas crónicas de aceites de autos. Las muestras se tomaron con espátula y depositaron en viales cónicos.

➤ **Enriquecimiento de las muestras y aislamiento de microorganismos degradadores de PAHs:** se realizaron repiques seriados en medio mineral base (MMB) con naftaleno como única fuente de carbono y energía (FCE).

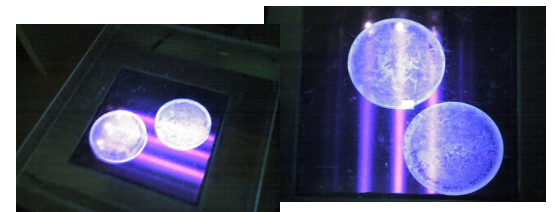


### (B) Ensayos de biodegradación

➤ **Cuantificación naftaleno degradado en medio líquido:** el consumo de naftaleno se comprobó de forma indirecta mediante la determinación de la concentración de ácido salicílico generado por la degradación de dicho sustrato, a los distintos tiempos. Se empleó un método colorimétrico que consiste en la medición de la absorbancia a 540 nm de un complejo coloreado formado entre el salicilato y el ion férrico, utilizando en cada caso la alícuota remanente de la muestra a cada tiempo



➤ **Determinación cualitativa de la degradación de naftaleno en medio sólido:** se realizaron placas de Agar MMB, con naftaleno en su superficie, donde se sembraron los microorganismos. Se observa el halo de consumo de naftaleno en transiluminador UV.



## Resultados parciales

Se aisló un total de tres cepas diferentes capaces de utilizar naftaleno como única FCE en cultivo líquido con agitación

Nº CEPA	Tinción de Gram	Morfología de colonia (TSA)*	Morfología celular	Crecimiento en agar cetrimide
1	Negativo	Amarilla, circular grande, semiesférica	Bacilos alargados sin distribución especial	+, con liberación de pigmentos fluorescentes al UV al medio
2	Negativo	Blanca translúcida, puntiforme, semiesférica.	Bacilos pequeños sin distribución especial	+, con fluorescencia al UV de las colonias
3	Negativo	Blanca, grande, semiesférica con bordes irregulares	Bacilos alargados, de gran tamaño, distribución en empalizada.	-

Características de las cepas aisladas a partir de las muestras de suelos contaminadas. \*TSA: agar tripticosa soja

➤ **Cuantificación de degradación de naftaleno en suelos:** Se tomaron muestras de aproximadamente 50 g de suelo contaminados con naftaleno al 1%, y se colocaron en pequeños recipientes para ensayar diferentes condiciones. Este suelo contaminado se utilizó para evaluar y cuantificar la degradación de naftaleno *in situ* por parte de los inóculos obtenidos. Se cuantificó el naftaleno mediante extracción con solventes orgánicos y gravimetría.

## Discusión y perspectivas

Si bien han sido aisladas cepas capaces de degradar naftaleno, resta llevar a cabo su exhaustiva caracterización bioquímica para determinar la taxonomía de estos microorganismos y los ensayos pertinentes para caracterizar la cinética de degradación del naftaleno en medio líquido y en suelos contaminados.

Por último, la presente serie de estudios pretende marcar un precedente para futuras investigaciones que permitan avanzar en las tecnologías de biorremediación de otros PAH's recalcitrantes.