

CUANTIFICACIÓN DE CINCO GRUPOS DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS EN UN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO

Mauricio Ibarra-H.; Martha E. Ramírez I., y Luis Fernández L. Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas 152, 07730 México D.F. Fax (525) 30037705. email: mrislas@imp.mx

Palabras clave: *microorganismos anaerobios, recortes de perforación, hidrocarburos de petróleo*

Introducción. En México existe una gran cantidad de sitios contaminados con hidrocarburos de petróleo, con diferentes niveles de impacto ambiental. Como medida para la recuperación de estos sitios se han desarrollado diferentes tecnologías de remediación físicas, químicas, térmicas y biológicas, como la de “atenuación natural”. Uno de los principales procesos involucrados en esta tecnología es la degradación microbiana de los contaminantes. La degradación de los hidrocarburos de petróleo se lleva a cabo principalmente por microorganismos aerobios, sin embargo en sitios donde prevalecen condiciones anóxicas, la degradación se realiza por una gran diversidad de microorganismos anaerobios, que presentan diferentes capacidades metabólicas, utilizando distintos aceptores de electrones como NO_3^{2-} , Mn^{4+} , Fe^{3+} , SO_4^{2-} , y CO_2 (1,2). Antes de implementar una estrategia de remediación como la de atenuación natural y como parte fundamental del seguimiento de ésta, es necesario realizar un análisis de la diversidad, abundancia y participación de las comunidades microbianas, en la degradación de los contaminantes orgánicos.

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar el número de bacterias fermentativas (BF), sulfato reductoras (BSR), nitrato reductoras (BNR), hierro reductoras (BHR) y metanogénicas (BM) presentes en un sitio contaminado con hidrocarburos de petróleo y evaluar su relación con la presencia de los aceptores de electrones (SO_4^{2-} , NO_3^- , Fe^{3+}).

Metodología. El sitio de estudio fue la fosa de residuos de separación del pozo Paredón 31, localizado Huimanguillo, Tabasco, se tomaron 52 muestras de suelo obtenidas de 15 puntos de muestreo con cuatro niveles de profundidad. La cuantificación de los microorganismos anaerobios se realizó por el método del Número Más Probable con tres replicas, utilizando un medio de cultivo reducido específico para cada grupo de interés. Se utilizó glucosa como fuente de carbono para las bacterias fermentadoras y acetato de sodio para el resto de los grupos microbianos. Como aceptores de electrones se adicionó Na_2SO_4 , KNO_3 y citrato de hierro para las bacterias sulfato, nitrato y hierro reductoras, respectivamente. Para las bacterias metanogénicas se adicionó una mezcla de $\text{H}_2:\text{CO}_2$ (80:20) como fuente donadora de electrones. Las concentraciones de SO_4^{2-} , NO_3^- y Fe^{3+} se evaluaron en el suelo por métodos colorimétricos, y la concentración de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) por IR.

Resultados y Discusión. Los valores mínimos y máximos de los diferentes aceptores de electrones fueron los siguientes

23 a 1563 ppm de sulfatos; 5 a 60 ppm de nitratos y 5,600 a 38,500 ppm de Fe^{3+} . Los valores máximos por nivel de los 5 grupos de microorganismo y de TPH se muestran en la tabla 1. Se puede observar que existe una mayor población de bacterias anaerobias en la superficie y una tendencia a disminuir conforme aumenta la profundidad, este comportamiento esta estrechamente relacionado con la concentración de TPH que presenta la misma distribución. Las bacterias fermentativas fueron las más abundantes, lo cual puede deberse a que los diferentes grupos tienen la capacidad de activar el metabolismo fermentativo en presencia de glucosa, por lo tanto es posible que este grupo represente las bacterias anaerobias totales. Las bacterias sulfato reductoras tuvieron una correlación directa con la concentración de sulfatos (0.7). Sin embargo, las bacterias nitrato reductoras no mostraron ninguna relación con la concentración de nitratos ni con la concentración de hidrocarburos, pero fueron el tercer grupo más abundante. El Fe^{3+} fue el aceptor de electrones de mayor concentración, sin embargo esto no favoreció el crecimiento de las bacterias hierro reductoras. Las bacterias metanogénicas y sulfato reductoras fueron las únicas que mostraron una correlación directa con la concentración de TPH (0.6 en ambos casos), esto puede estar relacionado con condiciones reducidas favorecida por la textura arcillosa del suelo.

Tabla 1. Valores máximos de microorganismos (NMP/gr suelo seco) y TPH (ppm) por nivel de profundidad..

| Nivel (m) | BF | BSR | BNR | BHR | BM | TPH |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|
| A (0.0-0.5) | 7×10^9 | 4×10^8 | 3×10^7 | 8×10^3 | 4×10^6 | 51,995 |
| B (0.5-1.0) | 2×10^7 | 2×10^7 | 3×10^7 | 1×10^5 | 1×10^5 | 23,687 |
| C (1.0-1.5) | 1×10^7 | 6×10^6 | 3×10^7 | 1×10^5 | 7×10^5 | 8,461 |
| D (1.5-2.0) | 9×10^4 | 2×10^5 | 7×10^6 | 2×10^5 | 4×10^5 | 1,244 |

Conclusiones. Se demostró la presencia de los 5 grupos de microorganismos anaerobios en cantidades importantes siendo la sulfato reducción el proceso metabólico más importante en este suelo.

Bibliografía.

- Lovley, D. R. (2001). Anaerobes to the rescue. *Science*. 293: 1444-1446.
- Zwolinski, M. D., Harris, R. F., and Hyvkey, W. J. (2000). Microbial consortia involved in the anaerobic degradation of hydrocarbons. *Biodegradation*. 11: 141-158.