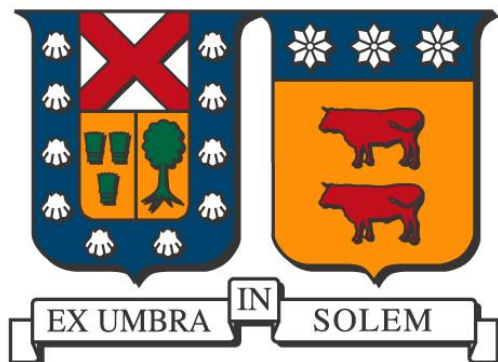


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAÍSO – CHILE



**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA
BACTERIA HIDROCARBONOCLÁSTICA DE LA
REGIÓN DE VALPARAÍSO Y SU APLICACIÓN EN
BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS**

Lisette Estephanie Hernández Guerrero

MEMORIA DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO CIVIL AMBIENTAL

Profesor Guía: MICHAEL SEEGER PFEIFFER

Profesor Co-Guía: HENRIK HANSEN

OCTUBRE 2018

Resumen

La biorremediación es una estrategia para remover contaminantes desde suelos o aguas. Este proceso se lleva a cabo generalmente por bacterias degradadoras que fueron aisladas por sus capacidades catabólicas. La biorremediación de hidrocarburos ha sido estudiada como una tecnología efectiva y de bajo costo para la remoción de contaminantes. En el marco de esta tesis se planteó como objetivo aislar y caracterizar una nueva cepa degradadora y estudiar su posible aplicación en biorremediación de suelos contaminados con diésel. Se planteó como hipótesis: Desde un suelo proveniente de la Región de Valparaíso contaminado con diésel y sometido a un proceso de biorremediación se podrá aislar una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos. Los objetivos específicos son: (1) Aislar e identificar una cepa bacteriana hidrocarbonoclástica proveniente de un suelo contaminado con diésel y sometido a biorremediación; (2) Caracterizar la cepa bacteriana hidrocarbonoclástica aislada mediante técnicas microbiológicas y genéticas; (3) Evaluar las capacidades catabólicas de hidrocarburos del aislado bacteriano. El aislado se obtuvo desde muestras de microcosmos contaminados con diésel. La cepa aislada B7 se identificó como *Achromobacter* sp. que posee ~99% de identidad con *Achromobacter spanius* LMG 5911. La cepa aislada B7 es capaz de crecer en medio rico en presencia hasta en un 6% de NaCl. La bacteria presenta crecimiento en hidrocarburos aromáticos como bifenilo y naftaleno. También se observó crecimiento en algunos alcanos como octano, hexano y hexadecano, y diésel. La caracterización fenotípica y genotípica la cepa bacteriana B7 sugiere que es una cepa de *Achromobacter piechaudii*. El estudio de la degradación de los componentes del diésel fue monitoreada mediante cromatografía gaseosa con detector por ionización por llama (GC-FID). El crecimiento se monitoreo midiendo unidades formadoras de colonias y turbidez. La degradación del sistema inoculado con la cepa B7 muestra alrededor de un 95 % de degradación de diésel considerando los hidrocarburos totales de petróleo (TPH), mientras que en el sistema abiótico se alcanzó un 50% de remoción de diésel. Además se observó una alta degradación de hidrocarburos del rango C₁₅ – C₂₁. Por sus propiedades degradadoras de hidrocarburos, la cepa B7 posee potencial para ser utilizada como parte de un consorcio o en forma individual para la biorremediación de hidrocarburos.

Isolation and characterization of a hydrocarbonoclastic bacteria of the región of Valparaíso and its application in bioremediation of hydrocarbons

Abstract

Bioremediation is a technology to remove contaminants from polluted sites. This process is usually carried out by degrading bacteria that were isolated based on their catabolic capability. The bioremediation of hydrocarbons has been studied as an effective and low-cost approach for the removal of contaminants. The objective of this thesis was to isolate and characterize a novel hydrocarbon-degrading strain its application in bioremediation of soils contaminated with diesel. It was proposed as hypothesis: From a soil from the Valparaíso Region contaminated with diesel and subjected to a bioremediation process, a hydrocarbon-degrading bacterial strain can be isolated. The specific objectives were : (1) Isolate and identify a hydrocarbonoclastic bacterial strain from a soil contaminated with diesel and subjected to bioremediation; (2) Characterize the isolated hydrocarbonoclastic bacterial strain by microbiological and genetic techniques; (3) Evaluate the catabolic capacities of hydrocarbons of the bacterial isolate. The isolate was obtained from samples of a soil contaminated with diesel. The isolated strain B7 was identified as *Achromobacter* sp. showing ~99% identity with *Achromobacter spanius* LMG 5911. Strain B7 is able to grow in presence with up to 6% NaCl. The bacteria grew in aromatic hydrocarbons such as biphenyl and naphthalene. Growth was also observed in specific alkanes such as octane, hexane and hexadecane, and in diesel. The phenotypic and genotypic characterization of the bacterial strain B7 suggests that belong to *Achromobacter piechaudii*. The degradation of diesel components was monitored by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). Growth was monitored by measuring colony forming units and turbidity. The degradation of the system inoculated with the B7 strain shows around 95% diesel degradation considering the total petroleum hydrocarbons (TPH), while in the abiotic system a 50% diesel removal was achieved. A high degradation in the carbon molecules of the C15 - C21 range was observed. Due to its hydrocarbon degrading capabilities, strain B7 it has the potential to be used as part of a consortium or individually for the bioremediation of hydrocarbons.