

## Resumen

Se estima que el 85 ó 90 % del total de vertidos de hidrocarburos al mar proviene de limpieza de depósitos y sentinas; derrames de pequeño o mediano tamaño en operaciones de carga y descarga, pequeños accidentes, rotura de depósitos, entre otros. Los hidrocarburos como los Aromáticos Policíclicos en concentraciones bajas ( $1 \mu\text{g/g}$ ), retardan la división celular y el crecimiento del plancton. En concentraciones mayores a  $1 \mu\text{g/g}$  producen la muerte de gran cantidad de organismos y otras especies del mar; en los humanos concentraciones de  $10 \text{ mL/kg}$  corporal pueden causar la muerte. La Zona del Canal de Panamá (ZCP) representa aproximadamente el 5 % del transporte mundial y la Bahía de Manzanillo se localiza en el área adyacente a la ZCP. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial de depuración de microorganismos en degradar hidrocarburos y su aplicación a sistemas de tratamiento biológico a partir del sedimento de la Bahía de Manzanillo, Colón, Panamá. Se realizaron cinco (5) aislamientos bacterianos en medio mínimo de sales suplementado con hidrocarburos (Naftaleno, Fenantreno y Pireno) como única fuente de carbono. Las cepas aisladas, se sometieron a pruebas de selección a diferentes concentraciones ( $125 \text{ mg/L}$ ,  $250 \text{ mg/L}$ ,  $500 \text{ mg/L}$ ,  $750 \text{ mg/L}$ ,  $1000 \text{ mg/L}$  y  $2000 \text{ mg/L}$ ) de hidrocarburos, en seis (6) escenarios; se escogieron los más representativos, y se escogió la cepa más tolerante al hidrocarburo. Con la cepa seleccionada, se evaluó en laboratorio, su capacidad de crecer utilizando como única fuente de carbono el hidrocarburo con la cual tuvo mayor afinidad (Naftaleno) y su aplicación a sistemas de tratamiento biológico utilizando un Bioreactor a escala de laboratorio, se realizaron mediciones por densidad óptica y unidades formadoras de colonias (UFC/mL). También se comprobó su capacidad de consumir naftaleno por cromatografía líquida (HPLC). Se elaboraron curvas de crecimiento para la cepa bacteriana, y se realizó su modelo cinético. La bacteria *Rhodococcus equi*, identificada a través de un sistema pruebas bioquímicas APY Coryne, fue capaz de crecer exponencialmente en Naftaleno. En los otros sustratos (Pireno y Fenantreno), no se evidenció crecimiento representativo en el período estudiado (600 h). En ninguna de las concentraciones estudiadas, se evidenció inhibición (600 h). Se determinó su modelo cinético, el cual se asemeja al de Monod. Se obtuvieron las tasas máximas de crecimiento específico ( $\mu_{max}$ ) para los dos mejores escenarios septiembre de 2012 ( $T^\circ$  de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y julio de 2013 ( $T^\circ$  de  $26 \text{ }^\circ\text{C}$ ), los cuales fueron respectivamente,  $1.38 \times 10^7 \text{ UFC/mL/h}$  y  $1.11 \times 10^8 \text{ UFC/mL/h}$ ; sus constantes de saturación ( $K_s$ ) respectivas fueron  $458 \text{ mg/L}$  y  $403 \text{ mg/L}$ . Las mismas son las mayores  $K_s$  encontradas en los estudios realizados hasta la fecha utilizando como única fuente de carbono el Naftaleno. Se evidenció a través de cromatografía la remoción total del naftaleno, tanto en los ensayos para determinar el modelo cinético como en el bioreactor a escala de laboratorio. Se recomienda realizar cinéticas de biodegradación de Naftaleno a concentraciones mayores a  $2000 \text{ mg/L}$  para encontrar la constante de inhibición; realizar bioensayos con diferentes combinaciones de hidrocarburos como co-sustratos y comparar las cinéticas de cepas aisladas versus cinéticas en consorcio.

## Abstract

It is estimated that 85 to 90% of all oil spills at sea comes from cleaning tanks and bilges; spills of small or medium size loading and unloading, small accidents, water reservoirs, among others. The Polycyclic Aromatic Hydrocarbons such as at low concentrations (1 mg/g), slow cell division and growth of plankton. In concentrations greater than 1 ug / g caused death of large numbers of organisms and other species of the sea; human concentrations of 10 mL / kg body can cause death. The Panama Canal Zone (PCZ) represents approximately 5% of the global transportation and Manzanillo Bay is located in the adjacent area to PCZ. The aimed of this study is to evaluate the potential of microorganisms debugging to degrade hydrocarbons and its application to biological treatment systems from the sediment of Manzanillo Bay, Colon, Panama. Five (5) bacterial were isolates in minimal salts medium supplemented with hydrocarbons (naphthalene, phenanthrene and pyrene) as sole carbon source. Isolates, were tested at different hydrocarbon concentrations selection (125 mg / L, 250 mg / L, 500 mg / L, 750 mg / L, 1,000 mg / L and 2000 mg / L) , the most representative of six (6) scenarios, were chosen, and the most hydrocarbon tolerant strain was chosen. The selected strain was evaluated in laboratory, its ability to grow using hydrocarbon of higher affinity (Naphthalene) as the only source of carbon, and its application to biological treatment systems using a Bioreactor at laboratory scale, were performed Optical density measurements and colony forming units (CFU / mL). Their ability to consume Naphthalene by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was also tested. Growth curves for bacterial strain was prepared, and its kinetic model was performed. *Rhodococcus equi* bacteria, was identified through a biochemical tests Coryne APY system and was able to grow exponentially in Naphthalene. On the other substrates (Pyrene and Phenanthrene), not representative growth was observed in the studied period (600 h). In none of the concentrations studied, inhibition (600 h) was observed. Their kinetic model, which resembles to Monod was determined. The maximum specific growth rates ( $\mu_{max}$ ) for the best two scenarios September 2012 ( $T^{\circ}$  30 ° C) and July 2013 ( $T^{\circ}$  of 26 ° C), were respectively  $1.38 \times 10^7$  CFU / mL/ h and  $1.11 \times 10^8$  CFU / mL / h; their saturation constant ( $K_s$ ) were respective 458 mg / L and 403 mg / L. They are the largest  $K_s$  found in studies up to day using Naphthalene as the only source of carbon. The Chromatography total removals of Naphthalene were evidenced in both assays, to determine kinetic model and also in the laboratory scale bioreactor. Are recommended bioassays studies of Naphthalene biodegradation kinetics studies at higher concentrations than 2000 mg / L to find the inhibition constant; with different combinations of hydrocarbons such as co-substrates and compare isolates kinetics versus kinetic consortium.