



Universidad Tecnológica Nacional
Rectorado
Secretaría de Ciencia y Tecnología

**SISTEMA DE INFORMACION DE CIENCIA Y
TECNOLOGIA (SICyT)**

FORMULARIO PARA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

Código del Proyecto: MSTCDN0010166TC

1. Unidad Científico-Tecnológica

FR Neuquén - INGENIERÍA QUÍMICA APLICADA A LOS BIOPROCESOS (IQAB)

2. Denominación del PID

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE MICROORGANISMOS AISLADOS A PARTIR DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO DE LA CUENCA NEUQUINA.

3. Resumen Técnico del PID

El presente proyecto surge como consecuencia de los trabajos que nuestro grupo de investigación ha venido desarrollando a lo largo de los últimos años, iniciando con el trabajo conjunto con la UTN-Facultad Regional Buenos Aires, en el marco de un programa de fortalecimiento del Desarrollo Institucional y Científico, en particular a aquella orientada a la remediación de pasivos ambientales generados por la industria hidrocarburífera. La actividad hidrocarburífera, está compuesta por varias etapas desde la exploración, la explotación y hasta la producción de hidrocarburos derivados del petróleo. Esta actividad, que es en particular muy desarrollada en nuestra provincia, conlleva en cada una de sus etapas posibles derrames de hidrocarburos, lo que ocasiona contaminación de suelos, napas y cursos de agua superficiales. Considerando que esta actividad ha iniciado hace ya varios años, se encuentran locaciones con contaminación histórica en cercanías de los pozos petroleros, en yacimientos o en otras etapas productivas, es necesario, profundizar en la aplicación de métodos de tratamiento y recuperación de estos ambientes naturales que se ven afectados. Para ellos se propone continuar investigando sobre la utilización de métodos de biorremediación, para este tipo de contaminación. La biorremediación es un proceso que utiliza microorganismos para limpiar desechos y contaminantes del medio ambiente, y se ha demostrado que es un método efectivo para tratar suelos contaminados con hidrocarburos. Esto se debe a que los microorganismos pueden degradar los hidrocarburos en compuestos no tóxicos, como dióxido de carbono y agua. En este sentido, el presente proyecto pretende evaluar la capacidad biodegradadora, de microorganismos que han sido aislados por nuestro grupo de trabajo, de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, siendo utilizados en diferentes matrices y con diferentes tipos de hidrocarburos.

4. Programa

Medio Ambiente, Contingencias y Desarrollo Sustentable

5. Proyecto

Tipo de Proyecto: PID EQUIPOS CONSOLIDADOS CON INCENTIVOS

Tipo de Actividad: Investigación Aplicada

Campos de Aplicación:

Rubro	Descrip. Actividad	Otra (especificada)
MEDIO TERRESTRE (Exploración y explotación)	Contaminación y saneamiento	
INDUSTRIAL (Producción y tecnología)	Química, petroquímica y carboquímica	

Disciplinas Científicas:

Rubro	Disciplina Científica	Otras Disciplinas Científicas
INGENIERÍA QUÍMICA	Proyectos	-

Palabras Clave

Hidrocarburos del petróleo - Contaminación ambiental - Biorremediación - Bioestimulación - Bioaumentación

6. Fechas de realización

Inicio	Fin	Duración	Fecha de Homologación
01/04/2024	31/03/2027	36 meses	27/11/2023

7. Aprobación/ Acreditación / Homologación / Reconocimiento (para ser completado por la SCyT - Rectorado)

7.1 Aprobación / Acreditación / Reconocimiento (para ser completado por la FR cuando se posea N° Resolución)

N° de Resolución de aprobación de la FR:

7.2 Homologación (para ser completado por la SCyT - Rectorado)

Código SCyT: MSTCDN0010166TC

Disposición SCyT: 32/2023

Código Ministerio:

8. Estado (para ser completado por la SCyT - Rectorado)

HOMOLOGADO

9. Avales (presentación obligatoria de avales)

CV Alberto Camacho - Categorización Camacho - Resolución UTN de aceptación del PID - Aval UTN-FRN - Autorización para el uso de las instalaciones del laboratorio

10. Personal Científico Tecnológico que participa en el PID

Apellido	Nombre	Cargo	Hs/Sem	Fecha Alta	Fecha Baja	Otros Cargos	Cargo docente	Año cargo docente	Categ. Investigador Universitario	Categ. Prog. Incentivos	
CAMACHO	ALBERTO GUSTAVO	DIRECTOR	10	01/04/2024	31/03/2027		Profesor Titular	2022	Investigador A	Investigador II	Descargar CV
HENOCH CERDA	GLENDA MARIANELA	INVESTIGADOR DE APOYO	10	01/04/2024	31/03/2027		<ul style="list-style-type: none"> Ayudante de 1ra Jefe de Trabajos Prácticos Profesor Adjunto 	2022	Investigador G	Ninguna	Descargar CV
POJMAEVICH	ANDREA BIBIANA	INVESTIGADOR DE APOYO	20	01/04/2024	31/03/2027		Profesor Asociado	2022	Investigador D	Investigador V	Descargar CV
DEMARÍA	VALERIA IANINA	BECARIO ALUMNO UTN-SAE	10	01/04/2024	31/03/2027				Ninguna	Ninguna	Descargar CV
ARBINI	GIANINA	BECARIO POSGRADO - DOCTORAL EN EL PAÍS	10	01/04/2024	31/03/2027		Jefe de Trabajos Prácticos	2019	Ninguna	Ninguna	Descargar CV

11. Datos de la investigación

Estado actual de concimiento del tema

Desde sus inicios la actividad hidrocarburífera en el mundo, a ocasionado problemáticas a nivel ambiental, sobre todo en relación a la contaminación que produce tanto en suelos como en aguas superficiales y subterráneas, desde la exploración, la extracción, el transporte, el procesamiento y distribución como producto. De igual manera, la producción hidrocarburífera en la Cuenca Neuquina (Sur de Argentina), se ha ido incrementando paulatinamente con el paso de los años alcanzando en este último tiempo valores record en su historia productiva, según lo informa el Gobierno Provincial del Neuquén en su página oficial del Ministerio de Energía y Recursos Naturales (Ministerio de energía y recursos naturales, 2022).

Anteriormente los sistemas tradicionales de eliminación de este tipo de contaminantes, han sido de tipo físicos o químicos, pero éstos no han sido suficientes ya que no se han reparado en su mayoría los sitios con contaminación histórica, así es que, hace ya algunos años se han sumado los procesos biotecnológicos, que sustituyen o complementan los sistemas tradicionales (Araruna *et al.*, 2004). Los procesos biotecnológicos utilizados generalmente implican el retiro del material de la zona de incumbencia para tratarlos en repositorios donde se mezclan con suelos contaminados de otros sectores y con otros hidrocarburos de forma *ex situ*, tal como es el proceso de *landfarming* o biopilas (Benavides López de Mesa *et al.*, 2006).

Dentro de estos tratamientos de gestión de los suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, la biorremediación ha demostrado ser una de las técnicas más eficientes de remediación, la cual puede ser definida como la utilización de organismos vivos para reducir o eliminar riesgos medioambientales resultantes de la acumulación de compuestos químicos tóxicos y otros residuos peligrosos (González Rojas, 2014).

"El término Biorremediación se refiere a la eliminación de aceites, sustancias químicas tóxicas u otros contaminantes de un ambiente mediante microorganismos. La biorremediación es una manera económica de limpiar los contaminantes y, en algunos casos, es la única manera práctica de hacerlo" (Brock, 2009)

En este sentido, cabe mencionar que en los últimos años, muchos estudios han demostrado la eficacia y la factibilidad del

aprovechamiento de las capacidades metabólicas de los microorganismos en procesos de biodegradación de diferentes grupos de compuestos, entre los que se cuentan los hidrocarburos (Hughes et al., 1997; Yerushalmi y Guiot, 1998; Dua et al., 2002; Ruberto et al., 2006, 2009; Vázquez et al., 2009; Dias et al., 2012). Entre los procesos de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos la **Biorremediación** ha mostrado ser una de las técnicas más eficientes.

Los factores que gobiernan la biorremediación son, factores del hidrocarburo como la composición química, el estado físico y la concentración; factores ambientales como la temperatura, la disponibilidad de oxígeno, la humedad, la salinidad, los nutrientes y el pH; y factores microbianos como la cantidad de microorganismos, dotación enzimática, asociación por co-oxidación, la dinámica de las poblaciones y la velocidad de biodegradación (Salomón, 2020).

Es sabido que los microorganismos para cumplir sus funciones metabólicas requieren de macro y micro nutrientes, entre otros, así es que una de las metodologías utilizadas para la Biorremediación es la bioestimulación, que consiste en adicionar los nutrientes necesarios, como puede ser nitrógeno y fósforo, habitualmente por medios inorgánicos. Esta acción contribuye al mayor y más acelerado crecimiento de los microorganismos involucrados, otro método utilizado, es el de bioaumento, que consiste en aumentar la población microbiana, y así acelerar el proceso de consumo del sustrato (contaminante como fuente de carbono) considerando que, a mayor masa bacteriana en este caso, mayor será el requerimiento de sustrato. Por último, la combinación de las dos anteriores, que consiste en aumentar la población de bacterias y además adicionar los nutrientes que sean deficientes en el suelo de origen.

Actualmente, la búsqueda de cepas capaces de metabolizar compuestos recalcitrantes, específicamente hidrocarburos, y el estudio de las condiciones bajo las cuales la degradación tiene lugar, sigue siendo un área de activa investigación (Grosser et al., 2000; Juhasz et al., 2000; Gwynfryn Janes, 2001; Silva et al., 2004; Vázquez et al., 2009, 2013; Chikere et al., 2012; Dias et al., 2012; Fan et al., 2014). Muchos grupos diferentes de microorganismos han sido citados como degradadores de compuestos orgánicos contaminantes y, en muchos casos, son comunidades bacterianas complejas y no cepas aisladas las que son capaces de lograr una mayor remoción de los mismos (Liu y Sufliya, 1993; Yerushalmi y Guiot, 1998; Mukherjee y Bordoloi, 2011; Patel et al., 2013; Wu et al., 2013). Las nuevas técnicas moleculares disponibles actualmente permiten el relevamiento, incluso, de especies no cultivables. Para muchos compuestos orgánicos, las vías de degradación han sido descritas, aisladas las enzimas que catalizan estas reacciones, y clonados y secuenciados los correspondientes genes. Sin embargo, el éxito de la degradación ex situ de los hidrocarburos se contradice con la persistencia de muchos de estos compuestos bajo condiciones naturales in situ.

Hasta ahora, la mayoría de las investigaciones microbiológicas de degradación de xenobióticos se han llevado a cabo bajo condiciones optimizadas, lo cual significa que la única condición crítica para los microorganismos son los xenobióticos agregados. Sin embargo, en suelos y sistemas acuáticos contaminados, estas condiciones son siempre mucho más complejas, prevaleciendo factores limitantes y condiciones de estrés adicionales, como, por ejemplo, la competencia y la predación. En su ambiente natural, la mayoría de las poblaciones bacterianas viven en condiciones oligotróficas, empobrecidas en nutrientes, lo cual lleva a una situación de estrés permanente, donde aún las especies no formadoras de esporas son capaces de sobrevivir por largo tiempo.

Con el fin de abordar la problemática de la contaminación y habiendo avanzado en la caracterización de los suelos de la Cuenca Neuquina, respecto de su composición nutricional, actividad microbiológica, capacidad biodegradativa a escala laboratorio, y de haber aislado microorganismos autóctonos, es necesario continuar con el desarrollo de conocimientos y tecnologías de Biorremediación, utilizando los microorganismos aislados, para evaluar su capacidad de actuar de manera eficaz sobre el tratamiento y remediación de los suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, evitando perturbar el medio ambiente, de forma drástica como sucede con los métodos tradicionales fisicoquímicos.

Bibliografía

- Acharya, P., Aves, P., 1994. *Incineration at Bayou Bounfouca remediation project. Waste Manag.* 14, 13-26.
- Araruna Jr, J., Portes, V., Soares, A., Silva, M., Sthel, M., Schramm, D., Tibana, S., Vargas, H., 2004. *Oil spills debris clean up by thermal desorption. J. Hazard. Mater.* 110, 161-171.
- Chikere, C., Surridge, K., Okpokwasili, G., Cloete, T., 2012. *Dynamics of indigenous bacteria/ communities associated with crude oil degradation in soil microcosms during nutrient enhanced bioremediation. Waste Manag. Res.* 30, 225-236.
- Díaz, R., Ruberto, L., Hernández, E., Vázquez, S., Lo Balbo, A., Del Panno, M., Mac Cormack, W, 2012. *Bioremediation of an aged diesel/oil contaminated Antarctic soil: Evaluation of the "on site" biostimulation strategy using different nutrient sources. Int. Biodeterior. Biodegradation* 75, 96-103.
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., Johri, A., 2002. *Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 143-152.
- Fan, M., Xie, R., Qin, G., 2014. *Bioremediation of petroleum contaminated soil by a combined system of biostimulation? bioaugmentation with yeast. Environ. Technol.* 35, 391-399.
- Grosser, R., Friedrich, M., Ward, D., Inskeep, W, 2000. *Effect of model sorptive phases on phenanthrene biodegradation: different enrichment conditions influence bioavailability and selection of phenanthrene degrading isolates. Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2695-2702.
- Gwynfryn Janes, J., 2001. *Freshwater ecosystems? structure and response. Ecotoxicol. Environ. Saf.* 50, 107- 113.
- Hughes, J., Beckles, D., Chandra, S., Ward, C., 1997. *Utilization of bioremediation processes for the treatment of PAH contaminated sediments. J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 18, 152-160.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 1983. *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear aromatic compounds, Part I, chemical, environmental and experimental data. Lyon, France. pp.32-477.*
- Juhasz, A., Stanley, G., Britz, M., 2000. *Microbiol. degradation and detoxification of high molecular weight polycyclic*

- aromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas maltophilia* strain VUN 10,003. *Le\ Appl. Microbio/*. 30, 396-401.
- Liu, S., Suffita, J., 1993. *Ecology and evolution of microbial populations for bioremediation. Trends Biotechnol.* 11,344-352.
 - Mukherjee, A., Bordo/oi, N., 2011. *Bioremediation and reclamation of soil contaminated with petroleum oil hydrocarbons by exogenously seeded bacteria/ consortium: a pilot?scale study. Environ. Sci. Pollut. Res.* 18,471-478.
 - Pote/, V., Pote/, J., Madamwar, D., 2013. *Biodegradation of phenanthrene in bioaugmented microcosm by consortium ASP developed from coastal sediment of Alang?Sosiya ship breaking yard. Mar. Pollut. Bu/.* 74,199-207.
 - Ruberto, L., Días, R., Lo Balbo, A., Vazquez, S., Hernandez, E., Mac Cormack, W, 2009. *Influence of nutrients addition and bioaugmentation on the hydrocarbon biodegradation of a chronically contaminated Antarctic soil. J. Appl. Microbio/*. 106, 1101-1110.
 - Ruberto, L., Vazquez, S., Curtosi, A., Mestre, M., Pelletier, E., Mac Cormack, W, 2006. *Phenanthrene biodegradation in soils using an Antarctic bacteria/ consortium. Bioremediat. J.* 10, 191-201.
 - Silva, E., Fialho, A., Sá?Correia, I., Burns, R., Show, L., 2004. *Combined bioaugmentation and biostimulation to cleanup soil contaminated with high concentrations of atrazine. Environ. Sci. Technol.* 38, 632-637.
 - Vázquez, S., Nogales, B., Ruberto, L., Hernández, E., Christie?Oleza, J., Balbo, A., Bosch, R., Lalucat, J., Mac Cormack, W, 2009. *Bacteria/ community dynamics during bioremediation of diesel/ oi/?contaminated Antarctic soil. Microb. Eco/*. 57, 598-610.
 - *Characterization of bacteria/ consortia from diesel?contaminated Antarctic soils: towards the design of tailored formulas for bioaugmentation. Int. Biodeterior. Biodegradation* 77, 22-30.
 - Wu, M., Chen, L., Tian, Y., Ding, Y., Dick, W, 2013. *Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by microbial consortia enriched from three soils using two different culture media. Environ. Pollut.* 178, 152-158.
 - Yerushalmi, L., Guiot, S., 1998. *Kinetics of biodegradation of gasoline and its hydrocarbon constituents. App/ Microbio/ Biotechnol.* 49, 475-481.
 - Gilian Adam y Harry Duncan {2000} *Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. Soil Biology & Biochemistry. PERGAMON*
 - Johan Schnürer and Thomas Rosswa/1 {1982} *Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. Applied and environmental microbiology.*
 - Francisco De la Garza, Yessica Ortiz, Blanca Castro, Patricio Rivera y Lomzo Heyer. *Aislamiento de microorganismos a partir de suelos contaminados con hidrocarburos. Link:*
 - Arrieta Ramírez, Oiga María, Rivera Rivera, Angela Patricia, Arias Marín, Lida, Rojano, Benjamín Alberto, Ruíz, Orlando, Cardona Gallo, Santiago Alonso, *Biorremediación de un suelo con diesel/ Mediante el uso de microorganismos autóctonos. Gestión y Ambiente [en línea] 2012, 15 {Febrero-Mayo}: [Fecha de consulta: 16 de mayo de 2018} Disponible en: < >/SSN 0124-III X M. Madigan et al. {2009} Brock. Biología de los microorganismos. 12 ed. Pearson Addison Wesley*

Grado de Avance

El presente proyecto es una continuación del realizado por nuestra facultad durante el período 2019-2021, bajo la denominación "ESTRATEGIAS DE BIORREMEDIACIÓN PARA EL TRATAMIENTO Y RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO IN SITU" – Código: MSUTNDN0005232 y el realizado con anterioridad conjuntamente con al UTN-Facultad Regional Buenos Aires, en el período 2015 - 2017 con prórroga hasta el 2018, sobre ESTRATEGIAS DE BIORREMEDIACION PARA EL TRATAMIENTO Y RECUPERACION DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DE PETROLEO - código: MSIFIBA0002419TC.

En los proyectos anteriores, se trabajó en caracterizar muestras de diferentes zonas de la cuenca Neuquina como son suelo de Rincón de los Sauces y Catriel, determinando parámetros de nitrógeno, fósforo, carbono orgánico total, hidrocarburos totales, pH, humedad, recuento de bacterias heterótrofas aerobias totales y bacterias degradadoras totales, además, se realizaron ensayos de actividad microbiana total (G. Adam y H. Duncand. 2000) (J. Schnürer y T. Rosswall. 1982), biodegradabilidad (Atlas RM, Bartha R. 2002) y capacidad de reducción los hidrocarburos totales del petróleo presentes en las muestras, este parámetro fue medido utilizando la norma EPA 418.1 .

De los suelos analizados, se pudo observar que en general los suelos tienen un contenido de nitrógeno por debajo del límite detectable por la norma, al igual que el fósforo. De las mediciones realizadas se observó una buena relación de bacterias degradadoras totales, con capacidad biodegradabilidad en microcosmos.

Luego durante el año 2019 se trabajó en el aislamiento de las cepas degradadoras presentes en la muestra de suelo, consideradas autóctonas, las que fueron almacenadas en glicerol al 40% a -20°C. Luego recién en 2022 se pudieron retomar las actividades en el laboratorio, dada la pandemia asociada al COVID-19 y a remodelaciones edilicias que fue necesario realizar en nuestro laboratorio, luego del período que estuvo cerrado. Así es que, en 2022, se realizaron tareas de reactivación de las cepas guardadas, de las cuales se pudieron identificar 3, (**Alcanivorax sp.**, **Pelagerythrobacter sp.**, y del reino fungi el **Aspergillus Versicolor**).

Así es que de los resultados obtenidos a escala laboratorio se pretende aplicar los conocimientos y experiencia adquirida, en la evaluación de la capacidad biodegradadora, de las cepas aisladas y otras nuevas que pudieran aislarse del suelo de stock, sobre suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, de otros sitios de la cuenca Neuquina.

activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. Department of Environmental, Agricultural and Analytical Chemistry, Joseph Black Building, University of Glasgow, Glasgow G12 8QQ, UK. Soil Biology & Biochemistry 33 (2001) 943±951

2. J. Schnürer y T. Rosswall (1982) Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences, S-750 07 Uppsala, Sweden. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 0099-2240/82/061256-06. p. 1256-1261.
3. Atlas RM, Bartha R. (2002). Ensayos de biodegradabilidad y seguimiento de la biorremediación de contaminantes xenobióticos. En: Atlas RM, Bartha R (Eds) Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. Pearson Educación, Madrid. pp. 553-593..
4. Pojmaevich, Demaría, I., Cruz, M., Pincheira, J., Camacho, A., Ruberto, LAM, & Busto, V. (2019). Estudio de biodegradabilidad in vitro de hidrocarburos del petróleo en suelos contaminados de Catriel oeste (Cuenca Neuquina). *Editorial Facultad de Agronomía*.

Objetivos de la investigación

Objetivo general:

Generar conocimiento que permita diseñar un protocolo de aplicación de los microorganismos autóctonos, aislados de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, evaluando la efectividad y la viabilidad de la biorremediación para diferentes tipos de suelos contaminados con hidrocarburos.

Objetivos específicos:

- Aplicar los conocimientos adquiridos para diseñar un sistema experimental.
- Determinar la capacidad para degradar hidrocarburos presentes en suelos contaminados, de los microorganismos aislados.
- Seleccionar las cepas o consorcios sobre la base de su capacidad degradadora de los hidrocarburos del petróleo.
- Analizar los factores que modulan la actividad biodegradativa de los microorganismos autóctonos en diferentes condiciones ambientales, como la temperatura, la presencia de nutrientes y la concentración de contaminantes.
- Evaluar la presencia residual de hidrocarburos del petróleo en los suelos con historia de contaminación en ambas matrices.

Descripción de la metodología

Para lograr los objetivos propuestos se proponen las siguientes actividades:

1. Selección de los sitios de interés (al menos tres).
2. Definición de la metodología de muestreo.
3. Toma de muestra
4. Acondicionamiento de la muestra.
5. Caracterización de las muestras:
 - a. Hidrocarburos totales de petróleo en suelos, ya que la matriz de los diferentes tipos de suelo influye de manera significativa principalmente en la extracción de los mismos, para ello se sigue el método EPA 418.1 (espectroscopia infrarroja). Este análisis permitirá determinar el tipo y grado de contaminación de los suelos.
 - b. Características fisicoquímicas de los suelos en estudio. Determinando parámetros como color y textura, humedad, pH y contenido de carbono, nitrógeno y fósforo, lo que nos permite entre otros conocer la capacidad nutricional del suelo de estudio.
 - c. Evaluación del número de bacterias aerobias totales y degradadoras de hidrocarburos en suelos. La evaluación del número de bacterias heterótrofas aerobias totales se realizará en medios nutritivos agarizados (R2A Agar Merck 100416, Britania B0224706). La evaluación del número de bacterias degradadoras de hidrocarburos se realizará en medios agarizados con hidrocarburos como única fuente de carbono y energía, o bien utilizando el método del número más probable (NMP) en placas de 96 celdas y con INT y DCPIP como aceptores de electrones (Hanson et al., 1993).
 - d. Determinación de la contribución de la flora microbiana y de la disipación abiótica en el proceso de remediación de hidrocarburos. Los ensayos se realizarán en las siguientes unidades experimentales:
 - I. Microcosmos en frascos (hasta 1 kg de suelo). Donde se utilizará el diseño y procedimientos desarrollados por Meriniet al. (2007) y Ruberto et al. (2006).

El diseño aplicable a cada unidad experimental permitirá constatar si existen diferencias significativas en la eficiencia de remoción de hidrocarburos entre distintos tratamientos cuando se trata un suelo contaminado en forma crónica/ aguda. Para ello, se emplearán los siguientes sistemas:

- a. Control "blanco": contiene suelo problema, pero no se le practica ninguna modificación, excepto los cuarteos y muestreos.
- b. Control "abiótico": contiene el suelo problema estéril (por métodos físicos o químicos). Permite evaluar la disipación de los contaminantes por volatilización, fotoxidación o adsorción.
- c. Control "no expuesto al contaminante": se utiliza suelo extraído de áreas cercanas al sitio a tratar, pero sin historia de contaminación alguna.

- d. Atenuación natural: contiene suelo problema sin ninguna modificación, excepto el eventual ajuste de humedad.
- e. Bioestimulación de la microflora autóctona*: contiene suelo problema adicionado con una solución de nutrientes.
- f. Bioaumentación+bioestimulación: Contiene suelo problema adicionado con bacterias degradadoras de hidrocarburos previamente obtenidas y cultivadas in vitro, y una solución de nutrientes.

* Bioestimulación de la microflora autóctona. A los efectos de evaluar la eficiencia de diversas fuentes de N y P sobre la bioestimulación de la remoción de hidrocarburos en suelos contaminados se definirán tratamientos considerando distintas fuentes de N y P como sales inorgánicas (NH₄NO₃, K₂HPO₄), fertilizantes comerciales (NPK), matrices orgánicas (harina de pescado, efluentes), así como también fertilizantes oleofílicos específicos para Biorremediación (tipo OSEII, BIOREN o INIPOL).

** Bioaumentación. Para llevar a cabo el bioaumentación:

- Se tomarán las cepas aisladas previamente, las cuales se conservaron en glicerol al 40% y -20°C.
- Para aumentar el stock de cepas degradadoras, se aislarán nuevas provenientes del suelo problema.
- Optimización del proceso: se seleccionará la estrategia de bioaumentación que haga óptimo el desarrollo del proceso de biorremediación teniendo en cuenta: frecuencia de inoculación y necesidad de un vehículo o matriz sólida para el agregado del inóculo (Madsen y Kristensen, 1997). Los estudios de bioaumentación comprenderán diferentes cargas de inóculo, diferentes estrategias de agregado (100% a tiempo inicial y agregado escalonado) y diferentes vehículos, ya sea en solución acuosa o asociado a matrices inertes de bajo costo (vermiculita, aserrín, alginato, partículas de óxido de silicio).

Análisis de la evolución y eficiencia de procesos de Biorremediación en suelos contaminados. Los parámetros fundamentales que se medirán durante los procesos de Biorremediación son:

- Contenido de macronutrientes (N y P) y COT (carbono orgánico total) en los suelos bajo tratamiento: se determinará utilizando técnicas convencionales.
- Concentración de hidrocarburos totales del petróleo en suelo: se realizará siguiendo el método EPA 418.1 (Espectroscopia infrarroja).
- Evaluación del número de bacterias heterótrofas aerobias totales: se realizará en medios nutritivos agarizados (R2A Agar Merck 100416, Britania B0224706).
- Evaluación del número de bacterias degradadoras de hidrocarburos: se realizará en medios agarizados con hidrocarburos como única fuente de carbono y energía, o bien utilizando el método del número más probable (NMP) en placas de 96 celdas y con INT y DCPIP como aceptores de electrones (Hanson et al., 1993).

12. Contribuciones del Proyecto

Contribuciones al avance científico, tecnológico, transferencia al medio

El grado de avance y desarrollo alcanzado por la Biorremediación de suelos, en comparación con otros procesos biotecnológicos, la posicionan como una tecnología joven. En este sentido, aunque ha dejado de ser una tecnología emergente; la sitioespecificidad de los procesos que involucra, sumada a su intrínseco carácter multidisciplinar han hecho de la Biorremediación una disciplina en sostenida evolución hacia su madurez tecnológica.

En este contexto, el presente proyecto aportará datos de alta calidad científica, basado en ensayos de pequeña y mediana escala, con suelos y comunidades microbianas obtenidas directamente de suelo de la zona de Catriel Oeste, que serán aplicadas a otros suelos, de la misma cuenca Neuquina, seleccionados estratégicamente, intentando de esta manera abarcar la problemática de la cuenca en general.

Se utilizarán suelos de empresas radicadas en la cuenca, que presenten la problemática ambiental citada, de modo de articular la investigación aplicada con la transferencia directa de tecnología a las empresas intervinientes, ampliando sus oportunidades de mejorar la calidad del medio ambiente.

Contribuciones a la formación de Recursos Humanos

El presente proyecto está conformado por un tesista doctoral, un becario doctoral, un docente investigador y un becario alumno próximo a graduarse, que tiene intenciones de continuar su formación de posgrado en la temática del proyecto. De esta manera el presente proyecto, aportará los conocimientos que permiten promover la formación de recursos humanos altamente calificados en el ámbito regional, de influencia directa respecto de la problemática de los suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, sobre todo en las localidades de Plaza Huincul, ciudad donde está emplazada la UTN-FRN. Esto resulta estratégico en la factibilidad de transferencia tecnológica e implementación de procesos de Biorremediación de suelos.

Además, los investigadores se desempeñan como docentes de grado lo que permite la transferencia de los conocimientos adquiridos en el ámbito académico.

13. Cronograma de Actividades

Año	Actividad	Inicio	Duración	Fin
1	Selección de los sitios para toma de muestra	01/04/2024	2 meses	31/05/2024
1	Toma de muestras y acondicionamiento (Muestra 1)	01/06/2024	1 meses	30/06/2024
1	Determinación de HTP y caracterización fisicoquímica	01/07/2024	2 meses	31/08/2024
1	Recuento de bacterias heterótrofas aerobias totales y bacterias degradadoras totales.	01/09/2024	3 meses	30/11/2024
1	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana autóctona.	01/12/2024	3 meses	28/02/2025
2	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana inoculada	01/03/2025	3 meses	31/05/2025
2	Toma de muestras y acondicionamiento (Muestra 2)	01/05/2025	1 meses	31/05/2025
2	Análisis de la información recolectada (Muestra 1)	31/05/2025	2 meses	30/07/2025
2	Determinación de HTP y caracterización fisicoquímica (Muestra 2)	01/06/2025	2 meses	31/07/2025
2	Recuento de bacterias heterótrofas aerobias totales y bacterias degradadoras totales. (Muestra 2)	01/08/2025	3 meses	31/10/2025
2	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana autóctona. (Muestra 2)	01/11/2025	3 meses	31/01/2026
2	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana inoculada. (Muestra 2)	01/02/2026	2 meses	31/03/2026
3	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana inoculada (Muestra 2)	01/04/2026	1 meses	30/04/2026
3	Toma de muestras y acondicionamiento (Muestra 3)	01/04/2026	1 meses	30/04/2026
3	Determinación de HTP y caracterización fisicoquímica (Muestra 3)	01/05/2026	2 meses	30/06/2026
3	Análisis de la información recolectada (Muestra 2)	01/05/2026	2 meses	30/06/2026
3	Recuento de bacterias heterótrofas aerobias totales y bacterias degradadoras totales (Muestra 3)	01/07/2026	3 meses	30/09/2026
3	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana autóctona. (Muestra 3)	01/10/2026	3 meses	31/12/2026
3	Análisis de la información recolectada (Muestra 3)	01/01/2027	3 meses	31/03/2027
3	Diseño de microcosmos - determinación de la contribución microbiana inoculada. (Muestra 3)	01/02/2027	2 meses	31/03/2027

14. Conexión del grupo de Trabajo con otros grupos de investigación en los últimos cinco años

Grupo Vinc.	Apellido	Nombre	Cargo	Institución	Ciudad	Objetivos	Descripción
-	-	-	-	-	-	-	-

15. Presupuesto

Total Estimado del Proyecto: \$ 0,00

15.1. Recursos Humanos - Inciso 1 e Inciso 5

Primer Año

Becarios Inciso 5	Cantidad	Pesos	Origen del financiamiento
1. Becario Alumno Fac.Reg.	0	\$ 0,00	-
2. Becario Alumno UTN-SAE	1	\$ 260000,00	Facultad Regional
3. Becario Alumno UTN-SCyT	0	\$ 0,00	-
4. Becario BINID	0	\$ 0,00	-
5. Becario Posgrado-Doctoral en el país	1	\$ 1010000,00	UTN- SCTyP
6. Becario Posgrado Doctoral en el extranjero	0	\$ 0,00	-
7. Becario Posgrado - Especialización	0	\$ 0,00	-
8. Becario Posgrado - Maestría en el país	0	\$ 0,00	-
9. Becario Posgrado - Maestría en el extranjero	0	\$ 0,00	-

Docentes Investigadores y Otros - Inciso 1	Cantidad	Pesos
1.Administrativo	0	\$ 0,00
2.CoDirector	1	\$ 2665000,00
3.Director	1	\$ 1462500,00
4.Investigador de apoyo	1	\$ 1110500,00
5.Investigador Formado	0	\$ 0,00
6.Investigador Tesista	0	\$ 0,00
7.Otras	0	\$ 0,00
8.Técnico de Apoyo	0	\$ 0,00

Totales	Inciso 5	Inciso 1	Total
Primer Año	\$ 1270000,00	\$ 5238000,00	\$ 6508000,00

Segundo Año

Becarios Inciso 5	Cantidad	Pesos	Origen del financiamiento
1. Becario Alumno Fac.Reg.	0	\$ 0,00	-
2. Becario Alumno UTN-SAE	1	\$ 520000,00	Facultad Regional
3. Becario Alumno UTN-SCyT	0	\$ 0,00	-
4. Becario BINID	0	\$ 0,00	-
5. Becario Posgrado-Doctoral en el país	1	\$ 2020000,00	UTN- SCTyP
6. Becario Posgrado Doctoral en el extranjero	0	\$ 0,00	-
7. Becario Posgrado - Especialización	0	\$ 0,00	-
8. Becario Posgrado - Maestría en el país	0	\$ 0,00	-
9. Becario Posgrado - Maestría en el extranjero	0	\$ 0,00	-

Docentes Investigadores y Otros - Inciso 1	Cantidad	Pesos
1.Administrativo	0	\$ 0,00
2.CoDirector	1	\$ 5330000,00
3.Director	1	\$ 2925000,00
4.Investigador de apoyo	1	\$ 2221000,00
5.Investigador Formado	0	\$ 0,00
6.Investigador Tesista	0	\$ 0,00
7.Otras	0	\$ 0,00
8.Técnico de Apoyo	0	\$ 0,00

Totales	Inciso 5	Inciso 1	Total
Segundo Año	\$ 2540000,00	\$ 10476000,00	\$ 13016000,00

Tercer Año

Becarios Inciso 5	Cantidad	Pesos	Origen del financiamiento
1. Becario Alumno Fac.Reg.	0	\$ 0,00	-
2. Becario Alumno UTN-SAE	1	\$ 1040000,00	-
3. Becario Alumno UTN-SCyT	0	\$ 0,00	-
4. Becario BINID	0	\$ 0,00	-
5. Becario Posgrado-Doctoral en el país	1	\$ 4040000,00	-
6. Becario Posgrado Doctoral en el extranjero	0	\$ 0,00	-
7. Becario Posgrado - Especialización	0	\$ 0,00	-
8. Becario Posgrado - Maestría en el país	0	\$ 0,00	-
9. Becario Posgrado - Maestría en el extranjero	0	\$ 0,00	-

Docentes Investigadores y Otros - Inciso 1	Cantidad	Pesos
1.Administrativo	0	\$ 0,00
2.CoDirector	1	\$ 1066000,00
3.Director	1	\$ 5850000,00
4.Investigador de apoyo	1	\$ 4442000,00
5.Investigador Formado	0	\$ 0,00
6.Investigador Tesista	0	\$ 0,00
7.Otras	0	\$ 0,00
8.Técnico de Apoyo	0	\$ 0,00

Totales	Inciso 5	Inciso 1	Total
Tercer Año	\$ 5080000,00	\$ 11358000,00	\$ 16438000,00

TOTAL GENERAL	Inciso 5	Inciso 1	Total General
Todo el Proyecto	\$ 8890000,00	\$ 27072000,00	\$ 35962000,00

15.2 Bienes de consumo - Inciso 2

Año del Proyecto	Financiación Anual	Solicitado a
1	\$ 540.000,00	UTN - SCTyP
2	\$ 540.000,00	UTN - SCTyP

Total en Bienes de Consumo

| \$ 1.620.000,00

15.3 Servicios no personales - Inciso 3

Año	Descripción	Monto	Solicitado a
1	Pasajes y viáticos	\$ 190.000,00	Facultad Regional
1	Presentaciones y publicaciones	\$ 113.000,00	Facultad Regional
1	Cursos de perfeccionamiento	\$ 75.000,00	Facultad Regional
1	Inscripción a congresos	\$ 53.000,00	Facultad Regional
1	Determinaciones fisicoquímicas y moleculares	\$ 200.000,00	Facultad Regional
2	Pasajes y viáticos	\$ 375.000,00	Facultad Regional
2	Presentaciones y publicaciones	\$ 225.000,00	Facultad Regional
2	Cursos de perfeccionamiento	\$ 150.000,00	Facultad Regional
2	Inscripción a congresos	\$ 105.000,00	Facultad Regional
2	Determinaciones fisicoquímicas y moleculares	\$ 375.000,00	Facultad Regional
3	Pasajes y viáticos	\$ 750.000,00	Facultad Regional
3	Presentaciones y publicaciones	\$ 450.000,00	Facultad Regional
3	Cursos de perfeccionamiento	\$ 300.000,00	Facultad Regional
3	Inscripción a congresos	\$ 210.000,00	Facultad Regional
3	Determinaciones fisicoquímicas y moleculares.	\$ 750.000,00	Facultad Regional
Total en Servicios no personales		\$ 4.321.000,00	

15.4 Equipos - Inciso 4.3 - Disponible y/o necesario

Año	Disp/Nec	Origen	Descripción	Modelo	Otras Espec.	Cantidad.	Monto Unitario	Solicitado a
1	Disponible	Nacional	Flujo laminar	FHM 1 e	Microfilter	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Vortex	0-3000 rpm	Velp Cientifica	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Autoclave	LS B50L	Arcano	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Balanza analítica	Capacidad máx. 220 gr - pres. 0,0001 gr.	OHAUS	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Conductímetro	HM 3070	Aqua Combo (pH. DO. Cond. Salinidad)	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Micropipeta	50 a 5000 ul	Eppendorf	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Micropipeta	100 a 1000 ul	Eppendorf	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Micropipeta	20 a 200 ul	Eppendorf	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Espectrofotómetro	UV 510 UV Vis	Metash	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Nacional	Estufa decultivo	Con agitador orbital 0-200 RPM	FAC	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Agitador orbitall	KJ 201BD	Shaker	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Nacional	Estufa de esterilización y secado	60 a 210 °C	Estufa "San Jor" de esterilización	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Nacional	Destilador de agua	ARCANO GZ-5 L/H	Con corte automático por sobrevoltaje o bajo nivel de agua	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Importado	Microscopio	Microscopio digital LCD "Biotraza" XSP-167SP	X de 4, 10, 40 y 100	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Naciona	Microcentrifuca	Z-127-DF - 24 tubos	Giumelli. Velocidad entre 500 y 14000 (RPM). Fuerza G aproximada	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional

					15.000 (RCF)			
1	Disponible	Nacional	Biorreactor	Modelo DL-5-M-B11100-MA-NGM-SAT	Volumen de trabajo 5 litros	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Disponible	Nacional	Centrifuga	12 tubos	-	1,00	\$ 0,00	Facultad Regional
1	Necesario	Importado	Campana de extracción de gases	FH700 de Mesada	-	1,00	\$ 960.000,00	Facultad Regional
Total en Equipos							\$ 960.000,00	

15.5 Bibliografía de colección - Inciso 4.5 - Disponible y/o necesario

Año	Disp/Nec	Origen	Descripción	Modelo	Otras Espc.	Cantidad	Monto Unitario	Solicitado a
1	Necesario	Importado	Química ambiental de sistemas terrestres	2006	-	1,00	\$ 10.600,00	Facultad Regional
1	Necesario	Importado	Biología de los microorganismos	2014	-	1,00	\$ 24.500,00	Facultad Regional
Total en Bibliografía							\$ 35.100,00	

15.6 Software - Disponible y/o necesario

Año	Disp/Nec	Origen	Descripción	Modelo	Otras Espc.	Cantidad	Monto Unitario	Solicitado a
-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total en Software							\$ 0,00	

16. Co-Financiamiento

Año	RR.HH.	Bienes de Consumo	Equipamiento	Servicios no personales	Bibliografía	Software	Total
1	\$6.508.000,00	\$540.000,00	\$960.000,00	\$631.000,00	\$35.100,00	\$0,00	\$8.674.100,00
2	\$13.016.000,00	\$540.000,00	\$0,00	\$1.230.000,00	\$0,00	\$0,00	\$14.786.000,00
3	\$16.438.000,00	\$540.000,00	\$0,00	\$2.460.000,00	\$0,00	\$0,00	\$19.438.000,00
Total del Proyecto	\$35.962.000,00	\$1.620.000,00	\$960.000,00	\$4.321.000,00	\$35.100,00	\$0,00	\$42.898.100,00

Financiamiento de la Universidad

Universidad Tecnológica Nacional - SCyT	\$ 36.132.000,00
Facultad Regional	\$ 7.136.100,00

Financiamiento de Terceros

Organismos públicos nacionales (CONICET, Agencia, INTI, CONEA, etc.)	\$ 0,00
Organismos / Empresas Internacionales / Extranjeros	\$ 0,00
Entidades privadas nacionales (Empresas, Fundaciones, etc.)	\$ 0,00
Otros	\$ 0,00
Total	\$ 43.268.100,00

Avales de aprobación, Financiamiento y Otros

	Orden	Nombre de archivo	Tamaño
Descargar	1	AvalAlbertfirmado.pdf	425927
Descargar	2	Resoluciòncamacho.pdf	783045
Descargar	3	Resol61AlbertoGustavoCamacho.pdf	218539
Descargar	4	CV_ORG_1_CV-ARGENTINO-COMPLETO_20149911325.pdf	1506014
Descargar	5	AUTORIZACIÓNUSOLABORATORIO2023.pdf	117747
Descargar	6	reobservacionespidsutnconvocatoria2023Camacho.zip	496911

Currículums (Currículums de los integrantes cargados en el sistema)