

Artículo científico

Aislamiento y caracterización de bacterias lipolíticas en aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala**Sergio Alfredo Lickes**

Químico Biólogo, M.Sc. Recursos Hidráulicos

Trabajo: Departamento de Microbiología, Facultad de CCQQ y Farmacia. USAC.

Dirección para recibir correspondencia: salickez@hotmail.com

Recibido: 17.11.2017 Aceptado 27.11.2017

Resumen

Este artículo presenta un procedimiento de aislamiento e identificación de bacterias con actividad lipolítica aisladas de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Las muestras fueron tomadas en cinco puntos diferentes durante los meses de julio, agosto y septiembre de 2016. Se aislaron treinta y cinco cepas con actividad lipolítica utilizando tributirina como sustrato. Se evidenció la actividad lipolítica en agar tributirina de estas cepas, de las cuales se identificaron veinte. Las especies bacterianas identificadas corresponden a dieciocho cepas Gram negativo y dos cepas Gram positivo. Entre las especies identificadas se encuentran: *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Comamonas testosteroni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Pasteurella aerogenes*, *Pasteurella* spp., *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* y *Bacillus coagulans*.

PALABRAS CLAVE: Calidad del agua, cepas bacterianas, contaminación ambiental, contaminación del agua, cultivo bacteriano, identificación de bacterias y procesos biológicos.

Abstract

This article presents a procedure for the isolation and identification of bacteria with lipolytic activity isolated from the wastewater treatment plant (WWTP) of the University of San Carlos of Guatemala. Samples were taken at five different points during the months of July, August and September 2016. Thirty-five strains with lipolytic activity were isolated using tributyrin as a substrate. The lipolytic activity on tributyrin agar of these strains was evidenced, of which twenty were identified up to species. The bacterial species identified correspond to eighteen-Gram negative strains and two-Gram positive strains. Among the identified species are: *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Comamonas testosteroni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Pasteurella aerogenes*, *Pasteurella* spp., *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* and *Bacillus coagulans*.

KEY WORDS: Water quality, bacterial strains, environmental pollution, water pollution, bacterial culture, identification of bacteria and biological processes

Introducción

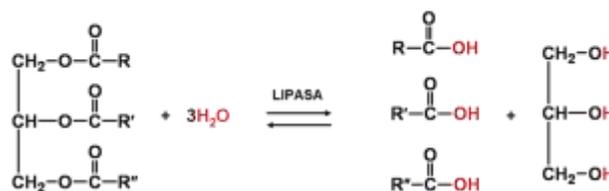
Mediante un procedimiento de aislamiento e identificación se obtuvieron bacterias con actividad lipolítica de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Las muestras fueron tomadas en cinco puntos de la PTAR durante los meses de julio, agosto y septiembre de 2016. El aislamiento se realizó por medio de la técnica de diluciones y siembra en agar tributirina. La caracterización se realizó por medio de pruebas bioquímicas utilizando galerías API 20E, API

20NE y API 50CHB de la casa comercial BioMerieux. Se aislaron treinta y cinco cepas en total de las cuales se identificaron veinte. Las cepas aisladas se inocularon en agar stock como medio de cultivo de conservación con aceite mineral para conformar un cepario; así como también para garantizar su preservación a temperatura ambiente y haciéndolas disponibles para su utilización en estudios posteriores como una opción de tratamiento biológico en la degradación de grasas y aceites de aguas residuales.

Antecedentes

El problema de los efluentes urbanos e industriales está íntimamente relacionado con la contaminación ambiental, ya que constituye una de sus causas. Las aguas residuales que contienen grasas y aceites tradicionalmente se tratan de forma física, este tratamiento se considera actualmente insuficiente si la grasa está en su forma dispersa. Un tratamiento de aceites de desecho usando microorganismos lipolíticos capaces de bioconvertir (o biodegradar) estos en productos de interés, reduciendo así su impacto en el ecosistema, sería una alternativa adecuada a este problema. Se ha descrito que el tratamiento biológico es el método más eficiente para la eliminación de grasas y aceites, degradándolas en moléculas miscibles; por lo tanto, la manipulación de microorganismos para fines de tratamiento y de biorremediación proporciona una herramienta muy eficaz para la purificación de efluentes contaminados y aguas naturales. Para lograr lo anterior el primer paso es aislar bacterias con propiedades lipolíticas. Se han reportado diversas técnicas para el aislamiento este tipo de bacterias (HARRIS, 1990/ HENDRICKS, 2015). Los lípidos, representados mayoritariamente por aceites, grasas y ácidos grasos de cadena larga, son componentes orgánicos importantes en aguas residuales que significan un gran problema en el tratamiento y como contaminantes de los ecosistemas acuáticos; en los cuales los microorganismos juegan un papel importante para su recuperación. Los factores importantes en la degradación de sustancias orgánicas por microorganismos son la producción de varios tipos de enzimas y el rápido crecimiento de microorganismos. Varios microorganismos tienen la capacidad de producir la enzima lipasa extracelular que hidroliza los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol (MAHAJAN, 2012). Es posible obtener cultivos puros de bacterias con propiedades lipolíticas utilizando un medio de cultivo enriquecido con un lípido como sustrato. Las enzimas lipolíticas son biocatalizadores que llevan a cabo reacciones de síntesis, hidrólisis o intercambios de grupos en sustancias oleosas; una de las principales fuentes de estos biocatalizadores son las bacterias, ya que son fáciles y rápidas de cultivar, entre otras ventajas, y gracias a las técnicas de biología molecular pueden obtenerse en grandes cantidades (NAVARRO-GONZÁLEZ, 2012). De acuerdo con la definición de la Comisión de Enzimas de la IUPAC las lipasas son triacilglicerol éster hidrolasas, es decir, enzimas que catalizan de forma natural la hidrólisis de triacilglicéridos (figura 1).

Figura 1 Hidrólisis de triglicéridos catalizada por lipasa



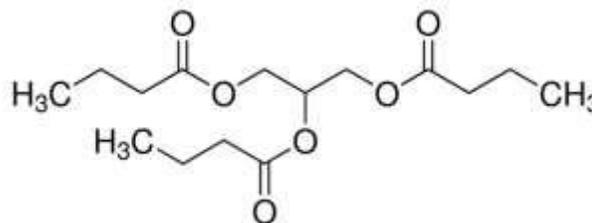
Fuente: Función e importancia de lipasa.

<http://bloggminerva.blogspot.com/2013/04/funcion-e-importancia-de-lipasa.html>. Consulta 24 de agosto de 2016

a. Tributirina

La tributirina es un triglicérido compuesto de ácido butírico y glicerol (figura 2). Entre otras cosas, es usado como un ingrediente para fabricar margarina. Se lo encuentra en la manteca y puede ser descrito como una grasa líquida de sabor amargo y olor similar a la manteca rancia. Su fórmula molecular es $(CH_3CH_2CH_2COOCH_2)_2CHOC(O)CH_2CH_2CH_3$ y posee un peso molecular de 302.36 g/mol. La tributirina es la más simple de las grasas y, por lo tanto, cuando es metabolizada, la lipólisis puede ser fácilmente detectada por la formación de una zona clara alrededor de la colonia en un agar turbio debido a la emulsión de grasa.

Figura 2. Molécula de tributirina



Fuente: Product Comparison Guide.

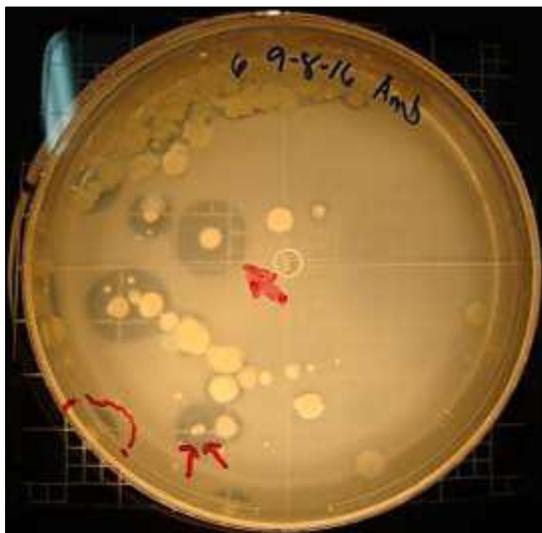
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/tributyri n302366001511?lang=en®ion=GT>. Consulta 24 de agosto de 2016

b. Agar tributirina

Es el medio de cultivo base que se suplementa con tributirina y que se utiliza para la detección de microorganismos lipolíticos tales como *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* y otros, en diferentes sustratos. La

composición típica del agar tributirina es: peptona de carne 2.5 g/L, peptona de caseína 2.5 g/L, extracto de levadura 3.0 g/L, agar-agar 12.0 g/L y tributirina 10mL/L, (MERCCK, 2012); con ligeras variaciones de acuerdo a las casas comerciales que lo producen. La digestión péptica del tejido animal y el extracto de levadura proporcionan nutrientes a los organismos. La degradación de la tributirina por los microorganismos está indicada por zonas claras que rodean las colonias lipolíticas en el medio de cultivo turbio (figura 3). El medio debe tener una emulsión uniformemente turbia para la eficacia del medio de cultivo

Figura 3 Halo claro de lipolisis en agar tributirina



Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR-.

Ubicación del área de estudio

La PTAR USAC fue diseñada por el Ing. Arturo Pazos en el año de 1989, como un sistema de tratamiento biológico de un filtro percolador de tres etapas en serie, con una capacidad para 50,000 estudiantes. Fue construida por la Compañía Constructora de Obras Civiles (COCISA) en 1990. El sitio seleccionado para su construcción es un terreno de topografía irregular, que permite aprovechar la fuerza de gravedad como mecanismo para el movimiento del agua residual en las unidades del proceso. La PTAR USAC está constituida por las siguientes unidades: canal de rejas, desarenador, sedimentador primario, filtros percoladores, sedimentador secundario, del sedimentador secundario el agua tratada se descarga hacia el cuerpo receptor y los lodos son dirigidos a un

digestor de lodos y de este los lodos son trasladados a un patio de secado. En la figura 4 se puede observar la distribución de las unidades de la PTAR. El diseño de los filtros percoladores está construido en tres etapas dispuestas en serie. Cada una de las etapas posee las mismas dimensiones constructivas y utilizan piedra volcánica como medio filtrante.

La PTAR USAC se encuentra en la Ciudad Universitaria, Campus Central zona 12 de la ciudad de Guatemala. Al norte, este y sur colinda con los predios de la Ciudad Universitaria y al oeste, con la colonia El Carmen y una quebrada de por medio, que se origina a inmediaciones de la Ciudad Universitaria.

La entrada se ubica después de la Unidad de EPS y la Granja de Veterinaria. El trayecto se encuentra señalizado hasta la planta de tratamiento. El camino está debidamente cercado y solo puede ingresar personal autorizado.

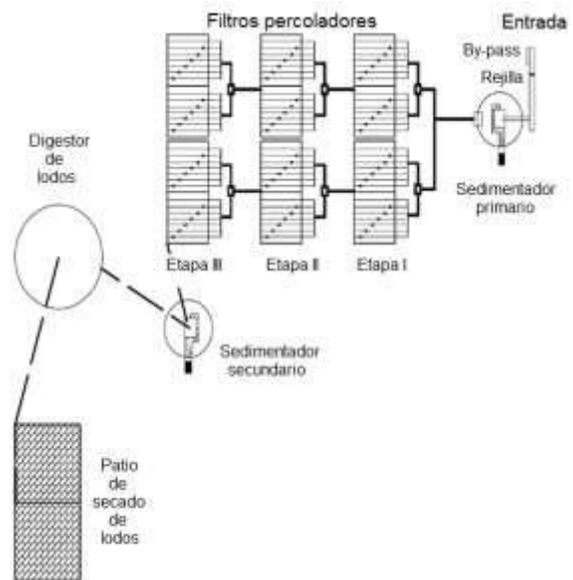
Las coordenadas geográficas de la planta de tratamiento son las siguientes:

Latitud: 14° 34' 43" N,

Longitud: 90° 33' 34.8" O

Altitud: 1456 msnm.

Figura 4 Esquema de la PTAR USAC



Fuente: Pierri, I. 2013.

Metodología

a. Puntos de muestreo

Se seleccionaron cinco puntos de muestreo en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Los puntos de muestreo fueron definidos en la salida de cada una de las unidades de la PTAR, excepto el canal de rejillas y desarenador, es decir, en la salida del sedimentador primario, en la salida de cada una de las tres etapas de los filtros percoladores y en la salida del sedimentador secundario para un total de cinco puntos de muestreo (tabla 1).

Tabla 1 Puntos de muestreo

No.	Descripción
1	Salida de sedimentador primario
2	Salida de filtro percolador etapa I
3	Salida de filtro percolador etapa II
4	Salida de filtro percolador etapa III
5	Salida de sedimentador secundario

Fuente: Lickes, S. 2017.

b. Criterio de actividad lipolítica

Se consideraron como microorganismos con actividad lipolítica los que producen un halo de degradación alrededor de las colonias en agar nutritivo adicionado con tributirina después de incubación en condiciones aeróbicas por 24 a 48 horas.

c. Procedimientos de aislamiento y resiembra

Se realizaron diluciones seriadas en agua peptonada al 0.1 % hasta obtener una dilución 10^{-8} . Se sembró por vertido en agar tributirina y se incubó a 37°C en condiciones aeróbicas por 24 a 48 horas. Se seleccionaron las cajas que presentaron colonias con halos claros de lipólisis. El aislamiento se realizó por medio de un asa en punta con la cual se picaron las colonias identificadas y se trasladaron a placas de agar tributirina para la confirmación de lipólisis y la obtención de cultivos puros. Se incubó 48 horas a 37°C. Con la confirmación del crecimiento y de la actividad lipolítica, se procedió a sembrar en agar stock para su conservación.

d. Caracterización

Para la caracterización se utilizaron pruebas API de BioMérieux. A colonias bacterianas de un cultivo fresco obtenido a partir del agar de conservación se realizó tinción de Gram y pruebas de orientación (orientation test) para determinar la batería de pruebas bioquímicas o galerías API que se utilizaron. Una vez establecido el tipo de galería se procedió a inocular la galería seleccionada de acuerdo al grupo de microorganismo: API 20 E para enterobacterias API 20 NE para no enterobacterias, ambas para bacilos Gram negativo y API 50 CHB para bacilos Gram positivo esporoformadores catalasa positivo pertenecientes al género *Bacillus*. Las galerías se incubaron por 24 a 48 horas a 30°C o 37°C de acuerdo al tipo de galería; todas en condiciones aeróbicas. Para la identificación se utilizó la herramienta informática APIWeb™, programa diseñado por BioMérieux con el cual se provee acceso a una base de datos para la identificación de los microorganismos.

Resultados

Se aislaron 35 cepas con actividad lipolítica, de las cuales fue posible identificar 20, que corresponde a un cincuenta y siete por ciento del total. En la tabla 2 se muestran las cepas aisladas, así como el sitio de muestreo del cual fueron aisladas.

Tabla 2 Sitios de muestreo y cepas aisladas

No.	Sitio de muestreo	Código	Identificación
1	Sedimentador primario	1.1	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>
2		1.2	NI
3		1.3	NI
4		1.4	<i>Serratia marcescens</i>
5	Filtro percolador fase I	2.1	<i>Pasteurella spp.</i>
6		2.2	<i>Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes</i>
7		2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8		2.4	<i>Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes</i>
9		3.1	NI

No.	Sitio de muestreo	Código	Identificación
10	Filtro percolador fase II	3.2	<i>Aeromonas sobria</i>
11		3.3	<i>Pseudomonas putida</i>
12	Filtro percolador III	4.1	NI
13		4.2	<i>Bacillus subtilis/ amyloliquefaciens</i>
14		4.3	NI
15	Sedimentador secundario	5.1	<i>Aeromonas hydrophila /caviae</i>
16		5.2	<i>Pasteurella spp.</i>
17	Sedimentador primario	6.7	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>
18		6.8	NI
19	Filtro percolador fase I	7.2	<i>Pasteurella aerogenes</i>
20	Filtro percolador fase I	7.4	NI
	Filtro percolador fase I	7.5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
22	Filtro percolador fase II	8.4	NI
23		8.5	NI
24	Filtro percolador fase III	9.2	<i>Acinetobacter baumannii /calcoaceticus</i>
25		9.4	NI
26		9.5	NI
27		9.6	NI
28	Sedimentador primario	11.2	NI
29		11.3	NI
30		11.5	<i>Aeromonas hydrophila/ caviae/sobria2</i>
31	Filtro percolador fase I	12.1	<i>Acinetobacter junii/ johnsonii</i>
32		12.3	<i>Bacillus coagulans</i>
33	Filtro percolador fase II	13.1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
34		13.3	NI

No.	Sitio de muestreo	Código	Identificación
35	Filtro percolador fase III	14.3	<i>Chromobacterium violaceum</i>

*NI = No identificada

Fuente: Lickes, S. 2017.

Las quince cepas que no pudieron ser identificadas con las galerías API disponibles son bacilos Gram positivo como se observa en la tabla 3.

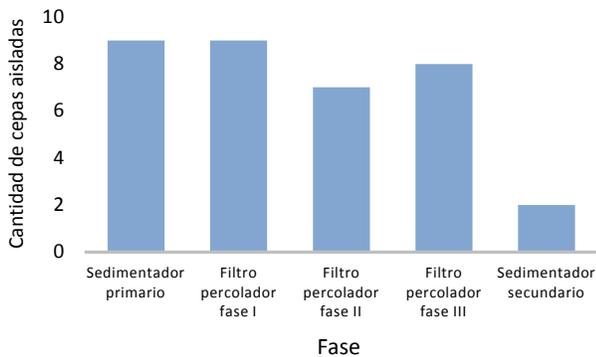
Tabla 3 Cepas no identificadas y sus características

Código	Morfología	Gram	Esporas	Catalasa
1.2	Bacilos	+	si	+
1.3	Bacilos	+	no	+
3.1	Bacilos cortos con gránulos	+	no	+
4.1	Bacilos cortos	+	no	+
4.3	Bacilos cortos	+	no	+
6.8	Bacilos	+	no	-
7.4	Bacilos cortos	+	no	+
8.4	Bacilos	+	no	-
8.5	Bacilos	+	no	+
9.4	Bacilos	+	no	-
9.5	Bacilos	+	no	-
9.6	Bacilos	+		+
11.2	Bacilos	+		+
11.3	Bacilos	+		+
13.3	Bacilos	+		-

Fuente: Lickes, S. 2017.

Del sedimentador primario así como de la fase I de los filtros percoladores se aislaron nueve cepas, de la fase II de los filtros percoladores se aislaron siete cepas, de la fase tres de los filtros percoladores se aislaron ocho cepas y del sedimentador secundario se aislaron dos cepas (figura 5).

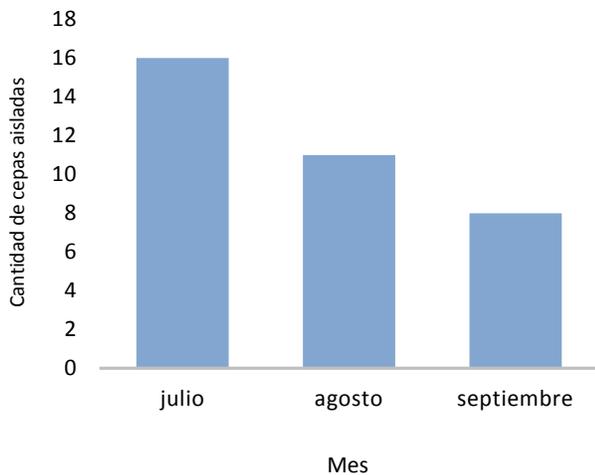
Figura 5 Cantidad de cepas aisladas por fase de la PTAR



Fuente: Lickes, S. 2017.

En los muestreos del mes de julio se aislaron dieciséis cepas, en los muestreos del mes de agosto se aislaron once cepas y en los muestreos del mes de septiembre se aislaron ocho cepas (figura 6).

Figura 6 Cantidad de cepas aisladas vrs. mes del muestreo



Fuente: Lickes, S. 2017.

Análisis de resultados

Se observó que no hay una variación significativa en la cantidad de cepas aisladas por cada uno de los puntos de muestreo, excepto en el sedimentador secundario del cual únicamente se aislaron dos cepas, en comparación con el resto de fases en las cuales se

aislaron de siete a nueve cepas por fase, sin embargo, se observó una tendencia a la disminución conforme se avanza en las fases del tratamiento como se muestra en la figura 5. Esto tiene relación si se toma en cuenta que las eficiencias reportadas para las diferentes fases de la PTAR son: sedimentador primario 63.09 % y el filtro percolador un 32.62 %. Al considerar solamente al filtro percolador, la etapa I alcanza una eficiencia promedio del 71.71 %, la etapa II del 25.08 % y etapa III del 3.97 %. Estos datos de eficiencia son un indicador de una mayor actividad biológica y por ende una mayor cantidad y diversidad de bacterias en las fases iniciales que se van reduciendo conforme el agua avanza en las siguientes fases de la PTAR.

Ordenando las cepas aisladas por fecha de muestreo se registró que de las muestras captadas durante el mes de julio de 2016 se aislaron 11 cepas de bacterias con actividad lipolítica. Tres del sedimentador primario, tres de la fase I de los filtros percoladores, dos de la fase II de los filtros percoladores, una de la fase III de los filtros percoladores y dos del sedimentador secundario, en este muestreo se aislaron bacterias lipolíticas en cada uno de los puntos de muestreo. De las muestras captadas en el mes de agosto de 2016 se aislaron cuatro cepas de bacterias lipolíticas y de las muestras captadas en el mes de septiembre 2016 se aislaron 5 cepas de bacterias con actividad lipolítica. Se observó una disminución de las cantidades de cepas aisladas (figura 6), esto corresponde con régimen de lluvias. Debido a que los drenajes de la Universidad de San Carlos son drenajes combinados, durante la época de lluvias hay un aumento del caudal y por lo tanto puede darse un efecto de lavado de material biológico, lo que se refleja en la menor cantidad de bacterias lipolíticas recuperadas en los meses de agosto y septiembre, comparados con las recuperadas en el mes de julio.

Aunque en el mes de julio ya está establecida la época lluviosa, durante este mes las condiciones son determinadas por una disminución en intensidad de las lluvias, fenómeno climático conocido en nuestro medio como canícula de julio; que se manifiesta con un período de varios días sin lluvia o con lluvias disminuidas alrededor de 10 a 20 días de duración (INSIVUMEH, 2016).

Conclusiones

Se aislaron 35 cepas con actividad lipolítica de las aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas

Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala que pueden degradar grasas y aceites.

Se evidenció la actividad lipolítica de bacterias aisladas de las aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala por medio de la observación de halos claros de lipólisis en agar tributirina.

Se identificaron 20 cepas bacterianas con actividad lipolítica, 18 de las cuales son bacterias Gram negativo y 2 Gram positivo.

Conforme avanza el ingreso de la época lluviosa se disminuyó la cantidad de cepas aisladas en la PTAR por el aumento del caudal de aguas pluviales lo que propicia un efecto de lavado en el sistema biótico causando una dilución por arrastre de bacterias hacia el efluente.

Se generó un cepario con las 35 cepas aisladas de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala, el cual se encuentra en las instalaciones del Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Referencias

- Datusahlan, M. et al. Identification and Characterization of Bacterial Potential to Degrade Wastewater Oil Pollutants: A Case Study - Galing River, Kuantan Pahang, Malaysia. Indonesian Student Conference on Science and Mathematics ISCSM. 2013.
- Espigares, M. Pérez, J. Aguas Residuales. Composición. Disponible en: http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf. Consultado el 12 de mayo de 2016.
- Flores-Fernández, M, et al. Bacterias halotolerantes con actividad lipolítica aisladas de las Salinas de Pilluana San Martín. Ciencia e Investigación. 13(2): pp. 87-91. 2010.
- Harris, P., Cuppett S., Bullerman L. A Technique Comparison of Isolation of Lipolytic Bacteria. Journal of Food Protection. 53(2) 176-177, 1990.
- Hendricks, A. Isolation and Characterization of Lipolytic Bacteria and Investigation of their ability to Degrade Fats, Oils and Grease in Grain Distillery Wastewater. Thesis presented for the degree of Master of Science in Food Science. Faculty of Food Science. Stellenbosch University. South Africa. 2015. 105 p.
- Hombalimath, V. Isolation and characterization of lipolytic microorganisms from oil contaminated soil. International Journal of Advances in Engineering, Science and Technology (IJAES). 2012. Vol. 2 No. 3 Aug-Oct 2012. ISSN : 2249-913X
- INSIVUMEH. Análisis meteorológico del mes de julio de 2016. Guatemala, 2016.
- Lickes, S. Aislamiento y caracterización de bacterias lipolíticas en aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 2017. Tesis de Maestría en Recursos Hidráulicos. ERIS. USAC. Guatemala. 2017. 69 p.
- Madigan, M. et al. Brock. Biología de los Microorganismos. 14a. edición. Pearson Educación, S.A. Madrid. 2015. 1132p. ISBN: 9788490352793
- Mahajan, d., karnwal, A. Removal of Vegetable Oil from Contaminated Industrial Effluents by Bacteria. American Journal of Advanced Scientific Research, 2012, Vol. 1, Issue. 5, pp. 257-261.
- Merck. Merck Microbiology Manual 12th Edition. Germany. 2012. Disponible en: http://www.mibius.de/out/oxba_seshop/html/0/images/wysiwigpro/Tributyryn_Agar_101957_engl.pdf. Consultado el 15 de abril 2016.
- Mohd, Y. et al. A plate assay for primary screening of lipase activity. Journal of Microbiological Methods. 1989 51- 56
- Navarro-González, I. et al. Enzimas lipolíticas bacterianas: propiedades, clasificación, estructura, aplicaciones tecnológicas y aspectos legales. AN. VET. (MURCIA) 2012, 28: 45-65.3
- Pierri, I. Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis

de Maestría en Ingeniería Sanitaria. ERIS. USAC. Guatemala. 2013. 60 p.

Ramírez O. Investigación de la eficiencia de las etapas en serie del filtro percolador de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos. Tesis de Maestría en Ingeniería Sanitaria. ERIS. USAC. Guatemala. 2012. 97 p.

SamikshA, S. Lipid Hydrolysis Test on Bacteria to find-out their Ability to Hydrolyze Lipids. Disponible en:
<http://www.yourarticlelibrary.com/experiments/lipid-hydrolysis-test-on-bacteria-to-find-out-their-ability-to-hydrolyse-lipids-with-figure/26613/>. Consultado el: 24 de agosto de 2016.

Shabtai, Y. Isolation and Characterization of a Lipolytic Bacterium Capable of Growing in a Low-Water-Content Oil-Water Emulsion. Applied and Environmental Microbiology, 1991, p. 1740-1745

Sigma-Aldrich. Tributyrin Agar. Product information. 2013 Disponible en: www.sigmaaldrich.com. Consultado el 03 de junio de 2016.

Información del autor

Químico Biólogo, Sergio Alfredo Lickes, graduado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC) en el año 2001, con experiencia en el área de Aseguramiento de Calidad de alimentos procesados y microbiología por 14 años.

M.Sc. en Recursos Hidráulicos opción Gestión Integrada de Recursos Hídricos de la Escuela Regional de Ingeniería Sanitaria y Recursos Hidráulicos (ERIS) de la Universidad de San Carlos de Guatemala.