

Evaluación de biocidas para su posible uso en depósitos de combustibles

Silvia Acosta-Díaz, Yaima Barrios-San Martín, Francisca González-Hernández y Juan Enrique Tacoronte-Morales.*

Centro de Investigaciones del Petróleo, Churrucá No. 481 entre Washington y Vía blanca, Cerro, La Habana, Código Postal 12 000. Cuba. Correo electrónico: sacosta@ceinpet.cupet.cu *Centro de Ingeniería Investigaciones Químicas, Vía blanca s/n entre Palatino e Infanta, Cerro, La Habana. Código Postal 12 000. Cuba.

Recibido: 4 mayo de 2010

Aceptado: 16 de agosto de 2010

Palabras clave: biocida, combustibles, bactericida, fungicida, antimicrobianas.

Key words: biocide, fuels, germicide, fungicide, antimicrobial.

RESUMEN. Para el tratamiento del biodeterioro de combustibles los biocidas son los compuestos químicos mundialmente más utilizados y son específicos para diferentes combustibles. En este trabajo, se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* del Biobor J.F, el Líquido I y seis extractos naturales [Quinidiona treq, Quinidiona, Calofonia (2 mg/mL), VN (2,1 mg/mL), AR (2 mg/mL) y el extracto T²-CIIQ]. Se utilizaron bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Micrococcus* y los hongos de las especies *Hormoconis resiniae*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata* aislados de combustibles contaminados. La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó por el método de difusión radial en monocapa de medio agarizado y las concentraciones mínima bactericida (CMB) y mínima fungicida (CMF), se determinaron por el método de las diluciones dobles seriadas en caldo con pases a medio sólido. El Biobor J.F y el Líquido I desarrollaron inhibición microbiana con el producto puro. Las actividades bactericida y fungicida fueron efectivas solo con los productos sin diluir. Los extractos Quinidiona treq y Quinidiona presentaron una CMI de 12,5 µg/mL, tanto para bacterias como para hongos. La CMI del T²-CIIQ fue de 30 µg/mL, la cual coincidió con la CMB y la CMF. El biocida Biobor J.F y el anticongelante Líquido I sin diluir presentan actividad biostática y biocida frente a los microorganismos contaminantes de combustibles. Los extractos Quinidiona y T²-CIIQ ofrecen una fuerte acción antimicrobiana a muy bajas concentraciones: 12,5 y 30 µg/mL respectivamente.

ABSTRACT. Biocides are the more worldwide used chemical compounds for the biodeterioration treatment, and they are specific for different fuels. In this article it was evaluated the Biobor J.F antimicrobial activity *in vitro*, the Liquid I and six natural extracts (Quinidine trep, Quinidine, Colophony (2 mg/mL), VN (2.1 mg/mL), AR (2 mg/mL) and the extract T²-CIIQ). Germs from the, *Pseudomonas*, *Bacillus* and *Micrococcus* and the fungus of the species *Hormoconis resiniae*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata*, isolated from contaminated fuels. The determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) was made by the radial diffusion method in monolayer of agarized atmosphere and the minimum germicide concentration (MGC) and the minimum fungicide concentration (MFC) were determined by the serial double dilutions method in culture with transfers to solid environment. The Biobor J.K. and the Liquid I showed an inhibition microbial with the pure product. The germicide and fungicide activities were effective only with the products which haven't been diluted. The Quinidine treq and Quinidine extracts had a 12.5 µg/mL MIC for both germs and fungus. The T²-CIIQ MIC has a value of 30 µg/mL coinciding with the MGC and the MFC. The Biobor J.F and the Liquid I showed an antimicrobial activity without dilute. The Quinidine and T²-CIIQ extracts offered germicide and germistatic actions to low concentrations: 12.5 and 30 µg/mL respectively.

INTRODUCCIÓN

La contaminación microbiana de combustibles derivados del petróleo constituye un serio problema en lo referente al mantenimiento de la calidad del producto, la corrosión de metales y aleaciones empleados en sus procesos de extracción, producción, distribución y conservación.¹ La contaminación microbiana no está distribuida uniformemente en los tanques de combus-

tible. La mayor contaminación está presente en el agua del fondo del tanque, en la película de agua originada por la condensación en la superficie del tanque y en la biopelícula adherida a las paredes del tanque.² El crecimiento microbiano está inevitablemente ligado al agua aún en concentraciones mínimas, pues si bien los microorganismos tienen su fuente de carbono y azufre en los combustibles, el resto de los elementos nutricionales

Correspondencia:

M.C. Silvia Acosta Díaz

Centro de Investigaciones del Petróleo, Churrucá No. 481 entre Washington y Vía blanca, Cerro, La Habana, Código Postal 12 000. Cuba. Correo electrónico: sacosta@ceinpet.cupet.cu.

como el nitrógeno y algunos microelementos necesarios para su crecimiento, los encuentran en el agua, que a la vez, es disolvente de múltiples procesos bioquímicos que ocurren en la célula.^{3,4} Aparte de los hidrocarburos, los organismos pueden utilizar nutrientes a partir de los aditivos adicionados al combustible, lo que origina no solo aumento en el crecimiento microbiano sino su neutralización.⁵

Los biocidas constituyen un grupo heterogéneo de agentes químicos y son específicos para diferentes tipos de combustibles, los más utilizados son el Biobor J.F., Kathon F.P. 1.5 y el Kerocide D 1.5. El Biobor J.F. es el biocida recomendado y utilizado por la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA) para la conservación y preservación de los combustibles de aviación.

Estos venenos pueden ser usados como terapia de shock para tratar tanques muy contaminados o en dosis más pequeñas como tratamiento preventivo.^{6,7} Diferentes tipos de anticongelantes que se utilizan en los combustibles de aviación son considerados biostáticos como el Líquido I, el dietilen o trietilenglicolmonometiléter y el 2-metoxietanol. Cada uno tiene especificidad frente a los microorganismos.⁸ Existen otros métodos como los biológicos que son una alternativa basada en la actividad biológica competitiva. Se utilizan para ello, microorganismos heterótrofos, anaerobios y sulfato-reductores y en general, son muy peligrosos, porque pueden introducir poblaciones bacterianas muy difíciles de controlar posteriormente.⁹ El ozono aparece como uno de los biocidas más promisorios por su gran toxicidad para los microorganismos y su baja toxicidad para el ambiente. El cloro también se puede utilizar como medio de saneamiento.¹⁰

La naturaleza es fuente de una amplia variedad de sustancias bioactivas presentes en los extractos naturales que podrían ser utilizadas como base para el diseño y la formulación de nuevas generaciones de agentes biocidas específicos químico-industriales contra especies que generan graves degradaciones de combustibles. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la actividad antimicrobiana del Biobor J.F., el Líquido I y seis extractos naturales frente a microorganismos aislados de combustibles almacenados.

MATERIALES Y MÉTODOS

El biocida Biobor J.F. y el anticongelante biostático Líquido I son los más recomendados y utilizados actualmente en los combustibles de aviación y se evaluaron a las concentraciones siguientes: 250, 270, 300 y 350 ppm para el Biobor J.F. y a 0,2; 0,3 y 0,4 % para el Líquido I. Se ensayaron concentraciones menores y mayores que las recomendadas por el fabricante, en el caso del Biobor, se recomienda utilizar 270 ppm y del Líquido I, 0,3 %.

Se analizaron seis extractos naturales Quinidiona treg, Quinidiona, calofonia (2 mg/mL), VN (2,1 mg/mL), AR (2 mg/mL) a las concentraciones siguientes: 12,5; 25; 50 y 100 µg/mL, así como el extracto T²-CIIQ, el cual se investigó a 20, 30, 40 y 50 µg/mL. Estos extractos se obtuvieron de invertebrados que se colectaron en la zona central de Cuba, los cuales fueron estimulados mediante presión, cuya secreción repugnatorial eyectada (650 a 800 µg /individuo) fue recolectada para los ensayos.

Las bacterias utilizadas fueron del género *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Micrococcus* y los hongos de las especies *Hormoconis resinae*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata*, aisladas de combustible contaminado cubano procedente de tanques de almacenamiento prolongado.¹¹

El inóculo se preparó a partir de cultivos puros jóvenes de esos microorganismos en plano inclinado de agar nutriente para bacterias y agar Saboraud dextrosa para hongos, tomando azadas para disolución salina hasta obtener una concentración aproximada de $6 \cdot 10^8$ células/mL para cada bacteria por separado tomando como referencia la escala de McFarland. Posteriormente, se mezclaron los inóculos. En el caso de los hongos, se tomaron muestras de cada cultivo con aguja micológica y se homogenizaron en tubos de disolución salina por separado. Después se mezclaron los inóculos.

Evaluación de la actividad antimicrobiana del Biobor J.F., el Líquido I y seis extractos naturales. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

La CMI se define como la mínima concentración de agente antimicrobiano (µg/mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 h de incubación a 37 °C,¹² y se obtuvo por el método de difusión radial.

Se prepararon erlenmeyers de 100 mL con 30 mL de medio fundido con agar nutriente para bacterias y agar Saboraud dextrosa para hongos a 45 °C, al que se le añadió 1 mL del inóculo microbiano. El medio fundido de manera aséptica, se vertió en placas y una vez solidificado, se perforaron pocillos (cinco por placa) de 7 mm de diámetro y se añadieron 200 µL de cada dilución de la disolución biocida, se incubaron las placas a 37 °C durante 48 h para bacterias y a 25 °C durante 5 d para hongos y levaduras.

El desarrollo de una zona de inhibición del crecimiento microbiano de cualquier tamaño alrededor del pozo indica que el microorganismo es sensible a la concentración del producto analizado, su ausencia indica la resistencia al producto probado, el halo de inhibición se midió en centímetros.¹³⁻¹⁶

Determinación de las concentraciones mínimas bactericida (CMB) y fungicida (CMF)

CMB y CMF se definen como la mínima concentración del biocida que elimina más del 99,9 % de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación.¹² Se determinaron por el método de las diluciones dobles seriadas. Con este fin, se prepararon tubos con 1 mL de caldo nutriente para bacterias y caldo Saboraud dextrosa para hongos y se inocularon con 0,1 mL del cultivo microbiano y biocida con dos tubos de control, uno positivo que contenía caldo (1 mL) y microorganismos (0,1 mL) y uno como control negativo que solamente contenía caldo (0,5 mL) y el biocida a evaluar (0,5 mL). Los tubos se incubaron a 37 °C durante 48 h para bacterias a 25 °C durante 5 d para hongos y levaduras. Al término de este tiempo, se sembraron en placas por duplicado 0,1 mL de todos los tubos incubados en el mismo medio agarizado. Se incubaron todas las placas en posición invertida a 37 °C durante 48 h para bacterias a 25 °C durante 5 d para hongos y levaduras. La CMB correspondió a aquella concentración de biocida en la que se obtuvo un conteo de colonias menor que el 0,1 % del obtenido para el tubo control positivo.^{13,14,16,17}

RESULTADOS Y DISCUSION

Determinación de la CMI, CMB y CMF del Biobor J.F. y el Líquido I

El Biobor J.F. actualmente recomendado para contaminantes microbianos en combustibles mostró actividad biostática y biocida para el consorcio de bacterias y de hongos estudiado cuando se ensayó el producto sin diluir. Cuando se probó diluido a las concentraciones

recomendadas por el fabricante, no se observó halo de inhibición, incluso hubo crecimiento sobre los pocillos (Tabla 1). Este biocida resulta efectivo cuando no está en contacto con el agua, de ahí, la importancia de añadir este producto cuando el tanque no contenga fase acuosa en el fondo. Además se recomienda adicionar el doble de la dosis sugerida por el fabricante al tanque lleno no más del 50 % y después llenar con el combustible para facilitar la mezcla y la muerte de los microorganismos adheridos a las paredes del tanque. Los microorganismos pueden desarrollar cierta resistencia al biocida usado por lo que en ocasiones es necesario usar más de un tipo.¹⁸ Los resultados obtenidos para el anticongelante Líquido I evidenciaron su actividad bacteriostática para el consorcio de bacterias con el producto puro por lo que se recomienda su aplicación cuando se haya efectuado un minucioso drenaje del agua acumulada, para los hongos no causó efecto inhibitorio por lo que no se recomienda el uso de este producto cuando hay presencia de hongos como contaminantes en la fase de combustible. (Tabla 2)

El Biobor J.F. y el Líquido I son productos de origen químico importados de países con un clima muy diferente al de Cuba donde las temperaturas y la humedad existentes inducen la condensación de pequeñas gotas de agua en los combustibles almacenados hecho que provoca una interface agua-combustible que favorece el desarrollo de los microorganismos.

Determinación de la CMI, CMB y la CMF del Biobor J.F. y el Líquido I para *Pseudomona aeruginosa* y *Hormoconis resiniae*.

El Biobor J.F. sin diluir provocó un efecto biostático y biocida para las cepas de *Pseudomona aeruginosa* y *Hormoconis resiniae* que se hizo manifiesto a través de un visible halo de inhibición de 1,5 cm (Tabla 3). El Líquido I puro provocó acción bacteriostática (halo de inhibición 0,5 cm) para *Pseudomona aeruginosa* y no produjo inhibición para *Hormoconis resiniae* (Tabla 4). El Biobor J.K. y el Líquido I con la bacteria *Pseudomona aeruginosa* y el hongo *Hormoconis resiniae* mantuvieron igual comportamiento bacteriostático y biocida que cuando se probó con el consorcio de bacterias y de hongos (Tablas 3 y 4). Este resultado no era de esperarse teniendo en cuenta que el Biobor J.F. está específicamente recomendado para estos microorganismos. Los géneros *Pseudomona* y *Hormoconis* han sido reportados como agresivos a las placas

protectoras aplicadas a los tanques de almacenamiento de combustible y el género *Pseudomona* es reportado como el más resistente a la aplicación de biocidas. La membrana externa de *P aeruginosa* es la responsable de su elevada resistencia con diferencias en su composición lipopolisacárida, así como el contenido de cationes y el pequeño tamaño de sus porinas no permite la difusión a través de la membrana.^{19,20}

Los hongos ocasionan daños por su actividad enzimática, al secretar numerosos ácidos orgánicos en el medio y *Hormoconis resiniae* ha sido referido como un microorganismo muy relacionado con los procesos corrosivos y el primer responsable de la corrosión del aluminio integral de los tanques de combustible de los aviones. Se han registrado accidentes provocados por las picaduras que les ocasiona a ellos.^{21,22}

Estos productos usados actualmente como biocida (Biobor J.F.) y anticongelante (Líquido I) con acción

Tabla 1. Resultados de la determinación de las CMI, CMB y CMF del Biobor J.F.

Biobor J.F.	CMI (Bacterias)	CMI (Hongos)	CMB	CMF
Puro	1,5 cm	1,5 cm	-	-
250 ppm	0	0	+	+
270 ppm	0	0	+	+
300 ppm	0	0	+	+

0 Ausencia de halo de inhibición. - No crecimiento.
+ Crecimiento.

Tabla 2. Resultados de la determinación de las CMI, CMB y CMF del Líquido I.

Líquido I	CMI (Bacterias)	CMI (Hongos)	CMB	CMF
Puro	0,5 cm	0	-	+
0,2 %	0	0	+	+
0,3 %	0	0	+	+
0,4 %	0	0	+	+

0 Ausencia de halo de inhibición. - No crecimiento.
+ Crecimiento.

Tabla 3. Resultados de la determinación de las CMI, CMB y CMF del Biobor J.F.

Biobor J.F.	CMI (<i>P. aeruginosa</i>)	CMI (<i>H. resiniae</i>)	CMB (<i>P. aeruginosa</i>)	CMF (<i>H. resiniae</i>)
Puro	1,5 cm	1,5 cm	-	-
250 ppm	0	0	+	+
270 ppm	0	0	+	+
300 ppm	0	0	+	+

- No aparece halo de inhibición. + Aparece halo de inhibición.

Tabla 4. Resultados de la determinación de las CMI, CMB y CMF del Líquido I.

Líquido I	CMI (<i>P. aeruginosa</i>)	CMI (<i>H. resiniae</i>)	CMB (<i>P. aeruginosa</i>)	CMF (<i>H. resiniae</i>)
Puro	0,5 cm	0	-	+
0,2 %	0	0	+	+
0,3 %	0	0	+	+
0,4 %	0	0	+	+

- No aparece halo de inhibición. + Aparece halo de inhibición.

biostática en aeronaves, no son efectivos cuando en el combustible hay presencia de agua y teniendo en cuenta que el crecimiento microbiano está inevitablemente ligado al agua aún en concentraciones mínimas es necesario eliminarla para su aplicación efectiva. Estos productos pueden actuar como estimulantes de la actividad microbiana cuando su concentración cae por debajo del intervalo de efectividad y es fácil que esto ocurra si no se controla su concentración en la fase acuosa.²³

Precisamente, se escogieron estos microorganismos por ser los que más comúnmente contaminan los combustibles, de los cuales el más significativo es el hongo filamentoso *Hormoconis resiniae* que crece en la interface agua-combustible y su crecimiento generalmente comienza en pequeñas gotas de agua. Luego, envuelve las gotas, manteniéndolas en su lugar, y continúa creciendo, generando más agua bajo el estroma debido a su metabolismo. En el proceso, se adhiere firmemente al tanque.²⁴

Las bacterias y las levaduras se encuentran flotando en la fase acuosa. Esto significa que tienen menores posibilidades de adherirse a superficies y por lo tanto, su concentración será reducida significativamente en cada drenaje de agua. *H. resiniae*, una vez establecido, sigue multiplicándose *in situ*. Elevadas concentraciones de *H. resiniae*, indican que hay un problema grave de contaminación.²⁴ Por tanto, añadir una concentración efectiva del producto biocida al combustible libre de agua resulta importante para mantener nulos los niveles de contaminación de origen microbiano y en ocasiones es necesario añadir agentes mutagénicos.²⁵

Determinación de la CMI de los extractos naturales Quinidiona treq, Quinidiona, Calofonia, VN y AR para bacterias y hongos

La naturaleza es fuente de una amplia variedad de sustancias bioactivas que podrían ser utilizadas como base para el diseño y la formulación de nuevas generaciones de agentes biocidas específicos químico-industriales contra especies que generan graves degradaciones de combustibles. Los resultados de la actividad antimicrobiana de los extractos van a depender de las características específicas de los principios activos presentes en ellos y de su solubilidad en los disolventes empleados para la extracción.

Los productos Quinidiona treq y Quinidiona presentaron una elevada actividad biostática con una CMI de 12,5 µg/mL tanto para bacterias como para hongos. Esta concentración fue la mínima probada de estos productos. La Calofonia y VN no inhibieron el crecimiento de bacterias en las concentraciones utilizadas por lo que no resulta efectivo su uso como agentes antimicrobianos cuando en los contaminantes hay presencia de bacterias, aunque sí ofrecieron acción biostática para los hongos con una CMI de 50 µg/mL y de 12,5 µg/mL respectivamente. El extracto AR manifestó efecto inhibitorio con una CMI de 50 µg/mL para bacterias y hongos. Este extracto también ofrece potencialidades para su utilización como biocida por su efectividad contra el consorcio de bacterias y hongos (Tablas 5 y 6).

Determinación de las CMI, CMB y CMF del extracto natural T²-CIIQ

El extracto T²-CIIQ logró inhibir el crecimiento microbiano a 30 µg/mL (CMI), tanto para las bacterias como para los hongos aislados de combustibles contaminados. Su actividad biocida la alcanzó a la misma concentración que la acción biostática (Tabla 7). Estos resultados fueron escogidos para la solicitud de Patente Conjunta

CIIQ-CEINPET.²⁶ Por ser un extracto natural muy efectivo a muy baja concentración como biocida para una extensa variedad de microorganismos, específicamente para hongos contaminantes de los combustibles. Al comparar los resultados de la actividad bacteriostática (CMI) de todos los extractos naturales probados, los mejores resultados se obtuvieron con la Quinidiona que presentó una fuerte actividad biostática frente a bacterias y hongos a muy baja concentración (12,5 µg/mL).

De los extractos naturales analizados, el 50 % presentó una fuerte actividad biostática frente a las bacterias y hongos probados a una concentración muy baja 12,5 µg/mL en el caso de las Quinidionas, 30 µg/mL para el T²-CIIQ y 50 µg/mL para el extracto AR, aspecto importante a considerar para la utilización de un biocida. Estos podrían ser utilizados para dar tratamiento preventivo o terapia de shock a una mayor concentración. Estos extractos resultan biodegradables, eco-sostenibles e inoocuos además de que serían muy efectivos debido a su acción de amplio espectro contra microorganismos contaminantes de los combustibles a muy baja concentración o diluidos en la fase acuosa que es donde existe la mayor contaminación. El otro 50 % de los extractos analizados mostró indistintamente actividad biostática frente a bacterias en unos casos y frente a hongos en otros. Este aspecto es importante a considerar teniendo en cuenta que las bacterias y los hongos se presentan como contaminantes simbióticos en los combustibles, aunque los agentes antimicrobianos podrían ser utilizados de manera combinada para garantizar una mayor efectividad. No se encontraron reportes anteriores de estudios de actividad antimicrobiana de extractos naturales frente a cepas aisladas de combustibles contaminados, pero sí se han obtenido péptidos de insectos que lo utilizan como mecanismo de defensa, y en ellos, se ha comprobado actividad antimicótica. En la polilla gigante de la seda *Hyalopora cecropia* se identificaron los péptidos cecropina A y B, con actividad fungicida contra especies de *Candida*, *Fusarium* y *Aspergillus* con una CMI de 0,6; 12 y 9,5 mg/L respectivamente. La

Tabla 5. Resultados de la determinación de la CMI para los extractos naturales en bacterias.

Extractos naturales	Concentración (µg/mL)			
	100	50	25	12,5
Quinidiona treq	+	+	+	+
Quinidiona	+	+	+	+
Calofonia	-	-	-	-
VN	-	-	-	-
AR	+	+	-	-

- No aparece halo de inhibición. + Aparece halo de inhibición.

Tabla 6. Resultados de la determinación de la CMI para los extractos naturales en hongos.

Extractos naturales	Concentración (µg/mL)			
	100	50	25	12,5
Quinidiona treq	+	+	+	+
Quinidiona	+	+	+	+
Calofonia	+	+	-	-
VN	+	+	+	+
AR	+	+	-	-

- No aparece halo de inhibición. + Aparece halo de inhibición.

Tabla 7. Resultados de la determinación de las CMI, CMB y CMF del extracto natural T²-CIIQ.

Concentración (µg/mL)	Bacterias CMI	Hongos CMI	CMB	CMF
20	-	-	-	-
30	+	+	+	+
40	+	+	+	+
50	+	+	+	+

- No aparece halo de inhibición. + Aparece halo de inhibición.

drosomicina y la tanatina son péptidos ricos en cisteína que se obtienen a partir de *Drosophila melanogaster* y *Podisus maculiveri*, respectivamente. La primera es activa contra aislamientos de *Fusarium oxysporum* y la segunda, contra especies de *Fusarium* y *Aspergillus*.^{27,29}

Cuba es un país con una gran diversidad biológica y con posibilidades de explorar diversas fuentes naturales en la búsqueda y posible aislamiento de nuevas entidades biológicamente activas como biocidas para el tratamiento contra microorganismos que afectan producciones industriales, combustibles, aceites técnicos, recubrimientos metálicos, pinturas protectoras y sistemas de distribución de fluidos, etc.

CONCLUSIONES

El biocida Biobor J.F. y el anticongelante Líquido I sin diluir presentan actividad biocida y biostática frente a microorganismos contaminantes de combustibles. Los extractos naturales Quinidiona y T²-CIIQ ofrecen una fuerte actividad antimicrobiana a muy bajas concentraciones (12,5 y 30 µg/mL respectivamente) frente a bacterias y hongos presentes en combustibles almacenados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rosales BM. Corrosión de tanques integrales de aviones. Casos Prácticos. En: Manual Práctico de Corrosión y Biofouling para la Industria. 1995;p.107-109.
- IATA Guidance. Material on Microbiological Contamination in Aircraft Fuel Tanks. 2002.
- Rosales BM. Mediciones de corrosión para determinar la calidad de mantenimiento de depósitos de turbocombustible. Presentado en la reunión de trabajo argentino-estadounidense sobre Biodeterioro de materiales. La Plata Argentina. 1985.
- Jet Fuel Biodeterioration Kerosene prevention against microorganisms. 2000;p.1-3. [Consultado: 4 de abril de 2007]. Disponible en: <http://preso.club-internet.fr/focmicro/jetfuel.html>.
- Christine C, Fátima M. Microbial Contamination of Stored Hydrocarbon Fuels Its Control. Rev Microbiol São Paulo. 1999;30(1).
- Jet Fuel Biodeterioration. Kerosene prevention against microorganisms. 1999. [Consultado: 14 de abril de 2000]. Disponible en: <http://preso.club-internet.fr/focmicro/jetfuel.html>
- Gilbert P and Moore L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. J Appl Microbiology. 2005;99:703-715.
- Wilkes Charles E. Contaminación microbiana de los productos de petróleo de la fuerza aérea. 2005 [Consultado: 2 de junio de 2007]. Disponible en: <http://handle.dtic.mil/100.2/AD460386>.
- Ramos E. Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* de productos nacionales frente a cepas bacterianas responsables del biodeterioro en museos. Tesis de Diploma. Facultad de Biología, Universidad de la Habana. 1996.
- Boscan C & Videla HA. Prevención y Control. Manual Práctico de Corrosión y Biofouling para la Industria. 1995;p.54-64.
- Acosta S, Rojas T. Conteo e Identificación de Microorganismos Contaminantes de Turbocombustibles. Informe contrato 10/07. Lab. Química y Biotecnología, Centro de Investigaciones del Petróleo. 2007.
- Andrews MJ. Determination of Minimum Inhibitory Concentration. J Antimicrob Chemother. 2001;48(Suppl 31):5-16.
- NCCLS 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically. American National Standards Institute.
- ISO 864.6-12:1997. Plásticos. Evaluación de la acción de los microorganismos. Norma Española. AENOR. Madrid. España.
- Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother. 2005;56:20-51.
- Rojas NM, Avellaneda S y Romeu B. Evaluación de actividad antimicrobiana en Productos naturales: fuente potencial de compuestos bioactivos. Convención Trópico 2004. La Habana, abril de 2004.
- Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Barley and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th Edition. St. Louis, Missouri: Mosby Editors: 1994;p.958.5.
- Bosecken K. Deterioration of Hydrocarbons. Microbially Influenced Corrosion of Materials. Resources (BGR). Berlin, 1996.
- Crum MG, Reynolds R.J and Hedrick HG. Microbial Penetration and Utilization of Organic Aircraft Fuel-Tank Coatings. Appl Environ Microbiol. 1967 November; 15(6):1352-1355.
- Louise E, Ruth M, Ledder P and Andrew J. *In Vitro* Study of the Effect of Cationic Biocides on Bacterial Population Dynamics and Susceptibility Appl Environ Microbiol. 2008 August; 74(15):p.4825-4834.
- Tejada S. Corrosión microbiológica. En: Información Científica y Tecnológica. 1993;15(20):24-26.
- Gaylarde CC & Leal AR. Cómo identificar la corrosión. En: Manual Práctico de Corrosión y Biofouling para la Industria. 1995;p.27-31.
- Neihof RA and Bailey CA. Biocidal Properties of Anti-Icing Additives for Aircraft Fuels. Appl Environ Microbiol. 1978 April;35(4):698-703.
- Conidia Bioscience *Hormoconis resiniae* en Keroseno Aero-náutico Ltd 2004; [Consultado: 12 de noviembre de 2007] Disponible en: <http://www.conidia.com>.
- Teh J and Lee K. Utilization of n-Alkanes by *Cladosporium resiniae*. Appl Environ Microbiol. 1973 March;25(3):454-457.
- CIIQ-CEINPET. Mezcla natural fungicida y su formulación contra hongos degradadores de turbo-combustibles. Patente conjunta N.S.: 016810-2007.
- De Lucca AJ, Walsh T.J. Antifungal peptides: Novel therapeutic compounds against emerging pathogens. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:1-11.
- De Lucca AJ, Walsh AT. Antifungal peptides: Origin, activity, and therapeutic potential. Rev Iberoam Micol. 2000;17:116-120.
- Selitrennikoff CP. Antifungal proteins. Appl Environ Microbiol. 2001;67:2883-2894.