

Biodegradación parcial de aceites residuales usados utilizando *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.* y *Saccharomyces cerevisiae*

Márquez-Riquel María¹, Navas-Yamarte Patricia^{1 2}, Yegres Francisco², Vivas-Espejo Carlos²

1 Universidad Nacional Experimental Politécnica de la Fuerza Armada (UNEFA-Falcón-Sede Coro), Venezuela.

2 Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda (UNEFM-LIADSA-Coro, Falcón), Venezuela.

Recibido:

Recibido en: 02/02/2015

| Aceptado:

Aceptado en: 11/03/2015

Contacto: Márquez-Riquel María - ma.marquezz04@gmail.com

Resumen

Los aceites residuales usados son sustancias contaminantes que no se eliminan al ser desechados por el desagüe, llegando a los ríos, lagos y mares formando una película superficial que impide el intercambio de oxígeno, alterando el ecosistema marino con la liberación de agentes contaminantes. El propósito de este trabajo fue determinar la capacidad degradadora de los hongos *Aspergillus niger* (UNEFM-M2007-26), *Rhizopus sp.* (UNEFM-M2008-16) y *Saccharomyces cerevisiae* (UNEFM16) sobre los aceites residuales usados. Se prepararon tres concentraciones de aceite residuales usados (ARU) (vegetal y lubricante) 10, 20 y 30 % de cada tipo de ARU respectivamente. Se determinaron las propiedades físicas antes y después del tratamiento, así como el crecimiento radial y biomásico de las especies fúngicas en estudio, y se determinó también, la degradación parcial de los aceites residuales usados por el método de consumo lipídico. Los resultados arrojaron que las tres cepas fúngicas que presentaron mayor crecimiento fue en la concentración de ARU (vegetal y lubricante) al 10%. Se muestran cambios significativos en las propiedades físicas de los ARUL después del biotratamiento, como disminución en la viscosidad por *Rhizopus sp.* 139,57 Cst ($\pm 0,82$), seguido por *S. cerevisiae* 140,43 Cst ($\pm 1,31$) y *A. niger* 144,54 Cst ($\pm 1,23$) con respecto al control 156,81 ($\pm 0,97$). La especie *A. niger* demostró mayor crecimiento radial y biomásico en 6 días de exposición con *Czapek dox*+10% ARU (vegetal y lubricante) aunado al mayor consumo lipídico de 61,74% ($\pm 0,16$) y 59,69% ($\pm 0,6$) respectivamente.

Palabras clave: biodegradación, aceites residuales usados, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Partial biodegradation of waste oils using *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.* and *Saccharomyces cerevisiae*

Summary

The residual oils are contaminants that are not removed when discarded down the drain into rivers, lakes and seas form a surface film that prevents oxygen exchange, altering the marine ecosystem with the release of pollutants. The purpose of this study was to determine the degrading ability of fungi *Aspergillus niger* (UNEFM - M2007-26), *Rhizopus sp.* (UNEFM - M2008-16) and *Saccharomyces cerevisiae* (UNEFM-16) on used residual oils. Three concentrations of residual oil (ARU) (plant and lubricant) 10, 20 and 30% of each type of ARU were prepared respectively. Physical properties and biomass radial growth of fungal species under study were determined before and after treatment, as well as, and it is also determined, the partial degradation of the residual oils by the method of lipid consumption. The results showed that the three fungal strains with the highest growth was in the concentration of ARU (plant and lubricant) to 10%. *Rhizopus sp.* 139,57 Cst ($\pm 0,82$), followed by *S. cerevisiae* 140,43 Cst ($\pm 1,31$) and *A. niger* 144,54 Cst ($\pm 1,23$) showed significant changes in the physical properties of ARUL after biotreatment as decrease in viscosity from control 156,81 ($\pm 0,97$). The species *A. niger* and biomass showed greater radial growth in 6 days of exposure to Czapek dox+10 % ARU (plant and lubricant) coupled with high lipid consumption of 61,74 % ($\pm 0,16$) and 59,69 % ($\pm 0,60$) respectively.

Keywords: biodegradation, used waste oil, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Introducción

Los aceites usados, tanto los comestibles como automotrices por lo general son vertidos en la red de alcantarillado, produciendo impacto sobre las aguas, afectando flora y fauna, tanto marina como terrestre; hoy en día son considerados potencialmente peligrosos debido a su persistencia y habilidad de esparcirse en grandes áreas de suelo y agua, formando una película que no permite el intercambio de oxígeno, lo que produce rápidamente una degradación de la calidad del ambiente, además existe el riesgo adicional de la liberación de agentes contaminantes tóxicos presentes como es el caso de los hidrocarburos policíclicos aromáticos, dioxinas, metales pesados, compuestos clorados, entre otros [1].

La normativa ambiental reporta como máximo 20 mg/L, de aceites naturales vertidos en ríos y espacios naturales. También reporta que si el vertido a un sistema municipal y posterior procesamiento, lo máximo sería 150 mg/L [1, 2]. La composición de la base orgánica está formada de cientos de miles de compuestos orgánicos, siendo la gran mayoría compuestos aromáticos polinucleares. Algunos de estos compuestos aromáticos polinucleares (principalmente estructuras de 4, 5 y 6 anillos) son considerados cancerígenos como el benzopireno, los aditivos de la base orgánica del aceite que pueden llegar a constituir hasta un 30 % en volumen del total de aceite virgen, típicamente contienen constituyentes inorgánicos como azufre, nitrógeno, compuestos halogenados y trazas de metales [3].

A lo antes mencionado, hoy se plantea la necesidad de desarrollar alternativas para solucionar de forma permanente y menos costosa el problema de los espacios contaminados [4]. Los procesos biológicos son los más efectivos y menos costosos, aunque no los más rápidos en solucionar el problema. La biorremediación utiliza la capacidad del sistema enzimático de los organismos y microorganismos para degradar y transformar contaminantes, tanto de los ecosistemas terrestres como acuáticos, presentando un potencial de mitigación de la contaminación ambiental [4]. Venezuela no escapa a esta realidad global, es por ello que se tiene como hipótesis que la implementación de tratamiento microbiano con cepas aerógenas de fácil mantenimiento y recolección como el *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp* y *Saccharomyces cerevisiae* sean capaces de degradar los aceites residuales contaminantes del ambiente, por lo cual se propone Determinar la capacidad degradadora de los hongos *Aspergillus niger* (UNEFM-M2007-26), *Rhizopus sp.* (UNEFM-M2008-16) y *Saccharomyces cerevisiae* (UNEFM16) sobre los aceites residuales usados (vegetal y lubricante).

Materiales y métodos

Microorganismos utilizados

Aspergillus niger (UNEFM-M2007-26), *Rhizopus sp.* (UNEFM-M2008-16) y *Saccharomyces cerevisiae* (UNEFM16) fueron suministrados por la micoteca del Laboratorio de Investigación y Apoyo Docente Santa Ana (LIADSA-UNEFM) Coro-Venezuela.

Toma de muestra

De los aceites residuales usados vegetal (ARU.V) marca COPOSA obtenido en un restaurant de comida rápida, y el aceite lubricante residual SHELL Rimula SAE50 (ARU.L) obtenido en un centro de lubricación SHELL ubicados en la ciudad de Santa Ana de Coro, Falcón – Venezuela.

Propiedades físico-químicas de ARU

Se determinó viscosidad (CSt) según la Norma COVENIN [5], el punto de ebullición (°C) por Reyes M. y Márquez M.,[6], el perfil de ácidos grasos (ARU.V) por cromatografía de gases Norma COVENIN [7] y para ARU.L se empleó la determinación de hidrocarburos totales por el método normalizado para agua 5520B [8], antes y después del biotratamiento.

Cinética de crecimiento radial

Las especies fúngicas en estudio fue inoculando por triplicado cada cepa en placas de Petri en medio solido Czapekdox+Sacarosa (control +) y Czapekdox-+ ARU (tratamientos) se incubaron a temperatura de 28-30 °C en estufa por 10 días midiéndose el diámetro de las colonias diariamente con un vernier.

Cinética de crecimiento por densidad óptica

Las especies fúngicas se llevó a cabo inoculando por triplicado cada cepa en matraces de 250 mL conteniendo hasta completar un volumen de medio de 100mL de Czapekdox sin agar, se realizó la medición del índice de transmitancia (s^{-1}) cada 72 horas por 21 días, usando un colorímetro digital cole parmer modelo 5965-50. Las concentraciones de los aceites (ARU.V. y

ARUL) fueron de 10, 20 y 30% v/v respectivamente. Valores cinéticos de crecimiento. Se determinaron los valores cinéticos mediante el uso de ecuaciones matemáticas que se describen a continuación [9]:

| | | |
|----------------------------------------------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Velocidad específica de crecimiento (μ): | image001.png | (3) Donde: X_f = Biomasa final, X_i = Biomasa Inicial, T_i = tiempo Inicial; T_f = Tiempo Final. |
| Productividad (Pr): | image003.png | (4) Donde: μ = Velocidad específica de crecimiento. x = Biomasa Final. |
| Incremento de la Biomasa ($I.B$): | image005.png | (5) Donde: X_f = Biomasa final; X_i = Biomasa Inicial. |

Biodegradación

Se realizó por el método del consumo lipídico [8], el cual se llevó a cabo por triplicado cada especie fúngica, pesando previamente el matraz con medio Czapekdox+ARU (vegetal y lubricante) y por diferencia de peso inicial versus final (tratado) por 20 días a 28-30°C. La biodegradación se determinó por el índice de degradación (I.D).

| | | |
|-------------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Índice de Degradación (I.D): | image007.png | (6) Donde: X_i = capa lipídica inicial; X_f = capa lipídica final |
|-------------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------|

Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra los valores referentes al punto de ebullición y viscosidad de los ARU vegetal y lubricante sin tratar y después del biotratamiento, observándose disminución entre cada especie fúngica y el control ARUV en las temperaturas de ebullición la especie *A. niger* es menor con respecto a *Rhizopus sp.* y *S. cerevisiae*, en relación a la viscosidad los cambios no fueron significativos entre las especies y el control. Mientras que, en el ARUL los cambios observados tanto para el punto de ebullición como para la viscosidad de los hongos en estudio fueron significativos frente al control, presentando la menor viscosidad en el tratado con *Rhizopus sp.* con respecto a *A. niger* y *S. cerevisiae*.

Hay autores como Lee et al. [10] y Franco et al. [11], que reportan las temperaturas de ebullición de los ácidos grasos de origen vegetal puros como la trioleína (Oleico) en 415,95 °C y 432,32 °C, mientras que para la trilinoleína (Linoleico) 414,1 °C, por lo tanto, el ARUV utilizado presentó una temperatura de ebullición menor esto pudo deberse a se presenta una mezcla de ácidos grasos a diferencia de los reportados en la literatura pudiendo inferir que estos valores están aceptables considerando que el aceite se ha descompuesto por el uso del mismo.

fig1

Table 1: *Propiedades físicas de los ARU.* Fuente: Laboratorio de análisis fisicoquímico del IUTAG, 2014. Se presenta el promedio y la desviación estándar de n=3.

La figura 1 muestra el crecimiento radial de las especie *A. niger*, *Rhizopus sp.* y *S. cerevisiae* en presencia del medio definido Czapekdox+ ARU 10%v/v para el tratamiento con ARUV la especie *A. niger* a los 10 días fue la que mostro mayor halo de crecimiento radial 24,37 mm ($\pm 2,51$) y *Rhizopus sp.* de 15,40 mm ($\pm 0,56$), y *S. cerevisiae* fue la que menos halo radial presento. Sin embargo, el tratamiento con ARUL la especie que mayor radio presento fue *Rhizopus sp.* 51,23mm ($\pm 3,56$) seguida de *A. niger* con 28,77mm ($\pm 8,02$) y *S. cerevisiae* con 8,37 mm ($\pm 0,74$), demostrando que las especies que mejor toleran las fuentes de carbono ARUV y ARUL son *A. niger* y *Rhizopus sp.* en el tiempo.

fig1

Figura 1: Crecimiento radial de las especies *A. niger*, *Rhizopus sp.* y *S. cerevisiae* en medio mineral A)Czapekdox+ARUV 10%v/v, B)Czapekdox+ARUL10%v/v. Las barras de error representan la media de n=3.

Seguidamente la figura 2 muestra el crecimiento biomásico frente a ARUV con 20 días de exposición siendo las especies predominantes *A. niger* con 1,122 g ($\pm 0,109$) de biomasa, *Rhizopus sp.* 0,646 g ($\pm 0,045$) y finalmente *S. cerevisiae* con 0,437 g ($\pm 0,101$). Mientras que el uso de ARUL la cepa *A. niger* produce 0,961g ($\pm 0,134$) de biomasa seguida por *Rhizopus sp.* 0,435 g ($\pm 0,028$) y finalmente la especie que presento menor biomasa *S. cerevisiae* con 0,292g ($\pm 0,006$), por lo que se puede inducir que la especie fúngica que mejor aprovecho las fuentes de carbono y energía de los aceites usados vegetal y lubricante fueron *A. niger* y *Rhizopus sp.*

fig1

Figura 2: Crecimiento Biomásico de las cepas *A. niger*, *Rhizopus sp.* y *S. cerevisiae* en medio mineral A)Czapekdox+ ARUV 10%v/v, B)Czapekdox+ARUL 10%v/v. Las barras de error representan la media de n=3.

La tabla 2 muestra los resultados de la cinética de crecimiento en el medio definido Czapekdox+ ARU vegetal y lubricante, siendo *A. niger* la especie fúngica con los valores más altos en $\mu = 0,17$ ($\pm 0,02$) y 0,243 ($\pm 0,007$), $Pr = 0,200$ ($\pm 0,021$) y 0,235 ($\pm 0,005$) y el %IB=95,23% ($\pm 0,91$) y 98,71% ($\pm 0,61$) respectivamente, seguido por *Rhizopus sp.* y la especie con menor valores de cinética de crecimiento fue *S. cerevisiae* con %IB de 88,24% ($\pm 1,76$) en ARUL, por lo que se confirma que el aprovechamiento de los aceites residuales usados como fuente de carbono y energía por la especie *A. niger* y *Rhizopus sp.*.

fig1

Tabla 2: Valores Cinética de crecimiento en Medio Czapekdox+ARUV. Fuente: Laboratorio de Análisis Microbiológico LIADSA-UNEFM, 2014. Se presentan promedios y desviación estándar de n=3.

La figura 3 muestra los resultados del perfil lipídico realizado a los ARUV sin tratar como biotratados por los hongos *A. niger*, *Rhizopus sp.* y *S. cerevisiae*, donde no se observan cambios significativos en la composición del aceite biotratado con respecto al control, por lo general las grasas y aceites contienen más de diez tipos de ácidos grasos, los cuales tienen entre 12 y 22 carbonos, presentando en mayor proporción los que poseen en sus cadenas entre 16 y 18 carbonos [12,13]. De lo antes mencionado, algunos de los ácidos grasos pueden ser saturados, mono insaturados y poliinsaturados [12, 13]. Thompson [14], caracterizo al

aceite usado presentando la composición porcentual en peso de los ácidos grasos, indicando los principales como palmítico (C16) 18,7%, oleico (C18:1) 40,5%, linoleico (C18:2) 28,0%. Por lo cual, el ARUV control utilizado presenta características similares a los presentados por Thompson [14].

Con respecto a lo antes mencionado, uno de los ácidos grasos que mostro cambios en la composición fue el ácido linoleico² presentando una disminución significativa en la composición ($38,23\% \pm 0,93$) frente al control sin tratamiento ($42,11\% \pm 1,10$) por la especie *S. cerevisiae* lo que infiere que esta levadura fue capaz de romper y/o transformar esta fracción en otro compuesto que pudiese ser en ácido palmítico ($18,1\% \pm 1,15$) ya que presenta un aumento significativo frente al control ($13,77\% \pm 0,75$). Aunque las otras especies no hayan presentado cambios significativos en la composición lipídica del aceite no quiere decir que estas no sean capaces de transformarlo.

fig1

Figura 3: Perfil de Ácidos grasos presentes en el ARUV sin tratar (control) y los biotratados por las especies *A. niger*, *Rhizopus* sp. y *S. cerevisiae*. Las barras de error representan la media y la desviación estándar de $n=3$.

En la figura 4 se muestran los resultados del consumo de la capalipídica de ARUV y ARUL tratada con las especies fúngicas *A. niger*, *Rhizopus* sp. y *S. cerevisiae* en 20 días de tratamiento, las cepas *A. niger* y *Rhizopus* sp. fueron las que consumieron en mayor proporción la capa lipídica del ARUV en 2,3811 g ($\pm 0,422$) y 2,751 g ($\pm 0,112$) respectivamente, mientras que la capa del lubricante el consumo alcanzado fue igual por *A. niger* y *S. cerevisiae* en 3,059 g ($\pm 0,09$) y 3,060 g ($\pm 0,12$) respectivamente, mientras que *Rhizopus* sp. fue el que presento menor consumo 4,198 g ($\pm 0,43$), por lo que se infiere que la biodegradación parcial de los aceites residuales usados fue lograda por las especies fúngicas en estudio.

fig1

Figura 4: Perdida de la capa lipídica por las especies *A. niger*, *Rhizopus* sp. y *S. cerevisiae* A) En medio Czapekdox+ARUV 10%v/v, B) En Czapekdox+ARUL 10%v/v. Las barras de error representan la media y la desviación estándar de $n=3$.

En la tabla 3 se indican los resultados del índice de degradación de los aceites residuales usados vegetal y lubricante en el periodo de tiempo de 21 días de la investigación alcanzando el mayor porcentaje la cepa *A. niger* con 61,74% ($\pm 0,16$) y 59,69% ($\pm 0,6$) respectivamente, mientras que *S. cerevisiae* logro el menor índice de degradación en ARUV y ARUL con 39,50% ($\pm 0,23$) y 54,22% ($\pm 0,14$) respectivamente, asimismo, *Rhizopus* sp. presentó el menor registro obteniendo 50,67% ($\pm 0,1$) y 45,10% ($\pm 0,17$) que *A. niger* en ARUV pero mayor que *S. cerevisiae* en ARUL, por lo que se presume una degradación parcial de los aceites residuales usados.

fig1

Tabla 3: Índice de degradación de los ARU. Fuente: Laboratorio de Análisis Microbiológico LIADSA-UNEFM, 2014. Se presentan promedios y desviación estándar de $n=3$.

Conclusiones

Se determinó que las tres especies fúngicas estudiadas crecen en presencia de aceites residuales como única fuente de carbono, por lo cual las mismas cuentan con el sistema enzimático requerido para la degradación y/o transformación de este tipo de sustancias. Siendo la concentración óptima de los aceites residuales en el medio de cultivo Czapekdox de 10% v/v que garantiza el mayor crecimiento de las especies fúngicas *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. y *Saccharomyces cerevisiae*.

Se demostró que los aceites residuales presentan cambios significativos de sus propiedades físicas fundamentales después del biotratamiento con las especies fúngicas estudiadas. Mientras que, en la composición química del aceite vegetal residual no se observó cambios significativos en el perfil de ácidos grasos después del biotratamiento, con la excepción del ácido linolénico el cual presentó una ligera disminución significativa en presencia de la especie fúngica *Saccharomyces cerevisiae*.

Se demostró que *Aspergillus niger* es la cepa fúngica con mayor potencial biodegradador de aceites residuales, ya que el mismo obtuvo los valores más altos en incremento de la biomasa y productividad tanto para el ARUV como para ARUL obteniéndose un porcentaje de rendimiento en consumo del lípido de 61,74% ($\pm 0,16$) y 59,69% ($\pm 0,6$) respectivamente.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal del IUTAG, CICBA-UNEFM por facilitar los espacios y equipos para la realización de este trabajo.

Referencias:

- [1] **Becerra A** (2007), La saponificación como alternativa de recuperación del aceite comestible usado. Instituto Universitario de Tecnología Alonso Gamero. Santa Ana de Coro-Venezuela 2007. (sin publicar).
- [2] Gaceta Oficial Nro. 35.445 de la República Bolivariana de Venezuela (1995), Decreto 883 Normas para la clasificación y el control de la calidad de los Cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos. *Disponible en:* <http://www.webdelprofesor.ula.ve/ingenieria/jmayorga/efluentes%20liquidos%20venezuela.pdf> (consultado septiembre 2014).
- [3] **Benavente G** (1999), Aceite Lubricante Usado. *Bravo Energy Chile* S.A. Boletín Nro. 2. Junio 1999.
- [4] **Navas P y Duran J** (2008). Evaluación del potencial efecto degradador de hongos aerógenos sobre derivados del petróleo. Caso: Tolueno, Naftaleno, Antraceno y Fenol. Trabajo de Grado. Instituto Universitario de Tecnología Alonso Gamero. (IUTAG). Coro- Venezuela. (sin publicar).
- [5] Norma COVENIN 889-95 (1995) Cálculo del índice de viscosidad a partir de la viscosidad cinemática a 40°C y 100°C (1ra Revisión). *Disponible en:* www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/889-95.pdf.
- [6] **Reyes M, Márquez M** (2010) Propiedades físicas de los compuestos. Prácticas de laboratorio. Universidad Nacional Experimental Politécnica de la Fuerza Armada Nacional Bolivariana, Santa Ana de Coro – Venezuela.
- [7] Norma COVENIN 2281-02 (2002) Aceites y Grasas vegetales. Determinación del perfil de ácidos grasos e índice de iodo por Cromatografía de Gases (2da Revisión). *Disponible en:* www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2281-02.pdf.
- [8] APHA-AWWA-WPCT, 1998. (Hidrocarburos Totales por el Método Normalizado para Agua 5520B), Standard Methods for the examination of water and wastewater, 20th Edition, American Public Health Association.
- [9] **Olea C, Mauricio M, Prudencio G** (2003) Bioremediación de suelos contaminado con petróleo crudo en lotes petroleros de la selva norte del Perú, trabajo técnico presentado en la V jornada de preservación de agua, aire y suelo en la industria del petróleo y gas. *Disponible en:* http://www.iapg.org.ar/sectores/eventos/eventos/eventos_iapg/2003/051103_trabajos.htm

[10] **Lee S, Posarac D, Ellis N** (2011) "Process simulation and economic analysis of biodiesel production processes using fresh and waste vegetable oil and supercritical metanol" *Chemical Engineering Research and Design* 89 2626–2642.

[11] **Franco M, Larrayoz M** (2013) "Simulación del proceso de producción de biodiesel a partir de aceites vegetales en condiciones súper-críticas", *disponible en:* <http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/19694/1/TFM.%20Simulaci%C3%B3n%20del%20proceso%20de%20prcr%C3%ADticas.pdf> (consultado enero 2015).

[12] **Belén-Camacho, et al.** (2004) Características fisicoquímicas y composición en ácidos grasos del aceite extraído de semillas de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt) variedades roja y amarilla. *Grasas y Aceites* vol. 55, núm. 4, pp. 428-433.

[13] **Posada-Duque J, Cardona-Alzate C** (2010) Análisis de la refinación de glicerina obtenida como coproducto en la producción de biodiesel, *Ing. Univ. Bogotá* (Colombia), 14 (1):9-27, enero-junio de 2010.

[14] **Thomson JC y HE BB** (2006) Characterization of crude glycerol from biodiesel production for multiple feedstocks. *Applied Engineering in Agriculture*, vol. 22, Nro. 2, pp. 261-265.

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Volumen 14, Número 1, Abril de 2015

ID artículo: F0210

DOI: no disponible

[Versión online](#)