

## ENSAYO PRELIMINAR PARA LA RECUPERACIÓN MICROORGANISMOS BIOTRANSFORMADORES DE ACEITE USADO DE AUTOMÓVIL

**Autores:** Miguel Cifuentes – [miguele1024@gmail.com](mailto:miguele1024@gmail.com)  
Martín Ramírez – [martinfeliperamirez64@gmail.com](mailto:martinfeliperamirez64@gmail.com)

### PROYECTO CURRICULAR INGENIERÍA SANITARIA SEMILLERO K

**Docente tutor:** Miguel Ángel Piragauta Aguilar

#### RESUMEN

Existen impactos negativos importantes sobre el ambiente que se pueden generar por la disposición deficiente de los aceites usados de automotores, estos efectos están evidenciados en la contaminación del suelo inhabilitando el crecimiento del humus vegetal lo que impide la generación de macronutrientes, en medios líquidos el aceite forma una capa superficial debido a la diferencia de densidades que restringen el intercambio de oxígeno, ocasionando un medio anaeróbico y la eutrofización de los cuerpos de agua. Una solución más amable ambientalmente es el uso de microorganismos nativos para la recuperación de los ambientes contaminados

por estos aceites, para llevar a cabo este propósito, se aisló un hongo micelial, una microalga filamentosa y dos cepas de bacterias Gram (-) a partir de una muestra de agua contaminada con borras de petróleo, se evaluó la actividad de una de las bacterias y del hongo micelial en medio MCHP6 suplementado con 1% de aceite usado de automóvil, hasta el momento se ha determinado que existen cambios visibles del aceite en los cultivos como decoloración, emulsificación y disminución de los volúmenes del aceite.

#### PALABRAS CLAVE

Biotransformadores, bacterias, hongos, biodegradación de derivados de petróleo.

## ABSTRACT

There are important negative impacts on the environment that can be generated by the deficient disposition of the used oils of automobiles, these effects are evidenced in the contamination of the soil disabling the growth of the humus vegetal which prevents the generation of macronutrients, in liquid media the oil forms a surface layer due to the difference in densities that restrict oxygen exchange, causing an anaerobic environment and eutrophication of water bodies. A more environmentally friendly solution is the use of native microorganisms for the recovery of environments contaminated by these oils. To accomplish this, a mycelial fungus, a filamentous microalgae and two strains of Gram (-) bacteria were isolated from a sample of water contaminated with petroleum lees, the activity of one of the bacteria and of the mycelial fungus in MCHP6 medium supplemented with 1% of used automobile oil was evaluated, so far it has been determined

that there are visible changes of the oil in the cultures such as discoloration, emulsification and reduction of oil volumes.

## INTRODUCCIÓN

Los aceites de motor usados están constituidos por diversos componentes, entre los que se encuentran los carbohidratos aromáticos, como el benzopireno, el benzoantraceno, el pireno, el alquiceno, el naftaleno, etc.; los hidrocarburos clorados, como el tricloroetano, el tricloroetileno y el percloroetileno; varios metales como el bario, zinc, aluminio, plomo, etc. y demás aditivos. Esta mezcla de compuestos ocasiona un deterioro en el medio ambiente y la salud humana debido a sus propiedades altamente tóxicas cancerígenas (Sánchez, 2008), se considera una sustancia de difícil degradación que requiere de nuevas técnicas para su adecuado tratamiento (Vásquez, 2010).

Hoy en día en Colombia cada año se consume cerca de 50 millones de galones de

aceite lubricante para motor, de los cuales 14 millones son tratados y usados como combustible secundario, por lo tanto, se desconoce el destino final de la cantidad restante (Ministerio de Minas y Energía [Min Minas], (2001). El tratamiento de este tipo de compuestos es aplicado por la biotecnología, razón por la cual se ha estudiado la forma de convertir su estructura química en componentes menos complejos. Para disminuir la cantidad de este proceso se lleva a cabo una interacción de los microorganismos capaces de degradar dichos elementos a través de procesos metabólicos buscando el crecimiento adecuado y la adaptación al medio (Kristanti, 2011).

Esta investigación se desarrolló a partir de una muestra de agua contaminada con borra de petróleo proveniente de las afueras de ciudad de Yopal, Colombia, de donde se recuperaron los microorganismos, los cultivos se suplementaron con aceite usado de motor de automóvil el cual se obtuvo de un taller automotriz de la ciudad de Bogotá, los

microorganismos de interés fueron aislados mediante pases sucesivos en medios de cultivo sólidos en caja y en medio líquido. se usó el 1% de aceite como única fuente de carbono en medio MCHP6 (Tabla 1), se usaron como controles medios de cultivo sin microorganismos para comparar los cambios físicos presentados por acción de los microorganismos.

## MÉTODOS

Recuperación y aislamiento de los microorganismos presentes en la muestra de agua contaminada con borras de petróleo: Se inocularon 5mL de muestra de agua contaminada de borras de petróleo en medio de cultivos MCHPC6 líquidos suplementado con 1% de aceite de recambio de automóvil como única fuente de carbono, los cultivos se incubaron 8 días a 25°C en agitación continua (180 rpm) en agitador orbital.

Para el aislamiento de los microorganismos que crecieron en el medio de recuperación, se usó la técnica de siembra en rejilla con

pases sucesivos, en medios de cultivo en caja AN, YGC y MCHP6, todos suplementados con aceite de recambio de automóvil al 0,5%.

Evaluación preliminar del impacto de los microorganismos aislados sobre el aceite de recambio de automóvil:

En frascos Schott tapa azul de 500 mL con 250 mL de caldo MCHP6 y suplementado con 1% de aceite de recambio de automóvil se inocularon con cada uno de los microorganismos aislados por separado y se dejó un medio de cultivo como control sin organismos. los medios de cultivo inoculados se incubaron a 25°C por 30 días en agitación en agitador orbital a 180 rpm.

MEDIO MCHP6	
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	0,059 g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,04375 g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,09875 g/L
NaNO <sub>3</sub>	0,3 g/L
MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	0,02 g/L
NH <sub>4</sub> Cl	0,0135 g/L
KCl	0,025 g/L
SL4 - PIV Metal	3 mL/L
Vitamina B12	1 mL/L
Biotina	1mL/L

Tabla 1. Composición medio de cultivo MCHP6  
Fuente: Autores

## RESULTADOS

### *Microorganismos aislados*

Se aisló un hongo micelial, una microalga filamentosa y dos cepas de bacterias, las cuales crecieron en los medios AN, YGC y MCHP6 suplementados con aceite usado de automóvil, los medios AN, YGC tienen una fuente de carbono adicional que es la glucosa, este ensayo se realizó para recuperar los microorganismos en presencia del aceite usado y el MCHP6 con única fuente de carbono el aceite usado, para determinar la actividad del organismo sobre las moléculas orgánicas presentes en el aceite, las mismas cepas crecieron en todos los medios de cultivo usados. Con este ensayo se determinó que los microorganismos podrían estar actuando en consorcio para la biotransformación del aceite usado de automóvil, se presenta el medio MCHP6 en caja, observando las colonias bacterianas de color naranja (Figura 1a).

La cepa bacteriana evaluada hasta el momento es un bacilo corto Gram (-) (Figura 1b), y en este mismo medio creció un hongo micelial con hifas septados delgadas y ramificadas, las hifas se prolongan estructuras globosas parecidas a esporangios muy pequeños. En el medio MCHP6 las colonias son aterciopeladas de color naranja (Figura 1c).

#### *Cambios físicos del aceite de recambio*

En el caso del hongo se presta una decoloración del aceite después de los primeros 8 días de incubación, y a los 30 días se detecta que el aceite tiene una conformación agrupada en forma de micela, presentando una apariencia lechosa.

En la cepa bacteria se presenta en la superficie de cultivo las micelas de color naranja, al finalizar los 30 días se encontró que las micelas de color naranja se transforman en agrupaciones filamentosas cortas de apariencia no aceitosa de color café. Estos cambios físicos nos muestran que posiblemente los microorganismos aislados tienen una actividad biotransformadora del aceite de recambio de automóvil.

#### **DISCUSIÓN**

Los organismos aislados crecieron en cajas que contenían como fuente de carbono aceite quemado de automóvil, indicando que existe una relación de estos organismos con la

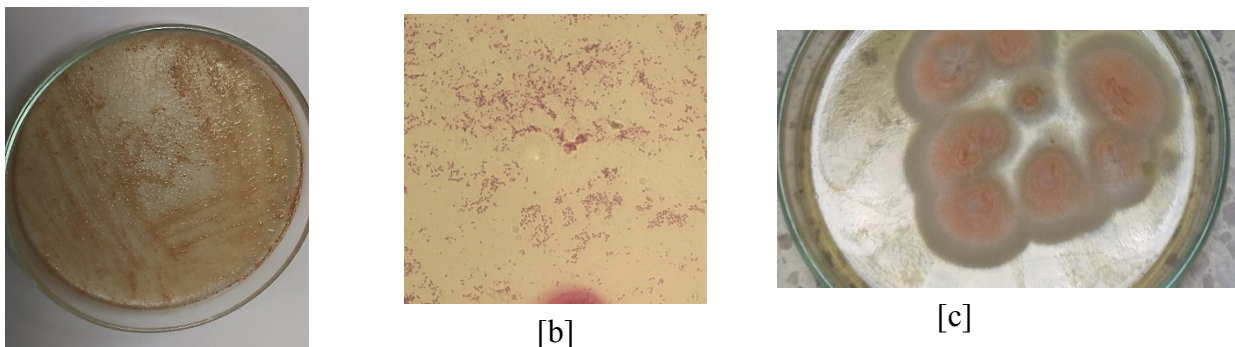


Figura 1. Caracterización macro y microscópica de los microorganismos aislados [a] [b] bacterias [c] hongo

presencia de hidrocarburos; hecho que fue corroborado con los cambios encontrados en el aspecto físico del aceite en los diferentes cultivos, este hallazgo permite inferir que posiblemente está ocurriendo una actividad en consorcio que degrada las moléculas que componen dicho aceite (Barrios, L., Robayo, J., Prieto, S., & Cardona, S., 2015).

Los cambios en el aspecto físico del aceite en el medio de cultivo comprenden diferencias con los estadios iniciales del medio, en donde la opacidad blanquecina y el tamaño de la capa superficial de aceite se han disminuido en los medios con microorganismos en comparación con los medios de control. Esto posiblemente es causado por una acción biotransformadora de los microorganismos sobre el sustrato (aceite quemado) como fuente de carbono, estos cambios también pueden obedecer por la producción de biosulfactantes por parte de los microorganismos presentes en los cultivos, lo cual indica que hay una solubilidad aparente del aceite con el medio líquido y un aumento

en el proceso de emulsificación.

Además, existe un cambio en el color aparente del medio que, aunado al cambio de color en la capa de aceite usado superficial del medio con microorganismos, permite inferir que estos compuestos son objeto de transformación por medios metabólicos, ya que se puede descartar que estos cambios ocurriesen por medios físicos debido a que no se presentaron en los medios control. La transformación de la coloración se encuentra atada al consumo de la concentración inicial del aceite quemado, indicando una configuración molecular del sustrato, posiblemente por la actividad carbonoclástica ejercida por los microorganismos (Barrios *et al*, 2015).

El aceite usado de motor es un compuesto molecular complejo que es relativamente resistente a los cambios en su composición por acción medioambiental (variaciones de temperatura leves, agitación, humedad, etc.) (Barrios *et al*, 2015), pues las reacciones que

transforman los compuestos del aceite solo ocurren durante la operación del motor; el aceite se transforma mediante mecanismos de oxidación, nitración, cracking de polímeros, descomposición de sustancias organometálicas, etc., este cambio se atribuye a las altas temperaturas y esfuerzos mecánicos a los que se somete el aceite durante el funcionamiento (Barrios *et al*, 2015). Tales procesos físicos y mecánicos no ocurrieron dentro de los límites de este ensayo, por lo que la transformación evidenciada en el medio con microorganismos ocurrió por la presencia de los mismos y su acción metabólica sobre el compuesto, pues para sustentar el crecimiento y mantenimiento de la población, era necesario transformar y emplear la única fuente de carbono disponible en el medio, que es el aceite de motor usado.

### CONCLUSIONES

Se demostró que el aceite presenta un cambio significativo en sus características cualitativas después del biotratamiento con las especies de microorganismos. Además, se encontró que las

características físicas del aceite sufren un cambio comparadas con el medio de control. Se concluye que los microorganismos aislados tienen un impacto en los componentes del aceite, debido a que son la única fuente de carbono presente en el medio. Cada microorganismo individualmente produce cambios característicos en el aceite presente en el medio de cultivo.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Sus profesores e instalaciones que nos permiten realizar esta investigación hasta el punto que ha llegado.

Agradecemos al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medio Ambiente y Recursos Naturales, por hacer posible el empleo de los equipos e instrumentos usados en esta investigación.

Agradecemos al semillero K del proyecto curricular Ingeniería Sanitaria, por su apoyo en los momentos de desarrollo del proyecto

de investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, P. & Vogel, T. (1991).** *Substrate interactions of benzene, toluene, and para-xylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries.* Applied and Environmental Microbiology.
- Barr, D. & Aust, S. (1994).** *Mechanisms white rot fungi use to degrade.* Environmental science and technology. doi:10.1021/es00051a724
- Barrios, L., Robayo, J., Prieto, S. & Cardona, S. (2015).** *Biorremediación de suelos contaminados con aceites usados de motor.* Cintex, 20(1).
- Energética, U. D. (2001).** *Transformación de los aceites usados para su utilización como energéticos en procesos de combustión.* Bogotá.
- Kristanti, R., Hadibarata, T., Toyama, T., Tanaka, Y. & Mori, K. (2011).** *Bioremediation of Crude Oil by White Rot Fungi Polyporus sp. S133.* The Korean Society for Applied Microbiology and Biotechnology, 21. doi:10.4014/jmb.1105.05047
- Kvenvolden, K. & Cooper, C. (2003).** *Natural seepage of crude oil into the marine environment.* Geo-Marine Letters, 23.
- Núñez, M.(2001).** *Aceite usado generado por motores en la ciudad de Cali.* Revista de Subproductos Industriales.
- Oboh, B., Llori, M., Akinyemi, J. & Adebusoye, S. (2006).** *Hydrocarbon Degrading Potentials of Bacteria Isolated from a Nigerian Bitumen.* Nature and Science, 4.
- Sánchez, A. (2008).** *Efectos de los trihalometanos sobre la salud.* Higiene y Sanidad Ambiental.