

# DEGRADACIÓN DE ALTAS CONCENTRACIONES DE HEXADECANO POR *Aspergillus niger* EN CULTIVO SÓLIDO: EFECTO DE UNA BAJA RELACIÓN C/N

Tania Volke-Sepúlveda<sup>1</sup>; Ernesto Favela-Torres<sup>2</sup> y Mariano Gutiérrez-Rojas<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental; <sup>2</sup> Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa 09340, D.F. Tel. 5613 3787; Fax: 5613 3821; e-mail: tvolke@ine.gob.mx

*Palabras clave: biodegradación de hidrocarburos, hexadecano, cultivo en medio sólido*

**Introducción.** En México existen numerosos sitios contaminados por hidrocarburos (HC). Una de las razones que ocasiona este problema, son los derrames accidentales en pozos y ductos. Solamente en 2001 se derramaron 8 031 Ton de HC (1). Algunos de los suelos más contaminados del país contienen concentraciones de HC de hasta 450 mg/g (2), las cuales provocan condiciones desfavorables para el crecimiento microbiano debido a las altas relaciones C/N y/o C/P, limitando a su vez la biodegradación de HC. Se ha demostrado que un ajuste en la relación C/N/P, por adición de nutrientes, estimula la velocidad de degradación de HC (3,4). Una alternativa para la degradación de altas concentraciones de sustratos insolubles en agua (HC), es el uso de sistemas sólidos, cuyas condiciones son además, similares a las de sistemas naturales.

El objetivo del estudio fue demostrar la completa biodegradación de altas concentraciones de hexadecano (HC alifático modelo) por *Aspergillus niger* en un sistema sólido, favoreciendo condiciones no limitantes de nutrientes (O<sub>2</sub>, N y P).

**Metodología.** Se utilizaron botellas serológicas (125 mL) con 1.3 g de espuma de poliuretano (PUF) como soporte sólido; se adicionó un medio con relación de sales minerales equivalentes a las del medio Czapek, inoculado con esporas de *Aspergillus niger* ATCC 9642 (10<sup>7</sup> esporas/mL) hasta una humedad de 78% y pH 5. Se utilizó hexadecano (HXD) en diferentes concentraciones (180, 360, 540 y 717 mg HXD/g PUF [peso seco]) como única fuente de carbono y energía. En todos los casos se mantuvieron constantes las relaciones C/N, C/K y C/P (25, 49 y 62, respectivamente). Los cultivos se incubaron durante 15 días a 30°C (3 repeticiones), con aireación constante (4 - 6 mL/min) para asegurar el suministro de O<sub>2</sub>. Como controles, se utilizaron botellas inoculadas sin HXD. El contenido de CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> se cuantificó en línea (cada 4 horas) por cromatografía de gases. El HXD consumido se determinó por espectroscopía IR (FTIR) y la biomasa (BM) se estimó gravimétricamente.

**Resultados y discusión.** La Tabla 1 presenta los resultados obtenidos durante la biodegradación de HXD a concentraciones iniciales de hasta 717 mg HXD/g PUF. En los 4 medios estudiados se obtuvo más de 99% de degradación de HXD. La tasa de degradación de HXD aumentó proporcionalmente a la concentración inicial de sustrato, obteniéndose valores de hasta 47.4 mg HXD consumido por g de PUF por día. La velocidad de producción de CO<sub>2</sub> también aumento proporcionalmente con la concentración inicial de HXD, obteniéndose un rendimiento constante de 1.13 mg CO<sub>2</sub>/mg HXD consumido, lo que corresponde a valores de mineralización del sustrato superiores al 30%. La máxima tasa de mineralización se detectó entre los 5

y 7 días de cultivo. En un estudio previo (5), se demostró el completo consumo de HXD a una concentración inicial de 45 g/L (156 mg HXD/g PUF) después de 31 días de cultivo, con una tasa promedio de consumo de 1.42 mg HXD/mL-día (5.03 mg HXD/ g PUF-día), es decir, valores entre 3 y 9 veces menores que los aquí presentados. Este resultado puede atribuirse a una limitación por nutrientes (O<sub>2</sub>, N y P) en el citado caso, en comparación con las condiciones no limitantes de este estudio.

Tabla 1. Efecto de la concentración inicial de HXD en el crecimiento de *A. niger* (BM, Y<sub>X/S</sub>), el consumo de HXD (HXD<sub>c</sub>), y en la producción de CO<sub>2</sub> (M, tasa de producción de CO<sub>2</sub>).

HXD (mg/g)	BM (mg/g-día)	Y <sub>X/S</sub> (gBM/gHXD)	HXD <sub>c</sub> (%)	HXD <sub>c</sub> (mg/g-día)	M (%)	CO <sub>2</sub> (mg/g-día)
180	12.8	0.854	99.8	15.2	44.4	21.1
360	18.8	0.787	99.5	23.9	36.9	27.4
540	25.7	0.717	99.5	35.8	34.5	38.5
717	35.3	0.734	99.3	47.4	33.3	49.2

La velocidad de producción de BM se incrementó (hasta 3 veces) al aumentar la concentración inicial de HXD. El rendimiento Y<sub>X/S</sub> fue ligeramente mayor con 180 mg HXD/g PUF y se mantuvo prácticamente constante con 360, 540 y 717 mgHXD/g PUF. Este resultado demuestra que con relaciones C/N bajas se favorece la completa degradación de HXD y que la velocidad de degradación aumenta en función de la concentración del sustrato hidrofóbico.

**Conclusiones.** La utilización del HXD como HC alifático modelo, permitió demostrar que, en cultivo sólido, es posible biodegradarlo, a concentraciones tan elevadas como 717 mg/g PUF y que la velocidad de biodegradación es proporcional a la concentración inicial de HXD. Los valores de biodegradación obtenidos son al menos 3 veces mayores que los obtenidos con limitación de N, P y K, y hasta 12 veces mayores que los encontrados en cultivo sumergido bajo las mismas condiciones de cultivo, pero con concentraciones de HXD 3 veces menores (datos no publicados).

## Bibliografía

1. PEMEX, 2001. Informe 2001. PEMEX, México.
2. Gallegos-Martínez, M.; Gómez-Santos, A.; González-Cruz, L.; Montes de Oca-García, A.; Yáñez-Trujillo, L.; Zermeño-Eguía Lis, J. y Gutiérrez-Rojas, M. 2000. *Water Sci Technol.* 42: 377-384.
3. Leahy y Colwell, 1990. *Microbiol. Rev.* 54 (3): 305-315.
4. Graham, D.W.; Smiyh, V.H.; Cleland, D.L and Law, K.P. 1999. *Water Air Soil Poll.* 111: 1-18
5. Volke-Sepúlveda, T.L.; Gutiérrez-Rojas, M. y Favela-Torres, E. 2003. *Bioresource Technol.* 87: 81-86

