

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA AGRÍCOLA

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS
BAJO CONDICIONES DE LUZ Y OSCURIDAD PARA DEGRADAR
GRASAS PROCEDENTES DE RESTAURANTES**

POR:
YANELLA M. ARAÚZ G.
CED: 4-756-776

DAVID, CHIRIQUÍ.
REPUBLICA DE PANAMÁ

2015

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS
BAJO CONDICIONES DE LUZ Y OSCURIDAD PARA DEGRADAR
GRASAS PROCEDENTES DE RESTAURANTES**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDA PARA OPTAR POR EL
TÍTULO DE INGENIERÍA EN MANEJO DE CUENCAS
HIDROGRÁFICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA**

**PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O
PARCIAL DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS**

APROBADO:

PROF. ALEXIS SAMUDIO M.Sc.

DIRECTOR

PROFA. FELÍCITA GONZÁLEZ M.Sc.

ASESORA

PROFA. COLOMBIA WONG M.Sc.

ASESORA

DAVID, CHIRIQUÍ

REPÚBLICA DE PANAMÁ

2015

DEDICATORIA

Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente; no temas ni desmayes; porque Jehová tu Dios estará contigo en dondequiera que vayas.

Josué 1:9.

Este trabajo es dedicado con mucha humildad en primer lugar a Dios quien siempre me dio las fuerzas e inteligencia necesarias para no rendirme.

A mis padres, Marlene G. de Araúz y Guillermo José Araúz por su amor, quienes con mucho esfuerzo y apoyo incondicional han mantenido su promesa de darme la mano cuando caiga y caminar a mi lado cuando triunfe. No saben cuánto los amo. Esto es suyo.

A mi Abuela Adela Ayala, hasta el cielo, quien con su ejemplo y amor iluminó los primeros años de mi vida, y me inculcó que el amor, respeto y esfuerzo son grandes valores para seguir adelante. Te llevo en mi corazón.

A mi abuelo Guillermo José Araúz Atencio (q.e.p.d.), quien me alentó a no darme por vencida siempre diciendo “esa es mi nieta, la ingeniera”. Sé que desde el cielo te sientes orgulloso.

AGRADECIMIENTO

Ebenezer, hasta aquí me ha ayudado Jehová. Gracias a Dios que es quien ha hecho posible llegar a esta etapa de mi vida.

A mis padres Guillermo J. Araúz y Marlene de Araúz, gracias porque a pesar de las situaciones que se puedan presentar, han demostrado ser unos padres excepcionales, y los mejores que Dios pudo regalarme.

Al profesor **Alexis Samudio**, director de este trabajo, gracias por su dedicación y apoyo y disposición a ayudarme. A las profesoras asesoras, **Felicita González**, agradezco sus consejos y orientación durante toda mi carrera; y a la profesora **Colombia Wong**, gracias por su tiempo, por las enseñanzas brindadas siempre y por guiarme en la realización de este trabajo.

Al personal del laboratorio de Suelos y Aguas, **Lic. Liliana Escalante**, **Ing. Jacob Franco** y **Lic. Yaderit Alvarado**, gracias por su gran ayuda y por tanta paciencia, son parte esencial de este trabajo. Dios los bendiga.

A mis compañeros de carrera, compañeros de mil batallas, quienes con dificultades y luchas, pero con un gran espíritu de seguir adelante, compartí buenos momentos. Los recordaré siempre.

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS BAJO CONDICIONES DE LUZ Y OSCURIDAD PARA DEGRADAR GRASAS PROCEDENTES DE RESTAURANTES

Araúz Gantes, Y. M. 2015. Evaluación de la eficiencia de bacterias lipolíticas para degradar grasas procedentes de restaurantes bajo condiciones de luz y oscuridad. Tesis. Ingeniería en Manejo de Cuencas y Ambiente. Chiriquí, PA. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Panamá. 73 p.

RESUMEN

En este trabajo exploratorio, se realizó un tratamiento con bacterias lipolíticas (Bionet Super), a grasas de restaurantes de la provincia de Chiriquí, depositadas en una trampa de grasas del Instituto de Acueductos y Alcantarillados Nacionales (IDAAN), ubicada en el área de la laguna de oxidación en Villa Mercedes, David. Para determinar la efectividad de las bacterias lipolíticas en la transformación de un efluente graso, se diseñó una investigación exploratoria para la cual se tomaron muestras que fueron inoculadas con dichas bacterias. Dos muestras de efluente graso, fueron divididas en una muestra testigo (T_0) y seis sub-muestras, cada una con un tratamiento diferente, partiendo del sugerido por el fabricante del producto (500 g/m^3 de efluente), correspondiendo a $0.30 \text{ g}(T_2)$, y los otros dos a la mitad $T_1(0.15 \text{ g})$ y al doble de lo recomendado $T_3(0.60 \text{ g})$; se aplicó este procedimiento en presencia de luz (12 hl), y en ausencia de luz (0 hl), por un periodo de ocho días; luego, se procedió a analizar cada una de las sub-muestras en cuanto al porcentaje de grasa presente después de tratadas. Se realizó, además, un análisis de macro y micronutrientes, para evaluar la posibilidad de utilizar el producto después de tratado, como bioabono. El nitrógeno, fósforo y el calcio, fueron los nutrientes presentes en mayor cantidad, con valores máximos de 306.93 y $1468.61 \text{ mg kg}^{-1}$; es decir, pueden ser utilizados con frecuencia en elaboración de abonos orgánicos. Los demás nutrientes (K, Na, Fe, Cu, Mn, Zn, Mg,) se presentan en menores cantidades. En cuanto al porcentaje de grasa, se observó en ambas muestras una mayor disminución para el $T_2 - 0.30 \text{ g}$ de bacterias, en presencia de luz; aunque en ausencia de luz, también hubo descenso, dando como resultado 21.53% (12hl) y 62.13% (0hl), para la primera muestra; y 41.02% (12hl) y 48.23% (0hl), para la segunda; lo que significa, que las bacterias utilizadas son eficientes para el objetivo planteado.

PALABRAS CLAVES: Bacterias lipolíticas, efluente graso, microorganismos eficientes, bioabono.

EFFICIENCY EVALUATION OF LIPOLYTIC BACTERIA UNDER LIGHT AND DARKNESS CONDITIONS FOR FAT DEGRADING THAT COME FROM RESTAURANTS

Araúz Gantes, Y. M. 2015. Efficiency Evaluation of Lipolytic Bacteria for fat degrading that come from restaurants under light and darkness conditions. Thesis. Engineering in Water and Environmental Management. Chiriqui, PA. Faculty of Agricultural Sciences. University of Panama. 73 p.

ABSTRACT

In this exploratory study, we did a study where we treated with lipolytic bacteria (Bionet super) to the grease of restaurants in Chiriqui Province. All this grease was poured into a grease tramp of IDAAN or National Institute of Pipelines and Sewerage, which is located in the oxidation pond area in Villa Mercedes in David District. In order to determine the effectiveness of the lipolytic bacteria in the transform a fat effluent, we designed an exploratory investigation where we used some samples that were inoculated with lipolytic bacteria. Two samples of fat effluent were divided in a control sample (T_0) and six subsamples. Each sample was treated in a different form. We apply the treatment suggested by the product producer "Bionet super" ($500\text{g}/\text{m}^3$) of effluent corresponding to 0.30g (T_2) and the other two corresponding to the half T_1 (0.15g) and the double of the recommended T_3 (0.60g) so that, this procedure was applied for three subsamples exposed to light (12hl) and for three subsamples without light (0hl) for a period of eight days. Then, we analyzed each subsample to identify the percentage of fat that appear after the treatment. In this study, we also did an analysis of macro and micro nutrients in each sample to evaluate the possibility of using the product after treatment like biofertilizer. The nitrogen, phosphorus and calcium were the nutrients that appeared in more quantity with maximum results of 306.93 and $1468.61 \text{ mg kg}^{-1}$; that means that we can use this to the elaboration of biofertilizer. The other nutrients (K, Na, Fe, Cu, Mn, Zn, Mg) appeared in minimum quantity. In addition, the fat percentage was in both samples a very significant reduction for T_2 - 0.30g of bacterias in light exposure, but without light there was also reduction, as a result 21.53% (12hl) and 62.13% (0hl) for the first sample; and 41.02% (12hl) and 48.23% (0hl) for the second sample. It means that bacterias used in this study are efficient for the planned objective or goal.

KEYWORDS: Lipolytic bacteria, fat effluent, efficient microorganism, biofertilizer.

ÍNDICE DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2 Antecedentes	2
1.3 Justificación.....	3
1.4 Objetivos	4
1.4.1 Objetivo General	4
1.4.2 Objetivos Específicos.....	5
1.5 Hipótesis de la investigación	5
1.6 Alcances y limitaciones del estudio	5
2 REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1 Grasas.....	7
2.2 Origen de grasas y aceites presentes en aguas residuales	9
2.3 Contaminación por grasas.....	10
2.4 Tratamientos para degradar grasas	11
2.5 Biodegradación: Bacterias una alternativa sustentable	13

2.6	Actividad metabólica de las bacterias.....	18
2.6.1	<i>Metabolismo productor de energía</i>	20
2.7	Eficiencia de las bacterias para degradar grasas	21
2.8	Microorganismos eficientes (E.M.)	26
2.8.1	Generalidades de los microorganismos eficientes.....	26
2.8.2	Beneficios de los microorganismos eficientes (EM).....	29
2.8.3	Los Microorganismos del EM.....	29
2.8.4	Interacción de los microorganismos con los nutrientes.....	30
3	MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1	Localización del estudio	35
3.2	Metodología.....	35
3.3	Parámetros evaluados.....	41
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1	Porcentaje de grasa	42
4.2	Liberación de Macronutrientes	46
4.2.1	Nitrógeno (N)	46
4.2.2	Calcio (Ca).....	47
4.2.3	Fósforo (P), Potasio (K), Magnesio (Mg) y Sodio (Na).....	49
4.3	Liberación de micronutrientes.....	55
4.3.1	Hierro (Fe), Cobre (Cu), Manganeso (Mn) y Zinc (Zn).....	55
5	CONCLUSIONES.....	62
6	RECOMENDACIONES.....	63
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
8	ANEXOS.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		Pág.
1	INOCULACIÓN DE BACTERIAS “BIONET SUPER” EN MUESTRA N°1 DE EFLUENTE GRASO, CHIRIQUÍ, 2015	37
2	DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS Y BACTERIAS “BIONET SUPER” A PARTIR DE LA MUESTRA “A” DEL EFLUENTE GRASO, CHIRIQUÍ, 2015	38
3	PROCESO DE MUESTRA B, CHIRIQUÍ, 2015	40
4	MEDICIÓN DE FASES RESULTANTES DEL PRIMER TRATAMIENTO DE BACTERIAS A LA MUESTRA A, CHIRIQUÍ 2015	41
5	DISTRIBUCIÓN DE MUESTRA “B” EN T1, T2, T3, CHIRIQUI, 2015	41
6	PORCENTAJE DE GRASA EN LA MUESTRA A, CHIRIQUÍ, 2015	43
7	PORCENTAJE DE GRASA EN LA MUESTRA B, CHIRIQUÍ, 2015	44
8	PORCENTAJE DE GRASA EN LA SEGUNDA MUESTRA CHIRIQUÍ, 2015	46
9	COMPORTAMIENTO DEL NITRÓGENO TOTAL LIBERADO PARA LA MUESTRA N°1 Y N°2 EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE LUZ	47
10	CALCIO (Ca) EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1 Y MUESTRA N°2	49
11	TOTAL DE MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1	50
12	TOTAL DE MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1	52
13	MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2	54

14	MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2	55
15	TOTAL DE MICRONUTRIMENTOS Fe, Cu, Mn, Zn, EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1	56
16	TOTAL DE MICRONUTRIMENTOS Fe, Cu, Mn, Zn, EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1	58
17	MICRONUTRIMENTO HIERRO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2	59
18	MICRONUTRIMENTO Cu, Mn, Zn, EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2	60
19	MICRONUTRIMENTO Cu, Mn, Zn, EN AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2	61

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		Pág.
I	PORCENTAJE DE GRASA PRESENTE EN CADA MUESTRA POST-TRATAMIENTO	67
II	ESPESOR DE FASES POST-TRATAMIENTO PARA LA MUESTRA N°1	67
III	RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MACRONUTRIMENTOS, MUESTRA N°1	68
IV	RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MACRONUTRIMENTOS, MUESTRA N°2	69
V	RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MICRONUTRIMENTOS, MUESTRA N°1	70
VI	RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MICRONUTRIMENTOS, MUESTRA N°2	71
VII	COMPOSICIÓN DE ALGUNAS GRASAS NATURALES EN PORCENTAJE DE ÁCIDOS GRASOS TOTALES	73
VIII	PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE ABSORCIÓN ATÓMICA	72
IX	PARÁMETROS EVALUADOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS	72
X	REALIZACIÓN DE ANÁLISIS DE FÓSFORO	72
XI	EQUIPO UTILIZADO PARA EXTRACCIÓN DE GRASA	73

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento del problema

La reglamentación panameña en la resolución ministerial nº 363-2005/MINSA, exige a los restaurantes la presencia de una trampa de grasa, la cual se utiliza para separar los residuos sólidos y las grasas productos del lavado y del porcionamiento de alimentos. Existe una gran variabilidad en el volumen de descarga para cada restaurante.

Cuando los locales de comida no cuentan con este sistema para retener grasas, con el tiempo, las tuberías de desagüe se obstruyen, ocasionando problemas sanitarios y riesgos de contaminación en la preparación de alimentos.

La disposición de este tipo de grasa, procedente de restaurantes de la provincia de Chiriquí, generalmente, consiste en que empresas con carros cisternas la retiren y la depositen en una trampa del Instituto de Acueductos y Alcantarillados Nacionales (IDAAN), ubicada en el área donde se encuentra la laguna de oxidación en Villa Mercedes, David; sin embargo, no se cuenta con trampas suficientes para la cantidad de desecho que se recibe semanalmente, por lo que se necesita reducir el volumen del mismo.

En el trabajo a realizar se evaluará la aplicación de bacterias lipolíticas (degradadoras de grasa) para la disminución del porcentaje de éste residuo proveniente de restaurantes del distrito de David, y así, contar con mayor espacio al momento de las descargas.

1.2 Antecedentes

Las grasas son sustancias lipófilas e hidrófobas, esto es, insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Las grasas y aceites, desde un punto de vista químico, son sustancias muy similares; son compuestos ésteres de alcohol y glicerol (glicerina) con ácidos grasos. Los glicéridos o ácidos grasos que son líquidos a temperaturas normales, se denominan aceites y los que son sólidos se clasifican como grasas. (Torres, 2013).

Las grasas que se encuentran en las aguas residuales proceden de la mantequilla, margarina, manteca, que normalmente se encuentra en carnes, cereales, semillas, frutos secos y ciertas frutas. Diariamente se vierten grasas junto con otros desechos orgánicos. Estos materiales orgánicos tienden a solidificarse y adherirse a las líneas de desagüe, causando acumulaciones que producen ineficiencias en los sistemas de bombeo y tuberías ocasionando brotes de algas filamentosas, decantación y eliminación insuficiente de sólidos (Torres, 2013).

La finalidad de la trampa de grasas es concentrar estos residuos para aplicar algún tratamiento. Actualmente, luego del depósito del desecho en las trampas de grasas antes mencionado, no se cuenta con un protocolo de tratamiento posterior que permita degradar eficientemente los residuos que se colectan en dicha trampa, ni con una legislación adecuada para su control.

En el mercado panameño se están introduciendo productos como bacterias lipolíticas que no cuentan con una evaluación científica previa adecuada, ni un ensayo eficiente que los avale en el país.

1.3 Justificación

Uno de los subproductos de la industria con más dificultad para el manejo y disposición final, es la grasa. En negocios e industrias, especialmente en restaurantes, se utilizan depósitos conocidos como “Trampas de grasa”, donde éste desecho debería reposar cierta cantidad de tiempo hasta descomponerse y luego disponer del efluente con el menor porcentaje de grasa posible.

Es necesario que exista un manejo integral para mitigar los impactos ambientales como: grasas en la planta de tratamiento, producción de gases de efecto invernadero, problemas de salud humana por plagas, malos olores, contaminación de cuerpos de agua y suelo; por lo tanto se planteó esta

investigación exploratoria con la finalidad de obtener resultados iniciales de utilidad para futuras observaciones.

En Panamá, no se cuenta con una reglamentación específica para el diseño y mantenimiento de trampas de grasa, incluyendo los diferentes tratamientos que se puedan aplicar, en este caso, las bacterias lipolíticas. Usualmente, en otros países, se utilizan productos químicos para transformar la grasa, pero esto causa un alto grado de contaminación, ya que generan gases tóxicos para los seres humanos y para el medio ambiente en general.

Las bacterias son una buena alternativa para resolver éste problema, pero, muchas veces el tiempo de retención de la grasa es alto y se vuelve necesario extraer la misma manualmente, para lo cual existen empresas, que luego pasan a depositarlas en una trampa recolectora, que en el caso de nuestra provincia, se encuentra ubicada en el área de Villa Mercedes, David. Por eso es importante, enfatizar la factibilidad del uso de estos activadores biológicos, tanto para los restaurantes como para las trampas recolectoras.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Realizar un estudio exploratorio sobre el comportamiento de las bacterias lipolíticas en cuanto a la disminución de

las grasas y la liberación de nutrimentos, en condiciones de presencia y ausencia de luz.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la eficiencia de las bacterias para degradar grasas utilizando diferentes concentraciones y variación en horas luz (12 horas luz, 24 horas en ausencia de luz).
- Determinar el contenido de macro y micronutrimentos en la fase líquida resultante de cada tratamiento
- Considerar la posibilidad de utilizar los nutrimentos liberados en la solución resultante de la degradación de grasa para producción de bio-abonos.

1.5 Hipótesis de la investigación

Existen diferencias en los tratamientos utilizados para degradación de grasas procedentes de restaurantes con bacterias lipolíticas, en presencia y ausencia de luz.

1.6 Alcances y limitaciones del estudio

Dentro de los alcances de esta investigación se pueden mencionar: una disminución del porcentaje de grasa como un tratamiento ambiental; la

existencia de una evaluación del contenido de nutrimentos presente en el producto líquido resultante para la fabricación de bioabonos y ofrecer a los restaurantes opciones para la limpieza de sus trampas de grasa.

El resultado de este proyecto va dirigido a entidades tanto gubernamentales como privadas, como una opción para evitar la contaminación al medio ambiente. Como limitaciones podemos señalar que se adolece de un protocolo para el adecuado tratamiento de estos residuos. Tampoco se cuenta con información amplia sobre el producto utilizado. La ausencia de un proceso de análisis establecido para muestras de grasa y falta de información sobre el manejo de grasas en Panamá.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Grasas

El término grasas se emplea generalmente para referirse a las grasas como a los aceites (G y A), que son constituyentes tanto de las plantas como de los animales y su función principal es la de actuar como fuentes de energía y como aislantes térmicos. Sin embargo ambos tienen la misma estructura general con diferentes propiedades físicas y químicas; las grasas y aceites se clasifican como lípidos y constituyen el grupo más numeroso dentro de éstos (Loperana *et al.*, 2009, citado por Torres, 2013).

El tipo más común de grasa es aquél en el cual tres ácidos grasos están unidos a la molécula de glicerina, comúnmente conocidos con el nombre de triglicéridos o triacilglicéridos. Los triglicéridos sólidos a temperatura ambiente son denominados grasas. Todas las grasas son insolubles en agua teniendo una densidad significativamente inferior; por lo que se mantienen en la capa superior, entendiéndose por grasas a los compuestos orgánicos que contienen carbono, hidrógeno, oxígeno y ácidos grasos (Torres, 2013).

Las grasas son biomoléculas orgánicas de naturaleza lipídica formada por una larga cadena hidrocarbonada lineal $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n]$ con número par de átomos de

carbono, en cuyo extremo hay un grupo carboxilo (-COOH); $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n \text{COOH}$, los ácidos grasos se diferencian por la longitud de su cadena de átomos de carbono (entre 4 y 22), por el número de dobles enlaces que contienen; de tal manera que en función del tipo de ácidos grasos que formen predominantemente las grasas, y en particular por el grado de insaturación (número de enlaces dobles o triples) de los ácidos grasos, se pueden distinguir ácidos grasos saturados si no contienen dobles enlaces entre carbonos tienden a formar cadenas extendidas, un ejemplo de estos son la mantequilla y la manteca.

Los ácidos grasos insaturados, son aquellos que presentan dobles enlaces entre carbonos como por ejemplo los aceites de cocina; así mismo en esta gama se incluyen los monoinsaturados si contienen un doble enlace, el aceite de oliva, y el aguacate son ejemplos de este tipo de ácidos grasos; así mismo los ácidos grasos omega-6 y omega-3 ejemplifican a los ácidos grasos poli-insaturados que son los que presentan dos o más dobles enlaces (Torres, 2013).

Al hablar de grasas se debe tomar en cuenta que son de naturaleza lipídica; las grasas forman una categoría de lípidos que se distinguen de otros lípidos por su estructura química y sus propiedades físicas; sin embargo esta categoría de moléculas es importante para muchas formas de vida y cumplen funciones tanto estructurales como metabólicas.

Los lípidos son un grupo de sustancias que se encuentran en los tejidos vegetales y animales y están formados básicamente por carbono, hidrógeno y en menor proporción, oxígeno, aunque en ocasiones también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno, estos constituyen un grupo de sustancias muy heterogéneas que comparten dos características: ser insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos, una forma de clasificarlos sería basándose en si son saponificables, si forman jabones con sosa y potasa; o insaponificables, si no tienen dicha propiedad (Ruggieri *et al.*, 2008 citado por Torres, 2013).

2.2 Origen de grasas y aceites presentes en aguas residuales

Las grasas están destinadas principalmente a la alimentación humana, un ejemplo de éstas son la manteca, margarina, mantequilla y crema, ya que las grasas constituyen una parte muy importante de la dieta de la mayoría de los seres heterótrofos incluidos los seres humanos, de manera que las grasas son usadas tanto en el hogar como en las industrias de cualquier tipo, las grasas se obtienen de diversos frutos y semillas, al contrario de lo que ocurre con los aceites y grasas industriales, que en su mayor parte se elaboran a partir del petróleo, por lo que, son difíciles de degradar de forma natural y se mantienen en la capa superior, formando películas en el agua que dañan a los seres vivos (Torres, 2013).

Por lo que respecta a las descargas de aguas residuales de origen municipal es decir; de los hogares e instituciones públicas y privadas, puede deducirse que debido a las actividades cotidianas que se realizan, estas aguas llevan inmersas grasas tanto de origen animal como vegetal y, por consiguiente, deben ser del tipo saturadas e insaturadas.

2.3 Contaminación por grasas

Diariamente se generan grandes cantidades de aguas residuales que contienen altas concentraciones de grasas de diversos orígenes; estas aguas normalmente son tratadas en plantas de tratamiento de aguas y son reguladas por la norma DGNTI-COPANIT 35 - 2000, que establece como límite permisible 20 mg/L de grasas y aceites para la descarga en cuerpos de agua y bienes nacionales.

Según Torres, (2013), son muchas las consecuencias que pueden resultar debido a la contaminación de grasas en aguas, ya que llegan a contaminar los cuerpos de aguas subterráneas y mantos freáticos, debido a que cuando las grasas se integran al flujo de aguas sanitarias de la ciudad y al descender su temperatura, por su misma naturaleza química, éstas se adhieren a las paredes del alcantarillado; dicha adhesión disminuye el diámetro de la tubería del sistema de alcantarillado público; en consecuencia aumenta la presión del flujo de las aguas residuales lo que gradualmente conduce a obstrucciones y taponamientos.

Como consecuencia, se generan derrames en la vía pública y focos de infección en los centros de población; así mismo las grasas son de los compuestos orgánicos más estables y no son fácilmente biodegradables. Sin embargo los ácidos minerales las atacan, dando como resultado la formación de ácidos grasos y glicerina en presencia de álcalis, tales como el hidróxido de sodio. La glicerina se libera y se forman sales alcalinas de los ácidos grasos lo que dificulta aún más su depuración.

2.4 Tratamientos para degradar grasas

Según Torres 2013, en la actualidad se sabe que existen tratamientos físicos que se refieren principalmente a la separación de las grasas en cantidades apreciables lo que remonta a una trampa de grasa la cual es un receptáculo ubicado entre las líneas de desagüe que permite la separación y recolección de grasas del agua utilizada; así mismo esta trampa reduce el flujo del agua procedente de los desagües, donde las grasas y el agua tienen tiempo para enfriarse, y por lo que las grasas se coagulan y flotan en la superficie mientras que otros sólidos más pesados se depositan en el fondo de la trampa de tal forma que el resto del agua pasa libremente.

Una vez que se obtiene la separación de grasas, el siguiente paso recomendable, es darle tratamiento, que la mayoría de las veces es un tratamiento químico; sin embargo, debe tenerse en consideración que al agregar

el reactivo químico, éste puede generar subproductos que resultan ser más complejos para su degradación y que, son poco amigables con el medio ambiente por la cantidad de lodos que se generan.

Entre los tratamientos químicos tenemos: coagulación- floculación, que consiste en la desestabilización de coloides mediante la adición de un aglutinante como sulfato de aluminio, aluminio disociado en agua produciendo complejos de aluminio cargados positivamente los cuales son usados para neutralizar las partículas de grasas cargadas negativamente, formando flóculos de mayor tamaño que pueden ser separados por flotación o sedimentación. Otros compuestos que son utilizados para romper las emulsiones de grasas son el cloruro férrico, sulfato ferroso, aluminato de sodio y caliza (Araujo *et al.*, citado por Torres, 2013).

En el artículo “Structural comparison of fucosylated and nonfucosylated Fc fragments of human immunoglobulin G1”, Matsumiya *et al.*, citado por Torres (2013), se explica que otro tratamiento empleado es la flotación, esta técnica se usa en la separación de fluidos inmiscibles o sólidos en fluidos y es de creciente interés en el campo del tratamiento de aguas residuales, se distinguen flotación por aire disperso y por aire disuelto. Una de las alternativas ampliamente usadas es la flotación por aire disuelto (DAF), este proceso es mejor que las

trampas convencionales para eliminar materias separables de los influentes grasos procedentes de los procesos industriales alimenticios.

2.5 Biodegradación: Bacterias una alternativa sustentable

Es de notarse que la adición de más reactivos químicos al agua resulta ser poco amigables con el medio ambiente; ya que, no promueven la sustentabilidad. Los tratamientos químicos como bien se ha mencionado generan gran cantidad de lodos residuales que contienen grasas, los cuales posteriormente hay que confinarlos hasta su disposición final.

Una vez efectuada la separación de grasas, se propone su disposición o degradación la cual puede realizarse a través del uso de microorganismos, como las bacterias, utilizando su actividad metabólica siendo este procedimiento un método más económico y amigable con el medio ambiente (Disponible en <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>).

El término biodegradable se refiere al proceso mediante el cual algunos compuestos químicos pueden ser utilizadas como sustrato por los microorganismos, ya que son útiles para producir energía y crear compuestos vitales para éstos como proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos que

les permitirán sobrevivir y reproducirse en sus ambientes específicos (Torres, 2013).

Este término biodegradación también se utiliza a menudo en relación con la ecología, la gestión de residuos, la biomedicina y el medio ambiente y, ahora comúnmente asociados con los productos respetuosos del medio ambiente que son capaces de descomponerse nuevamente dentro de los elementos naturales.

De igual manera, Torres, (2013); señala que la biodegradación ocurre siempre y cuando el material orgánico se pueda degradar aeróbicamente con la presencia de oxígeno o anaeróbicamente, en ausencia de oxígeno. La materia biodegradable como la vegetal, animal y otras sustancias procedentes de organismos vivos o materiales sintéticos que son similares a la materia orgánica vegetal y animal es bioasimilada por microorganismos gracias a su capacidad metabólica para degradar, transformar o acumular una gran variedad de compuestos, incluidos los hidrocarburos, bifenilospoliclorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, radionucleidos y metales entre otros.

Los avances metodológicos importantes en la biodegradación microbiana han permitido detallar análisis, de alto rendimiento, al conocer los organismos necesarios para aportar vías claves de biodegradación, de manera que varias enzimas y microorganismos están siendo aprovechados para llevar a cabo estos

procesos y entre estos microorganismos se encuentran a las bacterias (Loperana *et al.*, citado por Torres, 2013).

Las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros (μm), por lo general entre $0,5 \mu\text{m}$ y $5 \mu\text{m}$ de longitud, y diversas formas incluyendo filamentos, esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios) y hélices (espirilos). Las bacterias son células procariotas, por lo que a diferencia de las células eucariotas (de animales, plantas, hongos, etc.), no tienen el núcleo definido ni presentan, en general, orgánulos membranosos internos.

Generalmente las bacterias poseen una pared celular y ésta se compone de peptidoglicano. Muchas bacterias disponen de flagelos o de otros sistemas de desplazamiento y son móviles. Del estudio de las bacterias se encarga la bacteriología, una rama de la microbiología. La presencia frecuente de pared de peptidoglicano junto con su composición en lípidos de membrana son la principal diferencia que presentan frente a las arqueas, el otro importante grupo de microorganismos procariotas (Disponible en <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>).

Las bacterias son los organismos más abundantes del planeta. Son ubicuas, se encuentran en todos los hábitats terrestres y acuáticos; crecen hasta en los más

extremos como en los manantiales de aguas calientes y ácidas, en desechos radioactivos, en las profundidades tanto del mar como de la corteza terrestre. Algunas bacterias pueden incluso sobrevivir en las condiciones extremas del espacio exterior. Se estima que se pueden encontrar en torno a 40 millones de células bacterianas en un gramo de suelo y un millón de células bacterianas en un mililitro de agua dulce. En total, se calcula que hay aproximadamente 5×10^{30} bacterias en el mundo (Disponible en <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>).

Las bacterias son imprescindibles para el reciclaje de los nutrientes, pues muchos pasos importantes de los ciclos biogeoquímicos dependen de éstas. Como ejemplo cabe citar la fijación del nitrógeno atmosférico. Sin embargo, solamente la mitad de los filos conocidos de bacterias tienen especies que se pueden cultivar en el laboratorio, por lo que una gran parte (se supone que cerca del 90 %) de las especies de bacterias existentes todavía no ha sido descrita.

En la página <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>, se explica que la industria, las bacterias son importantes en procesos tales como el tratamiento de aguas residuales, en la producción de mantequilla, de queso, de vinagre, de yogur, etc., y en la fabricación de medicamentos y de otros productos químicos.

Aunque el término bacteria incluía tradicionalmente a todos los procariotas, actualmente la taxonomía y la nomenclatura científica los divide en dos grupos.

Estos dominios evolutivos se denominan Bacteria y Archaea (arqueas). La división se justifica en las grandes diferencias que presentan ambos grupos a nivel bioquímico y genético (Disponible en <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>).

Las bacterias presentan una amplia variedad de tamaños y formas. La mayoría presentan un tamaño diez veces menor que el de las células eucariotas, es decir, entre 0,5 μm y 5 μm . Sin embargo, algunas especies como *Thiomargarita namibiensis* y *Epulopiscium fishelsoni* llegan a alcanzar los 0,5 mm, lo cual las hace visibles al ojo desnudo. En el otro extremo se encuentran bacterias más pequeñas conocidas, entre las que cabe destacar las pertenecientes al género *Mycoplasma*, las cuales llegan a medir solo 0,3 μm , es decir, tan pequeñas como los virus más grandes.

De acuerdo a lo expuesto en la página <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>). La forma de las bacterias es muy variada y a menudo, una misma especie adopta distintos tipos morfológicos, lo que se conoce como pleomorfismo. De todas formas, podemos distinguir tres tipos fundamentales de bacterias:

- Coco (del griego *kókkos*, grano): de forma esférica.
 - *Diplococo*: cocos en grupos de dos.
 - *Tetracoco*: cocos en grupos de cuatro.
 - *Streptococo*: cocos en cadenas.

- *Estafilococo*: cocos en agrupaciones irregulares o en racimo.
- Bacilo (del latín *baculus*, varilla): en forma de bastoncillo.
- Formas helicoidales:
 - *Vibrio*: ligeramente curvados y en forma de coma, judía o cacahuete.
 - *Espirilo*: en forma helicoidal rígida o en forma de tirabuzón.
 - *Espiroqueta*: en forma de tirabuzón (helicoidal flexible)

2.6 Actividad metabólica de las bacterias

Las bacterias son los organismos más pequeños que tienen la maquinaria requerida para el crecimiento y la replicación. Están compuestas, como las células eucariotas por proteínas, polisacáridos, lípidos, ácidos nucleicos, entre otros. Estas macro-moléculas pueden formar parte de estructuras celulares más complejas, como la pared celular y la membrana plasmática (Varela, Grotiuz, 2002).

El crecimiento bacteriano se define como el aumento ordenado de todos los constituyentes químicos de la célula. Es un proceso complejo que supone la replicación de todas las estructuras y componentes celulares a partir de nutrimentos exógenos. El conocimiento de la fisiología y del metabolismo bacteriano tiene algunas aplicaciones prácticas. En principio permite conocer el

modo de vida y el hábitat de diferentes especies bacterianas. El ser humano actuando como huésped, ofrece una variedad de nichos ecológicos que se diferencian entre sí por aspectos físicos y químicos (temperatura, concentración de oxígeno, pH, presión osmótica, etc.), en los cuales pueden crecer y multiplicarse distintas especies bacterianas según sus requerimientos nutrimentales, ambientales y atmosféricos.

Además, este crecimiento, permite formular medios de cultivo para el aislamiento e identificación de los patógenos participantes. Desde un enfoque terapéutico, nos permite conocer y entender el modo de acción de algunos antibióticos que bloquean una vía metabólica o la síntesis de alguna macromolécula esencial para la bacteria (Varela, Grotiuz, 2002).

El término metabolismo se refiere al conjunto de reacciones químicas que se producen en la célula y tiene tres funciones específicas. La primera es obtener energía química del entorno y almacenarla, para luego usarla en diferentes funciones celulares. La segunda es convertir los nutrimentos exógenos en unidades precursoras de los componentes macromoleculares de la célula bacteriana. Y la tercer función es formar y degradar moléculas necesarias para cumplir funciones celulares específicas, por ejemplo: movilidad y captación de nutrimentos.

El metabolismo se produce por secuencias de reacciones catalizadas enzimáticamente y se divide en anabolismo y catabolismo. El proceso por el cual la célula bacteriana sintetiza sus propios componentes se conoce como anabolismo y resulta en la producción de nuevo material celular; también se denomina biosíntesis. La biosíntesis es un proceso que requiere energía, por lo tanto las bacterias deben ser capaces de obtenerla de su entorno para crecer y, eventualmente, multiplicarse.

El conjunto de reacciones degradativas de los nutrientes para obtener energía o para convertirlos en unidades precursoras de la biosíntesis, se conoce como catabolismo. Así, hemos visto dos tipos de transformaciones químicas que ocurren simultáneamente en la bacteria, por lo tanto el metabolismo es el resultado colectivo de ambas reacciones (Varela, Grotiuz, 2002).

2.6.1 Metabolismo productor de energía

El mismo autor, señala que en los seres vivos, la utilización de la energía potencial contenida en los nutrientes se produce por reacciones de oxidación-reducción. Químicamente la oxidación está definida por la pérdida de electrones y, la reducción por la ganancia de los mismos. En bioquímica, estas reacciones frecuentemente incluyen también la transferencia de átomos enteros de hidrógeno, por lo tanto se conocen con el nombre de reacciones de deshidrogenación. En las reacciones de este tipo hay sustancias que ceden electrones (dadoras) y otras que los aceptan (aceptoras).

En las bacterias de interés médico los sistemas de oxidación reducción transforman la energía química de los nutrimentos en una forma biológicamente útil; dichos procesos incluyen la fermentación y la respiración. En la primera, tanto la molécula dadora como la aceptora de electrones, son compuestos orgánicos. En cambio, en la respiración hay un aceptor final exógeno, que cuando es el oxígeno se denomina respiración aerobia y cuando es un compuesto inorgánico, respiración anaerobia (Varela, Grotiuz 2002).

2.7 Eficiencia de las bacterias para degradar grasas

Las bacterias son una alternativa eficiente, ambientalmente y económicamente sustentables para degradar las grasas presentes en aguas residuales debido a su morfología y capacidad para asimilar contaminantes de largas cadenas de ácidos grasos y convertirlos en materia orgánica; por lo que es factible inocularlas en las trampas de grasa tanto de plantas tratadoras de aguas residuales como en las trampas de grasas de los restaurantes por mencionar algún ejemplo (Torres 2013).

Existen diversas investigaciones que han demostrado que las bacterias pueden aplicarse en la degradación de grasas, Debrah *et al*, citada por Torres, (2013), quienes diseñaron un sistema de tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de grasa, para ello prepararon un inóculo a partir de 15 cultivos bacterianos, obtenidos de muestras de agua residual de grasa de las trampas de

algunos restaurantes en *Nagasaki*, *Fukuoka* y *Kyushu* en Japón, posteriormente fueron aislados los microorganismos.

Las bacterias presentaron una buena capacidad para degradar grasas, en un intervalo de pH de 4.5 a 9.5, a una temperatura óptima de 20°C-25°C, correspondientes a los aislamientos individuales donde reportan un porcentaje de degradación del 73 por ciento, y un 60 por ciento a 30°C; no obstante, a una temperatura de 42° Celsius y debajo de 15° Celsius los porcentajes disminuyeron (35 y 45 por ciento, respectivamente) (Torres, 2013).

Una las ventajas de los aislamientos fue que no había especies patógenas. Los microorganismos del inóculo fueron capaces de degradar ocho diferentes grasas vegetales y de origen animal, de esta forma concluyen que el inóculo es potencialmente útil para los efluentes de los restaurantes.

Loperana y colaboradores, citados por Torres (2013), evaluaron la capacidad de un inóculo comercial aerobio, para degradar grasa presente en aguas residuales provenientes de productos lácteos, esta capacidad fue evaluada en un biorreactor batch, *un biorreactor es el centro de todo proceso biotecnológico, “batch” es un modo de operación del mismo que consiste en que las células se cultivan en un recipiente con una concentración inicial, sin que esta sea alterada por nutrimentos adicionales o el lavado, por lo que el volumen permanece*

constante y sólo las condiciones ambientales del medio (pH, temperatura, velocidad de agitación, etc.) son controladas por el operador. El proceso finaliza cuando todo el sustrato es consumido por la biomasa. Esta forma de cultivo es simple y se utiliza extensamente tanto en el laboratorio como a escala industrial (Disponible en <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/1608/Capitulo2.pdf>).

Los microorganismos fueron caracterizados de acuerdo a su morfología en colonias y genómica, la evaluación de la eficiencia del efluente fue realizada mediante la comparación con un inóculo inmerso en lodos activados provenientes de plantas de tratamiento específicamente de la trampa de grasas de un efluente industrial de productos lácteos. Los autores realizaron la comparación del inóculo comercial el cual fue un cultivo mixto de microorganismos para degradar grasas de origen animal y vegetal.

Los experimentos en batch se realizaron inoculando un litro del efluente contaminado e incubado a 30° Celsius por 12 horas, mientras que para el biorreactor en continuo el inóculo fue desarrollado en dos partes, la primera se hicieron cinco cultivos adicionando seis gramos de inóculo comercial en dos litros de agua contaminada con cloruro de amonio (NH_4Cl) y fosfato ácido de potasio (K_2HPO_4) fueron incubados a 30° Celsius por 12 horas, a pH entre 6 – 7 y oxígeno disuelto de 6 mg/L. Finalmente, los resultados mostraron que los microorganismos inoculados no persisten en sistemas abiertos y la adición

periódica de microorganismos sería necesaria para poder lograr un tratamiento de alto rendimiento.

Loperana y colaboradores (2009), reportan un aislamiento de microorganismos para posteriormente seleccionar los más eficientes para el tratamiento de aguas residuales provenientes de la industria láctea principalmente de la elaboración de productos como leche, dulce de leche, yogurt y queso. La metodología que siguieron consistió en aislar los microorganismos contenidos en lodos residuales provenientes de la misma industria láctea; trabajaron sobre tres sistemas (anaerobia L0, facultativos L1, y aerobio 2) de tal manera que se tomó una muestra de 50 ml de agua residual láctea posteriormente se vertió en un matraz erlenmeyer con 150 mL de triptona caldo de soya a 30° Celsius y con una agitación de 120 revoluciones por minuto (rpm) durante 48 horas.

Los microorganismos provenientes de los lodos se aislaron e identificaron a nivel de género con base en las características morfológicas y pruebas bioquímicas de acuerdo con el Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática, posteriormente estos cultivos fueron comparados con un inóculo comercial para monitorear su eficiencia de degradación. Finalmente, en los resultados reportan mayor eficiencia para el inóculo comercial (63porciento) que para las cepas seleccionadas (rango 26-57porciento), y las especies identificadas fueron *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*.

Torres 2013 citando a Lan y colaboradores, quienes llevaron a cabo un estudio con la finalidad de remover las altas concentraciones de grasas presentes en aguas residuales provenientes de la fabricación de algún producto que involucre el uso de aceites; así como las originadas por restaurantes, argumentando que la eliminación de estas aguas residuales en el medio ambiente causa serios problemas debido a su alto contenido de aceite, la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y el color.

Se tiene como antecedente que la bacteria *Yarrowialipolytica* W29 resulta eficiente para degradar las G y A de aguas residuales de tipo alimenticio, ya que a concentraciones de aceite menores de 2000 mg/L, los microorganismos alcanzaron una eficiencia del 93.30 por ciento y 85.08 por ciento en las condiciones óptimas en un lapso de cinco horas, respectivamente (Torres, 2013).

La metodología que siguieron los autores fue la: *Yarrowialipolytica*W29, la cual fue aislada y posteriormente se preparó un inóculo en agar nutritivo por 18 horas a 30° Celsius. Los resultados reportan que la degradación del aceite y la DQO por microorganismos inmovilizados, y una densidad de las células de $6,65 \times 10^6$ UFC/mL fueron degradados a partir de una concentración inicial de 2000 mg/L de aceite y 200 mg/L de DQO en menos de 50 horas a 30° Celsius (pH 7.0, 150 rpm /min), con una eficiencia del 80 por ciento. Estos resultados sugieren que Y.

lipolytica puede ser aplicable a un sistema de tratamiento de aguas residuales de origen alimenticio (altos contenidos de G y A) y la DQO (Lan y colaboradores; citado por Torres, 2013).

Li y colaboradores, citado por Torres 2013, realizaron un trabajo experimental en el cual el objetivo fue el estudio de una bacteria capaz de degradar altas cantidades de petróleo, utilizando la bacteria llamada *Bacillus sp.* (M-12) la cual fue capaz de disminuir la DQO, con valores de 2600 a 240 mg/L.

En las muestras fueron identificadas cuatro cepas marcadas como M-1, M-5, M-7 y M-12 las cuales crecieron a altas concentraciones de sal (NaCl 6%) y fueron identificados como *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhodococcus globerulus*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* De manera general los autores concluyeron que las células inmovilizadas de la cepa M-12 redujeron la DQO de las aguas residuales de manera significativa, por lo que este sistema posee un gran potencial en el tratamiento de aguas residuales aceitosas.

2.8 Microorganismos eficientes (E.M.)

2.8.1 Generalidades de los microorganismos eficientes

Los microorganismos eficientes fueron desarrollados en forma de un cultivo líquido a lo largo de muchos años por el profesor Dr. Teruo Higa, de la

Universidad de Ryukyus, Okinawa, y el estudio se completó en 1982. En un principio el EM era considerado como una alternativa a los químicos de uso agrícola, pero ahora su uso se ha extendido a los campos ambiental, industrial y de la salud (Rivas, 2009).

Según Higa 2002, mucho antes de que los humanos tuvieran presencia en el planeta, el suelo tenía la solidez y capacidad necesaria para levantar enormes bosques por toda la esfera del globo terrestre. La fuente de este poder estaba en los microorganismos que habitan el suelo, y si nosotros pudiésemos de nuevo permitir a estos microorganismos desarrollarse de una manera natural, hoy en día igual que lo hicieron, podríamos abolir la utilización de fármacos agrícolas y fertilizantes artificiales en el cultivo de la tierra.

La tecnología EM está caracterizada por el hecho que supera en mucho las cualidades de los métodos agrícolas modernos. Esta no utiliza para nada ningún fármaco agrícola, pesticida o fertilizante, y si se optimiza el funcionamiento de los microorganismos eficientes, muestra un potencial en términos de calidad (enormemente mejorada) y cantidad muy lejos de otros métodos y sistemas agrícolas modernos. En este sentido, la agricultura basada en EM puede ser descrita como el estilo natural de cultivar en el futuro (Higa 2002).

Según Rivas (2009), los microorganismos eficientes o EM (siglas en inglés de Effective Microorganisms) son una combinación de microorganismos beneficiosos de origen natural, que se han utilizado tradicionalmente en la alimentación, o que se encuentran en los mismos. Contiene principalmente organismos beneficiosos de cuatro géneros principales: Bacterias fototróficas, levaduras, bacterias productoras de ácido láctico y hongos de fermentación.

Estos microorganismos efectivos cuando entran en contacto con materia orgánica secretan sustancias beneficiosas como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales quelatados y fundamentalmente sustancias antioxidantes.

Además mediante su acción cambian la micro y macroflora de los suelos y mejoran el equilibrio natural, de manera que los suelos causantes de enfermedades se conviertan en suelos supresores de enfermedades, y ésta se transforme a su vez en suelo azimogénico. A través de los efectos antioxidantes promueven la descomposición de la materia orgánica y aumentan el contenido de humus.

EM es un concentrado líquido. Se produce en tinas de cultivo de unas 80 variedades de microorganismos. Los microorganismos pertenecen a 10 géneros de cinco (5) familias distintas e incluye especie aeróbicas y anaeróbicas.

Eso significa en efecto, que EM es el producto de la coexistencia entre dos grupos de microorganismo con diferentes condiciones de vida (Higa 2002).

2.8.2 Beneficios de los microorganismos eficientes (EM)

Es un cultivo microbiano mixto de especies seleccionadas de microorganismos benéficos, que inoculado al suelo sirve como: corrector de salinidad, al tener funciones de intercambio de iones en el suelo y aguas duras, facilita el drenaje y lavado de sales tóxicas para los cultivos (Sodio y Cloro). Desbloqueador de suelos, pues permite solubilizar ciertos minerales tales como la cal y los fosfatos. Acelerador de la descomposición de los desechos orgánicos (compost, bokashi, vermicompost) por medio de un proceso de fermentación (Rivas, 2009).

2.8.3 Los Microorganismos del EM

Bacterias ácido lácticas

Producen ácido láctico a partir de azúcares que son sintetizados por las bacterias fotosintéticas y levaduras. El ácido láctico puede suprimir microorganismos nocivos como el *Fusarium* sp. Ayuda a solubilizar la cal y fosfato de roca. (Rivas 2009).

Levaduras

Degradan proteínas complejas y carbohidratos. Producen sustancias bioactivas (vitaminas, hormonas, enzimas) que pueden estimular el crecimiento y actividad de otras especies de EM, así como de plantas superiores (Rivas, 2009).

Bacterias fotosintéticas

Pueden fijar el nitrógeno atmosférico y el bióxido de carbono en moléculas orgánicas tales como aminoácidos y carbohidratos, también sintetizan sustancias bioactivas. Llevan a cabo una fotosíntesis incompleta, la cual hace que la planta genera nutrientes, carbohidratos, aminoácidos, sin necesidad de la luz solar, eso permite que la planta potencialice sus procesos completos las 24 horas del día.

Actinomicetos

Funcionan como antagonistas de muchas bacterias y hongos patógenos de las plantas debido a que producen antibióticos (efectos biostáticos y biocidas). Benefician el crecimiento y actividad del azotobacter y de las micorrizas (Rivas 2009).

2.8.4 Interacción de los microorganismos con los nutrimentos

Alexander (1980), señala que la composición de los microorganismos es muy similar, las bacterias, hongos actinomicetos, algas y protozoarios generalmente contienen los mismos elementos. El nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, azufre, hierro y probablemente calcio, manganeso, zinc, cobre, cobalto y molibdeno son parte integral de la estructura protoplásmica. La célula microbiana está constituida de estos nutrimentos esenciales, además del carbono, hidrógeno y oxígeno.

Un número considerable de hongos, entre ellos muchas levaduras, realizan procesos de fermentación utilizando el material celular disponible. No proliferan si no disponen de algún oxígeno libre (Rivas 2009).

La inmovilización es el resultado de la asimilación microbiana de nutrientes inorgánicos. Al tiempo que se forman nuevas células o hifas, no sólo deben integrarse el carbono, hidrógeno y oxígeno a los compuestos protoplásmicos, sino también el nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, magnesio y hierro. De este modo, cada uno de estos elementos es inmovilizado. El consumo microbiológico de iones aprovechables tiene importancia agronómica sólo para los macronutrientes de la planta, de los cuales el nitrógeno es el más importante (Alexander, 1980).

En el caso del nitrógeno, la inmovilización es una consecuencia de la incorporación de amonio y nitrato a proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos orgánicos contenidos dentro de las células microbianas.

Según Alexander (1980), los microorganismos no se pueden multiplicar ni la materia orgánica puede ser descompuesta a menos que el nitrógeno sea asimilado dentro del protoplasma microbiano y la asimilación tendrá lugar mientras exista actividad microbiana.

Kass (1998) indica que, los fosfatos de inositol que están en el suelo o materia orgánica pueden formar complejos con proteínas y estas son consumidas por los propios microorganismos.

El crecimiento microbiano requiere la presencia de formas de fósforo aprovechables. Debido a que el elemento es esencial para la síntesis celular, el desarrollo de la microflora está regido por la cantidad de compuestos de fósforo utilizables en el hábitat; conforme la materia orgánica pobre en fósforo se descompone el contenido de fósforo de los residuos se incrementa. Ya que hay una degradación y síntesis celular microbiana, se llevan a cabo tanto la inmovilización como la mineralización. El contenido de fósforo no determina la ausencia de una transformación u otra, sino la tasa más grande de asimilación o liberación de nutrimentos (Alexander, 1980).

El mismo autor ha postulado una hipótesis en la que señala que parte de la fracción no intercambiable de potasio es de origen microbiano, es decir, que el potasio es inmovilizado en los constituyentes protoplásmico; por lo tanto, podría parecer que la microflora participa en la reducción de la concentración de potasio aprovechable. El potasio es esencial para el crecimiento de todos los microorganismos.

Las pérdidas del calcio en el suelo son menores que las del potasio, entre sus causas está la lixiviación por agua de percolación y la absorción por organismos del suelo. Cuando ocurre lixiviación de suelos el ión sodio se pierde más fácilmente que el ión calcio. Sin embargo, como los contenidos de calcio son mayores que los contenidos de sodio, las pérdidas de calcio son relativamente mayores (Kass, 1998).

A pesar de ser solo un nutrimento secundario para el crecimiento de gran parte de la vida microscópica del suelo, el hierro es un elemento que se transforma fácilmente mediante la actividad de la microflora. La precipitación del hierro que se encuentra en ciertos compuestos orgánicos solubles en agua es el principal factor que altera la disponibilidad del elemento (Alexander, 1980).

La porción orgánica de la molécula provee energía para la proliferación microbiana y mientras la mitad carbonada es descompuesta, el hierro es liberado y se precipita en forma de sales férricas insolubles. Más aún, la disminución de oxígeno como consecuencia del metabolismo microbiano tenderá a bajar el E_h (potencial de oxidación) y provocar la reducción férrica. El oxígeno es un requerimiento obligatorio para todas las especies relacionadas, siendo esencial una aireación adecuada.

Donde el suministro de oxígeno es inadecuado para los microorganismos habrá poca oxidación de amonio, cesando la reacción en ausencia total de oxígeno (Alexander 1980).

El nivel de cobre también puede ser afectado por el metabolismo de la microflora; por ejemplo, la concentración de algunos residuos vegetales. El efecto sobre cobre es indirecto y probablemente sea una consecuencia de una reacción que involucra productos liberados durante la degradación (Alexander, 1980).

En la secuencia cíclica de las interconversiones del manganeso, el ión divalente puede ser restituido mediante la producción de ácido o por la reducción bacteriana. Por lo tanto, una disminución del pH del potencial óxido-reducción, o la eliminación de oxígeno como resultado del metabolismo microbiano, aumentará el nivel de manganeso intercambiable.

El zinc se requiere o es estimulante para el crecimiento de varios hongos, levaduras y bacterias; el análisis de sus células también muestra su presencia. Sin embargo, debido a que se requiere poco zinc en medios líquidos (menos de 1.0 ppm) y las células contienen cantidades mínimas (generalmente 100 a 400 ppm), la asimilación microbiana probablemente es intrascendente para el crecimiento vegetal (Alexander, 1980).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del estudio

La investigación se realizó en la trampa de grasas del IDAAN, Villa Mercedes, David, Chiriquí que se encuentra geográficamente ubicada entre los 8°25'2" de Latitud Norte y los 82°27'14" de Longitud Oeste, a una elevación de 27 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media es de 27.1 grados Celsius.

3.2 Metodología

Se tomó una muestra inicial representativa, de los carros recolectores de grasa de restaurantes, al momento de verter el desecho en las mencionadas trampas. Esta muestra, fue identificada como "Muestra A". La misma se dividió en seis sub-muestras, cada una con un volumen de 575.3 mililitros, las cuales fueron inoculadas con bacterias lipolíticas "Bionet Super" (presentación en polvo), agregando las mismas sobre la superficie del efluente graso y agitándolas con un policial, tres de ellas para tratamientos en presencia de luz, y tres en las que se suprimió la presencia de luz, tal como se muestra en la figura 1.

La concentración de bacterias, se aplicó de acuerdo a la sugerencia del distribuidor del producto, la cual es 500 gramos por metro cúbico.

Para inocular la cantidad equivalente al peso de la muestra experimental, se determinó la densidad del efluente graso, utilizando la fórmula que se describe a continuación:

$$D = \frac{P}{V} = \frac{582.52 \text{ g}}{573.3 \text{ ml}} = 1.01 \text{ g/ml}$$

Donde:

D= densidad del efluente

P= peso de la muestra de efluente graso

V= volumen de la muestra de efluente graso

Dosis recomendada: 500 g / m³

500 g → 1000 L (1m³ = 1000 L)

X → 0.5753 L (volumen de efluente graso)

X = 0.287 g ≈ 0.3 g



FIGURA 1. INOCULACIÓN DE BACTERIAS “BIONET SUPER” EN MUESTRA N°1 DE EFLUENTE GRASO, CHIRIQUÍ, 2015

La figura 2 muestra la distribución de los tratamientos a partir de la muestra inicial "A" del efluente graso y del inoculante (bacterias lipolíticas "Bionet Super". La investigación constó de tres tratamientos y dos variables, una bajo la presencia de 12 horas luz (12hl) y la segunda, cero horas luz (0hl). Para cada variable se aplicaron los mismos tratamientos.

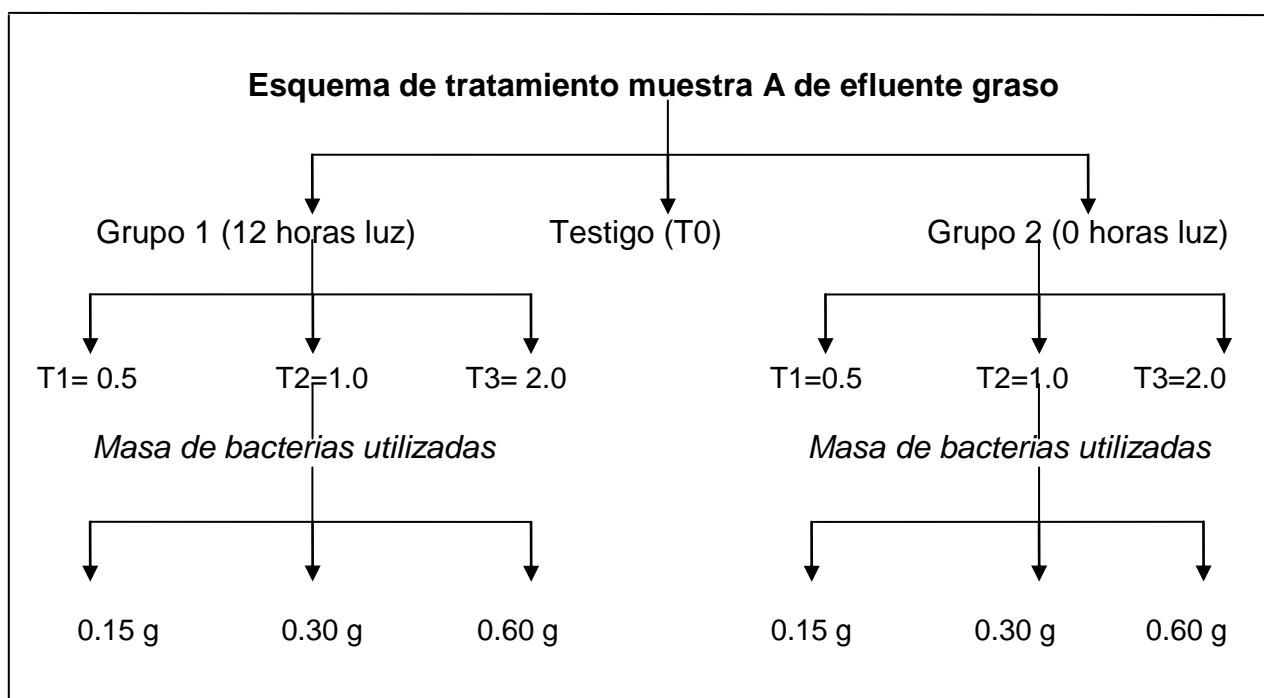


FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS Y BACTERIAS "BIONET SUPER" A PARTIR DE LA MUESTRA "A" DEL EFLUENTE GRASO, CHIRIQUÍ, 2015

La cantidad de producto aplicado a cada tratamiento, se calculó a partir de la densidad del efluente, que fue de 1.01 gramos por mililitro, a partir de este valor, se tomó para el tratamiento uno la mitad, correspondiendo a 0.5 gramos por mililitro; para el tratamiento dos correspondió a 1.0 gramos por mililitro y el tratamiento tres con un valor de 2.0 gramos por mililitro. La dosis aplicada del

inoculante "Bionet Super" se determinó a partir de la recomendación del distribuidor, por medio de una regla de tres simple se hizo la relación para la cantidad de efluente graso a utilizar en esta investigación, dando como resultado un valor de 0.30 gramos. Teniendo como base este valor, se distribuyó los valores para cada tratamiento, correspondiendo para el tratamiento uno = 0.15 gramos de inoculante; para el tratamiento dos = 0.30 gramos de inoculante y el tratamiento tres = 0.60 gramos de inoculante.

Luego de agregar las diferentes concentraciones a cada una de las sub-muestras, se dejaron incubando por un periodo de ocho días, cada dos días, se oxigenaban las bacterias utilizando un policial.

En la figura 4 se muestra como al octavo día (terminado el periodo de incubación), en cada sub-muestra se midió el espesor de cada fase resultante. Producto del proceso de incubación se distinguen tres fases (grasa residual, líquido sobrenadante y sedimento). En el anexo II, se encuentra cada fase con su resultado.

Debido a que la cantidad del efluente graso tratado resultante es relevante, se procedió a aplicar un nuevo tratamiento al 50 por ciento del residuo, identificada como "Muestra B". El tratamiento consistió en la inoculación por segunda vez de la grasa procedente del primer tratamiento, en cantidades equivalentes al peso

de la misma. El 50 por ciento restante, se utilizó para analizar el porcentaje de grasa presente.

La fase de líquido sobrenadante se analizó para determinar su potencialidad para ser utilizado como bioabono (Figura 3).

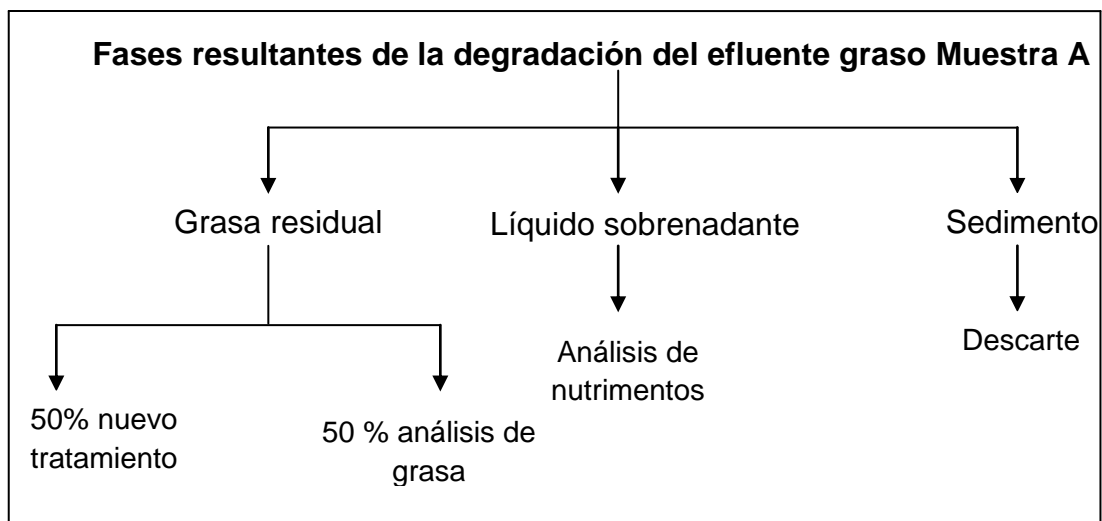


FIGURA 3. PROCESO DE MUESTRA B, CHIRIQUÍ, 2015

Para el nuevo tratamiento, se obtuvo seis nuevas sub-muestras que se incubaron por un período de seis días. Posterior a esto, se procedió a analizar el porcentaje de grasa de la fase "grasa residual" y de la fase "líquido sobrenadante" se determinó la presencia de nutrimentos



FIGURA 4. MEDICIÓN DE FASES RESULTANTES DEL PRIMER TRATAMIENTO DE BACTERIAS A LA MUESTRA A, CHIRIQUÍ 2015

Para validar los datos obtenidos en el primer muestreo, se procedió a realizar un segundo muestreo de efluente graso 15 días después del primero, siguiendo el mismo procedimiento utilizado en la "muestra A" (Figura 5).



FIGURA 5. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRA "B" EN T1, T2, T3, CHIRIQUI, 2015

3.3 Parámetros evaluados

Los parámetros que se evaluaron en las muestras A y B y la técnica utilizada para analizar cada uno de ellos, se describen a continuación, y se encuentran en el Anexo IX;

- Espesor de las fases post-tratamiento: Estimación en centímetros, Instrumento Caliper.
- Fósforo (P): Espectrofotometría Ultravioleta Visible, Extracción con solución Mehlich I.
- Macronutrientes Ca, Mg, K y Na; Micronutrientes Cu, Zn, Mn, Fe: Espectrofotometría de absorción atómica, Solución extractora Mehlich I.
- Nitrógeno Total (N): Método Kjendhal, Sistema Kjeltec.
- Porcentaje de grasa: Método Soxhlet, Extracción de grasa con: recuperación de solvente.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Porcentaje de grasa

Los resultados del análisis de porcentaje de grasa para las muestras N°1 y N°2, se muestran en el Anexo I.

En la figura 6, podemos observar el porcentaje de grasa en la muestra A, marcando una tendencia de disminución del mismo en los tratamientos dos y tres, cuando se aplica luz, trabajando de forma más eficiente en relación a cuando se aplican “0 horas luz” para el T₁. A pesar de que se inoculó mayor cantidad de bacterias en el T₃, no se presenta una mayor disminución del porcentaje de grasa.

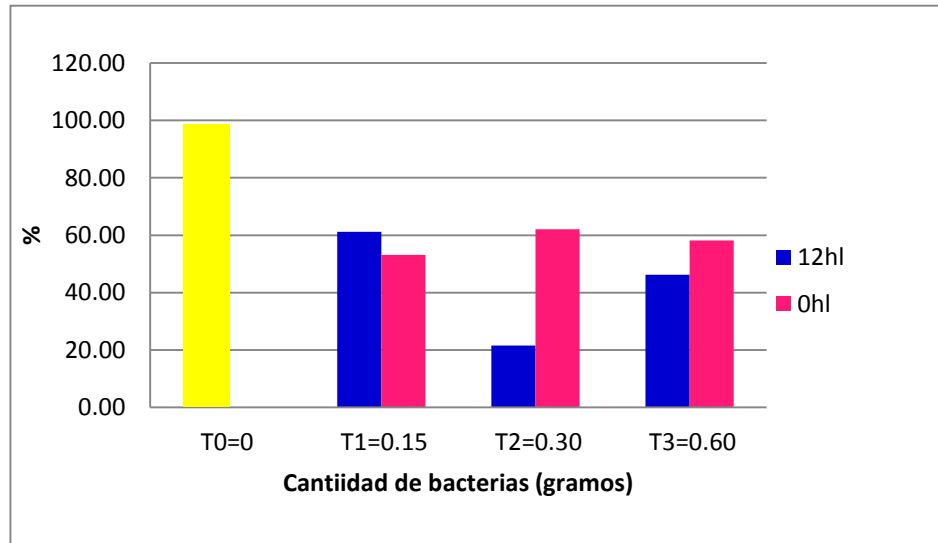


FIGURA 6. PORCENTAJE DE GRASA EN LA MUESTRA A CHIRIQUÍ, 2015

El hecho de que en “12 horas luz” hay mayor disminución del porcentaje de grasa, concuerda con la teoría de Meneses, 2006, que explica que un factor importante para las bacterias es la temperatura, ya que la actividad metabólica de los organismos se inicia cuando se supera un determinado umbral térmico, aumenta a medida que las temperaturas se elevan hasta un cierto valor máximo.

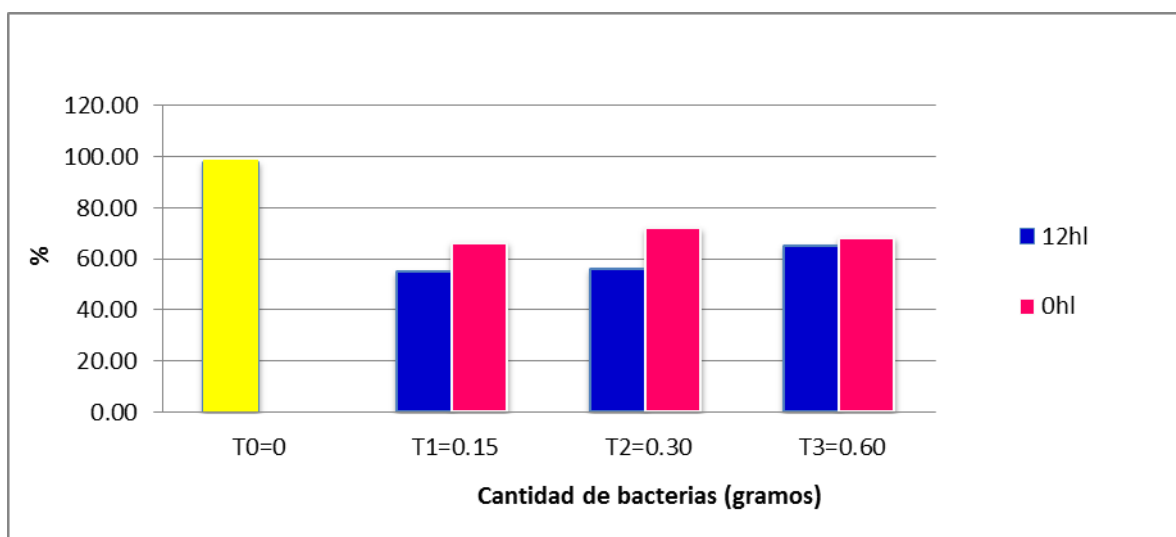


FIGURA 7. PORCENTAJE DE GRASA EN LA MUESTRA B, CHIRIQUÍ, 2015

En la figura 7 se observa nuevamente la tendencia a disminuir un mayor porcentaje de grasa, en presencia de luz con valores de 54.92 por ciento para el tratamiento uno y 65.25 por ciento para el tratamiento tres. Manteniéndose valores superiores al 65 por ciento para los tratamientos en ausencia de luz.

Las bacterias con actividad lipolítica excretan enzimas lipasas y son capaces de degradar grasas y aceites, a través de la hidrólisis del enlace éster, a raíz de la

formación de ácidos grasos (ácidos carboxílicos) y glicerol. Posteriormente, los ácidos grasos se degradan hasta convertirse en dióxido de carbono y energía por medio de reacciones de oxidación (Torres, 2013).

El componente principal de las grasas es el glicerol; según Pelczar, Reid, 2011, los microorganismos metabolizan este componente por las vías relacionadas con el metabolismo de carbohidratos, sin embargo, esto puede deberse a que son relativamente pocas las especies de bacterias capaces de atacar los lípidos, a bajas temperaturas, principalmente por la solubilidad limitada de los compuestos.

De acuerdo a lo expuesto por Torres (2013), en su tesis para identificar un consorcio bacterias aisladas de una trampa de grasa de una planta industrial de tratamiento de aguas residuales, a fin de elegir bacterias capaces de aceites y grasas degradantes, se señala que las bacterias utilizan los lípidos y grasas como nutrientes o como fuentes de carbono; lo cual concuerda con el comportamiento de las bacterias “Bionet Super”.

En la figura 8 se muestra que existe una tendencia a disminuir el porcentaje de grasa principalmente en el tratamiento uno, con respecto a la variable presencia de luz con 41.02 por ciento de disminución, y ausencia de luz con 48.23 por ciento.

A mayor concentración de EM hubo inhibición del efecto degradante sobre las grasas, lo cual sugiere que podría existir factores ambientales que determinan la presencia o ausencia de auto-inhibición, así, a temperaturas más bajas las

bacterias podrían no activar procesos de excreción o resistencia a sus propios productos debido a la carencia de catalizadores para enzimas específicas. (Avendaño, Lody, 2005).

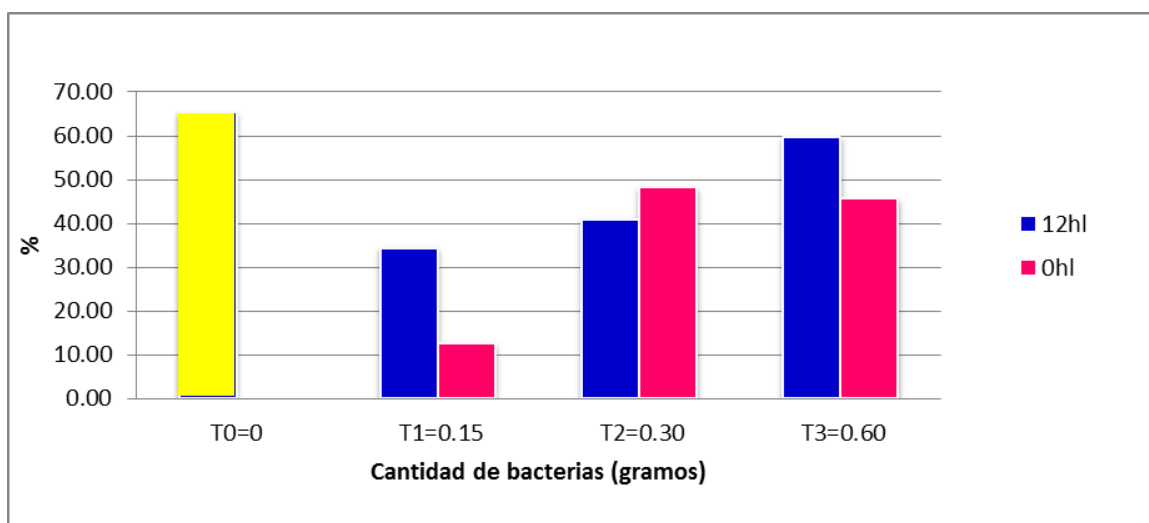


FIGURA 8. PORCENTAJE DE GRASA EN LA SEGUNDA MUESTRA CHIRIQUÍ, 2015

4.2 Liberación de Macronutrientos

4.2.1 Nitrógeno (N)

Los resultados arrojados en el análisis de Macronutrientos en la muestra N°1, se presentan en el Anexo III. En la figura 9 se observa una tendencia a liberar mayor cantidad de nitrógeno a medida que aumenta la concentración de las bacterias, en cuanto a la variable presencia de luz, sin embargo en ausencia de luz, presenta una tendencia inversa al incrementar las bacterias.

Para la segunda muestra se mantiene, de igual forma, una mayor liberación de este nutrimento en presencia de luz con valores máximos de 139.54 mg/L en el tratamiento uno y 138.17 mg/L en el tratamiento tres.

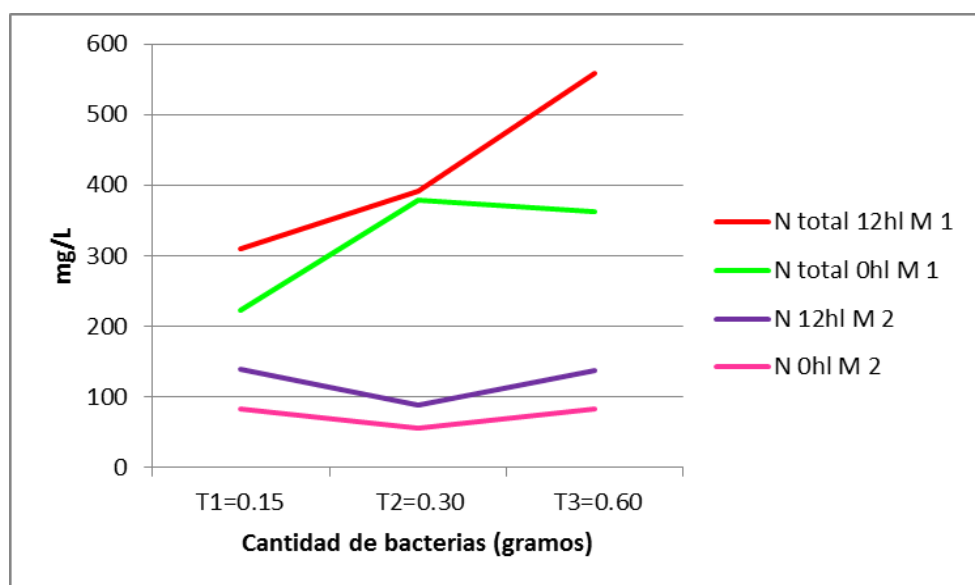


FIGURA 9. COMPORTAMIENTO DEL NITRÓGENO TOTAL LIBERADO PARA LA MUESTRA N°1 Y N°2 EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE LUZ

Esto concuerda con lo expuesto por Alexander 1980, donde señala que durante los primeros días de descomposición por parte de los microorganismos se produce una inmovilización del nitrógeno, puesto que el mismo es parte de la estructura protoplasmática de las células microbianas, debido a que algunas formas orgánicas del nitrógeno son proteínicas y con el conocimiento de que en los microorganismos eficientes (EM), existen bacterias y levaduras que degradan proteínas complejas, lo que significa que durante ese primer periodo algunos de los microorganismos demandaban mayor cantidad de proteínas para su reproducción, inmovilizando de esta manera al elemento.

El nitrógeno es un ingrediente esencial en la elaboración de abonos orgánicos, de acuerdo a lo que se describe en “elaboración y uso del bokashi” (disponible en <http://www.fao.org/3/a-at788s.pdf>). En la muestra uno existe una presencia elevada de este nutrimento, lo que significa que es útil para realización de bioabonos.

4.2.2 Calcio (Ca)

De acuerdo a la figura 10, el calcio total liberado en presencia y ausencia de luz en el proceso de descomposición, en el tratamiento dos, de la muestra uno es 922.74 y 900.51 mg/L, respectivamente, es decir, prácticamente la misma cantidad de nutrimento para ambas variables; a diferencia de los tratamientos uno y tres, donde no se presenta una tendencia.

Para la muestra dos, se observa una liberación de calcio similar en los tratamientos uno y dos, en el tratamiento tres existe una diferencia, presentando un valor máximo de 106.86 mg/L, en el tratamiento tres.

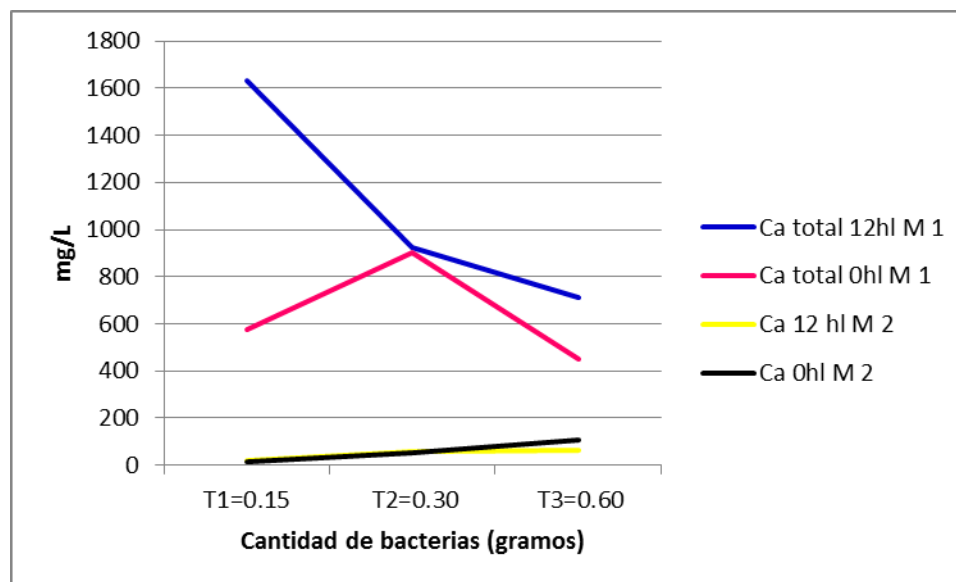


FIGURA 10. CALCIO (Ca) EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1 Y MUESTRA N°2

Lo sucedido en la muestra dos concuerda con lo expuesto por Alexander (1980) y Kass (1998) indicando que el calcio puede ser absorbido por diversos hongos, levaduras y bacterias para su crecimiento.

4.2.3 Fósforo (P), Potasio (K), Magnesio (Mg) y Sodio (Na)

Muestra N°1

Fósforo

Para el caso de los tratamientos en presencia de luz se observó una mayor liberación de fósforo para el tratamiento uno, caso contrario en los tratamientos dos y tres que reportaron valores inferiores (Figura 11).

En la figura 12 se muestra como en ausencia de luz hubo una marcada liberación de fósforo para el tratamiento dos, siendo el punto máximo 36.17 mg/L, de este nutrimento presente en el total de la muestra uno.

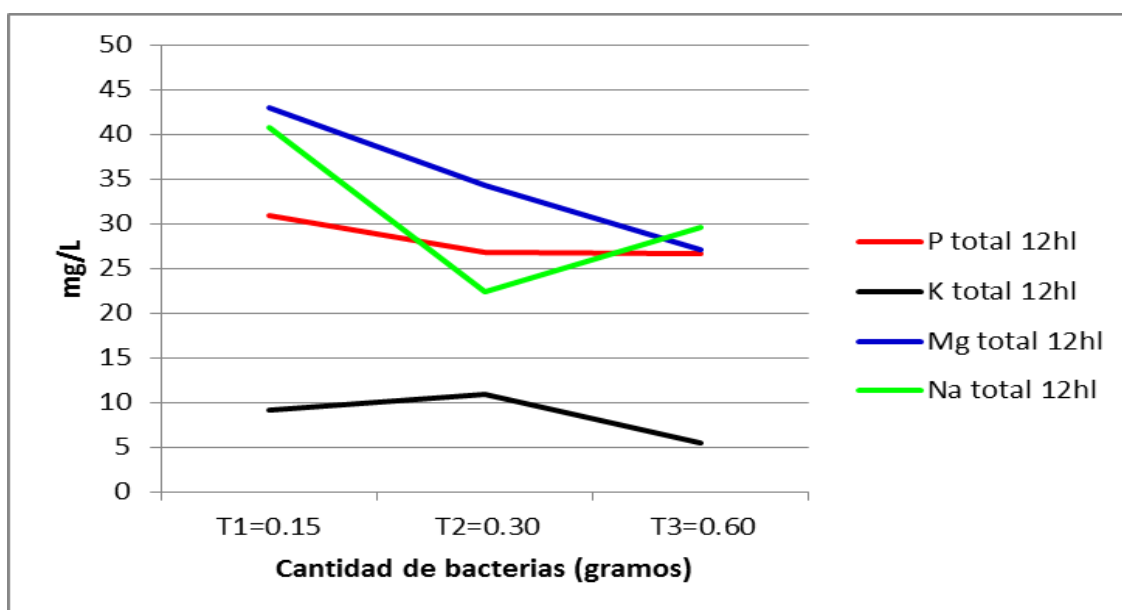


FIGURA 11. TOTAL DE MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1

El crecimiento microbiano requiere de la presencia de formas de fósforo aprovechables. Debido a que el elemento es esencial para la síntesis celular, el desarrollo de la microflora está regido por la cantidad de compuestos de fósforo utilizables en el hábitat; conforme la materia orgánica pobre en fósforo se descompone, el contenido de fósforo de los residuos se incrementa. Ya que hay una degradación y síntesis celular microbiana, se llevan a cabo tanto la inmovilización como la mineralización. Lo que se presenta en la figura 11, concuerda con que el contenido de fósforo no determina la ausencia de una transformación u otra sino la tasa más grande de asimilación o liberación de nutrimentos (Alexander 1980).

Potasio

En la figura 11 se observa que es liberado una menor cantidad del potasio para todas las concentraciones en presencia de luz, teniendo como punto máximo de liberación 10.92 mg/L de este nutrimento en el tratamiento dos.

La figura 12 muestra que en ausencia de luz, la liberación es mayor, puntualizando que en esta variable, en el tratamiento dos, se libera 29.90 mg/L de potasio, siendo este, el mayor porcentaje del nutrimento presente en la muestra uno total.

Magnesio

En la figura 11 se presenta que, de manera distinta a los nutrimentos anteriores, el magnesio se encuentra en mayor cantidad en presencia de luz, en el tratamiento uno, siendo 43.03 mg/L la mayor liberación del mismo.

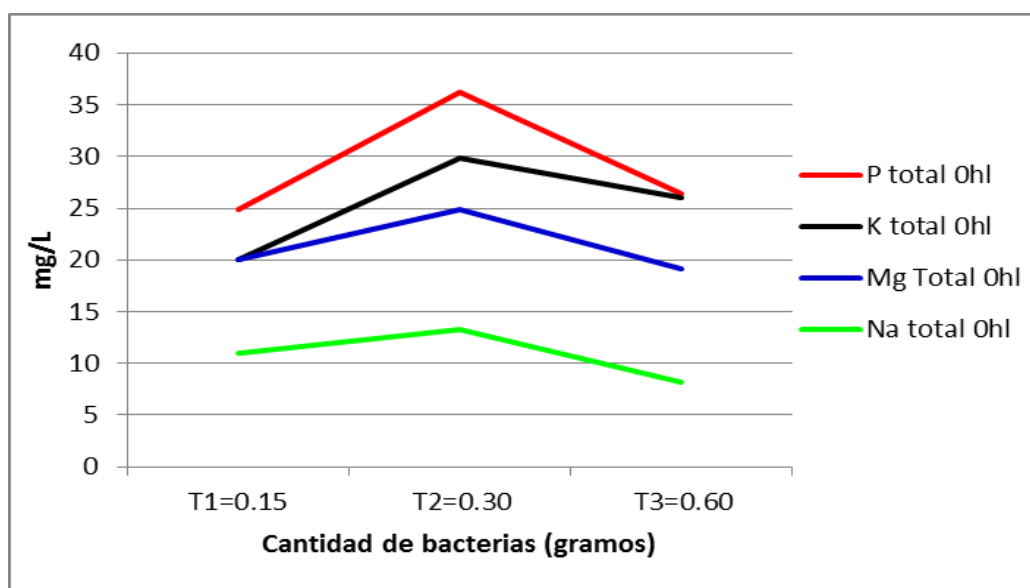


FIGURA 12. TOTAL DE MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1

De acuerdo a la figura 12, se reporta que en ausencia de luz para el tratamiento dos, hay mayor liberación de magnesio, 24.83 mg/L, que para los otros dos tratamientos restantes de la muestra uno. Se presenta una tendencia en esta variable para el tratamiento dos y disminuye a medida que aumenta la concentración de bacterias.

Sodio

En cuanto al sodio, como se muestra en la figura 11, se libera mayor cantidad de este nutrimento en presencia de luz, en el tratamiento uno, siendo 40.82 mg/L el mayor valor reportado de este nutrimento en el total de la muestra uno.

En la figura 12 se muestra que en la variable ausencia de luz, se presenta una menor liberación del nutrimento sodio, teniendo un punto máximo liberado 13.26 mg/L para el tratamiento dos.

Muestra N°2

Los resultados de Macronutrientos liberados presentes en la muestra N°2, se encuentran en el Anexo IV.

Fósforo

En la figura 13 se presenta para la muestra dos en cuanto a la variable presencia de luz, una mayor cantidad de fósforo liberado en el tratamiento uno con un valor de 18.29 mg/L.

La mayor liberación en ausencia de luz se da en el tratamiento tres con un valor de 13.04 mg/L (Figura 14).

Potasio

La figura 13 muestra menor presencia de potasio en comparación con los demás nutrimentos en presencia de luz dando valores por debajo de 4 mg/L.

En la figura 14 se observa que existe una mayor liberación de potasio en ausencia de luz con un valor máximo de 26.39 mg/L para el tratamiento dos.

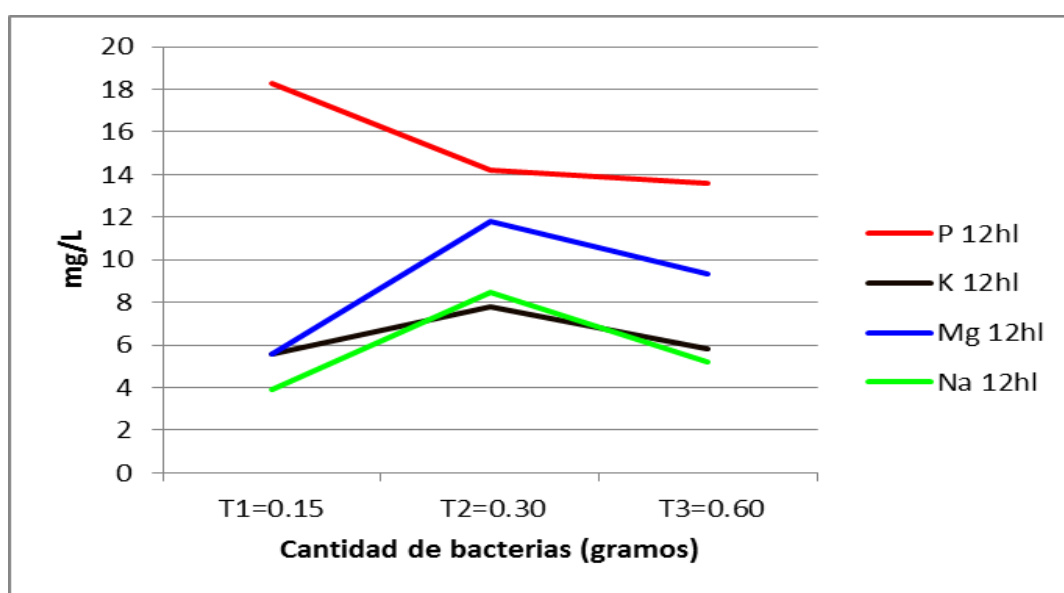


FIGURA 13. MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2

Se ha postulado una hipótesis que parte de la fracción no intercambiable de potasio es de origen microbiano, es decir, que el potasio es inmovilizado en los constituyentes protoplasmáticos. Por lo tanto, podría parecer que la microflora participa en la reducción de la concentración de potasio aprovechable. El potasio es esencial para el crecimiento de todos los microorganismos (Alexander 1980), es por esto, que se encuentra en menor cantidad.

Magnesio

De acuerdo a la figura 13 el magnesio se encuentra en la muestra dos como el nutrimento liberado en mayor cantidad después del fósforo con 11.83 mg/L como medida más alta de este nutrimento para el tratamiento dos en presencia de luz.

En cuanto a ausencia de luz la liberación de magnesio no supera los 8 mg/L (Figura 14).

Sodio

El sodio de acuerdo a la figura 13 y la figura 14, se encuentra liberado en cantidades menores con respecto a los otros macronutrientes, donde la mayor cantidad liberada de este nutrimento está representada por 8.45 mg/L en presencia de luz en el tratamiento dos.

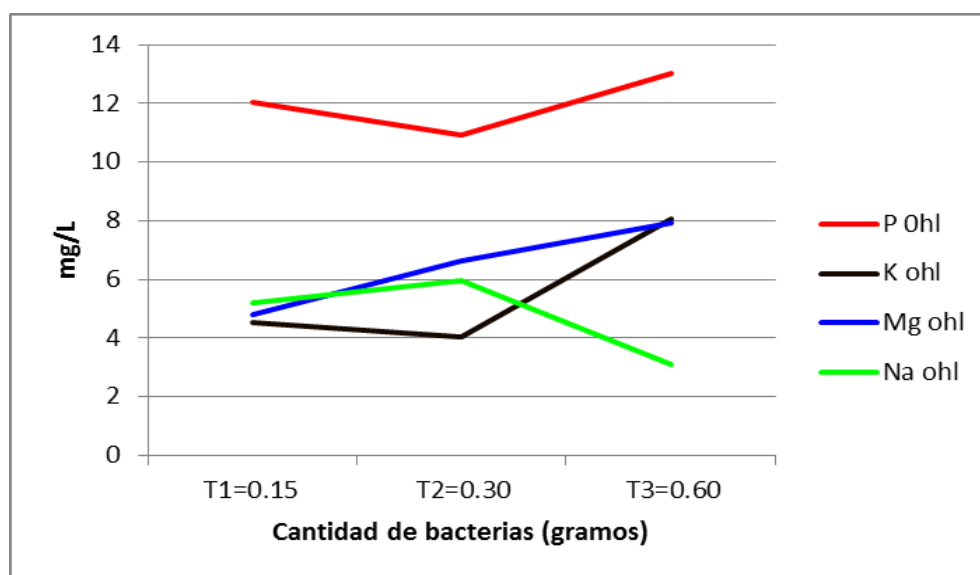


FIGURA 14. MACRONUTRIMENTOS P, K, Mg, Na EN AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2

4.3 Liberación de micronutrientos

4.3.1 Hierro (Fe), Cobre (Cu), Manganeso (Mn) y Zinc (Zn)

Muestra N°1

Los resultados de micronutrientos arrojados para la muestra N°1, se presentan en el Anexo V.

Zinc

En la figura 15 se observa que el zinc es el nutriente que se libera en segundo lugar en cuanto a mayor cantidad liberada del mismo, en presencia de luz, dando como valor máximo 2.02 mg/L en el tratamiento dos.

La figura 16 muestra una menor liberación en ausencia de luz de este nutriente, donde no supera 1.6 mg/L del mismo.

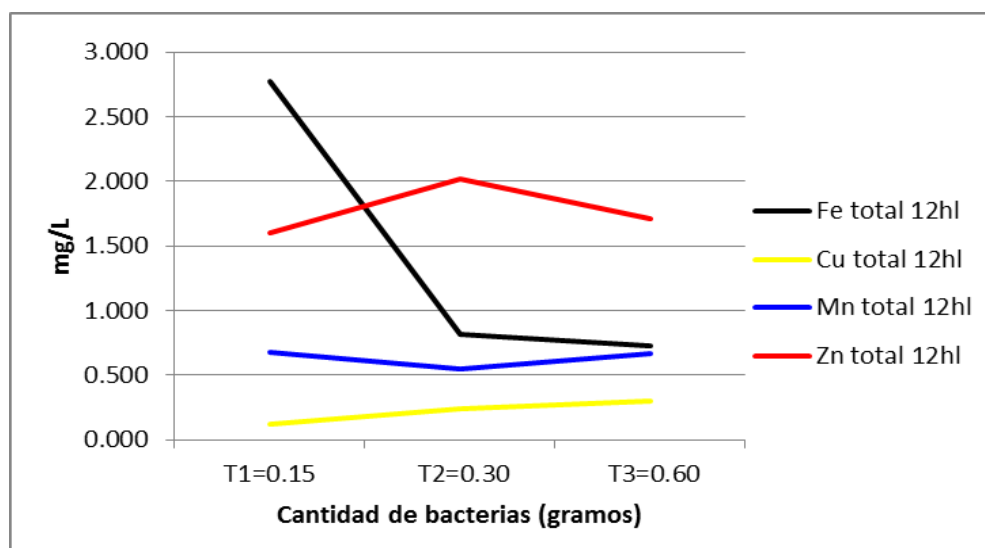


FIGURA 15. TOTAL DE MICRONUTRIENTOS Fe, Cu, Mn, Zn, EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1

El zinc se requiere, o es estimulante para el crecimiento de varios hongos, levaduras y bacterias; el análisis de sus células también muestra su presencia. Lo sucedido en este caso concuerda con que, debido a que se requiere poco zinc en medios líquidos (menos de 1.0 ppm) y las células contienen cantidades mínimas (generalmente 100 a 400 ppm), la asimilación microbiana probablemente es intrascendente para el crecimiento vegetal (Alexander, 1980).

Hierro

En la figura 15 se muestra que la mayor presencia de hierro se encuentra en presencia de luz, con 2.770 mg/L, para el tratamiento uno, siendo este nutrimento el que se encuentra en mayor cantidad.

De igual forma sucede en la figura 16, donde el máximo valor de este nutrimento se encuentra en el tratamiento tres con 1.42 mg/L.

Manganeso

En la figura 15 y la figura 16 se presenta que el manganeso mantiene una liberación prácticamente constante en ambas variables, en un rango de 0.500-0.700 mg/L. Esto concuerda con lo establecido según Alexander (1980), en la secuencia cíclica de las interconversiones del manganeso, el ión divalente puede ser restituido mediante la producción de ácido o por la reducción bacteriana. Por lo tanto, una disminución del pH del potencial óxido-reducción, o la eliminación de oxígeno como resultado del metabolismo microbiano, aumentará el nivel de manganeso intercambiable.

Cobre

En presencia y ausencia de luz representadas en la figura 15 y la figura 16 se observa que el *cobre* es el elemento liberado en menor cantidad, respecto a los demás micro nutrientes, con un valor de 0.300 mg/L, su mayor liberación para el tratamiento tres en presencia de luz.

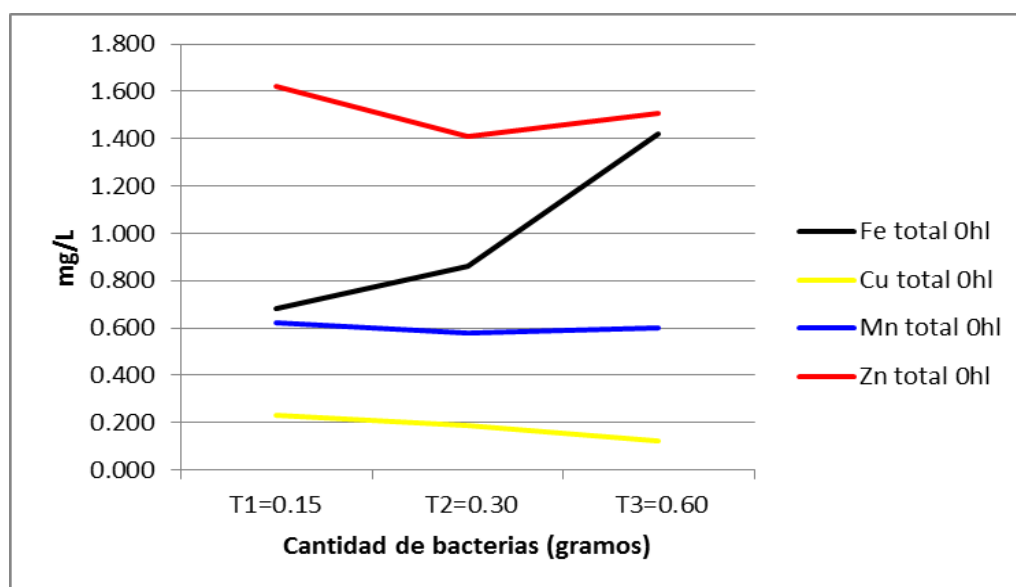


FIGURA 16. TOTAL DE MICRONUTRIMENTOS Fe, Cu, Mn, Zn, EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°1

Muestra N°2

Los resultados de análisis de micronutrientos para la muestra N°2, se encuentran en el Anexo VI.

Hierro

En la figura 17 se describe el comportamiento del hierro para las variables presencia y ausencia de luz; se observa una mayor liberación en ausencia de luz con un punto máximo de 0.870 mg/L, en el tratamiento uno.

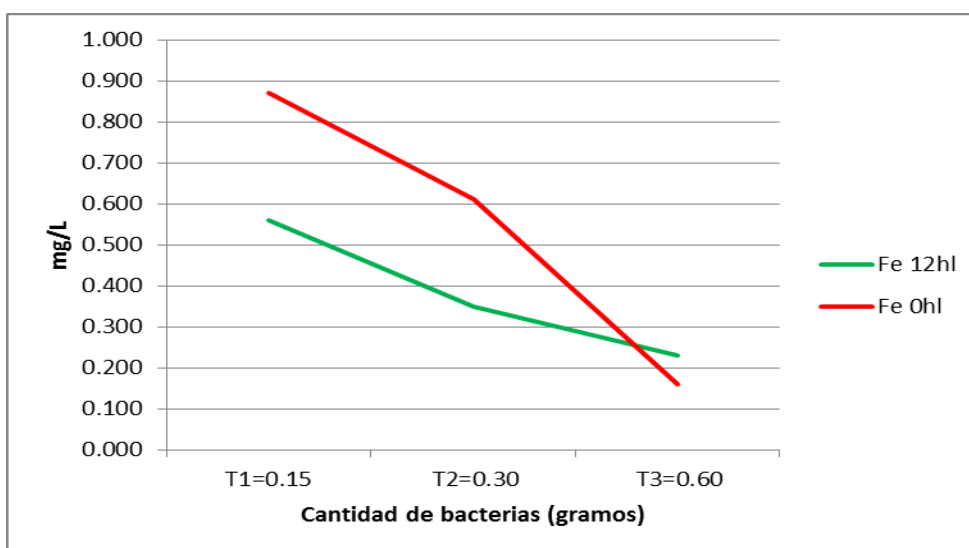


FIGURA 17. MICRONUTRIMENTO HIERRO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2

Se puede sustentar la menor concentración de hierro reportada, con lo postulado por Alexander (1980), donde dice que a pesar de ser solo un nutriente secundario para el crecimiento de gran parte de la vida microscópica del suelo, el hierro es un elemento que se transforma fácilmente mediante la actividad de la microflora. La precipitación del hierro que se encuentra en ciertos

compuestos orgánicos solubles en agua es el principal factor que altera la disponibilidad del elemento.

Zinc

Al igual que en la muestra N°1 el zinc es el nutrimento que se presenta en mayor cantidad en las variables presencia y ausencia de luz.

Como se muestra en la figura 18 en presencia de luz se observa 0.160 mg/L como punto más alto de liberación en el tratamiento uno.

De acuerdo a la figura 19 en ausencia de luz se presenta menor cantidad liberada de este nutrimento que en presencia de luz con un valor de 0.06 mg/L.

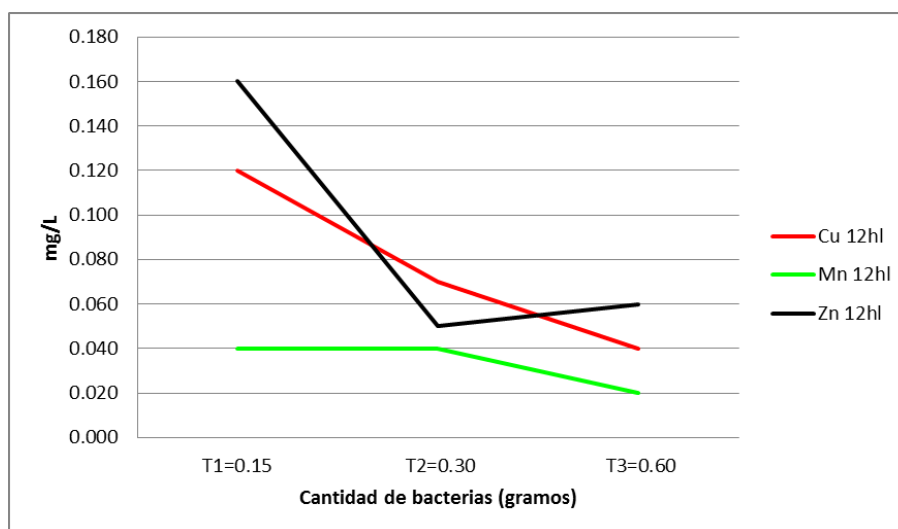


FIGURA 18. MICRONUTRIMENTO Cu, Mn, Zn, EN PRESENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2

Cobre

Según la figura 18 el cobre liberado es de 0.120 mg/L en presencia de luz para el tratamiento uno; de igual forma, se encuentra liberado como punto intermedio entre los otros micronutrimientos.

El nivel de cobre también puede ser afectado por el metabolismo de la microflora; por ejemplo, la concentración de algunos residuos vegetales. El efecto sobre cobre es indirecto y probablemente sea una consecuencia de una reacción que involucra productos liberados durante la degradación de vegetación (Alexander, 1980).

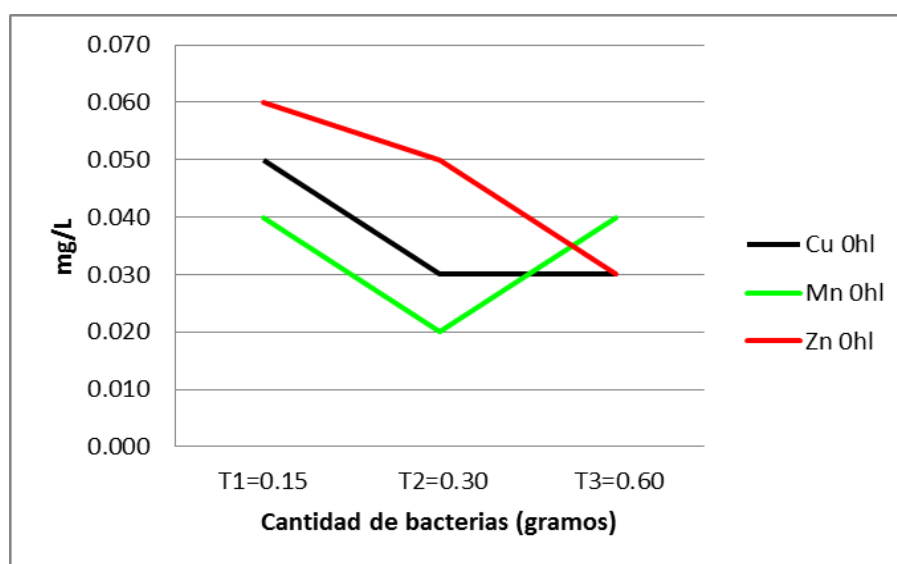


FIGURA 19. MICRONUTRIMENTO Cu, Mn, Zn, EN AUSENCIA DE LUZ, MUESTRA N°2

Manganeso

El manganeso se mantiene entre 0.020 y 0.040 mg/L como puntos de liberación.

Para el caso de la variable presencia de luz la cantidad liberada se mantiene igual hasta el tratamiento tres, donde la misma disminuye (Figura 18).

5 CONCLUSIONES

La disminución del porcentaje de grasa en la muestra de efluente graso, presenta una tendencia, para la muestra N°1, siendo la concentración correspondiente a 0.30 g de “Bionet Super” (bacterias lipólicas), representada por “T₂”, la que mostró ser más efectiva en la transformación de grasas, en presencia de luz. Esta concentración corresponde a la dosis sugerida por el fabricante (500g de bacterias/m³ de grasa), no sucede así para las concentraciones de 0.15 y 0.60 g de bacterias lipólicas; dicha situación se repite en la muestra N°2. Lo que sugiere que utilizar la dosis del fabricante es lo indicado para transformar el efluente graso.

En este estudio exploratorio se pudo observar que la presencia de luz tuvo un efecto positivo en la degradación de las grasas, ya que hubo una diferencia cuando se suprimió la luz solar.

La concentración de nutrimentos encontrados en la fase líquida del proceso de degradación de grasas es considerable, en comparación con otros bioabonos, por lo tanto existe la potencialidad de ser utilizado para la fabricación de abonos orgánicos.

6 RECOMENDACIONES

- Medir la temperatura de cada tratamiento, para determinar el efecto de la temperatura en la efectividad de la actividad metabólica de las bacteria lipólíticas (Bionet Super).
- Determinar el pH presente antes, durante y después de aplicar las concentraciones de bacterias, no sólo para determinar la existencia de una ecología microbiana sino para evaluar las variaciones del mismo, ya que éste puede indicar la inhibición de la actividad de las bacterias.
- Identificar variables que tengan influencia con la degradación de grasas (humedad, temperatura, homogeneidad).
- Para la producción de bioabonos, realizar un análisis bacteriológico que permitan probar la efectividad de el fase liquida del proceso (líquido sobrenadante), en la preparación de los mismos.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT editor, S.A. México. 491p.

AVENDAÑO HERRERA, R. 2005. Producción de substancias inhibitorias entre bacterias de biopelículas en substratos marinos. (en línea). Revista de Biología Marina y Oceanografía 40(2). Consultado el 29 de octubre 2015. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071819572005000200004&script=sci_arttext&tIng=pt

BACTERIAS (en línea). Consultado 6 ago. 2015. Disponible en <https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>

BIORREACTORES (en línea). Consultado 6 ago. 2015. Disponible en <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/1608/Capitulo2.pdf>

ELABORACIÓN Y USO DEL BOKASHI (en línea). Consultado 10 de octubre. 2015. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-at788s.pdf>

HIGA, T. 2002. Una revolución para salvar la tierra: Una forma de resolver los problemas de nuestro mundo a través de los microorganismos Efectivos (EM).

MERO EUROPE BRANCH. Tarragona, España. 332p.

JULCA-OTINIANO, A. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. (en línea). IDESIA (Chile) Vol. 24 N° 1. Consultado el 29 de octubre 2015. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-34292006000100009&script=sci_arttext

KASS, D. 1998. Fertilidad de suelos. EUNED. 230p.

PELCZAR, M; REID, R. 1981. Microbiología. 4ª ed. Madrid, España. Edit. McGraw Hill. 826 p.

RIVAS, A. 2009. Degradación de la pulpa de café utilizando lombriz roja. Tesis de Licenciatura. Universidad de Panamá. PMA. 50 p.

TORRES, S. 2013. Aislamiento e identificación de bacterias de una planta de tratamiento de aguas residuales para degradar grasas y aceites. Tesis de Licenciatura. Universidad Toluca de Lerdo, México. MÉX. 87 p.

VARELA, G; GROTIUZ, G. Fisiología y metabolismo bacteriano. (en línea). Revista: Temas de bacteriología y virología médica. Consultado el 29 de septiembre 2015. Disponible en <http://issuu.com/argos/docs/fisiologiaymetabolismobacteriano>

ANEXOS

8 ANEXOS

ANEXO I. PORCENTAJE DE GRASA PRESENTE EN CADA MUESTRA POST-TRATAMIENTO

Muestra	CÓD	% grasa
Original	T ₀	98.10
1 A-12 hl	T ₁	61.20
	T ₂	21.53
0 hl	T ₃	46.20
	T ₁	53.10
	T ₂	62.13
	T ₃	58.23
1 B-12 hl	T ₁	54.92
	T ₂	55.96
	T ₃	65.25
0 hl	T ₁	66.34
	T ₂	71.98
	T ₃	68.39
2-12 hl	T ₁	34.44
	T ₂	41.02
	T ₃	59.86
0hl	T ₁	12.50
	T ₂	48.23
	T ₃	45.62

ANEXO II. ESPESOR DE FASES POST-TRATAMIENTO PARA LA MUESTRA

N°1

Concentraciones	Capa de grasa (mm)	Capa intermedia (mm)	Total capa (mm)	Capa final (mm)
0.5	10.19	13.38	35.91	12.34
1.0	10.49	11.12	27.10	5.49
2.0	10.82	16.09	36.47	9.56
0.5 N	8.49	11.69	44.72	24.54
1.0 N	11.88	17.56	46.81	17.37
2.0 N	10.93	19.36	46.34	16.05

**ANEXO III. RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MACRONUTRIENTES,
MUESTRA N°1**

Nutrimento	Variable	Tratamiento	Total nut. (mg/L)
<i>Nitrógeno (N)</i>	12 hl	T ₁	309.29
		T ₂	391.63
		T ₃	559.16
	0 hl	T ₁	223.22
		T ₂	378.76
		T ₃	362.76
<i>Calcio (Ca)</i>	12 hl	T ₁	1630.85
		T ₂	922.74
		T ₃	713.08
	0 hl	T ₁	576.16
		T ₂	900.51
		T ₃	452.50
<i>Fósforo (P)</i>	12 hl	T ₁	30.93
		T ₂	26.74
		T ₃	26.56
	0 hl	T ₁	24.85
		T ₂	36.17
		T ₃	26.46
<i>Potasio (K)</i>	12 hl	T ₁	9.13
		T ₂	10.92
		T ₃	5.46
	0 hl	T ₁	20.02
		T ₂	29.90
		T ₃	26.03
<i>Magnesio (Mg)</i>	12 hl	T ₁	43.03
		T ₂	34.32
		T ₃	27.04
	0 hl	T ₁	20.02
		T ₂	24.83
		T ₃	19.11
<i>Sodio (Na)</i>	12 hl	T ₁	40.82
		T ₂	22.36
		T ₃	29.51
	0 hl	T ₁	10.92
		T ₂	13.26
		T ₃	8.19

**ANEXO IV. RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MACRONUTRIENTES,
MUESTRA N°2**

Nutrimento	Variable	Tratamiento	Total nut. (mg/L)
<i>Nitrógeno(N)</i>	12 hl	T ₁	139.54
		T ₂	88.61
		T ₃	138.17
	0 hl	T ₁	83.28
		T ₂	55.51
		T ₃	83.66
<i>Calcio(Ca)</i>	12 hl	T ₁	19.50
		T ₂	55.64
		T ₃	64.22
	0 hl	T ₁	15.86
		T ₂	51.35
		T ₃	106.86
<i>Fósforo(P)</i>	12 hl	T ₁	18.29
		T ₂	14.20
		T ₃	13.59
	0 hl	T ₁	12.02
		T ₂	10.93
		T ₃	13.04
<i>Potasio (K)</i>	12 hl	T ₁	5.59
		T ₂	7.80
		T ₃	5.85
	0 hl	T ₁	4.55
		T ₂	4.03
		T ₃	8.06
<i>Magnesio (Mg)</i>	12 hl	T ₁	5.59
		T ₂	11.83
		T ₃	9.36
	0 hl	T ₁	4.81
		T ₂	6.63
		T ₃	7.93
<i>Sodio (Na)</i>	12 hl	T ₁	3.90
		T ₂	8.45
		T ₃	5.20
	0 hl	T ₁	5.20
		T ₂	5.98
		T ₃	3.12

**ANEXO V. RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MICRONUTRIENTES,
MUESTRA N°1**

Nutrimiento	Variable	Tratamiento	Total nut. (mg/L)
<i>Zinc (Zn)</i>	12 hl	T ₁	1.600
		T ₂	2.020
		T ₃	1.710
	0 hl	T ₁	1.620
		T ₂	1.410
		T ₃	1.510
<i>Hierro (Fe)</i>	12 hl	T ₁	2.770
		T ₂	0.820
		T ₃	0.730
	0 hl	T ₁	0.680
		T ₂	0.860
		T ₃	1.420
<i>Manganeso (Mn)</i>	12 hl	T ₁	0.680
		T ₂	0.550
		T ₃	0.670
	0 hl	T ₁	0.620
		T ₂	0.580
		T ₃	0.600
<i>Cobre (Cu)</i>	12 hl	T ₁	0.120
		T ₂	0.240
		T ₃	0.300
	0 hl	T ₁	0.230
		T ₂	0.190
		T ₃	0.120

**ANEXO VI. RESULTADOS DE LIBERACIÓN DE MICRONUTRIENTES,
MUESTRA N°2**

Nutrimiento	Variable	Tratamiento	Total nut. (mg/L)
<i>Zinc (Zn)</i>	12 hl	T ₁	0.160
		T ₂	0.050
		T ₃	0.060
	0 hl	T ₁	0.060
		T ₂	0.050
		T ₃	0.030
<i>Hierro (Fe)</i>	12 hl	T ₁	0.560
		T ₂	0.350
		T ₃	0.230
	0 hl	T ₁	0.870
		T ₂	0.610
		T ₃	0.160
<i>Manganeso (Mn)</i>	12 hl	T ₁	0.040
		T ₂	0.040
		T ₃	0.020
	0 hl	T ₁	0.040
		T ₂	0.020
		T ₃	0.040
<i>Cobre (Cu)</i>	12 hl	T ₁	0.120
		T ₂	0.070
		T ₃	0.040
	0 hl	T ₁	0.050
		T ₂	0.030
		T ₃	0.030

ANEXO VII. COMPOSICIÓN DE ALGUNAS GRASAS NATURALES EN PORCENTAJE DE ÁCIDOS GRASOS TOTALES

# átomos de C en la cadena	Aceite de oliva (%)	Mantequilla (%)	Grasa bovina (%)
Saturados			
4-12	2	11	2
14	2	10	2
16	13	26	29
18	3	11	21
Insaturados			
4-12	80	40	46

ANEXO VIII. PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE ABSORCIÓN ATÓMICA



**ANEXO IX. PARÁMETROS EVALUADOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS
UTILIZADAS**

Parámetro	Técnica Analítica	Observaciones
Espesor de las fases post-tratamiento	Estimación en cm	Caliper
Fósforo (P)	Espectrofotometría Ultravioleta Visible	Extracción con solución Mehlich I
Macronutrientes Ca, Mg, K y Na Micronutrientes Cu, Zn, Mn, Fe	Espectrofotometría de absorción atómica	Solución extractora Mehlich I
Nitrógeno Total (N)	Método Kjendhal	Sistema Kjeltec
Porcentaje de grasa	Método Soxhlet	Extracción de grasa con: recuperación de solvente.

ANEXO X. REALIZACIÓN DE ANÁLISIS DE FÓSFORO



ANEXO XI. EQUIPO UTILIZADO PARA EXTRACCIÓN DE GRASA

