

## NOTAS INFORMATIVAS

## Biodegradación de detergentes aniónicos de uso doméstico por diferentes consorcios microbianos

GABRIEL PINEDA-FLORES y TEODORO GUTIÉRREZ-CASTREJÓN

Laboratorio de Ecología Microbiana  
Departamento de Microbiología  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN  
Prol. de Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomás  
Apartado Postal 256, 06400 México, D.F.

PINEDA-FLORES, G. y T. GUTIÉRREZ-CASTREJÓN, 2000. Biodegradación de detergentes aniónicos de uso doméstico por diferentes consorcios microbianos. *An. Esc. nac. Cienc. biol.*, Méx., 46(1):65–75.

**RESUMEN:** El objetivo de este trabajo fue determinar la biodegradación del tensoactivo presente en detergentes aniónicos de uso doméstico, en un sistema de matraces en condiciones de cultivo agitado, y se comparó la actividad de tres consorcios microbianos diferentes. Los detergentes domésticos empleados fueron identificados con las claves *Fv*, *Av*, *Rm* y *Ar*. El tensoactivo de los detergentes anteriores se obtuvo por extracción con isopropanol. Se probaron las concentraciones de 30, 60 y 90 ppm del tensoactivo extraído; la biodegradación se determinó por la técnica de sustancias activas al azul de metileno (SAAM) en versión "micro", a los tiempos inicial, cuatro y ocho días por triplicado. Como fuente de inóculo se utilizaron tres consorcios microbianos estabilizados (ajustados a una  $DO_{652} = 0.2$ ), dos procedentes de sedimento y uno de lodo activado. Para el tensoactivo de *Fv* se detectó una biodegradación del 70% a 30 ppm, mientras que para los tensoactivos de *Av*, *Rm* y *Ar*, a las concentraciones de 30 y 60 ppm, se presentó un 100%. De esta manera el tensoactivo de *Fv* se podría considerar, para las condiciones de este estudio exclusivamente, como no biodegradable, mientras que los otros se consideran como biodegradables, de acuerdo a las normas establecidas por la ASTM.

Los detergentes sintéticos son compuestos químicos que pueden ser potencialmente tóxicos para los diferentes organismos acuáticos (Kimerle y Swisher, 1977), además tienen la capacidad de generar el fenómeno de ecotoxicidad al provocar eutroficación en los cuerpos de agua que reciben descargas que los contienen (Cheneval, 1993). La biodegradación de los detergentes es un proceso que puede reducir su efecto tóxico y de contaminación. En dicho fenómeno los microorganismos son un elemento principal (Swisher, 1970; Sigoillot y Nguyen, 1992), debido a que ellos tienen la capacidad potencial de realizar la mineralización de detergentes sintéticos así como de diversos compuestos contaminantes por mecanismos de cometabolismo (Jiménez *et al.*, 1991). Así, se ha demostrado que mezclas de microorganismos obtenidos de ecosistemas naturales, y que poseen diferentes rutas metabólicas, tienen la capacidad para degradar el alquilbencensulfonato de sodio lineal (LAS) hasta en un 95% (Schoberl, 1989; Takada e Ishiwatari, 1990).

El LAS es el tensoactivo más empleado en la formulación de los detergentes comerciales de uso doméstico (Smulders y Krings, 1990; SDA, 1991), y los estudios sobre

la biodegradación de este compuesto son numerosos (Swisher, 1963; Larson y Payne, 1981; Okpokwasili y Olisa, 1991). Este tensoactivo es de tipo aniónico y está estructurado de una cadena de 10 a 14 átomos de carbono, un anillo aromático y un grupo sulfonato (Swisher, 1970; Schoberl, 1989; Cain, 1993). La necesidad de realizar pruebas de biodegradación a los detergentes hechos a base de LAS, se debe a la presencia de isómeros de este compuesto en los productos comerciales, los cuales, dependiendo de la longitud de la cadena hidrocarbonada, posición del anillo aromático y del grupo sulfonato, pueden hacer que el producto no sea fácilmente degradable (Swisher, 1963 y 1964), por lo tanto, conocer la biodegradabilidad de los tensoactivos incluidos en los detergentes comerciales, por consorcios microbianos aislados de fuentes naturales, es un elemento que puede ayudar a los consumidores para poder decidir qué productos pueden utilizar, con la confianza de que los daños al ambiente serán menores (Justice, 1964; Okpokwasili y Olisa, 1991).

El objetivo de este estudio fue determinar la biodegradación del tensoactivo presente en cuatro detergentes comerciales de uso doméstico, por consorcios microbianos aislados de fuentes naturales.

Los detergentes comerciales empleados y su composición se muestran en la tabla I. *Fv*, *Rm* y *Ar* son productos de compañías con las mayores ventas a nivel nacional (Sepúlveda, 1996), *Av* corresponde a un detergente de importación.

TABLA I. Composición de los detergentes comerciales empleados.

Componente	Detergente comercial			
	<i>Fv</i>	<i>Av</i>	<i>Rm</i>	<i>Ar</i>
Tensoactivo (LAS)	+	+	+	+
Sulfato de sodio	+	-	-	-
Fosfato de sodio	-	+	+	+
Polifosfato de sodio	+	-	-	-
Silicato de sodio	+	-	+	
Carbonato de sodio	+	+	-	
Inhibidores de corrosión	-	+	-	-
Perfume	+	+	+	+
Enzimas	+	-	-	+
Blanqueadores	-	-	+	-

+ componente presente, - componente ausente

Se utilizaron tres consorcios microbianos, el tipo y el sitio donde se obtuvieron se muestra en la tabla II.

Para extraer el tensoactivo presente en los diferentes detergentes, el producto en polvo se mezcló con agua destilada en una proporción de 1:1, se agitó durante 10 minutos, posteriormente se le agregó 60 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se agitó hasta mezclarse completamente. Se adicionó isopropanol (1:2.5 partes por volumen de pasta) y se agitó por 30 minutos. La mezcla anterior se filtró por succión empleando papel filtro Whatman No. 42. El filtrado se transfirió a un matraz para destilarlo hasta eliminar la mayor cantidad de isopropanol posible. El residuo de la destilación se colocó en una cápsula de

TABLA II. Consorcios microbianos empleados como inóculo.

Sitio de muestreo	Consortio microbiano
Alrededores del embarcadero Caltongo, lago de Xochimilco, Delegación Xochimilco, México, D.F.	Sedimento
Colector de aguas residuales del municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo	Sedimento
Planta de tratamiento de aguas residuales del Bosque de Chapultepec, Delegación Miguel Hidalgo, México, D.F.	Lodo activado

porcelana y se concentró a baño maría. El porcentaje de extracción se calculó dividiendo los gramos de tensoactivo entre los gramos del producto comercial empleado y multiplicándolo por cien.

Para determinar la biodegradabilidad de los tensoactivos extraídos, se realizó la prueba presuntiva de biodegradación ASTM modificada (1987), para lo cual se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250 ml con 100 ml de medio basal, probando las concentraciones de 30, 60 y 90 ppm de tensoactivo. Como inóculo se empleó un ml de cada uno de los consorcios microbianos mencionados (estabilizados durante 11 semanas para degradar LAS y ajustados a una  $DO_{625} = 0.2$ ).

Por cada consorcio y concentración se realizaron tres réplicas. La cantidad de tensoactivo sin degradar se determinó por la técnica de SAAM en versión "micro" a los tiempos inicial, cuatro y ocho días. La versión de la técnica analítica aplicada, corresponde a la propuesta en la norma oficial mexicana NOM-AA-39/1980 (NOM 1980); con la diferencia que se disminuyó en una magnitud de diez veces el volumen de muestra y cada uno de los reactivos aplicados (Pineda, 1995).

El porcentaje de biodegradación se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula (ASTM 1987):

$$\% \text{ de biodegradación} = [(S_0 - B_0) - (S_x - B_x) / (S_0 - B_0)] \times 100$$

En donde:

$S_0$  y  $S_x$  = mg/l de SAAM del tensoactivo de prueba a los tiempos inicial y día "x"

$B_0$  y  $B_x$  = mg/l de SAAM de los cultivos blanco a los tiempos inicial y día "x".

Para examinar los resultados, se procedió a aplicar un análisis de varianza (ANOVA) a los datos de biodegradación de 30 ppm y del muestreo correspondiente a los ocho días de los diferentes tensoactivos evaluados exclusivamente. El programa empleado fue GLIM 3.77, los porcentajes de biodegradación se transformaron con la función arco seno  $\sqrt{y}$ , y se compararon con los obtenidos de un sistema testigo a los ocho días de prueba, con 30 ppm de LAS e inoculado con un consorcio de lodo activado.

TABLA III. Porcentaje de extracción del tensoactivo presente en los detergentes comerciales.

Detergente	Peso muestra (g)	Peso extracto (g)	Extracción (%)
<i>Fv</i>	20	4.3	24.5
<i>Av</i>	20	3.8	19
<i>Rm</i>	50	10.3	20.7
<i>Ar</i>	50	24.6	49.3

En la tabla III se presentan los resultados de la extracción del tensoactivo de los detergentes comerciales empleados. Se observó que el porcentaje determinado para los tres primeros detergentes fue de aproximadamente del 20%, en el caso de *Ar* éste fue de casi el doble que el de los otros tres, con un 49.3%.

La figura 1 presenta las cinéticas de biodegradación para el tensoactivo del detergente *Fv*. En general, la degradación observada no es homogénea para las concentraciones empleadas. A 30 ppm la mayor degradación se presenta en el consorcio de Hidalgo, con un 75%. A 60 ppm se presenta una diferencia en cuanto a la actividad degradadora, en donde el consorcio de la planta fue el más activo, posteriormente el de Xochimilco y al final Hidalgo. Al transcurrir el tiempo, dicha actividad se mantiene, registrándose una biodegradación del 80% como el valor más alto. A 90 ppm se presenta un comportamiento similar al de 60 ppm, el consorcio de la planta es el más activo (con 80% de biodegradación), siguiéndole Xochimilco e Hidalgo (con 60 y 50% respectivamente).

La figura 2 muestra las cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente *Av*. A diferencia del detergente anterior, los resultados encontrados son en general homogéneos. A 30 y 60 ppm se presenta 100% de degradación desde los cuatro días y se mantiene al transcurrir el tiempo (excepto en el consorcio de la planta al cuarto día). A 90 ppm se registró un 90% de biodegradación a los cuatro días, al transcurrir el tiempo, Xochimilco mantiene este valor, mientras que la planta e Hidalgo disminuyen su actividad a 80 y 50% respectivamente.

En la figura 3 se observan las cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente *Rm*. A 30 y 60 ppm se registró un 100% de degradación, a esta última concentración dicho valor se alcanzó a los cuatro días por el consorcio de Xochimilco, y a los ocho días por el consorcio de la planta de tratamiento e Hidalgo. A 90 ppm se registró una notable disminución en la biodegradación del tensoactivo, en donde el valor máximo registrado es del 40%. A esta concentración se observa que el consorcio de Hidalgo es el más activo, posteriormente el de la planta de tratamiento y el de Xochimilco.

La figura 4 muestra las cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente *Ar*. A 30 y 60 ppm la degradación detectada es del 100%, en esta última concentración el consorcio de Xochimilco presentó este resultado desde los cuatro días. A 90 ppm la mayor biodegradación la presentó este último (con un 90%), posteriormente la planta e Hidalgo (con 80 y 60% respectivamente).

En las tablas IV y V se presentan los resultados del ANOVA aplicado a los

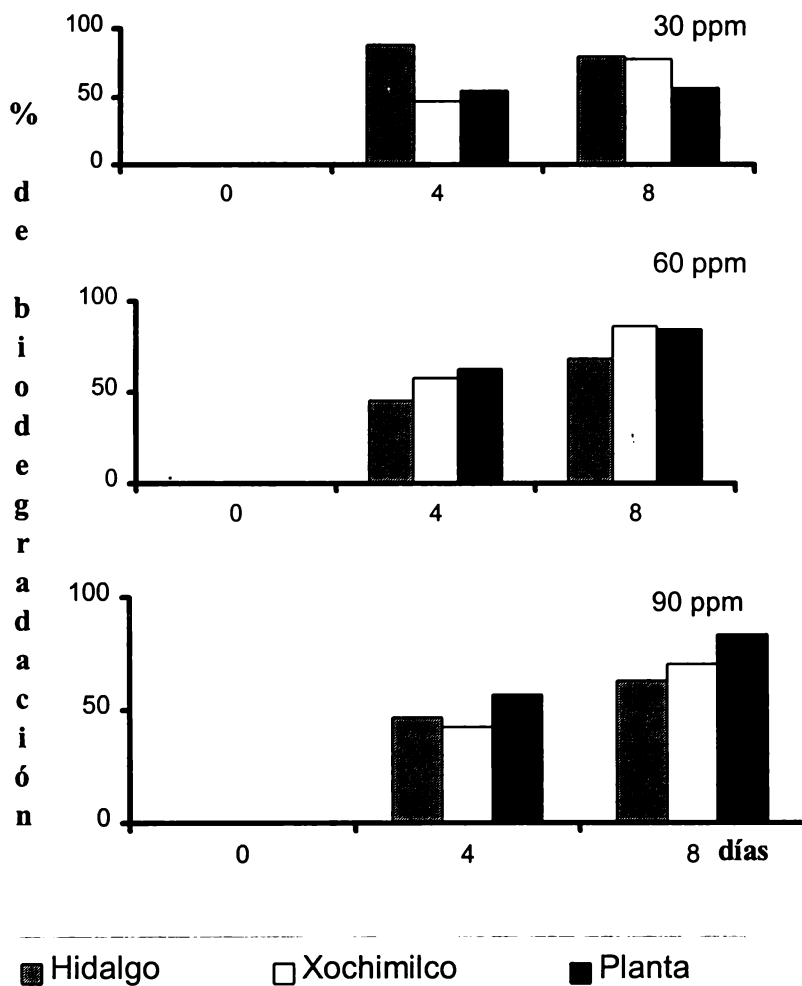


FIG. 1. Cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente *Fv*.

porcentajes de biodegradación calculados. En ellas se puede observar que el efecto del tensoactivo empleado produce diferencias significativas sobre su biodegradación (tabla IV) y que estas diferencias se presentan exclusivamente entre el tensoactivo del detergente *Fv* y el resto de los compuestos estudiados (tabla V).

Un detergente comercial contiene alrededor de un 15 a 23% de tensoactivo (Murata, 1987), la cantidad de tensoactivo obtenido por las extracciones realizadas son muy próximas a este valor, a excepción de *Ar* debido a que este detergente es de tipo concentrado, de acuerdo a la información de la etiqueta del producto.

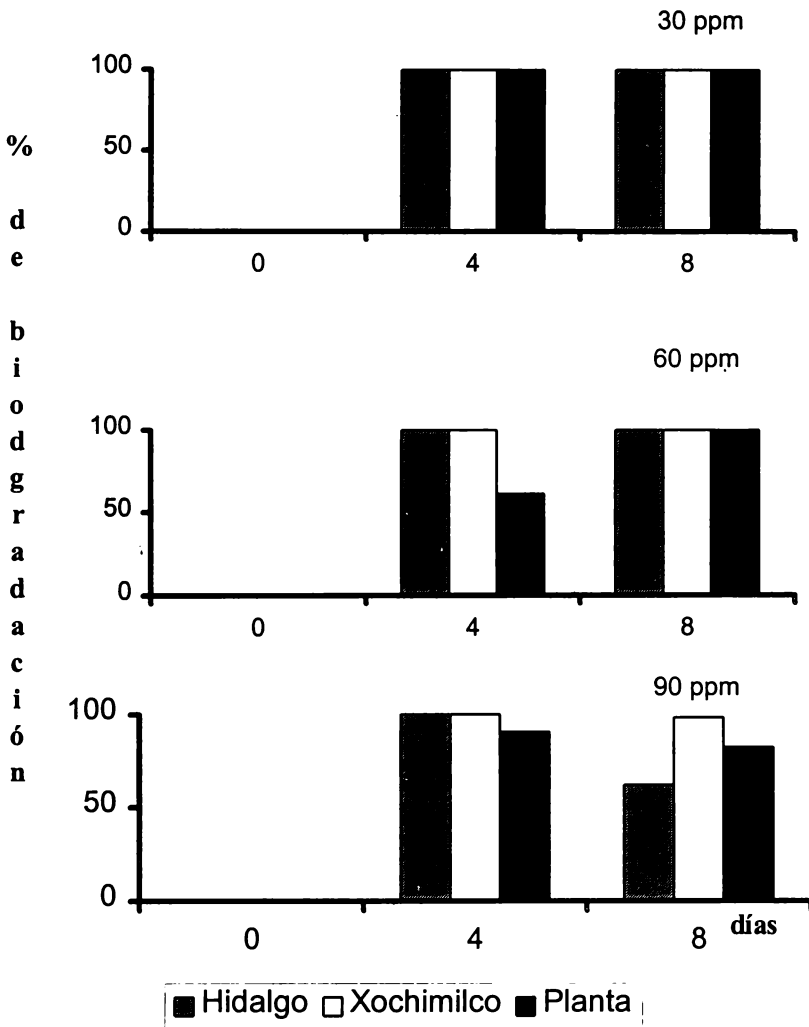


FIG. 2. Cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente Av.

Para determinar si un detergente es biodegradable, es necesario referirse a los criterios establecidos por la ASTM (1987), los cuales establecen que un detergente comercial debe presentar una biodegradación del 90% como mínimo, empleando la prueba presuntiva con 30 ppm de producto en un lapso de tiempo de ocho días. La figura 1 muestra que la degradación más alta fue de 88%, y que este porcentaje es diferente significativamente comparado con los calculados para los tensoactivos restantes, por lo cual se considera a Fv como un detergente no biodegradable bajo las condiciones de la prueba aplicadas exclusivamente. La biodegradación ocurrida a 60 ppm es muy similar a la presentada a 30 ppm, debido posiblemente a que la primera concentración no resulta tóxica para los microorganismos de los consorcios estudiados, lo cual coincide con otros estudios realizados (Jiménez *et al.*, 1991; Sigoillot y Nguyen, 1992).

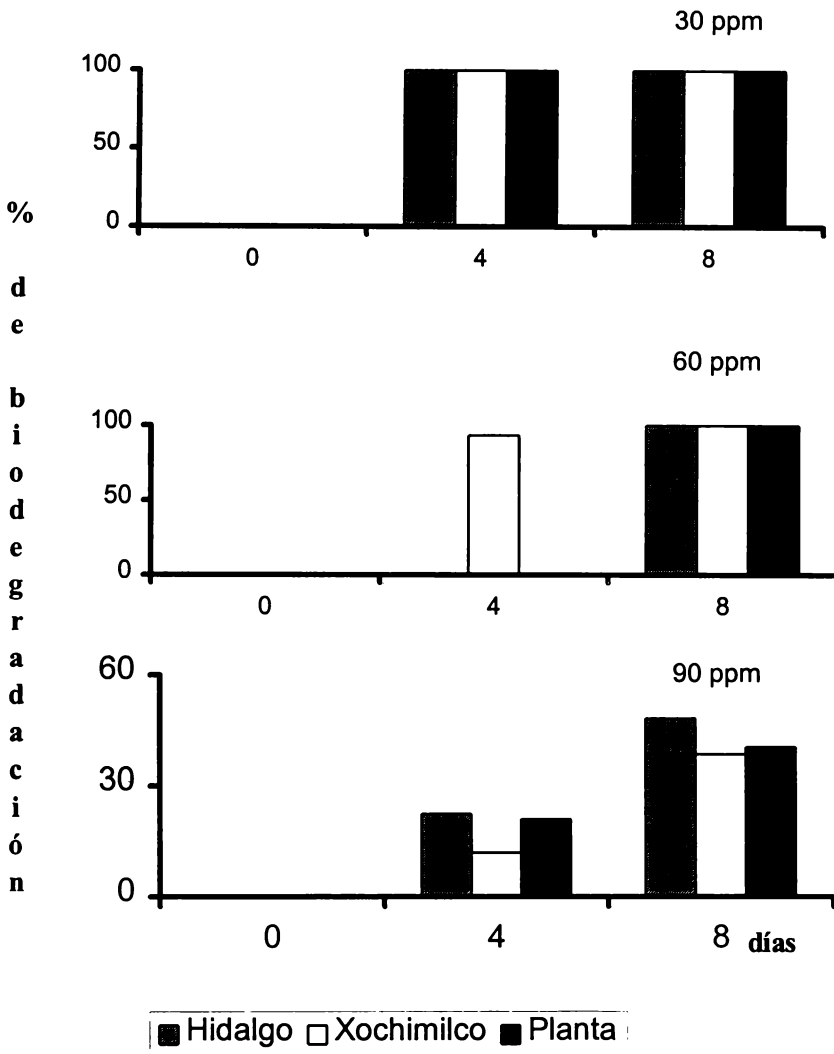


FIG. 3. Cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente *Rm*.

El consorcio de la planta está constantemente en contacto con descargas de detergentes, por lo cual es posible que los microorganismos presentes en él estén adaptados a degradar concentraciones elevadas de estos compuestos; para apoyar lo anterior se menciona la biodegradación de alrededor de un 80% de LAS por un consorcio microbiano procedente de un lodo activado (Larson y Payne, 1981). Esto explicaría que el consorcio mencionado haya presentado la mayor degradación a 90 ppm de *Fv*, como se aprecia en las cinéticas de la figura 1.

La biodegradación elevada de *Av*, *Rm* y *Ar* a 30 y 60 ppm (100% para ambas concentraciones), permite considerar a los tensoactivos presentes en estos detergentes



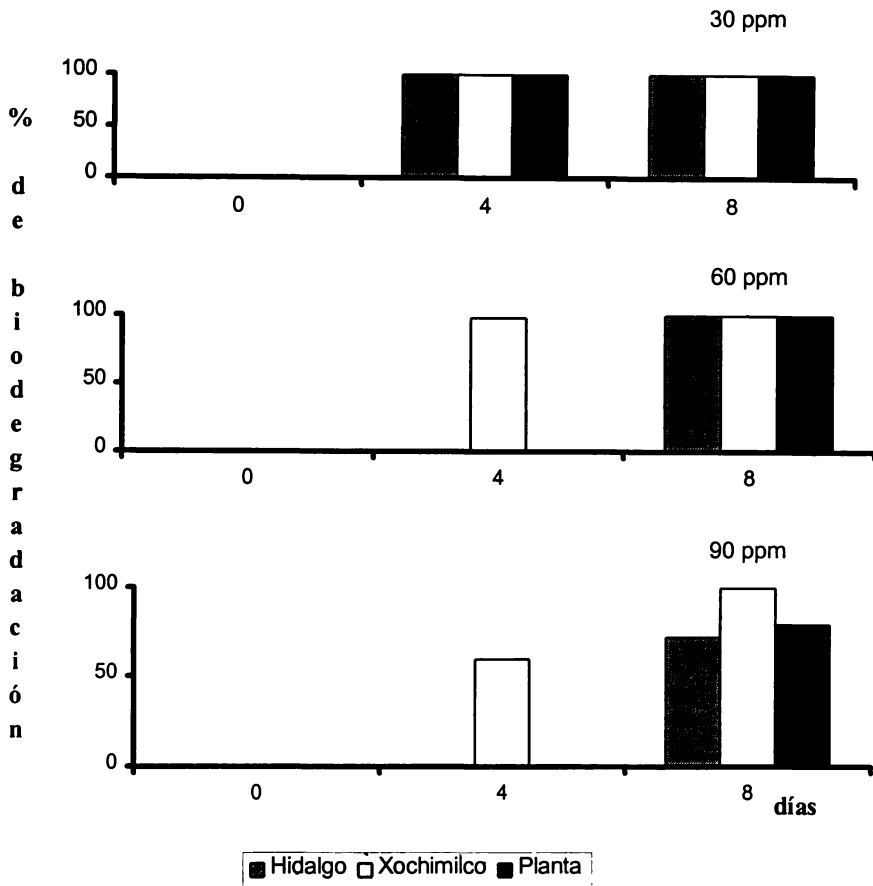


FIG.4. Cinéticas de biodegradación del tensoactivo del detergente *Ar*.

como biodegradables bajo las condiciones del ensayo. En general, los resultados mostrados para estos detergentes son constantes y reproducibles, esto puede deberse a la composición del producto, la cual presenta un alto grado de moléculas del tensoactivo que probablemente en su mayoría son lineales y con el anillo aromático en posición central, como hacen referencia otros autores para explicar la determinación de porcentajes de biodegradación tan altos (Hon-Nami y Hanya, 1980; Takada y Ishiwatari, 1990).

Por otro lado, a la concentración de 60 ppm para *Rm* y *Ar*, y a 90 ppm de *Ar*, se observa que los microorganismos de los consorcios de la planta e Hidalgo necesitan de un tiempo de contacto mayor con el tensoactivo para poder degradarlo, en comparación con el consorcio de Xochimilco. Estos resultados sugieren que este consorcio se compone de microorganismos capaces de degradar los tensoactivos de dos detergentes diferentes de una manera más rápida, y que no se presentan o no tienen la misma actividad en los otros dos consorcios estudiados (Zurrer *et al.*, 1987).

TABLA IV. Anova calculado los porcentajes de biodegradación de los diferentes tensoactivos evaluados.

F.V. (fuente de variación)	S.C. (suma de cuadrados)	g.l. (grados de libertad)	C.M. (cuadrados medios)	Fc (F. calculada)	F <sub>0.05,g.1/26</sub> (F Tablas)	Resultado
Consortio	721.8	3	240.6	1.39	2.98	NS
Tensoactivo	1,3267.0	3	4,422.3	25.72	2.98	S
Tensoactivo- consorcio	1,145.0	6	190.8	1.11	2.47	NS
Error	4,470.1	26	171.9			
Total	19,603.9					

S: efecto significativo, NS: efecto no significativo.

TABLA V. Determinación de diferencias significativas entre los tensoactivos empleados.

Tensoactivo					
<i>Fv</i>	5.01*				
<i>Av</i>	$4.1 \times 10^{-15}$	44.33*			
<i>Rm</i>	$3.8 \times 10^{-15}$	44.33*	$1.8 \times 10^{-15}$		
<i>Ar</i>	$4.2 \times 10^{-15}$	44.33*	$1.5 \times 10^{-15}$	$3.4 \times 10^{-15}$	
	<i>LAS</i>	<i>Fv</i>	<i>Av</i>	<i>Rm</i>	Tensoactivo

\*Diferentes significativamente comparados con  $t_{0.05,26} = 2.056$ .

Es importante hacer notar que la biodegradación de 90 ppm de *Rm* disminuye notablemente hasta un 40%, esto indica que esta concentración del tensoactivo puede ser tóxica para los microorganismos como lo refieren otros autores (Kimerle y Swisher, 1977; Okpokwasili y Olisa, 1991). De manera general, los consorcios microbianos con mayor actividad degradadora fueron (en orden descendente): el de la planta de tratamiento, sedimento de Xochimilco y por último el del sedimento de Hidalgo.

Los resultados encontrados en este trabajo indican que el tensoactivo del detergente *Fv* se puede considerar como no biodegradable y los presentes en los detergentes *Av*, *Rm* y *Ar*, como biodegradables, bajo las condiciones de la prueba aplicada exclusivamente.

Por otra parte, es importante resaltar que consorcios microbianos aislados de fuentes naturales tienen la capacidad de degradar dos tensoactivos incluidos en los detergentes comerciales de mayor venta en el país, lo que representa la posibilidad de que estos

productos puedan ser eliminados por la actividad de los microorganismos presentes en los ecosistemas en donde entren en contacto.

### SUMMARY

The objective of this work was to determine the biodegradability of tensoactive present in anionic detergents of domestic use, in a system made in a flask scale, in a stirred cultive conditions and by three different microbial consortia. The detergents of domestic use were *Fv*, *Av*, *Rm* y *Ar*. The tensoactive agent of the detergents used was extracted with isopropanol. The concentrations of 30, 60 and 90 ppm of tensoactive extracts were tested. The biodegradation was determined by the technique of Active Substances to the Methylene Blue in "micro" version at the initial time, four and eight days by triplicate. As a source of inocule were utilized three microbial consortia stabilized (adjusted to  $DO_{652} = 0.2$ ) two coming from sediment, and one of active sludge. A biodegradability of 70% in the 30 ppm concentration was detected for *Fv*, meanwhile in the *Av*, *Rm* and *Ar* detergents at 30 and 60 ppm, 100% biodegradability was observed. Therefore, the *Fv* tensoactive could be considered by this study conditions, as not biodegradable and the others as biodegradables, according to the norms of ASTM.

### BIBLIOGRAFÍA

- ASTM, 1987. Standars on Materials and Environmental Microbiology, Philadelphia U.S.A. 13-16 pp.
- CAIN, R. B., 1993. Biodegradation of anionic surfactants. *Biochem. Soc. Transac. (suplement)*, 15: 7-22.
- CHENEVAL, J. R., 1993. La toxicidad de los detergentes, *Mundo Científico*, 13:216-223.
- HON-NAMI, H. AND T. HANYA, 1980. Linear alkylbenzene sulfonates in river estuary and bay water *Water Res.*, 14: 1251-1256.
- JIMÉNEZ, L.; A. BREEN, N. THOMAS, T. FREDERLE and G. SAYLER, 1991. Mineralization of linear alkylbenzene sulfonate by four-member aerobic bacterial consortium. *Appl. Microbiol.*, 57: 1566-1569.
- JUSTICE, D., 1964. Revolution in detergents, *Chem. Eng. Prog.*, 60: 35-40.
- KIMERLE, R. A. and R. D. SWISHER, 1977. Reduction of aquatic toxicity of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) by biodegradation. *Water Res.*, 11: 31-37.
- LARSON, R. J. and A. G. PAYNE, 1981. Fate of the ring of linear alkylbenzene sulfonate in natural waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41: 621-627.
- MURATA, M., 1987. Trends in the soap and detergent industry in Japan. *JAOCs*, 64: 260-264.
- NOM, 1980. Norma Oficial Mexicana NOM-AA-39/1980, que establece el método de prueba estándar para sustancias activas al azul de metileno.
- OKPOKWASILI, G. C. and A. O. OLISA, 1991. River-water biodegradation of surfactants in liquid detergents and shampoos. *Water Res.*, 25: 1425-1429.
- PINEDA, F. G., 1995. Biodegradación de detergentes aniónicos de uso doméstico empleando tres tipos diferentes de comunidades microbianas. Tesis de licenciatura (Biol.), ENCB-IPN, México, D.F., México.
- SCHOBERL, P.M., 1989. Basic principles of biodegradation of LAS. *Tenside Surfact. Det.*, 26: 86-94.
- SEPÚLVEDA, V.H.J., 1996. Autorregulación ambiental en la industria, ENTORNO.
- SIGOILLOT, J.C. and M. H. NGUYEN, 1992. Complete oxidation of linear alkylbenzene sulfonate by bacterial communities selected from coastal seawater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58: 1308-1312.

- SMULDERS, E. y P. KRINGS, 1990. Detergents for the 1990's. *Chemistry & Industry*, **19**: 160-163.
- SWISHER, R.D., 1963. Biodegradation of ABS in relation to chemical structure. *JWPCF*, **7**: 877-891.
- \_\_\_\_\_, 1964. LAS: major development in detergents, *Chem. Eng. Prog.*, **60**: 41-45.
- \_\_\_\_\_, 1970. Surfactant Biodegradation, Marcel Dekker Inc., N.Y. U.S.A., 1-15 p.
- TAKADA, H. y R. ISHIWATARI, 1990. Biodegradation experiments of linear alkylbenzenes (LABs): Isomeric composition of C12 LABs as an indicator of the degree of LAB degradation in the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.*, **24**: 86-91.
- SDA, 1991. The soap and Detergent Association. Environmental and human safety of major surfactants. vol.1 Anionic surfactants part.1. Linear Alkylbenzenesulfonates, Arthur D. Little, Inc., Cambridge, MA., I-I y VI-IX1 pp.
- ZURRER, D.; M. A. COOK y T. LEISINGER, 1987. Microbial desulfonation of substituted Naphthalenesulfonic acids and Benzenesulfonic acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**:1459-1463.