

Estudio de la biodegradabilidad y ecotoxicidad sobre colorantes textiles

F. YONNI, H. FASOLI, M. GIAI y H. ÁLVAREZ

Escuela Superior Técnica "Grl Manuel N Savio". Cabildo 15. (1426). Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. Telf.: (5411) 47793300. Correo-e: profyonni@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

Desde el año 1989, la industria textil fue catalogada entre las diez principales actividades generadoras de desechos tóxicos líquidos (EPA-1990) la mayoría de los cuales tienen como receptor final el medio acuífero. Dichos desechos tienen gran variabilidad de componentes y carga contaminante. Son fuertemente coloreados, deficientes en nutrientes y con una baja presencia de microorganismos^[10]. Estas aguas residuales son generalmente de naturaleza alcalina, con un elevado valor de demanda biológica de oxígeno (DBO) y de demanda química de oxígeno (DQO). Son vertidas a temperaturas elevadas y pueden llegar a presentar metales pesados (procesos de teñido y acabado), agentes surfactantes, humectantes y otras sustancias químicas complejas provenientes de diversos procesos a saber:

1. Generación de fibras de origen natural (algodón, lana, seda, etc.) o de fuentes manufacturadas (poliéster, rayón, nylon, etc.).
2. Producción de hilo para telas tejidas.

3. Preparación, coloración, impresión y acabado de una tela terminada.
4. Fabricación de un producto final (prenda de vestir, artículos para el hogar, productos industriales, etc.).

La generación de agua residual en una industria textil se estima entre 100 y 140 mL por cada kilogramo de producto teñido disperso (poliéster) y entre 125 a 170 mL por kilogramo de producto coloreado (en forma directa o reactiva) de elevada toxicidad, algunos de los cuales, son sustancias carcinógenas y mutágenas^[11].

Por muchos años, el método empleado para tratar dichos efluentes fue la aplicación de hipoclorito de sodio. Esta práctica no asegura la presencia de un efluente libre de contaminantes ya que los compuestos aromáticos pueden reaccionar con el hipoclorito de sodio generando derivados policlorados no biodegradables, que resultan tanto o más tóxicos que sus precursores. Para evitar esta problemática en los últimos años se han desarrollado técnicas de tratamiento de efluentes que utilizan microorganismos en alguna de las etapas del proceso.

Los primeros trabajos que vinculan la eliminación de compuestos contaminantes mediante la actividad de ciertos microorganismos, se remiten a comienzos del siglo XX^[12]. En éstos se observó que las parafinas (C_nH_{2n+2}) y el anillo de benceno pueden ser utilizados como fuente de carbono de algunos microorganismos, eliminándose dióxido de carbono y agua. Desarrollos posteriores han demostrado que diversos sistemas bacterianos pueden ser utilizados para oxidar gran variedad de compuestos

Proceso	Propósito	Compuestos presentes en el efluente textil
Directo y Reactivo	Coloración del algodón	Coloración azul o verde (sales de cobre), agentes surfactantes, antiespumantes, secuestrantes, agentes niveladores y retardadores. Diluyentes, ácido acético, fijadores.
Disperso	Coloración de poliéster	Colorantes, ácido acético, EDTA, fosfatos, transportadores (benzoato de metilo, benzoato de fenilo), lubricantes, diluyentes, hidróxido de sodio, hidrosulfito de sodio.
Impresión	Rayón	Soluciones de urea

con punto de ebullición mayor a 60°C como pueden ser sales de ácidos grasos, sales de ácidos orgánicos, glucosa, sacarosa, glicerina, peptona, alcoholes, caucho, celulosa, etc. Sin embargo en los años veinte, Lyman y Langwell ^[13] han observado algunas limitaciones en la degradación bacteriana de ciertos compuestos celulósicos, encontrando que determinadas bacterias necesitan de un tratamiento previo de activación.

Si bien en la actualidad se ha generalizado el uso de sistemas bacterianos para el tratamiento de efluentes con elevada carga orgánica, su uso en forma masiva presenta cierta dificultad cuando se intenta oxidar hidrocarburos poliaromáticos de cinco o más anillos bencénicos, debido a la baja biodisponibilidad que presentan estos compuestos al ataque bacteriano. Ante esta dificultad se comienza a centrar la atención en otros microorganismos. En 1925, Heukelekian y



FIGURA 1. *Bjerkandera* sp. en estado natural.

Waksman ^[14] estudiaron la capacidad de hongos del suelo, *Trichoderma* y *Penicillium*, de degradar la celulosa a dióxido de carbono, empleando el grupo NH_4^+ como fuente de nitrógeno.

La mayoría de los tratamientos de efluentes líquidos que contienen colorantes sintéticos, y que se consideran eficientes, utilizan técnicas fisicoquímicas, tales como adsorción, oxidación química, precipitación, fotodegradación o filtración por membrana ^[1, 2]. Estas técnicas presentan para su utilización en industrias de pequeña a mediana producción serias restricciones por no ser consideradas métodos económicamente factibles por sus altos costos ^[3, 4]. Esto ha dado lugar a considerar el uso de sistemas bacterianos para el tratamiento de efluentes textiles logrando en algunos casos transformar determinados colorantes a productos no coloreados ^[5, 6].

Sin embargo la mayoría de los colorantes sintéticos son considerados compuestos xenobióticos que se caracterizan por presentar características recalitrantes a los procesos biodegradativos por lo que los efluentes que los contienen provocan severa contaminación de los cuerpos de aguas donde son descargados ^[7]. Es por ello que, durante los últimos años se ha investigado el uso de varias especies de hongos ligninolíticos como una herramienta a ser utilizada para degradar colorantes sintéticos por acción de sus sistemas enzimáticos extracelulares, ligninasas, peroxidadas o lacasas logrando en algunos casos mineralizarlos totalmente ^[8].

Dentro de esta línea de investigación, este trabajo sostiene la hipótesis de que la cepa *Bjerkandera* sp. BOS55 posee una potencial capacidad para degradar colorantes textiles resistentes al ataque bacteriano y que los productos generados en su decoloración disminuyen la ecotoxicidad del sistema.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente trabajo *Bjerkandera* sp. cepa BOS55 (ATCC 90940) fue cedida por el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela (España). La misma fue mantenida a 4° C en cápsulas de Petri en medio Peptona-Extracto de Malta y transferida para su posterior uso a cápsulas de Petri con medio de cultivo Glucosa-Extracto de Malta. Las cápsulas fueron incubadas en estufa a 26° C durante 7- 13 días.

Extracto de malta MERCK ®	15,0 g
Agar nutritivo MERCK ®	3,5 g
Glucosa anhidra MERCK ®	10,0 g
Agua destilada c.s.p.	1,0 L

Luego de incubar para su crecimiento homogéneo, se utilizó como inóculo para los ensayos de decoloración, un cilindro plug de *Bjerkandera* de 5 mm de diámetro.

Para determinar la degradación de los colorantes se empleó medio nutritivo limitado de nitrógeno (según Tien y Kirk ^[9]), que contiene glucosa, tartrato de amonio (2,2 mM), acetato sódico (24 mM), 100 mL de medio mineral BIII y ajustando el pH a 4,5. Finalmente se añaden 10 mL de tiamina 200 ppm filtrada.

Se colocan en frascos de 100 mL alícuotas de 10 mL de medio nutritivo contaminado con cada colorante (previamente esterilizado en autoclave) y se inocularon los cilindros plug de *Bjerkandera* sp. cepa BOS55 (ATCC 90940), se incubó en condiciones estáticas en estufa, bajo presión atmosférica y a 26° C durante 7- 13 días.

Los colorantes utilizados (cedidos por la firma comercial Anilinas RIEGER S.A.) fueron negro directo 38 y rojo ácido 114 ambos con probadas

características carcinogénicas (Chemical Sampling Information- U.S. Department of Labor).

Su decoloración se cuantificó durante 14-18 días (desde la incubación del sistema: día 0) sobre una alícuota de 0,2 mL de muestra contaminada la que se diluyó 1:5 y se cuantificó por espectrometría ultravioleta/visible (SHIMADZU ® MultiSpec-1501) trabajando a longitudes de onda de 503 y 439 nm para el colorante rojo ácido 114, y de 504 y 369 nm para el colorante negro directo 38.

TABLA 3. Medio Mineral BIII según Kirk y Tien	
K ₂ HPO ₄	20,0 g
MgSO ₄	5,0 g
CaCl ₂	1,0
Solución de elementos trazas (*)	100 mL
Agua destilada esterilizada csp. 1000 mL	
Mgso ₄	3,0 g
Mnso ₄	0,5 g
NaCl	1,0 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
CoCl ₂	0,1 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
CuSO ₄	0,1 g
H ₃ BO ₃	0,01 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,01 g
AlK(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	0,01 g
Nitrilotriacetato	1,50 g
Agua destilada esterilizada csp.	1000mL

(*) Elementos trazas (por litro)

La evaluación de la ecotoxicidad de los medios contaminados con colorantes, con y sin degradar, se cuantificaron a través de la DL₅₀ a 24 horas (Método: Trimmed-Spearman-Karber /Montana State University) de *Artemia salina* trabajando con alícuotas de 10 mL en tubos de ensayo y por cuadruplicado, con cinco (5) individuos por tubo.

TABLA 4. Dosis Letal 50 (DL ₅₀) con <i>Artemia salina</i>		
Tipo de Medio	Antes de siembra (dilución)	Después de 14 días (dilución)
Medio nutritivo sin contaminar (blanco)	1:10	1:10
Medio contaminado con negro directo 38	1:100	1:20
Medio contaminado con rojo ácido 114	1:100	1:30

RESULTADOS

Las Figuras 5 y 6 muestran la variación de absorbancia en función del tiempo para el colorante rojo ácido 114 (503/439 nm) y para el negro directo 38

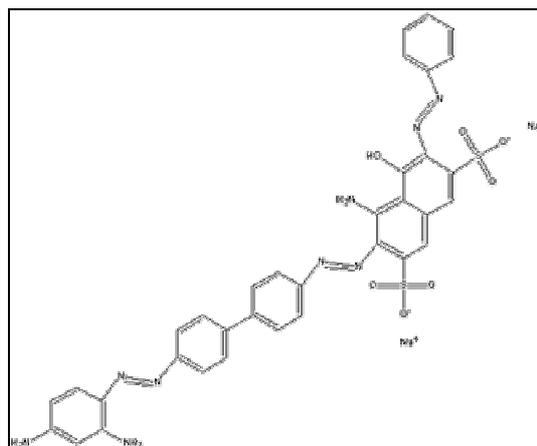


FIGURA 2. Estructura química del negro Directo 38

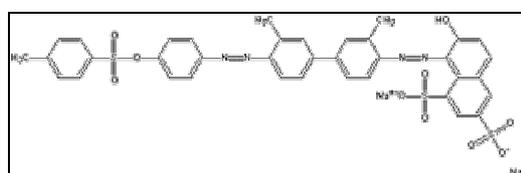


FIGURA 3. Estructura química del rojo ácido 114



FIGURA 4. *Artemia salina*

(504/369 nm) respectivamente y a las longitudes de onda ensayadas.

La dosis letal 50 (DL₅₀) con *Artemia salina* ensayada sobre el sistema del medio nutritivo contaminado con los colorantes antes y después de 14 días de decoloración por *Bjerkandera* sp. cepa BOS55 (ATCC 90940) arrojó los resultados expresados en la tabla 4.

CONCLUSIONES

El análisis de los valores cuantificados (mostrados en las Figuras 5 y 6 y en la Tabla 4) permiten concluir que se verifica la hipótesis de que la cepa *Bjerkandera* sp. BOS55 posee capacidad para

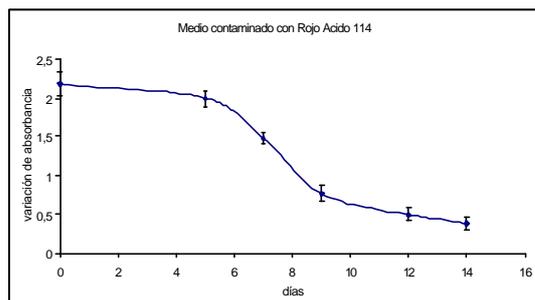


FIGURA 5. Decoloración del rojo ácido 114

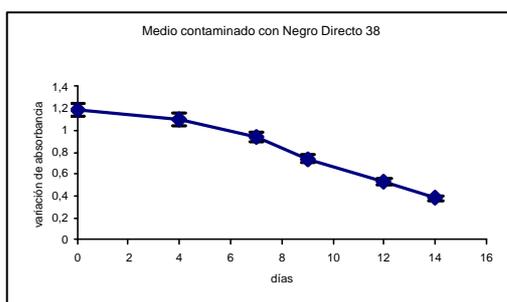


FIGURA 6. Decoloración del negro directo 38

degradar colorantes textiles resistentes al ataque bacteriano y que los productos generados en su decoloración disminuyen la ecotoxicidad del sistema. Además se encontró que, *Bjerkandera* decoloró más rápidamente el medio contaminado con rojo ácido 114 que al medio contaminado con negro directo 38 y que ambos medios contaminados con colorantes, una vez decolorados, resultaron considerablemente menos tóxicos que los sistemas originales; y el sistema contaminado con negro directo 38 decolorado resultó levemente menos tóxico que el contaminado con rojo ácido 114.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Yeh RYL, Thomas A (1995) Color difference measurement and color removal from dye wastewaters using different adsorbents. *J Chem Tech Biotechnol* 63:55-59

- [2] Churchley JH (1994) Removal of dyewaste colour from sewage effluent- the use of a full scale ozone plant. *Water Sci Tech* 30:275-284
- [3] Rodman, C.A.: Removal of colour from textile dye wastes. *Textile Chemist and Colorist* 3 (1971) 45-53
- [4] Anliker, R.: Ecotoxicology of dyetuff ± a joint effort by industry. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 3 (1979) 59-74
- [5] Shaul GM, Holdsworth TJ, Dempsey CR, Dostal KA (1991) Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process. *Chemosphere* 22:107-119
- [6] Gill PK, Arora DS, Chander M (2002) Biodecolorization of azo and triphenylmethane dyes by *Dichomitus aqualens* and *Phlebia spp.* *J Ind Microbiol Biotechnol* 28:201-203
- [7] Robinson, T., Chandran, B. & Nigam, P. 2001 Studies on the decolorization of an artificial textile eluent by white-rot fungi in N- rich and N- limited media. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57, 810-813.
- [8] Pointing, S.B. 2001 Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57, 20-33.
- [9] Tien, M. & Kirk, T.K. 1988 Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods in Enzymology* 161, 238-249.
- [10] Crespi M., "tratamiento de aguas residuales del sector textil", *Revista Galaxia* 164, 1999-3, 49-53.
- [11] Spadaro, J., Gold, M., y Renganathan, V., "Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanaerochatae Chrysosporium*", *Appl. Environ. Microb.*, Vol. 58, Ago 1992, 2397-2401.
- [12] Von Dr. N. L. Shöhngen., "Benzin, Petroleum, Paraffinöl und Paraffin als Kohlenstoff - und Energiupelle für Miktoben".
- [13] Lyman A. H., Langwell H., "Action of bacteria on cellulosic materials", *J. Soc. Chem. Ind.* 42, 1923, 279-287.
- [14] Heukelekian H., Waksman S. A., "Carbon and nitrogen transformation in the decomposition of cellulose by filamentous fungi", *J. Biol. Chem.* 66, 1925, 323-342.