



## Estudio preliminar sobre la decoloración de cristal violeta por una cepa de *Citrobacter freundii*. Influencia del pH y la temperatura.

Diana G. Sánchez Valdés <sup>a</sup>; Yolanda Garza García <sup>a</sup>, Gerardo J. Sosa Santillán <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, d\_sanchez\_valdes@uadec.edu.mx, ygarza@uadec.edu.mx, gdejsosa@uadec.edu.mx.

### RESUMEN.

La presencia de colorantes en las aguas residuales representa un grave problema ambiental, ya que este tipo de compuestos no puede eliminarse con los métodos de tratamiento convencionales. La mayoría de los sistemas de tratamiento basados en métodos químicos o físicos son costosos y requieren de gran cantidad de energía y reactivos, la biotecnología ofrece una alternativa de tratamiento. Una de las ventajas de este tipo de tecnologías es que, además de la decoloración, se puede alcanzar la completa mineralización del colorante. En este trabajo se realizó un estudio preliminar sobre la capacidad de biodegradación de colorantes de una cepa de *Citrobacter freundii* utilizando como modelo de estudio al colorante cristal violeta, el cual ha sido ampliamente usado en la industria textil. Se realizaron cinéticas de biodegradación a diferentes pH's y temperaturas, a fin de determinar el porcentaje de decoloración y verificar el incremento en la cantidad de biomasa como indicativo de que el cristal violeta estaba siendo utilizado como fuente de carbono por el microorganismo.

### 1. INTRODUCCIÓN.

La industria textil es uno de los sectores industriales con mayor producción a nivel mundial, pero el uso de colorantes para los procesos de teñido genera gran cantidad de residuos impregnados de colorante, los cuales son vertidos en el agua de forma indiscriminada y usualmente sin ningún tipo de tratamiento<sup>1</sup>.

La composición química de los colorantes favorece la fijación de las fibras a teñir, para que estos sean capaces de resistir los diversos factores que afectan su composición y de esa forma mantener integro su color. Y es esta composición química la que los hace tóxicos y peligrosos para el medio ambiente, pues una vez que se encuentran en el agua impiden el paso de la luz, dificultando el proceso fotosintético que llevan a cabo muchos organismos, además su presencia representa un problema estético y un gran foco de contaminación<sup>2</sup>. Se han utilizado distintos métodos, tanto físicos como químicos para eliminar el color del agua, sin embargo dichos métodos no son tan específicos y conllevan altos costos. Los procesos biotecnológicos resultan una alternativa favorable para resolver este problema de contaminación al ser más dirigidos y tener un enfoque más propicio para el medio ambiente<sup>3</sup>.

Una de las ventajas de este tipo de tecnologías es que, además de la decoloración, se puede alcanzar la completa mineralización del colorante. Existe un gran número de microorganismos con la capacidad de eliminar el color de las aguas residuales mediante mecanismos como: la biosorción, la biodegradación aeróbica o anaeróbica y la producción de enzimas que catalizan la decoloración. Una de las aplicaciones de la biotecnología es la caracterización, aislamiento y aplicación de nuevas cepas microbianas, éstas pueden constituir la base de tecnologías novedosas para la remediación de compuestos xenobióticos que no son fácilmente degradados con los métodos convencionales. Por ello en esta investigación se presenta un estudio preliminar para la decoloración de cristal violeta, a través de la biodegradación por acción de una cepa bacteriana de *Citrobacter freundii*. Esta metodología representa un proceso biológico factible para



eliminar el color del agua biodegradando el colorante, pues se fundamenta en que los microorganismos utilicen como fuente de carbono la sustancia o compuesto a degradar.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL.

Cepa Bacteriana. Se utilizó una cepa de *Citrobacter freundii* perteneciente a la colección del Departamento de Biotecnología.

Precultivo. El inóculo inicial de la cepa se obtuvo realizando un precultivo bajo condiciones aerobias en un medio de cultivo de referencia por un tiempo de 12 horas.

Colorante a utilizar. Como modelo de estudio para probar la capacidad biodegradativa de *C. freundii*, se utilizó cristal violeta; un colorante de amplio uso en actividades de teñido textil.

Cinéticas de decoloración. Las células fueron crecidas aeróbicamente en un medio mineral, adicionado con una concentración definida del colorante, por un período de 5 horas. Las cinéticas se realizaron en matraces de 250 mL conteniendo 40 mL del medio mineral inoculado con 10 mL de suspensión de *C. freundii* proveniente del precultivo, e incubados a 30°C con una agitación de 250 rpm.

La reacción de biodegradación fue monitoreada a 4 pH's diferentes (6.0, 7.0, 8.0, 9.0) y 3 temperaturas diferentes temperaturas (30 °C, 35 °C y 40 °C). Todos los ensayos fueron hechos por triplicado. La actividad de decoloración se expresó en términos del porcentaje de decolorización. Cada hora se tomó una muestra del reactor la cual fue centrifugada a 5,000 rpm por 10 minutos. El sobrenadante fue utilizado para determinar la decolorización de los colorantes monitoreando la disminución en absorbancia al máximo valor de longitud de onda del cristal violeta (590 nm). La actividad de decoloración fue calculada como sigue:

$$\text{Decolorización(\%)} = \frac{(\text{absorbancia inicial}) - (\text{absorbancia observada})}{(\text{absorbancia inicial})} \times 100$$

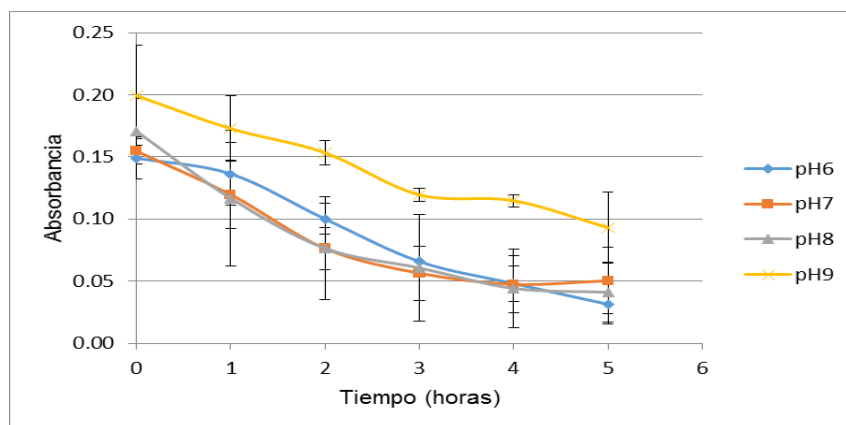
El paquete celular obtenido de cada muestra fue lavado un par de veces y utilizado para la determinación de proteína por el método de Peterson modificado.

## 3. RESULTADOS y DISCUSIONES.

En la Figura 1 se observa el comportamiento de la absorbancia en función del tiempo para cada uno de los cuatro niveles de pH probados. Esta figura, junto con los valores expresados en la Tabla 1 demuestran que bajo un pH cercano a la neutralidad, se obtiene mayor porcentaje de decoloración, pues representa el nivel óptimo en el que muchos microorganismos se desarrollan y en el que se llevan a cabo múltiples reacciones.

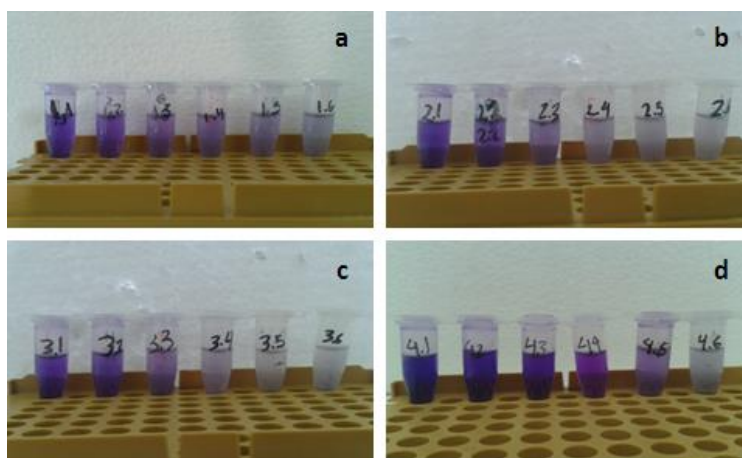
**Tabla 1.** Porcentaje de decoloración en el proceso de degradación de cristal violeta bajo la influencia del pH

| pH  | % Decoloración. |
|-----|-----------------|
| 6.0 | 78.8            |
| 7.0 | 67.42           |
| 8.0 | 75.92           |
| 9.0 | 54.94           |



**Figura 1.** Influencia del pH sobre la actividad de biodegradación.

La Figura 2 muestra resultados visuales de las cinéticas de biodegradación a diferentes pH's. Si se analiza esta imagen en conjunción con los porcentajes de decoloración puede observarse que el comportamiento de decoloración es mejor en los pH's de 7.0 y 8.0, ya que se alcanza un mejor tratamiento.

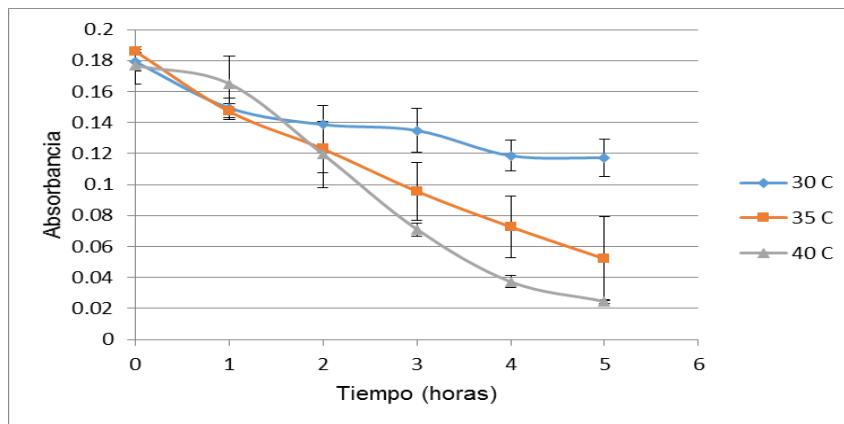


**Figura 2.** Resultados visuales de las cinéticas de decoloración de cristal violeta por *C.freundii*. a) pH 6.0, b) pH 7.0, c) pH 8.0, d) pH 9.0 .

La Figura 3 muestra la influencia de la temperatura sobre la actividad de biodegradación del cristal violeta. Los resultados obtenidos para estas cinéticas demuestran que la temperatura óptima fue de 40 °C, con un porcentaje de degradación del 86.13 % (Tabla 2). Resultado que es muy aceptable, pues estudio realizados por otros autores para la degradación de colorantes azo y



trifenilmetano mediante *Citrobacter* mencionan que el mayor porcentaje de decoloración se obtuvo a una temperatura de 35-40 °C (An *et al.*, 2002).



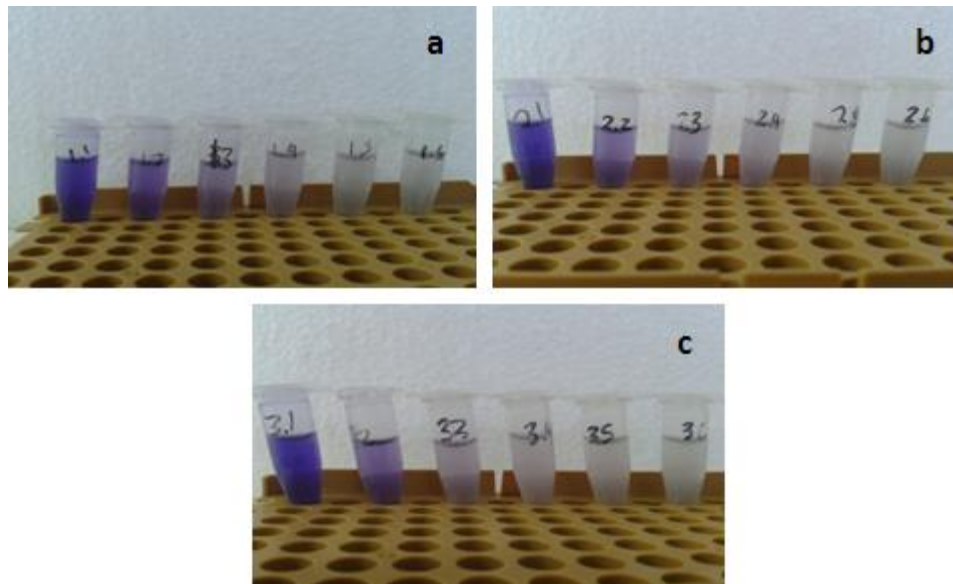
**Figura 3.** Influencia de la temperatura sobre la actividad de biodegradación

**Tabla 2.** Porcentaje de decoloración en el proceso de degradación de cristal violeta bajo la influencia de la temperatura.

| Temperatura °C | % Decoloración |
|----------------|----------------|
| 30             | 34.5           |
| 35             | 71.97          |
| 40             | 86.13          |

Resulta interesante, que este microorganismo cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra alrededor de los 37° C, demuestre resultados favorables de decoloración a una temperatura superior, como se muestra en la Tabla 2 y la Figura 4, revelando que la cepa de *Citrobacter freundii* tiene la capacidad de decolorizar el cristal violeta presente en las soluciones de prueba.





**Figura 4.** Resultados visuales de las cinéticas de decoloración de cristal violeta por *C.freundii*. a) Temperatura 30 °C, b) Temperatura 35 °C, c) Temperatura 40 °C.

#### 4. CONCLUSIONES.

Los procesos biológicos son una opción para el tratamiento de efluentes contaminados. Este estudio preliminar muestra el potencial que la cepa de *Citrobacter freundii* tiene para ser utilizado en procesos de tratamiento de aguas contaminadas con colorante. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se establece que las condiciones óptimas para la decoloración del cristal violeta por actividad biodegradativa de *Citrobacter freundii* se da bajo las siguientes condiciones: el nivel de pH de 7.0 y la temperatura de 40°C. Bajo estas condiciones fue posible alcanzar un porcentaje de decoloración de hasta 86 %.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz Rábago Edwin de Jesús, Vicente Rodríguez Ortiz. 2008. Cinética de la decoloración de colorantes en una muestra modelo en presencia de un catalizador. Tesina Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Veracruz, México.
2. Soares GMB, Hrdina R, Pessoa de Amorim MT, Costa-Ferreira M (2002) "Studies on biotransformation of novel disazo dyes by laccase". Proc. Biochem. 37:581–587.
3. Cortazar-Martinez A, González Ramírez CA, Coronel-Olivares C, Escalante-Lozada JA. 2012. "Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. Universidad y Ciencia. 28(2):187-199.
4. An Sun-Young, Min Sang-Ki, Cha In-Ho, Choi Yong-Lark, Cho Young-Su, Kim Cherol-Ho y Choon Lee Young. 2002. Decolorization of triphenylmethane and azo dyes by *Citrobacter* sp. Biotechnology Letters. Vol (24):1037-140.