**Estudio preliminar de la degradación del colorante azul índigo mediante un proceso fermentativo aerobio utilizando una cepa de *Citrobacter freundii*.**

Martha E. Ocaña Lópeza, Gerardo J. Sosa Santillána, Yolanda Garza Garcíaa

aUniversidad Autónoma de Coahuila. Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas. Saltillo, Coahuila. Emily\_26\_sol@hotmail.com, gdejsosa@uadec.edu.mx

**RESUMEN**

En la actualidad, la presencia de colorantes en las aguas residuales representa un problema ambiental, ya que este tipo de compuestos no puede eliminarse con los métodos de tratamiento convencionales, esto se debe a la alta concentración de colorantes. Para la eliminación de estos se han empleado diversos procesos, de tipo físico, químico y biológico. Por ello este trabajo tienen por objetivo establecer las mejores condiciones para la biodegradación del colorante Azul índigo, mediante un proceso fermentativo aerobio utilizando una cepa de *Citrobacter freundii*. Para la evaluar la degradación del colorante se realizaron cinéticas empleando diferentes concentraciones de colorantes (2.5, 5 y 7.5 ppm) y temperaturas (30, 35 y 40 °C). Utilizando un medio mineral de referencia, la cepa empleada fue previamente adaptada a la presencia del colorante. La determinación de proteínas se realizó por el método de Peterson modificado. Para el análisis de datos se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas, siendo la concentración del colorante el factor principal. La variable a evaluar fue el porcentaje de degradación. Los resultados muestran que se logró degradar el colorante Azul índigo eficientemente, obteniendo hasta 56 % de remoción. El sistema que tuvo mayor porcentaje de degradación fue bajo las siguientes condiciones: 5 ppm del colorante y 35 °C. El porcentaje y la velocidad de degradación del Azul índigo son directamente proporcionales a la concentración inicial del colorante y se modela como un decaimiento exponencial con respecto al tiempo.

**Palabras clave:** Biodegradación, *Citrobacter freundii*, Colorantes indigoides.

**INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, como una consecuencia de la industrialización, el mundo enfrenta problemas de contaminación ambiental. Este problema se vuelve día a día más importante a pesar de que existen tratamientos de remoción de contaminantes y programas de reducción y disposición de residuos; en muchos de estos procesos, el problema se elimina solo parcialmente o al resolverlo, se genera otro, debido a la difícil degradación total de los residuos (Cervantes, 2007).Una opción con la que es posible mineralizar completamente los contaminantes son los procesos biológicos. La biodegradación de colorantes utilizados en la industria textil ha sido objetivo de investigación desde hace ya algunos años debido al problema de contaminación ambiental que representan. (Cai *et al.,* 2009).Es por ello que se está generando una fuerte demanda de tecnologías que permitan eliminar el color en las aguas residuales. Sin embargo, algunas tecnologías son altamente específicas, tienen costos elevados, y no se aplican para una amplia variedad de colorantes (Anjaneyulu *et al.,* 2005).

**METODOLOGÍA**

Se empleó como modelo de estudio el colorante; Azul índigo, el cual fue diluido con agua destilada al 0.5% posteriormente se esterilizo para evitar cualquier contaminación posible. Se utilizó una cepa de *Citrobacter freundii* previamente adaptada a la presencia del colorante. Con respecto a la cinética de degradación, se preparó medio mineral (40 mL)de acuerdo a lo siguiente: Cloruro de sodio 0.5%, Cloruro de potasio 0.5%, Fosfato de potasio 0.2%, Nitrato de sodio 0.3%, Sulfato de magnesio 0.001%, Agar bacteriológico 0.5% y Glucosa 0.5% a pH 8; también se preparó un matraz de medio liquido (50 mL):caldo nutritivo 0.8%, peptona de caseína 0.3%, extracto de levadura 0.2%., Se inoculó la cepa en el medio líquido y se puso a incubar en agitación constante durante 12 horas a 32 °C. Al medio mineral se le agregó 10 ml de la suspensión celular y diferentes concentraciones de colorante (2.5, 5 y 7.5 ppm), enseguida se metió a la incubar a diferentes temperaturas (30, 35 y 40°C) en agitación constante, para tomar las alícuotas de 1 ml por muestra cada 3 horas, una vez terminado el monitoreo, las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm durante 5 minutos, del sobrenadante obtenido se le agregó 1 ml de agua destilada para realizar la lectura en el espectrofotómetro a 420 nm de absorbencia. La fórmula 1 se emplea para determinar el porcentaje de decoloración.

(Absorbancia inicial) – (Absorbancia final)

(Absorbancia inicial)

X 100

Para la determinación de proteínas se utilizó el paquete celular que fue obtenido de cada muestra, el cual fue lavado un par de veces, para ello fue utilizado el método de Peterson modificado y las muestras se leyeron a una longitud de onda de 750 nm.

**RESULTADOS**

Los resultados de la evaluación de remoción de colorantes mediante diferentes temperaturas se muestran a continuación (Cuadro I), en ellos se demuestra que a la temperatura de 35 °C se obtiene mayor porcentaje de decoloración,

**Cuadro I.** Resultados de la remoción del colorante azul índigo bajo diferentes temperaturas (30, 35 y 40 °C).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| T°C | Abs  inicial | Abs  final | % de remoción |
| 30° | 0.4193 | 0.2627 | 37.34 |
| 35° | 0.6173 | 0.3463 | 43.90 |
| 40° | 0.5177 | 0.3880 | 25.05 |

Los resultados del incremento de proteína a cada nivel de temperatura probado se muestran en la Figura 1. Donde a 35 °C el microorganismo aumenta su capacidad para tomar el colorante como fuente de carbono e incrementar así su cantidad de proteína y lograr porcentajes de decoloración aceptables.

**Figura 1.** Incremento de la proteína celular durante el proceso de biodegradación a diferentes temperaturas.

En relación a las diferentes concentraciones de colorantes, se observó que con 5 gr de azul índigo el porcentaje de degradación era mayor (Cuadro II).

**Cuadro II.** Resultados de la remoción azul índigo bajo diferentes concentraciones de colorantes (2.5, 5 y 7.5 ppm).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Conc del colorante | Abs inicial | Abs final | % de remoción |
| 2.5 ppm | 0.4170 | 0.3053 | 26.78 |
| 5.0 ppm | 0.6193 | 0.3817 | 38.36 |
| 7.5 ppm | 0.5163 | 0.3903 | 24.40 |

El análisis estadístico mostró diferencia significativa para los tres niveles de concentraciones evaluados. Donde a simple vista se puede observar la diferencia significativa que muestra la siguiente figura, haciendo énfasis en la concentración de 5 ppm donde existe mayor cantidad de proteína.

Figura 2. Incremento de la proteína celular durante el proceso de biodegradación a diferentes concentraciones de colorante.

Es evidente observar que a una menor y mayor concentración de colorante (2.5 y 7.5 ppm) se obtuvo un menor porcentaje de decoloración, sin embargo a 5.0 ppm de colorante se presentó un incremento de proteínas y por ende un mayor porcentaje de degradación.

Estos factores han sido más frecuentemente utilizados, ya que ayuda a disminuir la contaminación ambiental e incluso a la reutilización del agua.

) x 100% (Absorbancia inicial)

**CONCLUSIONES**

En los resultados de esta investigación, mediante el proceso fermentativo aerobio propuesto, se logró degradar el colorante Azul índigo eficientemente, obteniendo hasta 56 % de remoción. El sistema que tuvo mayor porcentaje de degradación de la solución de Azul índigo fue bajo las siguientes condiciones: 5 ppm del colorante y 35 °C. El porcentaje y la velocidad de degradación del Azul índigo son directamente proporcionales a la concentración inicial del colorante y se modela como un decaimiento exponencial con respecto al tiempo.

La capacidad de degradar colorantes textiles *in vitro*, bajo diferentes condiciones de Temperatura y Concentraciones de colorantes sustenta la aplicación de *Citrobacter freundii* (en medios de cultivo de referencia) en procesos de biorremediación de estos compuestos.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Anjaneyulu, Y. Sreedhara-Chary, N. y Suman-Raj, S. 2005. Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Rev. Environ. Sci. Technol.,* 4: 245–273.
2. Cervantes, F. J. 2007. Increase business competitiveness with water recycling. *AsianWater*3:14-17.
3. Cai, J. Cui, L. WANG, Y. LIU Chengfu. 2009. Effect of functional groups on sludge for biosorption of reactive dyes. Journal of Environmental Sciences. 21:534–538.