

## ENSAYO DE CRECIMIENTO BACTERIANO EN UN EFLUENTE INDUSTRIAL RECALCITRANTE

Fariás, Alejandro R.<sup>1</sup>, Utgés, Enrique E.<sup>1</sup>, Tenev, María D.<sup>1</sup>, Hervot, Elsa I.<sup>1</sup>, Utgés, Enid M.<sup>1</sup>, Baccaro, Julián<sup>1</sup>, Mlot, Zaira<sup>2</sup>.

1: Grupo de Investigación Sobre Temas Ambientales y Químicos  
Universidad Tecnológica Nacional  
Facultad Regional Resistencia  
French 414. Resistencia, Chaco. CP 3500  
e-mail: gistaq@gmail.com

2: Indunor Sociedad Anónima  
La Escondida, Chaco. CP 3514  
e-mail: zmlot@indunor.com

**Resumen.** *La fabricación de furfural a partir del procesamiento de aserrín de quebracho colorado luego de extraerle el tanino, genera en la primera etapa de destilación, un efluente líquido denominado "aguas madres", con bajos valores de pH, que contiene principalmente ácido acético y algo de furfural. Actualmente, dicho efluente es tratado mediante un sistema de pantanos secos que utiliza plantas del lugar para la biorremoción. El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento bacteriano en medios de cultivo sólidos preparados con distintas concentraciones del efluente industrial, para determinar la más adecuada. En ellos, se inocularon bacterias autóctonas provenientes de distintos sectores de la planta de tratamiento (cámara de mezcla, lodos de las piletas de sedimentación y raíces del sistema de pantanos secos). En estos medios, preparados en placas de Petri y enriquecidos con fuentes de fósforo y nitrógeno como nutrientes, se sembraron bacterias por el método de estrías. Se incubaron, por duplicado, en estufa durante 14 días a 30°C y la confirmación de crecimiento se realizó a través de la observación. El grupo de bacterias aisladas será utilizado para una segunda etapa de adaptación y ensayos de tratamiento del efluente en un reactor de lecho fluidizado.*

**Palabras clave:** Aguas madres. Furfural. Efluente recalcitrante. Bacterias. Crecimiento.

### 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas ambientales más complejos que se presenta en la actualidad, tanto a nivel local como nacional e internacional, es la cantidad de desechos industriales que, sin un adecuado tratamiento, se vierten al ambiente, como en el caso del vuelco de efluentes líquidos a cursos naturales de agua.

En el interior de la provincia del Chaco, en la localidad de La Escondida, está instalada una planta fabril taninera de la firma Indunor S. A. que produce furfural a partir de aserrín de quebracho colorado, después de la extracción del tanino (aserrín detanizado). El GISTAQ (Grupo de Investigación Sobre Temas Ambientales y Químicos) firmó un convenio específico, dentro del convenio marco preexistente, para estudiar el proceso de tratamiento de efluentes y proponer alternativas.

El furfural es un aldehído heterocíclico derivado del furano que está en la lista de sustancias peligrosas reglamentada por la Occupational Safety and Health Administration (OSHA). En algunas fichas de seguridad de este compuesto, se mencionan las  $DL_{50}$  (dosis letales) para dos especies de peces (*Pimephales promelas* y *Poecilia reticulata*) y una de crustáceo (*Daphnia magna*), todos de agua dulce, aunque en ellas se aclara que no se espera una bioconcentración en organismos acuáticos. El efecto tóxico ocasionado por el furfural parece deberse a que pueden formar compuestos con determinadas moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Singh y Khan, 1995), o bien producir daños sobre la membrana plasmática (Zaldivar y col., 1999). Además, el furfural produce la inhibición de enzimas glicolíticas y fermentativos. Estudios efectuados por varios autores, demuestran que para concentraciones diferentes de furfural, pero inferiores a 25-30mM, no se observa inhibición en el crecimiento de distintos microorganismos. [1], [2], [3], [4].

Como cualquier efluente industrial, previo a su vuelco a un cuerpo receptor, deberá ser sometido a tratamiento. Para constatar que los parámetros cumplen con los valores de vuelco que establece la Ley N°3230 “Código de Aguas de la Provincia del Chaco”, se deberán realizar distintos análisis al mismo para efectuar su descarga.

## 2. MARCO CONCEPTUAL

La extracción de furfural del aserrín de quebracho colorado se realiza, previo agregado de un catalizador, con vapor a presión y temperatura. El vapor de agua que lo contiene junto con otras sustancias se condensa y posteriormente se destila. Este efluente egresa a temperatura cercana a 100°C, tiene un pH muy bajo (entre 2,6 y 3) e inicialmente carece de microorganismos. Contiene altos niveles de materia orgánica aportada por algunos ácidos carboxílicos, de los cuales el ácido acético es el constituyente principal (con una proporción entre el 1 y el 5% p/v) y también contiene furfural, en concentraciones de hasta 600 ppm. Estos porcentajes dependen del buen funcionamiento de la primera columna de destilación. En las columnas de buena calidad, el furfural residual tiene concentraciones menores de 50 ppm [5]. En la planta hay otras dos columnas, la segunda, que separa metanol y la tercera, que deshidrata el furfural. La cantidad de ácido acético generado es demasiado baja como para justificar una planta de recuperación, por lo que debe tratarse adecuadamente el efluente.

El proceso de remoción de contaminantes en el efluente es complejo, debido a la característica recalcitrante de algunos de ellos. La presencia de furfural complica la remoción biológica, ya que dicho compuesto ataca las membranas celulares e interfiere con el metabolismo intracelular [6]. Por otra parte, el efecto tóxico que ocasionan los derivados furánicos parece deberse a que, por ser químicamente reactivos, pueden formar compuestos con moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos [7]. Sólo se conocen unos pocos caminos

metabólicos microbianos del furfural. *Saccharomyces spp.* reduce el furfural a alcohol furfurílico. Aunque ha sido más estudiada la degradación en condiciones anaeróbicas [1], existen bacterias aerobias como las *Pseudomonas* [8], que pueden transformar y degradar el furfural.

El volumen de aguas madres generado es de aproximadamente 360 m<sup>3</sup>/día. Dicho efluente es neutralizado con cenizas de la caldera y parcialmente diluido con agua antes de su ingreso a la planta de tratamiento. Durante muchos años, la disposición consistió en una serie de grandes lagunas llamadas “evaporativas”, que se fueron colmatando con el tiempo alcanzando el límite de su capacidad de depuración. En el año 2011, se construyó una nueva planta de tratamiento que se utiliza desde 2012, denominada “Tratamiento por Pantanos Secos Artificiales”, tecnología patentada [9], que inicialmente operaba con gramíneas de origen canadiense que fueron desplazadas posteriormente por las totoras autóctonas.

Se trata de un método natural, que utiliza la capacidad depuradora de las plantas citadas para tratar el efluente generado. El mismo, se acumula en dos grandes piletas sedimentadoras con fondo de suelo arcilloso. Allí sedimentan los sólidos y el líquido se enriquece adicionándole desechos cloacales de la fábrica y del pueblo aledaño. Esta mezcla constituye el *efluente crudo*. Desde los sedimentadores, éste ingresa por gravedad a un sistema de pantanos secos conformado por dos grandes excavaciones en terreno arcilloso, la primera a mayor nivel que la segunda. El recinto más alto constituye el “lecho de lijado” y el segundo, al que el efluente accede por gravedad, es el “lecho de pulido”; ambos operan en serie. Debido al gran caudal de líquido a tratar, se instalaron cuatro lechos de lijado y cuatro de pulido que trabajan simultáneamente. Cada lecho contiene un entramado de caños de PVC con perforaciones colocados en el piso y cubiertos, primero con ripio, y luego con arena hasta una altura aproximada de 1m; sobre ella se instaló otra red de caños perforados que se tapó con más arena y en ésta se plantaron las especies vegetales, luego reemplazadas de manera natural por totoras (figura N°1). El *efluente crudo* ingresa por la red superior de caños de los “lechos de lijado”, atraviesa la capa de arena y es colectado por la red inferior, pasando a una cámara de registro, que permite fijar el nivel de inundación del lecho de pulido de forma que la capa superior de arena se mantenga seca. Por ello, el nombre de pantanos secos. Las totoras, cuyas raíces son irrigadas por el efluente, van absorbiendo los contaminantes y produciendo su fitoextracción. El líquido egresa de los lechos de pulido como *efluente depurado* y se bombea a una piletta como depósito final (figuras N°2 y 3).



Figura N°1: Totoras invadiendo gramíneas canadienses

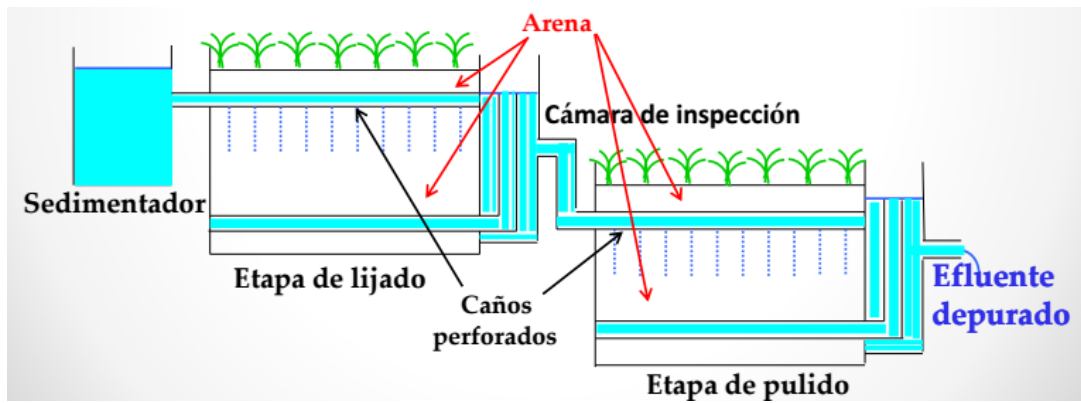


Figura N°2: Esquema de Tratamiento por Pantanos Secos Artificiales

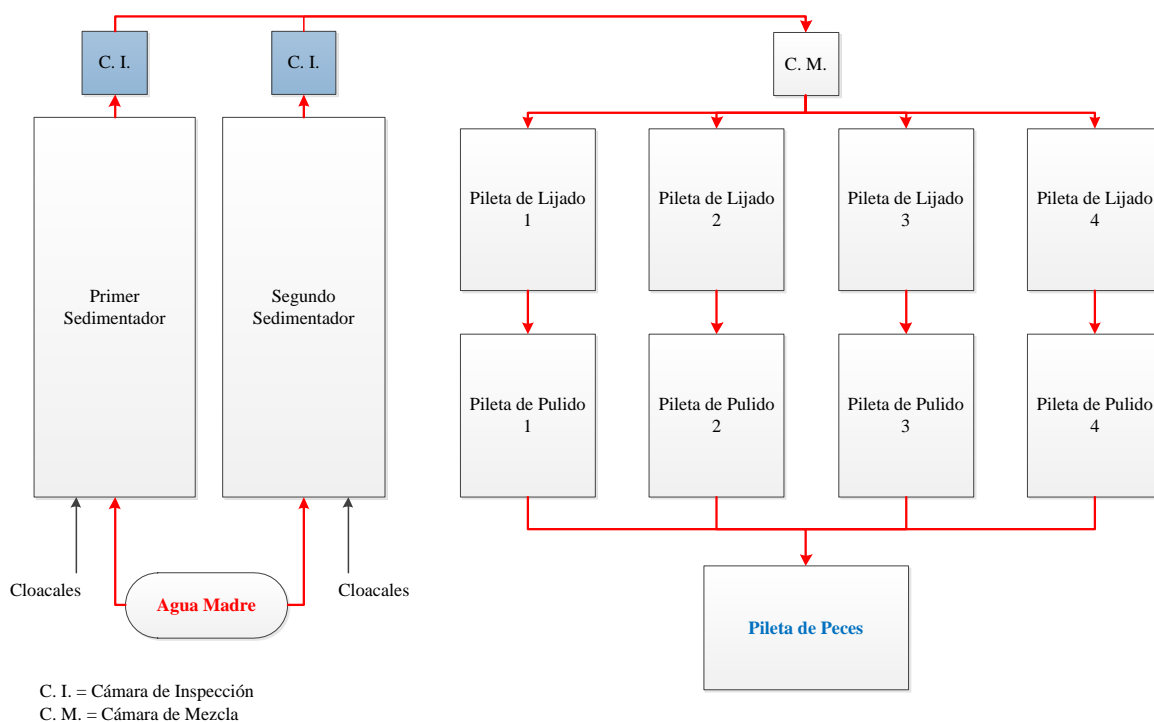


Figura N°3: Plano de la instalación de Pantanos Secos

El sistema descrito presenta dos inconvenientes importantes: el primero es que el efluente, antes de ingresar, debe carecer de sólidos para evitar que se tapen las perforaciones; y el segundo, tener un pH que oscile en el rango de 5 a 8 a fin de no alterar la biota microbiológica que realiza la remoción.

El primer inconveniente se subsana depositándolas aguas madres en las piletas de decantación, como se explica en un párrafo precedente. En cuanto al segundo, se encontró que el pH de las aguas madres se podía elevar adicionando cenizas, fuertemente alcalinas, producidas en la caldera de la planta industrial al quemar los restos del aserrín de quebracho colorado después de la extracción del tanino y furfural (aserrín desfurfulalizado). Las cenizas no eran totalmente solubles y generaban sedimentos. Como alternativa, se trabajó en el laboratorio para alcanzar el valor de pH apropiado, adicionando carbonato de sodio y verificándolo con un peachímetro.

Desde el GISTAQ, se propuso a la empresa poner en marcha un sistema de lechos fluidizados, anaerobio y aerobio, que trabajaría con el efluente industrial previamente neutralizado y en los cuales la remoción la realizarían las bacterias autóctonas provenientes de tres sectores de la planta de tratamiento: cámara de mezcla, lodos de sedimentadores y raíces de totoras.

Los reactores de lecho fluidizado (RLF) constituyen un sistema para el tratamiento de efluentes ricos en materia orgánica que podría aplicarse al tratamiento del efluente producido durante la obtención de furfural. En éstos, se busca lograr el mejor contacto entre el soporte

inerte (arena, carbón activado, alginato) que inmoviliza la película biológica constituida por bacterias y el efluente conteniendo el contaminante a eliminar, para garantizar la mayor remoción. En experiencias previas, se estableció que el soporte deberá tener el menor tamaño de partícula y la mayor superficie de contacto posible [10].

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento bacteriano, inoculando bacterias autóctonas provenientes de distintos sectores de la planta de tratamiento actual, en medios de cultivo (líquido y sólido), preparados con el efluente industrial (aguas madres) distintas concentraciones, para determinar la más adecuada. Esto se realizó en varias etapas:

- Caracterización de las aguas madres.
- Preparación de los medios de cultivo.
- Preparación de los inóculos y sus correspondientes recuentos bacterianos.
- Pruebas de crecimiento en distintas concentraciones de efluente (erlenmeyers y placas de Petri).

#### **3.1 Caracterización de las aguas madres**

El valor del pH del agua madre, obtenido in situ por esta fábrica, es variable pero del orden de 2,5. El análisis por yodometría del contenido de furfural y ácido acético realizado también por la empresa, arrojó los siguientes valores: 400 mg/L de furfural y 1,89 equivalentes de ácido acético por litro. Sin embargo estas concentraciones también sufren variaciones, llegando a detectarse concentraciones de hasta 790 mg/L.

Se tomó una muestra de 20 litros de aguas madres proveniente de la primera columna de destilación utilizando un bidón de 24 litros. La misma fue remitida inmediatamente al laboratorio de investigación del GISTAQ y conservada adecuadamente según los protocolos de análisis correspondientes, hasta el momento de efectuar los mismos. Se realizaron análisis de la misma a fin de realizar su caracterización (tabla N°4). Los restantes ensayos se efectuaron según métodos normalizados (Standard Methods 21 Edition. 2005) o adaptación de los mismos.

#### **3.2 Preparación de los medios de cultivo**

Para la preparación de los medios de cultivo se utilizó agua madre neutralizada, agua de peptona, nutrientes y agar-agar.

Las aguas madres se neutralizaron previamente con carbonato de sodio sólido hasta alcanzar un pH 6 utilizando un peachímetro Hanna. Para 500 ml de agua madre, se agregaron aproximadamente 9,5g del mismo.

Como nutrientes, se utilizaron soluciones de cloruro de amonio 12,7% p/v (marca J.T. Baker Inc. al 99,7% de pureza) y de fosfato diácido de sodio 3,28% p/v (marca Mallinckrodt Chemical Works, al 99% de pureza). Se agregaron las cantidades necesarias para que cada medio tenga una concentración final de 0,33 g/L de N y 0,066g/L de P. Este valor surge de la relación 5:1 que debe existir entre N y P, respectivamente [11].

Se realizaron dos ensayos para evaluar el crecimiento bacteriano a distintas concentraciones de aguas madres: en erlenmeyer y placas de Petri. Ambos medios contenían agua de peptona, nutrientes y distintos porcentajes de agua madre. En los medios líquidos dicho porcentaje cubrió el rango de 2,5 hasta 80%. En los sólidos, de 20 a 98%.

El agua de peptona se utilizó en distintos % p/v a fin de mantener una concentración constante de fuentes de nitrógeno y carbono. Para el testigo, 0% de agua madre, se utilizó agar nutritivo [12]. Los medios de cultivos sólidos se prepararon como se indica, a modo de ejemplo, en la tabla N°1.

<b>Componentes</b>	<b>20%</b>	<b>40%</b>	<b>60%</b>	<b>80%</b>	<b>98%</b>
Volumen de medio	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Agua madre neutralizada	20 ml	40 ml	60 ml	80 ml	98 ml
Agua de peptona	78 ml	58 ml	38 ml	18 ml	0 ml
Solución de cloruro de amonio	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Solución de fosfato diácido de sodio	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Agar-agar	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g

Tabla N°1: Preparación de los medios de cultivo

Luego, se calentaron los medios a baño maría hasta disolver el agar y se esterilizaron en autoclave a 1,5bar y 112°C por un lapso de 15 minutos.

### 3.3 Preparación de los inóculos

Se trabajó con inóculos bacterianos obtenidos de tres fuentes (Figura N°3)

1. Lodos de los sedimentadores, obtenidos del segundo sedimentador, cercano al sector de salida a la cámara de inspección correspondiente.
2. Efluente obtenido de la cámara de mezcla, receptora de los efluentes provenientes de los sedimentadores 1 y 2.
3. Raíces de las totoras, obtenidas a partir de plantas del Lecho de Lijado N°2.

Se realizaron recuentos de mesófilas totales de las tres fuentes para determinar las cargas bacteriales iniciales. A fin de estandarizar la carga bacteriana del inóculo y, a partir de los resultados obtenidos, se prepararon soluciones al 4% p/v de lodos y al 10% p/v de raíces. El efluente se utilizó sin diluir. Al momento del ensayo, se realizaron nuevos recuentos para conocer la carga bacteriana exacta inoculada.

#### 3.3.1 Recuento bacteriano de los inóculos

Se realizaron diluciones de los inóculos con agua de peptona al 1% en condiciones de esterilidad. Dichas diluciones fueron 1/10, 1/10<sup>2</sup>, 1/10<sup>3</sup> y 1/10<sup>4</sup>. Se sembró luego, en placas de

Petri con agar nutritivo, 1ml de cada dilución para cada uno de los tres inóculos. Se incubaron a 30°C por 48 horas y se determinó el número de UFC/ml por medio de recuento de colonias.

### 3.4 Pruebas de crecimiento en distintas concentraciones de efluente

#### 3.4.1 Siembra en Erlenmeyers

El ensayo se realizó por duplicado (a y b), utilizando un inóculo por vez para medios de cultivo líquidos. Se usaron medios con concentraciones crecientes de agua madre como se detalla en las tablas. Se utilizaron erlenmeyers de 250 ml. Se esterilizaron por 2 horas a 140°C y en cada uno de ellos se adicionaron en esterilidad, 100 ml de medio y 1 ml del inóculo correspondiente por ensayo (1 ml de efluente, 1 ml de lodos al 4% p/v y 1 ml de raíces al 10% p/v). Se homogeneizaron al menos una vez por día para oxigenarlos y se incubaron durante 72 horas a 30°C en estufa. El esquema para cada inóculo es el siguiente:















INÓCULO	PORCENTAJE DE AGUA MADRE							
	2,5%		5%		10%		20%	
	a	B	A	b	a	b		
Raíces/Lodos/Efluente								
Observaciones	0% (testigo): medio de cultivo sin agua madre pero con la misma composición de nutrientes. Los erlenmeyers se mantuvieron estériles y oxigenados usando tapones de algodón.							

Tabla N°2: Esquema de siembra de inóculos en Erlenmeyers

INÓCULO	PORCENTAJE DE AGUA MADRE					
	40%		60%		80%	
	A	B	a	b	a	b
Raíces/Lodos/Efluente						
Observaciones	0% (testigo): medio de cultivo sin agua madre pero con la misma composición de nutrientes. Los erlenmeyers se mantuvieron estériles y oxigenados usando tapones de algodón.					







TablaN°2: Esquema de siembra de inóculos en Erlenmeyers (continuación)

Para confirmar el crecimiento bacteriano en los erlenmeyers, se utilizaron los mismos medios de cultivo con el agregado de agar. Se tomó 1 ml de cada erlenmeyer y se lo sembró por inmersión en placas de Petri para el recuento de UFC/ml a las 48 horas.



### 3.4.2 Siembra en placas de Petri

El ensayo se realizó por duplicado (a y b) en medios de cultivo sólidos en placas de Petri esterilizadas para concentraciones crecientes de agua madre desde 0 a 98%. Se dividió cada placa en tres sectores para realizar la siembra por estriado de los tres inóculos al mismo tiempo. Se incubaron durante dos semanas en estufa a 30°C, monitoreando el crecimiento diariamente. El esquema de siembra se muestra en la siguiente tabla:

INÓCULO	PORCENTAJE DE AGUA MADRE											
	0%		20%		40%		60%		80%		98%	
	a	B	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Raíces/lodos/efluente												
Observaciones	0% (testigo): medio de cultivo sin agua madre pero con la misma composición de nutrientes											

TablaNº3: Esquema de siembra de inóculos en placas de Petri

### 3.5 Aislamiento bacteriano y tinción de Gram

Se realizó el aislamiento de las distintas colonias bacterianas presentes en los inóculos, para lo cual, se observaron las características macroscópicas de las mismas, repicando en un pico de flauta a las consideradas diferentes, logrando así su aislamiento. Posteriormente, a cada una de ellas se le realizó una tinción de Gram, determinando las características microscópicas.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Caracterización de las aguas madres

Los resultados obtenidos en el proceso de caracterización del agua madre se presentan en la tabla a continuación.

Determinaciones	Resultados	Métodos
pH	2,61	SM*4500-H <sup>+</sup>
Pot. Redox (mV)	200,9	SM*4500-H <sup>+</sup> B
Conductividad (µs)	1010	SM*2510 B
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	22,8	SM*4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (ppm)	0,23	SM*4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B
DQO (ppm)	24451	SM*5220 D
DBO <sub>5</sub> (ppm)	14789	SM*5210 B
COT (ppm)	4575	SM*5310 D
Sólidos totales (g/L)	226	SM*2540 B
Sólidos volátiles (g/L)	94	SM*2540 E

## Ensayo de Crecimiento Bacteriano en Efluente Industrial Farías et al.

Sólidos fijos (g/L)	132	SM*2540 E
Coliformes totales (CT)	< 3	SM*9221 B
Coliformes fecales (CF)	Ausencia	SM*9221 C
Turbidez (FAU)	13	Hach**8237
Color (Pt-Co)	722	Hach**8025

Tabla N°4: Ensayos y Métodos Normalizados. \* Standard Methods; \*\* Método HACH adaptado de Standard Methods

### 4.2 Preparación de los inóculos

En la Tabla N° 5 se presenta la carga bacteriana determinada para cada uno de los inóculos. Se indica la carga final inoculada en los erlenmeyers, calculada a partir del promedio histórico, en cada uno de los ensayos de crecimiento:

Inóculo	Resultado [UFC/ml]
Efluente s/ diluir	$3,1 \cdot 10^4$
Lodos 4% p/v	$2,8 \cdot 10^4$
Raíces 10% p/v	$1,3 \cdot 10^6$

Tabla N°5: Resultados de carga bacteriana

### 4.3 Pruebas de crecimiento en distintas concentraciones de efluente

#### 4.3.1 Resultados en Erlenmeyers









INÓCULO	PORCENTAJE DE AGUA MADRE							
	2,5%		5%		10%		20%	
	a	B	a	b	A	b	a	b
Raíces/Lodos/ /Efluente								
Resultado	Se observa crecimiento		Se observa crecimiento		Se observa crecimiento		Se observa crecimiento	

Tabla N°6: Resultados de crecimiento a distintas concentraciones de efluente







INÓCULO	PORCENTAJE DE AGUA MADRE					
	40%		60%		80%	
	A	b	a	B	a	b
Raíces/Lodos/ Efluente						
Resultado	Se observa crecimiento		Se observa crecimiento		No se observa crecimiento	

Tabla N°6: Resultados de crecimiento a distintas concentraciones de efluente (continuación)

El crecimiento microbiano se detecta por medio de la visualización del enturbiamiento del medio (Figura N°6) y se confirma mediante siembra en placa.



Figura N°6: Crecimiento a las 72 horas de realizada la siembra

#### 4.3.2 Confirmación del crecimiento bacteriano en erlenmeyers mediante recuento de colonias

En alguna de las diluciones ensayadas, se realizó un recuento de colonias siguiendo el procedimiento detallado en 3.3.1. En la tabla N°7 se muestran los resultados obtenidos.

INÓCULO	20% Inicial	20% 48hs	40% inicial	40% 48hs
Efluente	$7,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	$>5 \cdot 10^9$ UFC/ml	$7,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	$1,4 \cdot 10^9$ UFC/ml
Lodos 4%	$2,82 \cdot 10^2$ UFC/ml	$>5 \cdot 10^9$ UFC/ml	$2,82 \cdot 10^2$ UFC/ml	$4 \cdot 10^7$ UFC/ml
Raíces 10%	$4,97 \cdot 10^2$ UFC/ml	$2,86 \cdot 10^9$ UFC/ml	$4,97 \cdot 10^2$ UFC/ml	$2,86 \cdot 10^9$ UFC/ml

Tabla N°7: Resultados de la confirmación de crecimiento bacteriano

#### 4.3.3 Resultados en placas de Petri

INÓCULO	PORCENTAJE DE AGUA MADRE											
	0%		20%		40%		60%		80%		98%	
	a	B	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Raíces/Lodos/Efluente												
Resultado	Se observa crecimiento		Se observa crecimiento		Se observa crecimiento		Se observa crecimiento		No se observa crecimiento		No se observa crecimiento	

Tabla N°8: Resultados de crecimiento a distintas concentraciones de efluente

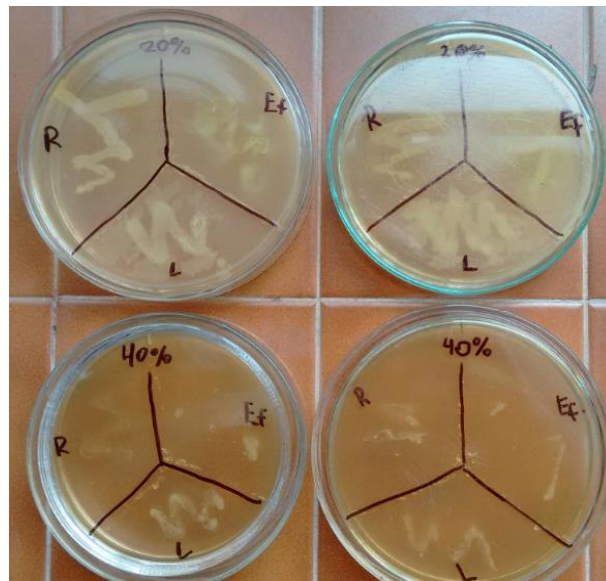


Figura N°7: Crecimiento a las 24 horas de realizada la siembra

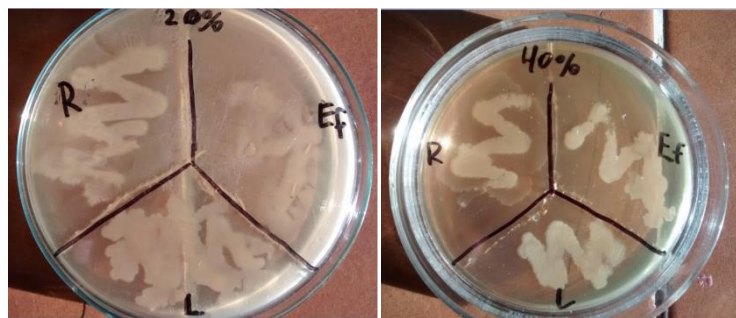


Figura N°8: Crecimiento a las 72 horas de realizada la siembra

#### 4.4 Aislamiento bacteriano y tinción de Gram

De la siembra de los inóculos se identificaron visualmente 4 colonias diferentes. Una vez aisladas las mismas en picos de flauta con agar nutritivo, se les realizó una tinción de Gram. En la misma, se observaron cocos y cocobacilos Gram negativos, así como también, bacilos Gram negativos. Posteriormente se realizará la identificación de cada una a nivel de género y especie.

### 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Analizando el efluente (agua madre) a tratar, se puede comprobar que el mismo egresa del proceso sin contaminación bacteriana. Ello está posiblemente relacionado con la alta temperatura de salida (alrededor de 96°C). Contiene elevada contaminación orgánica reflejada

por su alta DQO y DBO. Esta se debe principalmente al ácido acético y al furfural. En cambio el contenido de nitrógeno es reducido. Se trata de un efluente con escasa turbidez (confirmada por los bajos valores de sólidos) y algo coloreado. Esto indica que es complejo y de características particulares.

Aunque aún no se han identificado las bacterias aisladas, a priori serían las mismas que se presentan en los distintos inóculos.

En los ensayos realizados en erlenmeyers, el crecimiento se observó por enturbiamiento, mucosidad y aparición de coloración blanquecina a las 72 horas. En las placas de Petri, tal desarrollo se verificó a través de la presencia de colonias en las estrías.

Se esperaba un retardo en el crecimiento, teniendo en cuenta el tiempo de adaptación que necesitan en general las poblaciones bacterianas para iniciar la etapa exponencial. Sin embargo, se obtuvo un rápido desarrollo en todos los ensayos positivos, lo que indicaría una posible adaptación de estos microorganismos al medio con aguas madres.

Aunque no se realizaron recuentos en cada uno de los ensayos positivos, de las observaciones tanto de la turbidez de los erlenmeyers como de las estrías realizadas en el medio agarizado, se desprende que existe un orden descendente en el crecimiento de las bacterias de los inóculos: lodos, raíces y efluente. Esto indicaría que las que están presentes en los lodos tendrían una mejor adaptación al medio con contenido de ácido acético y furfural.

El contenido de furfural en la muestra de AM con la que se trabajó es de 4,16 mM, inferior a las concentraciones informadas por otros autores en las que se presentó inhibición. Por ello, sería esperable percibir crecimiento bacteriano en todos los medios de cultivo. La inhibición del crecimiento se observa recién en proporciones de agua madre superiores (AM) al 60%. Lo cual es consistente con la falta de enturbiamiento o aparición de colonias en todos los ensayos con AM al 80 y 98%. Teniendo en cuenta que la cantidad de peptona de carne en cada placa era aproximadamente constante, lo que variaba era la concentración de AM. Por lo que, se infiere que la inhibición del crecimiento bacteriano podría estar asociada a una interacción entre el furfural y el ácido acético, a estas concentraciones.

Se concluye, que es posible el desarrollo de bacterias provenientes de los tres sectores de la planta de tratamiento, en los medios de cultivo conformados por distintas concentraciones de agua madre (hasta 60%). Se espera, en ensayos y trabajos posteriores, la identificación de las cepas y realizar su aclimatación a fin de incorporarlas a un sistema de lechos fluidizados para efectuar la biorremoción del efluente en estudio.

## REFERENCIAS

[1]Boopathy, R. "Anaerobic biotransformation of furfural to furfuryl alcohol by a methanogenic archaeobacterium". *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol.8, pp. 1070-1072,(2009).

[2] Brune, G., Schoberth, S., Sahm, H. "Growth of a Strictly Anaerobic Bacterium on Furfural (2-Furaldehyde)". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 46, pp. 1187-1192, (1983).

- [3] López, M. J., Nichols, N. N., Dien, B. S., Moreno, J., Bothast, R. J. "Isolation of microorganisms for biological detoxification of lignocellulosic hydrolysates". *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 64, pp. 125-131, (2004).
- [4] Wierckx, N., Koopman, F., Bandounas, L., De Winde, J. H., Ruijsenaars, H. J. "Isolation and characterization of *Cupriavidus basilensis* HMF14 for biological removal of inhibitors from lignocellulosic hydrolysate". *Microbial Biotechnology*. Vol. 3, pp. 336-343, (2010).
- [5] Wirtz R.A., Dague R.R. "Anaerobic treatment of a furfural-production wastewater". *Waste Managment*. Vol. 13, pp. 309-315, (1993).
- [6] Hong R., Jian Z., Qiuqiang G., Zhanglin L., Jie, B. "Analysis of biodegradation performance of furfural and 5-hydroxymethylfurfural by *Amorphotheca Resinae* ZN1". *Biotechnology for Biofuels*. Vol. 7, pp. 51, (2014).
- [7] Singh, N., Khan A. "Acetaldehyde: genotoxicity and cytotoxicity in human lymphocytes". *Mutat. Res.* Vol. 337, pp. 9-17, (1995).
- [8] Hong S. W., Han H. E., Chae K.S. "Detection of furfural and 2-furoic acid in bacterial cultures by HPLC". *Journal of Liquid Chromatography*. Vol. 4, pp. 85-291, (1981).
- [9] Puyal P. "Diseño preliminar para el tratamiento de efluente de alta carga generado por actividad del procesamiento de tanino vegetal a partir del quebracho". *New England Systems S.A.*(2010).
- [10] Panigatti, M., Grifa, C., Boglione, R., Gentinetta, F., Cassina, D., Siri, J., Torres, J., Rosso, P., Abraham, M., Ferreyra, D. "Diseño de un biorreactor de lecho fluidizado para tratamiento de cromo hexavalente". *World Congress & Exhibition ENGINEERING*, (2010).
- [11] Carrillo, Leonor. *Microbiología Agrícola*, Universidad Nacional de Salta, Vol. 5, (2002).
- [12] Moreno, B., Diez, V., García, M., Menes, L., Gutiérrez, M., Polledo, F. *Microorganismos de los Alimentos: Técnicas de Análisis Microbiológicos*, Editorial Acribia, Vol. 1, (2000).