

Biodegradación De Colorantes Textiles Por *Escherichia Coli*

Berenice Sánchez Cerón

Biotecnología

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Puebla, México

berenice.sanchezceron@viep.com.mx

Gabriela Allende Valera

Biotecnología

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Puebla, México

gabriela.allende@alumno.buap.mx

José Carlos Mendoza Hernández

Ingeniería Ambiental

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Puebla, México

josecarlos.mendozahdez@gmail.com

autor de correspondencia

Gabriela Pérez Osorio

Ingeniería Ambiental

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Puebla, México

gabriela.perez@correo.buap.mx

Abstract— La industria textil es una de las industrias manufactureras con mayor impacto ambiental debido a la contaminación del agua generada por el uso indiscriminado de colorantes textiles. Se han empleado distintos tratamientos para la eliminación de colorantes, entre los cuales, el uso de organismos bacterianos es una de las opciones más viables por los costos y simplicidad de su aplicación. En este estudio se evaluó la efectividad de dos cepas de *Escherichia Coli* (M2N y M6A) aisladas de sitios contaminados con hidrocarburos, para biodegradar tres colorantes textiles comerciales en una concentración de 100 mgL⁻¹: azul marino 606, rojo escarlata 60 y verde ultramar 667 con una biodegradación del 90%, 88% y 67%, respectivamente. La prueba de toxicidad con semillas de *Medicago sativa* determinó que no hay una toxicidad por parte del residuo y por consiguiente este mismo se puede usar para riego.

Keywords—component; Biodegradación, colorantes textiles, Escherichia Coli, industria textil, tratamientos, toxicidad.

I. INTRODUCCIÓN

La industria textil es considerada como una de las industrias manufactureras de mayor importancia a nivel mundial y juega un papel significativo en la generación de empleos y el desarrollo de la economía [1,2]. La cadena de producción de textiles está conformada por diferentes procesos, mismos que requieren de una gran cantidad de agua y diversos compuestos químicos, como lo son productos orgánicos, inorgánicos, elementales y poliméricos [3], lo cual hace que esta industria sea un de las más contaminantes, teniendo serias repercusiones en uno de los recursos vitales del ser humano, el agua [1,2]. Dentro de la manufactura textil, el proceso de teñido es uno de los más importantes, sobre todo en países en desarrollo, donde la descarga descontrolada por

parte de las empresas afecta en gran medida el ecosistema [4].

Los efluentes de la industria textil pueden tener efectos tóxicos aditivos o sinérgicos en la vida humana, animal y marina [5], y se ha demostrado que algunos de los colorantes y solventes utilizados en la industria tienen propiedades mutagénicas y cancerígenas [6, 7,8]. Hablando específicamente de los colorantes hay que tener en cuenta que de acuerdo con la estructura química pueden contener elementos más tóxicos para el medio ambiente, por ejemplo, más del 40% de los colorantes usados en la industria contienen cloro, que es un carcinógeno conocido además de algunos metales pesados, como el Cr, Pb, Hg, As y Cd, que no son biodegradables e incluso pueden causar mutaciones en el ADN [4, 5]. De igual forma, la coloración que provocan los colorantes en el agua perjudica la penetración, a través de la superficie, de la luz requerida por los productores primarios para la fotosíntesis, el crecimiento de plantas y de la biota acuática [8, 9,10]. Gita et al [11] reportan que al introducir agua residual textil en cuerpos de agua, se reduce la penetración de la luz solar, conduciendo a una disminución de la actividad fotosintética de las plantas, lo que a su vez reduce el contenido de oxígeno disuelto en el agua, afectando seriamente, la calidad del agua y reduciendo su ocupación en actividades básicas del ser humano.

Otro de los problemas del agua residual de la industria textil es que contiene numerosos contaminantes no detectados debido a las técnicas de detección específicas utilizadas para caracterizarlos químicamente [6] por lo que es de gran importancia realizar estudios sobre la toxicidad de estas.

Actualmente los tratamientos más empleados para remover los colorantes de las aguas residuales textiles, en la industria son la precipitación química y lodos activados [12], pero debido que aún con estos tratamientos aplicados las aguas residuales no cumplen con las normativas para su liberación por lo que surgen tratamientos más innovadores, como la

oxidación avanzada, pero estos presentan inconvenientes que los hacen poco factibles para ser aplicados en una escala industrial [1]. Dentro de los tratamientos empleados, el uso de organismos bacterianos es una de las opciones más viables debido a las múltiples ventajas que estos representan, por ejemplo, su corto tiempo de crecimiento, su capacidad de degradar y a su vez mineralizar colorantes y otros compuestos, sus bajos costos de mantenimiento, la simplicidad de estos y el impacto ambiental mínimo que tienen [13,14].

En el presente estudio se evalúa la capacidad de las cepas M2N y M6A para degradar los colorantes azul marino 606, rojo escarlata 604 y verde 667 y su toxicidad después del tratamiento biológico.

II. .METODOLOGÍA

Aislamiento de cepas microbianas

Las cepas utilizadas fueron aisladas a partir de muestras de suelo y agua de sitios contaminados por hidrocarburos (19.004663, -98.195848). Las muestras fueron sembradas en caldo Luria Bertani (LB) conteniendo 100 mgL^{-1} de colorante azul marino 606 a 30°C durante 48 h, posteriormente se sembraron en agar Mc Conkey y Nutritivo para lograr su aislamiento. De las 20 cepas obtenidas solo dos demostraron tener una buena capacidad de degradación de los colorantes las cuales fueron las consideradas para este estudio. Las cepas denominadas como M2N y M6A, fueron identificadas por medio de pruebas bioquímicas.

Generación de inóculo bacteriano

Cada cepa se colocó en crecimiento en caldo LB durante 48 h a 30°C . Posterior al tiempo de crecimiento, fueron centrifugadas a 8000 rpm durante 15 minutos. Para finalizar, se decantó el sobrenadante y el pellet fue resuspendido en MMM (Medio Mínimo Mineral) hasta obtener una absorbancia de 0.5 A a 600 nm que corresponde aproximadamente a $1 \times 10^9 \text{ UFCmL}^{-1}$.

Biodegradación de colorantes

Los colorantes de tipo antraquinónico utilizados en este ensayo fueron el colorante azul marino 606, rojo escarlata 604 y verde ultramar 667 de la marca comercial Mariposa® a una concentración de 100 mgL^{-1} . Se realizaron dos ensayos por triplicado en MMM de manera simultánea uno conteniendo 100 mgL^{-1} del colorante correspondiente y el otro conteniendo además 3 gL^{-1} de sacarosa, los cuales fueron inoculados con 2 mL de la suspensión de la cepa correspondiente, incubándose durante 5 días a 80 rpm y 30°C .

Para cada colorante se preparó una curva de calibración de 10 a 100 mgL^{-1} y se realizó un barrido en el espectrofotómetro UV/Vis (PerkinElmer modelo

Lambda 25) para determinar la longitud de onda a la cual absorbe cada colorante.

Diariamente se tomó una alícuota de 3 mL centrifugándose a 11 000 rpm durante 15 minutos, Al sobrenadante se le realizó una lectura utilizando un espectrofotómetro UV/Vis (PerkinElmer modelo Lambda 25) a la longitud de onda correspondiente.

Cinética de biodegradación.

Los datos obtenidos de la lectura realizada con el espectrofotómetro se analizaron con las ecuaciones siguientes correspondientes a los modelos cinéticos de orden cero, primer orden y segundo orden para determinar el orden de decoloración [15].

$$C_t = C_0 - k_0 t \quad (1)$$

$$\ln(C_t) = k_1 t + \ln(C_0) \quad (2)$$

$$\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + k_2 t \quad (3)$$

Donde C_t es la concentración de colorante (mgL^{-1}) en cualquier instante (t) y C_0 es la concentración inicial del colorante en mgL^{-1} . Para determinar la constante de grado 0 (K_0 en mgL^{-1}/h) se utilizaron los valores de la concentración (C_t) contra el tiempo, en el caso de la constante de grado 1 (K_1 en h^{-1}) se consideraron los valores del logaritmo natural de la concentración (C_t) contra el tiempo y, por último, para la constante de grado 2 (K_2 en mgL^{-1}/h) se tomaron en cuenta los valores del inverso de la concentración (C_t) contra el tiempo. Posteriormente, a lo datos se les calculó el factor de correlación (R_2), la pendiente (m) y la ordenada al origen (b).

Toxicidad de los productos de biodegradación

Para la prueba de toxicidad se utilizaron semillas de la especie *Medicago sativa* previamente desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 1 minuto, seguido de un lavado con agua destilada.

En esta prueba se colocaron sobre papel filtro 10 semillas en cajas Petri y posteriormente se humedecieron con 5 ml de agua residual del tratamiento correspondiente, usando como control agua destilada, incubándose a 25°C durante 5 días a 25°C en ausencia de luz, después de transcurrido el tiempo se determinó el porcentaje de la germinación relativa de semillas (GRS), el crecimiento relativo de la radícula (CRR) y el índice de germinación (IG) de acuerdo a Rodríguez Romero et al. [16], mediante las expresiones correspondientes:

$$GRS(\%) = \frac{\text{Numero de semillas germinadas con el residuo de la biodegradación}}{\text{Número de semillas germinadas en agua dura (control)}} \times 100$$

$$CRR(\%) = \frac{\text{Longitud promedio de la redícula con el residuo de la biodegradación}}{\text{Longitud promedio de la redícula en agua dura (control)}} \times 100$$

$$IG(\%) = \frac{GRS \times CRR}{100}$$

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Degradación de colorantes

Para la determinación del porcentaje de biodegradación de los colorantes comerciales probados se realizó un barrido para fijar las longitudes de onda en las que absorbe cada colorante obteniéndose que el azul marino 606 absorbe en 553 nm, el rojo escarlata 604 absorbe en 508 nm y el verde ultramar 667 absorbe en 384 nm, como se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Longitud de onda de colorantes

Colorante	Longitud de onda (nm)
Azul marino 606	553
Rojo escarlata 604	508
Verde ultramar 667	384

El análisis de la biodegradación en el colorante azul marino 606 con la cepa *E. coli* M2N nos da como resultado que al quinto día de tratamiento la concentración del colorante fue de 18.31 mgL^{-1} , que corresponden al 81.68% de degradación, y para la cepa *E. coli* M6A fue de 17.95 mgL^{-1} (82.04%), mientras que en el caso de los tratamientos con sacarosa las concentraciones finales fueron de 9.889 mgL^{-1} (90.11%) y de 13.26 mgL^{-1} (86.73%) para las cepas M2N y M6A, respectivamente, como se observa en la Figura 1 y Tabla 2. Los porcentajes de degradación del colorante azul marino 606 a lo largo del tratamiento son mejores en el tratamiento con sacarosa para ambas cepas, sobre todo a partir del segundo día de tratamiento, esto coincide con lo reportado para el colorante de antraquinona Remazol Blue Brilliant R (RBBR) que fue decolorado hasta en un 82% con un consorcio de variados microorganismos donde se utiliza pedicelos de dátiles como cosustrato [17].

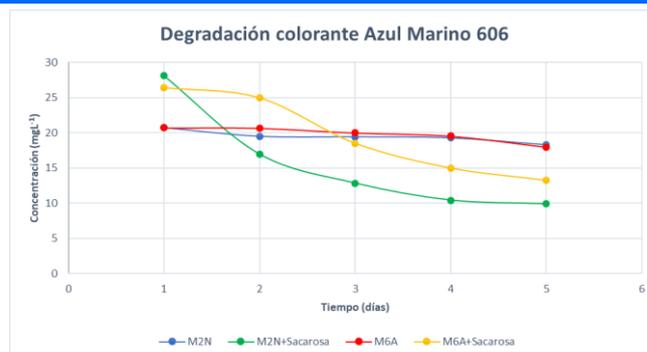


Figura 1. Concentración de colorante azul marino 606 respecto al tiempo en un tratamiento biológico con las cepas *E. coli* M2N y *E. coli* M6A.

En otras comparaciones los resultados de la degradación de la cepa *E. coli* M2N con sacarosa son similares a los reportados por Prabhakar et al [8] donde se llevó a cabo la degradación del colorante azul Evans en un 91% en un período de 96 h con el aislado bacteriano *Nesterenkonia lacusekhoensis*, misma que fue aislada de aguas residuales textiles, que es un tiempo de tratamiento análogo al empleado en el estudio presente. Además, la cepa *E. coli* M2N presenta ventajas en comparación de otras cepas como *Acinetobacter pittii* reportada con porcentajes de degradación de 84% a las 24 h para el colorante azul de metileno [18], pero con más requerimientos para su cultivo, lo que podría afectar su implementación a escala industrial.

Tabla 2. Degradación de colorante azul marino 606 durante el tratamiento biológico con las cepas *E. coli* M2N y *E. coli* M6A.

Tiempo (días)	Degradación de colorante azul marino 606			
	M2N	M2N+S	M6A	M6A+S
1	79.30%	71.91%	79.30%	73.58%
2	80.50%	83.04%	79.34%	75.02%
3	80.57%	87.16%	80.02%	81.47%
4	80.72%	89.57%	80.47%	84.99%
5	81.68%	90.11%	82.04%	86.73%

En el colorante rojo escarlata 604 la concentración de este disminuyó de manera drástica a las 24 h (Figura 2) de tratamiento con la cepa *E. coli* M2N obteniéndose concentraciones de 23.12 mgL^{-1} en el tratamiento sin sacarosa y 17.58 mgL^{-1} , que corresponden a una degradación del 76.88% y 82.42% (Tabla 3), respectivamente, posteriormente la biodegradación fue más lenta y a los 5 días de tratamiento se muestran concentraciones de colorante de 13.51 mgL^{-1} (86.49%) sin sacarosa y 11.87 mgL^{-1} (88.13%) con sacarosa. En la cepa *E. coli* M6A se observó que la concentración disminuyó a 26.24 mgL^{-1} (73.76%) para ambos tratamientos después de 24 h, a lo largo del tratamiento se observa una degradación mucho mayor en el tratamiento con sacarosa pues al finalizar el tratamiento existen concentraciones de 23.41 mgL^{-1} y 16.14 mgL^{-1} en el tratamiento sin y con sacarosa,

concentraciones que corresponden a los valores de 76.58% y 83.86% de degradación

Estos porcentajes de degradación se asemejan a los ya reportados con la cepa *Bacillus circulans* NPP1 para el colorante rojo ácido obteniendo porcentajes de decoloración superiores al 75% cuando esta fue optimizada en las condiciones de cultivo [19]. De igual forma una cepa de *E. coli* aislada de agua residual textil fue reportada por Bhatia et al [20] con un potencial de degradación de 51.16% para el colorante rojo disperso 167 a una concentración inicial de 150 mgL⁻¹. La cepa bacteriana *Stenotrophomonas sp.* obtuvo porcentajes de degradación de 97% para el colorante rojo ácido 1 a concentraciones iniciales de 200 mgL⁻¹, pero esta degradación disminuye a 90% con concentraciones de 500 mgL⁻¹ y 25% a concentraciones de 1000 mgL⁻¹ bajo el mismo conjunto de condiciones óptimas para la batería [21].

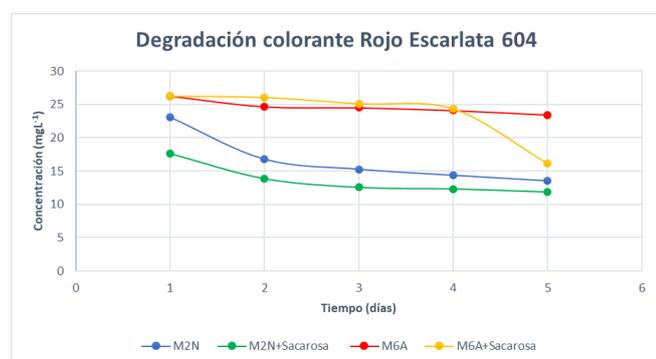


Figura 2. Concentración de colorante rojo escarlata 604 respecto al tiempo en un tratamiento biológico con las cepas M2N y M6A.

Eslami et al [22] indican en su estudio que el colorante rojo reactivo 198 fue degradado con un grupo de bacterias aisladas de aguas residuales textiles en un 98% con concentraciones iniciales de 10 a 25 mgL⁻¹, pero a concentraciones de mayores de 50 mgL⁻¹ y 100 mgL⁻¹ la eliminación del colorante disminuye a 55.62% y 15.42%, que son menores a lo logrado en este estudio, pero menor a lo reportado en el colorante rojo reactivo 35 con una degradación de 95% con un aislado bacteriano *Nesterenkonia lacusekhoensis* [8]. Lo reportado en literatura indica que entre más aumenta la concentración de colorante rojo, los microorganismos reducen su potencial de degradación, sin embargo, los resultados presentados en nuestro estudio son de altos porcentajes de degradación (Tabla 3), pero con un periodo de tratamiento más largo a los reportados que varían de 24 a 72 h.

Tabla 3. Degradación de colorante rojo escarlata 604 durante el tratamiento biológico con las cepas *E. coli* M2N y *E. coli* M6A.

Tiempo (días)	Degradación de colorante rojo escarlata 604			
	M2N	M2N+S	M6A	M6A+S
1	76.88%	82.42%	73.76%	73.76%
2	83.21%	86.15%	75.35%	73.95%
3	84.73%	87.44%	75.50%	74.89%
4	85.65%	87.67%	75.92%	75.67%
5	86.49%	88.13%	76.58%	83.86%

En el colorante verde ultramar 667 la mejor degradación obtenida fue al quinto día de tratamiento donde para la cepa *E. coli* M2N sin sacarosa había una concentración final de 43.77 mgL⁻¹, que corresponde a 56.23% de degradación (Tabla 4) y para la misma cepa con sacarosa fue de 32.54 mgL⁻¹ (67.46%); en la cepa *E. coli* M6A al finalizar el tratamiento se tienen concentraciones de 45.62 mgL⁻¹ (54.38%) y 43.22 mgL⁻¹ (56.77%), como se muestra en la Figura 3 la degradación de la cepa *E. coli* M2N con sacarosa fue notoriamente la mejor a partir del segundo día donde la concentración de colorante que contenía era de 37.18 mgL⁻¹ (62.82% de degradación) a comparación de los otros tratamientos que contenían 50.49 mgL⁻¹ (49.51%), 49.81 mgL⁻¹ (50.19%) y 54.60 mgL⁻¹ (45.39%) para las cepas *E. coli* M2N sin sacarosa y *E. coli* M6A sin y con sacarosa, respectivamente.

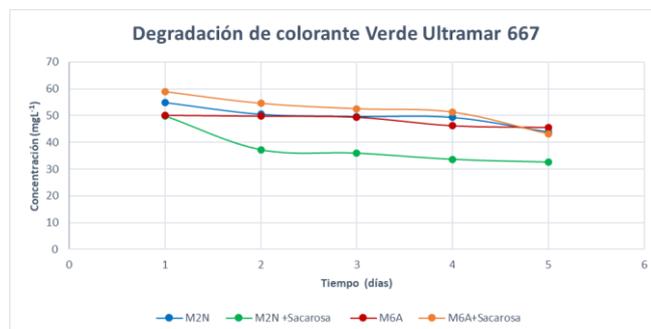


Figura 3. Concentración de colorante verde ultramar 667 respecto al tiempo en un tratamiento biológico con las cepas M2N y M6A.

Para la decolorización del verde brillante esta reportadas bacterias como *Aeromonas hydrophila* (Abs37), *Citrobacter sp.* (Cbs50) y *Pseudomonas putida* (Pzr3) con resultados de eliminación final de 95,6–100%, 92,9–100% y 89,1–97,2%, respectivamente a partir de una concentración inicial de 200 mgL⁻¹ [23]. Otro colorante de interés es el verde malaquita que ha sido decolorado por *Stenotrophomonas maltophilia* en un 99.46% en un periodo de 18 h [24], *Tenacibaculum sp* con 98.8% en un lapso de 12h [25], *Pseudomonas sp.* YB2 con una eliminación de 90.4% a las 24 h [26]. Estos resultados no coinciden con los obtenidos en el artículo lo que puede implicar un mecanismo o tolerancia diferente del colorante verde ultramar 667 en comparación a otros colorantes empleados en este estudio.

Tabla 4. Degradación de colorante verde ultramar 667 durante el tratamiento biológico con las cepas *E. coli* M2N y *E. coli* M6A.

Tiempo (días)	Degradación de colorante verde ultramar 667.			
	M2N	M2N+S	M6A	M6A+S
1	45.02%	50.11%	49.89%	41.05%
2	49.51%	62.82%	50.19%	45.40%
3	50.34%	64.07%	50.58%	47.39%
4	50.69%	66.40%	53.73%	48.64%
5	56.23%	67.46%	54.38%	56.77%

En base con los resultados la mayor efectividad en cuanto a degradación los tres colorantes fue con el tratamiento de la cepa *E. coli* M2N con sacarosa, mientras que el tratamiento de menor efectividad para el caso del colorante azul marino 606 fue con la cepa *E. coli* M2N sin sacarosa, y para los colorantes verde ultramar 667 y rojo escarlata 604 fue la cepa *E. coli* M6A sin sacarosa. La diferencia en la tasa de degradación de los colorantes puede ser atribuida a que cada colorante es molecularmente diferente y existe una variedad de mecanismos de decoloración en los diferentes tipos de colorantes lo que afecta en mayor o menor medida el proceso para los tres colorantes empleados en el presente estudio [15], sin embargo, no se puede establecer una asociación con certeza.

Los colorantes presentan una degradación alta en comparación con tratamientos alternativos como es el caso de Yaseen et al [27], que realizó un estudio de fitorremediación para la eliminación de rojo básico 46 (BR46) con porcentajes de degradación de 58% en el tratamiento con algas con concentraciones iniciales de 10 mgL⁻¹ de colorante. De igual forma, la eficacia de este tipo de tratamientos depende de la de la adaptabilidad y la actividad enzimática de los microorganismos seleccionados [13]. La bacteria *E. coli* ya ha sido utilizada para la biodegradación de colorantes como el azul reactivo 49 (RB49) y rojo

reactivo 195 (RR195) con una degradación de 93% para RR195 y del 99% para RB49 [14], pero no ha sido reportada para colorantes verdes.

La eliminación de colorantes por un tratamiento biológico sucede a través de 3 mecanismos principales: bioadsorción, bioacumulación y biodegradación [13]; en futuras investigaciones se deberá estudiar y caracterizar el mecanismo empleado por estas dos cepas debido a que no se profundizó en la caracterización de estos mecanismos para las cepas *E. coli* M2N y *E. coli* M6A.

Para mejorar el porcentaje de degradación se podría usar tratamientos secuenciales como ya está reportado por Feuzer-Matos, et al [12] dónde se utilizó la fotoperoxidación después de haber tratado las aguas residuales por un método convencional (precipitación química y tratamiento microbiológico) obteniendo resultados de eliminación de coloración de 98.8%, 99.7%, 98.9%, 96.3%, 97.2% y 94.8% para los colorantes: rojo reactivo 195, marrón Synolon S2, Naranja Remazol RGB, amarillo sinazol K3, naranja reactivo y negro reactivo 5, respectivamente.

Cinética de biodegradación.

De acuerdo con los valores obtenidos del factor de correlación de las cepas M2N con y sin sacarosa, así como la cepa M6A con y sin sacarosa, con cada uno de los colorantes: azul marino 606 (tabla 5), rojo escarlata 604 (tabla 6) y verde ultramar 667 (tabla 7), se observa que ambas cepas tienen una cinética de biodegradación de orden 1. Esto indica que la biodegradación es dependiente de la concentración del colorante.

Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Wanyonyi et al [15] donde el modelo cinético que se acopló mejor para describir la degradación del colorante verde malaquita fue de primer orden. De igual manera Shah et al [28] mencionan que su estudio cinético de degradación del colorante naranja reactivo 13 utilizando una cepa pura recién aislada, fue de orden de reacción 1.

Tabla 5. Parámetros cinéticos de biodegradación del colorante azul marino 606

Cepa	K0	R2	K1	R2	K2	R2
M2N	-0.014243239	0.859453979	-0.000735525	0.999457997	3.80279E-05	0.99727028
MN2+Sacarosa	-0.106976376	0.621936244	-0.006550922	0.980333359	0.000437168	0.905321978
M6A	-0.020139819	0.979105775	-0.001042682	0.999582496	5.40716E-05	0.997925861
M6A+Sacarosa	-0.09635967	0.822862381	-0.005108576	0.993707176	0.000280862	0.967760392

Tabla 6. Parámetros cinéticos de biodegradación del colorante rojo escarlata 604

Cepa	K0	R2	K1	R2	K2	R2
M2N	-0.054706918	0.620635523	-0.003154668	0.995323247	0.00018632	0.97591362
MN2+Sacarosa	-0.032402555	0.592850477	-0.002277908	0.997853182	0.00016222	0.98954806
M6A	-0.01677555	0.785109144	-0.000680585	0.999643587	2.764E-05	0.99805156
M6A+Sacarosa	-0.072314426	0.893443346	-0.003474062	0.998823843	0.00017022	0.99441654

Tabla 7. Parámetros cinéticos de biodegradación del colorante verde ultramar 667

Cepa	K0	R2	K1	R2	K2	R2
M2N	-0.069470794	0.923557172	-0.001427394	0.998178581	2.94457E-05	0.983979689
MN2+Sacarosa	-0.096022209	0.576283225	-0.00242272	0.99750448	6.21019E-05	0.982011187
M6A	-0.034912382	0.823191679	-0.000730443	0.999960307	1.52927E-05	0.999661748
M6A+Sacarosa	-0.103240369	0.980993396	-0.002057163	0.99730537	4.12896E-05	0.975023763

Prueba de toxicidad por germinación.

En las tablas 8, 9 y 10 se muestran los resultados de las observaciones de la prueba de toxicidad por germinación con semillas de *Medicago sativa* a las

96 h de exposición a las muestras de los tratamientos aplicados a los colorantes azul marino 606, rojo escarlata 604 y verde ultramar 667, respectivamente.

Tabla 8. Respuesta Biológica determinada en plántulas de *Medicago sativa* expuestas a los colorantes sin tratamiento

Respuesta	Colorantes sin tratamiento		
	Azul marino 606	Rojo escarlata 604	Verde ultramar 667
GRS	50±0.3	50±0.4	45±0.3
CRR	22.4 ±0.4	21.5±0.3	19.7±0.2
IG	11.2± 0.6	10.8±0.4	8.87±0.3

Tabla 9. Respuesta Biológica determinada en plántulas de *Medicago sativa* expuestas a los residuos de los colorantes tratados con la cepa M2N

Respuesta	Residuos del tratamiento biológico sin sacarosa de colorantes			Residuos del tratamiento biológico con sacarosa de colorantes		
	Azul marino 606	Rojo escarlata 604	Verde ultramar 667	Azul marino 606	Rojo escarlata 604	Verde ultramar 667
GRS	76 ±0.4	70±0.3	70±0.4	90 ±0.3	90±0.4	80±0.3
CRR	75.1±0.6	74.5±0.6	69.3±0.3	87.1±0.9	81.4±0.7	75.3±0.4
IG	58.8±0.7	52.2±0.4	48.98±0.4	78.7±0.5	73.2±0.6	60.25±0.5

Tabla 10. Respuesta Biológica determinada en plántulas de *Medicago sativa* expuestas a los residuos de los colorantes tratados con la cepa M6A

Respuesta	Residuos del tratamiento biológico sin sacarosa de colorantes			Residuos del tratamiento biológico con sacarosa de colorantes		
	Azul marino 606	Rojo escarlata 604	Verde ultramar 667	Azul marino 606	Rojo escarlata 604	Verde ultramar 667
GRS	75 ±0.2	69±0.1	68.7±0.6	87 ±0.3	87.2±0.1	75.6±0.4
CRR	74.6±0.1	71.4±0.4	68.4±0.2	85.6±0.6	79.8±0.4	73.8±0.2
IG	57.5±0.6	49.2±0.4	46.9±0.5	74.5±0.4	69.6±0.2	55. 8±0.1

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 8 se observa que, en el caso del colorante azul marino 606, las plántulas expuestas al colorante a 100 mgL^{-1} mostraron un porcentaje de germinación relativa de semillas (GRS) menor en comparación a las semillas de *Medicago sativa* expuestas a los residuos de los colorantes (Tabla 9), siendo este del 76%. De igual manera, el crecimiento relativo de la radícula (CRR) fue significativamente bajo, siendo este del 22.4%. Por último, el índice de germinación para el colorante sin tratamiento fue de 11.2%, lo cual nos indica que hubo una inhibición significativa en la germinación de las semillas.

En la tabla 9 y 10 se muestran los resultados de la respuesta biológica de las plántulas, pero con los residuos del tratamiento de los colorantes con las cepas M2N Y M6A. El GRS obtenido cuando las plántulas de *Medicago sativa* fueron expuestas a los residuos del tratamiento del colorante azul marino 606 con la cepa M2N sin sacarosa fue de 76% y del 90% con sacarosa, siendo este último el valor más alto. Para el caso de la cepa M6A (tabla 10) con y sin sacarosa, el GRS fue de 89 y 75%, respectivamente. Por otra parte, el CRR de las plántulas expuestas al residuo del tratamiento del colorante con la cepa M2N sin sacarosa fue de 75.1 % y del 87.1 % con el tratamiento con sacarosa, siendo este el porcentaje más alto de CRR. En la tabla 10 se observa que el

CRR de las plántulas expuestas al tratamiento del colorante con la cepa M6A con sacarosa es de 85.6% y sin sacarosa fue de 74.6%. Los índices de germinación de las plántulas expuestas a los residuos del colorante con y sin sacarosa con la cepa M2N fueron de 78.7 y 58.8, respectivamente. Por otra parte, con la cepa M6A con y sin sacarosa alcanzaron porcentajes de 74.5 y 57.5 respectivamente, como se puede observar en los resultados reportados en la tabla 10.

En ambas cepas los valores fueron significativamente mayores en comparación al IG de las plántulas expuestas al colorante sin tratamiento, por lo cual, los tratamientos son eficientes y no se observó alguna inhibición importante en las plántulas. Sin embargo, es importante denotar que el tratamiento aplicado al colorante azul marino 606 con la cepa M2N con sacarosa, en términos generales fue el que mostró mejores porcentajes. Al realizar un contraste de los datos obtenidos con lo reportado en la literatura, se encontró que Ogunlaja et al [18] utilizaron a la bacteria *Acinetobacter pittii* como tratamiento a un efluente de tintorería y para la biodegradación del azul de metileno. De acuerdo con los resultados que obtuvieron, observaron que *Acinetobacter pittii* es eficiente para la biodegradación del azul de metileno y el tratamiento del efluente. Por otra parte, la prueba de fitotoxicidad realizada con semillas de *Zea mays* y *Vigna unguiculata*, las cuales fueron expuestas a las muestras obtenidas después de 5 días de tratamiento, no causaron inhibición en las semillas de ambas variedades, obteniendo porcentajes de germinación de entre 80-90%, lo cual indica que no hay formación de metabolitos secundarios tóxicos [7].

En el caso de la respuesta biológica de las plántulas de *Medicago sativa* expuestas al colorante rojo escarlata 604 a 100 mgL^{-1} se observó que el GRS fue de 50%, cuyo valor es el más bajo en comparación al GRS de las plántulas expuestas a los residuos de los colorantes tratados (tablas 9 y 10). En el caso del CRR, se alcanzó un porcentaje de 21% y el IG fue de 10.8%. Tomando en cuenta estos valores, se puede observar que el colorante sin tratamiento ejerce un efecto inhibitorio significativo en las plántulas.

Las plántulas expuestas a los residuos del colorante rojo escarlata 604 tratados con las cepas M2N y M6A con y sin sacarosa, mostrados en la tabla 9 y 10, tuvieron una respuesta biológica distinta a las que fueron expuestas al colorante sin tratar. El GRS de las plántulas expuestas a los residuos del tratamiento del colorante con la cepa M2N con y sin sacarosa fue de 90% y 70%, respectivamente, por otra parte, con los residuos del tratamiento con la cepa M6A con y sin sacarosa, el GRS fue de 87.2 y 69%, respectivamente. En cuanto al crecimiento relativo de la radícula, en la cepa M2N se tuvieron

81.4% y 74.5% con y sin sacarosa, respectivamente y en la cepa M6A 79.8% y 71.4% correspondiente a los residuos de con y sin sacarosa. Por último, el índice de germinación (IG) fue de 73.2 y 52.2 en la prueba realizada con residuos de tratamiento con y sin sacarosa para la cepa M2N y de 69.6 y 49.2 para la cepa M6A con residuos con y sin sacarosa, lo que muestra que los residuos de tratamientos con sacarosa tienen los IG de mayor valor, es decir, presentan la menor toxicidad para el colorante rojo escarlata 604.

En parte, estos resultados difieren con lo reportado por Banerjee et al [29] quienes aplicaron un tratamiento para la biodegradación del colorante Direct Red 21 con la bacteria *Pseudomonas mendocina* y un soporte de óxido de grafeno mediante el cual obtuvieron buenos resultados y de acuerdo a la prueba de toxicidad que realizaron con semillas de garbanzo, se comprobó que el efluente tratado es seguro y podría ser reutilizado para algunas actividades, mostrando un aumento en el porcentaje de germinación cuando el tiempo de exposición de las semillas con las muestras de tratamiento era mayor, alcanzando un porcentaje de germinación de hasta 97.55 % en 96 h [29].

Para el colorante verde ultramar 667, el control de colorante a una concentración de 100 mgL^{-1} muestra el índice de germinación más bajo de los 3 colorantes estudiados en el artículo, con un valor de 8.87 (Tabla 8), es decir, es el colorante que tiene el mayor efecto inhibitorio en las semillas de *Medicago sativa*, la GRS fue de 45%, mientras que el CRR fue de 19.7%, lo que indica que el colorante verde afecta en mayor medida el crecimiento de la radícula.

Por otra parte, los residuos del tratamiento con la cepa M2N muestran solo una ligera inhibición en la germinación de las semillas de acuerdo con los porcentajes obtenidos, el GRS sin adición de sacarosa fue de 70% y con sacarosa adicionada fue de 80%, para el caso de la cepa M6A se puede notar que los residuos sin sacarosa tienen solo un 68% de germinación relativa de semillas y para el residuo con sacarosa se muestra un porcentaje de germinación relativa del 75.6%, lo que sugiere que no hay toxicidad. En el crecimiento de la radícula (CRR) para la cepa M2N fue de 69.3% sin sacarosa y de 75.3% con sacarosa y el IG fue de 48.9 y 60.25 para los residuos sin y con sacarosa de la cepa M2N y de 46.9 y 55.8 sin y con sacarosa en la cepa M6A.

La baja toxicidad que presenta las muestras después del tratamiento biológico como en el porcentaje de germinación de semillas de *Medicago sativa* coinciden con la baja toxicidad reportada por Patil et al [19] que muestra que después de un tratamiento con *Bacillus circulans* NPP1 hay un 100% de germinación de semillas de *Sorgo bicolor* y *Pennisetum americanum*, mientras que el rojo ácido no tratado muestra un 83 % de germinación de

Sorgo bicolor y 65% de germinación de *Pennistenum americanum*.

IV. CONCLUSIONES

Tomando en cuenta los resultados obtenidos se sugiere que la sacarosa a largo plazo en el tratamiento biológico favorece la degradación de colorantes textiles, siendo la cepa *E. coli* M2N con sacarosa añadida la de mejor eficacia en este estudio para los colorantes empleados.

Además, se pudo observar que las cepas recién aisladas, correspondientes a la bacteria *Escherichia coli*, son eficientes para degradar distintos colorantes textiles sin generar algún producto tóxico.

El presente estudio abre la puerta a una investigación más profunda sobre como las diversas rutas metabólicas de la bacteria *E. coli* en la degradación de colorantes textiles, además de la posible implementación de tratamientos combinados para incrementar los procesos de biotransformación de los colorantes textiles.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Moyo S, Makhanya BP, Zwane PE. Use of bacterial isolates in the treatment of textile dye wastewater: A review. *Heliyon* [Internet]. 2022;8(6):e09632. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844022009203>

[2] Krithika T, Kavitha R, Dinesh M, Angayarkanni J. Assessment of ligninolytic bacterial consortium for the degradation of azo dye with electricity generation in a dual-chambered microbial fuel cell. *Environ Challenges* [Internet]. 2021;4:100093. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266701002100072X>

[3] Hussein, A., Scholz, M. Treatment of artificial wastewater containing two azo textile dyes by vertical-flow constructed wetlands. *Environ Sci Pollut Res*. [Internet] 2018; 25, 6870–6889. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0992-0>

[4] Uddin, F. Environmental hazard in textile dyeing wastewater from local textile industry. *Cellulose*. [Internet] 2021; 28, 10715–10739. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04228-4>

[5] Akhtar, M.F., Ashraf, M., Javeed, A. et al. Association of textile industry effluent with mutagenicity and its toxic health implications upon acute and sub-chronic exposure. *Environ Monit Assess*. [Internet] 2018; 190 (179). <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6569-7>

[6] Singh, Z. & Chadha, P. Textile industry and occupational cancer. *J Occup Med Toxicol*. [Internet] 2016; 11 (39). Available from: <https://doi.org/10.1186/s12995-016-0128-3>

[7] Mishra S, Nayak JK, Maiti A. Bacteria-mediated biodegradation of reactive azo dyes coupled with bio-energy generation from model wastewater. *Clean Technol Environ Policy* [Internet]. 2020;22(3):651–67. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10098-020-01809-y>

[8] Prabhakar, Y., Gupta, A. & Kaushik, A. Using indigenous bacterial isolate *Nesterenkonia lacusekhoensis* for removal of azo dyes: A low-cost ecofriendly approach for bioremediation of textile wastewaters. *Environ Dev Sustain*. [Internet] 2022; 24: 5344–5367. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10668-021-01661-0>

[9] Modkovski, T.A., Maciel, G.M., Brugnari, T. et al. Simultaneous Removal of Textile Dyes by Adsorption and Biodegradation Using *Trametes villosa* Laccase Immobilized on Magnetic Particles. *Water Air Soil Pollut*. [Internet] 2021; 232, 512. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05451-2>

[10] Khan, S., Malik, A. Toxicity evaluation of textile effluents and role of native soil bacterium in biodegradation of a textile dye. *Environ Sci Pollut Res*. [Internet] 2018; 25, 4446–4458. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0783-7>

[11] Gita S, Shukla SP, Deshmukhe G, Choudhury TG, Saharan N, Singh AK. Toxicity Evaluation of Six Textile Dyes on Growth, Metabolism and Elemental Composition (C, H, N, S) of Microalgae *Spirulina platensis*: The Environmental Consequences. *Bull Environ Contam Toxicol* [Internet]. 2021;106(2):302–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00128-020-03074-7>

[12] Feuzer-Matos, AJ, Testolin, RC, Pimentel-Almeida, W. et al. Tratamiento de aguas residuales que contienen tintes textiles nuevos y no biodegradables: eficacia de los procesos combinados de oxidación avanzada y adsorción. *Agua Aire Suelo Contaminación*. [Internet]. 2022; 233 (273). Available from: <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05751-1>

[13] Ruscasso, F., Cavello, I., Curutchet, G. y S. Cavalitto. Antarctic yeasts: potential use in a biologic treatment of textile azo dyes. *Bioresour. Bioprocess*. [Internet] 2022; 9, (18). Available from: <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00507-5>

[14] M-Ridha, M. J., Hussein, S. I., Alismaeel, Z. T., Atiya, M. A., & Aziz, G. M. Biodegradation of reactive dyes by some bacteria using response surface methodology as an optimization technique. *Alexandria Engineering Journal*. [Internet] 2020. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aej.2020.06.001>

[15] Wanyonyi WC, Onyari JM, Shiundu PM, Mulaa FJ. Biodegradation and Detoxification of Malachite Green Dye Using Novel Enzymes from *Bacillus cereus* Strain KM201428: Kinetic and Metabolite Analysis. *Energy Procedia* [Internet]. 2017;119:38–51. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876610217325869>

[16] Rodríguez Romero AJ, Robles Salazar CA, Ruíz Picos RA, López López E, Sedeño Díaz JE y Rodríguez Dorantes A. Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma. Rev. Int. Contam. Ambie. 2014; 30 (3): 307-316

[17] Cherif, S., Rezzaz-Yazid, H., Sadaoui, Z. y Trari, M. Biodegradation of Remazol Blue Brilliant R Dye Using Date Pedicels as a Biostimulant. J. Water Chem. Technol. [Internet]. 2021; 43: 164–172. Available from: <https://doi.org/10.3103/S1063455X2102003X>

[18] Ogunlaja A, Nwankwo IN, Omaliko ME, Oluokun OD. Biodegradation of Methylene Blue as an Evidence of Synthetic Dyes Mineralization during Textile Effluent Biotreatment by *Acinetobacter pittii*. Environ Process [Internet]. 2020;7(3):931–47. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40710-020-00443-6>

[19] Patil, N. P., Bholay, A. D., Kapadnis, B. P., Gaikwad, V. B. Biodegradation of Model Azo Dye Methyl Red and other Textile Dyes by Isolate *Bacillus circulans* NPP. Journal of Pure and Applied Microbiology. [Internet]. 2016; 10(4): 2793-2800. Available from: <http://dx.doi.org/10.22207/JPAM.10.4.38>

[20] Bhatia, D., Kanwar, R.S., Singh, J. et al. Degradation and decolorization of Disperse red 167 dye with an in-situ isolated azo-reductase enzyme producing bacterium *Paenochromobacterium glaciei*. Int. J. Environ. Sci. Technol. [Internet]. 2022. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04163-2>

[21] Kumari, L., Tiwary, D. & Mishra, P.K. Biodegradation of C.I. Acid Red 1 by indigenous bacteria *Stenotrophomonas* sp. BHUSSp X2 isolated from dye contaminated soil. Environ Sci Pollut Res. [Internet] 2016; 23: 4054–4062. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4351-8>

[22] Eslami, H., Shariatifar, A., Rafiee, E. et al. Decolorization and biodegradation of reactive Red 198 Azo dye by a new *Enterococcus faecalis*-*Klebsiella variicola* bacterial consortium isolated from textile wastewater sludge. World J Microbiol Biotechnol. [Internet] 2019; 35(38). Available from: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2608-y>

[23] Zabłocka-Godłowska, E., Przysaś, W. Fed-Batch Decolorization of Mixture of Brilliant Green and Evans Blue by Bacteria Species Applied as Pure and Mixed Cultures: Influence of Growth Conditions. Water Air Soil Pollut. [Internet] 2020; 231, 75. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11270-020-4441-1>

[24] Alaya, V., Kodi, R.K., Ninganna, E. et al. Decolorization of Malachite green dye by *Stenotrophomonas maltophilia* a compost bacterium. Bull Natl Res Cent. [Internet] 2021; 45 (81). Available from: <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00518-w>

[25] Qu, W., Hong, G. & Zhao, J. Degradation of malachite green dye by *Tenacibaculum* sp. HMG1 isolated from Pacific deep-sea sediments. Acta Oceanol. Sin. [Internet] 2018; 37, 104–111. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13131-018-1187-3>

[26] Tao, Y., Wang, F., Meng, L. et al. Biological Decolorization and Degradation of Malachite Green by *Pseudomonas* sp. YB2: Process Optimization and Biodegradation Pathway. Curr Microbiol. [Internet] 2017; 74, 1210–1215. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1306-y>

[27] Yaseen, D.A., Scholz, M. Impact of pH on the Treatment of Artificial Textile Wastewater Containing Azo Dyes Using Pond Systems. Int J Environ Res. [Internet] 2019; 13, 367–385. Available from: <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00180-1>

[28] Shah PD, Dave SR, Rao MS. Enzymatic degradation of textile dye Reactive Orange 13 by newly isolated bacterial strain *Alcaligenes faecalis* PMS-1. Int Biodeterior Biodegradation [Internet]. 2012;69:41–50. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830512000145>

[29] Banerjee P, Das P, Mukhopadhyay A. Azo Dye-Rich Wastewater Treatment by Combined Biodegradation–Adsorption Approach: Optimization, Modeling and Toxicity Analysis BT- Waste Water Recycling and Management. In: Ghosh SK, editor. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 169–81.