

# Biodegradación Del Colorante Anaranjado De Metilo Mediante Consorcios Microbianos

**Andrea Sofía Minueza Luna**

Ingeniería ambiental  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.  
(BUAP)  
Puebla, México.  
andrea.minueza@alumno.buap.mx

**Sayra Guillen Reyna**

Ingeniería ambiental  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.  
(BUAP) Puebla, México.  
sayra.guillen@alumno.buap.mx

**José Carlos Mendoza Hernández**

Facultad de Ingeniería Química  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.  
(BUAP)  
Puebla, México  
josecarlos.mendozahdez@gmail.com

**Gabriela Pérez Osorio**

Facultad de Ingeniería Química.  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.  
(BUAP)  
Puebla, México.  
gabriela.perez@correo.buap.mx

**Juana Deisy Santamaría Juárez**

Facultad de Ingeniería Química.  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.  
(BUAP)  
Puebla, México.  
deisy.samnaria@correo.buap.mx

**Mayté Juárez Meneses**

Facultad de Ingeniería Química.  
Benemérita Universidad autónoma de Puebla.  
(BUAP)  
Puebla, México.  
mayte.juarezmen@correo.buap.mx

## Resumen —

**Los colorantes sintéticos son ampliamente utilizados en la industria textil, dando como resultado aguas residuales con altas concentraciones de compuestos químicos generados por todo el proceso productivo. Estos compuestos son altamente resistentes, por lo que son difíciles de eliminar en las plantas de tratamiento convencionales. Por lo anterior las aguas residuales no tratadas causan graves problemas ambientales y de salud. En el presente estudio se evaluó la capacidad de biodegradación de 2 consorcios microbianos, creados a partir del aislamiento de cepas de muestras de aguas residuales para la biodegradación del colorante tipo azo, anaranjado de metilo. Los resultados mostraron una degradación del 80.94% para el colorante a 50 ppm y 85.22% para 100 ppm, sin la generación de metabolitos secundarios tóxicos, lo que establece que el efluente se puede usar para riego.**

**Palabras clave:—anaranjado de metilo, biodegradación, aguas residuales, colorantes azoicos.**

## I. INTRODUCCIÓN

Los colorantes son compuestos químicos que se utilizan ampliamente en nuestra vida cotidiana para proporcionar color a una amplia variedad de productos, desde alimentos, bebidas hasta cosméticos

y prendas de vestir [1]. Estos compuestos pueden ser naturales, obtenidos de fuentes vegetales o animales, o sintéticos, producidos a través de procesos industriales.

Existen múltiples aplicaciones de los colorantes, la fundamental es la tinción de fibras y telas, y estos procesos contaminan uno de los recursos no renovables más valiosos que tenemos, el agua, la cual es indispensable para la vida.

De las 700,000 toneladas de tintes y colorantes que se producen anualmente en todo el mundo, aproximadamente del 10 al 15% se elimina en los efluentes generados durante los procesos de teñido. El baño de tinte y el agua de lavado son las principales fuentes de estas aguas residuales, que contienen subproductos como colorantes hidrolizados, así como una cantidad residual de tintes sin reaccionar y sustancias químicas auxiliares. Después de la coloración, casi el 50% de los colorantes presentes inicialmente en el baño de tinte se desechan. En una instalación de teñido que utiliza métodos de coloración reactiva y directa, se estima que se generan entre 125 y 166 litros de aguas residuales por kilogramo de diversos tipos de tela teñida [2].

El agua residual resultante de los procesos productivos de la industria textil está altamente contaminada debido a la presencia de compuestos químicos provenientes de colorantes, surfactantes y, sales inorgánicas [3]. La presencia de colorantes en el agua causa graves problemas ambientales,

originan una severa contaminación de ríos y agua subterránea siendo un riesgo para la vida acuática y para la salud en todo el mundo. En los seres humanos, pueden provocar serios daños como tumores, cáncer, alergias y en casos menos graves puede causar irritación en los ojos y la piel [4,5].

Dentro de los colorantes más utilizados en la tinción de prendas se encuentran los colorantes azoicos. El anaranjado de metilo es un colorante sintético, el cual es considerado un compuesto xenobiótico recalcitrante a la biodegradación debido a la complejidad de su estructura y a su capacidad para retirar electrones [6]. Este colorante es ampliamente usado, por lo tanto, es uno de los más descargados en los efluentes industriales [7].

Los métodos fisicoquímicos utilizados rutinariamente para su tratamiento suelen ser costosos, consumen gran cantidad de energía y tienen una aplicabilidad limitada [8].

El uso de tratamientos biológicos creando consorcios microbianos es una de las opciones más viables debido a las múltiples ventajas que estas representan, como sus bajos costos, simplicidad y el bajo impacto ambiental que tienen [9,10].

En el presente estudio se evalúa la capacidad de los consorcios microbianos para degradar el colorante anaranjado de metilo en medio acuoso.

## II. METODOLOGÍA

### a. Aislamiento de las cepas microbianas

Las muestras de agua fueron recolectadas del río Atoyac (19.077350, -98.240504), río Balsas (18.971876, -98.187626) y presa Valsequillo (18.907139, -98.172473), ubicados en el estado de Puebla de acuerdo con la norma PROY-NMX-AA-003-SCFI-2008 fueron transportadas y almacenadas a 4°C.

Las muestras fueron sembradas en caldo Luria Bartani (LB) con colorante a una concentración de 100 mgL<sup>-1</sup> y se incubaron durante 24 h. Posteriormente se sembraron en agar Mc conkey, Nutrivivo y King A, para lograr el aislamiento de las bacterias con capacidad de biodegradación de colorantes.

### b. Identificación de las cepas

La identificación de las cepas se realizó mediante pruebas bioquímicas.

### c. Consorcios Microbianos

Para la generación del inóculo bacteriano cada cepa se creció en caldo LB y se incubó durante 48 h a 30°C. Posterior a ello fueron centrifugadas a 11,000 rpm durante 15 min. Para finalizar se decantó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en Medio Mínimo Mineral (MMM). De las cepas aisladas se formaron dos consorcios microbianos de 7 cepas cada uno.

### d. Biodegradación

El colorante azoico utilizado en este ensayo fue el anaranjado de metilo en concentraciones de 50,100 y 200 mgL<sup>-1</sup>. El ensayo se llevó a cabo por triplicado en MMM.

Se utilizaron 30 mL de colorante adicionando con 3 gL<sup>-1</sup> de sacarosa. Se inoculó con 800 µL de cada cepa en cada consorcio.

El periodo de incubación del ensayo fue de 72 h a 30°C, tomando una alícuota diaria de 2 mL, esta se centrifugó para obtener el sobrenadante que fue leído en el espectrofotómetro UV-Vis marca Perkin Elmer modelo Lambda 35 a través de una curva de calibración en cinco puntos (20,40,60,80 y 100 mgL<sup>-1</sup>) a 462.5 nm. 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.

$$Ct = C_0 - k_0 t \quad \text{ecuación (1)}$$

$$\ln(Ct) = k_1 t + \ln(C_0) \quad \text{ecuación (2)}$$

$$1/Ct = 1/C_0 + k_2 t \quad \text{ecuación (3)}$$

Donde  $C_t$  es la concentración de colorante (mgL<sup>-1</sup>) en cualquier instante ( $t$ ) y  $C_0$  es la concentración inicial del colorante (mgL<sup>-1</sup>). Para determinar la constante de grado 0 ( $K_0$  en mgL<sup>-1</sup>/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<sup>-1</sup>) 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<sup>-1</sup>/h) se tomaron en cuenta los valores del inverso de la concentración ( $C_t$ ) contra el tiempo [11].

### e. Pruebas de fitotoxicidad

Esta prueba tiene como propósito medir la generación de metabolitos tóxicos. Para ello, se utilizaron 15 semillas de la especie *Medicago sativa*. Se colocaron sobre papel filtro dentro de cajas Petri, después se humedeció el papel con 3 mL del colorante tratado por método biológico a las distintas concentraciones (50,100 y 200 mgL<sup>-1</sup>), incubándose a 26°C durante un periodo de 5 días en ausencia de luz.

Se determinó el porcentaje de germinación relativa de las semillas (GRS), el crecimiento relativo de la radícula (CRR) y el índice de germinación (IG) de acuerdo con Rodríguez Romero (2014) [12], mediante las expresiones correspondientes:

$$GRS = \frac{\text{No. de semillas germinadas con el residuo de la biodegradación}}{\text{No. de semillas germinadas en agua destilada}}$$

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

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

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- *Obtención de las cepas*

Se aislaron 14 cepas en total, de donde se encontraron cepas del género *Salmonella*, *P. Agglomerans*, *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E.coli* y *P. vulgaris*.

La formación e identificación de los consorcios utilizados se muestran en la tabla 1.

TABLA 1. CONFORMACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS

Consortio	Identificación de las cepas
C1	<i>C. freundii</i> NR3, <i>P. agglomerans</i> MCRB 2.1, <i>E. coli</i> KPV 3.1, <i>E. coli</i> NRB4, <i>P. agglomerans</i> MCRA 2.2, <i>Salmonella</i> KRA 1.1
C2	<i>E coli</i> NRB5, <i>P. agglomerans</i> MCPV 1.2, <i>C. freundii</i> KRA 1.2, <i>P. agglomerans</i> NRA 1.1, <i>E. aerogenes</i> MCPV 2.2, <i>P. agglomerans</i> KPV1.1, <i>C. freundii</i> NPV 3.1

- *Biodegradación*

Los resultados obtenidos de la biodegradación con los consorcios 1 y 2 se muestran en la tabla 2 y las figuras 1, 2 y 3.

TABLA 2. RESULTADOS DE LA BIODEGRADACIÓN EXPRESADO EN PORCENTAJE DE BIODEGRADACIÓN.

Colorante a 50 mg L <sup>-1</sup>		
Tiempo (días)	Porcentaje de Biodegradación (%)	
	C1	C2
1	77.172	54.94
2	80.94	74.79
Colorante a 100 mg L <sup>-1</sup>		
Tiempo (días)	Porcentaje de Biodegradación (%)	
	C1	C2
1	57.14	67.84
2	85.22	82.44
Colorante a 200 mg L <sup>-1</sup>		
Tiempo (días)	Porcentaje de Biodegradación (%)	
	C1	C2
1	20.55	39.18
2	68.19	67.46
3	68.33	74.7

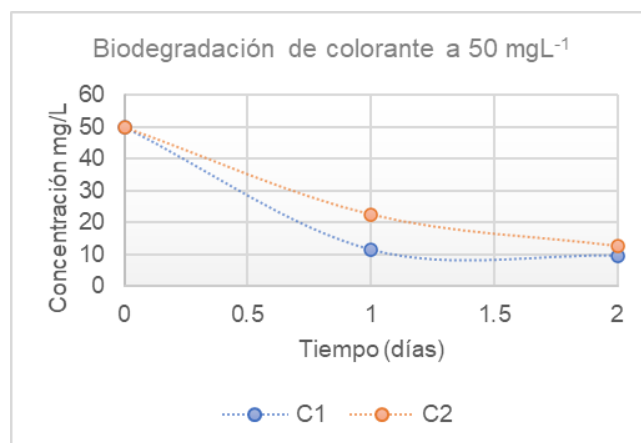


Figura 1. Concentración del colorante respecto al tiempo en el tratamiento biológico con consorcios 1 y 2

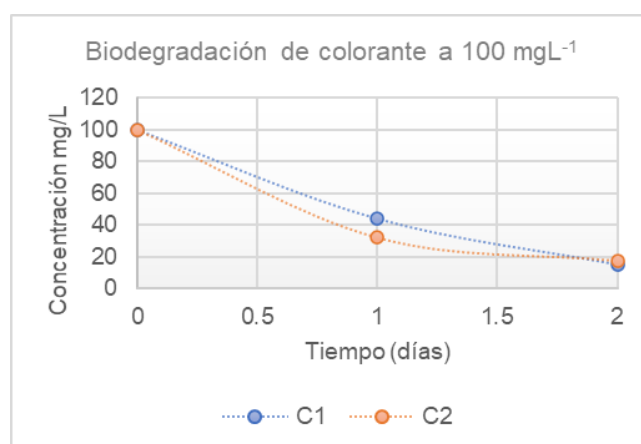


Figura 2. Concentración del colorante a 100 ppm respecto al tiempo en el tratamiento biológico con consorcios 1 y 2.

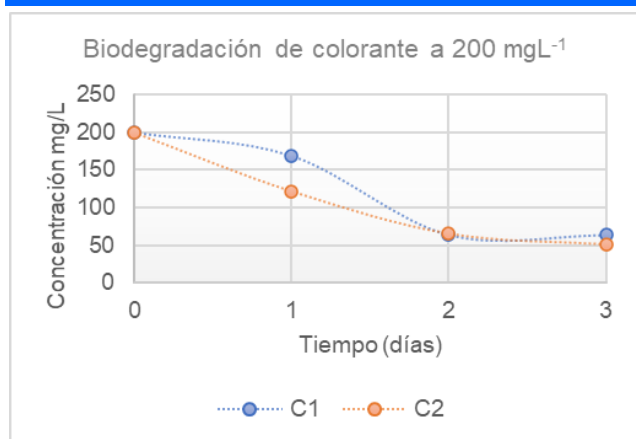


Figura 3. Concentración del colorante a 200 ppm respecto al tiempo en el tratamiento biológico con consorcios 1 y 2.

El análisis de la biodegradación para el colorante a 50 mgL<sup>-1</sup> con el consorcio 1, muestra que, al segundo día del tratamiento, la concentración del colorante fue de 9.52 mgL<sup>-1</sup>, que corresponde al 80.094% de degradación, y para el consorcio 2 fue de 12.60 mgL<sup>-1</sup>, lo que representa un 74.79% de degradación. En el caso de colorante a 100 mgL<sup>-1</sup>, los resultados muestran que al segundo día del tratamiento se logró disminuir la concentración a 14.77 mgL<sup>-1</sup> con el

consorcio 1 y a 17.55 mgL<sup>-1</sup> con el consorcio 2, lo que corresponde a un porcentaje de degradación de 85.22% y 82.44%, respectivamente. Finalmente, para el colorante a 200 mgL<sup>-1</sup>, los resultados obtenidos al tercer día del tratamiento fueron un porcentaje de degradación del 68.33% con el consorcio 1 y 74.7% con el consorcio 2, correspondiendo a una concentración de 56.36 mgL<sup>-1</sup> y 58.06 mgL<sup>-1</sup>, respectivamente. Con estos datos, vemos que los porcentajes de degradación del colorante anaranjado de metilo son más altos al segundo y tercer día del tratamiento como se observa en la Tabla 1.

Con estos resultados podemos analizar que en menores concentraciones del colorante es mayor es el porcentaje de degradación del colorante ya que según Cobos y Gonzáles (2010) altas concentraciones de colorante pueden afectar negativamente su remoción por vía anaerobia al causar inhibición de los procesos metabólicos [13].

En general, los resultados obtenidos coinciden con Sponza e Işik, 2005; Kapdan y Oztekin, 2003; Panswad *et al.*, 2001; Luangdilok y Panswad, 2000; Ragajuru *et al.*, 2000; O'Neill *et al.*, 2000, acerca de que en bajas concentraciones de colorante se obtienen mejores remociones.

• Cinética de biodegradación

TABLA 3. CINÉTICA DE BIODEGRADACIÓN

50 mg L <sup>-1</sup>						
CONSORCIO	K <sub>0</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>1</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>2</sub>	R <sup>2</sup>
C1	-0.0226	0.9439	-0.0286	0.9835	-0.0959	0.936
C2	-0.0233	0.8613	-0.0138	0.9061	-0.2079	0.887
100 mg L <sup>-1</sup>						
CONSORCIO	K <sub>0</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>1</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>2</sub>	R <sup>2</sup>
C1	-0.0147	0.9403	-0.0078	0.9964	-0.0255	0.986
C2	-0.0291	0.792	-0.000116	0.9979	-0.0074	0.9382
200 mg L <sup>-1</sup>						
CONSORCIO	K <sub>0</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>1</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>2</sub>	R <sup>2</sup>
C1	-0.005	0.963	-0.0646	0.999	-0.0247	0.997
C2	-0.0192	0.841	-0.0036	0.9576	-0.0036	0.794

índice	Consortio 1 a 50 ppm	Consortio 1 a 100 ppm	Consortio 2 a 50 ppm	Consortio 2 a 100 ppm
GRS	83.33 ± 11.54	103.33 ± 35.18	100 ± 10	80 ± 26.4575
CRR	49.74 ± 0.21	74.29 ± 4.95	61.76 ± 7.74	70.43 ± 7.03
IG	167.44 ± 22.55	138.50 ± 44.89	162.66 ± 13.97	112.63 ± 32.16

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede observar que el modelo cinético que se acopló mejor para describir la degradación fue de primer orden, lo que significa que la reacción ocurre con una tasa directamente proporcional a la concentración del reactivo limitante o sustrato, es decir, la biodegradación depende de la concentración del colorante.

En la tabla 4 se muestran los resultados de la prueba de toxicidad por germinación de semillas de *Medicago sativa* a 120 h de exposición.

TABLA 4. RESPUESTA BIOLÓGICA DETERMINADA EN PLÁNTULAS DE *MEDICAGO SATIVA* EXPUESTAS A LOS RESIDUOS DEL COLORANTE TRATADO.

De acuerdo con la tabla 4, se observa que las semillas expuestas a una concentración de 50 ppm muestran mejor porcentaje de germinación siendo este del 20%. Mientras que a una concentración de 100 ppm el porcentaje de germinación relativa es mayor utilizando el consorcio 1 con un porcentaje de 23.33%



#### IV. CONCLUSIÓN

La utilización de consorcios microbianos resultó ser eficaz en la degradación del colorante anaranjado de metilo en un tiempo reducido (24-72 h), mostrando mejor efectividad en bajas concentraciones del colorante y sin producción de metabolitos secundarios tóxicos. El consorcio 1 mostró una mayor efectividad que el consorcio 2 en un periodo de 24 a 48 h para concentraciones de 50 y 100 ppm, alcanzando al final del periodo un porcentaje de degradación de 80.9% y 85.2 % respectivamente. Demostrando con esto que los métodos microbiológicos pueden ser un tratamiento viable y efectivo para la degradación de colorantes azoicos como el anaranjado de metilo, ya que son tratamientos de bajo costo y amigables con el ambiente. Esto abre la posibilidad a que el agua con colorante tratada por este método pueda ser utilizada como agua de riego.

#### V. REFERENCIAS

[1] Marcano, D. (2018). Introducción a la Química de los colorantes. Colección Divulgación Científica y Tecnológica. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, Venezuela.

[2] Garcés Giraldo, L. F., Hernández Ángel, M. L., Peñuela Mesa, G. A., Rodríguez Restrepo, A., & Salazar Palacio, J. A. (2005). Degradación de aguas residuales de la industria textil por medio de fotocatalisis. *Revista Lasallista de Investigación*, 2(1), 15-18. Recuperado el 19 de mayo de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69520103>

[3] Buscio V., Marín M.J., Crespi M. y Gutiérrez-Bouzán C. (2015). Reuse of textile wastewater after homogenization-decantation treatment coupled to PVDF ultrafiltration membranes. *Chem. Eng. J.* 265, 122-128. DOI: 10.1016/j.cej.2014.12.057

[4] Brown MA, De Vito SC (1993) Predicting azo dye toxicity. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 23: 249-324

[5] 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>

[6] Morales-Guzmán, Fernanda, & Melgoza-Alemán, Rosa M. (2009). Tratamiento del Colorante Azo Rojo Directo 23 mediante Reactores Discontinuos

Secuenciados Anaerobios/Aerobios. Información tecnológica, 20(1), 73-82. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642009000100009>

[7] Baena, d. (2020). Degradación catalítica y toxicidad de los colorantes rojo Ponceau S y naranja de metilo empleando la cepa bacteriana, Repositorio Universidad de Cartagena.

[8] Cortazar-Martínez, A, González-Ramírez, CA, Coronel-Olivares, C, Escalante-Lozada, JA, Castro-Rosas, J, & Villagómez-Ibarra, JR. (2012). Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y ciencia*, 28(2), 187-199. Recuperado en 20 de mayo de 2023, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-29792012000200009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792012000200009&lng=es&tlng=es).

[9] Ruscasso, F., Cavello, I., Curutchet, G., & Cavalitto, S. (2021). Antarctic yeasts: potential use in a biologic treatment of textile azo dyes. *Bioresources and Bioprocessing*, volume 9(Article number: 18).

[10] 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>

[11] Wanyonyi WC, Onyari JM, Shiundu PM, Mula 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>

[12] 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

[13] Y.L. Cobos-Becerra, S. González-Martínez. Degradación biológica de colorantes azo en agua residual. Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 15 de mayo de 2023 de: <https://www.researchgate.net/publication/261172247>