

25. Medio Ambiente

Tratamiento terciario de un efluente de cítrica por ficorremediación.

Varela Bonissone, Emma del Valle; emma.varelab.91@gmail.com; Vicente, Paula Florencia; pauvicente@gmail.com; Herrera, Rodrigo Exequiel; rdgo1991@gmail.com; Directora: Tereschuk María Laura; mtereschuk@herrera.unt.edu.ar; Sáez, Silvia Graciela; ssaez@herrera.unt.edu.ar.

Universidad Nacional de Tucumán

Resumen

Argentina es el principal productor mundial de limón, siendo la provincia de Tucumán el mayor productor del país. El proceso productivo cítrico genera miles de litros de efluentes que deben ser tratados antes de ser vertidos al medio ambiente. La ficorremediación es una estrategia de biorremediación de contaminantes que hace uso de algas y microalgas. Existen estudios de biorremediación de efluentes con microalgas, pero ninguno es aplicado como tratamiento terciario para un ajuste en los parámetros del agua vertida por las cítricas. La biomasa microalgal tiene diversas aplicaciones, tanto en el campo de obtención de proteínas, o generación de biocombustibles de 4ta generación. Por lo tanto, el objetivo de este proyecto de investigación es la depuración del efluente de industria cítrica por ficorremediación.

El proyecto se llevó a cabo adaptando la cepa *Scenedesmus acutus* a un efluente de cítrico de la provincia de Tucumán por diluciones con un medio de sales inorgánicas (Bold's Basal Medium). Las experiencias se realizaron a escala laboratorio con un fotoperiodo de 12hs y se proveyó de aireación. Se procedió a realizar el tratamiento del efluente y a la producción de biomasa en biorreactores de 5L tipo "batch", adoptando las mismas condiciones de cultivo. Al comienzo y al final del tratamiento de efluentes, se tomaron muestras para el estudio de los parámetros del agua.

Después del tratamiento de efluente cítrico con microalgas se produjo una remoción del 96% de DBO, 86% de DQO y un 81% de eliminación de Nitrógeno, con mejoras en los valores permitidos para ser utilizado en riego.

Palabras clave: Ficorremediación, *Scenedesmus acutus*, tratamiento de aguas residuales, tratamiento aeróbico.

Introducción

Argentina es el principal productor mundial de limón, siendo la provincia de Tucumán el mayor productor del país, aportando el 84% del 1.500 millones de toneladas producidas al año. La producción de limón tucumano factura aproximadamente US\$800 millones cada año trabajando 24 hs, 150 días al año y da empleo a 40.000 trabajadores. Es indudablemente, un pilar muy importante de la economía de la provincia.

Luego del proceso productivo, del limón se obtiene como principales productos: cáscara deshidratada, jugo concentrado y aceite esencial de limón, así como también miles de litros de efluente y toneladas de desechos.

Actualmente para los efluentes líquidos existen en la industria tratamientos de tipo anaeróbico, pero no son suficientes para reducir su elevada carga orgánica a valores adecuados y no lo suficientemente continuos para la cantidad de efluente diario que la industria produce, por lo que además es necesario un tratamiento de tipo terciario que ajuste estos parámetros. Por lo que el compromiso se encuentra en el desarrollo de tecnologías para la depuración de estos efluentes, que sean sostenibles para el medio ambiente y principalmente, económicos o que

implique un ahorro a la industria. Siendo una solución prometedora para ello la utilización de residuos para la obtención de productos de mayor valor agregado. Luego del tratamiento de tipo anaeróbico, el efluente citrícola tiene aún una carga orgánica elevada, así como también cantidades elevadas de nitrógeno y fósforo que pueden causar una eutrofización en los cuerpos de agua.

Los contaminantes en las aguas residuales son normalmente una mezcla completa de compuestos orgánicos e inorgánicos. Cuando los efluentes con estas características son vertidas, por ejemplo en un río, aguas abajo se produce la disminución de oxígeno disuelto en el agua, debido a la elevada carga orgánica aportada por el efluente que se oxida (Ramalho, 1983). La disminución del oxígeno disuelto en el agua, produce que la biodiversidad que depende de la respiración del mismo, muera o migre, alterando la fauna del río y/o su contaminación por descomposición de materia orgánica. Además, los efluentes presentan elevadas cantidades de nitrógeno y fósforo, que enriquecen nutritivamente el agua natural provocando la eutrofización, que es el crecimiento abundante de la vegetación de los ríos y lagos,

provocando un envejecimiento acelerado del sistema acuático. Gradualmente el lago o río se va haciendo más pequeño por la invasión de la vegetación y el sedimento, generando malos olores y pudiendo llegar a convertirse en tierra firme, fenómeno que se conoce como eutrofización

A través de los años se han desarrollado números procesos de tratamientos tanto físicos, químicos y biológicos para remover toda clase de contaminantes del agua residual, principalmente la remoción de DBO (demanda bioquímica de oxígeno), sólidos suspendidos, y nutrientes tales como NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , y PO_4^{3-} , con el fin de tener un efluente adecuado para su disposición final y la reutilización.

El grado de tratamiento a aplicarle al agua residual depende fundamentalmente de los límites de vertido para el efluente. Se puede dividir el tratamiento en 2 o 3 etapas dependiendo de los requerimientos de saneamiento del agua.

Un tratamiento terciario tiene como principal objetivo eliminar los contaminantes que no pudieron ser degradados en la etapa anterior, tales como iones inorgánicos y orgánicos. Este tipo de tratamiento puede ser de tipo biológico o químico. El tratamiento

biológico se elige preferentemente frente el químico, el cual es generalmente muy costoso para ser implementado a continuación de un tratamiento secundario (Abdel-Raouf et al., 2012).

El uso de microorganismos por el hombre, para los más diversos fines y objetivos, se remonta a tiempos antiguos. Ejemplo de tales prácticas son el yogurt, el pan, quesos, vino, la cerveza, etc. Hoy en día, estos productos se elaboran industrialmente a lo largo del mundo, así como también en la elaboración de productos alimenticios, medicamentos, vacunas y productos químicos (ácido cítrico, ácido láctico, diversos aminoácidos, plásticos, y otros). (Madigan, 2003)

Podemos definir biorremediación como la utilización de seres vivos para solucionar un problema ambiental, tales como suelo o agua subterránea contaminados. En un ambiente no contaminado, las bacterias, los hongos, los protistas, y otros microorganismos heterotróficos degradan constantemente la materia orgánica disponible, para obtener energía (Cortón, 2006).

Es la biorremediación un proceso en conjunto que provee a los organismos capaces de degradar los compuestos contaminantes, los nutrientes y el oxígeno necesario para su metabolismo.

Estos microorganismos crecerán a una velocidad mayor, consumiendo la materia orgánica y los nutrientes presentes, proporcionando una técnica para la depuración del agua contaminada.

Dasilva et al. (1987) señaló que los sistemas modernos de tratamientos de efluentes se basan en los mismos tipos de biodegradación que trabajan naturalmente en el medio ambiente.

Las microalgas son un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares procariotas (cianobacterias) y eucariotas, que pueden encontrarse en hábitats tan diversos como aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo, bajo un amplio rango de temperaturas, pH y disponibilidad de nutrientes; se las considera responsables de la producción del 50% del oxígeno y de la fijación del 50% del carbono en el planeta. (Arredondo y Vázquez-Duhalt, 1991)

La utilización de las microalgas como tratamiento de efluente es ambientalmente atractivo debido a su

capacidad fotosintética, a partir de la cual convierte la energía solar en biomasa, utilizando la presencia de fósforo y nitrógeno en el afluente como fuente de nutrientes y evitando así la posible eutrofización de los cuerpos de agua. La propiedad fotosintética de las algas proporciona el oxígeno requerido por bacterias para la mineralización de materia orgánica que mejora la eliminación de nutrientes y patógenos de aguas residuales. (Bala et al., 2017), denominado este proceso como oxidación fotosintética (Figura 1).

Las microalgas, también tienen un gran impacto en el efecto invernadero. Al realizar la respiración, estos microorganismos captan el CO₂ como fuente de carbono principal, tomándolo directamente de la atmósfera, reduciendo así el efecto invernadero. El cultivo de microalgas es una solución a los tratamientos terciarios debido a su capacidad de utilizar el fósforo y nitrógeno para su crecimiento. (Abdel Raouf - et al., 2012)

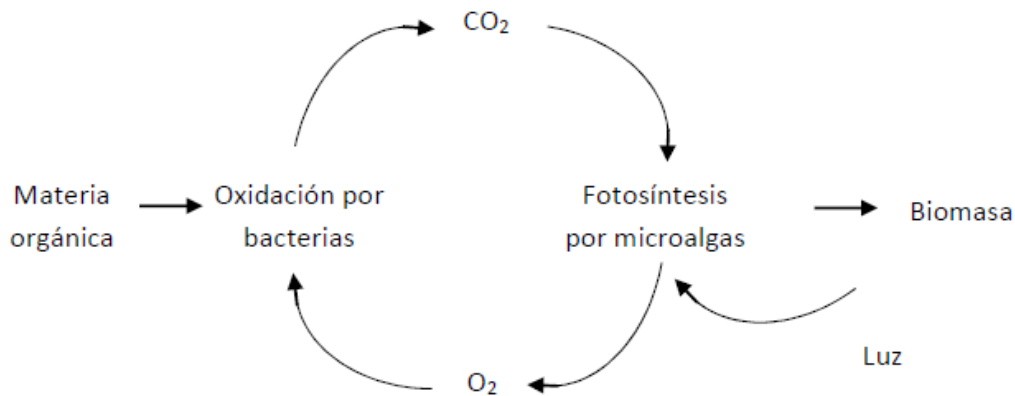


Figura 1 . Ciclo de Oxigenación Fotosintética. (Burgoa Francisco, 2015)

Los sistemas de algas pueden tratar efluentes urbanos , efluentes agroindustriales e industriales. También fueron testeadas en efluentes de mataderos, de pescaderías, industria de alimentos y otras industrias agrícolas. Son utilizadas para la remoción de metales tóxicos como plomo, cadmio, mercurio, estaño, arsénico y bromo. (Abdel-Raouf et al., 2012).

Considerando el potencial de las microalgas en fitorremediación, más los múltiples usos que se le da a su biomasa, se sugiere que su cultivo es ambientalmente atractivo. La fitorremediación con microalgas no se encuentra actualmente aplicada a efluentes secundarios cítricos y eso es lo novedoso de esta propuesta.

Objetivos

El objetivo de este trabajo de investigación es realizar un tratamiento

terciario de efluentes cítricos para el aprovechamiento de aguas residuales como medio de cultivo con la ventaja de generación de biomasa para obtención de biocombustible.

Bajo el marco de la beca SCAIT-UNT-2016 se realiza el proyecto de investigación que tiene como objetivos específicos los siguientes ítems.

- Adaptar el cultivo de la cepa *Scenedesmus acutus* a un efluente de cítrico.
- Estudiar los resultados de remoción del tratamiento terciario aplicado al efluente de una cítrico.

Materiales y Métodos

Muestra

Se utilizó la cepa de microalga *Scenedesmus acutus* (Chlorophyta), adquirida en la UBA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. La cepa se

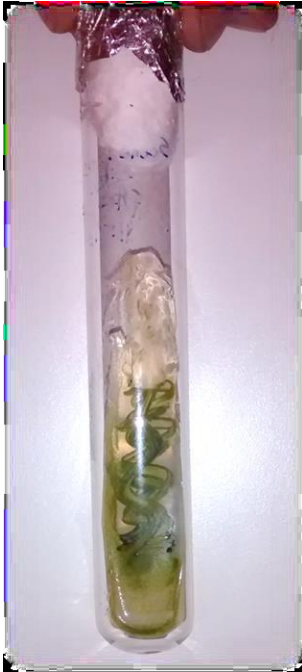


Figura 2 Tubo de cultivo "stock" de una cepa de *Scenedesmus acutus* (Chlorophyta), en medio de cultivo mineral sólido "BBM", adquirido en UBA-FCEyN

presenta comúnmente en los cursos de aguas de la región y poseen alto contenido oleaginoso. Además de la relativa facilidad para su cultivo y la disponibilidad de muestras, por estas mismas razones, trabajar con esta cepa para el desarrollo de este proyecto es sumamente conveniente (Singh, 2014). *Scenedesmus* es una especie de fácil cultivo, empleada no sólo en estudios para la producción de biodiesel, sino también para la mitigación de CO₂ y la biorremediación de aguas residuales. Son casi esféricas, elipsoidales alargadas o fusiformes Este grupo vive principalmente en estanques de agua dulce, lagos eutróficos, raramente en aguas salobres y tolera rangos de temperaturas de 28 a 30°C. (May Cua, 2015) (Figura 2).

Medio de cultivo

La Cepa *S. acutus* se encontraba guardada en medio de cultivo de sales minerales sólido "Bold's Basal Medium" (BBM), por lo que se recurrió a la activación de la misma utilizando el mismo medio de cultivo preparado según protocolo es útil para el mantenimiento y crecimiento de microalgas, principalmente de la familia Chlorophyta.

Cultivo de las muestras

Se dispuso de 3 matraces y se colocaron 300 ml del medio BBM. Se inoculó cada matraz bajo ambiente esterilizado en flujo laminar. Se dejó en cultivo los microorganismos por 40 días.

Para las condiciones de cultivo se contó con una iluminación proveniente de un reflector con un fotoperíodo de 12/12 hs, La aireación se realizó por medio de una bomba aireadora con una capacidad máxima de 8 L/min y un filtro para evitar posible contaminación; esta bomba cumplía la doble función de airear y provocar turbulencia en el cultivo. El aire llegaba al cultivo por medio de una manguera tipo cristal de 1/4" de diámetro con piedra difusora. (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.)



Figura 3 Cultivo de la cepa al día 15.

Adaptación de la cepa al efluente

Una vez obtenida la biomasa algal en BBM, se procedió a adaptar la cepa al efluente a tratar. Para ello se obtuvo una muestra de efluente cítrico crudo (EC) (sin tratar) y una muestra de efluente de cítrico luego de su tratamiento secundario o anaerobio (ES).

Se procedió a realizar el ensayo por duplicado con cada uno de los efluentes. El medio de cultivo se preparó tanto para el EC y ES con 70% de efluente correspondiente y 30% de agua destilada para no agregar más sales al sistema. Se inoculó cada matraz con el cultivo de microalgas obtenido anteriormente en una proporción del 10%. Luminosidad y aireación fueron similares a las anteriores condiciones. (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**)

Preparación de biorreactores a escala laboratorio y cultivo de microalgas.

Una vez adaptada la cepa al medio de cultivo y alcanzada la cantidad de biomasa necesaria para el inóculo del

mismo, se procedió a la construcción de dos biorreactores tipo *batch* con una capacidad de 5L (Figura 6).

Para ello, se utilizaron dos frascos de vidrio, los cuales presentaban dos aberturas, una en la parte superior, y otra cerca del borde inferior para toma de muestra.

El medio de cultivo se preparó dilución del efluente del segundo tratamiento (70/30) con BBM en un primer momento y se inoculó con la biomasa ya adaptada en proporción 10% en volumen como se especifica en **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.1.**

Se procedió de igual manera que los anteriores ensayos, con una iluminación artificial con un periodo de 12 horas día/noche y la aireación provista continuamente por la bomba de aire de pecera. La temperatura de la experiencia no superó los 20°C (Figura 4).

Se operó el reactor por un lapso total de 30 días.

Tabla1. Preparación del medio de cultivo para biorreactores tipo *batch* de 5L

Cultivo Biorreactores	
Efluente Secundario	3,2 L
BBM	0,4 L
Inóculo Microalgas	0,4 L
Volumen Total	4L



Figura 5. Biorreactores de 4 litros

Resultados y discusión

Con la operación de los reactores se observó que la coloración del efluente se tornó más verde, así como también el olor que presentaba el efluente del tratamiento secundario que disminuyó hasta desaparecer. La turbidez disminuyó y se observó la presencia de gran cantidad de células microalgales en suspensión.

Las microalgas crecieron en el medio de ES sin problemas alcanzando gran productividad, pero en el EC el cultivo no prosperó. En las fotografías tomadas, se puede observar la población de bacterias junto a la de microalgas. Las bacterias son aquellas que ya se encontraban en el efluente. También se pudo observar en las microalgas una morfología distinta, lo cual puede suponerse que se trataría de un posible estrés producido en la cepa de *Scenedesmus acutus*. Sin embargo,

la morfología de la cepa se observa en la mayoría de la población normal. (Figura 5)



Figura 4 Microalgas en efluente Secundario. Vista por microscopio óptico en aumento de 100x.

Oron et al. (1979) reportaron que, para condiciones favorables de explotación de algas con alta productividad, la relación alga/bacteria en consorcio puede estar en el orden de 1:100 o incluso superiores, y que esta relación puede ser un criterio de funcionamiento de la laguna, el cual puede ser utilizado como guía para generar cambios necesarios para aumentar el crecimiento de algas y mejorar la calidad del efluente o su productividad.

Al comienzo de la experiencia, a los 12 días y luego de los 30 días de operación del biorreactor, se determinaron los distintos parámetros del agua. Los análisis del efluente se realizaron en la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC).

En la Tabla 2, se puede observar que a los 12 días de tratamiento se ve una disminución del 96% de la DBO, un 89% de la DQO y un 81% de la disminución del Nitrógeno. Mientras que a los 30 días se observa una disminución del 99% de la DBO, un 95% de la DQO, y un 87% de la disminución de nitrógeno. Hay un aumento de la cantidad de fósforo en el efluente debido posiblemente al enriquecimiento del medio con sales inorgánicas que luego se corrigió.

La bibliografía consultada muestra por ejemplo, una remoción de DQO 94%, DBO 59%, 64% de Nitrógeno total y 47% de Fósforo total, para un tratamiento de efluente de una fábrica de fideos instantáneos con una duración de 15 días (Worawit et al., 2015). Resultados sobre efluentes cloacales de la ciudad de Trelew para un cultivo de 12 días arrojan

resultados de un 73% de remoción de DQO, 87% de remoción de DBO, 94% de remoción de Fósforo y 40% de remoción de Nitratos. (Méndez Suaza et al., 2011), con lo que nuestra experiencia se ve similar a lo encontrado en la bibliografía. Del tratamiento de efluente citrícola planteado se obtuvo una remoción más alta de la que se consigue actualmente con el tratamiento secundario anaerobio, mejorando los parámetros del agua de vertido.

El crecimiento de las microalgas reduce el impacto ambiental no solo por la fitorremediación, sino también por la disminución de dióxido de carbono, principal responsable del efecto invernadero, ya que es un nutriente esencial para su crecimiento.

Por último, la biomasa obtenida puede

Tabla 2. Valores de los parámetros del agua residual antes y después del tratamiento con microalgas.

Parámetros del Agua Residual						
Ensayo	Unidades	Inicial	12 días	Remoción	30 días	Remoción
DBO	mg O ₂ /L	1704	66	96%	13	99%
DQO	mg O ₂ /L	3266	358	89%	170	95%
ST	mg/L	5056	1576	69%	1231	76%
STD	mg/L	3606	1386	62%	1199	67%
pH		6,6	7,8		8	
P	mgP/L	4,5	20		5,6	
	mg PO ₄ /L	14	61		17	
NTK	mg/L	52	10	81%	7	87%

ser utilizada para otros procesos. Ya sea para su utilización directa con la tierra para su abono, u otros procesos para la obtención de productos de mayor valor agregado. Ejemplos de tales son, su degradación para la obtención de biogás, enriquecimiento proteico de alimento para peces y animales de forrajería, obtención de aceite para producción de biodiesel, obtención de bioetanol, etc.

Conclusiones

Se realizó exitosamente la adaptación de la cepa *Scenedesmus acutus* al efluente de un tratamiento secundario de una citrícola en sistema discontinuo a 30 días de crecimiento y la mejora en los parámetros de vertido de aguas residuales de efluentes citrícolas.

Esta investigación refleja la capacidad de aprovechamiento de aguas residuales de una citrícola como medio de cultivo, con la ventaja de generación de biomasa para obtención de biocombustible. También se produce la captura de CO₂ lo cual genera una disminución del efecto invernadero.

Agradecimientos

A SPU-ME por el financiamiento con el proyecto “Biocombustibles y microalgas” convocatoria 2016. A la cátedra de Microbiología de FACET-UNT por facilitarnos el uso de los laboratorios.

La Ing. Varela Bonissone fue becaria estudiantil SCAIT-UNT 2016. Con este proyecto finalizó sus estudios de Ingeniería Química en FACET-UNT-

Bibliografía

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A., & Ibraheem, I. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 257–275.
- Arredondo, B., & Vázquez-Duhalt, R. (1991). Aplicaciones biotecnológicas en el cultivo de microalgas. *Ciencia y Desarrollo*, 17: 99-111.
- Bala, K., Kratika, P., Ritunesh, K., & Devendra, D. (2017). Phycoremediation: An Eco-friendly Approach to Solve Water Pollution Problems. En C. K. Vipin, *Microbial Application, Vol. 1* (págs. 3-28). Springer international publishing.
- Cortón, E. V. (2006). Solucionando grandes problemas ambientales con la ayuda de pequeños amigos: Las técnicas de biorremediación. *Ecosistemas*, vol. 15, No 3, 148-157.
- Dasilva, E., Dommer Gues, Y., Nyns, E., & Ratledge, C. (1987). Microbial

Technology in Developing World.
Oxford Science Publication, 261.

Argentina: Universidad Nacional de
Tucuman.

Madigan, M. (2003). *Brock Biology of Microorganisms*. New Jersey: Pearson Education Inc.

Worawit, W., Wilai, C., Paveena, T., & Sorawit, P. (2015). Production of microalgal biomass using raw wastewater from instant noodle. *International journal of current research and academic review*, Special Issue 2: 190-199.

May Cua, E. R. (2015). *Cultivo de la microalga Scenedesmus sp. en un fotobiorreactor acoplado a un sistema de recuperación de biomasa*. . Yucatán, México.

Agradecimientos

Méndez Suaza, L., Albarracín, I., Cravero, M., & Salomón, R. (2011). Crecimiento de *Scenedesmus Quadricuada* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, vol. 28, No. 1, pp.36- 41.

Al Lic. German Roig Babot, por su colaboración en el proyecto, su interés y su buena disposición.

Oron, G. S. (1979). Algae / Bacteria Ratio in High-Rate Ponds Used for Waste Treatment. *Applied and environmental microbiology* , vol. 38, no. 4,pp. 570–576.

A las cátedras de Química Orgánica y Microbiología General e Industrial del departamento de Procesos Industriales de la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología de la Universidad Nacional de Tucumán, donde se realizaron los procedimientos de laboratorio.

Ramalho, R. (1983). *Caracterización de Aguas residuales dompesticas e industriales*. . *En Tratamiento de Aguas Residuales*. . Quebec-Canadá: Reverté S.A.

Financiamiento

Este trabajo de investigación se realizó con el apoyo de la beca CIUNT otorgada por la Secretaría Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica y el Ministerio de Educación de la Nación Argentina.

Singh, A. R. (2014). *Produccion de biodiesel utilizando Microalgas como materia prima*. . Tucuman,