

Tratamiento de efluentes industriales complejos mediante el empleo de hongos

A.I. Díaz¹, A. Laca¹ y M. Díaz¹

¹ Dpto. Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente. Universidad de Oviedo. Calle Julián Clavería, nº 8. 33006 – Oviedo. Asturias.

mariodiaz@uniovi.es

Resumen

El empleo de hongos, como alternativa a las bacterias, para el tratamiento biológico de aguas residuales industriales complejas puede suponer importantes ventajas ya que son capaces de secretar enzimas extracelulares que degraden una amplia variedad de compuestos escasamente biodegradables por las vías tradicionales.

En este trabajo se ensaya el hongo *Phanerochaete chrysosporium* para la degradación de aguas que presentan algunos componentes difícilmente biodegradables. Este hongo tiene la capacidad de producir enzimas ligninolíticas y peroxidasas que favorecen la degradación de esos compuestos. Se han empleado aguas residuales industriales reales procedentes de industria papelera, planta de biometanización y lixiviado de vertedero ya tratado. Los resultados obtenidos muestran las posibilidades que supone el empleo de este hongo con el fin de degradar la DQO y/o aumentar la biodegradabilidad en cada uno de los casos analizados.

Palabras Clave: degradación, efluentes, hongos, *Phanerochaete chrysosporium*, tratamiento biológico.

Introducción

La búsqueda de alternativas que permitan el tratamiento de los efluentes generados en los procesos industriales es uno de los principales retos a los que se enfrenta la sociedad. Estos efluentes se caracterizan por contener elevadas concentraciones de sustancias complejas poco biodegradables que son tóxicas para el ecosistema, por lo que su eliminación es fundamental para proteger el medio ambiente y los recursos hídricos. En los últimos años se ha despertado un gran interés por el tratamiento biológico de estos efluentes mediante hongos capaces de secretar enzimas extracelulares.

Los hongos de putrefacción blanca han demostrado un gran potencial para la eliminación de contaminantes debido a su capacidad para producir enzimas tales como lacasa (Lac), lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP), que están involucradas en la degradación de lignina y sus sustratos lignocelulósicos naturales. Además, estas enzimas ligninolíticas pueden degradar diversos contaminantes como fenoles, pesticidas, insecticidas clorados, colorantes y una variedad de otros compuestos (Brijwani et al., 2010). En concreto, el hongo *Phanerochaete chrysosporium*, ya ha sido empleado en la degradación de efluentes procedentes del tratamiento de lixiviados y de la industria textil. En esta línea, L. Hu et al. 2016, obtuvieron resultados de eficacias superiores al 70% en cuanto a la degradación de la DQO, COT y NH₃-N en lixiviados de vertedero mediante el empleo de *P. chrysosporium*.

En este contexto, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la capacidad del hongo *P. chrysosporium* para la degradación de tres sustratos que presentan componentes difícilmente biodegradables. Un primer sustrato estudiado es el licor negro de la industria papelera, que contiene lignina y otros componentes como hemicelulosas y compuestos solubles. Hongos de putrefacción blanca como *Trametes versicolor* han sido empleados para la degradación de este tipo de efluentes debido a su contenido en lignina y otros componentes como hemicelulosas y compuestos solubles (Font et al., 2003). Un segundo sustrato estudiado es el licor procedente de un reactor de biometanización. Y el tercer sustrato es lixiviado de vertedero ya tratado por nitrificación-desnitrificación, pero que todavía presenta una demanda química de oxígeno (DQO) elevada y de escasa biodegradabilidad.

Materiales y Métodos

Caracterización de los sustratos empleados:

El licor de biometanización y el licor de ultrafiltración empleados en el estudio, proceden de una planta de biogás y de una planta de tratamiento biológico de lixiviados, respectivamente. Ambas plantas se encuentran en un centro integrado de tratamiento de residuos al norte de Asturias (COGERSA).

El licor negro es un efluente resultante de la industria papelera. Desde la toma de muestras, los sustratos se conservaron en nevera (4°C) hasta el momento de su utilización. Las características fisicoquímicas de los sustratos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de los sustratos analizados.

| Muestra | pH (ud.) | DQO disuelta (mg/L) | DBO ₅ disuelta (mg/L) |
|--------------------------|----------|---------------------|----------------------------------|
| Licor de biometanización | 7.98 | 804 | 103 |
| Licor negro | 10.05 | 1448 | 167 |
| Licor de ultrafiltración | 7.15 | 858 | 21 |

Microorganismo:

Phanerochaete chrysosporium Burdsall 1974 se obtuvo a través de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT 2798). Para el crecimiento del hongo se empleó como medio de cultivo agar de extracto de malta (MEA) al 2% que mantuvo a 26°C durante 7 días. Fue necesario realizar tres subcultivos a partir del cultivo madre para la utilización del hongo en condiciones óptimas.

Suspensión micelial:

Se tomó como referencia el procedimiento empleado por Blánquez et al., 2004 con algunas modificaciones. La suspensión del micelio de *Phanerochaete chrysosporium* se obtuvo a partir de cuatro cilindros de 0.6 mm de diámetro, procedentes del área de crecimiento activo del hongo en las placas de agar. Estos cilindros se incubaron en 150 ml de medio líquido de extracto de malta (ME) al 2% (p/v) en matraces Erlenmeyer de 500 ml. El medio líquido empleado fue esterilizado previamente durante 30 minutos a una temperatura de 121°C. El matraz se incubó a 26°C con agitación orbital a 135 rpm durante 6 días hasta la obtención de un denso micelio. Después de este periodo, el micelio se separó del medio líquido empleando un tamiz, se resuspendió en NaCl 0.8% (p/v) estéril en una relación 1:3 (p/v) y se trituró a 11000 rpm durante 5 min empleando un homogeneizador (Heidolph SilentCrusher M). La suspensión micelial resultante se conservó a 4°C hasta su uso.

Producción de los pellets:

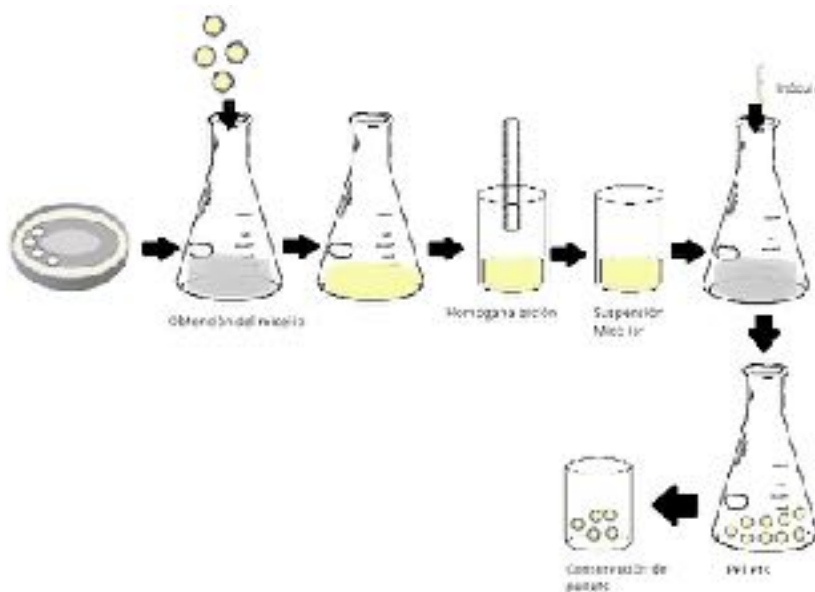
La suspensión micelial fue empleada para la producción de los pellets mediante la inoculación de 600 µl de suspensión en 250 ml de extracto de malta (ME) al 2% (p/v), previamente esterilizado y con el pH ajustado a 4.5, empleando NaOH 0.1N, en un matraz Erlenmeyer de 1L. El matraz se incubó a 26°C con agitación orbital constante (135 rpm) durante un periodo de 6 días. Los pellets formados se separaron del medio líquido empleando un tamiz y se conservaron en NaCl 0.8 % (p/v) estéril, a 4°C hasta su uso. El procedimiento se muestra en la Fig 1.

Tratamiento de degradación:

En matraces Erlenmeyer de 1L de capacidad, se inocularon 400 ml de sustrato con 3 g/L de *Phanerochaete chrysosporium* (en peso seco). El contenido de humedad del hongo se determinó secando los pellets a 105°C hasta peso constante. Cada uno de los sustratos inoculados se incubó a 26°C durante un periodo de 20 días con una agitación orbital constante de 135 rpm.

El pH de las muestras iniciales se ajustó a un valor de pH 6.0, de acuerdo con los estudios realizados por Hu et al. 2016. Se tomaron muestras periódicas durante 20 días, tanto del lixiviado inoculado con *P. chrysosporium* como del lixiviado control (lixiviado sin inocular). Todos los ensayos de degradación se realizaron por duplicado.

Figura 1. Procedimiento para la obtención de pellets de *Phanerochaete chrysosporium*



Resultados y Discusión

En el tratamiento del licor de biometanización se obtuvieron resultados significativos en cuanto a la degradación de DQO soluble, alcanzando valores de 682 mg/L en el sustrato final, lo que se corresponde con eliminaciones del 15% respecto a la concentración inicial. Hay que tener en cuenta que durante el periodo inicial de la degradación (0-6 días) se produjo un aumento de la DQO disuelta, resultado de la lisis de los sólidos presentes en el sustrato. El valor de DBO₅ aumentó hasta alcanzar valores de 237 mg/L. Como resultado final se obtuvo un sustrato con un índice de biodegradabilidad de 0.3. El sustrato control no mostró cambios significativos ni en los valores finales de DQO disuelta y DBO₅ frente al sustrato inicial.

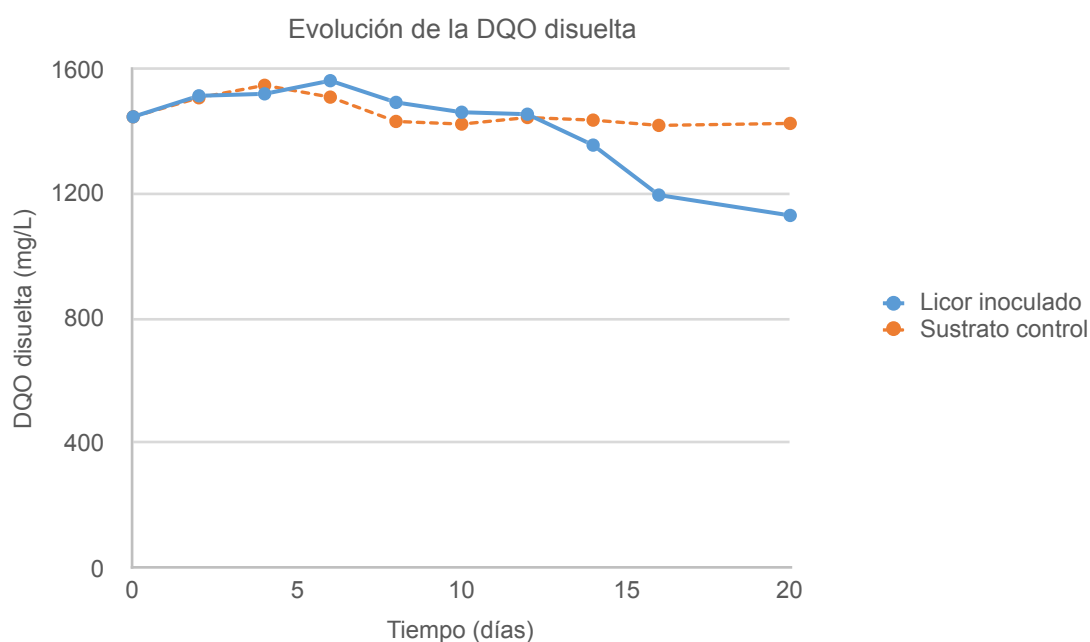
En cuanto al estudio de la evolución del pH, se observó un aumento progresivo del mismo hasta los 9 primeros días, posteriormente el pH se redujo drásticamente alcanzando valores de pH 5.52. Esta tendencia también se observó en el sustrato control.

En el caso del licor negro, los porcentajes de eliminación de DQO disuelta obtenidos son ligeramente mayores a los alcanzados para el licor de biometanización, con valores finales próximos al 22%. A diferencia del licor de biometanización, tanto para el licor negro inoculado como para el sustrato control no se obtuvieron incrementos significativos de DQO disuelta durante el periodo inicial, obteniendo eliminaciones significativas a partir del 6 día de tratamiento (véase Fig.2). Los valores de DBO₅ finales fueron de 389 mg/L tras 20 días de tratamiento lo que permitió mejorar considerablemente la biodegradabilidad del sustrato final. Durante el tratamiento del licor negro se observó un ligero incremento del pH tanto en el licor negro inoculado como en el control manteniéndose más o menos constante a partir de los 8 días de tratamiento.

A diferencia de los dos sustratos anteriores, el licor de ultrafiltración no mostró cambios significativos ni en los valores de DQO ni en la biodegradabilidad. El pH al igual que en casos anteriores aumentó en este caso a valores próximos a pH 9.0 durante los 5 primeros días, manteniéndose posteriormente estable.

Si bien es cierto que los resultados de eliminación de DQO obtenidos para los sustratos en este estudio, no alcanzan degradaciones tan elevadas como las descritas en la bibliografía para otras aguas complejas, se muestra su potencial en dos de los tres casos ensayados. Además, hay que tener en cuenta que se trata de los primeros ensayos, siendo necesario la optimización de las condiciones de operación para cada caso concreto, tales como control de pH, aporte de nutrientes, aireación o cantidad de hongo a emplear.

Figura 2. Evolución de la DQO disuelta para el licor negro. En azul (●) se representan los valores obtenidos para el licor inoculado con *P. chrysosporium*, mientras que en naranja (●) están representados los valores obtenidos para el sustrato control (sin inocular).



Conclusiones

De todos los sustratos empleados los mejores resultados se obtuvieron para el licor negro, con degradaciones para DQO disuelta entorno al 22% respecto de la concentración inicial, a los 20 días de tratamiento. Este hecho, junto al aumento de los valores de DBO₅, pone de manifiesto que el empleo de *P. chrysosporium* para el tratamiento de algunas aguas complejas puede resultar de interés, mejorándose además la biodegradabilidad.

Referencias

1. X. Font, G. Caminal, X. Gabarrell, S. Romero, and M. T. Vicent. (2003), *Black liquor detoxification by laccase of Trametes versicolor pellets*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 78: 548-554. doi:[10.1002/jctb.834](https://doi.org/10.1002/jctb.834)
2. K. Brijwani, A. Rigdon, and V. Praveen vadlani. (2010). *Fungal laccases: production, function, and applications in food processing*. *Enzyme Research*. vol. 2010. Article ID 149748.
3. L. Hu, G. Zeng, G. Chen, H. Dong, Y. Liu, J. Wan, A. Chen, Z. Guo, M. Yan, H. Wu. (2016). *Treatment of landfill leachate using immobilized Phanerochaete chrysosporium loaded with nitrogen-doped TiO₂ nanoparticles*. *J. Hazard. Mater.* Vol 301, pp. 106-118.
4. P. Blázquez, N. Casas, X. Font, X. Gabarrell, M. Sarrà, G. Caminal, and T. Vicent. (2004). *Mechanism of textile metal dye biotransformation by Trametes versicolor*. *Water Research*, Vol. 38, 2166-2172.