

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

BIODEGRADACIÓN DE COLORANTES USADOS EN UNA
INDUSTRIA TEXTIL GUATEMALTECA

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR:

OSCAR ERNESTO AVENDAÑO DE LEÓN

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, abril del 2,001

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
+(2231)

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANA: LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA

SECRETARIO: LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA

VOCAL I: DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO

VOCAL II: DR. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA

VOCAL III: DR. FEDERICO ADOLFO RICHTER MARTINEZ

VOCAL IV: BR. CESAR ALFREDO FLORES LOPEZ

VOCAL V: BR. MANUEL ANIBAL LEAL GOMEZ

ACTO QUE DEDICO

A DIOS, por iluminar mi camino y brindarme siempre tu mano cuando me encontraba en el suelo.

A LA VIRGEN MARIA, por ser en toda mi vida el puente de unión con DIOS.

A MIS PADRES, Carlos Rodrigo Avendaño Galdámez y Elsa Catalina De León De Avendaño, de quienes es este logro debido a su gran amor, sacrificio y paciencia.

A MI NOVIA, Karen Darlene Valenzuela Elías, quien es el amor de mi vida.

A MIS HERMANOS, Carlos Roberto Avendaño De León y Gerardo Antonio Avendaño De León, con fraternal cariño.

A MIS ABUELOS, Papi Rodrigo, Mama Julia(QEPD), Papi Teto(QEPD), Mama Pia; **A MI SOBRINO**, Tito; **A MIS CUÑADAS**, Rosita Y Fabiola.

A MIS AMIGOS, en especial a Luis Figueroa y Roberto Cáceres.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a:

El Licenciado Carlos Kleé por su asesoría.

Al Departamento de Físicoquímica por su colaboración en el desarrollo de esta tesis.

Al Departamento de Bioquímica por su colaboración al brindar sus instalaciones para la ejecución de la parte experimental de esta tesis.

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron con este trabajo de tesis.

INDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	5
1. Colorantes	5
1.1 Generalidades	5
1.2 Colorantes para fibras celulósicas	6
1.2.1 Colorantes directos	6
1.2.2 Colorantes azoicos	7
1.2.3 Colorantes de tina	7
1.2.4 Colorantes al azufre	8
1.2.5 Colorantes reactivos para fibras	8
1.3 Fabricación de colorantes	8
1.3.1 Colorantes azo	8
2. Microorganismos e impurificación de las aguas	9
2.1 Papel de los microorganismos en la autodepuración de las aguas.	11
2.2 Técnicas de tratamiento	14
2.2.1 Tratamiento biológico	15
2.2.1.1 Biodegradación	15
2.3 Técnicas para la determinación de la biodegradación.	16
2.3.1 Bioautografía	16
2.3.2 Espectrofotometría	17
3. Tipos y fuentes de contaminación	17
4. Consideraciones futuras	18
IV. JUSTIFICACIONES	19
V. OBJETIVOS	20

VI.HIPOTESIS	21
VII.MATERIALES Y METODOS	22
VIII.RESULTADOS	27
IX.DISCUSION DE RESULTADOS	42
X.CONCLUSIONES	49
XI.RECOMENDACIONES	51
XII.REFERENCIAS	52
XIII.ANEXOS	55

I. RESUMEN

El presente trabajo de tesis determinó el grado de biodegradación de 7 distintos colorantes que son empleados en una industria textil guatemalteca a través de un proceso en el que se aplican microorganismos a una mezcla de colorantes por 6 días.

Para la determinación del grado de biodegradación de los colorantes se emplearon dos técnicas diferentes, una espectrofotométrica y una cromatográfica.

La técnica espectrofotométrica consistió en la inoculación de los microorganismos al medio de cultivo (agua de peptona) que contenía cada uno de los colorantes. Se encontró que cada colorante fué degradado por los microorganismos, aunque cada uno tuvo distinto nivel de biodegradabilidad. Existió para los 7 colorantes una diferencia significativa entre cada tiempo de medición del ensayo. Esta diferencia significativa, que se obtuvo a través del análisis estadístico, indica que la biodegradación fué obra de los microorganismos y no de otros factores presentes en los lodos. Además, el modelo de disminución de las concentraciones fué lineal inverso, lo que indica que a mayor tiempo, menor concentración de la especie química en estudio.

En la técnica cromatográfica, llamada autobiografía, se aplicaron los 7 distintos colorantes en una cromatoplaca, sobre la que se añadió una capa de agar nutritivo inoculado con los microorganismos adaptados.

En toda la cromatoplaca no existió ninguna zona de inhibición, ya que los microorganismos se desarrollaron en toda la superficie de ésta. Cada colorante fué biodegradado luego de las 18 horas del ensayo. El Naranja Indosol, Azul Marino y el Rojo Drimaren quedaron incoloros, mientras que el resto de colorantes sufrieron de una considerable disminución de color.

En la cromatoplaca de sílica gel F_2T_4 , al ser expuesta a la luz ultravioleta de onda corta, no se encontró indicios de otro compuesto lo que confirmó que los colorantes constituyeron la fuente carbonada para el desarrollo microbiano.

Al analizar los resultados de ambas técnicas, se apreció que éstos guardan relación, ya que en ambos casos hubo biodegradación de los colorantes y no hubo inhibición del crecimiento microbiano.

II. INTRODUCCION

Las industrias trabajan día tras día para mejorar e incrementar su producción, lo que representa un aumento en los productos de desecho en el medio ambiente sin que haya una conciencia hacia el daño ecológico que esto podría representar. Este hecho es particularmente notorio en países tercermundistas donde las industrias de teñido son del tipo artesanal y sin tratamiento de desechos. La alteración del medio ambiente se presenta, si no en todas, en la mayoría de las industrias de textiles en nuestro país, a través de las aguas residuales que son resultado de los procesos intrínsecos de la tinción.

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad determinar la biodegradabilidad de los colorantes utilizados en una fabrica textil guatemalteca en el teñido de hilo de algodón en Guatemala, para así conocer si estos colorantes son biodegradados por el ambiente o bien si la resistencia a la biodegradación obliga a la aplicación de tratamientos químicos para su eliminación.

Los colorantes de estudio son utilizados en la industria textil guatemalteca. El seguimiento de la biodegradación fue realizada cualitativamente por una técnica cromatográfica (autobiografía), y la espectrofotometría ultravioleta-visible como técnica cuantitativa.

Para la autobiografía se utilizaron placas con sílica gel, y para detectar inhibición o estimulación del crecimiento del organismo al que se expuso el colorante. Se pudo demostrar mediante esta técnica que los microorganismos utilizaron el colorante como fuente carbonada útil en sus procesos fisiológicos y no lo degradaron en otros compuestos.

La técnica espectrofotométrica tuvo como fundamento la medición de la intensidad del color del colorante contra tiempo. Se utilizó la variable absorbancia o porcentaje de transmitancia como índice en la variación de la concentración del colorante en estudio. El proceso de biodegradación se inició con la adaptación de los microorganismos al medio de cultivo, que contenía un medio nutritivo específico de crecimiento y los colorantes (Cultivo Madre). Se utilizó el cultivo madre para el tratamiento de todos los colorantes, los cuales se evaluaron por triplicado, en tres tiempos distintos (48 hrs, 1 semana, 2 semanas).

Este trabajo es de suma importancia ya que hasta la fecha no se ha realizado ninguna investigación sobre el tema. Es de hacer notar que no aparecen informes sobre degradación de colorantes en bibliotecas nacionales ni internacionales.

III. ANTECEDENTES

1.- Colorantes

1.1.- Generalidades

El color desempeña desde siempre un papel importante en la vida del hombre, aun cuando su importancia sea casi totalmente de índole estética. Por toda la historia del hombre, los colorantes, naturales y sintéticos, han sido un importante artículo comercial(1).

Un colorante es un compuesto que al aplicarse a un sustrato le confiere un color más o menos permanente. Un colorante se aplica en solución o dispersión y el sustrato debe tener cierta afinidad para absorberlo. Los colorantes en general son solubles en el medio en el que se aplican o en el producto final(2).

Un colorante consta de una estructura que produce color, el cromágeno, y una parte que regula las propiedades de coloración y solubilidad, el auxocromo. Sin ambas partes, el material es sencillamente un cuerpo con color(3).

El cromágeno es un cuerpo aromático que contiene un grupo que proporciona color, llamado comúnmente cromóforo. Los grupos cromóforos causan color al alterar las bandas de absorción en el espectro visible(3).

Las principales propiedades que los compradores de colorantes buscan son color, resistencia a la luz y adherencia al sustrato, para que el color no se desvanezca, se desgaste o se extraiga por el lavado. También es importante el nivelado del colorante (uniformidad), se busca facilidad de aplicación, lo mismo que compatibilidad con otros colorantes. El costo es relativamente poco importante porque los colorantes se usan en pequeñas cantidades(2).

1.2.- Colorantes para fibras celulósicas

1.2.1.- Colorantes directos

Las fibras celulósicas (algodón, lino y rayón) no tienen grupos ácidos o básicos y no forman enlaces electrovalentes. Sin embargo, tienen un gran número de grupos oxhidrilo y pueden teñirse con moléculas que forman enlaces de hidrógeno con éstos. Estos colorantes se denominan colorantes directos y se aplican de una solución neutra y caliente, a la cual se ha agregado un electrólito. El requerimiento de la molécula de colorante, además de dar el color correcto, es que debe ser larga, lineal y plana, con capacidad de formación de enlaces de hidrógeno en los sitios correctos para interactuar con los grupos oxhidrilo del polímero de celulosa. Como un enlace de hidrógeno no es suficiente para retener la molécula de colorante en posición, es conveniente que haya varios de estos enlaces. Para que el colorante se deposite sobre la fibra, debe tener una solubilidad en agua mínima, sólo suficiente para poder aplicarlo de una solución acuosa. A pesar del ingenio que se ha desplegado para lograr la

formación de enlaces de hidrógeno múltiples, los colorantes directos inevitablemente son solubles en agua y su aplicación es reversible(2).

1.2.2.- Colorantes azoicos

Un sistema alternativo en donde puede aprovecharse el potencial de enlaces de hidrógeno total de una molécula de colorante es el teñido en rama, en donde se forma un colorante insoluble *in situ* sobre la tela. Un colorante típico se aplica de una solución alcalina y después se trata con una sal de diazonio preparada a partir de una amina que no tiene grupos que confieren solubilidad en agua. Los dos componentes se unen formando un compuesto azoico insoluble unido a la fibra por enlaces de hidrógeno. Después, un tratamiento con solución de jabón caliente, lava las partículas sueltas y hace que las otras se agreguen dentro de los poros de la fibra(2).

Los colorantes azoicos son más firmes (resistente a la luz) que los directos, pero su aplicación es más complicada ya que los tintoreros no querían diazoar las aminas ellos mismos, debido a esto es que los venden ya preparados(2).

1.2.3.- Colorantes de tina

Son parecidos a los colorantes azoicos en su forma de acción; también se utilizan principalmente para el teñido de algodón. Casi todos los colorantes de tina son a base de antraquinona y dependen de la facilidad con que los derivados insolubles de la antraquinona se reducen a las formas solubles *leuco*

por acción del hidrosulfito de sodio en condiciones alcalinas. La tela se sumerge en una solución de la forma *leuco* para su coloración o teñido(2).

La fibra teñida se hierve con solución de jabón para lavar las partículas que no se encuentran fijadas y agregar las otras(2).

1.2.4.- Colorantes al azufre

Son compuestos que tienen estructura incierta y se desconoce cuál es su cromóforo preciso. Se han utilizado para teñir algodón durante más de un siglo. Son similares a los colorantes de tina porque son insolubles en agua y deben primero reducirse a una forma soluble o forma *leuco*(2).

1.2.5.- Colorantes reactivos para fibras

Una mejor solución al problema de teñido de algodón y otras fibras celulósicas son los colorantes reactivos para fibras. Estos colorantes se unen a las fibras de celulosa mediante enlaces covalentes y, por tanto, tienen una firmeza única para el lavado. No se requiere ninguna restricción sobre la elección del colorante excepto que tenga un grupo amino o un grupo oxhidrilo(2).

1.3.- Fabricación de colorantes

1.3.1.- Colorantes azo

Los colorantes azo son la clase más amplia e importante. Su versatilidad es tal que existen casi para todo tipo de aplicación y en todos los colores. Se caracterizan por el cromóforo $-N=N-$, que en ciertos casos puede existir en la

forma tautomérica $-\text{NH}-\text{N}=\text{}$. Los compuestos que tienen un solo grupo azo se conocen como colorantes monoazoicos, los que tienen dos son diazoicos, con tres, triazo, etc(2).

Los colorantes azo se preparan a partir de aminas aromáticas primarias por una secuencia de procesos conocidos como diazoación y copulación. Cuando estas aminas reaccionan con ácido nitroso en solución ácida fría se diazoan formando una sal de diazonio. La sal de diazonio puede unirse con componentes adecuados que generalmente son fenoles, naftoles, aminas aromáticas, etc y así formar el color deseado(2).

2.- Microorganismos e impurificación de las aguas

Se requiere de una diversidad de microorganismos para la descomposición de diferentes materiales. Dicha diversidad depende directamente de las condiciones ambientales(4). Las bacterias, actinomicetos y hongos, tienen gran importancia por ser los primeros en actuar en la descomposición de la materia orgánica(5).

Los lagos, corrientes, ríos y océanos sufren de una contaminación periódica a través de distintas formas. Entre los contaminantes se encuentran los microorganismos provenientes del agua atmosférica (precipitación), como también los desechos que son arrojados deliberadamente. La población microbiana varía tanto en número como en clase de acuerdo al origen del agua,

las sustancias nutritivas que contenga para los microbios, y las condiciones geográficas, biológicas y climáticas(6).

La población microbiana de un cuerpo de agua natural está en gran parte determinada por las condiciones físicas y químicas que prevalezcan en ese hábitat; estas condiciones son las siguientes:

- temperatura
- presión hidrostática
- luz
- salinidad
- turbidez
- pH
- constituyentes orgánicos e inorgánicos(7, 8, 9).

Los microorganismos raramente existen en los ambientes naturales como colonias puras contando con sólo un tipo de población, más bien aparecen como poblaciones de comunidades de una gran variedad. Estas poblaciones constantemente cambian debida a los factores mencionados anteriormente y las interacciones de microorganismos, plantas y animales(10).

Los materiales de desecho y las aguas residuales ejercen una influencia muy diversa sobre la microbiota de los medios acuáticos. Numerosos microorganismos se encuentran en los ríos, lagos y aguas costeras, a ellos se suman grandes cantidades de principios nutritivos orgánicos e inorgánicos que provocan el desarrollo exuberante de diversas especies de microorganismos. Por otro lado, no es extraño que los productos tóxicos inhiban el desarrollo de la microbiota e incluso la aniquilen en gran parte. Las aguas residuales

transportan también gérmenes y hongos patógenos y pueden causar graves epidemias(11).

Por otra parte, los microorganismos contribuyen de una manera decisiva a la autodepuración natural de las aguas, descomponiendo las sustancias orgánicas contaminantes, y desempeñan una función similar en la clarificación biológica de las residuales. En estos procesos se reduce considerablemente la concentración de las materias nutritivas orgánicas, hasta el extremo que, finalmente, disminuye también, en la proporción correspondiente, el contenido biológico del agua(11).

2.1.- Papel de los microorganismos en la autodepuración de las aguas

Como la mayoría de los ríos y lagos, así como algunas regiones marinas, sufren constantemente una contaminación más o menos intensa, motivada por los desechos y las aguas residuales, la depuración natural de sus aguas tiene una importancia extraordinaria, porque gracias a este proceso, se están eliminando impurezas constantemente, de tal forma que los cuerpos de agua, por ejemplo, vuelven a estar ya limpios, hasta cierto punto, unos kilómetros más allá de los canales de evacuación. Es indudable que en este sentido desempeñan también un papel importante los procesos fisicoquímicos (sedimentación y oxidación) pero los biológicos son los verdaderamente decisivos al respecto(12). En la autodepuración participan siempre numerosos seres vivos, empezando por las aves y los peces hasta llegar a los microorganismos. El papel verdaderamente

decisivo corresponde a las bacterias y los hongos, porque tienen poder para degradar tanto los compuestos orgánicos presentes en forma sólida como los disueltos, convirtiéndolos, en los casos más favorables, en CO_2 , agua y sales inorgánicas. Por tanto, en condiciones adecuadas, poseen capacidad para la degradación completa de muchas impurezas orgánicas. Degradan con gran rapidez, por lo general, las proteínas, los azúcares y el almidón, pero mucho más despacio y a menudo sólo incompletamente, las grasas, la celulosa y la lignina. Por consiguiente, a medida que progresa la autodepuración, se modifica también la población microbiana(11).

El poder de autodepuración de las aguas es muy variable, ya que depende directamente de la presencia de oxígeno. Por consiguiente, la autodepuración alcanza un grado máximo donde la agitación de las aguas residuales provoca su rápida distribución y favorece a un intercambio gaseoso con la atmósfera. Así sucede en la mayoría de los arroyos y ríos, como igualmente en las aguas de la costa con fuertes mareas o corrientes causadas por el viento. Sin embargo, el recambio gaseoso es insuficiente en las aguas estancadas, por lo que falta el oxígeno mucho antes y de ahí que la autodepuración se altere considerablemente(11).

El poder de autodepuración varía también con la estación del año. Es mayor durante los meses de verano que en invierno. Esto se debe principalmente a dos causas: por un lado las temperaturas más altas del agua en

verano facilitan la actividad de las bacterias, por otro, el fitoplancton suministra oxígeno adicionalmente debido a la irradiación luminosa más intensa. La actividad metabólica, esencialmente mayor en gran parte de los microorganismos durante los meses estivales, acelera el consumo de los principios nutritivos suministrados por las aguas. Ésto trae en consecuencia un descenso del número de microorganismos(11).

La autodepuración natural se produce únicamente donde la composición y la cantidad de las impurezas se correspondan con el poder de purificación del canal de desagüe. Es frecuente que el volumen de las aguas residuales y de desechos evacuados supere la capacidad de transformación aún en las condiciones más favorables. La autodepuración sufre entonces perturbaciones que suelen acarrear consecuencias muy desagradables(13). El intenso consumo de oxígeno origina a menudo zonas totalmente anaerobias, en las que se produce H_2S a causa de procesos de putrefacción y de la reducción bacteriana de los sulfatos, ocasionando la muerte de casi todos los seres vivos superiores y también de muchos microorganismos. Estas condiciones contribuyen a que se desarrolle una población microbiana de muy pocas especies, que por lo general carece de capacidad para descomponer todas las impurezas orgánicas(11).

Desde hace mucho tiempo que se reconoce la participación de los microorganismos en la destoxificación de distintos ambientes; en los años recientes este proceso ha tomado el nombre de biorremediación. La

participación de los microorganismos y sus limitaciones se deben entender para que se puedan utilizar eficientemente. Uno de los métodos más comunes conocido es el de estimular las tasas de degradación incluyendo nutrientes inorgánicos y oxígeno(14).

Los tratamientos biológicos de los desechos humanos se han llevado a cabo exitosamente por décadas. Los desechos industriales, municipales o agrícolas pueden ser tratados por biorreactores que contengan filtros o microorganismos. La biorremediación usa los microorganismos en la transformación y la degradación, por las capacidades de las poblaciones orgánicas y de las características inorgánicas del ambiente(14).

La primera técnica usada en biorremediación fué la estimulación de la actividad de los microorganismos, a través de la adición de nutrientes, la regulación de condiciones redox y la optimización de las condiciones de pH(15). Otros métodos aún se encuentran en etapas tempranas de pruebas que incluyen (a) inoculación de microorganismos con habilidades biotransformadas; (b) aplicación de enzimas inmovilizadas; (c) uso de plantas que contengan o transformen la población(14).

2.2.- Técnicas de tratamiento

Los métodos de biorremediación utilizan dos tipos de técnicas para limpiar ambientes contaminados: técnica de extracción y tratado; y tratado *in situ*(16).

La técnica de extracción y tratado incluye el remover el ambiente contaminado, para ser tratado en biorreactores. La inmovilización de microorganismos en biorreactores permite que altas tasas de concentración de biomasa puedan ser mantenidas, por lo que es una de las técnicas de extracción y tratado más apropiadas a utilizar(14, 16).

La técnica *in situ* generalmente incluye el uso de las actividades de los microorganismos propios del ambiente, o la inoculación de éstos(14).

2.2.1.- Tratamiento biológico

La mayoría de los compuestos tóxicos orgánicos son removidos por medio de tratamientos biológicos(17).

2.2.1.1.- Biodegradación

Es un término que los científicos aún no han podido definir del todo. Por el momento se dice que un compuesto biodegradable es aquel que puede descomponerse a elementos comunes y ser incorporado al medio ambiente. Es un proceso en el cual los microorganismos que normalmente viven en la tierra, agua o en el aire, consumen una sustancia y la digieren produciendo dióxido de carbono y agua(18).

A pesar de todos los procesos de transformación, la degradación microbiana puede ser la única fuerza que pueda remover completamente los desechos químicos orgánicos(19).

La mayoría de los tóxicos orgánicos son biodegradables, si bien algunos

lo hacen muy lentamente. Para que en la mayoría de los casos la biodegradación ocurra, la biomasa debe ser aclimatada a un compuesto orgánico específico. En un principio, al no encontrarse aclimatada la biomasa, la concentración de alimentación es muy baja, y a medida que ocurre dicha aclimatación dá como resultado la biodegradación de los tóxicos orgánicos(17).

En Guatemala no se han realizado estudios respecto a este tema, y a pesar que se ha buscado a través de distintos medios de información literatura en lo que respecta a trabajos de biodegradación de colorantes en otros países, sólo se ha encontrado trabajos de biodegradación de otros compuestos (insecticidas, biocidas, etc.).

2.3.- Técnicas para la determinación de la biodegradación

Entre las técnicas empleadas para la determinación de la biodegradación están: la cromatografía, específicamente bioautografía y la espectrofotometría.

2.3.1.- Bioautografía

Tiene como fundamento los efectos biológicos de las sustancias para ser detectadas. En términos generales, estos efectos pueden ser la inhibición o promoción del crecimiento de un organismo que es expuesto a una zona de la sustancia que anteriormente fué separada en un cromatograma de capa delgada(20).

Este método fué desarrollado para identificar los colorantes contenidos en una mezcla. El procedimiento utiliza un sistema de 3 solventes para dejar

un grupo de 4 colorantes, y luego estos son subsecuentemente divididos en otros 15 grupos por el uso de 11 solventes adicionales(20).

La inhibición del crecimiento de microorganismos se observa en las áreas donde el colorante fué separado. Esta técnica determina cualitativamente la biodegradabilidad de un colorante(20).

2.3.2.- Espectrofotometría

Es uno de los métodos fisicoquímicos más empleados para la medida de la absorción o emisión de energía radiante. La energía radiante se define como la energía transmitida en forma de radiación electromagnética. Esta energía puede ser absorbida, transmitida, reflejada o refractada por muchas sustancias en diferentes estados de agregación (sólido, líquido, disolución, gas), si la radiación tiene una longitud de onda apropiada(21).

En espectrofotometría, la energía que incide sobre una muestra es una radiación monocromática, las medidas de radiación transmitida se realizan mediante aparatos muy sensibles como el espectrofotómetro(21).

3.- Tipos y fuentes de contaminación

Se han identificado y dividido en 8 categorías los contaminantes del ambiente: desechos demandantes de oxígeno, agentes infecciosos, nutrientes de plantas, químicos orgánicos, elementos y compuestos inorgánicos, sedimentos, materiales radioactivos y calor(10). La acumulación de compuestos aromáticos en ríos localizados cerca de industrias ha sido comprobada en países

industrializados, y por su poder de alta afinidad hacia las partículas estos compuestos se pueden depositar en sedimentos y peces(22).

Las mayores fuentes de la contaminación del agua son desechos domésticos, desechos industriales y agrícolas(10).

Los desechos de la fabricación de textiles se generan por el lavado de las impurezas de las fibras; generalmente estos desechos son orgánicos y son extremadamente alcalinos(10).

4.- Consideraciones futuras

El desarrollo de la biotecnología en Guatemala depende del desarrollo de los profesionales de las ciencias básicas y aplicadas que utilizan estas tecnologías(23).

El reto al que se enfrenta la industria de colorantes en la década actual no es el descubrimiento de nuevos materiales, sino de los controles ambientales. La industria maneja gran número de intermediarios cíclicos, muchos de los cuales se sabe que son carcinogénicos y otros están bajo sospecha(2).

La aplicación de la biorremediación para decontaminación de ambientes es aún por mucho una ciencia en desarrollo. De eso surge la necesidad de cooperación entre distintos profesionales, para que estos procesos sean del todo claros y así poder emplearlos con efectividad(14).

IV. JUSTIFICACION

En los países en vías de desarrollo es necesario realizar estudios que permitan encontrar alternativas para eliminar los contaminantes producidos por las industrias, como es el caso de los colorantes utilizados en la industria textil.

En Guatemala no se han realizado estudios respecto a este tema. Además no se encuentra información sólo se ha encontrado trabajos de biodegradación de otros compuestos. Por lo cual esta investigación puede ser ofrecida a organizaciones pertinentes.

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad determinar el grado de biodegradabilidad de 8 distintos colorantes que son utilizados en una industria textil, para conocer si los residuos resultantes del proceso de tinción que son vertidos al medio ambiente pueden ser incorporados a éste o, caso contrario, contribuyen a que se incremente el daño ecológico provocado por el hombre en aguas de ríos y lagos.

V. OBJETIVOS

- General:

1. Determinar el grado de biodegradabilidad de 8 colorantes empleados en una industria textil de algodón guatemalteca.

- Específicos:

1. Adaptar a condiciones de laboratorio una fuente microbiana procedente de lodos cercanos a industrias textiles, para un análisis de biodegradación de colorantes.
2. Determinar cualitativamente la biodegradabilidad de cada uno de los colorantes empleados mediante utilización de microorganismos.
3. Cuantificar la biodegradabilidad de cada uno de los colorantes empleados.

VI. HIPOTESIS

Los colorantes empleados en la industria textil de algodón guatemalteca son biodegradables.

VII. MATERIALES Y METODOS

6.1.1.- Universo:

7 Colorantes usados en una industria textil de algodón guatemalteca, los cuales son los siguientes:

- Rojo brillante
- Rojo drimaren
- Amarillo drimaren
- Amarillo brillante
- Azul marino
- Naranja brillante
- Violeta rojizo

6.1.2.- Muestra:

Se analizaron químicamente 24 muestras correspondientes a 7 distintos tipos de colorantes por triplicado que son usados en la industria textil de algodón guatemalteca.

6.2.- Materiales:

6.2.1.- Equipo:

6.2.1.1.- Espectrofotometro U.V.

6.2.1.2.- Máquina de agitación para aereación.

6.2.1.3.- Mechero

6.2.1.4.- Balanza analítica

6.2.1.5.- Equipo para Cromatografía en Capa Fina.

6.2.2.- Reactivos:

6.2.2.1.- 7 Colorantes

6.2.2.2.- Composición del medio de cultivo (agua peptonada):

- Peptona 10.0 g/l
- Cloruro sódico 5.0 g/l
- Tampón de Fosfato 10.5 g/l
- Agua destilada 1 litro

6.2.3.- Instrumentos:

6.2.3.1.- Pipetas volumétricas

6.2.3.2.- Pissetas

6.2.3.3.- Asas de nicromo

6.2.3.4.- Gradilla para tubos de ensayo

6.2.4.- Cristalería:

6.2.4.1.- Erlenmeyers de 2 Lts

6.2.4.2.- Beakers de 2 Lts

6.2.4.3.- Tubos de ensayo

6.2.4.4.- Cubetas del espectrofotometro

6.3.- Procedimiento:

6.3.1.- Técnica espectrofotométrica

Se basa en la reducción de la intensidad del color de la muestra, en este caso el colorante, contra tiempo(21).

6.3.1.1.- Operación:

- I) El cultivo madre se obtuvo de los lodos de drenaje de una fábrica de tinción de textiles.
- II) Luego se realizó la adaptación de los microorganismos al medio de trabajo. Los microorganismos se inocularon en recipientes adecuados que contenían 200 ml de medio de agua peptonada y 100 ml de una mezcla de colorantes. Se realizó una serie de distintas concentraciones (a partir de 6 ppm hasta 1000 ppm), éstas fueron inoculadas con los microorganismos del cultivo madre y conocer la concentración a la cual los microorganismos no biodegradaban totalmente el colorante. La cantidad de inóculo fue de 1 ml por cada 100 ml de medio, por lo que se trabajó con dilución de 1:100.
- III) Luego de inocular, la muestra se aereó acompañada de agitación continua del recipiente por 72 horas a temperatura ambiente; luego de las 72 horas se realizó la primera de las dos transferencias de adaptación, las cuales consistieron en transferir 1 ml de cultivo, por cada 100 ml de medio fresco, con su respectiva mezcla de colorantes siguiendo el procedimiento anterior,

para luego de transcurridas otras 72 horas realizar la última transferencia de adaptación.

IV) Para evaluar si la adaptación se llevó a cabo, se cultivó en un medio de agar nutritio tanto el cultivo madre sin mezclas de colorantes como también el cultivo madre con la mezcla de colorantes. Luego se comparó el crecimiento de ambos cultivos, con la finalidad de observar si los colorantes inhibieron el crecimiento de los microorganismos, o caso contrario que las bacterias se adaptaran al medio.

V) Luego de la adaptación de los microorganismos al medio de trabajo, se procedió a inocular el cultivo microbiano adaptado a cada uno de los recipientes que contenía un colorante específico(100ml) y medio de cultivo(200ml). Se preparó un blanco y un control. Se trabajó con la misma dilución de 1:100 y a cada colorante se le realizó su prueba por triplicado.

VI) Se colocaron los frascos sobre una máquina de agitación y se trabajó a temperatura ambiente.

VII) Para su análisis espectrofotométrico, cada colorante se midió a 4 tiempos distintos a su respectiva λ máxima de absorción (Anexo 3):

- Antes del inóculo (Tiempo cero)
- A las 48 horas
- A los 7 días
- A los 14 días

VIII) Por último, se determinó que colorantes son biodegradables a través de los análisis realizados (21,24,25)

6.3.2.- Técnica cromatográfica

6.3.2.1.- Bioautografía:

El método se desarrolló hace años para identificar los colorantes contenidos en una mezcla. El procedimiento usa un sistema de 3 solventes para dejar 4 grupos de colorantes, éstos se dividen en 15 subgrupos por el uso de 11 solventes adicionales(20).

6.3.2.1.1.- Operación:

- I) Se activaron placas de sílica gel F_2T_2 al aire a temperatura ambiente 24 horas antes de su uso.
- II) Las cromatoplasmas se desarrollaron en cámaras cromatográficas en la forma usual luego de la aplicación del colorante. Luego del desarrollo, los cromatogramas se pasaron bajo luz U.V. y fueron sujetos a bioautografía.
- III) El cromatograma seco se colocó directamente sobre una hoja de papel filtro y sobre él una placa de agar sembrado. La incubación se llevó a cabo a $37^{\circ}C$ por 18 horas.
- IV) La inhibición del crecimiento de microorganismos se observó en el agar en las áreas donde el colorante fué separado(20).

6.4.- Diseño de investigación

El diseño estadístico fué modificado a un Análisis de Desviación Standard, este análisis mostró mayores aspectos de la investigación que el de t-pareada.

VIII. RESULTADOS

1. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 1

VIOLETA ROJIZO

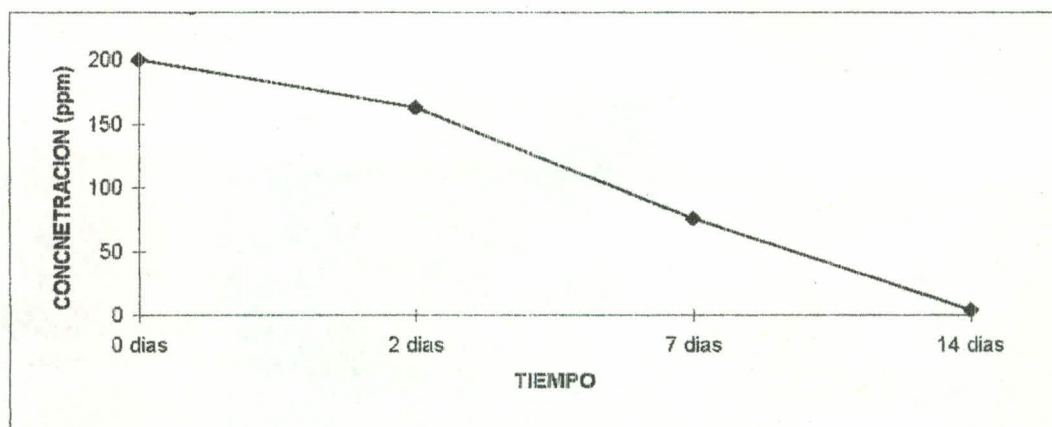
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante violeta rojizo a partir de 200 ppm hasta 4.33 ppm al final del análisis.

Tabla 1.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante violeta rojizo en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	200	157	98	6
2	200	164	63	3
3	200	167	66	4
MEDIA	200	162.7	75.7	4.33

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 200 ppm hasta 4.33 ppm.

GRAFICA No. 1
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (200 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante violeta rojizo muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9885$)

Tabla 1.2
Análisis de Desviación Estándar de Violeta Rojizo

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	69648.667	3	23216.222	229.3	0.00001
TIEMPOS	69648.667	3	23216.222	229.3	0.00001
ERROR	810	8	101.25		
TOTAL	70458.7	11	6405.3		

$r^2 = 0.9885$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos, los cuales fueron mayores a $W=26.31$.

Tabla 1.3
ANALISIS DE TUKEY

		Tiempo 1 0 días	Tiempo 2 2 días	Tiempo 3 7 días	Tiempo 4 14 días
	200		162.7	75.7	4.33
Tiempo 4 14 días	4.33	195.67	158.37	71.37	0
tiempo 3 7 días	75.7	124.3	87	0	
Tiempo 2 2 días	162.7	37.3	0		
Tiempo 1 0 días	200	0			

$W = 26.31$

2. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 2

AMARILLO BRILLANTE

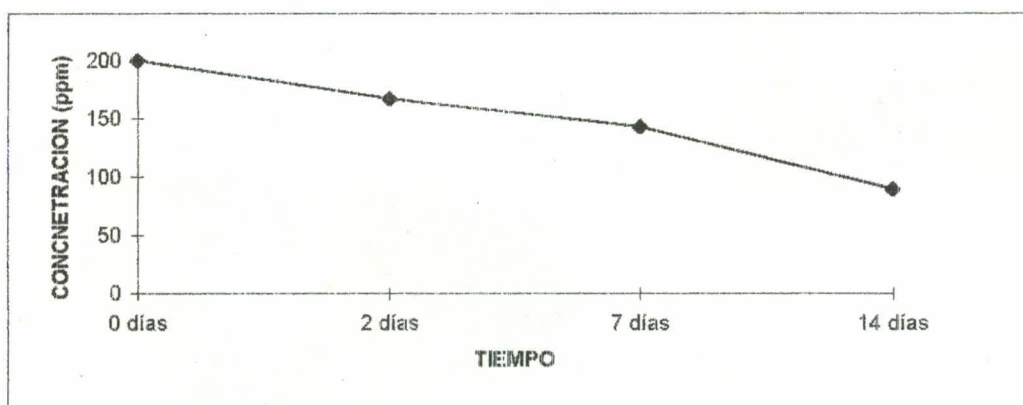
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante amarillo brillante a partir de 200 ppm hasta 89 ppm al final del análisis.

Tabla 2.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante amarillo brillante en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	200	170	147	80
2	200	164	136	72
3	200	167	145	115
MEDIA	200	167	142.7	89

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 200 ppm hasta 89 ppm.

GRAFICA No. 2
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (200 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante amarillo brillante muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9456$)

Tabla 2.2
Análisis de Desviación Estándar de Amarillo Brillante

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	19690	3	6563.33	46.36	0.00001
TIEMPOS	19690	3	6563.33	46.36	0.00001
ERROR	1132.667	8	141.583		
TOTAL	20822.6	11	1892.9		

$r^2 = 0.9456$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra que la comparación entre el tiempo 3 y el tiempo 2 es la única que no muestra una diferencia significativa ($24.3 < a W = 31.12$).

Tabla 2.3
ANALISIS DE TUKEY

		Tiempo 1 0 días 200	Tiempo 2 2 días 167	Tiempo 3 7 días 142.7	Tiempo 4 14 días 89
Tiempo 4 14 días	89	111	78	53.7	0
tiempo 3 7 días	142.7	57.3	24.3	0	
Tiempo 2 2 días	167	33	0		
Tiempo 1 0 días	200	0			

$W = 31.12$

3. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 3

ROJO DRIMAREN

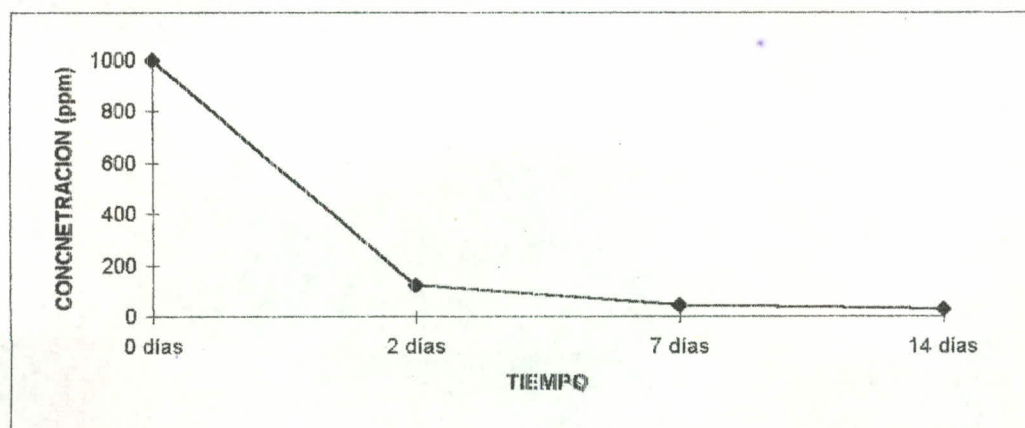
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante rojo drimaren a partir de 1000 ppm hasta 29.67 ppm al final del análisis.

Tabla 3.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante rojo drimaren en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	1000	113	46	31
2	1000	123	39	27
3	1000	123	48	31
MEDIA	1000	119.67	44.33	29.67

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 1000 ppm hasta 29.67 ppm.

GRAFICA No. 3
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (1000 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



continuación de resultados del colorante No. 3 rojo drimaren

Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante rojo drimaren muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9999$)

Tabla 3.2
Análisis de Desviación estándar de Rojo Drimaren

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	1982866.92	3	660955.64	43341.35	0.00001
TIEMPOS	1982866.9	3	660955.64	43341.35	0.00001
ERROR	122	8	15.25		
TOTAL	1982988.92	11	180271.72		

$r^2 = 0.9999$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos, los cuales fueron mayores a $W=10.21$.

Tabla 3.3
ANALISIS DE TUKEY

	Tiempo 1 0 días 1000	Tiempo 2 2 días 119.67	Tiempo 3 7 días 44.33	Tiempo 4 14 días 29.67
Tiempo 4 14 días	970.3	90	14.66	0
tiempo 3 7 días	955.67	75.34	0	
Tiempo 2 2 días	880.33	0		
Tiempo 1 0 días	0			

$W= 10.21$

4. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 4

NARANJA INDOSOL

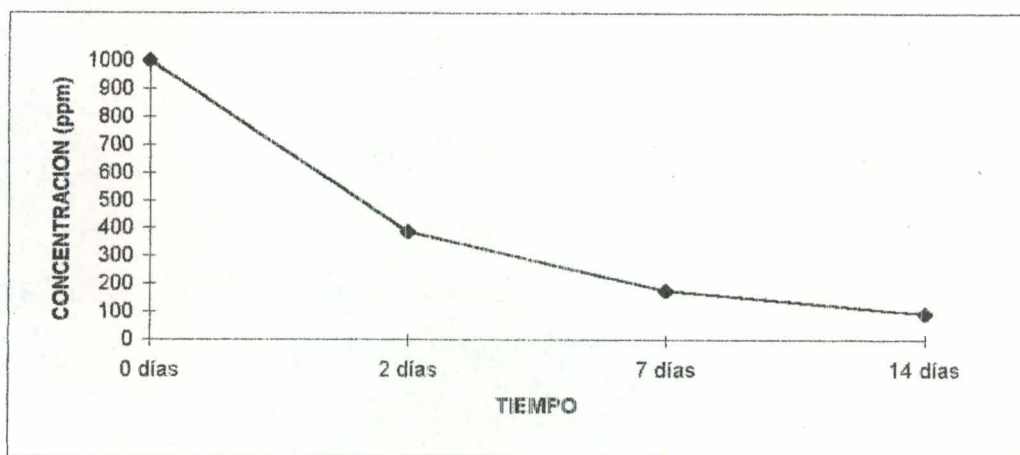
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante naranja indosol a partir de 1000 ppm hasta 94.3 ppm al final del análisis.

Tabla 4.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante naranja indosol en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	1000	425	261	157
2	1000	433	174	91
3	1000	301	86	35
MEDIA	1000	386.3	173.6	94.3

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 1000 ppm hasta 94.3 ppm.

GRAFICA No. 4
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (1000 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante naranja indosol muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9782$)

Tabla 4.2
Análisis de Desviación estándar de Naranja Indosol

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	1512322.92	3	504107.64	119.58	0.00001
TIEMPOS	1512322.92	3	504107.64	119.58	0.00001
ERROR	33726	8	4215.75		
TOTAL	1546048.92	11	140549.9		

$r^2 = 0.9782$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra que la comparación entre el tiempo 3 y el tiempo 4 es la única que no muestra una diferencia significativa ($79.37 < a W = 169.81$).

Tabla 4.3
ANALISIS DE TUKEY

		Tiempo 1 0 días 1000	Tiempo 2 2 días 386.3	Tiempo 3 7 días 173.67	Tiempo 4 14 días 94.3
Tiempo 4 14 días	94.3	905.7	292	79.37	0
tiempo 3 7 días	173.67	826.3	212.63	0	
Tiempo 2 2 días	386.3	613.7	0		
Tiempo 1 0 días	1000	0			

$W = 169.81$

5. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 5

ROJO BRILLANTE

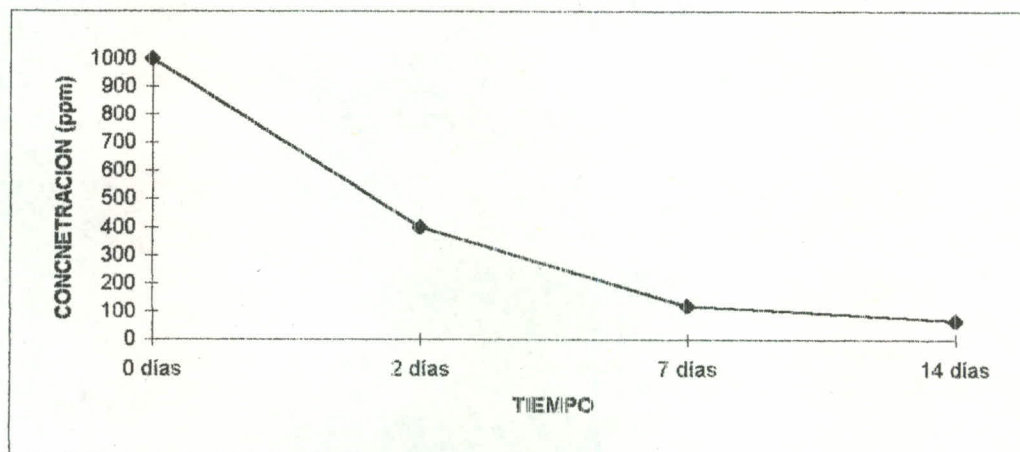
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante rojo brillante a partir de 1000 ppm hasta 65.3 ppm al final del análisis.

Tabla 5.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante rojo brillante en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	1000	400	120	65
2	1000	397	123	66
3	1000	399	111	65
MEDIA	1000	398.7	118	65.3

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 1000 ppm hasta 65.3 ppm.

GRAFICA No. 5
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (1000 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante rojo brillante muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9999$)

Tabla 5.2
Análisis de Desviación estándar de Rojo Brillante

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	1654339.67	3	551446.55	52938.87	0.00001
TIEMPOS	1654339.7	3	551446.55	52938.87	0.00001
ERROR	83.333	8	10.41667		
TOTAL	16544.23	11	150402.091		

$r^2 = 0.9999$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos, los cuales fueron mayores a $W=8.44$.

Tabla 5.3
ANALISIS DE TUKEY

		Tiempo 1 0 días 1000	Tiempo 2 2 días 398.7	Tiempo 3 7 días 118	Tiempo 4 14 días 65.3
Tiempo 4 14 días	65.3	934.7	333.4	52.7	0
tiempo 3 7 días	118	882	280.7	0	
Tiempo 2 2 días	398.7	661.3	0		
Tiempo 1 0 días	1000	0			

$W = 8.44$

6. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 6

AMARILLO DRIMAREN

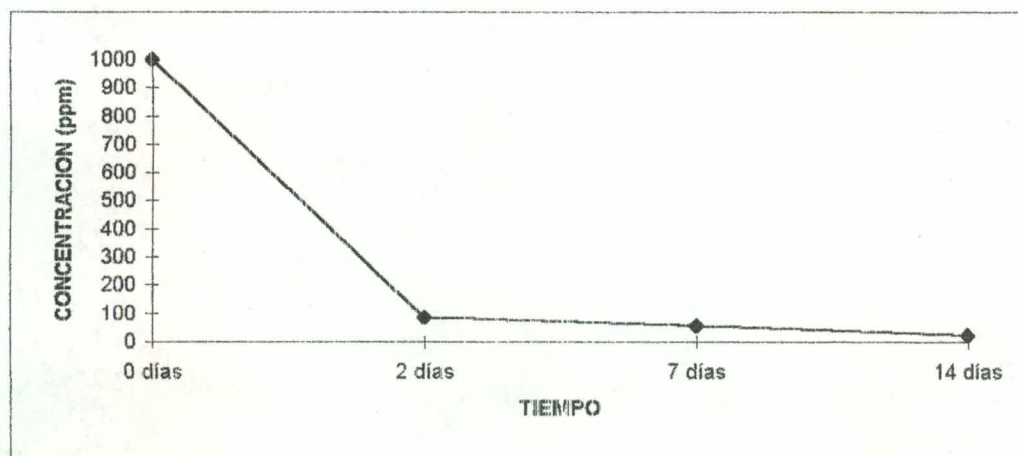
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante amarillo drimaren a partir de 1000 ppm hasta 23.3 ppm al final del análisis.

Tabla 6.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante amarillo drimaren en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	1000	90	73	37
2	1000	81	41	14
3	1000	82	53	19
MEDIA	1000	84.3	55.7	23.3

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 1000 ppm hasta 23.3 ppm.

GRAFICA No. 6
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (1000 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante amarillo drimaren muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9996$)

Tabla 6.2
Análisis de Desviación estándar de Amarillo Drimaren

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	2017257.67	3	672419.222	6226.1	0.00001
TIEMPOS	2017257.67	3	672419.222	6226.1	0.00001
ERROR	864	8	108		
TOTAL	2018121.67	11	183465.606		

$r^2 = 0.9996$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos, los cuales fueron mayores a $W=27.18$.

Tabla 6.3
ANALISIS DE TUKEY

		Tiempo 1 0 días 1000	Tiempo 2 2 días 84.3	Tiempo 3 7 días 55.7	Tiempo 4 14 días 23.3
Tiempo 4 14 días	23.3	976.7	61	32.4	0
tiempo 3 7 días	55.7	944.3	28.6	0	
Tiempo 2 2 días	84.3	915.7	0		
Tiempo 1 0 días	1000	0			

$W = 27.18$

7. Técnica Espectrofotométrica

Colorante No. 7

AZUL MARINO

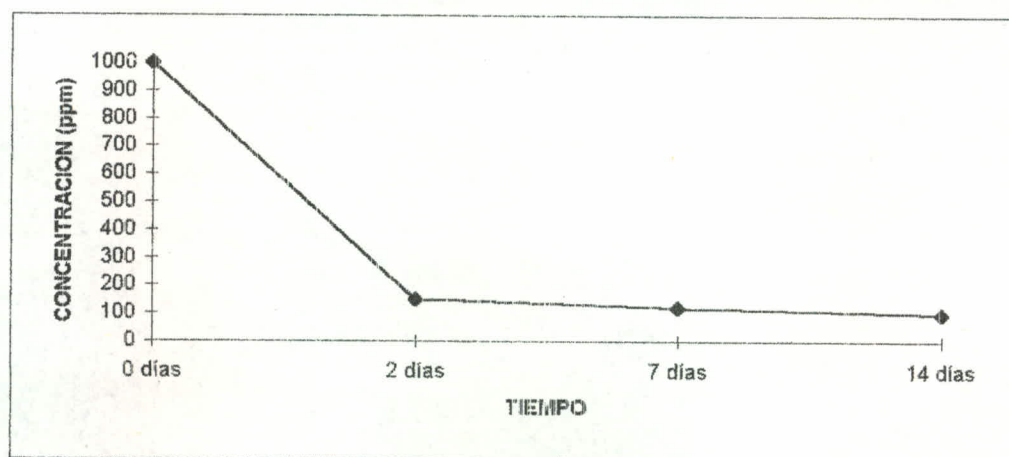
La siguiente tabla muestra la disminución de la concentración del colorante azul marino a partir de 1000 ppm hasta 96 ppm al final del análisis.

Tabla 7.1
Concentraciones (ppm) obtenidas del colorante azul marino en diferentes tiempos (días)

Numero de repeticiones	CONCENTRACION (ppm)			
	0 días	2 días	7 días	14 días
1	1000	135	115	104
2	1000	167	119	96
3	1000	148	123	88
MEDIA	1000	150	119	96

En la siguiente gráfica, se puede observar la disminución de la concentración de 1000 ppm hasta 96 ppm.

GRAFICA No. 7
Efecto de la degradación de la concentración del colorante (1000 ppm) durante 14 días de exposición con microorganismos.



Resultados del Modelo Estadístico

El análisis de desviación estándar del colorante azul marino muestra que la disminución de la concentración se da en forma lineal descendente ($r^2=0.9996$)

Tabla 7.2
Análisis de Desviación Estándar de Azul Marino

FUENTE	SUMATORIA CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F	P
MODELO	1740212.25	3	580070.75	6844.49	0.00001
TIEMPOS	1740212.25	3	580070.75	6844.49	0.00001
ERROR	678	8	84.75		
TOTAL	1740890.25	11	158262.75		

$r^2 = 0.9996$

ANALISIS POST-ANDEVA

El presente análisis es un complemento al modelo estadístico del colorante, el cual muestra que la comparación entre el tiempo 3 y el tiempo 4 es la única que muestra una diferencia significativa ($23 < a W = 24.08$)

Tabla 7.3
ANALISIS DE TUKEY

		Tiempo 1 0 días	Tiempo 2 2 días	Tiempo 3 7 días	Tiempo 4 14 días
	1000	904	54	23	0
Tiempo 4 14 días	96	881	31	0	
tiempo 3 7 días	119	850	0		
Tiempo 2 2 días	150	0			
Tiempo 1 0 días	1000	0			

$W = 24.08$

8. Técnica Cromatográfica

En la autobiografía se evaluó cualitativamente la biodegradación de los colorantes por parte de los microorganismos.

Los 7 colorantes aplicados en la cromatoplaca de sílica gel F_2T_4 , fueron biodegradados luego de las 18 horas de incubación. Además en ninguna zona de la cromatoplaca hubo inhibición de crecimiento de los microorganismos.

De los 7 colorantes, el Naranja Indosol, Azul Marino, y el Rojo Drimaren fueron degradados totalmente. El Violeta Rojizo, Amarillo Brillante, Rojo Brillante y Amarillo Drimaren fueron biodegradados parcialmente.

Ninguno de los 7 colorantes presentó compuestos secundarios luego de la biodegradación, ya que fueron sometidos a una lectura con luz ultravioleta.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Técnica Espectrofotométrica

Se determinó la biodegradación de los 7 distintos colorantes, en tres diferentes tiempos y cada uno de éstos fue analizado por triplicado.

Previo al ensayo los microorganismos fueron sometidos a un proceso de adaptación. Luego de dicho proceso se continuó con la determinación de la concentración máxima de cada colorante a la cual los microorganismos estarían en capacidad de degradar, finalizando con el ensayo espectrofotométrico que determinó cuantitativamente la biodegradación de cada colorante.

Al término del análisis se mostró una degradación significativa, lo cual se describe para cada colorante a continuación:

Violeta rojizo (200 ppm)

Al graficar la concentración (ppm) versus tiempo (días) se observó que dicho colorante presentó resistencia a la biodegradación durante los dos primeros días del ensayo. Una de las causas probables del comportamiento del colorante pudo haber sido que éste fuera un colorante compuesto, esto no se pudo determinar debido a que se desconoce la estructura del colorante ya que las empresas que fabrican estos colorantes poseen patentes que les permiten no revelar dicha estructura (Gráfica 1).

Además, en la misma gráfica se puede observar que a partir del segundo día en adelante la degradación del colorante se dió casi en su totalidad. Esto

nos lleva a la conclusión que el colorante violeta rojizo a 200 ppm es sensible a la acción de los microorganismos presentes en los lodos (Gráfica 1).

Al realizar el análisis estadístico de este colorante se encontró que existe una diferencia significativa en las concentraciones en el tiempo del ensayo ($p=0.00001$). Esta diferencia significativa se refiere a que la reducción de la concentración del colorante es debida a la acción de los microorganismos presentes en los lodos del suelo y no a la acción de otros factores (26).

Además, el modelo de respuesta de la disminución de la concentración fue un modelo lineal inverso ($r^2=0.9885$), lo que indica que a mayor tiempo, menor es la concentración del colorante (Tabla 1.2).

También se realizó un análisis post-andeva (Tukey), el cual permite comparar entre sí cada una de las concentraciones de cada uno de los diferentes tiempos del ensayo. Para el colorante violeta rojizo a 200 ppm siempre existió una diferencia significativa de las concentraciones al comparar los cuatro distintos tiempos del ensayo, lo cual demuestra que la degradación fué llevada a cabo durante dichos tiempos (Tabla 1.3).

Amarillo Brillante (200 ppm)

Este colorante fue el que mostró el menor grado de biodegradación durante todo el ensayo. La causa probable de esta resistencia pudo haber sido que dicho colorante posee una estructura muy compleja en la cual contiene

enlaces de hidrógeno y grupos aromáticos que le confieren una mayor estabilidad (Tabla 2.1).

La degradación constante que se dio sobre este colorante lleva a la conclusión que el amarillo brillante a 200 ppm es sensible a la acción de los microorganismos y además que para que sea degradado totalmente es necesario prolongar el tiempo del ensayo.

En el análisis estadístico se demostró que existió una diferencia significativa en el tiempo del ensayo ($p=0.00001$) debido a la acción de los microorganismos sobre el colorante (26).

El modelo de respuesta en la disminución de la concentración fue lineal inverso ($r^2=0.9456$), por lo que se concluye que a mayor tiempo, menor es la concentración del colorante (Tabla 2.2).

En el análisis post-andeva (Tukey), el tiempo 2 (2 días) y el tiempo 3 (7 días) no presentaron diferencias significativas al ser comparados. Una de las causas del comportamiento del colorante pudo haber sido que durante estos días los microorganismos degradaron los grupos más complejos de la estructura de dicho colorante lo cual llevó a que la degradación se redujera durante estos tiempos (Tabla 2.3).

Rojo Drimaren (1000 ppm)

Al graficar los resultados se observó que este colorante fue biodegradado parcialmente al término del ensayo, con una concentración final (29.67 ppm)

mucho menor a la inicial (1000 ppm). Estos resultados indican que probablemente la estructura de este colorante es sencilla, por lo que el colorante rojo drimaren a 1000 ppm es sensible a la acción de los microorganismos presentes en los lodos (Gráfica 3).

Además, en el análisis estadístico se observó que existió una diferencia significativa en el tiempo del ensayo ($p=0.00001$) por la acción de los microorganismos sobre el colorante (Tabla 26).

El modelo de respuesta en la disminución de la concentración fue lineal inverso ($r^2=0.9999$), por lo que se concluye que a mayor tiempo, menor la concentración del colorante (Tabla 3.2).

El análisis post-andeva (Tukey) mostró que hubo una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos, lo que indica que la degradación fue llevada a cabo durante todo el ensayo (Tabla 3.3).

Naranja Indosol (1000 ppm)

Este colorante fue biodegradado parcialmente al término del ensayo. El naranja indosol mostró una reducción de su concentración constante lo cual indica que probablemente sea un colorante de estructura sencilla. Además, los resultados llevan a la conclusión que el colorante naranja indosol a 1000 ppm es sensible a la acción de los microorganismos presentes en los lodos (Tabla 4.1).

El análisis estadístico mostró que hubo una diferencia significativa en el ensayo ($p=0.00001$) por la acción de los microorganismos sobre el colorante

(26), y además el modelo de disminución de concentración fue lineal inverso ($r^2=0.9782$) lo que indica que a mayor tiempo, menor concentración (Tabla 4.2).

También se observó que hubo una diferencia significativa entre cada uno de los distintos tiempos al realizar el análisis post-andeva (Tukey), por lo que la degradación fue llevada a cabo durante todo el ensayo (Tabla 4.3).

Rojo Brillante (1000 ppm)

El colorante rojo brillante al final de los 14 días fue degradado parcialmente, mostrando un grado de biodegradación constante. Lo cual indica que probablemente sea un colorante de estructura sencilla. Los resultados del análisis del colorante rojo brillante a 1000 ppm llevan a la conclusión que es sensible a la acción de los microorganismos presentes en los lodos (Tabla 5.1).

El análisis estadístico muestra una diferencia significativa en el tiempo del ensayo ($p=0.00001$) debido a la acción de los microorganismos sobre el colorante (26). El modelo de respuesta de la disminución de la concentración fue lineal inverso ($r^2=0.9999$), por lo que a mayor tiempo, menor concentración (Tabla 5.2).

El análisis post-andeva (Tukey) indicó que hubo una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos, por lo que durante el tiempo del ensayo se realizó la biodegradación (Tabla 5.3).

Amarillo drimaren (1000 ppm)

Este colorante fue biodegradado parcialmente al término del ensayo. Obtuvo su mayor grado de biodegradación durante las primeras 48 horas, probablemente debido a que su estructura es sencilla. Además esto indica que el colorante amarillo drimaren a 1000 ppm es sensible a la acción de los microorganismos de los lodos (Tabla 6.1).

La acción de los microorganismos sobre el colorante queda demostrada en el análisis estadístico, donde hubo una diferencia significativa en el tiempo del ensayo ($p=0.00001$), además el modelo de disminución de concentración fue lineal inverso ($r^2= 0.9996$) (Tabla 6.2). En el análisis de Tukey hubo una diferencia significativa entre cada uno de los cuatro tiempos (Tabla 6.3).

Azul Marino (1000 ppm)

Al igual que los colorantes rojo drimaren , amarillo drimaren, el azul marino mostró una degradación parcial al término del ensayo (Tabla 7.1), como también el análisis estadístico mostró una diferencia significativa en el tiempo del ensayo con un modelo de reducción de su concentración lineal inverso (Tabla 7.2).

X. CONCLUSIONES

Los microorganismos obtenidos de los lodos del drenaje de una industria de tinción de textiles se adaptaron a la mezcla de colorantes después de 6 días.

Técnica espectrofotométrica:

1. Los 7 colorantes fueron biodegradados luego de los 14 días del análisis.
2. La biodegradación de los 7 colorantes fué por acción de los microorganismos presentes en los lodos y no por otros factores que se encontraran en dichos lodos.
3. La disminución de la concentración de los colorantes respecto al tiempo fué un modelo lineal inverso, ya que el coeficiente de determinación de los 7 colorantes estuvo próximo a 0.9999.
4. Los colorantes Violeta Rojizo y el Amarillo Brillante, presentaron un porcentaje menor de biodegradación respecto a los otros.

Técnica cromatográfica:

1. No existió ningún tipo de inhibición al crecimiento y desarrollo de los microorganismos en toda la placa de sílica con agar al aplicar los colorantes.

2. Los colorantes Violeta Rojizo, Amarillo Brillante, Rojo Brillante y Amarillo Drimaren fueron parcialmente biodegradados al término del análisis.
3. Los colorantes Naranja Indosol, Azul Marino, Rojo Drimaren fueron biodegradados totalmente al término del análisis.
4. Ninguno de los 7 colorantes biodegradados en el análisis fué transformado a compuestos secundarios por los microorganismos.

XI. RECOMENDACIONES

El presente trabajo de investigación es parte del estudio total que debe realizarse sobre la biodegradación de colorantes de una industria de textiles. Para esto es necesaria la realización de otros trabajos, debido a que la biodegradación implica distintos aspectos como caracterización de los microorganismos que intervienen en dicho proceso, así como la relación Carbono/Nitrógeno existente en los suelos.

Debido a que el tiempo de degradación de los colorantes requiere de un tiempo prolongado en las condiciones del presente trabajo, es conveniente complementar el mismo modificando, *in situ*, las condiciones de los lodos para reducir el tiempo de degradación.

Además, debido al deterioro ambiental de nuestros recursos naturales, se deben buscar alternativas para remediar dicho deterioro. Se recomienda, el apoyo total a la realización de otros estudios que se enfoquen al tema ambiental.

XII. REFERENCIAS

1. Noller CR., Química Orgánica. 3ed. México: Editorial Interamericana, 1968. 613 p.
2. Wittcoff HA., Reuben BG., Productos Químicos Orgánicos. México: Editorial Noriega Limusa, 1987. 522 p.
3. Watve M., Gangal R., Problems in Measuring Bacterial Diversity and a Possible Solution. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996. 62: 4299-4301 pp.
4. Austin GT., Manual de Procesos Químicos en la Industria. 5 ed. México: Editorial McGraw-Hill, 1988. 928 p.
5. Santizo EL., Degradación de Desechos Orgánicos Domésticos usando Fluido Ruminal de Oveja. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1996. 50 p.
6. Pelczar MJ., Reid RD., Chan ECS., Microbiología. 4ed. México: Editorial McGraw-Hill, 1982. 826 p.
7. Joyil JL., Reviews of environmental contamination and toxicology. 1998. N.Y. 50: 125-127 pp.
8. Mosso María, et. al., Heterotropic bacterial populations in the mineral waters of thermal springs in Spain. *The journal of Applied Bacteriology*. 1994. 77: 370-373 pp.
9. McKay AM., The effect of temperature on culturability and detection of microorganism in water. *Letters in Applied Microbiology*. 1993. 17: 170-171 pp.
10. Black JA., Water Pollution Technology. United States of America: American Chemical Society, 1994. 17-109 pp.
11. Rheinheimer G., Microbiología de las Aguas. 4 ed. España: Editorial Acribia, S.A., 1987.

12. Keener W., Arp D., Transformations of Aromatic Compounds by *Nyctosomonas europaea*. Applied and Environmental Microbiology. 1994. 60: 1914-1920 pp.
13. Bradley et. al., Microbial Transformation of Nitroaromatics in Surface Soils. Applied and Environmental Microbiology. 1994. 60: 2170-2175 pp.
14. Anderson T., Coats J., Bioremediation Through Rhizosphere Technology. United States of America: American Chemical Society, 1994.
15. Knaebel et. al., Effect of Mineral and Organic Soil Constituents on Microbial Mineralization of Organic Compounds in a Natural Soil. Applied and Environmental Microbiology. 1994 60: 4500-4508 pp.
16. Marls et. al., Biofilm bioreactors for waste-water treatment. Friends in Biotechnology. 1993 11: 117-120 pp.
17. Manual de Manejo de Desechos Tóxicos. 1996. <http://www.opscepis@gt>
18. What's biodegradation. 1997 <http://www.chemfinder.com>
19. Hwong et. al., Microbial degradative activity in ground water at a chemical waste disposal site. Bolletin of enviromental contamination and toxicology. 1993. 50: 856-859 pp.
20. Touchstone JC., Dobbins JW., Practice of Thin Layer Chromatography. United States of America: John Wiley & Son Inc, 1983. 405 p.
21. Aguilar JH., Valdés AM., Paniagua R., Pérez R., Manual de Bioquímica General., 1990. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala.
22. Huntley et. al., Distribution of polycyclic aromatic hidrocarbons (PAHS) in three northern New Jersey waterways. 1993. 51: 865-867 pp
23. Dary Omar., Incentivos para el desarrollo de la biotecnología en Guatemala. 1994. INCAP 25 pp (Publicación CE/054).

24. Hernández BE., Determinación y Cuantificación de Surfactantes Aniónicos Ramificados presentes en una Muestra de Champús Fabricados en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1992. 33 p.
25. Ruiz CB., Fermentación de Terpenos por Cepas Microbianas Obtenidas a partir de Aguas Residuales. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1994. 41 p.
26. Webster A.L., Estadística Aplicada. 3a.ed. Colombia: Editorial Irwin McGraw Hill, 2000. 640 p.

XIII. ANEXOS

ANEXO I

ANEXO 1.1

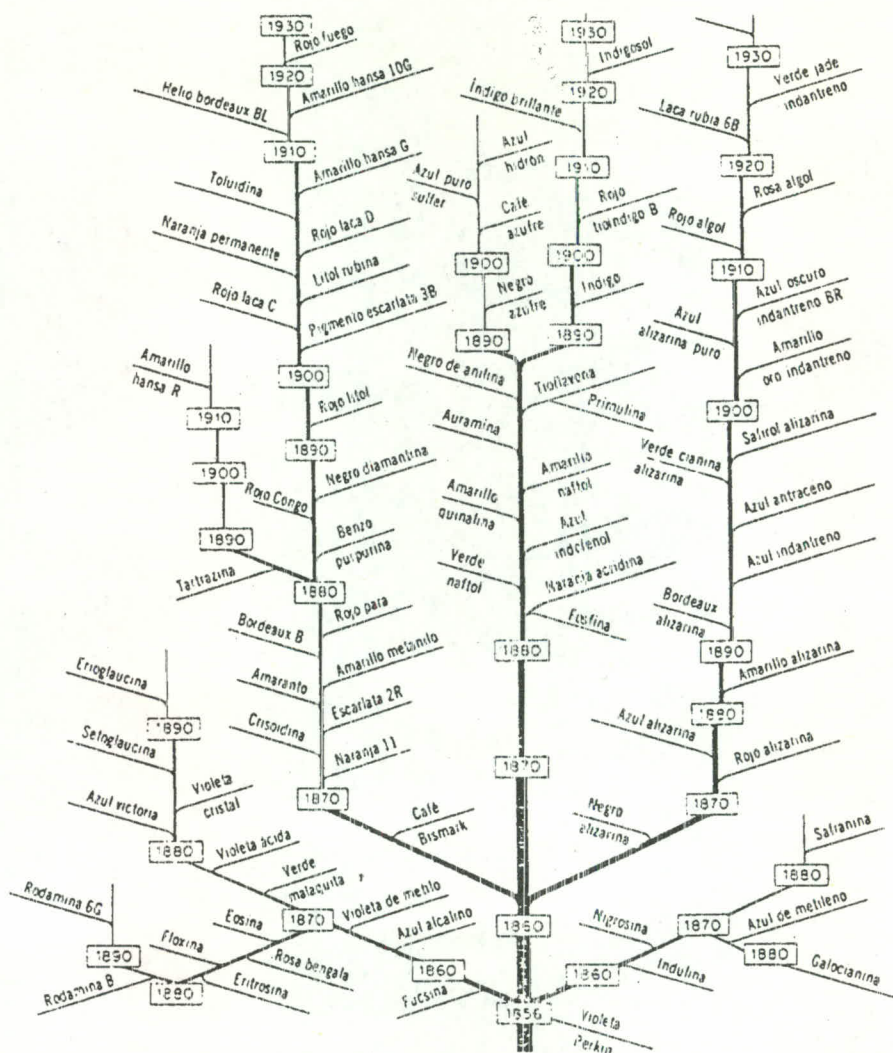
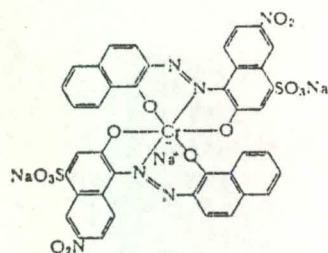
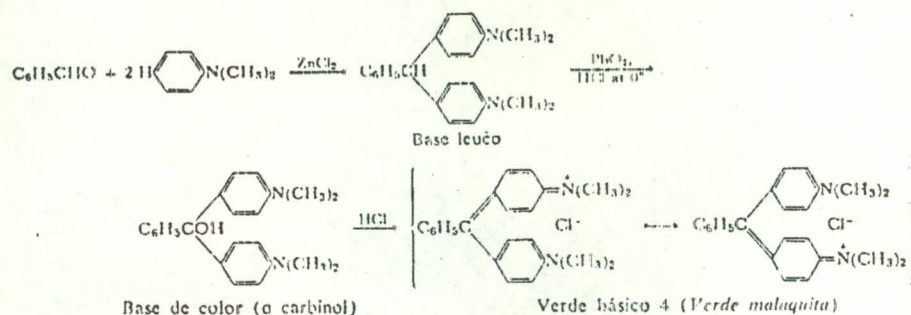
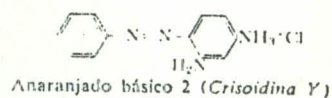


Fig. 39.5. Desarrollos importantes de la química orgánica de color. (Interchemical Corp. and John Wiley and Sons, Inc.)

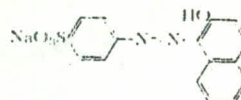
ANEXO 1.2



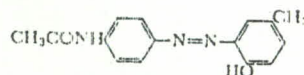
Negro para mordiente cromado II



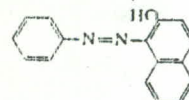
Anaranjado básico 2 (Crisoidina Y)



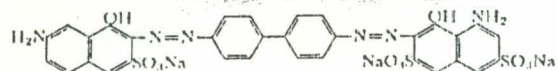
Anaranjado ácido 7 (Orange II)



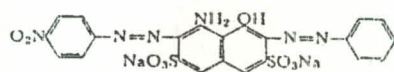
Amarillo disperso 3



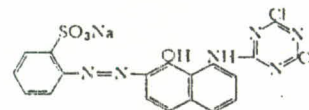
Amarillo para disolvente 14 (Sudán I)



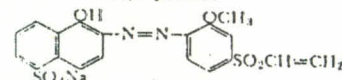
Azul directo 2



Negro ácido 1

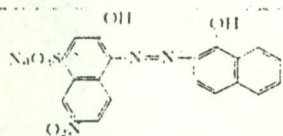
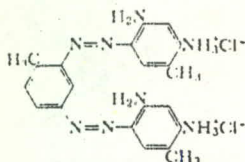
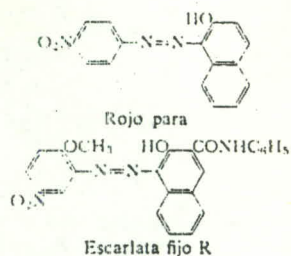


Rojo proción



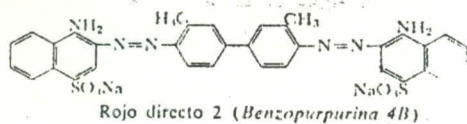
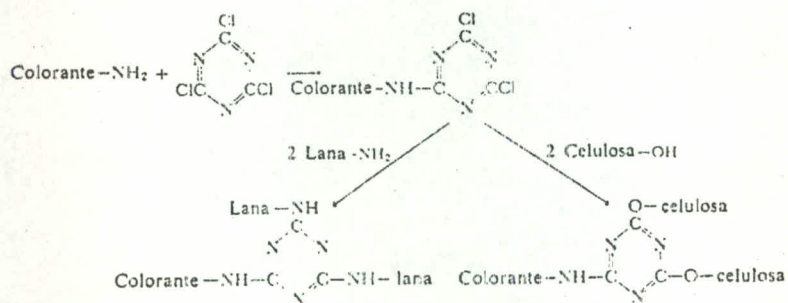
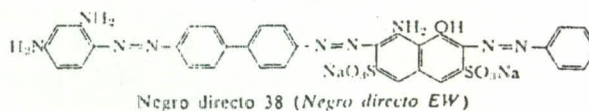
Un colorante de sulfona vinilica (VS)

ANEXO 1.3

Negro para mordiente 11 (*Negro de eriocromo*)Pardo básico 4 (*Pardo Bismarck R*)

Rojo para

Escarlata fijo R

Rojo directo 2 (*Benzopurpurina 4B*)Negro directo 38 (*Negro directo EW*)

ANEXO 2

Composición del medio de cultivo (agua peptonada):

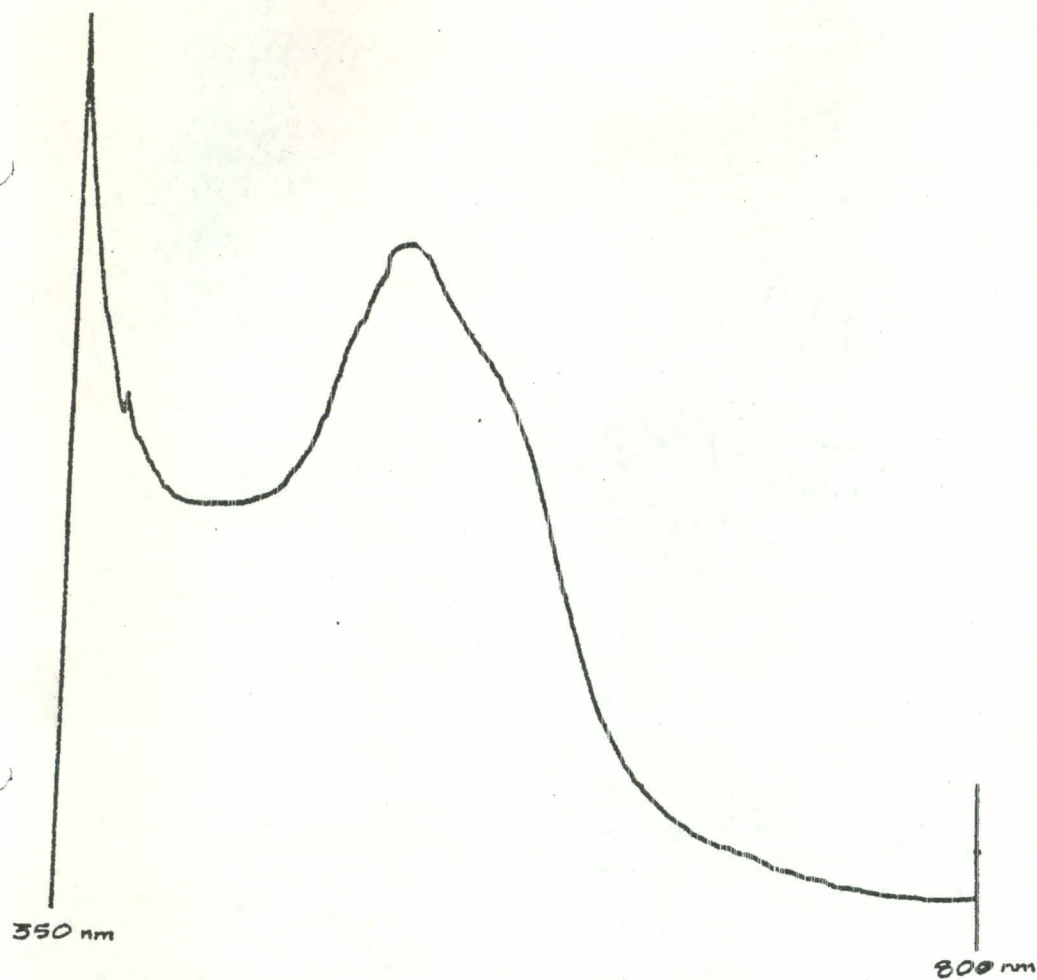
• Peptona	10.0 g/l
• Cloruro sódico	5.0 g/l
• Tampón de Fosfato	10.5 g/l
• Agua destilada	1 litro

ANEXO 3

LONGITUD DE ONDA MAXIMA
POR COLORANTE

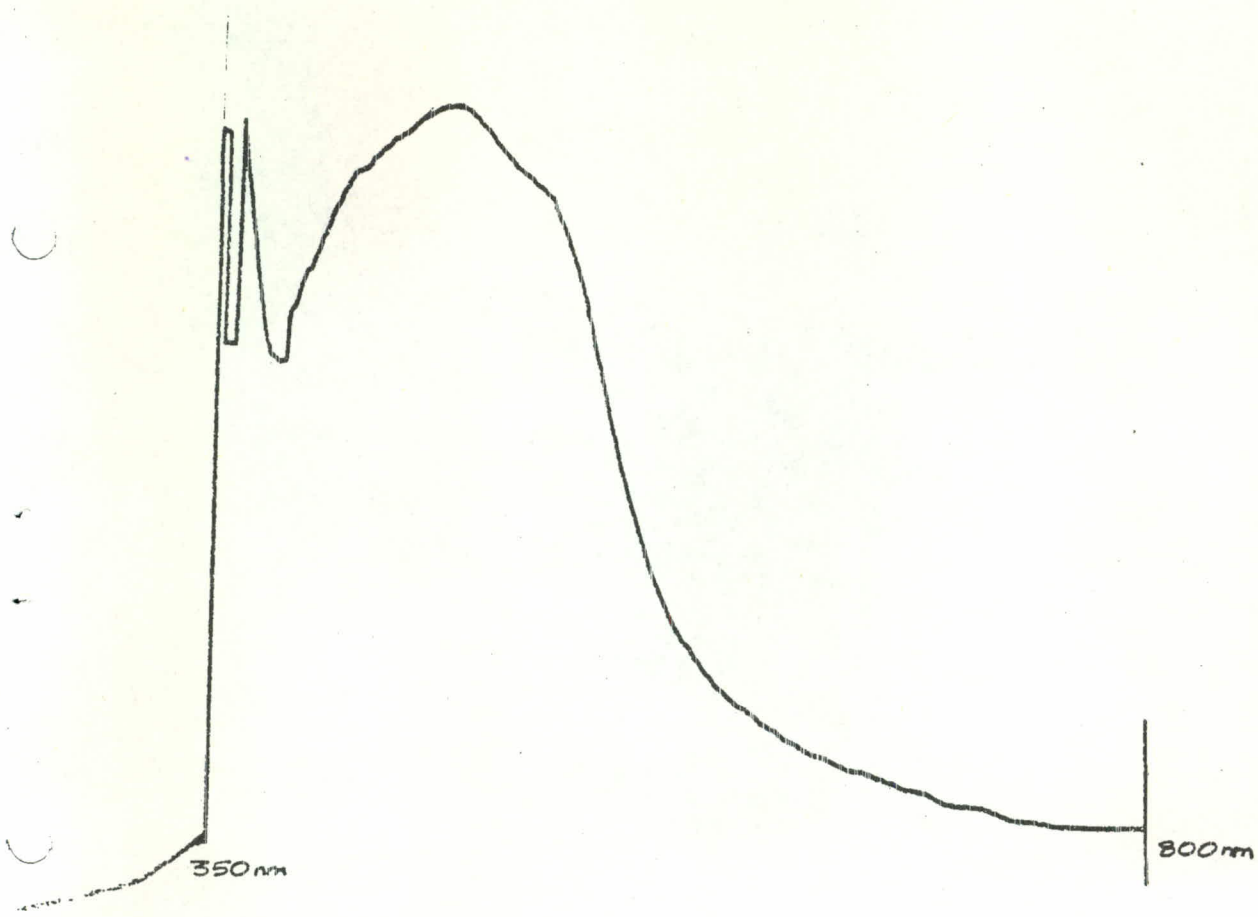
ANEXO 3.1

- Violeta Rojizo: 514 nm



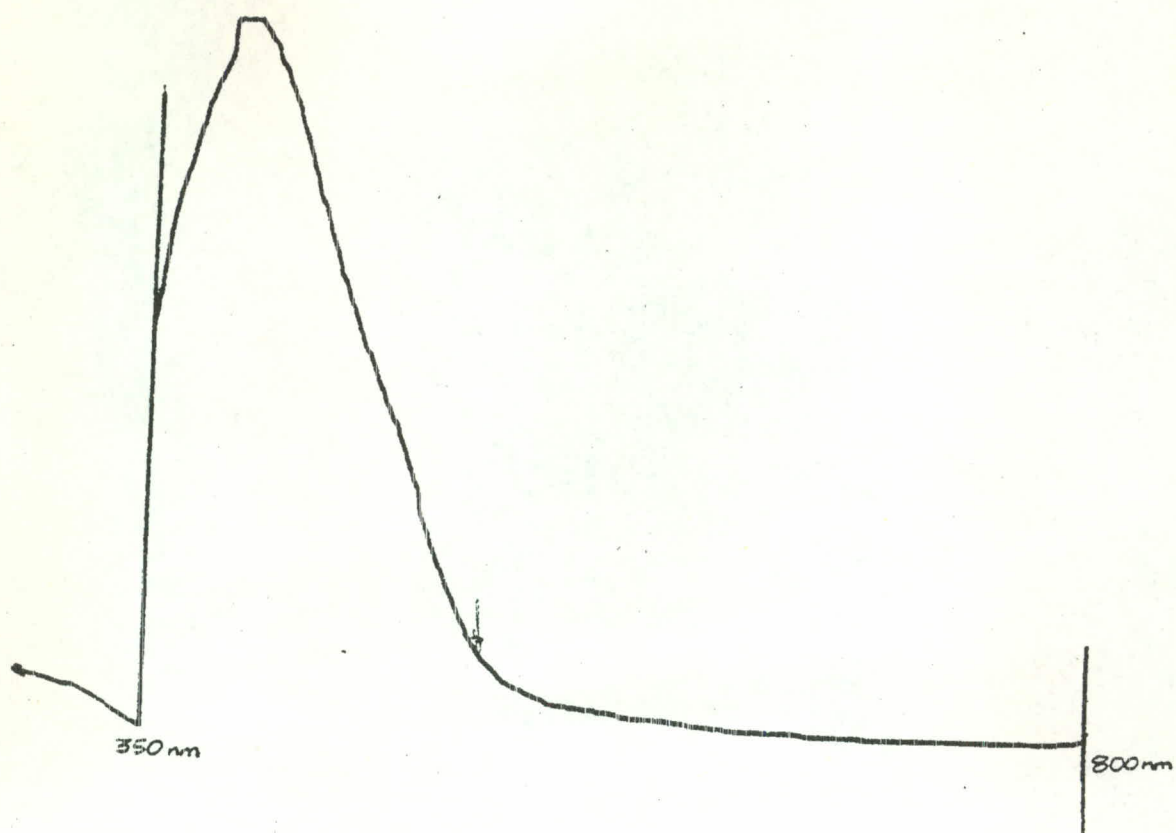
ANEXO 3.2

• Amarillo Brillante: 467 nm



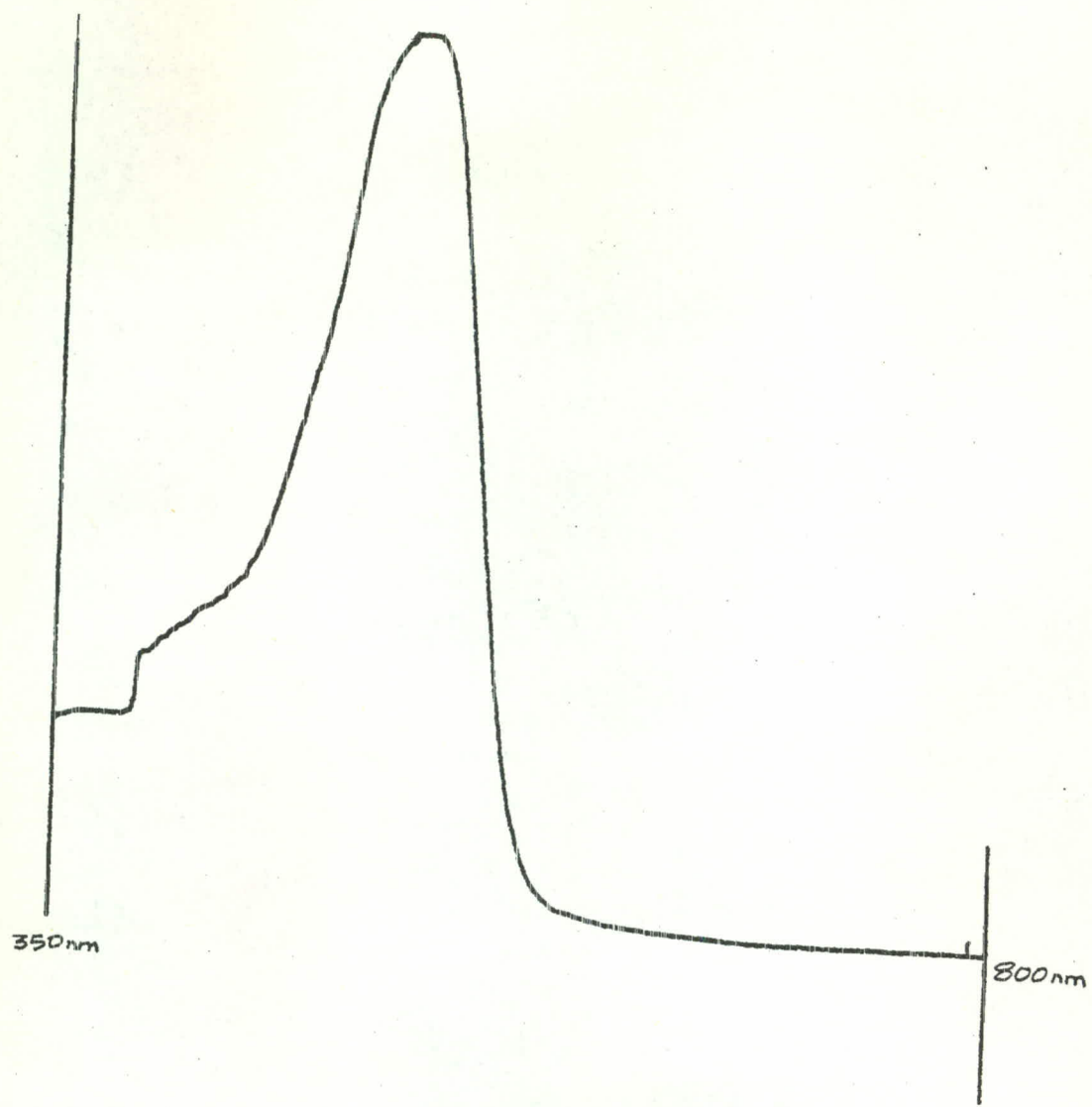
ANEXO 3.3

- Naranja Indosol: 394 nm



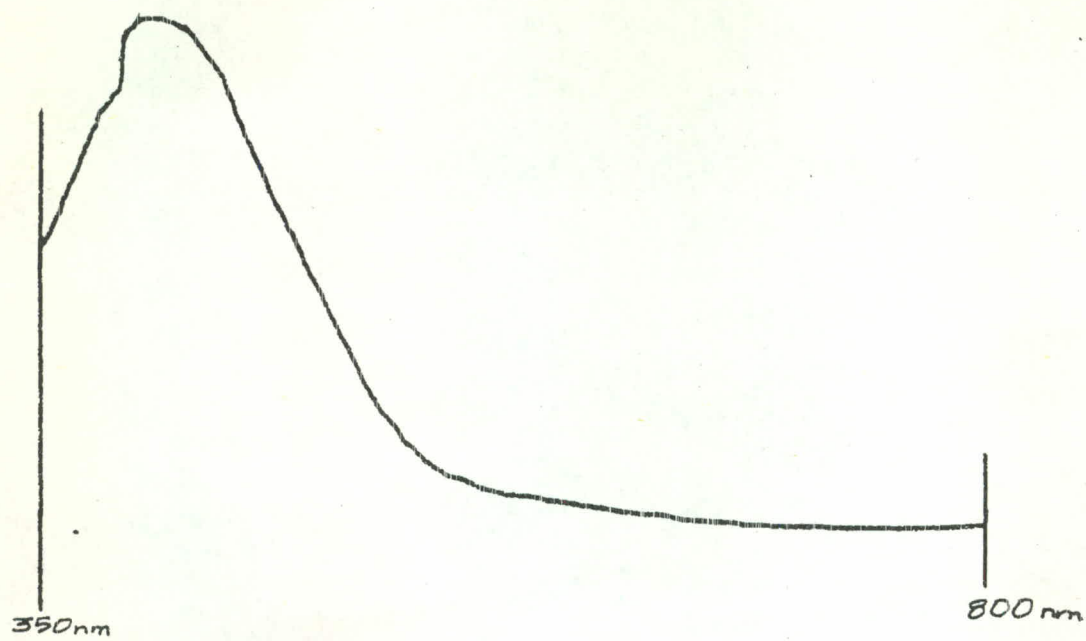
ANEXO 3.4

- Rojo Brillante: 518 nm



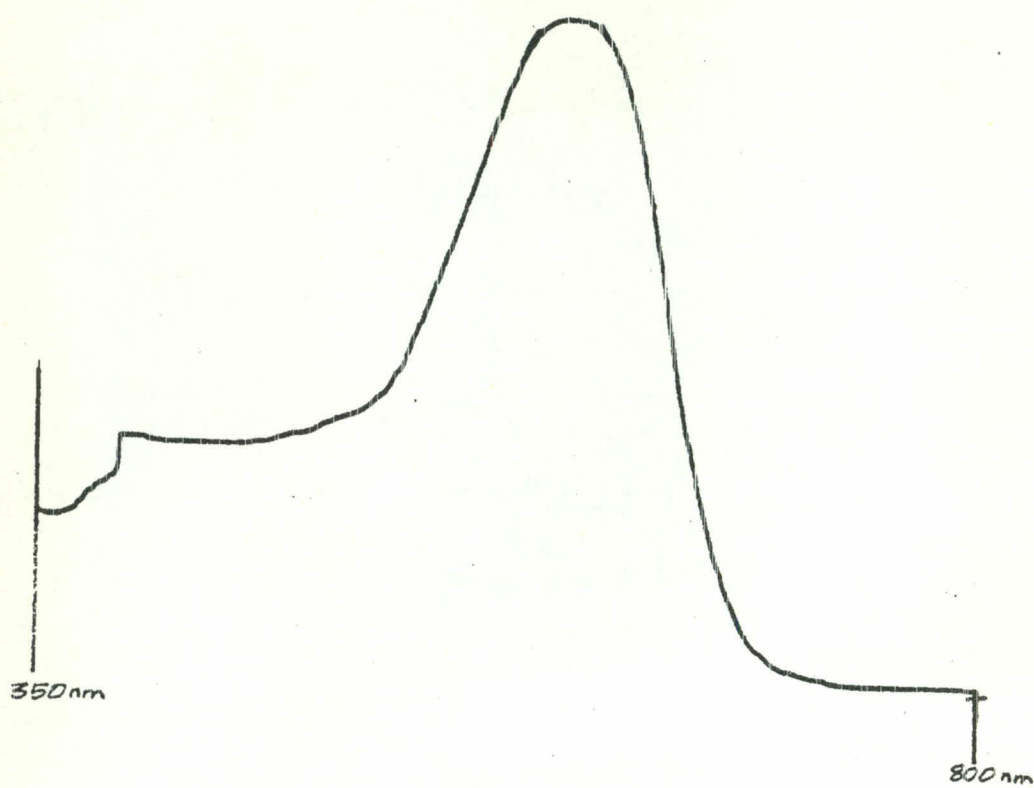
ANEXO 3.5

- Amarillo Drimaren: 401 nm



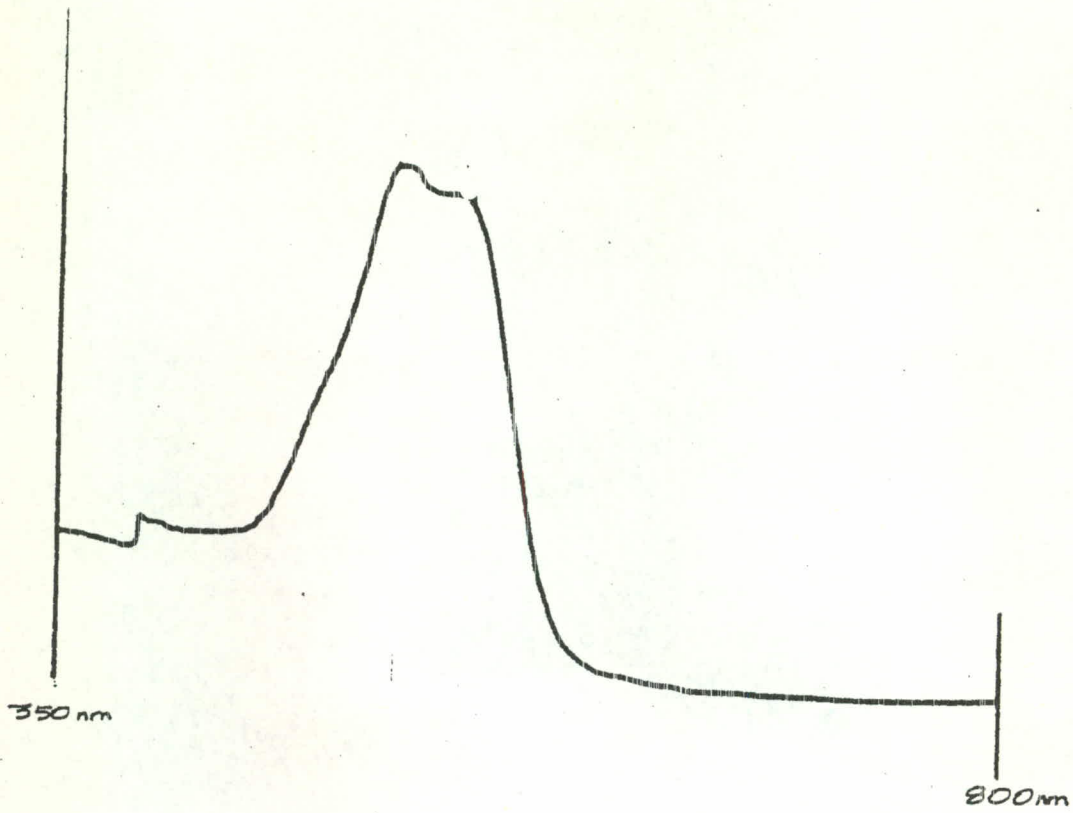
ANEXO 3.6

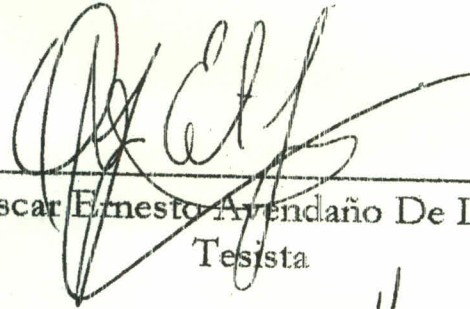
- Azul Marino: 604 nm



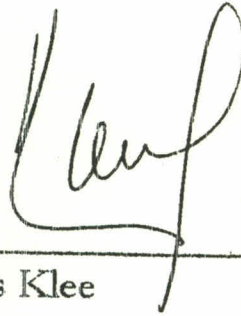
ANEXO 3.7

- Rojo Drimaren: 510 nm

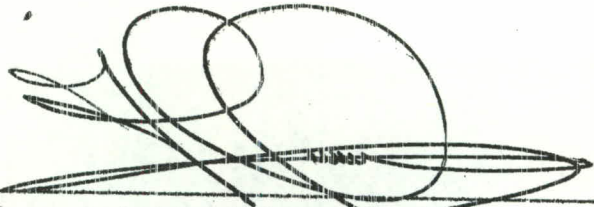




Oscar Ernesto Ayendaño De León
Tesisista



Licenciado Carlos Klee
Asesor



Licenciada Heidi Logemann Lima
Directora



Licenciada Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana