

FLOCULACION DE CELLULOMONAS SP CULTIVADAS SOBRE MEOLLO DE CAÑA

J.J. Alfonso López, N. Rudy Kindelán*, M. Mirabal Domínguez
A. Enríquez Mouriz*

Facultad de Ingeniería Química, Instituto Superior Politécnico "José Antonio Echeverría,"
*Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 19 de septiembre de 1988
Recibido: 15 de marzo de 1990

ABSTRACT. The influence of different factors as pH, addition of polyelectrolite and concentration of biomass in the flocculation of cellulolytic bacteria from the sugar cane pit was evaluated. It was verified that compounds from the pit precipitate together with the bacterial biomass in all the conditions studied. The existence of two outstanding pH values was determined in the remotion of biomass. The addition of polyelectrolite increases this remotion in a 10 %. The initial concentration of biomass shows a variable effect in its flocculation depending on the pH used. This effect was minimal in the acid zone and for high biomass concentrations. The effect of the polyelectrolite in the settling proves to be very positive, increasing the settling speed up to eleven times, decreasing the settling volume three times for pH 11.

RESUMEN. Se evaluó la influencia de diferentes factores (pH, adición de polielectrolito y concentración de biomasa) en la floculación de bacterias celulolíticas cultivadas sobre meollo de caña. Se comprobó que compuestos provenientes del meollo precipitan junto con la biomasa bacteriana en todas las condiciones estudiadas. Se determinó la existencia de dos valores de pH notables en la remoción de biomasa. La adición de polielectrolito incrementa esta remoción en un 10 %. La concentración inicial de biomasa muestra un efecto variable en su floculación, dependiendo del pH utilizado. Este efecto fue mínimo en la zona ácida y para altas concentraciones de biomasa. El efecto del polielectrolito en la sedimentación resulta muy favorable, logrando incrementar la velocidad de sedimentación hasta 11 veces y reduciendo el volumen de sedimentación tres veces para pH 11.

INTRODUCCION

El recobrado de biomasa bacteriana de medios líquidos es una tarea difícil, debido a las dimensiones tan pequeñas de las bacterias y a las propiedades iónicas de su pared celular, que en los medios apropiados para su crecimiento, les confieren una gran estabilidad para mantenerse en suspensión.¹

La separación de las partículas de biomasa obtenidas en el proceso fermentativo resulta afectada por las interacciones que se establecen con otras partículas sólidas presentes en el medio.

Para realizar el proceso de separación existen diversos procedimientos como, la centrifugación,² la filtración (microfiltración o ultrafiltración),³⁻⁵ la decantación⁶⁻⁸ y otras formas menos convencionales como la dielectroforesis.⁹ En todos los casos, la operación resulta más fácil si se logra la aglomeración o unión de varias células para formar flóculos, por lo que resulta interesante determinar en cada caso particular las condiciones bajo las cuales se produce la floculación.

La formación de flóculos en estos sistemas, resulta afectada por factores biológicos, químicos y físicos.¹⁰ En este trabajo se evaluó la influencia del pH, la separación de un polielectrolito y la concentración inicial de biomasa bacteriana en la floculación de bacterias celulolíticas cultivadas sobre meollo de caña en medios líquidos.

MATERIALES Y METODOS

Cultivo

Los experimentos de floculación se realizaron con la cepa 11bc del género *Cellulomonas*, la cual fue cultivada en un fermentador de 5 L (volumen efectivo), controlando la temperatura (32 °C), el pH (6,5), la agitación (600 r/min), la aereación (ivvm) y la espuma.

Se utilizó como fuente de carbono y energía, meollo de caña, tratado alcalinamente con NaOH al 10 %. Por cada 100 g de meollo se añadió: 3,4 g de (NH₄)₂HPO₄; 11,8 g de (NH₄)₂SO₄; 1,1 g de KCl 2,5 g de NaCl; 1,0 g de MgSO₄ · 7H₂O y 0,1 g de tiamina.

Al final del cultivo la biomasa bacteriana fue separada del meollo residual mediante un filtro prensa, antes de realizar los experimentos de floculación.

Determinación de la concentración celular

La concentración celular se determinó por turbimetría en un espectrofotocolorímetro Spekol 10 a 600 nm y pH 7. Para correlacionar las mediciones de turbimetría con la biomasa celular se determinó gravimétricamente la masa seca correspondiente a diferentes valores de absorbancia los cuales fueron graficados y ajustados a una línea recta forzante al origen cuya ecuación es: $B = 0,74 \text{ UDO}$ con un coeficiente de correlación $r = 0,998$, donde B es la concentración de biomasa en g/L.

Para medir la efectividad de los tratamientos en la remoción de biomasa se utilizó la expresión siguiente:

$$R = 100/0,98(1-Bf/Bi) (\%)$$

donde:

R = remoción de biomasa (%)

Bf = concentración final de biomasa

Bi = concentración inicial de biomasa

1/0,98 = factor de corrección debido a la remoción máxima posible de biomasa

Efecto de la concentración de iones H⁺ sobre el pH de la solución

Para la obtención de las curvas de valoración del cultivo filtrado, se emplearon 150 mL y se les adicionó NaOH o H₂SO₄ según el caso, midiendo los valores de pH correspondientes a la cantidad de iones H⁺ añadidos.

Adicionalmente se obtuvieron las curvas de valoración del meollo y la biomasa por separado, para lo cual se tomó, en el caso del meollo, una cantidad proporcional a la utilizada en los cultivos y en condiciones estériles se agitó durante 4 h. Posteriormente, se separó la suspensión por centrifugación obteniendo un líquido transparente ligeramente coloreado.

Con la biomasa se realizó un cultivo en las mismas condiciones ya descritas, sustituyendo el meollo por glucosa en proporciones equivalentes.

Efecto del pH y del polielectrolito sobre la floculación

Para determinar la remoción de biomasa del cultivo filtrado, se tomaron muestras de 150 mL y se les adicionó H_2SO_4 o NaOH hasta lograr el pH deseado. En los casos en que se utilizó el polielectrolito aniónico Sumpoly-305 (Poliacrilamida acrilato de sodio), éste se añadió después de ajustado el pH en una proporción de 3 ppm. En todos los casos las muestras se agitaron durante 5 min a 90 r/min, centrifugando se posteriormente a 3 000 r/min (1 200 g) durante 5 min.

Se tomó una alícuota del sobrenadante para determinar la biomasa separada.

Para determinar la velocidad de sedimentación, en lugar de la centrifugación, se utilizó el procedimiento estándar de sedimentación en probetas.¹⁴

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curvas de valoración

En la figura 1 se muestran los resultados de la valoración del cultivo filtrado de la biomasa crecida en glucosa y del efluente de la lixiviación del meollo. En cada caso pueden observarse los cambios de pendiente, destacándose el cultivo filtrado que presenta cinco cambios en los valores de pH de 2,5; 3,5; 8,5; 10,0 y 11,3. La biomasa crecida en glucosa presenta cuatro cambios similares a 2,7; 6,0; 7,7 y 11,0. El sobrenadante de la suspensión de meollo de una curva cuya forma corresponde a la valoración de un componente aislado con solo dos cambios para pH de 2,7 y 10.

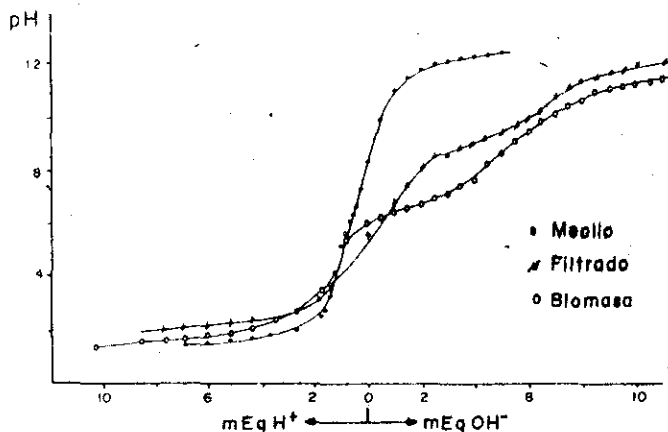


Fig. 1. Curvas de valoración

Los puntos de inflexión indican la existencia de varios grupos ionizables, los cuales dan una medida de la complejidad del sistema. Como era de esperar el sobrenadante de la suspensión de meollo presenta la menor complejidad. La mayor correspondió al cultivo filtrado, que puede considerarse portadora de los efectos combinados de los elementos del meollo y la biomasa bacteriana.

Experimentalmente se observó precipitación en los tres sistemas para valores de pH 3 y pH 11. El precipitado obtenido en la zona ácida está formado por flóculos finos, mientras que en la zona básica se obtienen flóculos más gruesos.

La aparición de precipitado en la valoración del sobrenadante de la suspensión de meollo, indica que este fenómeno debe presentarse también en el cultivo filtrado, lo que implica que la biomasa obtenida en un proceso de recobrado basado en cambio de pH, presentará residuos de algunos componentes del meollo. Esto implica además, que la precipitación de la biomasa resultará afectada por la presencia de éstos y otros componentes del sistema más la acción de los agentes externos añadidos.

Efecto del pH y del polielectrolito sobre la floculación

En la figura 2 se muestra la influencia del pH sobre el proceso de floculación. Como puede apreciarse existen tres zonas de pH notable desde el punto de vista de la remoción, las cuales corresponden a pH 2,8 con un 76 % de remoción; pH 7 con un 54 % de remoción y pH 11 a 12 con 62 a 73 % de remoción.

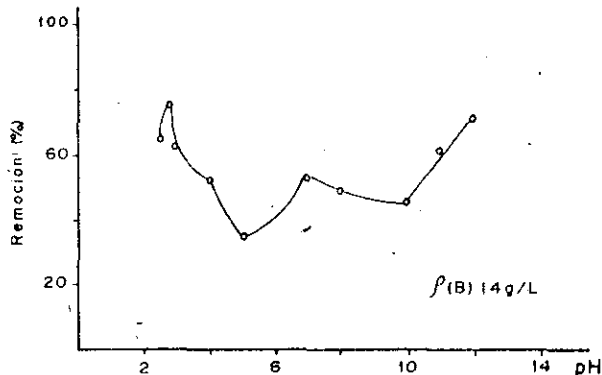


Fig. 2. Efecto del pH sobre la floculación

En la figura 3 se muestra la influencia del polielectrolito sobre la floculación a los valores notables de pH en la remoción.

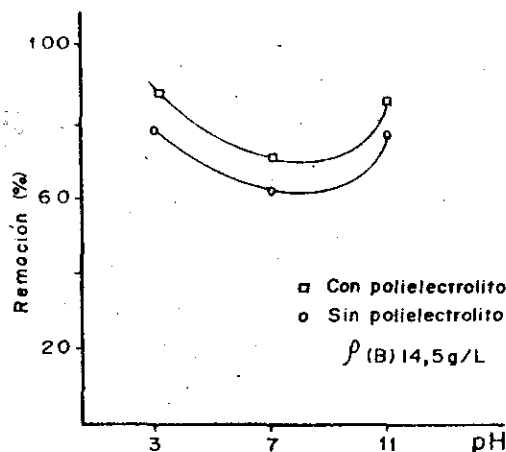


Fig. 3. Efecto del polielectrolito sobre la floculación

Resulta evidente que el polielectrolito presenta un efecto favorable, como era de esperar, logrando incrementar la remoción en un 10 % aproximadamente. Un aspecto a destacar es que este efecto es el mismo para todos los valores de pH estudiados.

Influencia de la concentración de biomasa

Como se analizó anteriormente, el mecanismo de floculación de la biomasa bacteriana está afectado por la presencia de otros componentes del medio, por lo que resultaba necesario determinar el comportamiento del sistema para diferentes concentraciones de biomasa.

En la figura 4 pueden observarse las variaciones obtenidas para 3 concentraciones diferentes de biomasa (2,3; 7,0 y 14,5 g/L). En ella se pueden apreciar tres comportamientos diferentes para cada valor de pH analizado. En la zona ácida (pH 2,8) la remoción (82 a 88 %) es independiente de la concentración de biomasa; en la zona neutra (pH 7) se obtiene una relación no lineal, cumpliéndose que a mayor concentración inicial de biomasa, mayor es la remoción; mientras que para la zona básica (pH 11) se observa un incremento brusco en la remoción al aumentar la concentración de biomasa de 2,3 a 7,0 g/L, el cual tiende a hacerse constante para valores superiores a 7,0 g/L de biomasa. Estos resultados indican

que los otros componentes del cultivo filtrado presentan un efecto variable sobre la remoción de biomasa con relación a la concentración inicial y al pH del medio, el cual es menos acentuado para pH 2,8 cuando la concentración de biomasa es alta (14,5 g/L).

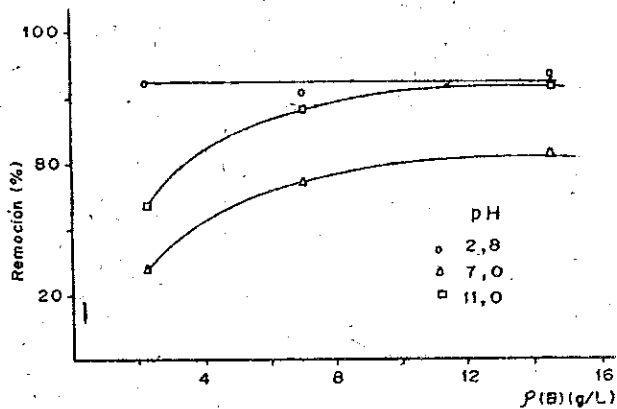


Fig. 4. Efecto de la concentración de biomasa sobre la remoción

Características de la sedimentación

La figura 5 muestra las curvas de valores de sedimentación del sistema a pH 2,8 y 11,0. En ambos casos los experimentos se realizaron sin y con adición de polielectrolito.

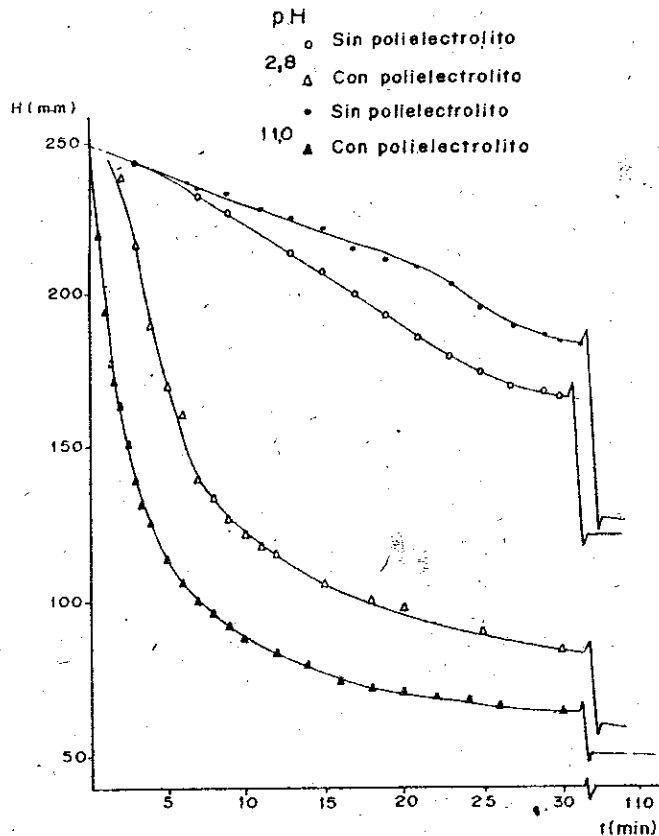


Fig. 5. Curvas de sedimentación

En la Tabla I se reportan los valores calculados a partir de las curvas de la velocidad de sedimentación y el volumen alcanzado por el sedimento en 30 min.

En este caso el efecto del polielectrolito resulta estadísticamente significativo, como puede observarse, la velocidad de sedimentación se incrementa seis veces para el pH 2,8 y en 11 veces para el pH 11,0.

Con relación a la compactación del sedimento; el efecto también es notable, lográndose entre dos y tres veces la reducción del volumen de sedimento, lo cual es de gran importancia en el recobrado del producto. Aunque en menor medida, se aprecia un efecto más favorable en el proceso de sedimentación para pH 11,0 ya que se alcanzan velocidades de sedimentación y compactación del sedimento 1,3 veces mayor.

TABLA I

Influencia del empleo de un polielectrolito en la velocidad de sedimentación

pH	Empleo de polielectrolito	Vs (mm/min)	Vsed (%)
2,8	NO	3,05	66
2,8	SI	17,69	34
11,0	NO	2,18	74
11,0	SI	23,80	26

Vs Velocidad de sedimentación
Vsed Volumen de sedimento.

El efecto aglutinante del polielectrolito es más pronunciado en este caso, que cuando se emplea la concentración para acelerar la separación de las partículas en suspensión, lo que es necesario tener en cuenta para la selección de una u otra operación en la etapa posterior a la floculación.

CONCLUSIONES

La remoción de la biomasa bacteriana obtenida en el proceso fermentativo de moello de caña con *Cellulomonas* sp puede incrementarse favorablemente a pH 2,8 y a pH 11; y con la adición de poli(acrilamida-acrilato) de sodio (polielectrolito aniónico). A estos valores de pH se obtiene la mayor eficiencia en el recobrado.

BIBLIOGRAFIA

- Redmand F.J. Patente canadiense sobre la aglomeración de sólidos proteicos 31/05/83.
- Datar R. Centrifugal and membrane filtration method in Biochemical separation november/december 400-406, 1984.
- O'Sullivan T.J. Ac. Epstein Application of ultrafiltración in biotechnology. CEP, January, 1984.
- Magnus L, Webster D.W. and Tornquist A. Ultrafiltration of microbiological products. Filtration and separation, January/February 17-22, 1984.
- Sweeney Michael J. Membrane-Based liquid separation systems. CEP, January 32-35, 1985.
- Michael N. and Dennill P. J. Chem Tech. Biotechnol., 34b, 199, 1984.
- Thompson Alan R. J. Chem. Tech. Biotechnol., 1984.
- Hodges R.M. and Pepper D. Reverse Osmosis Concentration and Ultrafiltration Separation in Biochemical Process.
- Reporte de la Firma Warren Spring Laboratory. División de tecnología, Inglaterra, 1987.
- Atkinson B. and Daud S. Microbial floes and flocculation advances in Biochemical Engineering, 4, Edited by T.K. Ghose, A. Frechter, N. Blakebrough. New York, 1976.
- Leningher A.L. Bioquímica. Editorial Pueblo y Educación, Ciudad de La Habana, Cuba, 1979.
- Influence of the polycrilamides adsorption on the Z-potential of the Hidroxiapatite 6th. International Symposium on Surfactants in Solution. New Delhi, India, 1986.
- Chudoba J., Menendez C. y Pérez J. Fundamentos teóricos de algunos procesos para la purificación de aguas residuales. Editorial ISPJAE, 1986.
- Perry John. Chilton and Kirpatrick. Chemical Engineering Handbook, 5ta edición.