

BIODEGRADACIÓN DE FURFURAL A PARTIR DE *PAECILOMYCES VARIOTII*

ECHEVERRÍA, MACARENA C.⁽¹⁾; HERVOT, ELSA I.⁽²⁾, UTGÉS, ENID M.⁽²⁾; FARIÁS, ALEJANDRO R.⁽²⁾, UTGÉS, ENRIQUE E.⁽²⁾; TENEV, MARÍA D.⁽²⁾ Y NOLTE, ERIKA⁽²⁾

⁽¹⁾ Grupo de Investigación Sobre Temas Ambientales y Químicos, Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Resistencia. French 414, Resistencia, Chaco. E-mail: macarenacecheverria@gmail.com

⁽²⁾ Grupo de Investigación Sobre Temas Ambientales y Químicos, Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Resistencia. French 414, Resistencia, Chaco. E-mail: elsaervot@yahoo.com.ar, enidutges@gmail.com, alefarias@fre.utn.edu.ar, eutges@hotmail.com, mdtenev@gmail.com, erika_nolte@hotmail.com

Resumen. El furfural, aldehído heterocíclico obtenido a partir de aserrín de quebracho colorado detanizado, es una sustancia con características recalcitrantes y efectos deletéreos.

El objetivo del trabajo fue evaluar la disminución de la concentración de furfural a partir de un hongo ambiental identificado como *Paecilomyces variotii*. En una investigación previa, se evaluó la degradación de furfural, mediante bacterias aisladas de ambientes en contacto con efluentes industriales que contenían furfural. Durante dichos ensayos, se observó el desarrollo del hongo *Paecilomyces variotii* en detrimento del bacteriano y al mismo tiempo se detectaron resultados sumamente favorables en la degradación de furfural. En consecuencia, se han efectuado posteriores cultivos de este hongo analizando sus efectos a distintas concentraciones del contaminante. Resultados preliminares muestran, en menos de 5 días, una disminución de casi el 100% de furfural en las muestras inoculadas con *Paecilomyces variotii*.

Palabras claves: Biodegradación, furfural, hongos ambientales, *Paecilomyces variotii*.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación del medio ambiente es una de las mayores preocupaciones para la ciencia y el público en general en los últimos años. Hoy en día, el mundo industrializado se enfrenta a la contaminación de suelos, fuentes de agua y aire con xenobióticos peligrosos y tóxicos. Si bien se han implementado medidas reglamentarias para reducir o eliminar la producción y liberación al medio ambiente de estos productos químicos, se ha producido una contaminación ambiental significativa en el pasado y probablemente continuará produciéndose en el futuro. La industrialización de la agricultura, el rápido crecimiento de la industria química y la necesidad de generar formas baratas de energía han causado la liberación continua de sustancias químicas en la biosfera [1].

La biodegradación con hongos ha llamado poca atención en las últimas dos décadas, ya que la mayoría de las investigaciones se han centrado principalmente en el uso de bacterias. Sin embargo, recientemente los hongos han recibido considerable atención por su potencial de biodegradación el cual se atribuye a las enzimas que producen [1].

Paecilomyces variotii es un hongo ascomicota de la familia Trichocomaceae comúnmente encontrado en el aire y en los suelos de los países tropicales [2]. También es frecuente contaminante de soluciones estériles y materiales de cultivo, y es especialmente resistente a los métodos de esterilización convencionales.

Este hongo se usó para degradar fenol [3], biopolímeros como el PHBV [4], y tolueno [5], reportándose, en algunos casos, su crecimiento en forma accidental, por contaminación, desarrollándose por encima del crecimiento bacteriano [1], también se lo encontró apto para crecer en altas concentraciones de furfural y ac. acético en el hidrolizado ácido de la hemicelulosa de eucalipto [6].

El presente estudio surge como resultado de la contaminación de un efluente sintético estudiado para la biodegradación de furfural a partir de bacterias autóctonas. Dicha contaminación se observó al aumentar la temperatura de cultivo de 30°C a 37°C, notándose el desarrollo de una película de hongo sobre la superficie del líquido, posteriormente identificado como *Paecilomyces variotii*.

El furfural se produce a partir de aserrín de quebracho colorado en una planta fabril taninera de la firma Indunor S. A. en el interior de la provincia del Chaco, en la localidad de La Escondida. El GISTAQ (Grupo de Investigación Sobre Temas Ambientales y Químicos) firmó un convenio específico, dentro del convenio marco preexistente, para estudiar el proceso de tratamiento de efluentes y proponer alternativas. El efluente producido tiene altas concentraciones de ácido acético y de furfural.

El furfural es un aldehído heterocíclico derivado del furano que está en la lista de sustancias peligrosas reglamentada por la Occupational Safety and Health Administration (OSHA).

El objetivo de este trabajo es evaluar la degradación de furfural de un efluente sintético por el hongo *Paecilomyces variotii*.

El hongo *Paecilomyces variotii* es apto para crecer en altas concentraciones de furfural de 300 ppm y degradarlo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos de biodegradación de furfural se iniciaron con la preparación de un efluente sintético constituido por medio mínimo M9 y furfural como única fuente de carbono. Para esto, en erlenmeyers de 100ml, se colocaron 20 ml de M9, 10µl de CaCl₂, 0,2 ml de MgSO₄, 10µl de furfural y 10 ml de inóculo bacteriano, llevando a 100ml con agua destilada estéril. Paralelamente se realizó un blanco, conteniendo la misma composición del medio sin inóculo. La incubación se realizó a 37°C durante 3 días.

Al observarse el desarrollo de una película de moho en el medio de cultivo (tanto en el inoculado como en el blanco), se realizaron posteriores inoculaciones de este hongo, en 5 ensayos, manteniendo la composición del medio y las condiciones de temperatura y aumentando la concentración de furfural de forma progresiva en cada ensayo, llegando hasta una concentración de 300 ppm.

En todos los casos se tomaron muestras de la solución al iniciar y al finalizar el ensayo, para determinar la concentración de furfural, analizando así su biodegradación. Dicha concentración fue analizada por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño (HPLC) mediante un equipo Shimadzu CBM 20A, que cuenta con un detector UV SPD 20A, utilizando una columna de fase inversa C18, a 40°C de temperatura, con una velocidad de flujo de 1mL/min, un volumen de inyección de 20µL y una mezcla de acetonitrilo – agua (17,5:82,5) como fase móvil.

Para la identificación del hongo, a las 72h de iniciada la prueba de biodegradación, se sembraron por inmersión y estriado, placas con agar nutritivo, a partir de los erlenmeyers ensayados. Incubándolas a 37°C durante 48h.

Los cultivos se conservan a 4°C en el mismo medio líquido y en agar nutritivo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El hongo filamentoso fue identificado como *Paecilomyces variotii* por el Departamento de Micología del Instituto de Medicina Regional perteneciente a la Universidad Nacional del Nordeste (Resistencia, Chaco).

Las Figuras 1 y 2 muestran el desarrollo del hongo en agar nutritivo, después de 48hs de incubación a 37°C, en siembra por estriado y por inmersión respectivamente.



Figura 1



Figura 2

El primer ensayo de biodegradación (con el hongo *Paecilomyces variotii*) se llevó a cabo con concentraciones cercanas a 70ppm de furfural como única fuente de carbono. A los tres días de incubación se observó gran desarrollo superficial del hongo en el medio de cultivo líquido inoculado (figura 3). En la figura 4 se aprecian, de forma comparativa, los erlenmeyers inoculados y el no inoculado (Blanco), notándose la diferencia entre ellos. Las muestras tomadas ese día para determinación de furfural, mostraron valores de remoción del contaminante de casi el 100% para las muestras inoculadas, mientras que, para el Blanco, la concentración de furfural se mantuvo casi invariante (Tabla 1).

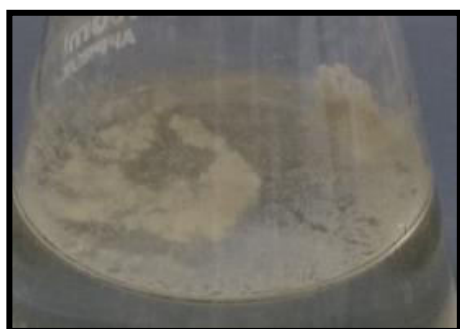


Figura 3

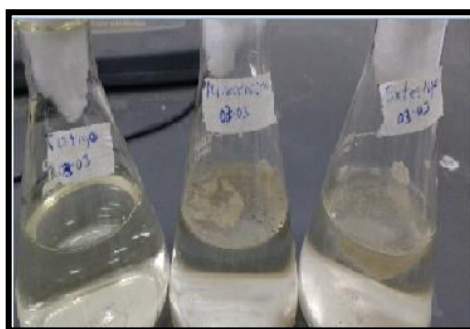


Figura 4

Se realizaron posteriores ensayos de biodegradación, variando gradualmente la concentración de furfural, llegando a alcanzar una concentración cercana a 300ppm con remoción de casi el 100% del contaminante entre los 3 y 5 días de incubación. La Tabla 1 muestra los resultados de biodegradación obtenidos durante estos ensayos.

Fecha de Inicio	Muestra	Conc. Furfural (ppm)		%Remoción
		día 0	día 3	día 3
Ensayo 1	Blanco	76	66	13,16
	Hongo muestra1	87	0,05	99,94
	Hongo muestra2	84	0,04	99,95
Ensayo 2		día 0	día 5	día 5
	Blanco	167	151	9,58
	Hongo muestra1	177	0,07	99,96
	Hongo muestra2	161	0,03	99,98
Ensayo 3		día 0	día 5	día 5
	Blanco	206	197	4,37
	Hongo muestra1	187	126	32,62
	Hongo muestra2	197	0,94	99,52
Ensayo 4		día 0	día 3	día 3
	Blanco	185	163	11,89
	Hongo muestra1	172	1,12	99,35
	Hongo muestra2	153	0,54	99,65
Ensayo 5		día 0	día 3	día 3
	Blanco	271,3	197	27,39
	Hongo muestra1	262	0,53	99,80
	Hongo muestra2	292	0,25	99,91

Tabla 1

A modo de ejemplo, en las Figuras 5 y 6 pueden apreciarse los cromatogramas para el medio inoculado *Paecilomyces variotii* y para el blanco respectivamente. Observando los picos negro y rosado obtenidos antes y después de la biorremoción respectivamente, se denota una elevada

disminución de la concentración de furfural en la muestra inoculada, y una concentración casi invariante del contaminante en el blanco.

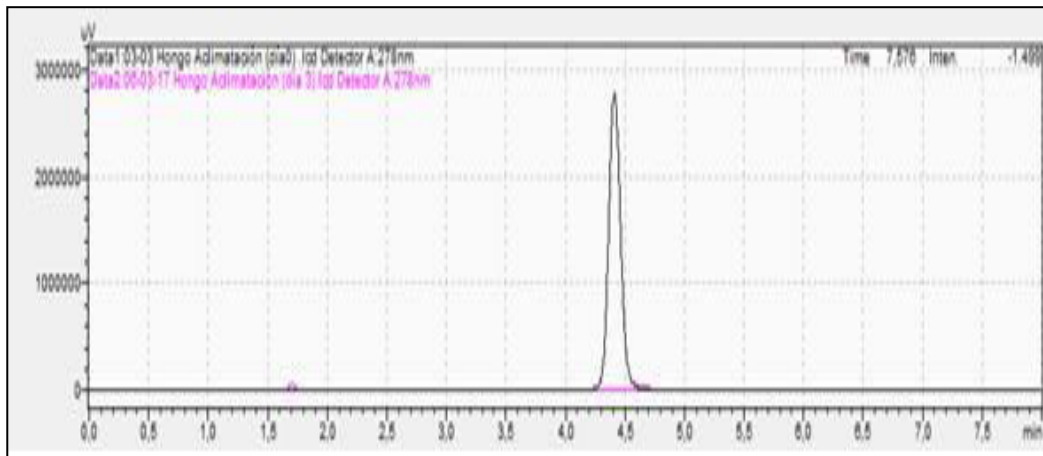


Figura 5

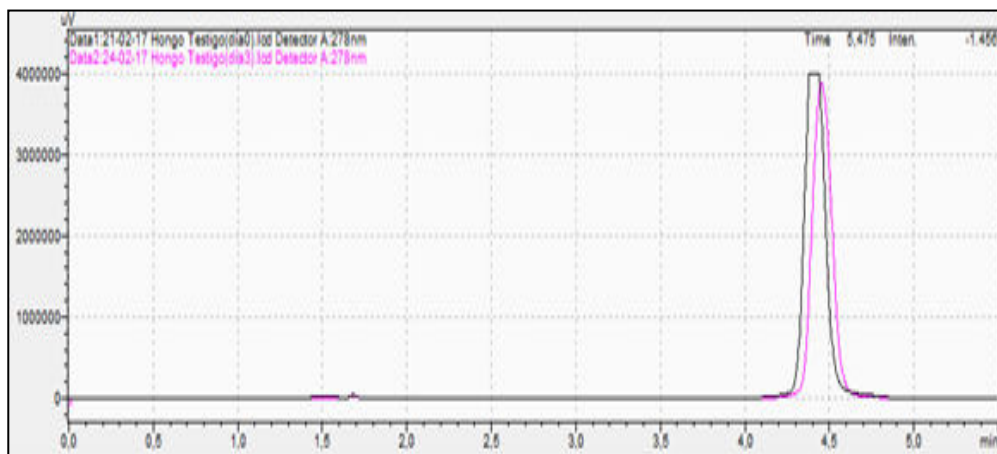


Figura 6

El efluente de la planta fabril taninera de la firma Indunor S. A. que produce furfural a partir de aserrín de quebracho colorado contiene furfural y ácido acético. En los próximos ensayos se evaluará la capacidad del *Paecilomyces variotii* de degradar furfural en coexistencia con ácido acético.

4. CONCLUSIONES

Se comprobó que el hongo filamentoso, aislado por contaminación en cultivos previos, e identificado como *Paecilomyces variotii*, pudo degradar casi el 100% del furfural presente en el medio como única fuente de carbono, entre los 3 y 5 días de cultivo.

Se evaluó la capacidad del *Paecilomyces variotii* de degradar furfural hasta una concentración inicial cercana a 300 ppm, alcanzando resultados positivos. Se prevé seguir realizando ensayos con aumentos progresivos del contaminante hasta una concentración tal donde no se aprecie crecimiento ni degradación y en coexistencia con ácido acético.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Pinedo-Rivilla, C., Aleu, J. & Collado, I.G., 2009. Pollutants Biodegradation by Fungi. *Current Organic Chemistry*, 13, pp.1194–1214.
- [2] Estévez, E., Veiga, M.C. & Kennes, C., 2005. Biodegradation of toluene by the new fungal isolates *Paecilomyces variotii* and *Exophiala oligosperma*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(1), pp.33–37.
- [3] Wang, L. et al., 2010. Biodegradation of phenol at high concentration by a novel fungal strain *Paecilomyces variotii* JH6. *Journal of Hazardous Materials*, 183(1-3), pp.366–371.
- [4] Passos, T.M., Marconato, J.C. & Franchetti, S.M.M., 2015. Biodegradation of films of low density polyethylene (LDPE), poly(hydroxybutyrate-co-valerate) (PHBV), and LDPE/PHBV (70/30) blend with *Paecilomyces variotii*. *Polímeros*, 25(1), pp.29–34.
- [5] García-Peña, I. et al., 2005. Correlation of biological activity and reactor performance in biofiltration of toluene with the fungus *Paecilomyces variotii* CBS115145. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), pp.4280–4285.
- [6] Anon, 1995. USE OF FRACTIONAL FACTORIAL DESIGN FOR SELECTION OF NUTRIENTS FOR CULTURING *Paecilomyces variotii* IN EUCALYPTUS.