

	FORMATO ACTA DE OPCIÓN DE GRADO		Código: FR-DO-033 Versión: 03
	Proceso: Docencia	Fecha de emisión: 29-Ago-2008	Fecha de versión: 28-Oct-2010

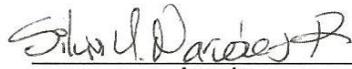
ACTA DE OPCIÓN DE GRADO

TECNOLOGIA EN DESARROLLO AMBIENTAL

Se notifica que el/lo(s) estudiante(s) Juan Pablo Barrera Fagua, identificado(a) con código estudiantil No.13798 Y Sergio Leonardo Colorado Farfán , identificado(a) con código estudiantil No.13472 , realizaron como opción de grado el/la proyecto de grado, **titulado(a): “REMOCIÓN DE METALES TÓXICOS EN UN EFLUENTE SINTÉTICO CON LA LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae*”**, obteniendo una calificación de **Cuatro punto Cero ocho (4.08)**.

Como asesor(es) le hicieron acompañamiento los docentes: HELMAN ALIRIO AMAYA , y como Jurado(s): ANDRES MOLANO GUARIN y SILVIA NARVAEZ

Lo anterior se expide en Bogotá D.C., a los 30 días del mes de enero de 2017.



Jurado



Jurado



Director




Coordinador

NOTA: Se debe cumplir con el Capítulo 2, Artículo 19 del acuerdo 01 del 28 de marzo de 2008

De la calificación: El proyecto de Grado será calificado así:

- a) Reprobado: Nota inferior a tres punto cinco (3.50).
- b) Aprobado: Nota igual o superior a tres punto cinco (3.50)

**REMOCIÓN DE METALES TÓXICOS EN UN EFLUENTE SINTÉTICO
CON LA LEVADURA *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**JUAN PABLO BARRERA FAGUA
SERGIO LEONARDO COLORADO FARFÁN**

**ESCUELA COLOMBIANA DE CARRERAS INDUSTRIALES
FACULTAD DE INGENIERIA
PROGRAMA DE INGENIERIA AMBIENTAL
BOGOTA, D.C. COLOMBIA
2017**

**REMOCIÓN DE METALES TÓXICOS EN UN EFLUENTE SINTÉTICO CON LA
LEVADURA *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**JUAN PABLO BARRERA FAGUA SERGIO
LEONARDO COLORADO FARFÁN**

Proyecto de Investigación

**HELMAN ALIRIO AMAYA ESPINOSA
Magíster en Física Médica. Químico
Farmacéutico
Físico**

**ESCUELA COLOMBIANA DE CARRERAS INDUSTRIALES
FACULTAD DE INGENIERIA
PROGRAMA DE INGENIERIA AMBIENTAL
BOGOTA, D.C. COLOMBIA
2017**

TABLA DE CONTENIDO

Resumen.....	6
Abstract.....	7
1. Remoción de metales tóxicos en aguas residuales con la levadura del pan.....	8
2. Problema de investigación.....	8
2.1. Descripción del problema.....	8
2.2. Formulación del problema.....	10
3. Objetivos de la investigación.....	11
3.1. Objetivo general.....	11
3.2. Objetivos específicos.....	11
4. Justificación y delimitación de la investigación.....	12
4.1. Justificación.....	12
4.2. Delimitación.....	12
5. Marco de referencia de la investigación.....	13
5.1. Marco teórico.....	13
5.1.1. Biorremediación.....	13
5.1.2. Tipos de Biorremediación.....	14
5.1.2.1. Fitorremediación.....	14
5.1.2.2. Degradación enzimática.....	14
5.1.3. Metales Tóxicos.....	14
5.1.4. Biosorción.....	15
5.1.5. Quelación.....	16
5.1.6. Bioacumulación.....	16
5.1.7. Biomineralización.....	16
5.1.8. Factores que afectan el proceso de biorremediación.....	17
6. Marco conceptual.....	18
7. Marco legal.....	20
8. Marco histórico.....	21
9. Tipo de investigación.....	22
10. Diseño metodológico.....	23
10.1. Etapa 1.....	23
10.1.1. Preparación del efluente sintético.....	23
10.1.2. Cultivo del microorganismo.....	26
10.1.3. Experimento de remoción.....	27
10.1.4. Cuantificación de metales tóxicos.....	28
10.2. Etapa 2.....	28
10.2.1. Cultivo del microorganismo.....	28
10.2.2. Experimento de remoción.....	29
10.2.3. Caracterización superficial de la estructura de la levadura.....	31
11. Resultados.....	32
11.1. Resultados etapa 1.....	32
11.1.1. Muestra numero 1: dilución del efluente 10 ml - 100 ml.....	33
11.1.2. Muestra numero 2: dilución del efluente 1 ml - 100 ml.....	34
11.2. Resultados etapa 2.....	36
11.2.1. Crecimiento levadura.....	36

11.2.2. Caracterización estructural de la levadura.....	37
12. Discusión de resultados.....	39
12.1. Etapa 1.....	39
12.2. Etapa 2.....	39
13. Conclusiones.....	40
14. Referencias bibliográficas.....	41
15. Anexos.....	45

RESUMEN

Cuerpos de agua superficiales vienen siendo receptores de vertimientos industriales a gran escala con metales tóxicos, esta contaminación representa y origina riesgo para el ser humano, animales y bienes naturales, por lo cual se da la necesidad de remediar estos ambientes; es por esto que en el presente trabajo se ha evaluado la remoción de plomo, aluminio, magnesio, manganeso, cobre, cromo y zinc presentes en una solución stock de 100 ml, de la cual fueron obtenidas diferentes disoluciones con el objetivo de tener una gama de muestras con diferentes concentraciones de contaminantes. En este caso el agente biológico utilizado es la levadura *Saccharomyces cerevisiae* obtenida en una tienda local.

la metodología experimental fue llevada a cabo en dos etapas, siendo la primera de ellas analizar cuantitativamente la remoción de metales por medio de Espectroscopia de Absorción Atómica, en la cual se prepararon dos muestras donde cada una de ellas fueron puestas en contacto con el microorganismo durante 23 horas a 130 rpm y con diferentes concentraciones. Por otro lado, la segunda etapa de la metodología busca cambios en la superficie de la membrana celular luego del proceso de remoción, esta vez por medio del método de microscopia electrónica de barrido (SEM), el cual es realizado posteriormente de preparar cuatro muestras con concentraciones diferentes de metales tóxicos y aplicar el proceso biológico puesto en marcha en condiciones aerobias a 50 rpm y a una temperatura de 37°C por 72 horas.

Lo anterior demuestra que el agente biológico presenta potencial para la remoción de Pb (III), (VI) en soluciones acuosas, sin embargo es de gran importancia aclarar que el bioproceso ejercido por la levadura con el propósito de disminuir las concentraciones de los contaminantes se efectuó por medio de diferentes mecanismos de interacción entre la levadura y los iones de las soluciones.

Palabras clave: Vertimientos industriales – Remediación – Contaminación – Remoción – Metales Tóxicos – *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Surface water bodies are being receptors of large scale industrial dumping with toxic metals, this pollution represents and creates risk for human beings, animals and natural goods, which gives the need to remedy these environments; This is why the present work has evaluated the removal of lead, aluminum, magnesium, manganese, copper, chromium and zinc present in a stock solution of 100 ml, from which different solutions were obtained in order to have a range of samples with different concentrations of contaminants. In this case the biological agent used is the yeast *Saccharomyces cerevisiae* obtained from a local store.

The experimental methodology was carried out in two stages, the first of which was to quantitatively analyze the removal of metals by means of Atomic Absorption Spectroscopy, in which two samples were prepared where each of them was put in contact with the microorganism during 23 hours at 130 rpm and with different concentrations. On the other hand, the second stage of the methodology looks for changes in the surface of the cell membrane after the removal process, this time by means of the scanning electron microscopy (SEM) method, which is done later to prepare four samples with Different concentrations of toxic metals and apply the biological process started under aerobic conditions at 50 rpm and at a temperature of 37 ° C for 72 hours.

This demonstrates that the biological agent has potential for the removal of Pb (III), (VI) in aqueous solutions, however it is of great importance to clarify that the bioprocess exerted by the yeast in order to reduce the concentrations of the contaminants Effected by means of different mechanisms of interaction between the yeast and the ions of the solutions.

Keywords: Industrial dumping - Remediation - Pollution - Removal - Toxic Metals - *Saccharomyces cerevisiae*.

1. REMOCIÓN DE METALES TOXÍCOS EN AGUAS RESIDUALES CON LA LEVADURA DEL PAN

Estudios actuales y diversas investigaciones involucradas con biorremediación, han demostrado el crecimiento de diferentes especies de levaduras en ambientes y entornos altamente contaminados y en presencia de metales tóxicos. Esta variedad de microorganismos poseen características morfológicas, metabólicas y fisiológicas (Cooksey, 1993), que implican una elevada tolerancia a distintos metales tóxicos. Es por esta increíble adaptación biológica que estas levaduras serían buenas candidatas para ser utilizadas en procesos de tratamiento biológico para depurar compuestos nocivos, en este caso para tratar el agua residual no doméstica, siendo de gran interés ambiental e industrial.

En investigaciones realizadas en los últimos años, dedicadas al estudio de las nuevas biotecnologías se ha demostrado que las levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* son capaces de acumular cationes tales como cobre, níquel, manganeso, zinc, cadmio y cobalto, y tienen una mayor capacidad acumuladora de metales en comparación con ciertas bacterias, hongos y levaduras (Norris & Kelly, 1977). Dicha especie se utiliza ampliamente en la fabricación de alimentos y bebidas, siendo fácil de cultivar en un medio barato. También es un subproducto y se puede obtener en gran cantidad como residuo de la industria de fermentación, y se manipula fácilmente a nivel molecular (Wang & Chen, 2006).

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

2.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Diversos ecosistemas acuáticos son perturbados constantemente con la acumulación de desechos y vertimientos generados por actividades industriales, como son: la extracción minera, la transformación y tratamiento de los cueros, el refinamiento de productos mineros, producción de pinturas y galvanización (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, 2009). Los efluentes generados por dichas actividades industriales, que en sus procesos requieren grandes volúmenes de compuestos, reactivos, sustancias y demás, presentan grandes concentraciones de metales tóxicos como Cobre (Cu^{+2}), Zinc (Zn^{+2}), Plomo ($\text{Pb}^{+2,+4}$), Cadmio (Cd^{+2}), Cromo ($\text{Cr}^{+2,+3,+6}$), Níquel ($\text{Ni}^{+2,+3}$), Mercurio (Hg^{+2}), Cobalto ($\text{Co}^{+2,+3}$), entre otros. La contaminación influye directamente en el medio ambiente, ocasionando impactos de gravedad ilimitada impidiendo que los procesos naturales de autodepuración sean eficientes y se alteren las características del cuerpo receptor del agua residual (Bermúdez, et al., 2011).

Los microorganismos como las levaduras realizan procesos biológicos de degradación o bioacumulación, y es por ello que pueden contribuir en la reducción de los niveles de contaminación en el agua residual, antes de que entre en contacto con el ambiente y en sus diferentes sistemas ecológicos; ya que la presencia de estos residuos líquidos eco-tóxicos afectan

y representan riesgos graves en la calidad de vida del ser humano y el medio natural (Thomann, 1998).

Desde los inicios y primeros avances de implementación de *Saccharomyces cerevisiae* como agente biorremediante, las investigaciones se han enfocado en la evaluación de la capacidad de bioadsorción y bioabsorción de metales tóxicos en soluciones acuosas, en diferentes condiciones de pH y temperatura, para encontrar las condiciones óptimas de remoción de iones contaminantes en cuerpos de agua (Wang & Chen, 2006).

En un estudio publicado por la revista colombiana de Biotecnología hecho en América Latina, se indago, trabajo y demostró la eficiencia de adsorción de Plomo en un ecosistema acuático lenticó. Este cuerpo de agua presentaba constante contaminación por metales pesados debido a actividades mineras. Los autores analizaron dos concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae*, dispersas en una disolución de plomo con una concentración inicial conocida, y realizaron mediciones de la concentración remanente del plomo en tres diferentes intervalos de tiempo. El estudio muestra que *Saccharomyces Cerevisiae* tiene un elevado potencial para la bioadsorción de plomo (Roque, 2009) y es una alternativa óptima a los tratamientos o agentes biológicos convencionales, entre los cuales se encuentran; algas marinas (*Sargassum natans*, *Caulerpa spp*), bacterias (*Bacillus subtilis*) y hongos (*Rhizopus arrhizus*) (Saikaew W. et al, 2009).

Los resultados reportados por Roque (2009) muestran a las levaduras como un agente biológico útil en términos de minimización y mitigación de daños a ecosistemas estratégicos como lo son los cuerpos de agua tanto superficiales como subterráneos, ya que estos últimos reciben innumerables afluentes de carácter residual que minimizan su aprovechamiento y disponibilidad, además generan un gran impacto a las especies biológicas que dependen de este recurso.

Está demostrado que la falta de inspección, vigilancia y control a la hora de verificar los requisitos y las condiciones mínimas óptimas establecidas para generar un vertimiento y su irresponsable disposición final han ocasionado la afectación y contaminación directa al suelo, a cuerpos de agua superficial, y subterránea; por tal razón, en este trabajo se pretende potenciar la estrategia biológica de las levaduras, más exactamente de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, para tratar efluentes industriales con el fin de minimizar el impacto ambiental y para que los ecosistemas consigan amortiguar eficazmente los contaminantes y sus relaciones de equilibrio permanezcan en orden.

2.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La creciente industrialización en nuestro país, ha generado un incremento en los vertimientos con carga de metales tóxicos a fuentes hídricas naturales, alterando las características necesarias para la vida en estos cuerpos de agua. Es preocupante la bioacumulación de metales tóxicos en distintas especies biológicas ya que entrarían en las cadenas tróficas y podrían hacer parte de los alimentos que los seres humanos consumimos. Lo anterior tiene un impacto en la salud humana y en la supervivencia de algunas especies de fauna y flora, conllevando a un deterioro acelerado de la salud humana y el medio ambiente. Los residuos generados por las industrias están contaminados con metales tóxicos que luego son desviados y/o descargados en complejos abióticos, lo que lleva a la contaminación y deterioro del suelo, el aire y las aguas superficiales y subterráneas (Butter et al., 1996).

Una de las principales preocupaciones ligadas a los procesos donde se utilizan compuestos nocivos, por ejemplo el Cromo, proveniente de la industria curtiembre, es el uso de técnicas de producción que disminuyan la contaminación residual, sea sólida o líquida y encontrar las posibles formas de removerlo.

En estos efluentes, el Cr puede encontrarse como hexavalente Cr^{6+} (en forma de ion Cromato CrO_4^{-2} ; o de ion dicromato $(\text{Cr}_2\text{O}_7)^{2-}$; o como trivalente Cr^{3+} , este último es más estable y 1.000 veces menos tóxico que el Cr^{6+}) (Porrás, 2010). Es importante manifestar que los efectos tóxicos de Cr^{6+} , conocido cancerígeno, se manifiestan de forma crónica y aguda en las personas en las personas que hayan estado en contacto directo; y sus síntomas, dada la intoxicación son problemas renales, gastrointestinales, del hígado, del riñón, de la glándula tiroides y la médula ósea; y está demostrado que la velocidad corporal de eliminación es muy lenta (Porrás, 2010).

Actualmente existen diversos procesos tecnológicos y biológicos de biorremediación de metales tóxicos que varían en su complejidad y adquisición entre estos encontramos la levadura *Saccharomyces cerevisiae* siendo una fuente económica favorable de biomasa expuesta y manipulada para la eliminación de metales pesados y tóxicos en aguas residuales, cuerpos de agua receptores o sumideros como el suelo. Varios investigadores comprobaron que *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de acumular metales tóxicos tales como Cu^{+2} , Cd^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2} , $\text{Cr}^{+2,+3,+6}$, y Ni^{+2} (Glazer & Nikaido, 1995), (Wilhelmi & Duncan, 1995), (Soares & Soares, 2012).

Es por tal razón que este sistema biológico de remediación ofrece una solución práctica y viable en términos económicos, ambientales y de mejoramiento continuo de los procesos, permitiendo ir más allá y ejercer una producción sostenible y responsable a fin de cumplir con la legislación ambiental.

Otra técnica de remoción de metales son los Biomateriales (flora microbiana, algas, plantas, biomasa residual, productos agroindustriales o algunos biopolímeros). Estos basados también en la afinidad que presentan sus componentes celulares, ligado a los iones metálicos (Porrás, 2010). Esta es una técnica competitiva en el tratamiento de efluentes industriales, y al mismo tiempo un sistema biológico sostenible que trae múltiples ventajas, ya que permiten el secuestro de metales, tratamientos fisicoquímicos sencillos y de bajo costo, la reutilización de biomasa y el agua (Tovar, Ortiz & Jaraba, 2015).

3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la remoción de metales tóxicos presentes en un efluente sintético, por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obtener una solución stock con carga de metales tóxicos en concentraciones del mismo orden de magnitud que un efluente residual.

Cuantificar la remoción de metales tóxicos presentes en el agua utilizando como agente biológico la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Encontrar cambios estructurales en la levadura *S. cerevisiae* resultado de la remoción de metales tóxicos.

4. JUSTIFICACIÓN Y DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. JUSTIFICACIÓN

Los procesos industriales liberan subproductos al ambiente en diversas formas y estados, una de ellas es el agua residual contaminada o con presencia considerable de compuestos riesgosos y con metales tóxicos que llegan a diferentes cuerpos de agua (que actúan como sumideros o receptores permanentes de residuos) y alteran las características naturales del ecosistema. Algunos metales tóxicos son bioacumulables y se fijan en tejidos vegetales y animales, por ello pueden ser perjudiciales para la salud humana, y el desarrollo de diferentes especies de fauna y flora (Volesky & Holan, 1995).

Los costos de los tratamientos de remoción de metales son un factor limitante para la implementación de estos en las pequeñas y grandes industrias, por consecuencia estos efluentes no son tratados convirtiéndose en vertimientos puntuales con alta carga contaminante. Por tal razón existe la necesidad de incorporar tratamientos a bajo costo, eficientes, que garanticen el cumplimiento de la normatividad. Vinculado a esto es importante el uso de microorganismos que degraden compuestos nocivos y transformen su estructura química en sustancias menos contaminantes.

Por consiguiente, este trabajo de investigación busca analizar el potencial que tiene la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para bioremediar el agua de un efluente sintético preparado con diferentes concentraciones de metales tóxicos, con concentraciones en un orden de magnitud similar a un efluente natural en el que usualmente se vierten residuos industriales y en donde se analiza la viabilidad de la implementación de un tratamiento biológico como alternativa a los tratamientos convencionales.

4.2. DELIMITACIÓN

Este proyecto de investigación se enfoca en la determinación del potencial que tiene la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para remover los siguientes metales tóxicos presentes en un efluente sintético; cobre, zinc, plomo, magnesio, cromo, manganeso y aluminio. Analizando la viabilidad de agente biorremediador en el tratamiento de aguas contaminadas con metales tóxicos como una alternativa a los métodos convencionales.

5. MARCO DE REFERENCIA DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. MARCO TEÓRICO

5.1.1. Biorremediación

Se define como Biorremediación al proceso de limpieza biológica que ejercen diversos organismos, sean bacterias, hongos, levaduras o especies vegetales, en ambientes naturales contaminados o perturbados por actividades antrópicas (Glazer & Nikaido, 2007). La variedad de sistemas de biorecuperación que degradan, convierten, eliminan o disminuyen la toxicidad de contaminantes orgánicos o inorgánicos a través de la actividad biológica natural es con frecuencia dominadas por bacterias, las cuales tienen la capacidad para degradar un amplio espectro de contaminantes ambientales (Glazer & Nikaido, 2007).

Las actividades económicas principales hacen uso diario de miles de compuestos orgánicos e inorgánicos, que se introducen ya sea accidental o intencional, directa o indirectamente en el suelo y las aguas tanto subterráneas como superficiales, trayendo impactos muchas veces irreversibles a las condiciones y estructuras principales de los ecosistemas. Es por tal motivo que se utiliza el potencial metabólico de los microorganismos para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes, y, por tanto, se pueden utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas (Glazer & Nikaido, 2007), (Machado et al. 2009).

Los procesos de biorremediación tienen múltiples ventajas, entre las que se encuentran su bajo costo, poca perturbación al medio ambiente, efectividad en los tratamientos biológicos, tiempo corto, amplia aplicabilidad en diversos escenarios ambientales, se pueden tratar aguas subterráneas, superficiales, cuerpos de agua lóticos y lenticos, o suelos saturados e insaturados (Mulas, 2001).

Gracias a la gran variedad y flexibilidad de esta nueva metodología basada en el metabolismo de los diversos agentes biológicos ya mencionados, se logran tratamientos de alto rigor técnico de manera espontánea o dirigida, que pueden ejecutarse en condiciones aerobias o anaerobias y pueden emplearse organismos autóctonos del sitio contaminado o incorporar organismos foráneos, o puede realizarse *in situ* o *ex situ* (en el sitio contaminado – fuera del sitio contaminado, respectivamente) (Mulas, 2001).

Dependiendo la especie empleada y tipo de sustrato, es necesario mantener condiciones óptimas de pH, oxigenación, temperatura, agitación y aporte de nutrientes para que el microorganismo se adapte y ejerza sus funciones biológicas, para garantizar que el resultado de la remediación sea el esperado (Chen & Wang, 2007).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* pertenece al grupo Ascomycota, la mayor subdivisión de los hongos, que contiene unas 15.000 especies (Glazer & Nikaido, 2007). Las cepas *Saccharomyces cerevisiae* usualmente crecen en la superficie de las uvas y otras plantas ricas en azúcar y estos organismos unicelulares se multiplican por gemación (Glazer & Nikaido, 2007), se sabe que las poblaciones de *S. cerevisiae* son utilizadas ampliamente en la fermentación de

ciertas cervezas y vinos, en la producción de levadura de panadería, y en muchas aplicaciones biotecnológicas. El microorganismo empleado para remover metales tóxicos provenientes de aguas residuales industriales que llegan a cuerpos de agua superficiales es *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura se produce fácilmente, en grandes cantidades y su costo de producción es inferior al de las bacterias cosechadas y/o aisladas, además no presentan problemas de salud pública (Glazer & Nikaido, 2007), por ello, en el desarrollo de este trabajo se escogió este microorganismo como agente biorremediador.

Otras levaduras estudiadas en el ámbito de la biorremediación son las pertenecientes al género *Candida* y *Pichia*, capaces de crecer con hidrocarburos como único proveedor de carbono (Agencia de Noticias UN, 2016).

5.1.2. Tipos de Biorremediación

5.1.2.1. Fitorremediación

Este bioproceso implica el uso de plantas en ambientes contaminados como aire, suelo y agua; constituye una estrategia óptima debido a la capacidad de algunas especies vegetales de absorber, acumular y tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados, compuestos radioactivos y orgánicos (Muñoz & Carrillo, 2007).

5.1.2.2. Degradación enzimática

La degradación enzimática consiste en el empleo de enzimas en el sitio contaminado con el fin de degradar sustancias nocivas, estas enzimas se obtienen bajo condiciones de laboratorio a partir de bacterias que las producen naturalmente o en condiciones sintéticas modificadas genéticamente (Di & Vicién, 2010).

5.1.3. Metales Tóxicos

Común y ampliamente se ha hecho uso del término de Metal Pesado, refiriéndose a los compuestos y/o elementos químicos que son tóxicos, que tienen características de peligrosidad y que representan riesgos para la salud de todo organismo vivo, pero es una forma casual o no muy técnica de nombrarlos.

Esta terminología de metales pesados se utiliza ligadamente para citar el efecto de la contaminación y la toxicidad que pueden llegar a tener algunos elementos químicos; al hablar de Pesado en el uso convencional implica alta densidad y Metal se refiere al elemento puro o una aleación de los elementos metálicos (Duffus, 2002).

La presente investigación se enfoca en los metales tóxicos, donde se deja atrás toda definición de densidad, peso atómico o molecular; de acuerdo con lo anterior los metales tóxicos son los elementos (no sólo los metales) comúnmente utilizados en las actividades industriales y en general tóxico para los organismos vivos, incluso a bajas concentraciones y/o en trazas, donde se incluye As, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ni, Se, Zn (Chojnacka, 2009). Hay metales conocidos que representan una función perjudicial en los organismos vivos, estos riesgos se ejercen a través de inhibición de la enzima o de la activación, el daño de los órganos subcelulares, propiedades cancerígenas y los muchos efectos nocivos para la salud humana sobre los riñones, el sistema

nervioso, el sistema endocrino, la reproducción, y el sistema respiratorio (Chojnacka, 2009). Una cosa si es clara y es que los elementos más tóxicos (Hg, Pb y Cd) son los mismos que principalmente son utilizados por la industria (Hodgson, 2004).

Es idóneo tener en cuenta que existe otro grupo de metales que son necesarios para el buen funcionamiento de un organismo, en pequeñas cantidades (Cu, Zn, Mn y Mg); pero así mismo en niveles elevados (Au, Ag, Pb, Cr y Cd) son altamente tóxicos para las células vivas(Chojnacka, 2009), (Gadd & Griffiths, 1978).

La biodisponibilidad y presencia en la tierra de los metales tóxicos y de los demás elementos químicos es y ha sido muy alta, y han permanecido y permanecerán constantes (Hodgson, 2004). Dichos elementos se encuentran en la naturaleza, repartidos en el componente abiótico en rocas, minerales, suelo, el agua y en el aire; en niveles bajos, de forma natural y en forma dispersa (Hodgson, 2004).

He aquí la base de la problemática medioambiental dada con la acelerada industrialización y las actividades antrópicas que han sufrido los sistemas naturales. La explotación, utilización y movilización de estos depósitos naturales de metales ha llevado a que la disponibilidad de los mismos sea por mucho más alta en el medio ambiente y el contacto entre los elementos tóxicos descritos anteriormente y los organismos vivos sea cada vez más fácil y propenso.

Una de las principales formas de dispersión de los metales tóxicos que se presenta esta dada por las actividades industriales, tales como la minería y la metalurgia y son muy utilizadas por la agricultura y la medicina (Chojnacka, 2009). El resultado no es de extrañar y al mismo tiempo es indeseable, los metales tóxicos comenzaron a condicionar y desequilibrar los ciclos en diversos ecosistemas dado las concentraciones tan elevadas entre los componentes bióticos y abióticos y también en la cadena trófica donde el punto clave está concentrando en la parte superior, es decir, los consumidores y con frecuencia en el cuerpo humano (Hodgson, 2004). Debido a que es imposible degradar metales tóxicos por nuestra cuenta y a sus propiedades bioacumulables.

5.1.4. Biosorción

La captación de los iones metálicos se puede dar por medio de dos modos o fases. El primer modo de absorción es independiente de la actividad metabólica celular e implica la unión de iones metálicos a la pared celular y se da gracias a que *S. cerevisiae* contiene grupos fosfato, amino, carboxilo e hidroxilo en su pared celular, los cuales son los responsables de la remoción de metales tóxicos por medio de un enlace químico con los iones metálicos estos se conoce como **fase pasiva** (Özer & Özer, 2003). El segundo modo de captación de iones metálicos es mucho más lento y se pueden acumular una gran cantidad de iones denominado **fase activa** este proceso se cree implica la internalización de cationes en la célula, atreves de la membrana celular permitiendo la captación intracelular (Özer & Özer, 2003), (Huang & Morehart, 1990).

Investigaciones de Norris & Kelly, 1977; identifican una relación del pH en el proceso de biosorción planteado que a un pH alto, los componentes de la pared celular y el estado iónico de los ligandos será tal como para promover una reacción con los cationes metálicos. Por el contrario a un pH bajo, la carga total en la superficie celular será positivo, e inhibirá la reacción con los cationes cargados positivamente.

Por lo cual a pH bajo, los ligandos de la pared celular están estrechamente asociados con los iones hidronio (H_3O^+) y restringen el enlace con los cationes metálicos como resultado de la fuerza de repulsión. A pH más alto, los iones positivos divalentes son apropiados para interactuar con los grupos cargados negativamente en la biomasa, por otro lado la pared celular de *S. cerevisiae* se compone en su mayoría de una capa de proteína y polisacáridos, que puede causar una carga a través de la disociación de grupos ionizables de los aminoácidos; que se caracterizan por presentar un grupo amino y un grupo carboxilo asociados a un carbono, estos dos grupos se pueden ionizar en un medio acuoso y pueden actuar como ácidos o bases como respuesta al pH, por ende la carga de los aminoácidos y así mismo de la capa proteínica de *S. cerevisiae* varía en función del pH. El estado iónico de los ligandos promoverá la reacción con los iones metálicos cargados positivamente (Mason, 1996).

5.1.5. Quelación

Este mecanismo de remoción de metales implica inmovilizar iones metálicos con el soporte de ligandos de bajo peso molecular para así obtener un compuesto o molécula químicamente estable; Una gran variedad de moléculas orgánicas son capaces de formar complejos con los metales. Se conocen como compuestos de Quelación, cuando un ión metálico se combina con un donador de electrones se dice que la sustancia que se forma es un compuesto complejo. Si la sustancia que se combina con el metal contiene dos o más grupos donadores de tal manera que cuando forman uno o más anillos, entonces la estructura resultante es un compuesto quelado o quelato y al donador se le denomina agente quelante. Los enlaces de par de electrones entre el metal y el agente donador que forma el complejo, puede ser esencialmente iónicos o covalentes dependiendo de los átomos que intervienen en el proceso. Entre los metales sensibles a la formación de quelatos se encuentran aquellos que tienen significado bioquímico, que son oligoelementos como Fe, Co, Cu, Zn, etc., y esenciales para las funciones metabólicas de la célula (Santos, 1959).

5.1.6. Bioacumulación

Se basa en la absorción de iones metálicos mediante procesos metabólicos de células de biomasa vivas. Esta bioacumulación se manifiesta en dos etapas, en la primera etapa se lleva a cabo la biosorción que es un proceso rápido; en la segunda etapa ocurre el transporte del ion metálico al interior de la célula siendo un proceso lento. (Chojnack, 2010).

Este mecanismo celular involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza al metal pesado presente en el entorno celular con gasto de energía. Una vez incorporado el metal pesado al citoplasma, este es secuestrado por la presencia de proteínas ricas en grupos sulfhidrilo llamados metalotioleínas (Lovley, 2000).

5.1.7. Biomineralización

Los microorganismos son capaces de precipitar metales mediante un mecanismo de resistencia codificado en plásmidos. Este mecanismo aparece por el funcionamiento de una bomba que expulsa el metal tóxico presente en el citoplasma hacia el exterior de la célula, produciendo una alcalinización en la superficie celular externa, conllevando el proceso de precipitación del metal pesado. Otra forma de precipitación de metales es la formación de sulfuros o fosfatos como resultado de alguna actividad enzimática celular (Gadd, 2000).

5.1.9. Factores que afectan el proceso de biorremediación

El análisis de los factores que influyen en este proceso es de gran envergadura e importancia, los factores que deben considerarse en estos bioprocesos son: el tipo y naturaleza de la biomasa, la concentración inicial de soluto, concentración de la biomasa y los factores fisicoquímicos (temperatura, pH, fuerza iónica). El proceso de biorremediación puede ocurrir con frecuencia en las siguientes condiciones: 1. En un cierto intervalo la temperatura puede tener un efecto negativo o positivo; 2. El pH de la solución influye en la especiación y la solubilidad química de los metales, actividad de los grupos funcionales de la biomasa y la competencia de iones metálicos en la unión a sitios activos; 3. En soluciones diluidas, la concentración de la biomasa influye en la capacidad de la biorremediación; 4. En soluciones con diferentes especies metálicas existe una competencia entre los metales por ocupar sitios activos (Oliveira et al., 2011), (Hlihor, 2011).

6. MARCO CONCEPTUAL

Aguas continentales. Cuerpos de agua que se encuentran en tierra firme, sin influencia marina. Se localizan en las tierras emergidas, ya sea en forma de aguas superficiales o aguas subterráneas (Decreto 3930 de 2010).

Aguas Residuales no Domésticas – ARnD. son las procedentes de las actividades industriales, comerciales o de servicios distintas a las que constituyen aguas residuales domésticas – ARD (Resolución 0631 de 2015).

Biorremediación. Es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos fundamentalmente bacterias, hongos y levaduras, para transformar y degradar, contaminantes orgánicos e inorgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes.

Caracterización de las aguas residuales. Determinación de la cantidad y características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales.

Carga contaminante. Es el producto de la concentración másica promedio de una sustancia por el caudal volumétrico promedio del líquido que la contiene determinado en el mismo sitio; en un vertimiento se expresa en kilogramos por día (kg/d) (Decreto 3930 de 2010).

Contaminación del agua. Es la alteración de sus características organolépticas, físicas, químicas, radiactivas y microbiológicas, como resultado de las actividades humanas o procesos naturales, que producen o pueden producir rechazo, enfermedad o muerte al consumidor (Decreto 475 de 1998)

Cuerpo de agua. Sistema de origen natural o artificial localizado, sobre la superficie terrestre, conformado por elementos físicos-bióticos y masas o volúmenes de agua, contenidas o en movimiento (Decreto 3930 de 2010).

Disposición final. Es el proceso de aislar y confinar los residuos o desechos peligrosos, en especial los no aprovechables, en lugares especialmente seleccionados, diseñados y debidamente autorizados, para evitar la contaminación y los daños o riesgos a la salud humana y al ambiente (Decreto 4741 de 2005)

Eficiencia de tratamiento. Relación entre la masa o concentración removida y la masa o concentración en el afluente, para un proceso o planta de tratamiento y un parámetro específico; normalmente se expresa en porcentaje (RAS, 2000).

Generador. Cualquier persona cuya actividad produzca residuos o desechos peligrosos. Si la persona es desconocida será la persona que está en posesión de estos residuos. El fabricante o importador de un producto o sustancia química con propiedad peligrosa, para los efectos del presente decreto se equipara a un generador, en cuanto a la responsabilidad por el manejo de los embalajes y residuos del producto o sustancia (Decreto 4741 de 2005).

Impacto ambiental. Cualquier cambio en el medio ambiente, ya sea adverso o beneficioso, como resultado total o parcial de aspectos ambientales de una organización (ISO 14001 de 2005)

Metales pesados. Son elementos tóxicos que tiene un peso molecular relativamente alto. Usualmente tienen una densidad superior a 5,0 g/cm³ por ejemplo, plomo, plata, mercurio, cadmio, cobalto, cobre, hierro, molibdeno, níquel, zinc (RAS, 2000).

Norma de vertimiento. Conjunto de parámetros y valores que debe cumplir el vertimiento en el momento de la descarga (Decreto 3930 de 2010).

Punto de descarga. Sitio o lugar donde se realiza un vertimiento al cuerpo de agua, al alcantarillado o al suelo (Decreto 3930 de 2010).

Riesgo. Probabilidad o posibilidad de que el manejo, la liberación al ambiente y la exposición a un material o residuo, ocasionen efectos adversos en la salud humana y/o al ambiente (Decreto 4741 de 2005).

Remediación. Conjunto de medidas a las que se someten los sitios contaminados para reducir o eliminar los contaminantes hasta un nivel seguro para la salud y el ambiente o prevenir su dispersión en el ambiente sin modificarlos (Decreto 4741 de 2005).

Residuo o desecho peligroso. Es aquel residuo o desecho que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables, infecciosas o radiactivas puede causar riesgo o daño para la salud humana y el ambiente. Así mismo, se considera residuo o desecho peligroso los envases, empaques y embalajes que hayan estado en contacto con ellos (Decreto 4741 de 2005).

Sustancia de interés ambiental. con los compuestos, elementos o sustancias y parámetros indicadores de contaminación fisicoquímica y biológica que permita a calidad del vertimiento y su efecto sobre el recurso hídrico.

Toxicidad. La propiedad que tiene una sustancia, elemento o compuesto, de causar daños en la salud humana o la muerte de un organismo vivo (Decreto 3930 de 2010).

Tratamiento. Es el conjunto de operaciones, procesos o técnicas mediante los cuales se modifican las características de los residuos o desechos peligrosos, teniendo en cuenta el riesgo y grado de peligrosidad de los mismos, para incrementar sus posibilidades de aprovechamiento y/o valorización o para minimizar los riesgos para la salud humana y el ambiente (Decreto 4741 de 2005).

Vertimiento. Descarga final a un cuerpo de agua, a un alcantarillado o al suelo, de elementos, sustancias o compuestos contenidos en un medio líquido (Decreto 3930 de 2010).

Vertimiento puntual. El que se realiza a partir de un medio de conducción, del cual se puede precisar el punto exacto de descarga al cuerpo de agua, al alcantarillado o al suelo (Decreto 3930 de 2010).

Vertimiento no puntual. Aquel en el cual no se puede precisar el punto exacto de descarga al cuerpo de agua o al suelo, tal es el caso de vertimientos provenientes de escorrentía, aplicación de agroquímicos u otros similares (Decreto 3930 de 2010).

7. MARCO LEGAL

Decreto - Ley 2811 de 1974. Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente. Fija el marco regulatorio para el manejo de las aguas en cualquiera de sus estados.

Ley 09 de 1979. Código Sanitario de Colombia. Establece los procedimientos y las medidas para llevar a cabo la regulación y control de los vertimientos.

Decreto 3930 de 2010. Define las disposiciones en cuanto a usos del agua y residuos líquidos.

Decreto 4728 de 2010. Por el cual se modifica parcialmente el decreto 3930 de 2010

Resolución 3956 de 2009. Norma técnica, para el control y manejo de los vertimientos realizados al recurso hídrico en el distrito capital.

Resolución 0631 de marzo 2015. Establecen los parámetros y valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público.

Proyecto de norma 2013. Establecen los parámetros y valores límites permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de agua y al sistema público de alcantarillado.

Decreto 4741 de 2005. Reglamenta parcialmente la prevención y el manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral.

8. MARCO HISTORICO

Con el desarrollo industrial y la implementación de nuevos procesos cada vez más contaminantes, las industrias se volvieron focos de contaminación aumentando la cantidad de residuos líquidos y así mismo las problemáticas ambientales con graves afectaciones al medio ambiente y la salud humana, siendo esta la alarma que dispara la preocupación por parte de las autoridades sanitarias y ambientales para minimizar, controlar y supervisar los vertimientos de estas aguas contaminadas, esto llevo a la implementación de políticas encaminadas para reglamentar el sector industrial dictando disposiciones para el control y tratamiento de aguas contaminadas. A su vez obligo al sector industrial a adoptar medidas para un manejo adecuado de los vertimientos, implementando en sus procesos industriales el tratamiento de sus efluentes en búsqueda de la reducción de impactos ambientales a causa de vertimientos de agua contaminada con metales pesados a cuerpos de agua y a los sistemas de alcantarillado público.

En los siglos XVIII y XIX se empezó a estudiar la remoción de metales utilizando como biomasa microorganismos vivos, pero sólo en las últimas tres décadas se han utilizado microorganismos vivos y no vivos como adsorbentes de metales de soluciones acuosas.

Las primeras aplicaciones de la técnica de biosorción involucraron tratamiento de agua residual. (Park et al, 2010).

Con base a esto las industrias empiezan la búsqueda de métodos y sistemas de tratamientos para el cumplimiento legal, desarrollando métodos de tratamiento químicos y biológicos principalmente debido a su eficiencia en la remoción de contaminantes, ampliando las investigaciones con el objetivo principal de encontrar tratamientos alternativos que sean más eficientes y menos costosos, entre ellos el tratamiento biológico con diferentes organismos como bacterias, hongos, algas y plantas, el cual demostró un alto grado de eficiencia en los porcentajes de remoción de carga contaminante, identificando especies con alto potencial para la inclusión en los sistemas de tratamiento biológico de aguas contaminadas.

9. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto de investigación pone en marcha nuevas discusiones, reflexiones, análisis de casos y ensayos en el ámbito de la ingeniería Ambiental en la Universidad ECCI. Se busca analizar las propiedades de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, como agente remediador en el proceso de biorremediación de aguas residuales, para establecer parámetros biológicos, físicos y químicos que permitan optimizar el proceso de remoción y así mejorar la calidad del efluente final que luego es entregado a algún cuerpo de agua.

El proyecto en desarrollo abarca diferentes tipos de investigación, como son:

1. Documental:

El proyecto parte de una revisión bibliográfica en fuentes secundarias, en donde se recopilaron estudios, datos, artículos científicos, metodologías, reportes de caso y documentos producidos por académicos y científicos en donde algunos autores analizan procesos de remoción de metales tóxicos por parte de la levadura en cuestión y otros autores analizan la levadura del pan como agente biorremediador, y además estudian cómo mejorar sus propiedades.

2. Descriptiva:

Este proyecto de investigación busca describir propiedades absorbentes y adsorbentes de la especie de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que puedan ser tomadas en cuenta para la biosorción de determinados metales tóxicos.

3. Experimental:

Se implementó una metodología de laboratorio tanto para la preparación del efluente sintético, para el cultivo de la levadura en diferentes condiciones, como para la caracterización química del efluente sintético antes y después del proceso de remediación.

10. DISEÑO METODOLÓGICO

Para la realización de la metodología se plantaron dos etapas, la primera para analizar cuantitativamente el proceso de biorremediación, por medio de espectroscopia de absorción atómica. La segunda para hacer un análisis elemental en la superficie de membrana celular de la levadura, una vez realizado el proceso de biorremediación, esta vez por medio de microscopia electrónica de barrido (SEM).

10.1 ETAPA 1

10.1.1 PREPARACIÓN DEL EFLUENTE SINTÉTICO:

Las concentraciones de distintos metales, medidas en una muestra tomada del río Bogotá (anexo 1) y las reportadas por Quintero & Martínez (2010) se tomaron como base para la preparación del efluente sintético. Dichas concentraciones se encuentran en mg/L, pero luego se expresaron en molaridades usando el factor de conversión que se muestra entre paréntesis:

$$M\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) = \frac{\text{mg}}{\text{L}} * \left(\frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} * \frac{1 \text{ mol}}{X \text{ (g)}}\right)$$

En donde **X** es la masa molar de cada sal, en gramos. Con los cálculos de molaridad, se puede determinar el número de moles que se debe agregar de cada sal, y con ello la masa **m** que se debe pesar para preparar 100 ml de solución se calculó con la ecuación:

$$m(\text{g}) = 2.5 \times 10^4 * M\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) * \left(\frac{X \text{ (g)}}{1 \text{ mol}} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}}\right) * 100 \text{ ml}$$

El valor 2.5×10^4 se introdujo para obtener masas medibles en una balanza analítica a fin de obtener concentraciones del mismo orden de magnitud entre 0.1 y 1 gramo, con el objetivo de tener una solución stock de la cual se puedan preparar diluciones. Se midieron masas muy cercanas a las calculadas, pero en algunos casos, se midieron masas muchos menores debido a que el valor calculado superaba el valor de la solubilidad. Las sales se agregaron a un balón aforado de 100 ml, completando a volumen. Se obtuvo una solución stock con 12 sales disueltas.

Debido a la formación de precipitados por formación de pares iónicos insolubles, la disolución original se sometió a procesos de filtración, completando de nuevo a volumen en un balón aforado de 100 ml, y es así como se obtuvo el efluente sintético.

En la tabla 1 se muestran las sales disueltas, junto con los respectivos valores calculados y medidos para la preparación del efluente sintético.

Tabla 1. Factores de dilución peso/volumen, con referencia a una muestra con carga de metales tóxicos tomada del río Bogotá.

Sustancia	Formula	Solubilidad (20 °C)	Concentración necesaria (M)	X (g)	gramos necesarios	gramos medidos
Nitrato de Cobre trihidrato	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	137,8	5,4E-07	241	0,32	0,3172
Acetato de Plomo trihidrato	$\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	60	4,8E-07	379,34	0,46	0,5370
Cloruro de Magnesio hexahidrato	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	116	6,7E-05	203,31	34,01	3,4061
Sulfato de Cobre pentahidrato	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	20,3	5,4E-07	249,68	0,33	0,3381
Cromato de Potasio	K_2CrO_4	63,7	1,9E-06	194	0,93	1,0636
Dicromato de potasio	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	13,0	1,9E-06	294,18	1,41	1,4619
Cloruro de Manganeso tetrahidrato	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	198,0	4,2E-07	197,91	0,21	0,2100
Sulfato de Manganeso monohidrato	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	39,3	4,2E-07	169,01	0,18	0,5670
Aluminio Cloruro hexahidrato	$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	45,8	1,2E-03	241,45	697,28	1,8020
Zinc Cloruro	ZnCl_2	432	3,8E-06	136,3	1,29	1,5061

En la imagen 1 se observa el efluente sintético obtenido a partir de la disolución de las sales (Tabla1)

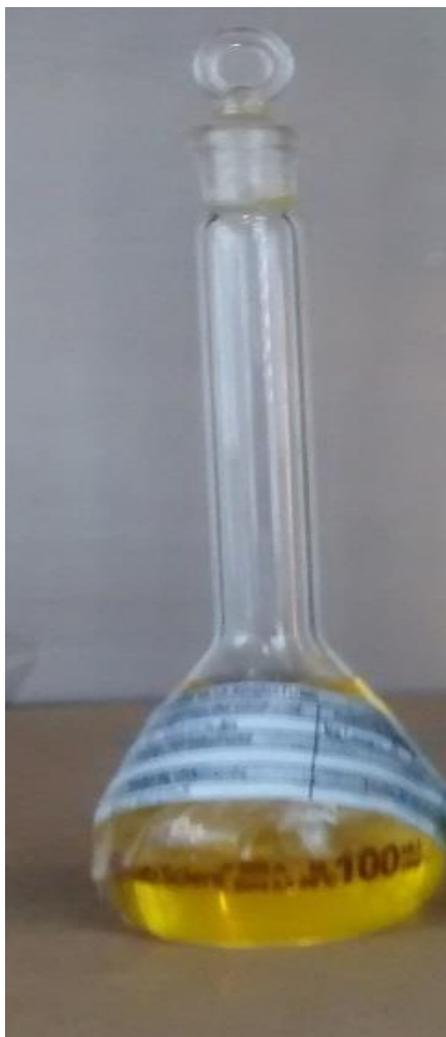


Imagen 1: Efluente sintético con carga de metales pesados, atreves de la disolución de las sales presentadas en la tabla 1.

10.1.2. CULTIVO DEL MICROORGANISMO:

Se prepararon dos medios de cultivo Sabouraud Dextrose Broth (caldo) de 100 ml, marca BD Difco™, en cada uno se inocularon 0.2 gramos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* de tipo comercial proveniente de una tienda local (Infante, et al., 2013). Estos se incubaron a 33°C durante 5 días. Estas condiciones



Imagen 2: Cepa de *Saccharomyces cerevisiae* proveniente de una tienda local



Imagen 3: Medios de cultivo Sabouraud Dextrose Broth

10.1.3. EXPERIMENTO DE REMOCIÓN:

Para llevar a cabo la remoción se prepararon dos diluciones del efluente sintético, una 10-100 ml tomando 10 ml del efluente sintético completando volumen a 100 ml y la otra 1-100 ml tomando 1 ml del efluente sintético y completando volumen a 100 ml, ambas muestras diluidas con agua destilada; esto con el objetivo de analizar el proceso de remoción con dos diferentes concentraciones de metales (Dimas, G. 2011).

Seguidamente se prepararon dos muestras de 200 ml, cada una con 100 ml de cada dilución del efluente sintético y 100 ml de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Ambas muestras se agitaron en condiciones aerobias a 130 rpm durante 23 horas y a temperatura ambiente.



Imagen 4: Diluciones muestra 1 y 2



Imagen 5: Muestras en agitación a 130 rpm

10.1.4. CUANTIFICACIÓN DE METALES TÓXICOS

Las concentraciones de metales presentes en el efluente sintético y en las muestras provenientes del experimento de remoción fueron analizadas mediante espectroscopia de absorción atómica. Para esto las dos muestras fueron filtradas por bomba de vacío utilizando un filtro de 0.22 micras con el objetivo de separar la biomasa del efluente.

10.2. ETAPA 2.

10.2.1. CULTIVO DEL MICROORGANISMO:

Se prepararon cuatro medios de cultivo Sabouraud Dextrose Broth marca BD Difco™, de 75 ml, en cada uno se inocularon 0.2 gramos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* de tipo comercial proveniente de una tienda local (Infante, et al., 2013).

Seguidamente se toma un vial que contiene 1 gramo de antibiótico cefradina (amplio espectro), el cual se reconstituye con 10 mL de agua destilada y posteriormente se lleva a un volumen de 100 ml. De este último se toman 0.8 ml y se adicionan a cada medio de cultivo para garantizar que las muestras no se contaminen por bacterias. Estos medios se incubaron a 37°C y a 50 rpm durante 48 horas (Fogarty, 1998).



Imagen 6: Medios de cultivo (etapa 2)



Imagen 7: Antibiótico para el cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*

10.2.2. EXPERIMENTO DE REMOCIÓN:

Con el efluente sintético resultante de la ETAPA 1, se adicionan cuatro volúmenes diferentes del efluente sintético a cada medio de cultivo de 75 ml. Se adicionaron 2.5, 5, 7.5, y 10 mL. Es así como se obtienen 4 muestras con concentraciones diferentes de metales tóxicos (Dimas, G. 2011).

Las cuatro muestras se agitaron en condiciones aerobias a 50 rpm, a una temperatura de 37°C por 72 horas.



Imagen 8: Muestras con biomasa de levadura activa



Imagen 9: Adición del efluente sintético a las muestras



Imagen 10: Muestras en agitación

10.2.3 CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL DE LA ESTRUCTURA DE LA LEVADURA

La caracterización y análisis estructural de la superficie de la levadura resultante del experimento de biosorción fue realizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

Después del proceso de biosorción, las cuatro muestras fueron filtradas por medio de una bomba de vacío utilizando un filtro de 0.22 micra. Se obtuvieron 4 filtros con biomasa húmeda, que fueron secados en un horno de convección a 30 °C durante 12 horas.



Imagen 11: Filtros con biomasa húmeda



Imagen 12: Filtros con biomasa seca

11. RESULTADOS

11.1. RESULTADOS ETAPA 1

RESULTADOS DE LABORATORIO. UNIECCI, SEDE P (5to-PISO)

La caracterización química de las muestras del efluente sintético se realizaron a partir de Métodos analíticos, con el objetivo de cuantificar y analizar el proceso de remoción a partir de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*.

Una vez preparado el efluente sintético, se tomó una dilución 1-100 ml, tomando 1 ml del efluente sintético y completando volumen a 100 ml con agua destilada para ser valorada por espectroscopia de absorción atómica (E.A.A), obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 2. Concentración de metales tóxicos presentes en el efluente sintético valorada a partir de una dilución de 1 – 100 ml.

PARÁMETROS	MÉTODO	Efluente (mg/L)
COBRE	SM 3111 B	0,2
ZINC	SM 3111 B	1,76
PLOMO	SM 3111 B	< 0,1
MAGNESIO	SM 3111 B	0,85
CROMO	SM 3111 B	2,21
MANGANESO	SM 3111 B	0,31
ALUMINIO	SM 3111 D	1,36

11.1.1. MUESTRA NUMERO 1: DILUCIÓN DEL EFLUENTE 10 ml - 100 ml

La concentración de metales tóxicos presentes en la muestra se da en la tabla 1.

Tabla 3. Concentración de metales tóxicos en la muestra 1 (10 ml - 100 ml).

Parámetros	Unidades	Técnica Analítica	Método	Con. Inicial	Con. Final	Con. Removida	% Remoción	Resultados
COBRE	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	1,000	1,579	-0,579	-57,9	Aumentó 57,90%
ZINC	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	8,800	4,244	4,556	51,8	Disminuyó 51,80%
PLOMO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,500	0,010	0,490	98,0	Disminuyó 98%
MAGNESIO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	4,250	4,577	-0,327	-7,7	Aumentó 7,70%
CROMO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	11,050	7,391	3,659	33,1	Disminuyó 33,10%
MANGANESO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	1,550	2,281	-0,731	-47,2	Aumentó 47,20%
ALUMINIO	mg/L	E.A.A	SM 3111 D	6,800	2,082	4,718	69,4	Disminuyó 69,40%

Grafico 1. Disminución porcentual de la concentración de Plomo, Aluminio, Zinc y Cromo presentes en la muestra 1 (10 ml - 100 ml).

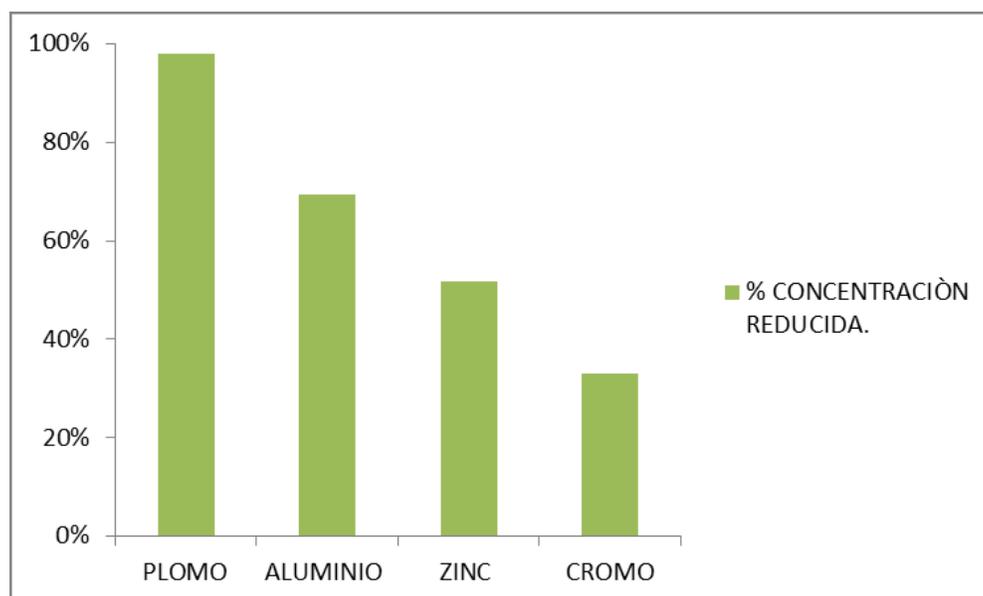
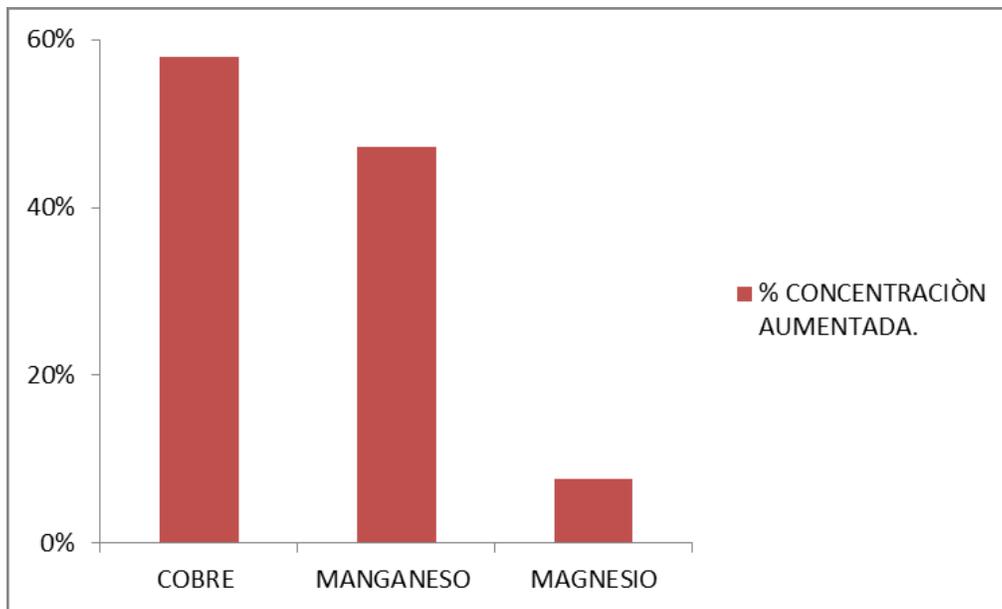


Grafico 2. Aumento en la concentración de Cobre, Manganeso y Magnesio presentes en la muestra 1 (10 ml - 100 ml).



11.1.2. MUESTRA NUMERO 2: DISOLUCIÓN DEL EFLUENTE 1 ml - 100 ml

Tabla 2. Concentración de metales tóxicos en la muestra 2 (1 ml – 100 ml).

Parámetros	Unidades	Técnica Analítica	Método	Con. Inicial	Con. Final	Con. Removida	% Remoción	Resultados
COBRE	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,1	0,073	0,027	27,0	Disminuyo 27%
ZINC	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,88	0,8975	-0,0175	-2,0	Aumento 2%
PLOMO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,05	0,0117	0,0383	76,6	Disminuyo 76,60%
MAGNESIO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,425	0,7597	-0,3347	-78,8	Aumento 78,80%
CROMO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	1,105	1,29	-0,185	-16,7	Aumento 16,70%
MANGANESO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,155	0,1813	-0,0263	-17,0	Aumento 17%
ALUMINIO	mg/L	E.A.A	SM 3111 D	0,68	0,49	0,19	27,9	Disminuyo 27,90%

Grafico 3. Disminución en la concentración de Plomo, Aluminio y Cobre presentes en la muestra 2 (1 ml – 100 ml).

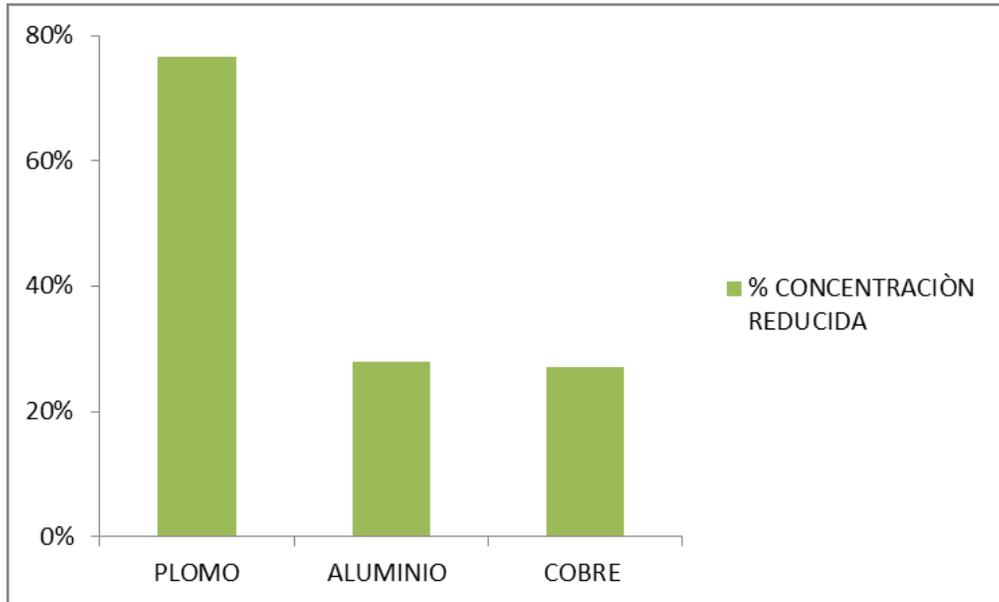
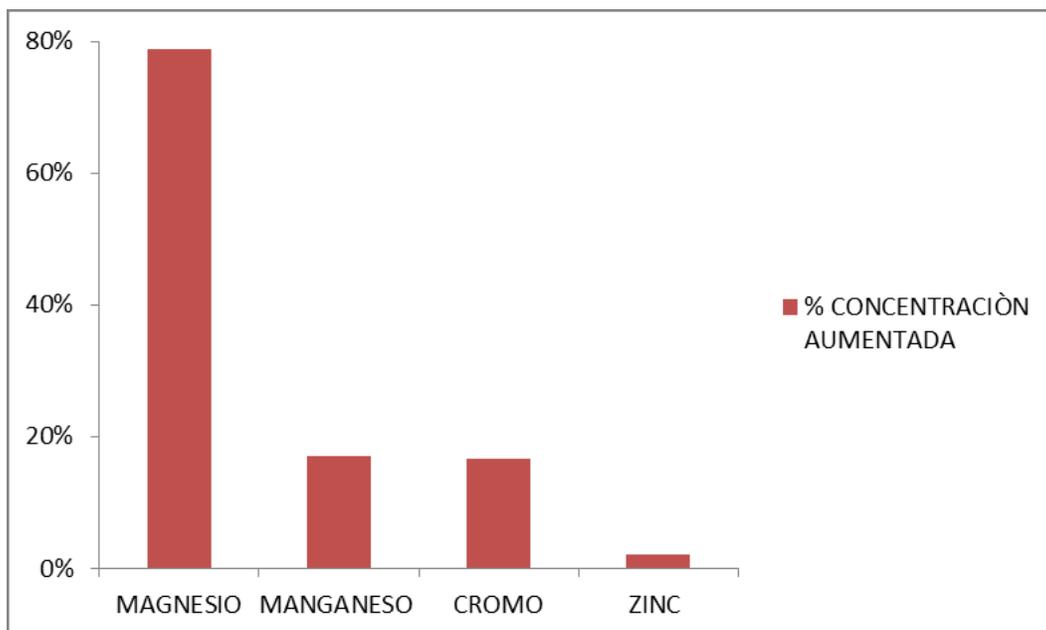


Grafico 4. Aumento en la concentración de Magnesio, Manganeso, Cromo y Zinc presentes en la muestra 2 (1 ml – 100 ml).



11.2. RESULTADOS ETAPA 2

11.2.1. CRECIMIENTO LEVADURA

Del cultivo de la levadura se obtuvo un crecimiento de aproximadamente de 1 gramo húmedo de levadura en cada muestra.



Imagen 13: crecimiento de la levadura después de 48 horas de incubación

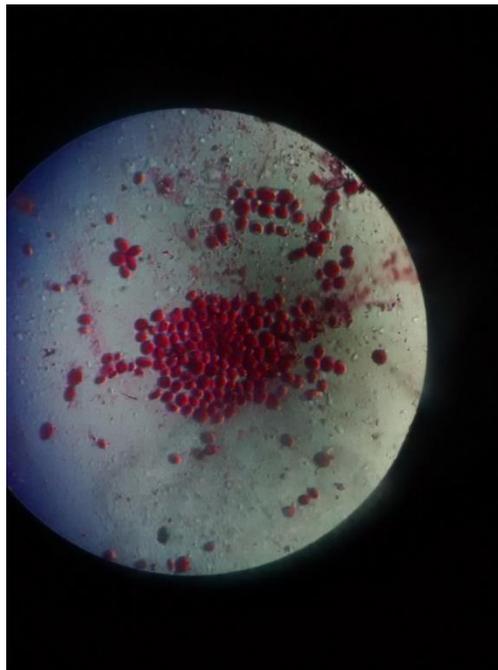


Imagen 14: Imagen microscópica de la levadura mediante la tinción de fucsina

11.2.2. CARACTERIZACION ESTRUCTURAL DE LA LEVADURA

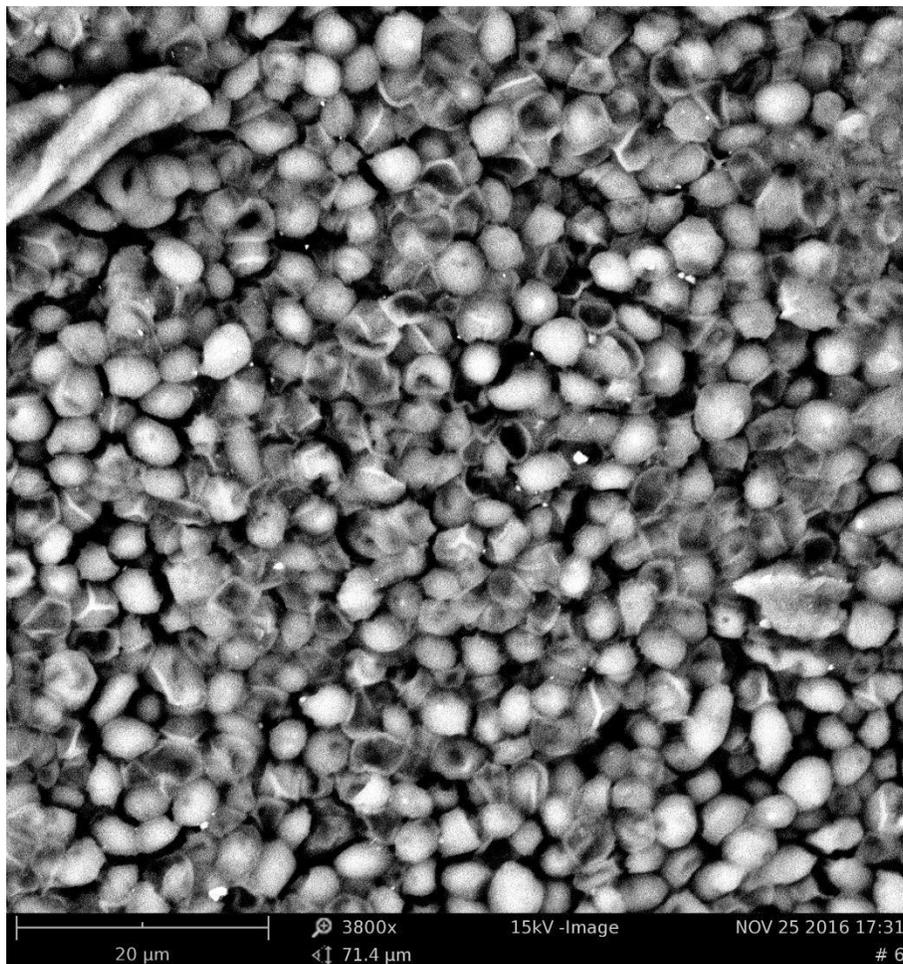
La caracterización estructural de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* resultante del proceso de biorremediación, se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

RESULTADOS DE LABORATORIO. UNIECCI, SEDE P (5to-PISO)

Se escogieron dos muestras para ser analizadas la muestra 1 con la menor concentración de efluente con 2.5 ml y la de mayor concentración de efluente con 10 ml.

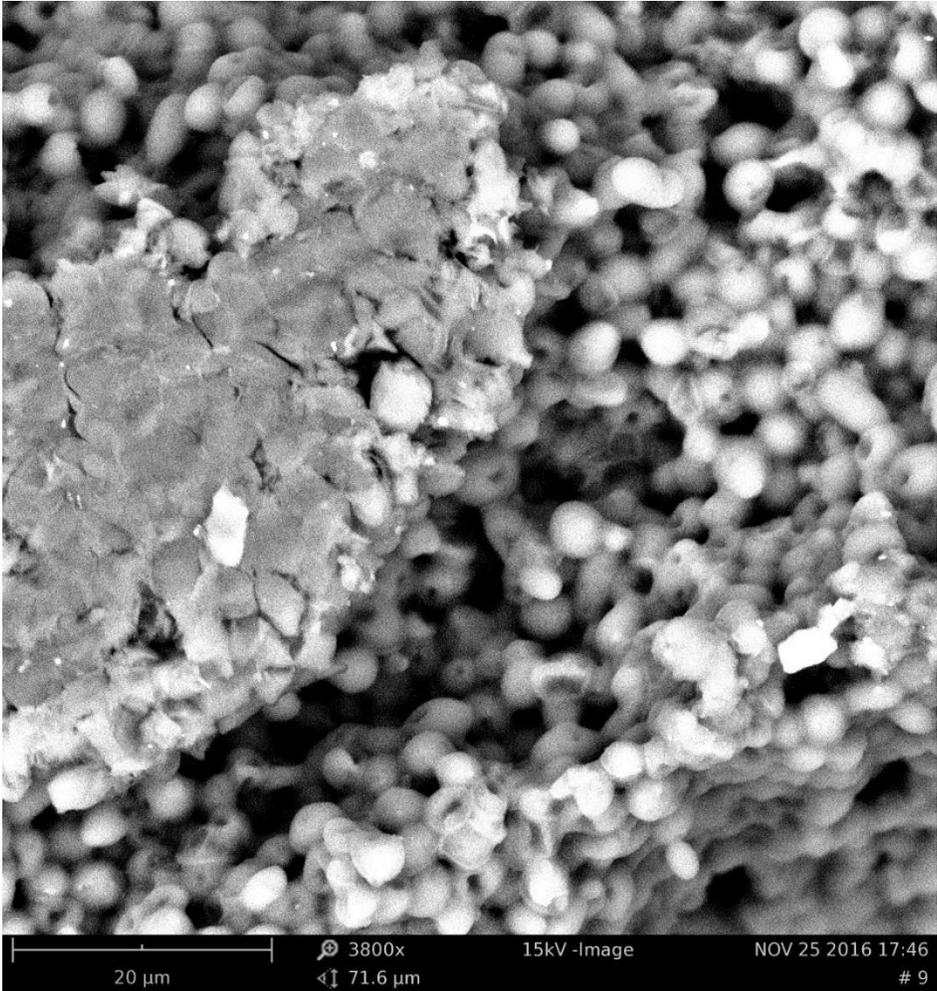
Muestra 1: Adición de 2.5 ml de efluente sintético.

Figura 1: Micrografía SEM de la levadura después del proceso de remoción de metales a 3800 aumentos



Muestra 4: Adición de 10 ml de efluente sintético.

Figura 2: Micrografía SEM de la levadura después del proceso de remoción de metales a 3800 aumentos



12. DISCUSIÓN RESULTADOS

12.1. ETAPA 1

Los resultados obtenidos permiten ver la afinidad que presenta *Saccharomyces cerevisiae* hacia ciertos metales, siendo más afín por el plomo, seguido del aluminio, los cuales disminuyeron su concentración en las muestras 1 y 2; por otra parte, los metales, manganeso y magnesio aumentaron su concentración en la muestra 1 y 2. Por último los metales cromo, cobre y zinc disminuyeron y aumentaron su concentración en las muestras 1 y 2.

Lo anterior debido a procesos bioquímicos de absorción y adsorción identificando propiedades de la superficie específicas del organismo (biosorbente), adaptabilidad a condiciones de estrés y los parámetros físicos químicos de la solución, tales como pH, Temperatura, concentración inicial de iones y la concentración de biomasa (Norris & Kelly, 1977).

No se puede decir con seguridad porque aumento la concentración de magnesio, manganeso, cobre cromo y zinc, lo que se puede decir es que la presencia de diferentes iones en una solución hacen que compitan entre ellos por la unión a un sitio activo en la biomasa causando interferencia en la captación de otros metales. (Romera, et al., 2008)

En esta fase no se tomó en cuenta el factor de pH, lo que podría influir ampliamente en los resultados presentados, este parámetro puede ser un factor limitante en el proceso de remoción por parte de la biomasa de *S. cerevisiae*, por ende ese necesario entender cómo afecta este parámetro.

12.2. ETAPA 2

En el análisis de microscopia electrónica de barrido (SEM) no se detectaron iones tóxicos en la superficie de la membrana de las levaduras. Esto indica que el proceso de biosorción es realizado por medio de la internalización de los iones, en donde no se presenta adsorción en la superficie de la membrana celular. No puede decirse nada respecto a las características superficiales de la levadura cultivada, debido a la aglomeración que presenta después de los procesos de filtración y secado de la biomasa, como puede verse en las figuras 1 y 2.

13. CONCLUSIONES

- ✚ La capacidad de la biomasa de *S. cerevisiae* para retener plomo, hacen de este microorganismo una alternativa para su uso como material biosorbente para la retención de plomo en efluentes contaminados esto debido a su composición elemental y metabolismo.
- ✚ Una vez llevados a cabo los bioprocesos de remoción de metales (ETAPA 1) se observó que el mayor porcentaje de remoción fue de Plomo (98%) y (76.6%) en la muestra 1 y 2 respectivamente. En los resultados del análisis SEM de la ETAPA 2 no se detectaron iones tóxicos en la superficie de la membrana de las levaduras.
- ✚ La aplicación de esta tecnología para la remoción del Plomo y otros metales tóxicos en solución, para la purificación de aguas residuales presenta un gran potencial, pues las biomasas son naturales, se pueden obtener en grandes cantidades, son económicas, y pueden remover selectivamente diferentes iones metálicos de soluciones acuosas.
- ✚ El proceso de remoción se mantuvo a una temperatura constante y no se tomó en cuenta el factor de pH, por lo cual no se pudo identificar como afecta u optimiza el proceso de biosorción, la variación de estos parámetros.
- ✚ Los resultados de las dos etapas se realizaron en diferentes condiciones de laboratorio lo que podría influir ampliamente en los resultados presentados.
- ✚ La mayor concentración removida de metales tóxicos se presenta en la muestra menos diluida y con mayor concentración de metales tóxicos.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. *Agencia de Noticias UN. (19 de Septiembre de 2016). Levaduras que comen gasolina descontaminarían ecosistemas. Bogotá D.C., Colombia.*
2. *Bermudez, G. M. a, Jasan, R., Plá, R., & Pignata, M. L. (2011). Heavy metal and trace element concentrations in wheat grains: assessment of potential non-carcinogenic health hazard through their consumption. Journal of hazardous materials, 193, 264-71.*
3. *Butter TJ, Evison LM, Hancock IC, Holland FS, Matis KA (1996). Removal and recovery of heavy metals from dilute aqueous streams by biosorption and electrolysis. Med. Fac. Landbouww. Gent. Gent. 61(4b): 1863-1870.*
4. *Chen, C. Wang, J. (2007). Characteristics of Environmental Technology, INET, Tsinghua University, Beijing 100084, China. BIOMEDICAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCE 20, 478-482.*
5. *Chojnacka K. (2009). Biosorption and bioaccumulation in practice. Nova Science Publishers, Inc. New York.*
6. *Chojnacka K. (2010). Bioaccumulation of Cr(III) ions by Blue-Green alga Spirulina sp. Part I. A Comparison with Biosorption. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 2 (4): 218-223.*
7. *C. Tejada-Tovar, A. Villabona-Ortiz y L. Garcés-Jaraba. (2015). “Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico”, Tecno Lógicas, vol. 18, no. 34, pp. 109-123.*
8. *Cooksey DA (1993). Copper uptake and resistance in bacteria. Mol. Microbiol. 7:1-5.*
9. *Crist, R. H.; Martin, J. R.; Guptill, P. W.; Eslinger, J. M.; Crist, D. R. (1990). Interactions of metals and protons with algae. 2. Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons. Environ. Sci. Technol., 24, 337-342.*
10. *Di Paola, Maria M., Vicièn, Carmen. (2010). Biorremediación: vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación. Universidad de Buenos Aires.*
11. *Dimas R, Gloria. (2011). Estudio de la interacción de metales pesados (pb, cd, zn y cr) en solución, en el proceso de biosorción por tres tipos de biomasa. Universidad autónoma de nuevo león*
12. *Duffus J.H., “Heavy metals” (2002) – a meaningless term? Pure and Applied Chemistry, 74(5), 793–807.*

13. Fogarty, R. (1998). *Toxicity and biosorption of metals by Saccharomyces cerevisiae, Amorphotheca resiniae and Azolla filiculoides*. School of Biological Science. Dublin City University. Ireland.
14. Gadd, G.M., 2000. *Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization*. *Current Opinion in Biotechnology* 11: 271-279.
15. Gadd, G.M. y A.J. Griffiths. (1978). *Microorganisms and heavy metal toxicity*. *Microbial Ecol.*: 4, 303-317.
16. Gohari M, Hosseini S, Sharifnia S, Khatami M (2013). *Enhancement of metal ion adsorption capacity of Saccharomyces cerevisiae's cells by using disruption method*. *J Taiwan Inst Chem E* ; 44:637-645.
17. Glazer, A.N. y Nikaido, H. (1995). *Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology*. W. H. Freeman and Company, New York.
18. Glazer, A.N. y Nikaido, H. (2007). *Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology. Second Edition* W. H. Freeman and Company, United States of America by Cambridge University Press, New York.
19. Hodgson E., (2004) *A textbook of modern toxicology, Third Edition*, John Wiley and Sons, New York.
20. Huang, C.P., Morehart, A. (1990). *The removal of Cu (II) from dilute aqueous solutions by Saccharomyces cerevisiae*. *Wat Res* 4: 433-39.
21. Infante, J; De Arco, R; Angulo, M. (2013). *Removal of lead, mercury and nickel using the yeast Saccharomyces cerevisiae*. *Rev.MVZ Córdoba* 19(2):4141-4149, 2014. ISSN: 0122-0268
22. Lovley, D.R., (ed.). (2000). *Environmental Microbe-Metal Interactions*, , American Society for Microbiology, Washington D.C.
23. Machado MD, Janssens S, Soares HMVM, Soares EV (2009) *Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of Saccharomyces cerevisiae: advantages of using dead biomass*. *J Appl Microbiol* 106:1792-1804.
24. Mason, C.F. (1996) *Biology of Freshwater Pollution, 3rd edition*, Longman.
25. Mulas F. Rafael. (2001). *Fundamentos de Biorremediación. Tratamiento y Recuperación de Suelos Contaminados*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
26. Muñoz T. M. C.; et al. (2007). *Remoción de metales pesados en aguas residuales utilizando una macrófita acuática (eleocharis acicularis) muerta*. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Querétaro.

27. Norris PR, Kelly DP (1977). *Accumulation of cadmium and cobalt by Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.* 99: 317-324.
28. Özer A, Özer D (2003). *Comparative study of the biosorption of Pb (II), Ni (II) and Cr (VI) ions onto Saccharomyces cerevisiae: Determination of biosorption heats*. *J. Hazard. Mater.* 100:219-229.
29. Park D., Y.-S. Y., and Jong Moon Park³ (2010). *"The Past, Present, and Future Trends of Biosorption."* *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 15: 86-102.
30. Porras C., Álvaro. (2010). *DESCRIPCIÓN DE LA NOCIVIDAD DEL CROMO PROVENIENTE DE LA INDUSTRIA CURTIEMBRE Y DE LAS POSIBLES FORMAS DE REMOVERLO*. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, vol. 9, No.17, pp. 41-50 – ISSN 1692-3324 - julio-diciembre de 2010/228p. Medellín, Colombia.
31. Quintero, D.; Martínez, J. (2010). *Prediagnóstico toxicológico de la Cuenca alta del río Bogotá*. Universidad de la Salle. Bogotá D.C.
32. Romera, E., González, F., Ballester, a, Blázquez, M. L., & Muñoz, J. a. (2008). *Biosorption of heavy metals by Fucus spiralis*. *Bioresource technology*, 99(11), 4684-93
33. R. C. Oliveira, M. C. Palmieri and O. Garcia Jr., (2011). *"Biosorption of Metals: State of the art, general features, and potential applications for environmental and technological processes"*, In: *"Progress in biomass and bioenergy production"*, S.S. Shankat (Ed.), InTech Publisher, p. 151-176.
34. R.M. Hlihor, (2011). *"Sorption processes applied for the removal of heavy metals from contaminated environments"*, PhD thesis, Gheorghe Asachi Technical University of Iași, Iași, Roumania.
35. Santos A. (1959). *El fenómeno de la Quelación en la bioquímica de los oligoelementos*. *Discurso de apertura de curso de la Real Academia de Farmacia de Madrid*. España.
36. Sag, Y., Kutsal, T (1996). *The selective biosorption of chromium (VI) and copper (II) ions from binary metal mixtures by R. arrhizus*. *Process Biochem* 31: 561-72.
37. Saikaew W.; Kaewsarn P.; Saikaew W. (2009). *Pomelo Peel: Agricultural waste for biosorption of Cadmium ions from aqueous solutions*. *Engineering and Technology*. 56: 287-291.
38. Soares EV, Soares H (2012) *Bioremediation of industrial effluents containing heavy metals using brewing cells of Saccharomyces cerevisiae as a green technology: a review*. *Environ Sci Pollut R* 19:1066–1083.
39. Thomann R.V (1982). *Physico-Chemical and Ecological Modeling of the Fate of Toxic Substances in Natural Water Systems*. Prepared for the Conference on Modelling the Fate and Effect of Toxic Substances in the Environment. Copen hague (Denmark).

40. Viraraghavan T, Srinivasan A (2011). *Fungal biosorption and biosorbents*. In Kotrba P., Mackova M., Macek T. (Eds.). *Microbial biosorption of metals*. Springer, Netherlands-Dordrecht, pp.143-158.
41. Volesky B., Holan Z.R (1995). *Biosorption of heavy metals*. *Biotechnol Progr* 11: 235-250.
42. Wang J, Chen C (2006). *Biosorption of heavy metals by Saccharomyces cerevisiae: A review*. *Biotechnology Adv.* 24:427-451.
43. Wilhelmi, B.S., Duncan, J.R (1995). *Metal recovery from Saccharomyces cerevisiae columns*. *Biotech Lett* 17: 1007-1012.

15. ANEXOS

Anexo 1. Muestra referencia para efluente sintético con carga de metales tóxicos tomada del río Bogotá.



REPORTE DE RESULTADOS N° 35

Bogotá D.C., noviembre 6 de 2015

Orden N° 037

Datos del Cliente

Universidad ECCI

Manuela Córdoba, Profe Rafael Meza

Carrera 19 No. 49-20

3153056403

Identificación de la Muestras

Matriz: Agua Superficial

Número de Muestras: 1

Lugar de Muestreo: Calle 80 puente de guadua

Fecha de Muestreo: 2015/10/29

Fecha de Recepción de Muestra: 2015/10/30

Fecha de Análisis de Muestra: 2015/10/30 - 2015/11/05

PARÁMETROS	UNIDADES	TECNICA ANALITICA	MÉTODO	Río Bogotá Calle 80 Puente de guadua
NITRATOS	mg/L	Electrométrico	Nitratos SM 4500-NO ₃ -D	343,33
CLORUROS	mg/L	Electrométrico	SM 4500 Cl- D	319,4
SODIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	35,475
POTASIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	20,300
MANGANESO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	<0,023
CADMIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	<0,018
PLOMO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	<0,1
MAGNESIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	1,626
HIERRO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	0,846
COBRE	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	<0,034
ZINC	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	0,148
CALCIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 D	48,783
ALUMINIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 D	31,167
SELENIO	mg/L	E.A.A	TopWave 07-09-SM 3111 B	<0,30

PBX: (57 1) 3 53 71 71 info@eccci.edu.co Cra 19 No. 49 -20 Bogotá D.C. - Colombia

www.eccci.edu.co



Universidad ECCI



@UniversidadECCI



Universidad ECCI

INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR VIGILADA POR EL M.E.N. Resolución No 13370 de 15 de Agosto de 2014 otorgada por el M.E.N. NIT. 860.401.496-0



**Anexo 2. Concentraciones obtenidas en el efluente sintético evaluados en una dilución
1 – 100 ml**



REPORTE DE RESULTADOS N° 04

Bogotá D.C., febrero 17 de 2015

Orden N° 004-16

Datos del Cliente

Universidad ECCI

Helman Alirio Amaya Espinosa

Identificación de la Muestras

Matriz: Efluente preparado en el laboratorio

Número de Muestras: 1

Lugar de Muestreo: N/A

Fecha de Muestreo: 2016/02/01

Fecha de Recepción de Muestra: 2016/02/01

Fecha de Análisis de Muestra: 2016/02/01- 2016/02/17

PARÁMETROS	UNIDADES	TECNICA ANALITICA	MÉTODO	Muestra EFLUENTES
TURBIEDAD	FNU o NTU	Electrométrico	SM 2130-A y 2130-B	6,87
COBRE	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,20
ZINC	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	1,76
PLOMO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	< 0,1
MAGNESIO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,85
NIQUEL	mg/L	E.A.A	-SM 3111 B	1,06
MANGANESO	mg/L	E.A.A	SM 3111 B	0,31
ALUMINIO	mg/L	E.A.A	SM 3113 B	1,36
CROMO	mg/L	E.A.A	SM 3113 D	2,21

Observaciones:

E.A.A: Espectrofotometría de absorción Atómica E.A.A. Método de Análisis Utilizado: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 22ND, Ed. New York. El parámetro mercurio no se realizó debido a que el equipo está en mantenimiento.

Autorizó

MSc. Walter Hernando Pérez

Docente - Investigación

Jefe de Laboratorio

Universidad ECCI

PBX: (57 1) 3 53 71 71 info@ecc.edu.co Cra 19 No. 49 -20 Bogotá D.C. - Colombia

www.ecci.edu.co



Universidad ECCI



@UniversidadECCI



Universidad ECCI

INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR VIGILADA POR EL M.E.N. Resolución No. 13370 de 19 de Agosto de 2014 Otorgada por el M.E.N. NIT. 360.401.496-0

