

SALMUERAS DE ACEITUNAS, ESTUDIO DE SU BIODEGRADACIÓN CON FLORA NATIVA HALOTOLERANTE

Mariela Beatriz Maldonado^{1,2}, Felipe Valenzuela⁴, Juan Ignacio González Pacheco¹ Oscar Daniel Galvez^{1,3}, Paula Giorlando¹, Simón Contreras¹, Leonel Lisanti ¹.

¹ Laboratorio de Alimentos y Tratamiento de Efluentes (LATE), Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional Mendoza, Universidad Tecnológica Nacional, C. Rodríguez 273, Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina /

² CCT Mendoza, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina

marielabeatriz1972@yahoo.com.ar

³ Departamento de Materias Básicas, Facultad Regional de Mendoza, Universidad Tecnológica Nacional, C. Rodríguez 273, Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina

⁴ Facultad de ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Almirante Brown 500, Lujan de Cuyo Mendoza, Argentina

Resumen: Se presenta un análisis de la degradación de salmueras, efluente generado en la elaboración de aceitunas, mediante el empleo de microorganismos nativos halotolerantes o halófilos. Se ha comparado la evolución de parámetros físicos químicos claves en un medio testigo con salmuera de aceituna esterilizado y en un medio tratamiento consistente en la salmuera de aceituna bioestimulada con sales para facilitar el crecimiento de la flora existente en el medio. Los resultados han mostrado diferencias entre ambos tratamientos. Se han evaluado el pH, Conductividad Eléctrica (CE), Demanda Química de Oxígeno (DQO), concentración de azúcares reductores y concentración de polifenoles. Los resultados del tratamiento mostraron tendencia a la degradación, y mientras que en el medio testigo los resultados tendieron a la estabilidad. Se pueden apreciar diferencias entre ambos medios, por ejemplo, la reducción de la conductividad eléctrica en el medio testigo fue del 0,1% y en el tratamiento 21,70%.

Palabras claves: salmuera, aceitunas, microorganismos halotolerantes, bioestimulación.

INTRODUCCIÓN

El sector olivícola en Argentina ha ido creciendo y desarrollándose en forma constante durante los últimos años. Según el Censo Nacional Agropecuario 2002, Argentina posee 49.010,8 ha destinadas a la producción de aceite de oliva (67%), y 23.761,2 ha destinadas a la producción de conservas (33%).

El Consejo Oleícola Internacional en su campaña de aceitunas de mesa, señaló que la producción mundial fue de 3.284 mil toneladas, donde Argentina se encontró en el sexto puesto con una producción de 106 mil toneladas anuales. No obstante, para la campaña 2019/2020 se proyectó, respecto a la campaña anterior, un aumento en la producción mundial del 14% y para Argentina del 25 %. Según la Secretaría de Agroindustrias, (2017) Mendoza es una de las cuatro provincias con mayor producción (23% de la superficie implantada con olivos del país) junto con La Rioja (28,9%), San Juan (21,1%) y Catamarca (17,6%) aproximadamente (Castro, 2018, Tagarelli, 2023).

El proceso de producción industrial implica, el consumo de grandes volúmenes de agua desde el desamarizado hasta el envasado y problemas importantes en el vertido de sus efluentes. Se estima que, en base a la producción local de aceitunas, su modo de elaboración y la eficiencia de las industrias en el uso del agua, la Industria olivícola mendocina consumiría aproximadamente 207 mil m³ de agua por año, de los cuales 180 mil m³ son volcados como efluentes (Valsecchi Punzi, 2020).

Calcagno et al. (2000), aseguran que en Argentina la sostenibilidad de las fuentes de agua, tanto superficiales como subterráneas, se encuentra gravemente amenazadas debido a las actividades antrópicas. A su vez, la Provincia de Mendoza depende casi en su totalidad de la fusión de nieves y glaciares como provisión de este recurso, ya que presenta un marcado déficit hídrico consecuencia de los bajos volúmenes de precipitación anual. La contaminación del agua también disminuye su disponibilidad para los diferentes usos, debido a que puede verse afectada por la alteración en sus propiedades.

Los vertidos se caracterizan por su alto contenido en sodio (desamarizado y lavados) y cloruro de sodio. El grado de contaminación de cada vertido varía de acuerdo con diversos factores como la variedad

de aceituna, la concentración de sales empleada, la riqueza de la aceituna, etc., de manera que cada vertido puede ser distinto en la composición de los sólidos disueltos, sólidos en suspensión y demás elementos contaminantes (Kopsidas, 1992). Estos efluentes afectan el eco-agro-ambiente, los cauces, napas freáticas y suelos produciendo un efecto perjudicial sobre la flora y fauna asociada a los ecosistemas en los que se halla inmersa.

Por su parte, los microorganismos halófilos han alcanzado recientemente un gran interés en el campo de la degradación de los residuos tóxicos y la posible biorremediación de efluentes (DasSarma and DasSarma, 2017). Estos constituyen una importante alternativa a los tratamientos microbiológicos convencionales en aquellos casos en los que éstos sean ineficaces, como son los procesos industriales que generan aguas residuales hipersalinas (Oren et al., 1993). Específicamente la industria aceitunera tiene efluentes de diversos tipos, desde los más alcalinos producto del desamarizado con lejía a los más ácidos provenientes de las salmueras o aguas de maquinado. Ha sido aplicada en algunos casos específicos como las aguas de maquinado de aceitunas con resultados muy promisarios para la industria (Maldonado et al., 2022) siendo esta una buena alternativa para disminuir la carga orgánica, DQO, DBO₅ y la conductividad entre otras. Su uso como posible biorremediador de efluentes de alta conductividad serían posibles dadas las estrategias propias de estos microorganismos de enfrentar estrés osmótico.

Las aguas residuales del procesado de las aceitunas poseen alto contenido de materia orgánica poco degradable, elevado porcentaje de sólidos en suspensión y grasas, elevada DQO, pH ácido o alcalino extremo, elevada salinidad y conductividad, fuerte coloración por el contenido de polifenoles que forman parte de la composición de los frutos. Todo esto implica la necesidad de hallar metodologías que modifiquen o reduzcan alguno de estos parámetros.

Por todo lo nombrado, entendiendo que el potencial biotecnológico de microorganismos nativos en algunos efluentes de la industria aceitunera ha sido probado en aguas de maquinado, pero no en otros efluentes del proceso, y que no se han encontrado estudios del potencial biorremediador de los microorganismos nativos halotolerantes u halófilos en este tipo de efluentes, es que se propone alcanzar el

conocimiento de este, mediante su estudio en este trabajo a fin de conocerlo, y poder cuantificar su eficacia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la caracterización del efluente utilizado en el ensayo se han realizado los siguientes análisis según American Public Health Association (APHA) (1992): pH, temperatura, conductividad eléctrica, DQO, DBO₅, nitratos amoniacales, nitrógeno, fosfatos, sólidos solubles totales, sólidos suspendidos fijos, sólidos solubles volátiles, cloruros, sulfatos, sodio, potasio, carbonatos y polifenoles totales.

El ensayo se realizó a nivel escala piloto donde se colocó el efluente de salmuera en seis erlenmeyers divididos en dos grupos: Testigo y Tratamiento T1, en agitación constante durante el tiempo que duró el ensayo (14 días). A la muestra Testigo se la esterilizó, mientras que a la muestra Tratamiento T1 no se la esterilizó. Ambos tratamientos se los bioestimuló con sales para facilitar el crecimiento de la flora existente en el medio. La bioestimulación consistió en el agregado de una mezcla de sales (PO₄H₂K₂, NH₄Cl Citrato de sodio, KCl, MgSO₄ y de triple 15®) y 10g/L Glucosa anhidra como fuente de carbono.

Cada erlenmeyer se colocó en un agitador Dragon Lab a 220 rpm para la incorporación de aire durante el experimento generando condiciones de aerobiosis a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) para lograr la estabilidad mediante un sistema de aire acondicionado.

Durante los 14 días que duró el ensayo se midió diariamente el pH y CE de cada erlenmeyer, también se tomaron muestras diarias para la posterior medición de concentración de azúcares reductores y concentración de polifenoles. Desde el día 0 del ensayo se tomaron muestras para medir la DQO del Testigo y del Tratamiento T1.

Se monitoreó la evolución de diferentes indicadores de contaminación a lo largo del tiempo para su posterior comparación con valores máximos tolerados según la Resolución N°778/96 de la Provincia de Mendoza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La contaminación del agua y los temas relacionados a ella se encuentran regulados por la Resolución N°778/96 de la Provincia de Mendoza (23/12/1996) y sus modificaciones (Resolución N°627/00), que establecen los parámetros que deben tener vertidos industriales y de aguas residuales para reutilización agrícola. Todos los establecimientos que viertan efluentes al dominio público hidráulico deben obtener la correspondiente autorización administrativa y deben contar con un sistema de tratamiento de efluentes adecuado para cumplir con los requisitos técnicos previstos en la legislación vigente. Si los establecimientos no cumplen con los requisitos necesarios para obtener dicho permiso, deberán suscribir un “Contrato de Gestión de Permisos de Descarga”, mediante el cual se les otorga un plazo para ajustar la calidad de sus efluentes y mejorar sus sistemas de tratamiento. En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para ambas muestras con los parámetros más importantes contemplados por la legislación local de aguas.

Inicialmente se observa que el valor de nitratos (NO_3^-), nitrógeno amoniacal (NH_4^+) y fosfatos (PO_4^{3-}) para ambas muestras dieron fuera de los valores máximos tolerados según normativa, aunque la muestra Tratamiento 1 presenta valores menores que la muestra Testigo, por lo que podría mostrar importancia en el tratamiento previo que se le hace a la muestra. Al aumentar las concentraciones en el agua de estos compuestos promueve el desarrollo, mantenimiento y proliferación de los productores primarios (fitoplancton, algas bentónicas y macrófitos), y que posteriormente con su muerte y descomposición, conduce a una marcada disminución de oxígeno disuelto donde la principal manifestación es la muerte masiva de animales acuáticos, fenómeno conocido como eutrofización.

La concentración del anión sulfato (SO_4^{2-}) fue mayor para la muestra Testigo que para la muestra Tratamiento 1, representando un problema evidente en el primer caso, pero no para el segundo ya que el máximo tolerado es de 600 mg/l.

Tabla 1*Características fisicoquímicas*

Variable	Muestra Testigo	Muestra Tratamiento T1	Unidad de Medida	Valor Max. Tolerado Res. N° 778
pH	4,13	5,36	-	7
DBO ₅	27900	8060	mg/l	120
Nitratos	9,87	9,54	mg/l	6
Nitrógeno Amoniacal	23,07	21,34	mg/l	5
Fosfatos	19,88	7,07	mg/l	0,7
Sólidos				
Solubles	25.486	9.878,86	mg/l	-
Total				
Sólidos				
Suspendidos	157,5	61,05	mg/l	-
Fijos				
Sólidos				
Solubles	25.328	9.818	mg/l	-
Sodio	433.000	435200	mg/l	275
Potasio	472	117,5	mg/l	-
Dureza Total	4.182	3.225	mg/l	-
Sulfatos	1.013	417,576	mg/l	600
Cloruros	664.000	664.000,55	mg/l	500

Los valores obtenidos para el sodio (Na^+) son muy elevados con respecto a los valores tolerados por la norma, sin embargo, son valores esperables debido al tipo de efluente, altamente salino. En cuanto al potasio (K^+) no es un parámetro requerido dentro de la normativa. Es un macronutriente esencial para las plantas. Su principal función es el establecimiento del potencial osmótico y el mantenimiento de la electroneutralidad celular, donde actúa como catión principal. En exceso, puede actuar como antagonista del magnesio, nutriente muy importante en el metabolismo energético, y en las aguas de riego puede causar problemas en los cultivos.

La dureza del agua está determinada por el contenido de carbonatos (CO_3^{2-}), bicarbonatos (HCO_3^{-}), cloruros (Cl^-), sulfatos (SO_4^{2-}) y ocasionalmente nitratos de calcio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y magnesio $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, y es una característica indeseable porque puede producir incrustaciones en tuberías y calderas, y mayor consumo de jabones y detergentes. Para usos domésticos, por ejemplo, se recomiendan niveles inferiores a 500 mg/l (Drovandi, 2004). La muestra testigo posee una dureza total de 4.182 mg $\text{HCO}_3^{-}/\text{l}$ y la muestra Tratamiento T1 3.225 mg $\text{HCO}_3^{-}/\text{l}$ por lo cual es debidamente necesario reducir estos valores en ambos casos para cualquier tipo de reuso.

En la Tabla 2 se observa que la DQO en la muestra Testigo presentó inicialmente un valor de 815 mg O_2/l y luego de los 14 días se redujo a 800 mg O_2/l , con lo que la tasa de disminución fue del 1,84%. Este parámetro no disminuyó significativamente sin embargo para la muestra Tratamiento T1 la DQO presentó inicialmente un valor de 821 mg O_2/l y posteriormente se redujo a 315 mg O_2/l luego de los 14 días. Concluyendo con una tasa de disminución del 61,63 %, valor alto en comparación con la muestra Testigo, aunque por la Resolución 778, el valor de la DQO debe ser inferior a 250 mg O_2/l , pudiendo ser mayor en algunos desagües y drenajes, por tiempo limitado, siempre que no se causen problemas a terceros o a cuerpos receptores.

La DBO_5 registró una disminución del 71,11 % pasando de 27900 mg O_2/l inicialmente, a 8060 mg O_2/l . Este valor es mayor al indicado en la legislación de 120 mg O_2/l para uso público. No obstante, la normativa de hormigones no establece restricciones al respecto por lo que podría usarse para la elaboración de estos.

En este sentido, la DQO y la DBO₅ son medidas de la materia orgánica presente en el efluente. Por tanto, como describe Kemmer & McCallion (1989), al aumentar “el alimento” disponible en el agua residual, la actividad microbiana crece exponencialmente, por lo que las respiraciones hacen que disminuya el oxígeno disuelto en el agua. Los niveles de oxígeno pueden restablecerse si el aporte no es muy grande y no se produce con frecuencia, pero de lo contrario, pueden generar condiciones incompatibles con la vida de organismos superiores, y alteraciones en el ecosistema.

Tabla 2

Evolución de la demanda química de oxígeno

Muestra	DQO inicial (mg O ₂ / l)	DQO final (mg O ₂ / l)	% de disminución
Testigo	815	800	1,84 %
Trat. T1	821	315	61,63%

La Tabla 3 muestra la evolución de la conductividad eléctrica. Durante el ensayo, se observó una leve disminución de la conductividad promedio del 0,01 % para la muestra Testigo y una disminución del 21,7% para la muestra Tratamiento T1. No se conoce ni comprende el mecanismo por el cual se produjo la disminución de la conductividad eléctrica, aunque podría ser causa de cualquier microorganismo seleccionado y/o por su trabajo sinérgico.

Tabla 3

Evolución de la Conductividad eléctrica (CE)

Muestra	CE inicial (dS/cm)	CE final (dS/cm)	% de disminución
Testigo	12,02	12,01	0,1%
Trat T1	11,66	9,13	21,7%

Al finalizar el ensayo ambas muestras dieron un valor de conductividad eléctrica extremadamente alto, 1.201.000 µS para la muestra Testigo y 913.000 µS para la muestra Tratamiento T1, en comparación con la normativa, que es de 900 µS (máximo permitido) y de 1.800 µS (máximo tolerado). Dichos valores indican que el efluente posee grandes cantidades de sales disueltas. Las consecuencias que generan los vertidos industriales con grandes valores de conductividad eléctrica en cuerpos de agua están relacionadas con aumentos en la velocidad de corrosión del material del medio donde se transportan (si las demás condiciones: pH, temperatura y oxígeno disuelto lo favorecen), y aumentos en la solubilidad del CaCO₃ y otros materiales ligeramente solubles (Kemmer & McCallion, 1989).

Los cloruros también aportan a la conductividad, y en este caso se ha obtenido un valor de cloruros (Cl⁻) de 664.000,85mg /l para la muestra Testigo y 664.000,55 mg/l para la muestra Tratamiento T1, siendo el valor máximo tolerable de 500 mg/l. El valor elevado de este elemento posiblemente se deba a un fenómeno de difusión de Cl⁻ desde el interior de la aceituna, remanente del proceso de colocación en salmuera (NaCl). Si estas aguas son utilizadas para riego de cultivos existiría el riesgo de salinización de suelos, consecuentemente bajando el rendimiento de los cultivos (Drovandi, 2004).

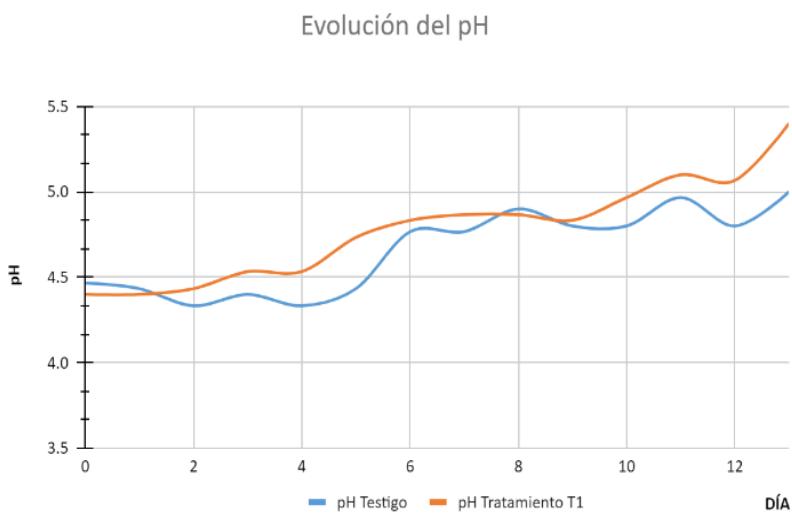
Los sólidos suspendidos totales (SST) corresponden a la fracción de sólidos totales que luego de ser secados a una temperatura de 103-105 °C, quedan retenidos sobre un filtro de 1,2 µm, que a su vez se dividen en fijos y volátiles. Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) son aquellos que se volatilizan e incineran al calcinar los SST a temperaturas de 500 ± 50 °C. A estas temperaturas la materia orgánica se oxida en forma de CO₂ y agua, que se volatilizan, y la fracción inorgánica queda como cenizas, por lo que el contenido de SSV se interpreta en términos de materia orgánica, aunque es tan sólo una aproximación, puesto que también se volatilizan ciertas sales minerales. Los sólidos suspendidos fijos (SSF) son el residuo que queda luego de la calcinación (Argandoña Zambrano & Macías García, 2013).

La normativa específica que cuando el valor de la DBO₅ es mayor a 100 mg/l directamente no se admite su presencia, tal es el caso de este efluente. Teniendo en cuenta los valores de la DBO₅ y la DQO obtenidos para ambas muestras son altos, es consistente encontrar valores de SSV (aproximación de la materia orgánica) también elevados. Por lo que

es importante su determinación y tratamiento ya que producen obstrucciones, embanques, turbidez, olores desagradables y taponamiento de suelos (Fagot et al., s.f.). Por último, en la Figura 1, se puede observar que la evolución que experimentó el pH para las muestras Testigo y Tratamiento T1. iniciaron con un pH que comprendía el rango de 4,3 - 4,4, y que comenzaron a tener cambios a partir del día 5. Finalmente, en el día 14 los valores se estabilizaron entre 5 a 5,4.

Figura 1

Evolución del pH desde el día 0 al día 14



Se logró aumentar en unos décimos los mismos, comprendiendo el nuevo rango el valor de neutralidad de pH=7. Esto es importante porque para la mayoría de las especies acuáticas el rango de pH favorable está comprendido entre valores de 6 a 7,2.

CONCLUSIONES

Se ha logrado llegar a valores aceptables según normativa con algunos parámetros fundamentales de los indicadores de contaminación de un efluente debido a la acción de microorganismos halófilos. La muestra Tratamiento T1 es la que presenta mejores resultados. Parámetros como DQO y DBO₅ disminuyeron aproximadamente un 70% y la conductividad un 21% en promedio. Sin embargo, no se llegó a valores satisfactorios para la muestra Testigo que fue esterilizada desde el inicio. Los microorganismos halófilos u halotolerantes son una buena alternativa de biorremediación para esta industria, ya que estos poseen mecanismos que les permite sobrevivir en medios salinos o extremófilos, pudiendo disminuir la carga orgánica (DQO y DBO₅, la conductividad entre otras). Los resultados de laboratorio son prometedores como un primer acercamiento a la biorremediación de este efluente complejo y contaminante para la industria local, ya que el agua resultante podría ser aplicada para el mezclado de morteros y hormigones especiales. La caracterización del efluente indicó que es necesario un correcto tratamiento de estos, ya que de ser liberado al medio sin las debidas correcciones produciría grandes alteraciones en el ecosistema.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo desean agradecer a UTN FRM y el subsidio del proyecto PID 8582 Deshidratado osmótico y congelación de zapallo con polialcoholes como alternativa nutricional.

REFERENCIAS

- American Public Health Association (1992) *Standard Methods for Examination of Water and waste* (18th ed.)(Report number APHA Method 9221). Mary Ann H. Franson Ed. <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/apha.method.9221.1992.pdf>
- Argandoña Zambrano, L. E. & Macías García, R. G. (2013). *Determinación de sólidos totales, suspendidos, sedimentados y volátiles en el efluente de las lagunas de oxidación situadas en la Parroquia Colón, Cantón Portoviejo, Provincia de Manabí, durante el periodo de marzo a septiembre 2013* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Manabí]. <http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/137/1/DETERMINACION%20DE%20SOLIDOS%20TOTALES%2C%20SUSPENDIDOS%2C%20SEDIMENTADOS%20Y%20VOLATILES.pdf>.
- Calcagno, A., Urbano Jáuregui, L., Planas, A. C., Gaviño Novillo, M., Mendiburo, N. (2000). Informe sobre la Gestión del agua en la República Argentina.

- DasSarma, S. & DasSarma, P. (2017). Halophiles. eLS (Vol. 1, pp. 1-13). John Wiley & Sons, Inc. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000394.pub4.
- Drovandi, A. (2004). Problemática ambiental de los Recursos Hídricos en Mendoza. En Drovandi, A. (Comp.). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.
- Fagot, L.; Foresi, S.; Pereyra, M.; Rauck, T. (Sin fecha). *Saneamiento del Colector Pescara. Sistema centralizado de reuso en riego de efluentes líquidos agroindustriales* [White Paper].
- Kemmer, F.N. & McCallion, J. (1989). *Manual del agua. Su naturaleza, tratamiento y aplicaciones* (Vol. 1) (Matilde Eva Espinosa Rubio Trans.). Editorial McGraw Hill.
- Kopsidas, G. C. (1992). Wastewater from the preparation of table olives. *Water research*, 26(5), 629-631
- Maldonado, M., Baigori, M., Affranchino, G. (2022). Biodegradation of organic compounds and decrease in electrical conductivity by native consortium in effluents from the olive industry. *International journal of recycling organic waste in agriculture*, 11(2), pp. 177-187. doi: 10.30486/ijrowa.2021.1904679.1105.
- Castro, M. G. (2018). Sector Olivícola de Mendoza participación en el mercado argentino e inserción en el mundo. *Revista de la Facultad de Ciencias Económicas*, 132, 135-144. <https://fce.uncuyo.edu.ar/upload/castro-sector-olivicola-de-mendoza.pdf>
- Oren, A., Guverich P., Azachi M. & Henis Y. (1993) Microbial degradation of pollutants at high salt concentrations. In E. Rosenberg (Eds.), *Microorganisms to Combat Pollution* (pp. 263-274). Kluwer Academic Publishers. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-1672-5_18.
- Tagarelli, A. S. (2023). *Informe Síntesis, Economía Regional, Olivo*. Secretaría de agricultura, ganadería y pesca, Ministerio de Economía. Https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/HomeAlimentos/economias-regionales/producciones-regionales/informes/INFORME_DE_Olivo2023.pdf
- Valsecchi Punzi, J. (2020). *Degradación de efluentes líquidos provenientes del maquinado de aceitunas mediante oxidación biológica llevada a cabo con la utilización de microorganismos nativos del efluente* [Tesis de Grado, Universidad Nacional de Cuyo]. https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/15565/valsecchi-julin-tesina.pdf.

* * * * *