



BIOREMEDIATION OF CHROMIUM VI BY APPLYING RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS IN INDUSTRIAL EFFLUENTS COMING FROM TANNERY

BIORREMEDIACION DE CROMO VI MEDIANTE EL USO DE RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS EN EFLUENTES INDUSTRIALES PROVENIENTES DE CURTIEMBRES

Received 11 30 2019
Accepted 04 13 2020
Published 04 30 2020

Vol. 37, No.1, pp. 21-27, Ene./Abr.2020
Revista Boliviana de Química

37(1), 21-27, Jan./Apr. 2020
Bolivian Journal of Chemistry
DOI: 10.34098/2078-3949.37.1.3



Full original article

Peer-reviewed

Pavel Delgado-Sarmiento^{1,2,*}, Antonio Durand G.¹, Paulino Zegarra P.¹, Hugo Jiménez P.¹, Victor Alvarez T.¹, Gabriela Vena Q.¹

¹Bioprocess Laboratory, Professional School of Chemical Engineering, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa UNSA, Av. Independencia s/n, phone +5154226447, Arequipa, Perú, iquimica@unsa.edu.pe, <http://fip.unsa.edu.pe/ingquimica/>

²Biotechnology Laboratory, Department of Organic and Petrochemical Synthesis Technology, Faculty of Chemical Technology, Volgograd State Technical University, Russia, 400005, Volgograd, Lenin avenue, 28, phone (8442), 24-81-21, <http://www.vstu.ru>

Keywords: *Bioremediation, Chrome VI, Rhodopseudomonas palustris.*

Palabras clave: *Biorremediacion, Cromo VI, Rhodopseudomonas palustris.*

ABSTRACT

The effects of chemical substances when considered as pollutants are of major interest since they are translated as alterations of the functionality of organs or systems in living beings, organisms are very sensitive to the presence of exogenous elements coming from environmental pollution. In this investigation we boarded the study of the removal of chromium VI by means of the bacterium *Rhodopseudomonas palustris* when applied to contaminated waters. Chromium treatments (5 mg/L and 3 mg/L) were applied into bacterial solutions (400 mL and 300 mL) for times of 19 and 23 days periods in bioreactors. The elimination of chromium VI by bacteria was evaluated. On the basis of the results obtained we concluded that the level of concentration of chromium VI was reduced to below the maximum permissible limits of 0.5 mg/L. This research showed that inocula with tolerant bacteria can be used efficiently for the removal of chromium with characteristic concentrations of industrial and mining effluents.

*Corresponding author: pavelds1@yahoo.com



RESUMEN

Los efectos de las sustancias químicas cuando se consideran contaminantes son de gran interés ya que se traducen como alteraciones de la funcionalidad de los órganos o sistemas en los seres vivos, los organismos son muy sensibles a la presencia de elementos exógenos provenientes de la contaminación ambiental. En esta investigación abordamos el estudio de la eliminación de cromo VI por medio de la bacteria *Rhodopseudomonas palustris* cuando se aplica a aguas contaminadas. Los tratamientos de cromo VI (5 mg/L y 3 mg/L) se aplicaron en soluciones bacterianas (400 ml y 300 ml) durante períodos de 19 y 23 días en biorreactores. Se evaluó la eliminación del cromo VI por bacterias. Sobre la base de los resultados obtenidos, concluimos que el nivel de concentración de cromo VI se redujo por debajo de los límites máximos permisibles de 0,5 mg/L. Esta investigación demostró que los inóculos con bacterias tolerantes se pueden usar de manera eficiente para la eliminación de cromo con concentraciones características de efluentes industriales y mineros.

INTRODUCCIÓN

Debido al amplio uso de los derivados del cromo en diversas actividades industriales como ser la producción de acero, la minería y las curtiembres, los niveles de cromo en suelos y aguas se ha visto incrementado de manera alarmante, siendo considerado un serio contaminante ambiental.

El crecimiento industrial en la economía del país. Se sabe que la mayoría de las industrias ejercen actividades que contribuyen al deterioro de la calidad de los elementos que conforman el ecosistema. Los ejemplos más trascendentales son la sobreexplotación de los recursos naturales y la incorrecta disposición de los residuos generados en un proceso productivo. Estos últimos traen como consecuencia directa la contaminación de los cuerpos de agua, el suelo y el aire con diferentes sustancias de origen antropogénico [1].

El cromo se encuentra presente en aguas y suelos principalmente en dos estados de oxidación: Cr (III) bajo la forma de óxido de cromo y sulfato de cromo, y Cr (VI) bajo la forma de trióxido de cromo, ácido crómico y dicromato. En presencia de la materia orgánica, el Cr (VI) presente en aguas de acequias y suelos es reducido a Cr (III); sin embargo, las altas concentraciones del ion en estado hexavalente pueden sobrepasar esta capacidad de reducción, lo que impediría su adecuada eliminación.

El cromo hexavalente es el estado de oxidación más dañino para los organismos vivos, ya que tiende a acumularse en la cadena trófica causando serios problemas de salud, provocando desde irritación y / o ulceración en la piel y mucosa hasta necrosis renal o de hígado y / o cáncer de pulmón [2].

Dada la problemática que representa el cromo, se han desarrollado nuevas tecnologías basadas en principios físicos y químicos para tratar los efluentes industriales que son vertidos en los cuerpos de agua con presencia de este metal pesado. Dentro de ellas se pueden mencionar la precipitación química, el intercambio iónico, adsorción y filtración. Sin embargo, estas tecnologías cuentan con ciertas desventajas como son sus altos costos de instalación, operación y mantenimiento, además de la necesidad de que el agua a tratar contenga ciertas condiciones como valores específicos de pH. Asimismo, la mayoría de estas tecnologías transfieren los metales de una fase a otra, la cual también tendrá que ser tratada o confinada eventualmente.

Surgieron nuevas técnicas de tratamiento de efluentes industriales con un enfoque biológico, las cuales resultaron ser económicamente competitivas respecto a otras alternativas de tratamiento. Un ejemplo de estas biotecnologías son los organismos heterótrofos procarióticos capaces de tolerar altas concentraciones de metales pesados, lo cual plantea el uso de estos microorganismos como método de tratamiento para diversos contaminantes de aguas residuales domésticas e industriales que destacan por una notable ventaja: el bajo costo en instalación, operación, mantenimiento y consumo de energía en comparación con otras biotecnologías [3].

Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue estudiar la resistencia y capacidad de remoción de Cr (VI) en solución acuosa por microorganismos eficientes para su utilización en la descontaminación o biodegradación de dicho metal en aguas contaminadas.

EXPERIMENTAL

Recolección, preservación y almacenaje de muestras

Se realizó el monitoreo de los efluentes industriales de Curtiembre del Parque Industrial de Rio Seco Zamacola del distrito de Cerro Colorado en Arequipa; las muestras se colectaron en frascos de plástico. Las muestras de cromo se



realizaron en el espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA6300, dando como resultados de Cr (VI) 6 mg/L.

La solución madre de Cromo se le adicionó HNO₃ concentrado para ajustar el pH < 4 (2-5 mL). Posteriormente se hizo disoluciones para 3, 4 y 5 mg/L para las once pruebas.

Activación y crecimiento de bacterias

Las bacterias *Rhodopseudomonas palustris*, se aislaron según Kim et al. [4] y se prepararon según Cardona y García [5] y Merk [6]; se prepararon concentraciones de células de 300, 350 y 400 ml por litro de agua, se les dejó por 7 días para su activación y crecimiento bacteriano para preparar las pruebas.

Prueba de minibioreactores

Las pruebas se corrieron en minibioreactores de 1000 ml de capacidad; modelo IO 200, se realizaron 11 experimentos de los cuales 3 son replicas como se muestra en la Tabla N° 1. Los minibioreactores operaron por una agitación de 30 rpm dos horas cada día; al final de cada experimento se sacó una muestra para el análisis de cromo (VI). Se sacaron muestras líquidas post tratamiento y se llevó a analizar las muestras al laboratorio de análisis químico con el espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA6300.



Bioremovición del Cr (VI) por Rhodopseudomonas palustris en el Minibioreactor IO 200.

Análisis factorial

Para realizar el análisis factorial y obtención de la ecuación de regresión de remoción de Cr (VI) se utilizó el método factorial con replica en el punto central [7].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Después de haber realizado las 8 pruebas procedemos a realizar los cálculos, los cuales nos dio los siguientes resultados:

Tabla 1. Matriz del diseño experimental

Standard run	CenterPt	Rhodopseudomonas palustris, ml	Tiempo, días	Cr (VI), mg/L	Cr (VI) final, mg/L Y
1	1	300	20	3	0,09
2	1	300	20	5	0,16
3	1	300	23	3	0,03
4	1	300	23	5	0,08
5	1	400	20	3	0,05
6	1	400	20	5	0,19
7	1	400	23	3	0,18
8	1	400	23	5	0,05
9	0	350	22	4	0,10
10	0	350	22	4	0,11
11	0	350	22	4	0,11

La tabla 2 muestra los valores de las variables codificando el modelo del diseño experimental, notándose un alto nivel en las concentraciones finales después del tratamiento bacteriano, comprobándose la eficiencia del método empleado de acuerdo a la matriz experimental.

Tabla 2. Análisis de varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor-P
BACTERIA	1	0,001800	0,001800	54,00	0,018
DIAS	1	0,002450	0,002450	73,50	0,013
Cr VI	1	0,001800	0,001800	54,00	0,018
Interacciones de 2 términos					
BACTERIA*DIAS	1	0,011250	0,011250	337,50	0,003
BACTERIA*Cr VI	1	0,001800	0,001800	54,00	0,018
DIAS*Cr VI	1	0,002450	0,002450	73,00	0,013
Interacciones de 3 términos					
BACTERIAS*DIAS*Cr VI	1	0,008450	0,008450	253,50	0,004
Error	2	0,000067	0,000033		
Total	10	0,030073			

La Tabla 2, del análisis de varianza, indica que a un nivel de significación del 0.05% existe un efecto significativo de los factores evaluados (Bacteria, Días y [Cr VI] en la variable Y ([Cr VI pos tratamiento]), asimismo que las interacciones son significativas ($p > 0.05$).

También, se muestra que el factor que tiene mayor efecto en la variable Y, es la interacción Bacteria – Cr VI; los tres factores evaluados (Bacteria, Días, Cr VI) y que factor principal Días es el que influye significativamente en la variable respuesta.

Mediante el Diagrama de Pareto (Figura 1) se pone en evidencia que la combinación de los factores Bacteria – Días tiene el mayor efecto en la disminución del contenido de Cr VI en la muestras analizadas.

Es importante destacar que cuando los niveles de los factores evaluados cambian del nivel inferior al superior, la variable (Y) analizada varía considerablemente.

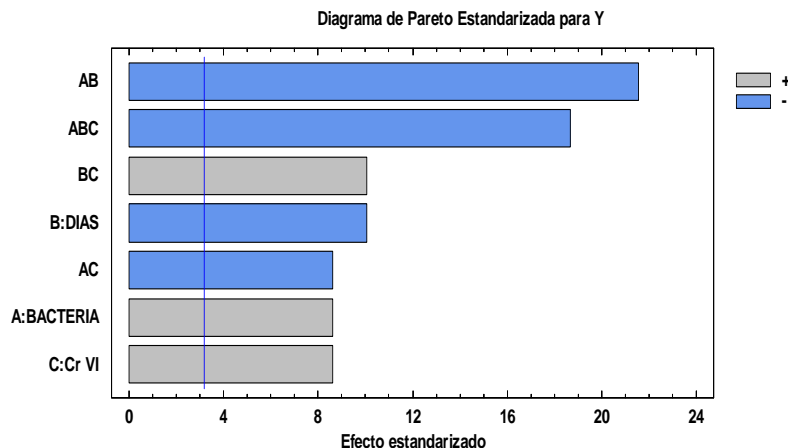


Figura 1. Diagrama de Pareto de combinación Bacteria - Días

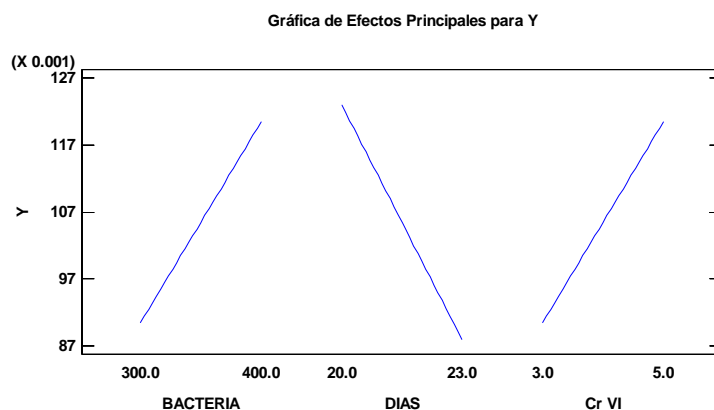


Figura 2. Efectos principales para Y en función de los factores bacteria- tiempo

La Figura 2 muestra que existe una fuerte interacción entre el factor Bacteria (A) y Tiempo (días) (B) lo cual hace que disminuya los niveles de Cr VI (C) en la muestra analizada.

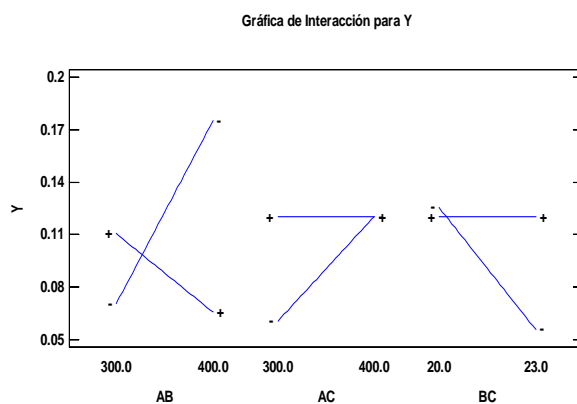


Figura 3. Interacción para Y entre factor Bacteria (A) y Tiempo (días) (B) lo cual hace que disminuya los niveles de Cr VI (C)

En la figura 3 dicho comportamiento se aprecia mejor en la gráfica de superficie de respuesta de las variables más representativas A y B. Es importante destacar que si se desea obtener mejores rendimientos (< 0.5 mg/mL de Cr VI)



en la muestra analizada, deberá hacerse exploraciones en la región pintada con verde y que la relación entre el uso de bacterias es directamente proporcional a tiempo de permanencia .

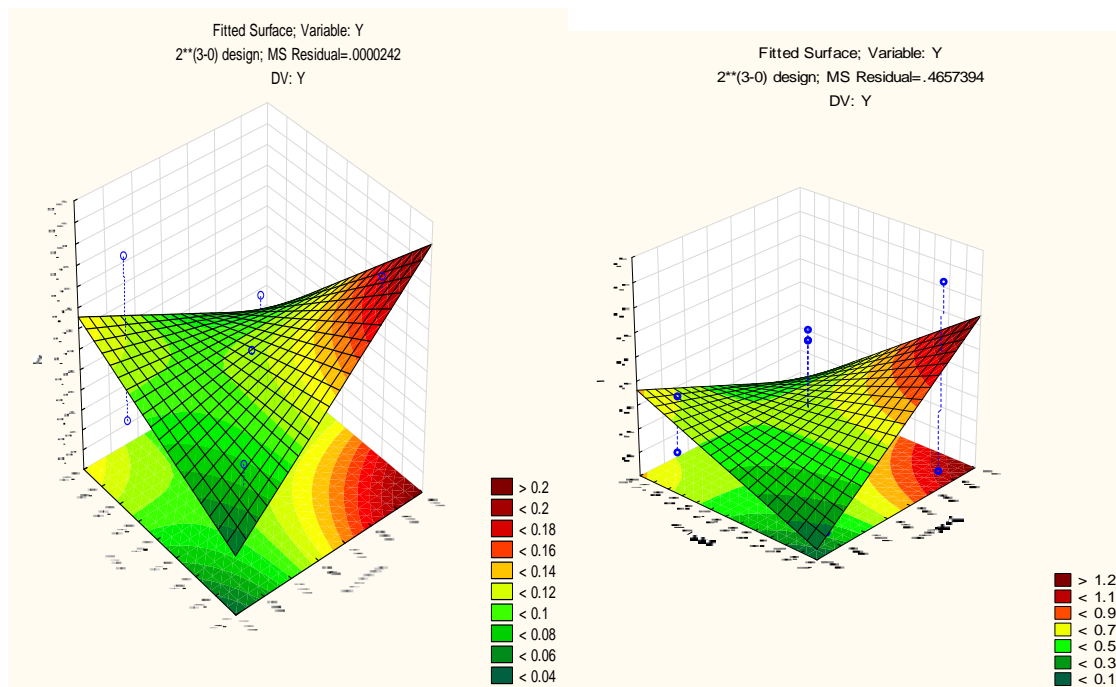


Figura 4. Grafica de superficie de las variables representativas Bacteria (A) y Tiempo (días) (B)

En la figura 4, se observa que la región coloreada con verde intenso indica que si se desea obtener valores de $Y < 0.5$ deberá experimentarse con niveles bajos de bacterias y niveles bajos de Cr VI.

Modelo matemático

Del análisis del diseño experimental se obtuvo el modelo matemático para la remoción de Cr (VI).

Tabla 3. Análisis estadístico para establecer el modelo matemático:

Termino	Efecto	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor-P	VIF
Constante		0,10500	0,00204	51,44	0,000	
BACTERIA	0,03000	0,01500	0,00204	7,35	0,018	1,00
DIAS	-0,03500	-0,01750	0,00204	-8,57	0,013	1,00
Cr VI	0,03000	0,01500	0,00204	7,35	0,018	1,00
BACTERIA*DIAS	-0,07500	-0,03750	0,00204	-18,37	0,013	1,00
BACTERIA*Cr VI	-0,03000	-0,01500	0,00204	-7,35	0,018	1,00
DIAS*Cr VI	0,03500	0,01750	0,00204	8,57	0,013	1,00
BACTERIA*DIAS*Cr VI	-0,06500	-0,03250	0,00204	-15,92	0,004	1,00

Según la tabla 3 se despliega la ecuación de regresión de la concentración de Cr(VI) “Y”, que se ha ajustado a los datos, obteniéndose la siguiente ecuación:

$$Y [\text{Cr (VI)final}] = 10.055 - 0.02502 \text{ BACTERIA} - 0.4900 \text{ DIAS} - 3.392 \text{ Cr VI} + 0.001233 \text{ BACTERIA*DIAS} + 0.009017 \text{ BACTERIA*Cr VI} + 0.16333 \text{ DIAS*Cr VI} - 0.000433 \text{ BACTERIA*DIAS*Cr VI}$$



CONCLUSIONES

Se empleó *Rhodopseudomonas palustris* como biorremediante para reducir la concentración de Cr (VI) en efluentes de curtiembre, donde se determinó la cantidad de bacterias adecuada para la remoción mediante pruebas experimentales.

En las pruebas de biorremediación se determinó las condiciones óptimas para la remoción de Cr (VI) las cuales fueron de 300 ml de bacteria, tiempo de 23 días y pH 4,0.

El Cr(VI) tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano, el cual es directamente proporcional a la concentración del Cr (VI) en el medio de cultivo y los medios complejos favorecen a la disminución de Cr (VI).

Todas las cepas bacterianas probadas tienen la capacidad de disminuir la concentración de Cr(VI) en el medio de cultivo.

REFERENCIAS

1. Agudelo, S., Duarte, M. **1994**, Evaluación de cromo en ambientes de trabajo en una industria de curtiembres y una de galvanoplastia, *Rev. Colomb. Quím.*, 23(2), 69-79.
2. Chávez, A. **2010**, Descripción de la nocividad del cromo proveniente de la industria curtiembre y de las posibles formas de removerlo, *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 9(17), 41-50.
3. Córdova Bravo, H.M., Vargas Parker, R., Cesare Corala, M.F, Flores del Pino, L., Visitación Figueroa, L.**2014**, Tratamiento de las aguas residuales del proceso de curtido tradicional y alternativo que utiliza complejantes de cromo, *Rev. Soc. Quím. Perú*, 80(3), 183-191.
4. Kim, M., Choi, K., Yin, Ch., Lee, K., Im, W., Lim, J., and Lee, S. **2004**, Odorous swine wastewater treatment by purple non-sulfur bacteria, *Rhodopseudomonas palustris*, isolated from eutrophicated ponds, *Biotechnology Letters*, 26(10), 819-822.
5. Cardona J., García L. Tesis de grado, , Evaluación de los efectos de los microorganismos eficaces (EM®) sobre la calidad de agua residual doméstica, Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia, **2008**, 25-26.
6. Merk, Manual de medios de cultivo. Agar para lactobacillus. Según De Mann, Rogosa y Sharpe. Barcelona , España. **2003**, 126.
7. <http://www.fuenterrebollo.com/Economicas/> , Access date 08/15/2011.