

# Biorremoción de cromo (VI) con biopelículas soportadas en fibra de ixtle en reactores batch

Ana Laura Vázquez-Solano<sup>1</sup>, Judith Amador-Hernandez<sup>2</sup>, Edith Colunga-Urbina<sup>2</sup>, Leopoldo Rios-González<sup>1</sup>, Yolanda Garza-García<sup>1</sup>, Iliana Margarita de la Garza-Rodríguez<sup>2</sup>

Biotecnología<sup>1</sup>, Química Analítica<sup>2</sup>  
Facultad de Ciencias Químicas  
Universidad Autónoma de Coahuila  
Saltillo, México

anasolano@yahoo.com, amadorjudith@live.com.mx, [guanajuatita, iligarza4]@hotmail.com, lriosuadec@yahoo.com.mx, ygarza@uadec.edu.mx

**Abstract**— In this work, it was evaluated the removal of hexavalent chromium that is present on contaminated water, using a microbial consortium provided by a municipal wastewater treatment plant for the development of biofilms supported on ixtle (vegetal fiber) and introduced on batch reactors in aerobic conditions. Between the factors studied, it can be highlighted the concentration of hexavalent chromium (10, 20 and 25 mg/L), the pH (5, 7 and 8) and carbon source (glucose and sodium acetate). With the obtained results, it was demonstrated a maximum removal of the 80% the heavy metal after 10 days, on reactors using concentrations of hexavalent chromium of 20 mg/L, at a pH of 7 and 4 g/L of glucose as carbon source. In addition, it was observed that the ixtle don't suffered damage as breakage of the fibers during the study. Thus, it is proposed a new, low cost and robust strategy for decontamination of chromium in waste water, whether municipal or industrial origin.

**Keyword**— hexavalent chromium, biofilm, batch reactors, bioremotion, ixtle.

**Resumen**— En este trabajo se evaluó la remoción de cromo hexavalente presente en aguas contaminadas, utilizando un consorcio microbiano proveniente de una planta tratadora de aguas residuales municipal, con las que se desarrollaron las biopelículas soportadas en ixtle (fibra vegetal), las cuales fueron introducidas en reactores batch en condiciones aerobias. Entre las variables estudiadas, estuvieron la concentración de cromo hexavalente (10, 20 y 25 mg/L), el pH (5, 7 y 8) y la fuente de carbono (glucosa y acetato de sodio). A partir de los resultados obtenidos, se demostró una remoción máxima del 80% del metal pesado después de 10 días, en los reactores usando concentraciones de cromo hexavalente de 20 mg/L, a un pH de 7 y 4 g/L de glucosa como fuente de carbono. Además, se observó que el ixtle no sufrió daños, como ruptura de las fibras durante el tiempo de estudio. Así, se propone una nueva estrategia de bajo costo y robusta para la descontaminación de cromo en aguas residuales, ya sea de origen municipal o industrial.

**Palabras claves**— cromo hexavalente, biopelícula, reactor batch, bioremoción, ixtle.

## I. INTRODUCCIÓN

El cromo hexavalente (Cr<sup>6+</sup>) es designado como un contaminante prioritario por la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) en los Estados Unidos debido a su grado de carcinogenicidad y mutagenicidad [1-3]. El cromo existe en una amplia gama de estados de oxidación desde 2- a 6+, siendo las especies dominantes en la naturaleza el hexavalente (Cr<sup>6+</sup>) y trivalente (Cr<sup>3+</sup>) [4]. El cromo hexavalente, por lo general presente como cromato (CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) y dicromato (Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>), posee niveles de toxicidad más elevados comparado con otros estados de valencia. Debido a que es uno de los metales más utilizados en la industria, se descargan grandes cantidades de este metal al medio ambiente, principalmente en la forma de cromo hexavalente (cromato y/o dicromato). Este ion, además de ser altamente perjudicial, presenta una alta movilidad entre los compartimentos ambientales, así como un elevado período de residencia en las aguas superficiales y subterráneas, lo que supone un riesgo para la salud de los seres humanos y animales, afectando además el desarrollo y crecimiento de las plantas [5-7]. El cromo trivalente, en cambio es mucho menos nocivo y se puede separar precipitándolo como hidróxido. Las principales fuentes de cromo son: la industria de revestimiento de metales (cromado), refinería de petróleo, curtido del cuero, hierro y siderurgia, la producción de productos químicos

inorgánicos, la manufactura textil y el tratamiento de la madera. La EPA y las organizaciones internacionales han establecido la concentración máxima permitida de cromo hexavalente en los suministros de agua domésticos en 0.05 mg/L [8]. En México se estableció el nivel máximo permitido para la descarga de cromo hexavalente en ríos, lagos, arroyos y en zonas federales en 0.5 mg/L [9].

Para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con cromo hexavalente métodos físicos y químicos, tales como intercambio de iones, filtración, precipitación, tratamiento electroquímico, reducción química, adsorción, tecnologías de membrana y recuperación evaporación [10, 11]. Sin embargo, los métodos convencionales descritos presentan algunas desventajas, tales como altos costos operativos, la exigencia de medidas de tratamiento preliminar, la dificultad del tratamiento de los residuos sólidos generados posteriormente y la exigencia de grandes cantidades de sustancias químicas [12, 13].

Recientemente, se han comenzado a estudiar una serie de métodos biológicos aprovechando las ventajas de los microorganismos para el tratamiento de aguas contaminadas con cromo hexavalente, lo cual puede reducir los costos de los productos químicos y el consumo de energía en comparación con los métodos convencionales antes mencionados. Los dos procesos más importantes involucrados en el tratamiento biológico de metales, son la adsorción en microorganismos o plantas (bioadsorción) y la reducción de iones metálicos de estado de valencia superior a una inferior (biorreducción) [14-16]. En el caso particular del cromo, la reducción es de cromo hexavalente a cromo trivalente. Muchos microorganismos son conocidos por ser capaces de concentrar especies de metales de soluciones acuosas diluidas y de acumularlas dentro de su estructura celular. Estos microorganismos incluyen levaduras, hongos, algas y bacterias [17-20]. Sin embargo, pocos son los estudios llevados a cabo en consorcios microbianos; en particular, la reducción biológica de cromo hexavalente a cromo trivalente permite considerar a los microorganismos como una herramienta biotecnológica para el tratamiento de las aguas residuales contaminadas con cromo hexavalente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la remoción de cromo hexavalente presente en aguas contaminadas, utilizando biopelículas soportadas en tubos de acrílico cubiertas con fibras de ixtle bajo condiciones aerobias, con el fin de desarrollar una nueva estrategia de bioremediación robusta y de bajo costo. Las principales variables a estudiar fueron la concentración de cromo hexavalente en el efluente, el pH del medio y las fuentes de carbono en bioreactores tipo batch, con el fin de encontrar las mejores condiciones de operación del sistema.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Medio nutritivo

El medio de alimentación para el consorcio microbiano fue preparado disolviendo 1g de cloruro de amonio, 0.2 g de sulfato de magnesio heptahidratado, 0.001 g de sulfato de hierro heptahidratado, 0.001 g de cloruro de calcio dihidratado, 2.5 g de acetato de sodio trihidratado o glucosa, 0.5 g de extracto de levadura, 0.5 g fosfato ácido de potasio y 50 mg/L de dicromato de potasio en 1 L de agua destilada.

### B. Reactivos

- Solución estándar de cromo hexavalente (500 mg/L), se preparó utilizando 1.413 g de dicromato de potasio disuelto en 1 L de agua desionizada.
- Solución de difenilcarbazida (0.02M), se preparó disolviendo 0.121 g de 1,5-difenilcarbazida en 25 mL de acetona grado HPLC y se colocó en una botella ámbar para su uso.

### C. Adaptación del consorcio microbiano

Los lodos fueron proporcionados por una planta de tratamiento biológico de aguas residuales del municipio de Saltillo, México. De este lodo, se tomaron 10 g y se colocaron en un matraz Erlenmeyer

con capacidad para 2 L, después se completo a 1 L con el medio nutritivo a base de acetato de sodio como fuente de carbono, en pH 7 y una concentración de 50 mg/L de cromo hexavalente. La mezcla anterior se mantuvo en condiciones aerobias (flujo de aire de 1 L/minuto) durante 40 días.

#### D. Desarrollo de las biopelículas

Se montó un reactor de flujo continuo con 10 L de medio nutritivo y se añadieron 100 g del consorcio microbiano, adaptado a concentración de 50 mg/L de cromo hexavalente; se introdujeron los soportes de ixtle (tubos de acrílico de 20 cm de longitud por 1 pulgada y enrollados con fibra de ixtle). Los soportes se mantuvieron en el medio nutritivos durante 45 días en condiciones aerobias para su desarrollo.

#### E. Biorremediación de cromo hexavalente

Se utilizó un reactor tipo batch para cada experimento, conformado de un matraz Erlenmeyer al cual se le añadió 1 L de medio nutritivo, se introdujo un soporte de ixtle con biopelícula y se mantuvo en condiciones aerobias a un flujo de 1 L/minuto y a temperatura ambiente (~21 °C). Las siguientes condiciones fueron estudiadas: concentración de cromo hexavalente, pH utilizando HNO<sub>3</sub> 0.5 M, fuente de carbono.

Tabla I. Condiciones estudiadas para la remoción de cromo hexavalente utilizando biopelículas soportadas en ixtle, en reactores batch de 1l.

No. de Serie	Cr hexavalente (mg/L)	Fuente de carbón (g/L)	pH
1	20	Acetato de sodio (2.5, 5 y 10)	7
2	20	Glucosa (1.5, 2.5, 4 y 5)	7
3	10, 20 y 25	Glucosa (1.5)	7
4	20	Glucosa (1.5)	5, 7 y 8

Todos los experimentos se llevaron a cabo en un período de entre 10 a 12 días, tomando muestras para la determinación de cromo hexavalente.

#### F. Determinación de cromo hexavalente en muestras

Durante la experimentación, la concentración de cromo hexavalente se llevó a cabo tomando 10 mL de muestra, la cual se filtró a través de un papel filtro con tamaño de poro de 0.45 µm. La muestra se aciduló a pH 2 utilizando ácido sulfúrico 0.2 N. De la muestra previamente acidificada se tomó una alícuota de 0.3 mL y se añadieron 0.2 mL de 1,5-difenilcarbazida, después se aforó a 10 mL con agua desionizada. Finalmente se registró la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm en un espectrofotómetro UV/Vis, marca Varian modelo Cary 50 Bio.

#### G. Microscopía Electrónica de barrido de la muestra de ixtle

La observación microscópica del material de ixtle usado como soporte, con y sin biopelícula, se realizó a través de un Microscopio Electrónico de Barrido de doble haz marca FEI, modelo Quanta 3D.

### III. RESULTADOS

#### A. Estudio de la reducción del cromo hexavalente

En la figura 1, se presenta la evolución de la concentración de cromo hexavalente para la serie 1 del experimento, donde se variaron las concentraciones de acetato de sodio como fuente de carbón. Pudo observarse que al cuarto día del experimento la concentración de 10 g/L alcanzó una remoción de cromo

hexavalente del 54 % , superando a las demás concentraciones. Al término de 11 días, la concentración de 10 g/L removi6 el 63%.

La figura 2 muestra la cin6tica de remoci6n de cromo hexavalente de la serie 2 del experimento, donde se utilizaron diferentes concentraciones de glucosa como fuente de carbono. En 6sta se observa que a partir del segundo d6a se obtiene una remoci6n del 66% con una concentraci6n de 2.5g/L de cromo hexavalente. A partir de 11 d6as, se alcanzaron remociones por arriba del 80% con las concentraciones de glucosa de 4 y 5 g/L.

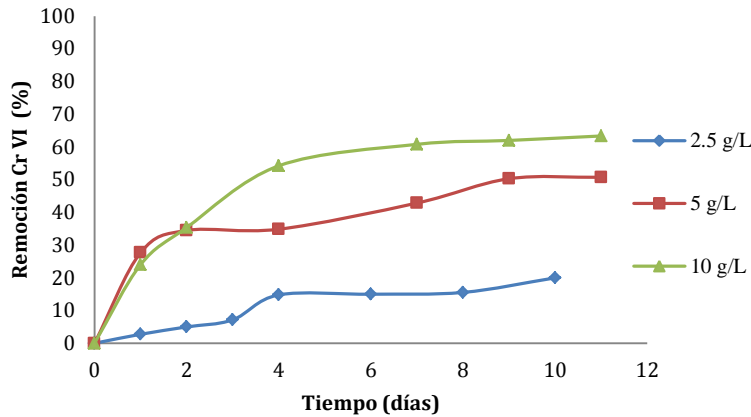


Fig. 1. Remoci6n de cromo hexavalente (20 mg/L) variando la concentraci6n de acetato de sodio como fuente de carbono a un pH de 7.

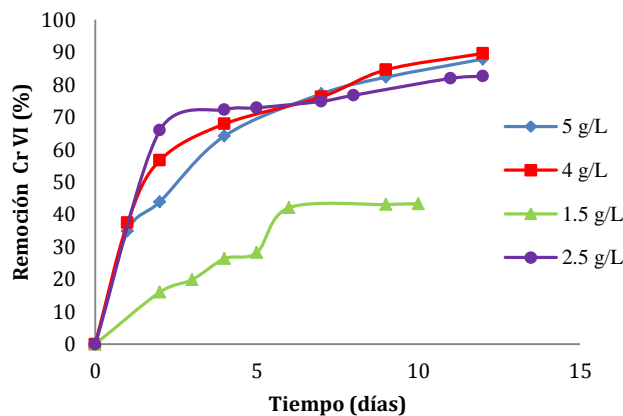


Fig. 2. Remoci6n de cromo hexavalente (20 mg/L) variando la concentraci6n de glucosa.

como fuente de carbono a un pH de 7.

La figura 3 corresponde a los resultados obtenidos en la serie 3 del experimento, donde se mantuvo la concentraci6n de glucosa en 1.5g/L, variando la concentraci6n de cromo hexavalente. Los resultados muestran que 10 mg/L de cromo hexavalente se removieron m6s r6pido que con las concentraciones de 20 y 25 mg/L, obteniendo el 68% de remoci6n de del ion de inter6s en 6 d6as. Esto indica que el consorcio no se ha adaptado a concentraciones mayores de cromo hexavalente.

La figura 4 muestra los resultados de la serie 4 del experimento, en donde se vari6 las condiciones de pH, manteniendo la concentraci6n de cromo hexavalente en 20 mg/L, utilizando como fuente de carbono a la glucosa a una concentraci6n de 1.5 g/L. En esta grafica se observa que la remoci6n de

romo hexavalente tuvo un comportamiento similar con los pH de 5 y 7, alcanzando una remoción de cromo hexavalente del 42 % en 2 días. Durante la cinética de remoción en condiciones de pH 5, se observó una variación del parámetro, aumentando a partir del día 2 hasta llegar a un valor de pH de 7, lo cual indica que la mayoría de los microorganismos presentes en el consorcio son neutrófilos [21].

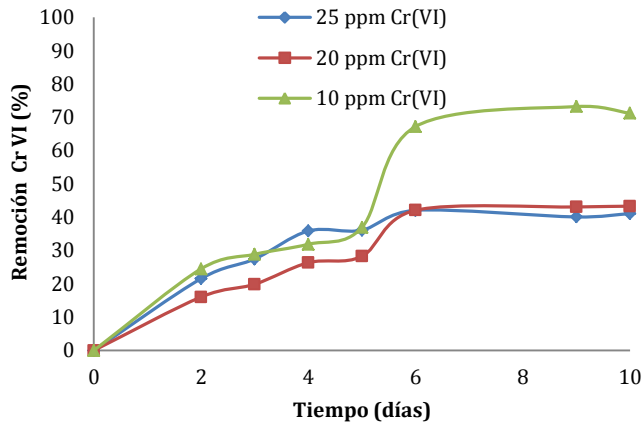


Fig. 3. Remoción de cromo hexavalente (25, 20 y 10 mg/L) utilizando glucosa como fuente de carbono a una concentración de 1.5g/L a pH 7.

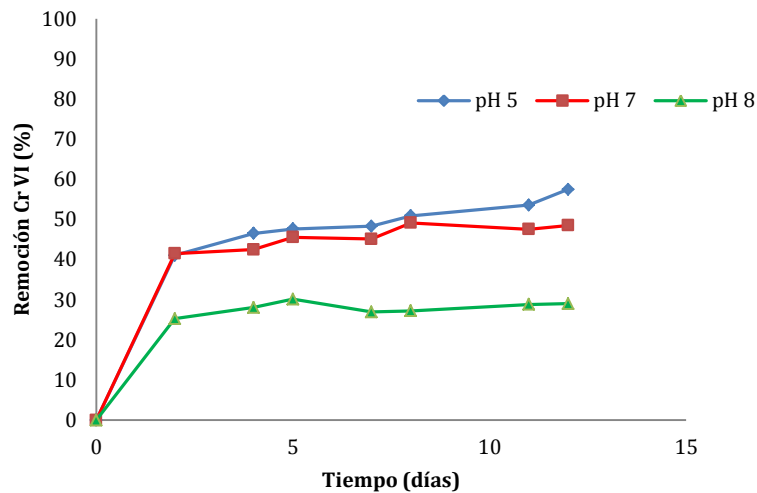


Fig. 4. Remoción de cromo hexavalente a una concentración de 20 mg/L variando las condiciones de pH (5, 7 y 8), utilizando glucosa como fuente de carbono a una concentración de 1.5g/L.

**B. Microscopia electrónica de la muestra de ixtle**

Las figuras 5 y 6 muestran que el ixtle no ha sufrido daños como ruptura de las fibras durante el tiempo sometido a las pruebas de remoción de cromo hexavalente en aguas.

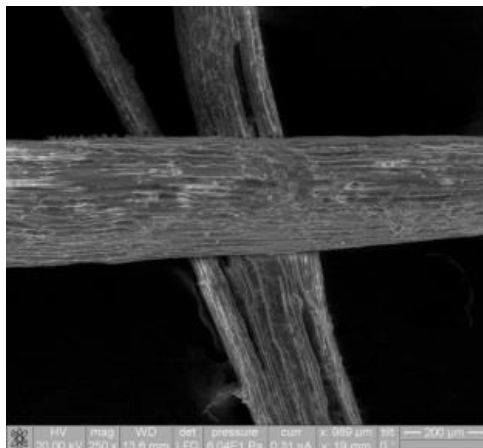


Fig. 5. Microcopia electrónica de barrido de la fibra de ixtle sin biopelícula 250x.

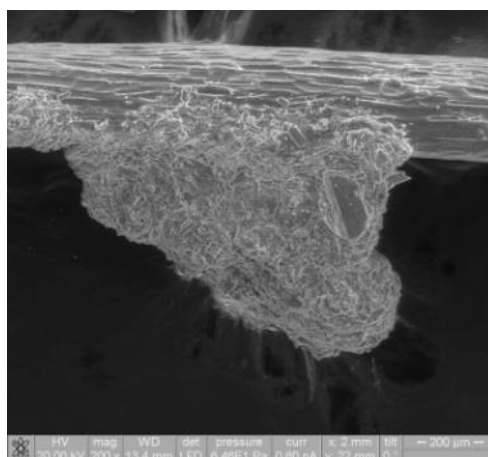


Fig. 6. Biopelícula soportada en fibra de ixtle utilizada durante la experimentación 200x.

#### IV. CONCLUSIONES

Se corroboró la tolerancia del consorcio bacteriano a las concentraciones de cromo hexavalente. Se comprobó que las biopelículas soportadas en tubos de acrílico enrollados con ixtle alcanzan buenos porcentajes de remoción: a) por arriba del 60% en concentraciones de 10 mg/L de cromo hexavalente a pH 7, utilizando glucosa como fuente de carbón, y b) del 80% en concentraciones de 20 mg/L de cromo hexavalente a pH 7 y glucosa como fuente de carbono.

Así, se demuestra que el ixtle es un buen soporte para el desarrollo de biopelículas por ser una fibra de alta resistencia, estableciéndose de esta manera una estrategia robusta y de bajo costo para la remoción de cromo en aguas residuales de origen municipal o industrial

#### RECONOCIMIENTOS

Agradecemos la participación de la M.C. Mónica Ceniceros Reyes y la Dra. Esmeralda Saucedo Salazar, por la realización de la Microscopia Electrónica del ixtle con y sin biopelícula, en el Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA).



## REFERENCIAS

- [1] F.L. Petrilli, S.D. Flora. "Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on *Salmonella typhimurium*". *Applied and Environmental Microbiology*, 33, pp. 805–809, 1977.
- [2] D.C. Sharma, C. Chatterjee, C.P. Sharma, "Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism". *Plant Science* 111, pp. 145–151, 1995.
- [3] S. Venitt and L.S. Levy. "Mutagenicity of chromates in bacteria and its relevance to chromate carcinogenesis". *Nature (London)* 250, pp. 493–495, 1974.
- [4] R. Fukai. "Valency state of chromium in seawater". *Nature (London)* pp. 213, 901, 1967.
- [5] I.D. Kleiman and D.H. Cogliatti. "Chromium removal from aqueous solutions by different plant species". *Environ. Technol.* 19, pp. 1127-1132, 1998.
- [6] P. Chandra and K. Kulshreshtha. "Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants". *Botan. Rev.:* 70(3), pp. 313-327, 2004.
- [7] A.K. Shankers, C. Cervantes, H. Losa-Tavera and S. Avdainayagam. Chromium toxicity in plants. *Environ. Int.:* 31(5), pp. 739-753, 2005.
- [8] EPA, 1990. The drinking water criteria document on chromium. EPA 440/5-84-030. Office of drinking water, U.S. EPA, Washington, DC.
- [9] NOM-002-ECOL-1996; Norma Oficial Mexicana, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado.
- [10] D. Park, Y.S. Yun, J.H. Jo and J.M. Park. "Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*". *Water Research*, 39, pp. 533-540, doi: 10.1016/j.watres.2004.11.002, 2005.
- [11] K. M. Sumathi, S. Mahimairaja, and R. Naidu. "Use of low-cost biological wastes and vermiculite for removal of chromium from tannery effluent". *Bioresource Technology*; 96, pp. 309-316. Doi: 10.1016/j.biortech.2004.04.015, 2005.
- [12] M.Y. Arica and G. Bayramoglu. "Cr (VI) biosorption from aqueous solutions using free immobilized biomass of *Lentinus sajor-caju*". Preparation and kinetic characterization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 253, 203-211. Doi:10.1016/j.colsurfa.2004.11.012, 2005.
- [13] Y. Sahin, and A. Öztürk. "Biosorption of Cr (VI) ions from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*". *Process Biochemistry*, 40, 1895-1901. Doi: 10.1016/j.procbio.2004.07.002, 2005.
- [14] D.R. Lovley and E.J.P. Phillips. "Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c, cytochrome". *Applied and Environmental Microbiology*, 60, pp. 726-728, 1994.
- [15] Y.T. Wang, and H. Shen. "Modelling Cr (VI) reduction by pure bacterial cultures". *Water Research*, 31, pp. 727-732, 1997.
- [16] M. Valls, S. Atrian, V. de Lorenzo and L.A. Fernandez. "Engineering a mouse metallothionein on the cell surface of *Ralstonia eutropha* CH34 for immobilization of heavy metals in soil". *Nature Biotechnology*: 18, pp. 661-665.
- [17] S. Tunali, A. Çabuk and T. Akar. "Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil". *Chem. Eng. J.:* 115, 203-211, 2006.
- [18] S. Kazy, S.K. Das and P. Sar. "Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas* sp.: equilibrium studies and chemical characterization". *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.:* 33, pp. 773-783, 2006.
- [19] C. Quintelas, E. Sousa, F. Silva, S. Neto and T. Tavares. "Competitive biosorption of ortho-cresol, phenol, chlorophenol and chromium (VI) from aqueous solution by a bacterial biofilm supported on granular activated carbon". *Process Biochem.:* 41, pp. 2087-2091, 2006.
- [20] S. Lameiras, C. Quintelas and M.T. Tavares. "Biosorption of Cr (VI) using a bacterial biofilm supported on granular activated carbon and on zeolite". *Bioresour. Technol.:* 99, pp.801-806, 2008.
- [21] H.G. Schegel. *Microbiología General*. Editorial Omega. Barcelona, España, pp. 654, 1997.