

APLICACIÓN DE AGRORESIDUOS COMO FUENTE DE CARBONO PARA EL DESARROLLO DE CONSORCIOS MICROBIANOS EN LA REMOCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE DE EFLUENTES

Mónica Jacqueline Martínez Ramírez^a, Paola Abigail Martínez-Aldape^a, Sara Lúcia Tostano-Alaniz^b, Mario Enrique Sandoval-Vergara^b, Sandra Ixmucamé Concha Guerrero^c, Erasmo Orrantia Borunda^d, Elcia Margareth Souza Brito^{b}*

^a Depto. de Ing. Geomática, Hidráulica y Geografía, DI, Campus Guanajuato, Univ. de Guanajuato, Guanajuato, Gto., 36000, México. ^b Depto. Ing. Civil y Ambiental, DI, Campus Guanajuato, Univ. de Guanajuato, Guanajuato, Gto., 36000, emsbrito@gmail.com ^c Depto. de Ingeniería, Universidad Iberoamericana de León, 37238, León, México. ^d Centro de Inv. Materiales Avanzados, CIMAV, Depto. de Medio Ambiente y Energía, Chihuahua, MÉXICO

Resumen

Los materiales naturales de bajo costo se han usado como bioadsorbentes, así como también la biomasa de hongos y bacterias, siendo una alternativa viable. El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad de diferentes agroresiduos como soporte y fuente de carbono para el crecimiento de consorcios microbianos como tratamiento de efluentes para la remoción de cromo hexavalente. Durante los ensayos con diferentes controles, los medios de soporte empleados como fuente de carbono con los consorcios bacterianos removieron el cromo hexavalente y presentaron crecimiento bacteriano. Se encontró que el medio de soporte que presenta mejor remoción de cromo hexavalente en un tiempo de 4 horas fue el pirul. Sin embargo, la cascarilla de arroz presentó un proceso de remoción más lento (96 horas) con posibilidad de que los microorganismos la utilicen como fuente de carbono para su crecimiento bacteriano.

Introducción

Dentro de los distintos metales pesados, el cromo hexavalente (Cr^{6+}) es descargado al medio ambiente a través de diversas aguas residuales, siendo entre las formas iónicas del Cr uno de los más tóxicos y con gran preocupación en la salud debido a su gran toxicidad y al incremento en sus niveles en el medio ambiente arriba de lo permitido (acuerde con la normatividad vigente) [1]. Para la remoción de estos iones en solución, se han utilizado metodologías convencionales, que, a pesar de ofrecer resultados satisfactorios en el tratamiento de este tipo de efluentes, presentan desventajas como remoción incompleta, altos costos energéticos o generación de lodos tóxicos [2]. Actualmente, numerosos materiales naturales de bajo costo poseen características adecuadas para ser usados como bioadsorbentes, entre estos se encuentran los residuos, o residuos agrícolas (AR) [3], los cuales se han convertido en una alternativa viable para ser utilizados en la mitigación de sitios contaminados por metales y/o metaloides.

Los AR son un tipo de materia orgánica rica en materiales lignocelulósicos; con un alto contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina, y subproductos de la cosecha o del procesamiento de los cultivos agrícolas; que incluye la paja, hojas y follaje, el bagazo, racimos y las cáscaras de los residuos de transformación agroindustrial [4,5]. Algunos de estos materiales poseen alto potencial para ser aprovechados en diferentes procesos que incluyen elaboración de nuevos productos, agregación de valor a productos originales y recuperación de condiciones ambientales alteradas. Sin embargo, algunos AR son simplemente eliminados al suelo por su alto contenido de humedad, de fácil degradación o que los altos costes del transporte inviabilicen su utilización.

La biomasa lignocelulósica está compuesta principalmente de polímeros de celulosa, hemicelulosas y lignina. La celulosa es un homopolímero formado por la unión de moléculas β -D-glucosa mediante enlaces β -1,4-o-glucosídico, la hemicelulosa es un heteropolisacárido compuesto por más de un tipo de monómeros ligados por enlaces β (1-4) formando cadena lineal-ramificada y las ligninas son polímeros fenólicos (*p*-cumarilo, coniferilo y los alcoholes sinapilo). En la biomasa lignocelulósica, la celulosa y la hemicelulosa están unidas mediante enlaces de hidrógeno y, los cuales realizan enlaces covalentes con la lignina, que le confieren gran resistencia a este material agroindustrial [4]. Además de diversas aplicaciones ya citadas para los AR, también se puede añadir su utilización como fuente de carbono, con especial atención aquí para los microorganismos heterotróficos. Este trabajo tiene como principal objetivo evaluar la capacidad de diferentes agroresiduos como soporte y fuente de carbono para el crecimiento de consorcios microbianos como tratamiento de efluentes para la remoción de cromo hexavalente.

Metodología

Obtención y preparación de los inóculos: Los inóculos de los consorcios originales (C33 y C55) fueron obtenidos desde los residuos industriales de la empresa QCM por Sandoval-Vergara [6], quién también obtuvo las condiciones óptimas de crecimiento para estos. Estos cultivos fueron recuperados en medio LB-modificado (LBM): el C55 con pH 8 y 2% NaCl y para C33 con pH7 y 4% NaCl. Después se centrifugó (8000 rpm/5 min.) la biomasa hasta obtener un concentrado de células y se estimó el número de éstas en la cámara de Neubauer (NB).

Preparación de los AR: Se trabajó con tres agro-residuos: cascarilla de arroz (CA), cascara de cacahuate (CC) y astillas de pirul (AP). Estos fueron previamente lavados, triturados, esterilizados en autoclave (20 min, 3 veces seguida a intervalos de 24 h y secados.

Preparación del medio de cultivo: Se preparó el medio mínimo M9 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 6g Na_2HPO_4 , 3g KH_2PO_4 , 10g NH_4Cl , 2mM MgSO_4 , 1mM CaCl_2 , 1 mL sol. Vitaminas y 1 mL de solución de oligoelementos; suplementado con 1 y 2% de glucosa. Esterilizado en autoclave por 20 min.

Evaluación de los diferentes agro-residuos como soporte y fuente de carbono en el crecimiento de consorcios microbianos para la remoción de Cr (VI): Los experimentos se realizaron mediante procesos discontinuos a 37°C. Se prepararon tubos de cultivo de 40 mL de volumen útil, con 2 g del agro-residuo (CA, CC y AP) por triplicado y se esterilizaron durante 20 min. Para cada uno de los AR se preparó sus respectivos controles (C55, C33 y relación 2:1). Posteriormente, se adicionó un volumen de 20 mL del medio mineral mínimo M9 conteniendo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a una concentración final de $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para el caso de los controles sin Cr (VI) se adicionó solamente medio mineral mínimo M9. Enseguida, se inoculó los sistemas con C55, C33 y la mezcla 2:1 con una concentración final de células de $1 \times 10^7 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$. En la tabla 1, se muestran las condiciones de operación de los distintos controles y el volumen de inóculo.

Tabla 1. Condiciones de operación de los distintos sistemas. Medio de cultivo M9, volumen de inóculo con una concentración final de células 1×10^7 y el Cr (VI) a una concentración final de $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Descripción de los sistemas	AR	Cr (VI)	Bacterias		
			C55 (12.57 μL)	C33 (9.43 μL)	2:1 (1.68: 0.622 μL)
Control Químico*		✓			
Adsorción al Soporte*	✓	✓			
Reducción* (biológica + adsorción)	✓	✓	✓	✓	✓
CB1* (red. por los consorcios sin FC)		✓	✓	✓	✓
CB2* (Crecimiento bact con FC)	✓		✓	✓	✓
FC*	✓				

*Q: Químico, S: Soporte, R: Reducción, CB1: Control Biológico 1, CB2: Control Biológico 2, FC: Fuente de Carbono

La determinación de la concentración de cromo total (cromo hexavalente) en las muestras se realizó por triplicado por la técnica de la difenilcarbazida [7]. El crecimiento bacteriano se determinó por medio del aumento de la turbidez del medio a un $\lambda = 600 \text{ nm}$ (D.O.₆₀₀) con el espectrofotómetro UV/visible (UNICO mod. 1100).

Determinación del Cr total: Al término de los experimentos se separó el medio líquido de los soportes y de la biomasa bacteriana, se acidificó con HCl (0.1 M), y se determinó el Cr total (CrT) residual por medio de espectrometría de absorción atómica (VARIAN AA240FS, *fast sequential Atomic Spectrometer*, USA).

Resultados y Discusión

Para verificar el potencial de los AR estudiados como fuente de carbono para los microorganismos de los consorcios C55, C33 y mezcla 2:1 se utilizaron sistemas con el medio mineral mínimo M9 sin ninguna FC además de los AR. Al comparar los resultados del conjunto de datos CB2 con FC de la figura 1, donde CB2 se inoculó los microorganismos (sin cromo) y en FC que no contiene ni los microorganismos ni el Cr, se observa que únicamente el CA favoreció el crecimiento bacteriano. Respecto al crecimiento bacteriano de los consorcios (C55, C33 y mezcla 2:1) con los agro-residuos en presencia de Cr (VI) se enseña en el grupo nombrado R y se lo compara con sus respectivos controles, CB1 y CB2 (Figura 1). Vale destacar que comportamientos similares se observaron para los tres consorcios con la CA como fuente de carbono. Para este AR se observó que el crecimiento bacteriano en R (igual que en CB2) tuvo un máximo en un tiempo de 72 horas. Estos resultados sugieren que el soporte CA está siendo tomado como fuente de carbono. También se puede observar que en el CB1 el comportamiento en el aumento de la DO₆₃₀ es similar a de los sistemas FC, con crecimiento lento o nulo, por la falta de la fuente carbono. En contrapartida, en los sistemas con el AP y CC como fuente de carbono se observa que los resultados del crecimiento bacteriano estuvieron siempre similares y dentro de los mismos rangos que del conjunto de datos FC, sugiriendo ausencia de crecimiento bacteriano, en el tiempo del experimental, que fue 72 h para CA, 48 h para el CC y 24 h para el AP, tiempo en que desapareció todo el Cr (VI) del medio.

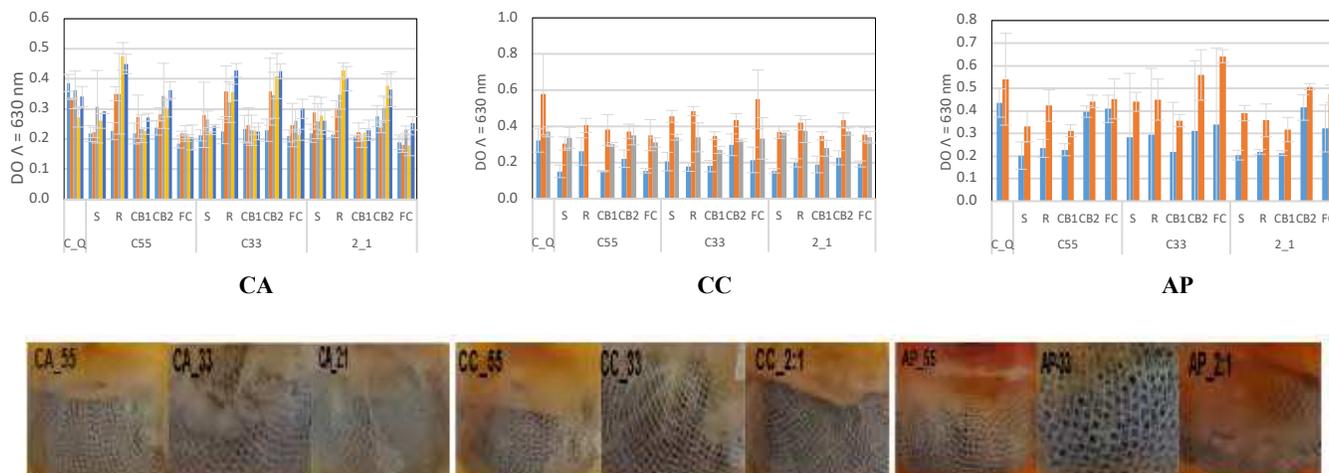


Figura 1: Crecimiento bacteriano en los diferentes agro-residuos con el consorcio C33 y C55 y, su mezcla 2:1(C55:C33) en tiempo 0(--□--), 24(--□--), 48(--□--), 72(--□--), 96(--□--). Identificación de los sistemas: CA, cascarilla de arroz, CC, cascarilla de cacahuate, AP, astilla de Pirul. Abajo se enseña fotos de estos sistemas, inoculados en medio rico LB y sin Cr (VI).

Adicionalmente se estudió el comportamiento y habilidad de los diferentes consorcios en disminuir el Cr (VI) del medio (Figura 2), exponiendo estos a una concentración de $K_2Cr_2O_7$ de $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para esto se comparan los sistemas R y S, que son sistemas con bacteria y sin bacteria, respectivamente, con los diferentes AR como fuente de carbono. El control para este grupo es el sistema Q, sin microorganismos ni AR. En los sistemas con la CA el porcentaje de remoción a las 72h estuvo entre 88.4 al 96.6%, llegando a un 100% de remoción hasta las 96 h. Por otra parte, en S (solo soporte y Cr) la remoción del ion de la solución fue a un máximo de 75%. Esto está indicando que la CA funciona como material adsorbente para el Cr (VI), pero dicha absorción es de forma lenta y no al 100%. En lo que se refiere al control CB1, también se observó una ligera disminución del Cr (VI) del medio, pero como en estos sistemas no se adicionó una FC para estimular la actividad metabólica, no ocurrió el crecimiento bacteriano y, por lo tanto, no pudo actuar en la disminución del Cr presentando un comportamiento similar al de los controles Q. En los sistemas con el agro-residuo CC la eficiencia en disminuir el Cr (VI) del medio, o sea, sistemas S y R) fue similar para los diferentes consorcios (C55, C33 y su mezcla 2:1). En el caso del C55 y la mezcla 2:1, la remoción total del ion fue a las 24 horas, en comparación con el C33 que fue a las 48 horas. En cuanto a los sistemas con las AP, en los controles S y R de los consorcios (C55, C33 y su mezcla 2:1) presenta una remoción entre el 88 al 99.25% a partir de las 3 horas. Al término de los experimentos, se determinó que la concentración residual de CrT en el medio de cultivo (tabla 2). En el caso del agro-residuo CA los valores de CrT en los sistemas R estuvieron muy bajos ($1.7\text{-}2.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y en los sistemas S entre 8.7 y $24.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para los agro-residuo CC y AP no se observó diferencias en la concentración de CrT residual en S y R, con valores variando 0.15 y $2.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para el agro-residuo CC y entre 0.3 a $8.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para AP. En todos los casos (Ca, CC y AP) los resultados sugieren que el ion esté siendo adsorbido sea por la biomasa bacteriana o por el AR.

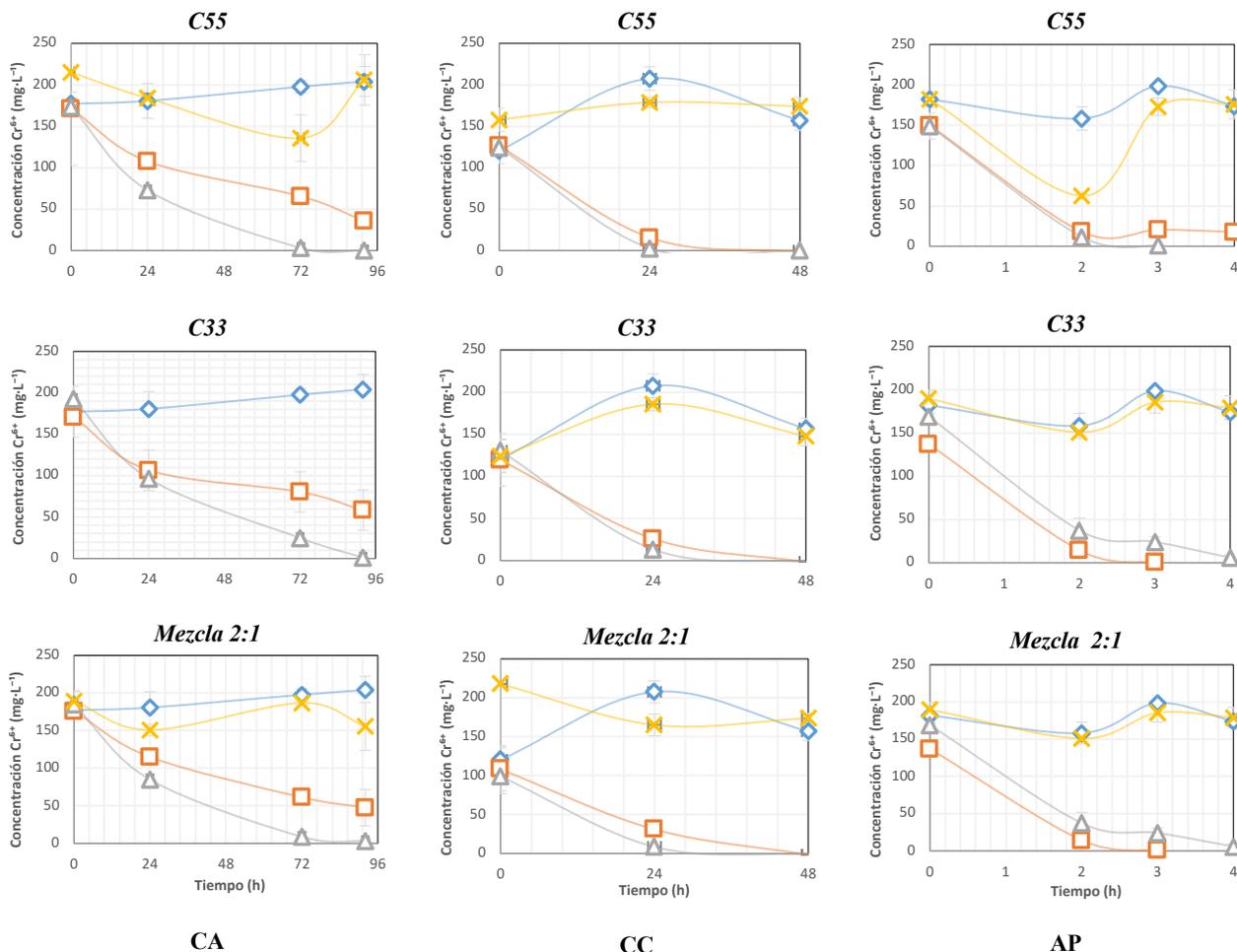


Figura 2: Comportamiento de la disminución del Cr en los diferentes agro-residuos con el consorcio C33 y C55 y, su mezcla 2:1(C55:C33) en los controles C_Q (---◇---), S (---□---), R(---△---) y CBI(---X---).

Tabla 2. Concentración residual del CrT en los distintos sistemas (CA, CC, AP).

Sistema Consortio	CA		CC		AP	
	S	R	S	R	S	R
C55	15.6 ± 2.16	1.73 ± 0.06	2.15 ± 0.05	2.40 ± 0.35	0.34 ± 0.05	0.24 ± 0.01
C33	2.60 ± 0.28	2.41 ± 0.01	0.16 ± 0.06	0.28 ± 0.08	0.28 ± 0.05	0.35 ± 0.02
Mezcla 2:1	18.89 ± 0.13	1.93 ± 0.34	0.15 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.29 ± 0.01	13.19 ± 3.56

*S: Soporte, R: Reducción

Conclusiones

Los diferentes biomateriales empleados mostraron capacidad de remoción de cromo hexavalente, con o sin la presencia de los microorganismos, probablemente por un proceso de adsorción. El agro-residuo que mostró más eficiente como fuente de carbono para el crecimiento de los consorcios bacterianos fue la CA.

Referencias

1. Barnhart, J. (1997). Occurrences, uses and properties of Chromium, *Regulatory toxicology and pharmacology*. 26, S3–S7; N° RT971132.
2. Fu, F. & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metals ions from wastewaters: a review. *Journal Environmental Management*, 92, 407-418.
3. Sud, D., Mahajan, G. & Kaur, M.P. (2008). Agricultural waste material as potential adsorbent for sequestering heavy metal ions from aqueous solutions. A Review. *Bioresource Technology*, 99, 6017-6027.
4. Corredor, Y. A. V., & Pérez, L. I. P. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 59-72.
5. Magalhães Jr, A. I., de Carvalho, J. C., de Melo Pereira, G. V., Karp, S. G., Câmara, M. C., Medina, J. D. C., & Soccol, C. R. (2019). Lignocellulosic biomass from agro-industrial residues in South America: current developments and perspectives. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 13(6), 1505-1519. <https://doi.org/10.1002/bbb.2048>
6. Sandoval-Vergara M. Capacidad de una cepa bacteriana aislada de un residuo industrial contaminado por metales pesados para disminuir la concentración de Cr (VI) del medio. Tesis para la obtención del título de Maestría en Ciencia del Agua, Universidad de Guanajuato. (2020). 86pp
7. Norma Mexicana NMX-AA-044-SCFI-2014. Norma Mexicana para el análisis del agua: mediciones de Cromo Hexavalente en aguas naturales, salinas, residuales y residuales tratadas. Método de prueba que cancela la NMX-AA-044-SCFI-2001.