

CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS METALORESISTENTES DE EFLUENTES INDUSTRIALES DE LA CIUDAD DE LEÓN, GTO

Rosales Fernández, Sandra Leticia (1), López Almanza, Erick Rodolfo (2)

1 [Licenciatura en Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo] | [ambiental.sandra@outlook.es]

2 [Coordinación de Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo] | [erick.almanza@tecabasolo.edu.mx]

Resumen

En los efluentes industriales se pueden llegar a encontrar distintos tipos de metales pesados ya que muchas veces son vertidos sin un tratamiento previo. La ciudad de León, Guanajuato se caracteriza por ser el punto más importante de tannerías del país además de poseer una gran cantidad de industrias del ramo metal mecánico; los residuos generados por este tipo de procesos pueden llegar a los arroyos y ríos que atraviesan este municipio afectando la flora y fauna del lugar. En este trabajo se caracterizaron microorganismos con capacidades de remediación de metales pesados, para esto; se tomaron varias muestras de agua de un arroyo del municipio de León, Guanajuato para llevar a cabo una caracterización fisicoquímica del agua, encontrándose la presencia de Cr⁺⁶, Cd y Cu. Posteriormente se realizó un aislamiento y caracterización microbiana utilizando medios con concentraciones conocidas de los metales encontrados para realizar el “screening” de bacterias metaloresistentes. Utilizando ABIS® online se determinaron como cepas más probables *Staphylococcus carnosus subsp.utilis*, *Bacillus tequilensis*, *Viridibacillus neidei*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus carboniphilus*. Estos microorganismos representan una gran oportunidad biotecnológica para poder usar en procesos biológicos de remediación.

Abstract

In industrial effluents can be found different types of heavy metals and are often dumped without prior treatment. The city of Leon, Guanajuato is characterized by being the most important point of tanneries of the country besides owning a great amount of industries of the branch mechanical metal; the waste generated by this type of process can reach the streams and rivers that cross this municipality affecting the flora and fauna of the place. In this work, microorganisms with heavy metal remediation capabilities are characterized for this; took several water samples from a stream in the municipality of León, Guanajuato to carry out a physical and chemical characterization of the water, finding the presence of Cr + 6, Cd and Cu. Subsequently an isolation and microbial characterization were carried out using media with known concentrations of the metals found to carry out the screening of metaloresistant bacteria. Using ABIS® online, *Staphylococcus carnosus subsp.utilis*, *Bacillus tequilensis*, *Viridibacillus neidei*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus carboniphilus* were determined as the most likely strains. These microorganisms represent a great biotechnological opportunity to be used in biological remediation processes.

Palabras Clave

Reducción de metales; Metales pesados; Biorremediación in situ; Metaloresistentes

INTRODUCCIÓN

Contaminación

Actualmente la mayoría de las actividades productoras generan contaminantes, los más comunes en agua son patógenos, metales pesados, pesticidas y materia orgánica; debido a estos factores se origina la pérdida de la calidad del agua. En ocasiones el agua residual industrial se infiltra a los acuíferos contaminando los mantos freáticos. Las principales industrias que producen altos niveles de contaminación son la tenería y química [1].

Contaminación por metales pesados

El daño causado en el ambiente por metales pesados causa daños a la flora y en algunos casos muerte de especies, para el ser humano los daños que se producen en el metabolismo son mayores dependiendo la dosis de exposición y el tiempo de contacto, sus daños son irreversibles a nivel celular y físico, algunos de estos daños son:

Cadmio: Diarreas, dolor de estómago, vómitos severos, fracturas de huesos, fallos en la reproducción con posibilidad incluso de infertilidad, daño al sistema nervioso central, daño al sistema inmune, desordenes psicológicos, posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer [2].

Cobre: Irritación (nariz, boca y ojos), dolor de cabeza, mareos, vómitos, diarreas, daño al hígado, daño a los riñones, dolor de estómago, disminución de la inteligencia en adolescentes, y la muerte [3].

Cromo: erupciones cutáneas, malestar de estómago, úlceras, problemas respiratorios, debilitamiento del sistema inmune, daño en riñones e hígado, alteración del material genético, cáncer de pulmón y muerte [4].

Datos de tenerías en la ciudad de León.

Como parte del programa permanente de monitoreo por parte del gobierno municipal de León, se evaluó a 50 empresas que habían cumplido con la normativa ambiental y por lo tanto aún permanecían dentro de la mancha urbana,

estas tenerías están conectadas a la red de drenaje. De los 50 establecimientos monitoreados, 15 ya no tenían posibilidad de hacer descargas que sobrepasaran los límites máximos permisibles establecidos en el reglamento de los servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento para el municipio de León, Guanajuato; 4 permanecían en proceso legal. En total son treinta y una curtidorías las que aún permanecen en constante monitoreo por parte del organismo de fiscalización ecológica del Sistema de Agua Potable y Alcantarillado de León (SAPAL), con el propósito de evitar que incurran en prácticas contaminantes. De las 50 tenerías solo 10 empresas firmaron un convenio en el que se comprobó la desinstalación de la maquinaria con la que se realiza el "wet-blue", proceso en el que son utilizadas grandes cantidades de cromo y sulfuro [5]. El estado de Guanajuato es el mayor productor a nivel nacional de pieles, ya que genera alrededor del 65% del curtido y acabado de cuero. En la ciudad de León existen más de 500 tenerías y constituye la principal actividad económica [6].

Porcentaje de insumos utilizados para el curtido al cromo

El curtido al cromo, es la reacción de la piel con las sales de cromo, las cuales dan alta estabilidad a la estructura fibrosa. El producto químico utilizado en cantidades del 6% al 8% es el sulfato básico de cromo ($2Cr(OH)SO_4$) en porcentajes sobre peso piel en tripa establecido en el manual de procedimientos para el manejo adecuado de los residuos de la curtidoría de SEMARNAT [6].

Plantas de tratamiento de aguas en León

En León ya son tratadas el 100% de las aguas negras urbanas: el 90% en la planta de tratamiento de aguas residuales municipal (PTARM) y el resto en las diferentes plantas periféricas urbanas y rurales. El municipio de León cuenta con un total de 33 plantas de tratamiento incluyendo las rurales operadas por SAPAL, propias y municipales.

A un costado de la Planta Municipal de León se encuentra el sitio para el tratamiento de aguas residuales industriales provenientes de los parques autorizados, llamado Módulo de desbaste [7].

OBJETIVO

Los metales pesados pueden llegar a tener impactos tóxicos en los seres humanos y el medio ambiente, por tal motivo se realizó un aislamiento y caracterización de microorganismos con capacidad de fijar los metales cadmio, cobre y cromo de un efluente industrial de la ciudad de León, Guanajuato, la información que se obtenga se puede utilizar para diseñar un posible tratamiento biológico y disminuir su presencia en aguas residuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se efectuó un muestreo simple en dos puntos diferentes del Río Turbio, ubicado en la ciudad de León, Guanajuato en base al protocolo establecido en la NMX-AA-003-1980. La muestra que se tomó es de un afluente que arrastra consigo las aguas residuales de industrias curtidoras, automotriz, de manufactura y entre otras industrias de este municipio. Para la caracterización de aguas residuales, se determinaron los parámetros químicos mediante el medidor multiparámetros Hanna Instruments (HI 9829 ®), se analizaron los siguientes parámetros: Mini volts de pH, potencial de hidrogeno, saturación de mini volts, oxígeno disuelto, concentración de oxígeno disuelto, conductividad, conductividad absoluta, resistividad, sólidos totales suspendidos, salinidad, presión, turbiedad. A la par se realizó la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la determinación de las concentraciones de Cadmio (Cd), cobre (Cu) y cromo (Cr) en el laboratorio certificado ECOLABORATORIOS S. A. de C. V.

En base a lo establecido en la NOM-001-SEMARNAT-1996 se tomó en consideración los límites máximos permisibles para Cd (0.4 mg/L), Cu (6 mg/L), Cr⁺⁶ (5 mg/L) y DBO (200mg/L) en río de uso de riego agrícola para establecer las concentraciones a utilizar para los medios de cultivos. Se realizó el aislamiento de microorganismos presentes en las muestras de agua inoculando medios de cultivo que contenían diferentes concentraciones de Cr, Cu y Cd; 10, 30 y 50% para cada metal en siete repeticiones, se incubaron durante 72 horas, esto para llevar a cabo la caracterización macroscópica y microscópica para su subsecuente identificación. Para la caracterización se realizaron pruebas

Gram, la prueba de fermentación de carbohidratos, prueba de citrato, prueba de Voges Praskauer, reacción de rojo de metil, prueba de agar triple azúcar-hierro, prueba de agar lisina hierro y la prueba de catalasa. Los resultados de estas pruebas se introdujeron al programa ABIS Online® con el cual se identificaron las cepas más probables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos del analisis que se mando a hacer a ECOLABORATORIOS S.A. de C.V.

Tabla 1: Análisis de metales

DBO	40.53 mg/L
Cromo hexavalente	< 0.1 mg/L
Cadmio	0.093 mg/L
Cobre	0.1215mg/L

En la Tabla 2. se muestran los resultados obtenidos con el medidor multiparametros HI 9829 ®.

Tabla 2: Resultados del punto 1 de muestreo.

Parámetro	Valor
Concentraciones de iones (ISE)	-47 Mini volts de pH
pH	7.71 Mini volts de pH
Potencial de reducción de oxidación (ORP)	138 Mini volts de saturación
% de saturación de oxígeno disuelto	35.2%
Concentración de oxígeno disuelto	2.36 ppm (mg/L)
Determinación de materia flotante	Si hay presencia
Sólidos sedimentables	P1= 2 mL/L ; * P2= 5 mL/L
Color	P1= Traslucido ; *P2=Amarillo
Conductividad	563 microsiemens (mS) / cm
Conductividad absoluta	564 mS / cm
Resistividad	0.0018 mΩ• cm
Sólidos totales suspendidos	271 ppm. TCK
Salinidad	0.26 PSU
Temperatura	25.55 °C
Presión	12.074 Psi
Turbiedad	2.3 FNU (Unidades Nefelométricas)

En la IMAGEN 1 se muestra el crecimiento bacteriano de las 11 cepas aisladas en concentraciones de 10, 30 y 50 % para cada metal; se seleccionaron las cepas 4, 6 y 8 para su caracterización ya que mostraron un mejor crecimiento en altas concentraciones de los metales.

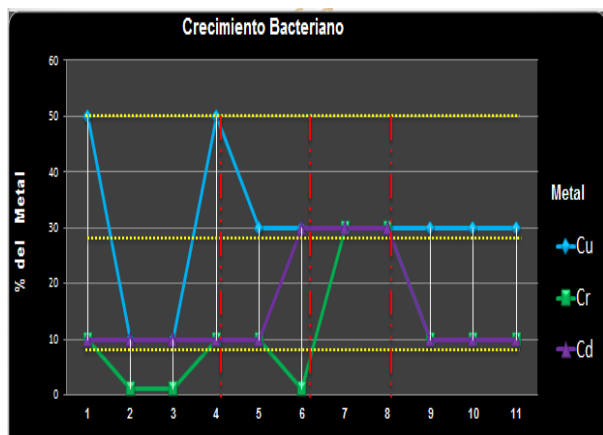


IMAGEN 1: Grafica de crecimiento bacteriano, la imagen muestra la cepa aislada contra el porcentaje de metal.

En la Tabla 3. se muestra el comportamiento de las cepas bajo las distintas concentraciones de los metales usados.

Tabla 3: Crecimiento poblacional bacteriano

# cepa	Crecimiento bacteriano								
	Cu			Cd			Cr		
	1 m/l	3 m/l	5 m/l	1 m/l	3 m/l	5 m/l	1 m/l	3 m/l	5 m/l
Punto de muestreo 2									
1	XM	XM	XB	XB			XA		
2	XM						XM		
3	XM						XM		
4	XA	XM	XB	XM			XA		
5	XA	XB		XB			XA		
6	XA	XB					XA	XB	
7	XM	XB		XM			XM	XB	
Punto de muestreo 1									
8	XM	XB		XA	XM		XM	XB	
9	XA	XM		XM			XM		
10	XM	XB		XM			XB		
11	XA	XM		XM			XA		

A= Alto, M= Medio, B= Bajo; X= Aparición de crecimiento bacteriano. Cepas seleccionadas para su identificación. ■

En la Tabla 4. se muestran los resultados de las pruebas bioquímicas.

Tabla 4: Pruebas bioquímicas

#Cepa	Metal	Gram	Fermentación de carbohidratos	Citrato	VP	RM	TSI	LIA	CATALASA
4	Cr	+	-K	+	+	+	K/A	K/K	+
4	Cd	+	-K	+	+	+	K/A	K/K	+
4	Cu	+	-K	+	-	-	K/A/H ₂ S	K/N	+
6	Cu	+	+A	+	+	+	A/A	K/A	+
6	Cr	+	+A	-	+	+	A/A	K/A	+
8	Cr	+	-K	-	-	-	K/A/H ₂ S	K/N	+
8	Cd	+	-K	+	-	-	K/A/H ₂ S	K/N	+
8	Cu	+	-K	+	-	-	K/A/H ₂ S	K/N	+

k=Alcalino, A= Acido, N= Neutro.

(-)=Negativo, (+)= Positivo.

LIA: K/K= Descarboxilación, k/A= No desaminación, H₂S=Ácido sulfúrico.

TSI: K/A= Fermentación de glucosa, A/A= Fermentación de glucosa y Lactosa, K/K= No fermentación.

En la Tabla 5. se muestran los resultados obtenidos del programa ABIS Online®

Tabla 5: Cepas caracterizadas.

#	1	2	3	4
Cr; Cd. #4	<i>Staphylococcus carnosus</i> subsp. <i>utilis</i> (99%)	<i>Staphylococcus carnosus</i> subsp. <i>utilis</i> (99%)	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i> (87%)	<i>Macrocooccus brunensis</i> (81%)
Cu. #4	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>Urealyticus</i> (81%)	<i>Staphylococcus felis</i> (81%)	<i>S. cromogenes</i> (75%)	<i>S. Hyicus</i> (75%)
Cr; Cu. #6	<i>Bacillus tequilensis</i> (99%)	<i>Bacillus subtilis</i> (possibility of <i>B. atrophaeus</i>) (94%)	<i>Bacillus licheniformis</i> (85%)	<i>B. Thuringensis</i> (85%)
Cr. #8	<i>Viridibacillus neidei</i> (99%)	<i>Bacillus carboniphilus</i> (94%)	<i>Bacillus farraginis</i> / <i>B. fordii</i> / <i>B. fortis</i> (84%)	<i>Bacillus gelatini</i> (84%)
Cd; Cu. #8	<i>Brevibacillus brevis</i> (88%)	<i>Bacillus gelatini</i> (84%)	<i>Bacillus smithi</i> (84%)	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> (83%)

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se demostró que efectivamente hay la presencia de bacterias en efluentes industriales capaces de resistir altas concentraciones de metales, en específico de Cd, Cu y Cr las cuales además se mantuvieron en concentraciones de pH ácido. Los resultados de la calidad del agua demostraron que efectivamente hay la presencia de metales en el agua residual de la ciudad de León, Gto., con respecto a las bajas concentraciones de estos, esto puede deberse a un proceso de biorremediación intrínseca por las bacterias presentes en estos efluentes. Las cepas que se identificaron se pueden utilizar en la formación de bio membranas para la retención de metales pesados dando un tratamiento biológico para estabilizarlos y reintegrarlos en menor toxicidad, esto se podría llevar a cabo implementando un tratamiento de aguas residuales mediante biodiscos, este procedimiento es efectivo para pequeñas poblaciones, industrias, curtidoras, etcétera; cuyos efluentes tengan una carga orgánica. Otra posible aplicación es en el diseño y construcción de biosensores para la identificación de estos iones metálicos en aguas residuales.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi profesor investigador, el maestro Erick Rodolfo López Almanza, por apoyarme y guiarme para hacer posible este trabajo, así como al Instituto Tecnológico Superior de Abasolo por facilitarme el uso de las instalaciones y equipo necesarios para este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Organización de las naciones unidas para la educación, la ciencia y la cultura. (2009), Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos. Recuperado de <http://www.unesco.org/new/es/natural-sciences/environment/water/wwap/facts-and-figures/all-facts-wwdr3/fact-36-industrial-wastewater/>
- [2] LENTENCH. (2008). Efectos ambientales del cadmio. Recuperado de <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cd.htm>
- [3] LENNTECH. (2017). Efectos ambientales del cobre. Recuperado de <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cu.htm>

[4] LENNTECH. (2017), Cromo. Recuperado de <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cr.htm#Efectos%20del%20Cromo%20sobre%20la%20salud>

[5] SAPAL. (30 de Mayo de 2014). Vigila Sapal tenerías que aún permanecen en la zona urbana, comunicado 106-14. Recuperado de <http://www.sapal.gob.mx/noticia/52>

[6] INECC, SEMARNAT. (1999). Manual de procedimientos para el manejo adecuado de los residuos de la curtiduría. Recuperado de <http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/122>

[7] SAPAL. Informe de resultados (2013-2016). Agua siempre y para todos. Recuperado de <http://www.sapal.gob.mx/media/files/1456268400-Informe%20Consejo%202013-2016.pdf>