© Ministerio del Ambiente. Dirección General de Investigación e Información Ambiental
Memoria Segundo Encuentro de Investigadores Ambientales
3-5 de julio de 2013 (Arequipa, Perú)

BIODEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES CONTAMINADAS CON CROMO (III) Y (IV) UTILIZANDO MICROFLORA NATIVA AISLADA Y CARACTERIZADA PROVENIENTES DEL PARQUE INDUSTRIAL RÍO SECO (PISRS) DE LA CIUDAD DE AREQUIPA

BIODEPURATION OF INDUSTRIAL WASTEWATER CONTAMINATED WITH CHROMIUM (III) AND (VI) USING ISOLATED AND CHARACTERIZED NATIVE MICROFLORA FROM THE RIO SECO INDUSTRIAL PARK (PIRS), AREQUIPA

Roque R. F., Prado D. & Ruiz de Somocurcio F.

Resumen

En este trabajo se depuró parcialmente aguas residuales industriales altamente contaminadas con Cromo (iii) y (vi) del parque industrial de Río Seco de la ciudad de Arequipa, utilizando microflora bacteriana nativa de este cuerpo de agua contaminado. Para conseguir este objetivo se obtuvieron muestras representativas de estas aguas contaminadas y se lograron aislar y caracterizar morfológica y bioquímicamente seis diferentes cepas bacterianas: *Streptococcus sp., Kingella kingae, Salmonella aryzonae, Klebsiella ozaenae, Staphylococcus capitis y Corynebacterium aquaticus* las cuales fueron adaptadas a concentraciones por arriba de los khjkjkjkhkhhokokiju de cromo total para conseguir máxima respuesta cuando fueron expuestas a las concentraciones del metal en las aguas residuales estudiadas. El contenido de metales pesados, incluyendo Cr (iii), Cr (vi) y Cromo total antes y después de la biodepuración fue obtenida por espectroscopía de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (icp-oes). Las muestras de agua cruda residual mostraron, en promedio, pH 10.1 resultando ser altamente alcalinas, 300 mS/cm de conductividad, 326.6 ppm de tds y +349.7 de orp monitoreados por un multiparámetro Hanna HI 9828 y un contenido inicial de 24.2 ppm de Cr(iii), 11.3 ppm de Cr(vi) y 34.8 de Cr total; además de contenidos significativos de Pb(ii) y Cd(ii) —6.71 y 4,49 ppm, respectivamente—, lo cual demostró alta contaminación en las aguas residuales del pirs. Las cepas bacterianas aisladas y adaptadas a altas concentraciones de cromo fueron inoculadas en forma individual en una batería de seis celdas de 890 mL de capacidad total con 700 mL de agua cruda residual y con funcionamiento aeróbico con una alta tasa de velocidad de transferencia de oxígeno (otr>15 mgO2/s) obtenida por burbujeo intenso de aire estéril para asegurar crecimiento microbiano y a temperatura constante de 25±0,1°C en un baño termostático por 76 horas. Se demostró, después de este período la depuración parcial de las aguas crudas utilizadas de hasta un 89% de degradación de Cr(iii) y Cromo total (2.66 ppm y 3.82 ppm final) cuando se utilizó *Corynebacterium aquaticus* siendo ésta la de mejor performance comparada con las otras cepas aisladas. Del mismo modo se determinó reducción en contenido de plomo y cadmio así como en todos sus parámetros fisicoquímicos analizados logrando un pH final de 7.3 y una reducción hasta 25.7 ppm de tds y una reducción de su turbidez significativa concluyendo que la biodepuración y tratamiento por vía biotecnológica de estas aguas residuales industriales es factible y altamente eficiente con bajo consumo energético. Finalmente, la disposición experimental utilizada podría ser escalada para tratar mayor cantidad de aguas residuales y se esperaría también que la performance de consorcios bacterianos aumentaran la eficiencia de este novedoso procedimiento.

Palabras claves: Biodepuración, Aguas residuales industriales, Cromo, pirs, *Corynebacterium aquaticus*

Abstract

Industrial wastewater highly polluted with Chromiun (iii and vi) from pirs (Río Seco Industrial Park) were partially purified using native bacterial microflora from this contaminated body of water. To achieve this goal, representative samples of these contaminated waters were collected and six different strains of bacteria were characterized as through physiological and biochemical analysis: *Streptococcus sp. Kingella kingae, Salmonella aryzonae, Klebsiella ozaenae, Staphylococcus capitis* and *Corynebacterium aquaticus* which were adapted at concentrations above the maximun permissible limit of total chromium for maximum response when exposed to metal concentrations in wastewater studied. The measurement of heavy metals, including Cr (iii), Cr (vi) and total chromium before and after the biodepuration was obtained by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (icp-oes). The raw wastewater samples showed pH 10.1 which was highly alkaline, conductivity of 300 mS/cm, tds of 326.6 ppm and orp of +349.7 monitored by a Multiparameter Hanna HI 9828 and an initial content of 24.2 ppm of Cr (iii), 11.3 ppm of Cr (vi) and 34.8 total

Cr in addition to significant concentrations of Pb (ii) and Cd (ii) –6.71 and 4.49 ppm, respectively, showing high contamination of PIRS wastewater. Bacterial strains isolated and adapted to high concentrations of chromium were inoculated individually into a six-cell battery of 890 mL. with a 700 mL. Raw wastewater capacity through an aerobic reaction with a high oxygen transfer (OTR> 15 mgO2/s) obtained by intense bubbling of sterile air to ensure microbial growth and a constant temperature of 25 ± 0.1°C in a thermostatic bath for 76 hours. The process resulted in the partial purification of the raw wastewater, showing-up to 89% degradation of Cr (III) and total Chromium (2.66 ppm and 3.82 ppm final) when using *Corynebacterium aquaticus,* which showed the best performance compared to the other isolates. Similarly, lead and cadmium content was also reduced as well as physicochemical the other parameters analyzed, achieving a final pH of 7.3 and a reduction to TDS of 25.7 ppm and significantly reduced turbidity. The biodepuration of these industrial wastewaters is feasible and highly efficient. The experimental setup used in this study scalable to higher quantities of wastewater and is expected that the performance of bacterial consortia could increase the efficiency of this novel procedure.

Keywords: Biodepuration, industrial wastewater, Chromium, PIRS, *Corynebacterium aquaticus*

Introducción

El Parque Industrial de Río Seco de Arequipa presenta gran actividad industrial en el rubro de curtiembres y genera altos caudales de efluentes líquidos altamente contaminados fisicoquímica y microbiológicamente y se ha detectado una alta concentración en cromo total reactivo, los cuales son almacenados en lagunas de oxidación superficiales generando eutrofización de suelos y lixiviación del metal con destino incierto hacia otros cuerpos ambientales, por lo que representa un problema con serio impacto ambiental en nuestra ciudad ya que es altamente tóxico y carcinogénico [4]. La capacidad biodepuradora de metales pesados en aguas residuales por parte de cepas microbianas ha sido empleada por otros investigadores con relativo éxito [3.5], por lo que el aislamiento y aplicación de este material biológico de su propio hábitat altamente poluto resulta factible para limpiar esta clase de efluentes industriales. Este método es práctico e innovador. ya que adapta y altera la ruta metabólica natural para el consumo de iones y radicales metálicos contaminantes tipo A. (EPA, 2012).

En el presente trabajo se ha estudiado la depuración biológica parcial de Cr (III) y Cr (VI) de estos efluentes contaminados utilizando microflora bacteriana nativa aislada de su propio hábitat en ambientes de laboratorio controlados para obtener su máxima performance, generando así una tecnología no convencional para la depuración de estos cuerpos de agua residual de origen industrial e implementando una tecnología limpia en su desarrollo.

La secuencia metodológica consistió en la obtención de muestras de estas aguas crudas, su caracterización fisicoquímica y microbiológica, el aislamiento y caracterización bioquímica de microflora bacteriana nativa, su adaptación a altas concentraciones de Cr(III), Cr(VI) y cromo total y, finalmente, la depuración biológica de las aguas crudas en ambiente controlado para conseguir la remoción de contaminantes y, específicamente, de cromo como metal pesado, tóxico, permanente.

Resultados de la investigación

Caracterización de muestras de agua cruda de la laguna de oxidación del PIRS

Las muestras de agua cruda se obtuvieron en cuatro diferentes zonas de la laguna de oxidación del PIRS (Figura 1) que permitió afirmar la existencia del problema y asegurar la significación estadística. Se determinó, en promedio, los siguientes parámetros físicoquímicos que lograron su caracterización: a) color verde intenso característico; b) pH de 10.1 que mostró alta alcalinidad; c) 300 mS/cm de conductividad; d) 326.6 ppm de sólidos totales disueltos; y e) potencial de óxido reducción de + 349.7 que permitió definir la alta reactividad en el medio acuoso. El análisis por ICP determinó un contenido de 24.2 ppm de Cr(III), 11.3 ppm de Cr(VI) y 34.8 de Cr total; además de contenidos significativos de Pb(II) y Cd(II) —6.71 y 4.49 ppm, respectivamente—, lo cual demostró la alta contaminación en las aguas residuales del PIRS.

Figura 1. Zonas muestreadas en la laguna de oxidación del Parque Industrial de Río Seco, distrito de Cerro Colorado. Arequipa. Cada muestra consistió en 1,000 ml, se conservaron refrigeradas a 4° C para su respectivo análisis y se obtuvieron por triplicado en cada zona para asegurar una homogenización en la muestra poblacional.

Aislamiento e identificación de cepas bacterianas nativas de aguas crudas de la laguna de oxidación del PIRS resistentes a cromo

Se consiguió aislar seis diferentes cepas bacterianas nativas procedentes de las muestras de agua cruda recolectadas. El aislamiento se realizó en medio del cultivo Plate Count, suplementado con cromo trivalente (100 µg/mL), antifúngico (anfotericina B; 1.5 µg/mL) y antibióticos (amoxicilina y dicloxacilina; 5 µg/mL). La identificación microbiológica [2] se realizó utilizando pruebas bioquímicas (catalasa, TSI, oxidasa, hemólisis, coagulasa, LIA, rojo de Metilo, Voges-Proskauer, indol, úrea y motilidad). La Tabla 1 presenta la morfología e identidad de las cepas bacterianas nativas con resistencia al cromo total determinadas en este estudio.

Tabla 1
Morfología e identidad de las cepas nativas aisladas

Forma celular	Gram	Microorganismo identificado
Cocos	Positivos	*Streptococcus sp*
Cocobacilos	Negativos	*Kingella kingae*
Cocos	Positivos	*Staphylococcus capitis*
Bacilos	Negativos	*Klebsiella ozaenae*
Bacilos	Positivos	*Corynebacterium aquaticus*
Bacilos	Negativos	*Salmonella aryzonae*

Adaptación de las cepas aisladas

Las cepas bacterianas así aisladas y caracterizadas se adaptaron satisfactoriamente a diferentes concentraciones de cromo (VI) y Cromo (III). La experimentación se realizó a TP ambiental (22° C; 570 mmHg), utilizando un sistema hermético con agua residual estéril a la cual se le adicionó en forma creciente diferentes microvolúmenes de 10 µL de soluciones stock de dicromato (VI) de potasio 0.1M y sulfato básico de cromo (III) 0.1M, durante quince días, lo que permitió el aseguramiento de la supervivencia de este material biológico en ambientes sometidos a un alto grado de contaminación, tal como representan las aguas de la laguna de oxidación del PIRS estudiado (Figura 2). La concentración mínima inhibitoria conseguida estuvo en un rango 333.1 a 370.3 ppm de Cr(VI) y de 31.5 a 38.6 ppm de Cr (III) para todas las cepas estudiadas. La cepa que mostró mayor resistencia a cromo total resultó ser *Strepcoccus sp.* y, específicamente, para Cr (III) resultó ser *Kingella kingae.*

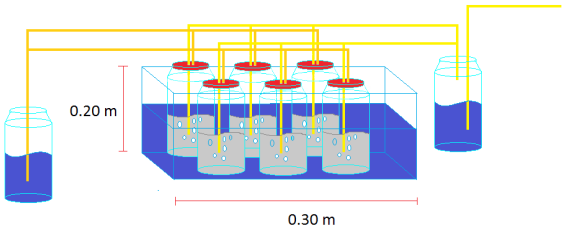

Figura 2. Configuración esquemática del sistema utilizado para la adaptación de las cepas bacterianas aisladas a altas concentraciones de cromo disuelto. La figura muestra la alimentación de aire estéril como fuente de oxígeno que aseguró condiciones aeróbicas de alta performance en cada celda, conteniendo caldo Plate Count que fue alimentada con inóculos de las cepas bacterianas aisladas. Las condiciones de operación consistieron en 25° C, pH 10, presión ambiental cercana a 570 mmHg.

Biodepuración de aguas crudas de la laguna de oxidación de PIRS en cromo (III), cromo (VI) y cromo total

Todas las cepas bacterianas así adaptadas fueron alimentadas individualmente en una batería de seis celdas (Figura 3) de 890 mL de capacidad totalmente construida en vidrio transparente de 3 mm de espesor con 700 mL de agua cruda residual, caracterizada y en cultivo aeróbico, sin ningún complemento adicional y con una alta tasa de alimentación de aire estéril. Esto aseguró una velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) mayor a 15 mgO_2/S, que se obtuvo por burbujeo intenso de aire suministrado por un compresor de una etapa, para asegurar el crecimiento microbiano, a una temperatura de 25±0.1°C en un baño termostático por 76 horas de operación.

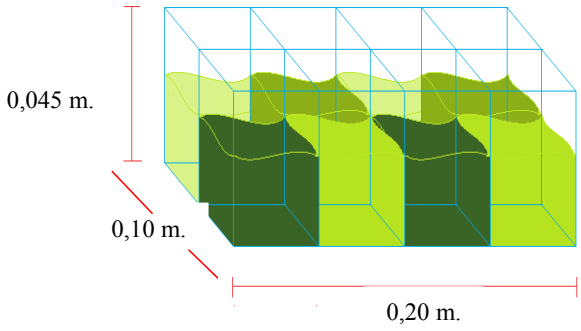

Figura 3. Configuración esquemática del sistema utilizado para la depuración de aguas residuales crudas de la laguna de oxidación del PIRS.

Después de este período, se demostró la depuración parcial de las aguas crudas utilizadas, hasta con un 89% de degradación de Cr(III) y cromo total (2.66 ppm y 3.82 ppm final) cuando se utilizó *Corynebacterium aquaticus,* siendo esta la de mejor performance comparada con las otras cepas aisladas. De manera análoga, se determinó una reducción prácticamente significativa en

el contenido de plomo y cadmio, así como en todos sus parámetros fisicoquímicos analizados, logrando un pH final de 7.3 y una reducción hasta 25.7 ppm de TDS, así como una reducción de su turbidez significativa. Esto disminuyó significativamente su color característico hasta llegar a la casi completa cristalinidad, concluyendo que la biodepuración y tratamiento por vía biotecnológica de estas aguas residuales industriales es factible y altamente eficiente, con bajo consumo energético. Finalmente, la disposición experimental utilizada podría ser escalada para tratar una mayor cantidad de aguas residuales y se esperaría también que la performance de consorcios bacterianos aumenten la eficiencia de este novedoso procedimiento.

Relevancia del resultado y un aporte a la realidad nacional, regional o local

El trabajo presenta resultados similares con otros reportes en la literatura nacional e internacional, principalmente de países periféricos con la misma problemática. Guevara y Cols. (2008) utilizaron consorcios bacterianos nativos con los que fueron capaces de remover hasta un 98% de cromo VI en soluciones sintéticas [3]; estos resultados así como también existe una vasta cantidad de investigaciones sobre el mismo problema en varios países como Australia e India, donde se evidencia que los microorganismos nativos son capaces de reducir el cromo [2,4]; sin embargo, ninguno reporta específicamente al *Corynebacterium aquaticus* como cepa cromodepuradora en aguas residuales, por lo que resulta ser un trabajo inédito.

Se pueden encontrar una amplia variedad de microorganismos como bacterias, levaduras, algas, protozoos y hongos en aguas que reciben efluentes industriales o en ellos mismos. Estos microorganismos han desarrollado la capacidad de protegerse de la toxicidad mediante varios mecanismos como la absorción, metilación, alojamiento, oxidación y reducción [5]. En general, los tratamientos tecnológicos utilizados en la remoción del cromo (Cr) pueden ser bastante costosos, requiriendo de mucha energía o altas cantidades de reactivos químicos y son capaces de generar otras formas de desechos. Además, en concentraciones muy bajas, estos métodos resultan ser ineficientes [6], por lo que con el aporte tecnológico descrito en este trabajo se obtendrá una ventaja seria en comparación con otras tecnologías y lo más importante se lograría contar con cepas únicas que solo las podemos encontrar en nuestros ecosistemas vulnerados. Bajo esta perspectiva, los microorganismos son una alternativa potencial sobre los procesos convencionales para la remoción efectiva de metales de soluciones industriales, fenómeno comúnmente conocido como biosorción y/o bioacumulación, y se refiere a las interacciones fisicoquímicas entre la biomasa microbiana, y el metal pesado [7]. La relevancia de los resultados obtenidos trae como resultado que, en la ciudad de Arequipa, los talleres de curtiembres no realizan un tratamiento de sus residuos por no contar en sus instalaciones con plantas de tratamiento de efluentes, lo cual ha ocasionado que se origine una laguna de oxidación que con el correr del tiempo se ha vuelto ineficiente y obsoleta, y que, en la actualidad, alrededor de 150 curtiembres eliminen sus aguas residuales, ocasionando la contaminación del suelo de las canteras de sillar por percolación, la contaminación de la napa freática y su posterior alcance hasta los asentamientos humanos y zonas agrícolas aledaña; además de la dispersión de malos olores como consecuencia de inadecuadas o inexistentes plantas de pretratamiento en las curtiembres, lo que afecta la calidad del aire atmosférico, por lo que con los resultados de esta investigación se logrará sistemas factibles y económicos para descontaminar aguas provenientes de empresas que utilizan cromo en sus procesos, y producen alta contaminación al suelo, aire, y agua, incidiendo en el eje de conservación, y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales y de la diversidad biológica, y específicamente, en el área temática de Recursos Hídricos y del Uso de Tecnologías Limpias de la Agenda de Investigación Ambiental 2013-2012. Finalmente, cabe resaltar que a pesar de existir varias propuestas de depuración de aguas en este sector de la ciudad, desde hace varios años este problema sigue sin solución hasta la actualidad.

Conclusiones

Se aisló, caracterizó y utilizó seis diferentes cepas nativas de los efluentes industriales localizados en la Laguna de Oxidación del PIRS con alta capacidad cromoresistente y cromodepuradora. La cepa *Corynebacterium aquaticus* fue capaz de reducir en 89% el cromo (III) y total de las aguas de esta laguna de oxidación contaminada con este metal pesado.

Se utilizó un sistema a pequeña escala operado en condiciones aerobias controlado e inoculado con la *Corynebacterium aquaticus,* resultando su operación en 76 horas. Este sistema puede ser facilmente escalado para poder ser utilizado para la biodepuración de las aguas crudas industriales de la laguna de oxidación del PIRS en Arequipa logrando solucionar un problema de un sector industrial que ha venido creciendo durante los últimos años y donde no presentan un plan de tratamiento de aguas residuales para sus procesos.

Referencias

Guevara D., Naranjo B. y Koch A. (2008). Bioremoción de cromo (cromo total y cromo VI) en agua sintética por dos inóculos bacterianos nativos compuesto a escala de laboratorio. Tesis sin publicar. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolqui. Ecuador.

Lee S. E, Lee J. U, Lee J. S. y Chon H. T. (2006). Effects of indigenous bacteria on Cr (VI) reduction in Cr-contaminated sediment with industrial wastes. Journal of Geochemical Exploration. 88(3), 41-44.

Megharaj M. y Avudainayagam S. (2003). Toxicity of Hexavalent Chromium and Its Reduction by Bacteria Isolated from Soil Contaminated with Tannery Waste. NCBI Land and Water, PMB 2, Jul;47(1):51-4. Glen Osmond, SA 5064, Australia.

Monge-Amaya O., Valenzuela-García J., Acedo-Félix E, Certucha-Barragán M. y Almendariz-Tapia F. (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (Clinoptilolita); *Rev. Int. Contam. Ambient.* 24 (3).107-115.

Prasad A. B. (2009). Bioreduction based bioremediation of hexavalent chromium Cr (VI) through potential indigenous microbes. Tesis doctoral. Rourkela: National Institute of Technology.

Protocolo de monitoreo de calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales. (2007). Lima. Perú: digesa, Ministerio de Salud-minsa.

Zahoor A. y Rehman A. (2009) Isolation of Cr (VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potencial use in bioremediation of chromium containing wastewater; *Journal of Environmental Sciences*. 21. 814-820. Boca Ratón, Flo., EE. UU.