



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), noviembre-diciembre 2024,
Volumen 8, Número 6.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6

**CINÉTICA DE LA BIORREMEDIACIÓN DE
AGUAS RESIDUALES CONTAMINADAS CON
IONES CROMATO APLICANDO BACTERIAS
CROMOREDUCTORAS**

**BIOREMEDIATION KINETICS OF WASTEWATER
CONTAMINATED WITH CHROMATE IONS APPLYING
CHROME-REDUCING BACTERIA**

Angel Johann Morales Bernal
Escuela Militar de Ingeniería, Bolivia

Carlos Marcelo Camacho Caero
Escuela Militar de Ingeniería, Bolivia

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6.15360

Cinética de la Biorremediación de Aguas Residuales Contaminadas con Iones Cromato Aplicando Bacterias Cromoreductoras

Angel Johann Morales Bernal¹uicit_profesional@adm.emi.edu.bo<https://orcid.org/0009-0004-7188-9668>Escuela Militar de Ingeniería
Cochabamba - Bolivia**Carlos Marcelo Camacho Caero**ccamachoc@adm.emi.edu.bo<https://orcid.org/0000-0002-5083-2572>Escuela Militar de Ingeniería
Cochabamba - Bolivia

RESUMEN

El estudio de la reducción de cromo hexavalente (Cr^{6+}) aplicando biorremediación presenta ser una alternativa confiable y eficaz, además que no es tóxica y puede ser aplicado a escalas semi piloto y piloto. El objetivo del trabajo investigación es aislar cepas nativas de procesos industriales de curtido de cuero donde existe este tipo de contaminante y obtener datos cinéticos, variables de control y tiempo de remoción para luego proporcionar herramientas para dimensionar un reactor tipo batch que se encargue de realizar el tratamiento. Una cepa definida como *Basillus spp* (Gram +) con un crecimiento óptimo a pH 7 y 37°C en un medio Luria Bertani con minerales (LBM), presentó gran adaptabilidad, demostrando en las pruebas del reactor batch un tiempo de aclimatación de 77.25 h, cinética de remoción de primer orden, una constante cinética de 0.0082 h^{-1} , una eliminación del 100% de cromo partiendo de 2mM de Cr^{6+} y con un crecimiento positivo en un medio con 400 mM Cr^{6+} . Al aumentar la temperatura de trabajo de 25 a 40°C se observó que las constantes de trabajo disminuyen al igual que el tiempo de remoción de Cr^{6+} .

Palabras clave: cinética, cromo hexavalente, bacterias cromoreductoras, biorreactor

¹ Autor principal

Correspondencia: uicit_profesional@adm.emi.edu.bo

Bioremediation Kinetics of Wastewater Contaminated with Chromate Ions Applying Chrome-Reducing Bacteria

ABSTRACT

The study of hexavalent chromium (Cr^{6+}) reduction through bioremediation has proven to be a reliable and effective alternative, non-toxic and applicable on semi-pilot and pilot scales. The objective of this research is to isolate native strains from industrial leather tanning processes where this contaminant is present, to obtain kinetic data, control variables, and removal times, thereby providing tools for scaling up a batch reactor to perform the treatment. A strain identified as *Bacillus spp.* (Gram +), with optimal growth at pH 7 and 37°C in a Luria Bertani medium with minerals (LBM), demonstrated high adaptability. Batch reactor trials showed an acclimation time of 77.25 hours, first-order removal kinetics with a rate constant of 0.0082 h^{-1} , and 100% chromium removal starting from an initial 2mM concentration of Cr^{6+} , with growth in a medium containing up to 400 mM of Cr^{6+} . When the operating temperature increased from 25 to 40°C, a decrease in reaction rate constant and removal time for Cr^{6+} was observed.

Keywords: kinetics, hexavalent chromium, chrome-reducing bacteria, bioreactor

Artículo recibido 06 noviembre 2024
Aceptado para publicación: 10 diciembre 2024



INTRODUCCIÓN

La biorremediación es la acción de mitigar los contaminantes utilizando microorganismos, en el mismo lugar (*in situ*) o en otro (*ex situ*), con ayuda de tecnologías como lagunaje, biofiltros, biorreactores, entre otros (Boopathy, 2000). La desintoxicación del medio y las reacciones bioquímicas que combaten a los contaminantes están guardadas en una gran colección de genes dentro de la célula, considerando el metabolismo, el efecto de la difusión en matrices sólidas, biodisponibilidad, meteorización y catálisis abiótica de contaminantes, estrés de la célula, depredación y competencia (de Lorenzo, 2008).

Entre los contaminantes más nocivos se encuentra los metales pesados por ser no biodegradables, persistentes y bioacumulables, incrementando sus concentraciones en zonas donde existe actividad antropogénica (Hryniewicz & Baum, 2014). Existen algunos estudiados recientemente para combatir elementos como el Zn, Mn, Cu, Al, Ni, Co, Cu, Pb, Fe, Mo, Cr y Cd, llegando a remociones elevadas considerando el medio contaminado donde se encuentra y que se utilizan microorganismos para realizar el tratamiento (Sreedevi et al., 2022).

Las industrias de refrigeración, galvanoplastia, curtiembre, preservación de la madera, pintura (Kerur et al., 2021), textiles, agricultura, producción de acero inoxidable, minería, de forma natural las erupciones volcánicas, incendios forestales y erosión de suelos, presentan en sus efluentes de agua iones tanto de cromo hexavalente (Cr^{6+}) provocan diferentes afecciones en sistemas respiratorios, reproductivos y otros, y cromo trivalente (Cr^{3+}) (Xie, 2024), además de impactos ambientales.

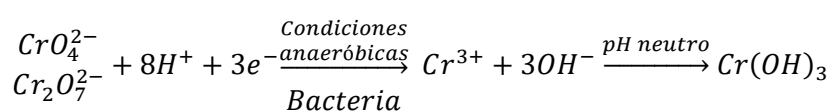
La aplicación de bacterias para la biorremediación de Cr^{6+} , tiene excelentes resultados llegando eliminar hasta más del 50% del metal, existe biosorción y desorción del Cr^{3+} que es menos tóxico, mediante con una cinética de eliminación de primer orden. La transformación de Cr^{6+} a Cr^{3+} puede llevarse tanto dentro y fuera de la célula cómo se ilustra en la Fig. 1, mediante un mecanismo enzimático que involucra reductasas especializadas (Li et al., 2021). Una reducción intracelular sigue los siguientes pasos: biosorción del cromo en la superficie de la célula, se transporta el Cr^{6+} como cromato (CrO_4^{2-}) que es análogo al transporte de sulfato o fosfato, se realiza la reducción y luego el Cr^{3+} es acumulado en el citosol.



Al ingresar el CrO_4^{2-} en la célula este puede causar daños al material genético, para evitar este problema se realizan diferentes reacciones bioquímicas de apoyo utilizando biomoléculas que le dotan de resistencia natural para este metal, en este caso la proteína ChrA (Gu et al., 2020), esta actúa como una bomba quimiosmótica que expulsa a los CrO_4^{2-} del periplasma hacia el exterior celular, impulsada por la fuerza motriz de protones (Cervantes, 2017). La capacidad de la célula para transformar y resistir al Cr^{6+} depende de las proteínas de transporte, la reducción (Alvarez et al., 1999; Johnson et al., 2020) y de los grupos funcionales externos como se puede apreciar en la Fig. 2. Asimismo, el peptidoglicano de la pared celular actúa como un quelante del Cr^{3+} , atrapándolos en su estructura (Ordoñez et al., 2019). Este complejo sistema de reducción, expulsión y quelación molecular protege a las células dotándola de capacidad de adaptación en medios contaminados con metales pesados como el cromo.

La biorremediación de aguas residuales contaminadas con Cr^{6+} es eficaz si se controla variables como pH, tiempo de tratamiento, la relación de inoculación de bacterias, concentración inicial de Cr^{6+} (Seragadam et al., 2021) y de Cr^{3+} , fuentes de carbono y consorcio de microorganismos (Arishi & Mashhour, 2021), removiendo eficientemente del contaminante incluso en medios con concentraciones elevadas como se presenta en las industrias de curtiduría (Kumaresan Sarankumar et al., 2020).

La reducción del Cr^{6+} en condiciones anaerobias da como resultado Cr^{3+} y eleva el pH del medio según la reacción química propuesta por Ohtake et al., (1990):



Considerando la eliminación posterior del Cr^{3+} entonces se selecciona una bacteria con alto rendimiento de reducción de Cr^{6+} a este pH.

Estudios recientes sugieren seguir la investigación considerando la cinética de crecimiento y la optimización del proceso (Osail et al., 2023), por las posibilidades de escalamiento a niveles superiores. Debido a que se tiene el dato, que la concentración de Cr^{6+} en aguas residuales o naturales varía según el tipo de industria, con valores entre 4.4 a 170 mg/L (Owlad et al., 2009) y en algunas ocasiones llegando hasta 1000 mg/L (Bader et al., 1999).

La creciente contaminación de este metal podría afectar las plantas, animales y la humanidad de forma irreparables, por lo que se debe tener herramientas para frenar su avance (Murthy et al., 2023). La



biorremediación ha mostrado ser conveniente, no peligrosa y ventajosa con respecto de otros métodos convencionales, actualmente se está trabajando en procesos biotecnológicos para la eliminación del Cr^{6+} (Ghosh et al., 2021).

En la ciudad de Cochabamba – Bolivia, la industria de la curtiduría del cuero está teniendo una disminución considerable cada año (Ministerio de Desarrollo Productivo y Economía Plural (MDPyEP) & Dirección General de Análisis Productivo (DAPRO), 2020), debido a que las aguas residuales que generan pueden afectar al medio ambiente y no se tienen tecnologías apropiadas para el tratamiento de estas, entre otros factores. Por lo que es evidente la necesidad de desarrollar novedosas alternativas de mitigación de los contaminantes que puede generar la curtiembre.

El presente estudio tiene como objetivo analizar las variables que influyen a la cinética de tratamiento de aguas residuales utilizando bacterias cromoreductoras aisladas de forma nativa. Se busca proporcionar datos sobre las constantes involucradas en los modelos cinéticos que describen este proceso.

La mitigación de contaminantes a base de Cr^{6+} ayudará a la disminución de metales pesados presentes en cuerpos de agua debido a la actividad antropogénica. Al poseer métodos de aislamiento, caracterización y experimentación con bacterias nativas facilitará la aplicación de la flora autóctona del lugar para realizar biorremediación de cuerpos de agua contaminados con cromo.

METODOLOGÍA

Medio de cultivo

Las cepas fueron cultivadas en medios líquidos y sólidos Luria Bertani (LB) + minerales (LBM) (Macwilliams & Liao, 2016), con una composición 0.015 g/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 4.7 g/L KH_2PO_4 , 1 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01 g $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.12 g/L Na_2HPO_4 , 4 g/L NH_4NO_3 , 0.01 g/L $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.2942 g/L $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 10 g/L glucosa, 5 g/L extracto de levadura, 10 g/L peptona de caseína y 10 g/L NaCl, autoclavados (121°C por 15 minutos), con una temperatura de 37°C a concentración inicial de 2mM de Cr^{6+} proveniente de una sal de dicromato de potasio (secado a 103°C por 1h) esterilizado bajo luz UV por 20 min, para disolver directamente al medio estéril.



Aislamiento

Se prepararon 10 mL de LBM en tubos falcón e hisopos para autoclavarlos. Los puntos de muestreos fueron la piscina de recolección de aguas de curtido del Centro de Innovación Productiva del Cuero (CETIP-Cuero) y los suelos cercanos a la rejilla del descargo de fulones.

Las muestras se colocaron en medio LBM líquido con un volumen 100 mL con y sin agitación de 150 rpm a 37°C por 48h.

Posterior a la replicación se realizó una dilución de 10^{-1} a 10^{-5} . Tomando una alícuota de 20 μ L se plaqueó por extensión en cajas de Petri con el medio LBM. Las diluciones consideradas fueron 10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5} .

Se incubó por 48 h y 37°C según recomendación de André et al., (2021).

Identificación y caracterización de cepas microbianas

Se realizó una inspección visual de las colonias aisladas, verificando peculiaridades de cada una.

Para todas las pruebas se utilizó el medio LBM en medio sólido en condiciones estériles. Se realizaron pruebas de:

- Crecimiento de pH variando de 5 a 12 unidades de pH
- Fuentes de carbono se consideró almidón, fructuosa, lactosa, dextrosa, maltosa y glucosa,
- Temperaturas de crecimiento de 25, 30, 37 y 40°C
- Concentración de Cr^{6+} de 2 mM (Elahi et al., 2019) 20 (Viti et al., 2003), 100 (Kalola & Desai, 2020), 400 (Chatterjee et al., 2009), 1000 mM (Narayani & Shetty, 2013)
- Tinción de Gram (Mayra Claros Magne & Noel Ortuño Castro, 2016).
- Vista al microscópico para verificar su morfología

Determinación de cromo hexavalente

Se preparó una curva de calibración utilizando dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) como estándar primario (secado a 103°C por 1 h) de 0.1, 0.2 , 0.4, 0.8 y 1 ppm Cr^{6+} a partir solución madre de 100 ppm.

La cuantificación se realizó utilizando el método colorimétrico de difenilcarbazida (DPC), basado en 3500-Cs B. (APHA-AWWA-WPCF - 3500-Cr D - colorimétrico) (Rice et al., 2023), que forma un complejo de color rojo-violeta cuando reacciona con Cr^{6+} .

Para la determinación se tomó 500 μ L muestra, 1 mL de H_2SO_4 (2N) y 1 mL de DPC (0.5%w/v, disuelto en acetona), se enrasó a 100 mL y se esperó 15 minutos para el desarrollo del color. Posteriormente se realizó la lectura a 540 nm en un espectrofotómetro UV-Vis, utilizando cubetas de cuarzo de 1 cm de ancho.

Determinación de azúcares reductores por DNS

El método de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) se empleó para cuantificar la concentración de glucosa en el medio básico basado en Wood et al., (2012).

La composición del reactivo es: 10 g/L DNS, 16 g/L de NaOH y 30 g/L de tartrato de sodio y potasio. Se preparó una curva de calibración de 100, 200, 500, 1000, 2000, 2500 y 5000 ppm de glucosa a partir de una solución madre de 10000 ppm.

Para la determinación se tomó en un tubo de ensayo 1 mL de agua, 1 mL de muestra y 2 mL del reactivo de DNS y se llevó a ebullición 92°C por 1 min (considerar el tiempo que tarda en volver a la temperatura de 3 min), para formar el compuesto color naranja-rojizo, se deja enfriar, se enrasa a 25 mL con agua destilada y se lee la absorbancia a 540 nm un espectrofotómetro UV-Vis, utilizando cubetas de cuarzo de 1 cm de ancho.

Determinación de crecimiento microbiano por densidad óptica

El crecimiento bacteriano fue monitoreado utilizando la técnica de espectrofotometría a 600 nm (Ramírez-Díaz et al., 2009), usando como blanco el mismo medio, centrifugando a 6000 rpm por 15 minutos, para controlar el cambio en las estructuras de los nutrientes y reducción de cromo.

Se utilizó el medio LBM y se monitoreó el crecimiento de los microorganismos a 37°C durante 12 h, extrayendo muestras en intervalos de 60 min. Paralelo se realizó un plaquero de las bacterias en cada punto y un conteo en cámara Neubauer.

Preparación del starter

Tomando una muestra de una caja de Petri se procedió a colocar en un medio LBM de 100 mL en condiciones estériles para luego dejarlo en agitación a 150 rpm por 36 h a 37°C. Una vez culminado se usó una relación starter:inóculo de 1:100 para los inóculos de cada reactor.



Preparación de agua sintética

Se tomaron muestras del agua residual del proceso de curtido para caracterizar fisicoquímicamente, para preparar agua sintética considerando los siguientes parámetros expresados en la tabla 1 calculados para 1 L.

Experimentación en biorreactores

Se prepararon los biorreactores con un volumen total de 1100 mL (1000 mL de agua sintética y 100 mL de inóculo). Se consideraron las variables de fuente de carbono, cantidad de Cr^{6+} y tiempo de incubación del inóculo, realizando un modelo 2^k expresado en la tabla 2, como variable de respuesta se tiene la remoción de Cr^{6+} . De la mejor combinación se determinaron todas las constantes de trabajo, cinética de remoción, tiempo de aclimatación por derivadas y variables independientes y combinadas que afectan al tratamiento.

Cinética del crecimiento y remoción

Para la cinética de crecimiento se basó en las ecuaciones desarrolladas en (Fogler, 2022; Liu, 2020; Najafpour, 2015), resultando:

$$\frac{dX}{dt} = (\mu_G - k_d)X; \mu_G = \mu_{max} \cdot \frac{S}{K_s + S};$$

$$\frac{dX}{dt} = \left(\mu_{max} \cdot \frac{S}{K_s + S} - k_d \right) X$$

$$\frac{dS}{dt} = -Y_{S/X} \left(\mu_{max} \cdot \frac{S}{K_s + S} - m \right) X$$

Donde, X es la concentración de bacterias [$\text{UFC} \cdot \text{L}^{-1}$], t el tiempo [h], μ_G el crecimiento específico de las bacterias [$1/\text{h}$], k_d la muerte de las bacterias [h^{-1}], K_s la constante de Monod [mg/L], S el sustrato [mg/L], m consumo de sustrato por manutención [g / $\text{UFC} \cdot \text{h}$], $Y_{S/X}$ rendimiento [g / UFC].

La cinética para la remoción de Cr^{6+} se utilizó la descrita por Fogler, (2022), junto con la ecuación de Arrhenious.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación

En la Fig. 3 se puede observar el punto y lugar de muestreo, se extrajeron 2 muestras de suelo y 2 de la piscina de desagüe. Después del crecimiento en las cajas de Petri se lograron aislar 3 cepas que



visualmente presentaban características diferentes presentadas en la tabla 3. La cepa CRB-1 es la que tiene mayor crecimiento en el periodo de incubación, por lo que se eligió para esta investigación.

Caracterización de cepas microbiana

Los resultados de la caracterización microbiana, como se muestran en la tabla 4 y la Fig. 4 indica que la cepa aislada es Gram +. Esto es coherente con otros estudios que destacan que bacterias Gram + como *Bacillus spp.* son altamente resistentes en ambientes contaminados con metales pesados, como el cromo hexavalente, demostraron estos microorganismos tienen mecanismos eficientes para reducir Cr^{6+} a Cr^{3+} , lo que las hace viables para la biorremediación. Asimismo, reportaron una alta efectividad en la remoción de Cr^{6+} utilizando bacterias aisladas de ambientes industriales contaminados

Se detectó que al momento de adicionar el dicromato estéril es necesario que el pH y el potencial óxido-reducción sean adecuados para una vez después de la disolución estos parámetros se encuentren en los rangos deseados, debido a que se cambian las especies que pueden estar en equilibrio en medio acuoso como se ilustra en la Fig.5., considerando un pH cercano o superior a 7 (Ukhurebor et al., 2021), para que el ion cromato esté predominante y pueda removerse con el mecanismo intracelular (Zohri et al., 2018).

Biorreactores

Aplicando un modelo 2^k para 3 variables después de 624h se llegaron a diferentes remociones de Cr^{6+} obteniendo los datos expuestos en la tabla 5. Utilizando el software Minitab 21.1 se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\% \text{remoción de cromo} = -75,1 + 10,27 X_2 + 25,56 X_1 + 2,915 X_1 - 1,097 X_2 * X_3 - 0,403 X_2 * X_1 - 0,695 X_3 * X_1 + 0,0500 X_1 * X_2 * X_3$$

Dónde:

X_1 =Tiempo de incubación [h]

X_2 =Cromo [mM]

X_3 =Glucosa [g]

Al aplicar un t-student con un nivel de significancia de 0.05, se encontró que la interacción entre el tiempo de inoculación y la glucosa ($X_1 * X_2 * X_3$) no es significativa. Esto sugiere que el aumento en la concentración de glucosa no mejora significativamente la eficiencia de la remoción de Cr^{6+} bajo las



condiciones evaluadas, posiblemente debido a la saturación del sistema o la existencia de un umbral máximo para la influencia de la glucosa, como han señalado Aravindhana et al., (2012) y Kumar et al., (2021).

El reactor N° 7 logró el 100% de remoción de Cr^{6+} en 624h y según el modelo es la mejor combinación. En comparación Elahi et al., (2022) lograron una remoción del 90% en 600 horas, mientras que alcanzaron el 100% en 700 horas y Ahmad et al., (2013) lograron el 95% en 480 horas usando bacterias similares, demostrando la eficacia de la biorremediación de la cepa aislada en este estudio.

Se determinó que la cinética es de primer orden, con un coeficiente de determinación $r^2 = 0.9824$, y que el tiempo de aclimatación es de 77.25 h. Las constantes de crecimiento específico máximo, muerte de las bacterias, constante de Monod, manutención y rendimiento de consumo de sustrato/n° de bacterias nuevas, utilizando la aproximación numérica Runge-Kutta 4, minimizando el error se llegaron a los datos expresados en la tabla 6. Se observa que el valor de K_s es pequeño lo que indica que las bacterias tienen una alta afinidad por el sustrato, sugiriendo que incluso a bajas concentraciones de cromo, el sistema mantiene una alta eficiencia de remoción, siendo consistente con estudios como los de García-Hernández et al., (2017) que reportan que bajos valores de K_s reflejan una rápida adaptación microbiana al sustrato.

Experimentación a diferentes temperaturas

En un periodo de aproximado de 20 días, los reactores a distintas temperaturas lograron una remoción del 100% de Cr^{6+} . En comparación, (Lace et al., 2019) alcanzaron el 90% en 600 horas, y (Abigail M et al., 2015) obtuvieron un 95% en 480 horas. Esto evidencia que la biorremediación es efectiva, aunque los tiempos varían según las condiciones y cepas utilizadas.

La CBR-1 se replicó por segunda vez mostrando cambio ligero en la coloración a un tono más rojizo y a su vez aumentó su eficacia en la remoción de cromo, ya que su tiempo de aclimatación fue menor al esperado y llegando a una remoción del 100% en tiempos de 324 h a 40°C y 432h a 25 y 30°C.

Con a cinética de primer orden se pueden calcular la constante velocidad de remoción de Cr^{6+} para cada temperatura, como se describe en la tabla 6:



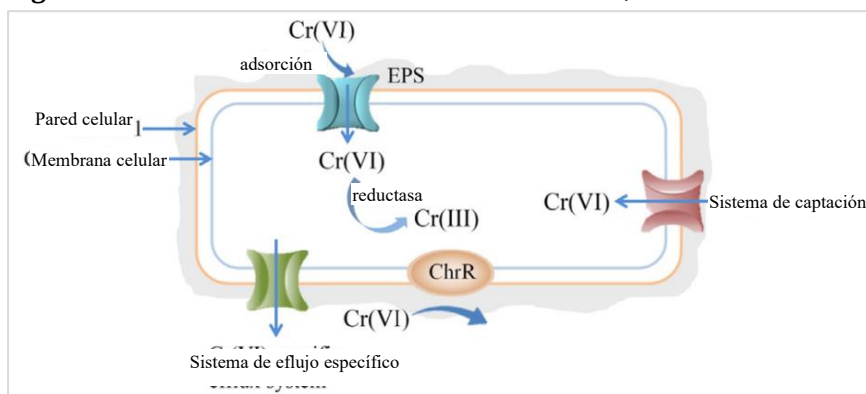
A partir de la ecuación de Arrhenius se puede determinar la energía de activación y el factor de frecuencia:

$$k = k_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

Aplicando una regresión lineal a los datos se obtuvo un $r^2 = 0.797$, $E_a/R = 2447.7$ K y un factor de frecuencia de 20.88 1/h, el valor bajo del coeficiente de determinación podría deberse a que la célula cambia su forma de metabolización o que las enzimas trabajan de manera diferente.

ILUSTRACIONES, TABLAS, FIGURAS.

Figura 1. Posible mecanismo de remoción de cromo,



traducido de Li et al., (2021)

Figura 2. Tipos de grupos funcionales que actúan extracelularmente

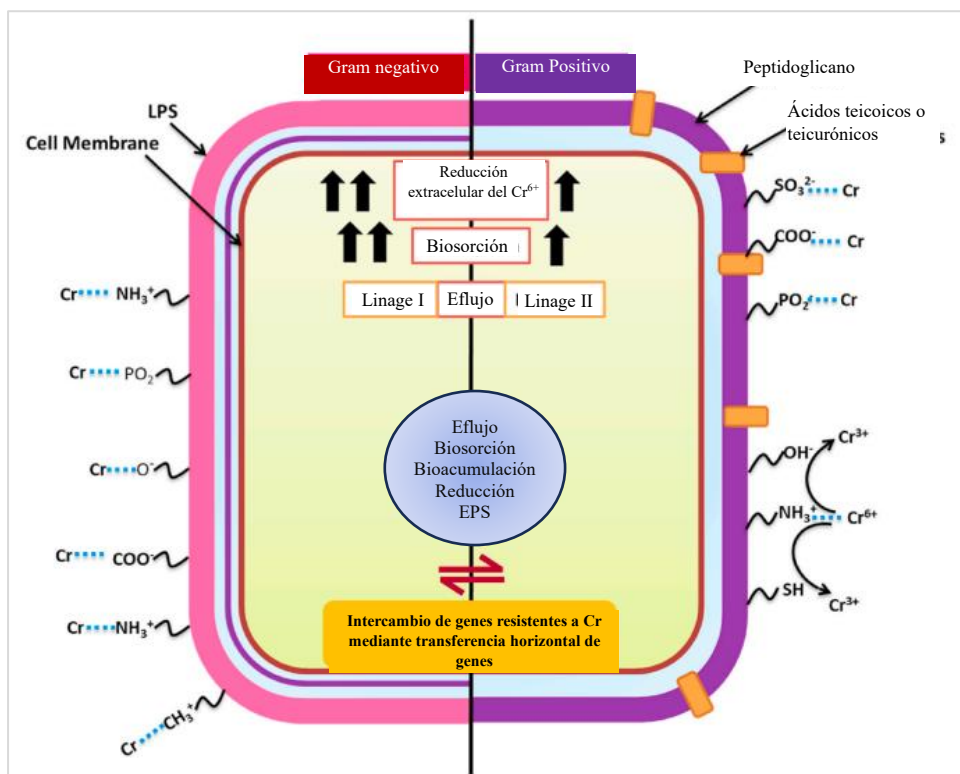


Imagen traducida de Pushkar et al.,(2021)

Tabla 1. Datos del agua sintética

Parámetros	Ion de interes	Conc. [mg/L]	Fuente de sal	Conc. de la sal [mg/L]
Cl ⁻	Cl ⁻	980	NaCl	880
			NH ₄ Cl	100
SO ₄ ⁼	SO ₄ ⁼	160	Na ₂ SO ₄	160
Nitrógeno kjedal	NH ₄ ⁺	400*	NH ₄ Cl	300
			NH ₄ NO ₃	100
Extracto de levadura				1000
Peptina de caseína				1000

*Valor máximo tomado, debido a que a con elevadas de amoníaco existe inhibición microbiana (Jiang et al., 2019)

Tabla 2. Matriz para el modelo 2^k para experimentación con bioreactores

Bioreactor	Tiempo*	Cr*	Fuente de carbono*
1	+	+	+
2	+	+	-
3	+	-	+
4	+	-	-
5	-	+	+
6	-	+	-
7	-	-	+
8	-	-	-

*Tiempo (Tiempo de incubación): +:36 y -:24h, Cr (concentración de Cr⁶⁺), 2 y 10 mM y Fuente de carbono: 5 y 10 g/L

Figura 3.

Punto y lugar de muestreo, a) rejilla de desagüe de la piscina del fulón de curtido, b) fulón de curtido

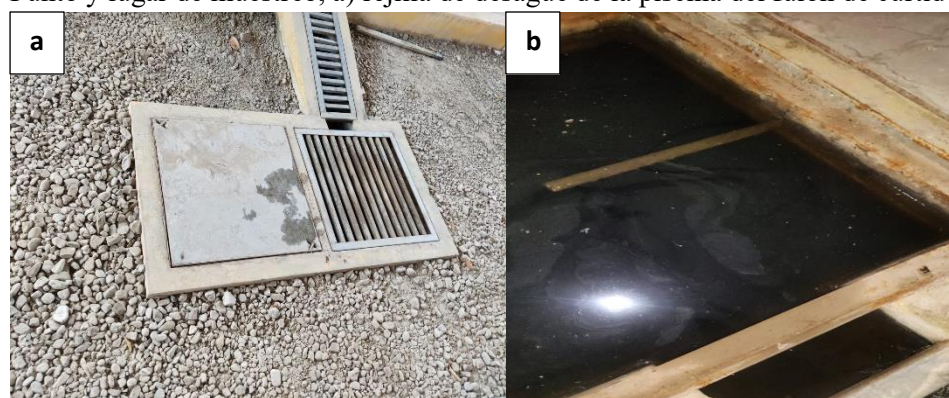


Tabla 3. Características visuales de las bacterias aisladas en diferentes sustratos muestreados

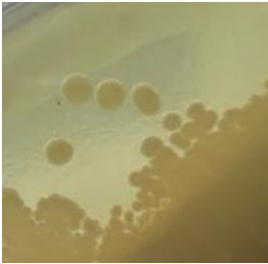
Código	Características visuales	Sustrato	Imagen
CRB-1	Presenta un color crema con contorno irregular y ramificaciones venosas en su extensión de crecimiento. Su superficie es sobresaliente y seca.	Suelo	
CRB-2	Exhibe un color cremoso con contornos irregulares de forma ovalada y tenues brillos en los costados.	Agua	
CRB-3	Color cremoso blanquecino, contornos irregulares y forma ovalada. Posee un brillo medio en su superficie.	Agua	

Tabla 4. El resumen de la caracterización de la cepa CRB-1

Parámetro	Resultado
pH	Crecimiento positivo a $\text{pH} \geq 7$ hasta 11
Fuentes de carbono	Crecimiento positivo a 48 h Glucosa, a 96 h Almidón y fructuosa, 120 h a lactosa y maltosa
Niveles de cromo	Crecimiento positivo a, 2, 20, 100, 400 mM de Cr^{6+} (en algunos casos por el cambio de color a verde (Plestenjak et al., 2022))
Temperatura	Crecimiento positivo a 48 h a 37 y 40°C, a 72 h a 30°C y 100 h a 25 °C
Tinción de Gram	Gram +

Figura 4. Tinción de Gram de la cepa CBR-1 – Gram +

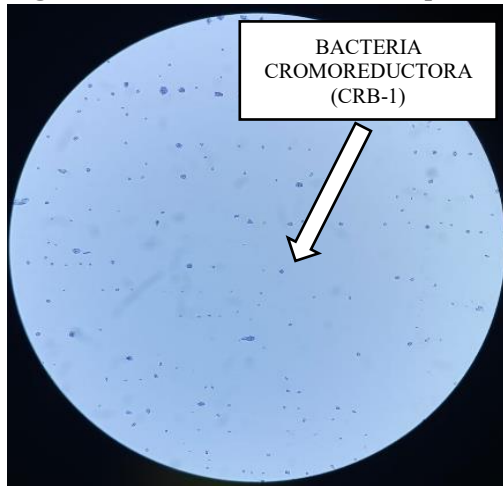
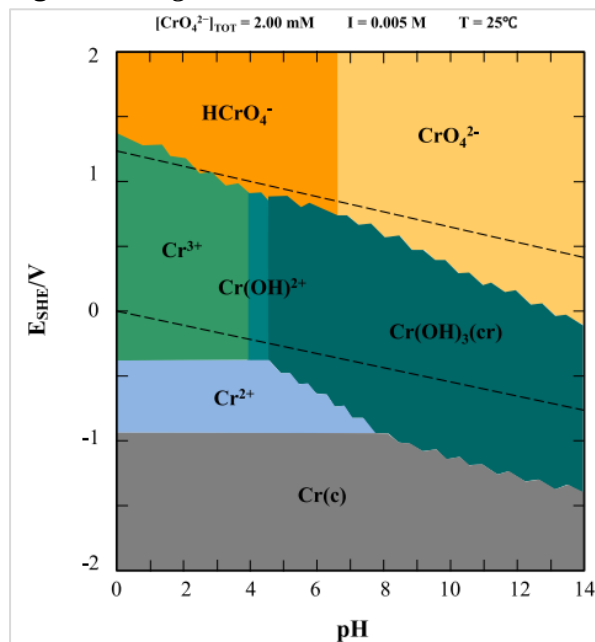


Figura 5. Diagrama de Pourbaix del cromo



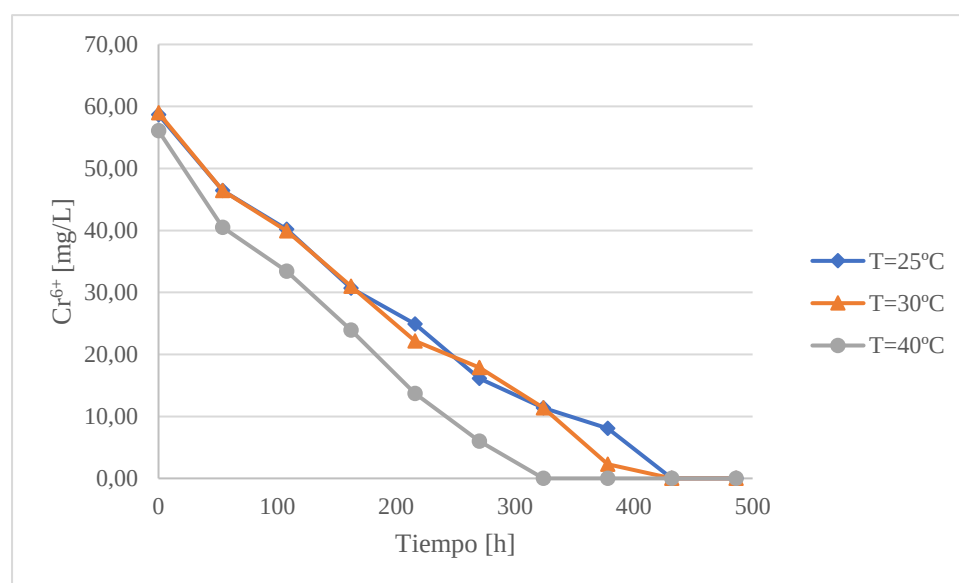
(Zhang & Tian, 2020)

Tabla 5. Remoción final de cromo después del experimento

Bioreactor	% Remoción
1	41.44
2	31.05
3	86.85
4	40.76
5	50.42
6	25.38
7	99.99
8	63.27

Tabla 6. Constantes de trabajo considerando el mejor reactor

Constante	Valor	Unidades
$\mu_{\max}$	1.968E-03	h^{-1}
k_d	3.558E-04	h^{-1}
K_s	1.000E+00	mg L^{-1}
m	9.334E-05	$\text{g UFC}^{-1} \text{h}^{-1}$
$Y_{S/X}$	1.747E-04	g UFC^{-1}

Gráfica 1. Curvas de remoción de cromo a diferentes temperaturas**Tabla 7.** Constantes a diferentes temperaturas

Constante	T=25°C	T=30°C	T=40°C	Unidades
$\mu_{\max}$	3.389E-03	3.434E-03	4.133E-03	h^{-1}
k_d	3.028E-04	2.865E-04	2.712E-04	h^{-1}
k_s	1.000E+00	1.000E+00	1.000E+00	mg L^{-1}
m	9.289E-05	9.187E-05	9.080E-05	$\text{g UFC}^{-1} \text{h}^{-1}$
$Y_{S/X}$	1.284E-04	8.032E-05	4.010E-05	g UFC^{-1}

Tabla 8. Constate cinética de la remoción de Cr^{6+} a diferentes temperaturas

Reactor	Temperatura [K]	k [1/h]
1	298.15	0.00442
2	303.15	0.00495
3	310.15	0.00819*
4	313.15	0.00617

*Valor reportado de la experimentación en el modelo 2^k



CONCLUSIONES

La biorremediación de aguas contaminadas con Cr^{6+} con bacterias cromoreductoras de la familia *Bacillus spp* Gram +, mostraron gran eficiencia cuando se controlan las variables de fuente de carbono disponible, pH, temperatura de tratamiento constante y preparación del inóculo.

Las constantes de trabajo van disminuyendo conforme aumenta la temperatura a pesar de este fenómeno la velocidad de remoción es más veloz, por lo que sugiere que las bacterias se acomodan mejor en ambientes calientes y que no fluctúen constantemente, por lo que en el diseño a mayor escala se debe tomar esta variable. Además, a temperaturas menores se observó que el consumo del sustrato es mayor algo que debe considerarse si no se tiene una disponibilidad del mismo en el agua residual. La manutención es conveniente que disminuya ya que las bacterias necesitaran menos recursos para el tratamiento.

El tiempo de aclimatación de las bacterias es de aproximadamente de 3 días por lo que es necesario tomar en cuenta que para volúmenes más grandes el inóculo ya debe estar adaptado para que este valor no vaya aumentando, debido a las fluctuaciones del proceso de producción.

Los ensayos demostraron que la cinética de remoción de Cr^{6+} sigue un modelo de primer orden. Esto permite prever de manera precisa la eliminación del metal en función del tiempo, lo cual es beneficioso para la aplicación en biorreactores industriales. Las bacterias lograron una remoción del 100% del cromo en tiempos variables, lo que demuestra su capacidad de adaptación y eficiencia incluso bajo condiciones de concentración alta de Cr^{6+} .

El modelo matemático de remoción y las constantes cinéticas obtenidas son herramientas fundamentales para el diseño y optimización de sistemas de tratamiento a escala piloto e industrial. Los resultados de este estudio sugieren que la biorremediación con *Bacillus spp.* es una solución sostenible y económica, con un potencial de aplicación real en el tratamiento de aguas residuales industriales, especialmente en el sector de curtido de cuero donde este contaminante es prevalente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abigail M, E. A., Samuel, M. S., & Chidambaram, R. (2015). Hexavalent chromium biosorption studies using *Penicillium griseofulvum* MSR1 a novel isolate from tannery effluent site: Box-Behnken



- optimization, equilibrium, kinetics and thermodynamic studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 49, 156–164. <https://doi.org/10.1016/J.JTICE.2014.11.026>
- Ahmad, W. A., Wan Ahmad, W. H., Karim, N. A., Santhana Raj, A. S., & Zakaria, Z. A. (2013). Cr(VI) reduction in naturally rich growth medium and sugarcane bagasse by *Acinetobacter haemolyticus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 571–576. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2013.01.008>
- Alvarez, A. H., Moreno-Sánchez, R., & Cervantes, C. (1999). Chromate Efflux by Means of the ChrA Chromate Resistance Protein from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 181(23), 7398–7400. <https://doi.org/10.1128/JB.181.23.7398-7400.1999>
- André, S., Charton, A., Pons, A., Vannier, C., & Couvert, O. (2021). Viability of bacterial spores surviving heat-treatment is lost by further incubation at temperature and pH not suitable for growth. *Food Microbiology*, 95, 103690. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2020.103690>
- Aravindhana, R., Fathima, A., Selvamurugan, M., Rao, J. R., & Balachandran, U. N. (2012). Adsorption, desorption, and kinetic study on Cr(III) removal from aqueous solution using *Bacillus subtilis* biomass. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 14(4), 727–735. <https://doi.org/10.1007/S10098-011-0440-7>
- Arishi, A., & Mashhour, I. (2021). Microbial mechanisms for remediation of hexavalent chromium and their large-scale applications; Current research and future directions. In *Journal of Pure and Applied Microbiology* (Vol. 15, Issue 1, pp. 53–67). Journal of Pure and Applied Microbiology. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.1.32>
- Bader, J. L., Gonzalez, G., Goodell, P. C., Pillai, S. D., & Ali, A. S. (1999). Chromium-Resistant Bacterial Populations from a Site Heavily Contaminated with Hexavalent Chromium. *Water, Air, and Soil Pollution*, 109(1), 263–276. <https://doi.org/10.1023/A:1005075800292>
- Boopathy, R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74(1), 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)
- Chatterjee, S., Sau, G. B., & Mukherjee, S. K. (2009, August). Plant growth promotion by a hexavalent chromium reducing bacterial strain, *Cellulosimicrobium cellulans* KUCr3. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(10), 1829–1836.



<https://doi.org/10.1007/S11274-009-0084-5>

de Lorenzo, V. (2008). Systems biology approaches to bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(6), 579–589. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.10.004>

Elahi, A., Ajaz, M., Rehman, A., Vuilleumier, S., Khan, Z., & Hussain, S. Z. (2019). Isolation, characterization, and multiple heavy metal-resistant and hexavalent chromium-reducing *Microbacterium testaceum* B-HS2 from tannery effluent. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 1437–1444. <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2019.02.007>

Elahi, A., Rehman, A., Zajif Hussain, S., Zulfikar, S., & Shakoori, A. R. (2022). Isolation and characterization of a highly effective bacterium *Bacillus cereus* b-525k for hexavalent chromium detoxification. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2878–2885.

<https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2022.01.027>

Fogler, H. S. (2022). Chapter 7 - Collection and Analysis of Rate Data. In *Elements of Chemical Reaction Engineering* (6th ed., pp. 303–342). Pearson Education Limited.

Fogler, H. S. (2022). Chapter 9 - Reaction Mechanisms, Pathways, Bioreactions, and Bioreactors. In *Elements of Chemical Reaction Engineering* (6th ed., pp. 401–474). Pearson Education Limited.

Ghosh, S., Jasu, A., & Ray, R. R. (2021). Hexavalent chromium bioremediation with insight into molecular aspect: an overview. *Bioremediation Journal*, 25(3), 225–251.

<https://doi.org/10.1080/10889868.2021.1884529>

Gu, R., Gao, J., Dong, L., Liu, Y., Li, X., Bai, Q., Jia, Y., & Xiao, H. (2020). Chromium metabolism characteristics of coexpression of ChrA and ChrT gene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 204. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111060>

Hryniewicz, K., & Baum, C. (2014). Application of Microorganisms in Bioremediation of Environment from Heavy Metals. In A. Malik, E. Grohmann, & R. Akhtar (Eds.), *Environmental Deterioration and Human Health: Natural and anthropogenic determinants* (pp. 215–227). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7890-0_9

Jiang, Y., McAdam, E., Zhang, Y., Heaven, S., Banks, C., & Longhurst, P. (2019). Ammonia inhibition and toxicity in anaerobic digestion: A critical review. *Journal of Water Process Engineering*, 32, 100899. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2019.100899>



- Johnson, N. W., Gedalanga, P. B., Zhao, L., Gu, B., & Mahendra, S. (2020). Cometabolic biotransformation of 1,4-dioxane in mixtures with hexavalent chromium using attached and planktonic bacteria. *Science of The Total Environment*, 706, 135734.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135734>
- Kalola, V., & Desai, C. (2020). Biosorption of Cr(VI) by Halomonas sp. DK4, a halotolerant bacterium isolated from chrome electroplating sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(22), 27330–27344. <https://doi.org/10.1007/S11356-019-05942-0/METRICS>
- Karthik, C., Barathi, S., Pugazhendhi, A., Ramkumar, V. S., Thi, N. B. D., & Arulselvi, P. I. (2017). Evaluation of Cr(VI) reduction mechanism and removal by Cellulosimicrobium funkei strain AR8, a novel haloalkaliphilic bacterium. *Journal of Hazardous Materials*, 333, 42–53.
<https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2017.03.037>
- Kerur, S. S., Bandekar, S., Hanagadakar, M. S., Nandi, S. S., Ratnamala, G. M., & Hegde, P. G. (2021). Removal of hexavalent Chromium-Industry treated water and Wastewater: A review. *Materials Today: Proceedings*, 42, 1112–1121.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.492>
- Kumar, A., Saxena, G., Kumar, V., & Chandra, R. (2021). Environmental contamination, toxicity profile and bioremediation approaches for treatment and detoxification of pulp paper industry effluent. *Bioremediation for Environmental Sustainability: Toxicity, Mechanisms of Contaminants Degradation, Detoxification and Challenges*, 375–402.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820524-2.00015-8>
- Kumaresan Sarankumar, R., Arulprakash, A., Devanesan, S., Selvi, A., AlSalhi, M. S., Rajasekar, A., & Ahamed, A. (2020). Bioreduction of hexavalent chromium by chromium resistant alkalophilic bacteria isolated from tannery effluent. *Journal of King Saud University - Science*, 32(3), 1969–1977. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.02.010>
- Li, L., Shang, X., Sun, X., Xiao, X., Xue, J., Gao, Y., & Gao, H. (2021). Bioremediation potential of hexavalent chromium by a novel bacterium Stenotrophomonas acidaminiphila 4-1. *Environmental Technology & Innovation*, 22, 101409.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101409>



- Liu, Shijie. (2020). Chapter 14 - Cell cultivation. In *Bioprocess Engineering: Kinetics, Sustainability and Reactor Design* (3rd ed., pp. 593–658). Elsevier.
- Macwilliams, M. P., & Liao, M.-K. (2016). *Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses Protocol*. www.asmscience.org
- Mayra Claros Magne, & Noel Ortuño Castro. (2016). *Manual de Laboratorio de Microbiología Agrícola*.
- Ministerio de Desarrollo Productivo y Economía Plural (MDPyEP), & Dirección General de Análisis Productivo (DAPRO). (2020). *Complejo productivo del cuero*.
- Murthy, M. K., Khandayataray, P., Padhiary, S., & Samal, D. (2023). A review on chromium health hazards and molecular mechanism of chromium bioremediation. *Rev Environ Health*, 38(3), 461–478. <https://doi.org/doi:10.1515/reveh-2021-0139>
- Najafpour, G. D. (2015). Chapter 5 - Growth Kinetics. In G. D. Najafpour (Ed.), *Biochemical Engineering and Biotechnology (Second Edition)* (pp. 127–192). Elsevier.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63357-6.00005-5>
- Narayani, M., & Shetty, K. V. (2013). Chromium-Resistant Bacteria and Their Environmental Condition for Hexavalent Chromium Removal: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43(9), 955–1009. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.627022>
- Ohtake, H., Fujii, E., & Toda, K. (1990). Bacterial Reduction of Hexavalent Chromium: Kinetic Aspects of Chromate Reduction by *Enterobacter cloacae* HO1. *Biocatalysis*, 4(2–3), 227–235.
<https://doi.org/10.3109/10242429008992094>
- Osail, S., Sanny, S., & Kabir, M. (2023). Bioremediation of Hexavalent Chromium By Bacteria Isolated From Buriganga River, Dhaka City. *Stamford Journal of Microbiology*, 13(1), 25–29.
<https://doi.org/10.3329/sjm.v13i1.70411>
- Owlad, M., Aroua, M. K., Daud, W. A. W., & Baroutian, S. (2009). Removal of Hexavalent Chromium-Contaminated Water and Wastewater: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 200(1), 59–77.
<https://doi.org/10.1007/s11270-008-9893-7>
- Plestenjak, E., Kraigher, B., Leskovec, S., Mandic Mulec, I., Marković, S., Ščančar, J., & Milačič, R. (2022). Reduction of hexavalent chromium using bacterial isolates and a microbial community



- enriched from tannery effluent. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24797-z>
- Prabhakaran, D. C., & Subramanian, S. (2017). Studies on the Bioremediation of Chromium from Aqueous Solutions Using *C. paurometabolum*. *Transactions of the Indian Institute of Metals*, 70(2), 497–509. <https://doi.org/10.1007/S12666-016-1009-2/METRICS>
- Pushkar, B., Sevak, P., Parab, S., & Nilkanth, N. (2021). Chromium pollution and its bioremediation mechanisms in bacteria: A review. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 287). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112279>
- Ramírez-Díaz, M. I., Riveros-Rosas, H., Campos-García, J., & Cervantes, C. (2009). Reducción Bacteriana De Cromo Hexavalente: Mecanismos Y Aplicaciones. *REB*, 28(3), 73–79.
- Rice, E. W., Baird, R. B., & Eaton, A. D. (2023). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23rd Edition.
- Seragadam, P., Rai, A., Ghanta, K. C., Srinivas, B., Lahiri, S. K., & Dutta, S. (2021). Bioremediation of hexavalent chromium from wastewater using bacteria-a green technology. *Biodegradation*, 32(4), 449–466. <https://doi.org/10.1007/s10532-021-09947-w>
- Sreedevi, P. R., Suresh, K., & Jiang, G. (2022). Bacterial bioremediation of heavy metals in wastewater: A review of processes and applications. In *Journal of Water Process Engineering* (Vol. 48). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102884>
- Ukhurebor, K. E., Aigbe, U. O., Onyancha, R. B., Nwankwo, W., Osibote, O. A., Paumo, H. K., Ama, O. M., Adetunji, C. O., & Siloko, I. U. (2021). Effect of hexavalent chromium on the environment and removal techniques: A review. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 280). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111809>
- Viti, C., Pace, A., & Giovannetti, L. (2003). Characterization of Cr(VI)-resistant bacteria isolated from chromium-contaminated soil by tannery activity. *Current Microbiology*, 46(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/S00284-002-3800-Z>
- Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2012). Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass and Bioenergy*, 44, 117–121.



<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.003>

Xie, S. (2024). Water contamination due to hexavalent chromium and its health impacts: exploring green technology for Cr (VI) remediation. In *Green Chemistry Letters and Reviews* (Vol. 17, Issue 1). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2356614>

Zhang, R., & Tian, Y. (2020). Characteristics of natural biopolymers and their derivative as sorbents for chromium adsorption: a review. In *Journal of Leather Science and Engineering* (Vol. 2, Issue 1). Springer. <https://doi.org/10.1186/s42825-020-00038-9>

Zohri, A. N. A., Abdelazim, M., & Ibrahim, S. (2018). 2-Aminoethanaminium 2-(ethoxycarbonyl)-4,6-dinitrophenolate as a greener route in reducing sugar quantification. *MethodsX*, 5, 609–612. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2018.05.017>

