

IV-Panigatti-Argentina-1

BIORREMEDIACIÓN DE EFLUENTES CON CROMO (VI) PROVENIENTE DE PLANTAS METALMECANICAS

M. Cecilia Panigatti.

Doctora en Química graduada en la Fac. de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina. Jefa del Laboratorio de Química y Adjunta de la Cátedra de Saneamiento y Medio Ambiente de la U.T.N. Fac. Regional Rafaela

José María Torres

Ingeniero Químico graduado en la Fac. de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina. Ingeniero Laboral egresado en la UTN Fac. Regional Santa Fe. Especialista en Ingeniería Ambiental. UTN. Fac. Regional Santa Fe.

Carina Griffa

Licenciada en Química graduada en la Fac. de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina. Ayudante del Laboratorio de Química y Ayudante de la Cátedra de Saneamiento y Medio Ambiente de la U.T.N. Fac. Regional Rafaela.

Rosana Boglione

Licenciada en Química graduada en la Facultad Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario. Argentina. Ayudante del Laboratorio de Química de la U.T.N. Fac. Regional Rafaela.

Fabiana Gentinetta

Bioquímica graduada en la Fac. de Bioquímica de la Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina. Directora de las carreras de Tec. Superior y Licenciatura en Industrias Alimentarias de la U.T.N. Fac. Regional Rafaela.

Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional Rafaela - Bv Roca 989. (2300) Rafaela. Santa Fe. Argentina. TE: (054-3492) 432702 FAX: (054-3492) 432710.
e-mail: cpanigatti@wilnet.com.ar

RESUMEN

El uso de procesos de biorremediación en la contaminación con metales es reciente y están siendo aplicados en forma creciente, principalmente en el tratamiento de efluentes líquidos. La biorremediación puede definirse como la tecnología que utiliza agentes biológicos, principalmente microorganismos, para remover contaminantes tóxicos desde el ambiente o para prevenir la contaminación por medio del tratamiento de los desechos.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el uso de *E. coli* en la detoxificación de aguas residuales contaminadas con Cr (VI) perteneciente a una planta metalmecánica.

A partir del efluente en estudio se aisló la bacteria *E. coli* con la cual se realizaron distintos ensayos de laboratorio. Se determinó la importancia de la presencia de oxígeno en el crecimiento de la bacteria trabajando con y sin cromo hexavalente. Se comprobó que este microorganismo se reproduce con mayor facilidad cuanto mayor es la concentración del sustrato, como así también, cuando el pH del mismo esta cerca de la neutralidad. La cepa en estudio fue capaz de reducir Cr(VI) a Cr(III) trabajando con concentraciones de 5, 10 y 25 mg . l⁻¹ de Cr hexavalente. Se verificó que el crecimiento de *E. coli* es importante y que la velocidad de reducción es mayor cuando las bacterias se encuentran soportadas mediante materiales inertes.

Los resultados obtenidos demuestran la posibilidad de utilizar la bacteria *E. coli* en la biorreducción de efluentes industrial conteniendo Cr(VI).

Palabras claves: biorremediación, Cromo (VI), *Escherichia coli*, metalmecánica

INTRODUCCIÓN

La contaminación de los sistemas acuáticos con metales pesados, por causas naturales o antropogénicas, es actualmente un serio problema ambiental. Los metales son especies químicas no degradables, que una vez volcados al medio ambiente pueden encontrarse en el aire, agua o suelo, cambiando a veces su estado de oxidación, o incorporándose a los seres vivos.

La cantidad de metales liberada anualmente al ambiente es impactante, y hay estudios que indican que la toxicidad total de los metales movilizados por las actividades humanas es superior a los desechos radiactivos y orgánicos. Esta situación puede producir efectos nocivos en la flora y la fauna, aumento de enfermedades crónicas en la población humana, limitación del uso múltiple del agua en muchas regiones del mundo (Moore, 1991).

La presencia de metales pesados en el ambiente ejerce una presión selectiva para los microorganismos y permite el desarrollo de bacterias con nuevas capacidades degradativas y mecanismos de resistencia, que le permiten sobrevivir en condiciones adversas (Duxbury y Bicknell, 1983). Así como afectan la actividad de las comunidades microbianas, estas sustancias pueden también influenciar en la abundancia y diversidad de los microorganismos. En los ambientes contaminados con metales las comunidades bacterianas responden a esta presión desarrollándose aquellas especies que son "Tolerantes" o "Resistentes".

Estudios realizados demuestran que las bacterias Gram negativas se adaptan mucho mejor a la presencia de metales pesados que las bacterias Gram positivas (Duxbury, 1986). La capacidad de las bacterias para crecer en presencia de altas concentraciones de metales puede depender de diferentes factores como:

- a) propiedades bioquímicas y estructurales intrínsecas;
- b) adaptaciones fisiológicas y/o genéticas;
- c) factores ambientales que tienen relación con la biodisponibilidad y toxicidad del metal (Gadd, 1992)

Las bacterias existen en la naturaleza en dos estados físicos, un estado de vida libre, planctónica, siendo esta forma de vida la más estudiada y conocida. El otro modo de vida es el sésil, en el cual las bacterias están insertas en una matriz sujeta a una superficie, donde la célula sufre una serie de procesos que posibilitan colonizar y sobrevivir en los más diversos ambientes (Caldwell y Lawrence, 1986; Costerton et al., 1987). Un gran número de microorganismos sobreviven en ambientes naturales a través de la formación de biopelículas.

La biorremediación puede definirse como la tecnología que utiliza agentes biológicos, principalmente microorganismos, para remover contaminantes tóxicos, o para prevenir la contaminación por medio del tratamiento de los desechos. El uso de procesos de biorremediación en la contaminación con metales es reciente y están siendo aplicados en forma creciente, principalmente en el tratamiento de efluentes líquidos. La transformación bacteriana que conduce a una detoxificación y, por lo tanto, a una biorremediación verdadera, consiste en la oxidación o reducción de metales pesados.

La reducción microbiana de Cr(VI) a Cr(III) es un proceso potencialmente útil para la remediación de aguas contaminadas con dicho metal. En dicho proceso se transforman compuestos muy solubles en agua, tóxicos y carcinógenos (Cr hexavalente), en compuestos poco solubles y menos tóxicos (Cr trivalente).

En distintas industrias, la concentración de metales en los efluentes representa un problema significativo debido a los costos y dificultades que involucra su remoción cuando se necesita cumplir estándares de descarga. En la actualidad, los procesos de tratamiento de efluentes más utilizados son los de tipo fisicoquímico, los que generalmente son deficientes cuando se tiene que reducir a un mínimo la presencia de metales en el efluente.

El objetivo del presente trabajo consistió en aislar una bacteria resistente a partir de un efluente de industria metalmeccánica y estudiar su aplicación en la detoxificación de aguas residuales contaminadas con Cr (VI), como alternativa del tratamiento fisicoquímico.

METODOLOGÍA

El efluente en estudio, proviene de una industria metalmeccánica de la región y presenta una importante variabilidad en su composición. Para su caracterización se realizaron las siguientes determinaciones: pH (Método Electrométrico), Sólidos sedimentables (Cono de Imhoff), Sólidos suspendidos fijos (Filtración 0,45 μm y secado en estufa 105°C), D.Q.O (Método reflujo con dicromato de potasio), Sustancias solubles en éter etílico (Extracción con éter etílico y evaporación), Níquel, Hierro, Cromo total y Manganeso (Espectrometría de Absorción Atómica de llama). Las técnicas utilizadas corresponden al "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (APHA, 2000).

Para lograr el aislamiento e identificación de las bacterias presentes en el efluente en estudio, se utilizaron dos muestras. Una de ellas correspondía a la corriente de desecho del proceso de elaboración propiamente dicha (E_1) y la otra, con las mismas características pero contaminada con efluente cloacal (E_2).

Las muestras fueron sembradas en superficie en los siguientes medios de cultivo: Agar Nutritivo, Agar Mc Conkey y Agar VRBD. Todas las siembras se realizaron por duplicado, y se incubaron durante 48 horas a 37 °C, en estufa de cultivo. A partir de las colonias desarrolladas en agar VRBD se realizó un repique en agar Mc Conkey a los fines de obtener el desarrollo de colonias típicas (24 horas a 37°C). A partir de allí, se trabajó con la colonia encontrada realizando un repique en Agar EMB en el cual al cabo de 24 horas a 37 °C se obtuvo desarrollo de colonias típicas de *Escherichia coli*.

Posteriormente, se realizó un repique en Agar Nutritivo (en placa) y luego en agar nutritivo en tubos de ensayo. Ambos se incubaron 24 horas a 37°C. A las colonias desarrolladas anteriormente, se le realizaron cuatro pruebas bioquímicas para su identificación (IMVIC) y se corroboró por el método de la Galería API 20 E.

La cepa aislada (*Escherichia coli*) se conservó a 4 °C en agar nutritivo. Para la realización de las distintas experiencias se preparó una suspensión bacteriana con solución fisiológica estéril (0,85 % m/V NaCl), de manera de obtener una concentración celular inicial de $10^6 - 10^7$ UFC/ml.

Efecto de la presencia de oxígeno en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico.

Se estudió el crecimiento de la bacteria aislada, trabajando con cultivos batch, en estado libre (planctónico) con y sin aireación con el objetivo de verificar la influencia del contenido de oxígeno disuelto en el crecimiento.

Se prepararon cultivos batch conteniendo 250 ml de caldo nutritivo inoculado con 1 ml de la suspensión bacteriana en estudio. Se incubaron a temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) con agitación constante. Se determinó el crecimiento bacteriano mediante medición de densidad óptica (D.O.) a 590 nm, durante un período de 45 horas. La aireación se logró utilizando una bomba de acuario marca Precisión PR-7500 (Acuarium Air Puma) con dispersor poroso que distribuye el aire en forma de finas burbujas de manera de asegurar una gran superficie de contacto entre el gas y el líquido.

Efecto de la concentración del sustrato en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con aireación.

Se procedió a determinar la influencia de la concentración del sustrato (medio de cultivo) en el desarrollo bacteriano correspondiente a la cepa identificada y aislada. Para ello se prepararon tres cultivos batch en erlenmeyers de 500 ml, conteniendo 250 ml de caldo nutritivo con 1 ml de la suspensión bacteriana en estudio, logrando una población inicial de 10^5 UFC/ml.

Las concentraciones de los medios de cultivos rotuladas mitad, normal y doble fueron las siguientes:

- Mitad: 4 g . l⁻¹ de caldo nutritivo
- Normal: 8 g . l⁻¹ de caldo nutritivo
- Doble: 16 g . l⁻¹ de caldo nutritivo

Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente (25 +/- 3 °C) con agitación constante. Se determinó el crecimiento bacteriano a través de la medición de D.O. a 590 nm, durante un período de 24 horas. La experiencia se efectuó trabajando con agitación constante y con aireación mecánica.

Efecto del pH en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con aireación.

El objetivo del ensayo fue determinar la incidencia del pH en el crecimiento de la cepa en estudio y establecer el rango óptimo de trabajo para el desarrollo bacteriano.

Se prepararon tres cultivos batch, conteniendo cada uno de ellos 250 ml de caldo nutritivo (concentración normal) en erlenmeyers de 500 ml. Los medios fueron inoculados con 1 ml de suspensión bacteriana en estudio logrando una población inicial de 2.10⁵ UFC/ml. En uno de los cultivos se dejó que el crecimiento evolucionara normalmente en condiciones ya ensayadas anteriormente (blanco). Los otros dos erlenmeyers fueron suplementados por un lado, con una solución buffer de pH = 7 (50 ml de KH₂PO₄ 0,1 M + 29,1 ml de NaOH 0,1 M, diluidos a 100 ml con agua destilada) y con una solución buffer de pH = 5 (50 ml de ftalato ácido de potasio 0,1 M + 22,6 ml de NaOH 0,1 M, diluidos a 100 ml con agua destilada), por otro.

En todos los casos se evaluó el crecimiento determinando la D.O. a 590 nm durante 24 horas y además se controló el pH.

Efecto del Cromo (VI) en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico.

Se prepararon cultivos batch conteniendo 250 ml de caldo nutritivo, inoculados con 1 ml de suspensión bacteriana y adicionados con una solución de Cr(VI) (K₂Cr₂O₇) de manera de obtener concentraciones iniciales de 0, 5, 10 y 25 mg . l⁻¹ Cr. La experiencia se llevó a cabo a temperatura ambiente trabajando con y sin aireación. Se evaluó el crecimiento bacteriano a través de la medición de D.O a 590 nm a distintos tiempos, durante un período de 45 horas trabajando con aireación y 120 horas sin aireación. Se realizó la medición de Cr(VI) al inicio y al final de la experiencia.

Determinación de la reducción de Cromo (VI).

Se estudió la reducción de Cromo (VI) en cultivos batch adicionados con distintas concentraciones de dicromato de potasio (5, 10 y 25 mg . l⁻¹ Cr) e inoculados con 1 ml de la suspensión bacteriana en estudio. Se trabajó con y sin aireación mecánica de los medios inoculados. Se tomaron muestras en distintos intervalos de tiempos, se centrifugaron a 3.500 rpm durante 20 minutos y se efectuó la determinación colorimétrica de la concentración de Cr (VI) remanente en solución. En los sistemas con aireación, al finalizar la experiencia se efectuó la determinación de Cromo (VI) colorimétricamente y de Cromo total por espectrometría de Absorción Atómica por atomización de llama. La concentración de Cromo trivalente fue calculada por diferencia.

Formación de biopelícula y reducción de Cr (VI).

Se evaluó el crecimiento de *E. coli* en los distintos medios soportes: carbón activado, arena y cerámica. El estudio de la formación de biopelícula se realizó en cultivos batch, con caldo nutritivo inoculado con la cepa en estudio. Se trabajó con concentraciones del 5 % de los soportes. Los sistemas fueron incubados durante 72 horas a temperatura ambiente (25 ± 3°C) con aireación mecánica. Transcurrido este tiempo se observaron las biopelículas desarrolladas en los diferentes soportes con un microscopio Universal Zeiss Aumento 2000 x.

Para el estudio de la reducción de Cr(VI) se trabajó de la misma forma que en las experiencias anteriores, adicionando Cr (luego de 48 horas de formación de biopelícula) de manera de lograr concentraciones iniciales de 5 y 10 mg . l⁻¹. Se trabajó a temperatura ambiente (25 ± 3°C) y con aeración mecánica. Se tomaron muestras en distintos intervalos de tiempo a las que se les determinó Cr(VI) luego de centrifugadas.

Para la determinación de Cr(VI) en todas las experiencias se aplicó el método colorimétrico de la difenilcarbazida a 540 nm (Standard Methods, 2000).

RESULTADOS

El efluente de la empresa metalmecánica se origina principalmente en procesos de elaboración de piezas metálicas, procesos de galvanoplastia y servicios de refrigeración por aceites solubles. Los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica de dicho efluente se detallan en la Tabla 1.

Tabla N °1: Análisis fisicoquímico de un efluente perteneciente a una empresa metalmecánica.

PARÁMETROS	RESULTADOS
pH	8,40
DQO (mg . l ⁻¹ O ₂)	14.466
Sólidos sedimentables 2 horas (mg . l ⁻¹)	2,5
Sólidos suspendidos (mg . l ⁻¹)	4392
Sustancias solubles en éter etílico (mg. l ⁻¹)	2627
Cromo Total (mg. l ⁻¹ Cr)	740
Cromo VI (mg . l ⁻¹ Cr)	713
Níquel (mg . l ⁻¹ Ni)	ND (5)
Manganeso (mg . l ⁻¹ Mn)	ND (2)
Hierro (mg . l ⁻¹ Fe)	16

ND significa no detectado, el valor entre paréntesis expresa el límite de detección del método empleado.

Los elevados valores obtenidos se deben a que los componentes predominantes en el efluente en estudio son productos oleosos emulsionables solubles en agua (sintéticos y semisintéticos), sustancias oleosas minerales insolubles en agua, y productos que contienen cromo hexavalente, y trivalente en menor medida. Las elevadas concentraciones de Cr(VI) obtenidas, llevaron a plantear en principio, las experiencias utilizando soluciones patrones de dicromato de potasio.

A través del análisis bacteriológico se determinó la ausencia de desarrollo microbiano en el efluente E₁ y se confirmó la presencia de *Escherichia coli* Tipo 1 en el efluente E₂ (con efluente cloacal).

Efecto de la presencia de oxígeno en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico.

En el sistema con aireación, el crecimiento de *Escherichia coli* comienza a medirse en las primeras horas de iniciada la experiencia, alcanzando el máximo de D.O. (cuantificable por el instrumento) a las 24 horas (Figura 1). En cambio, trabajando sin aireación el crecimiento celular comienza luego de 24 horas de comenzado el ensayo y se pudo corroborar que éste es lento y limitado. Estos resultados permiten corroborar la importancia de la presencia de oxígeno en el crecimiento de *Escherichia coli*.

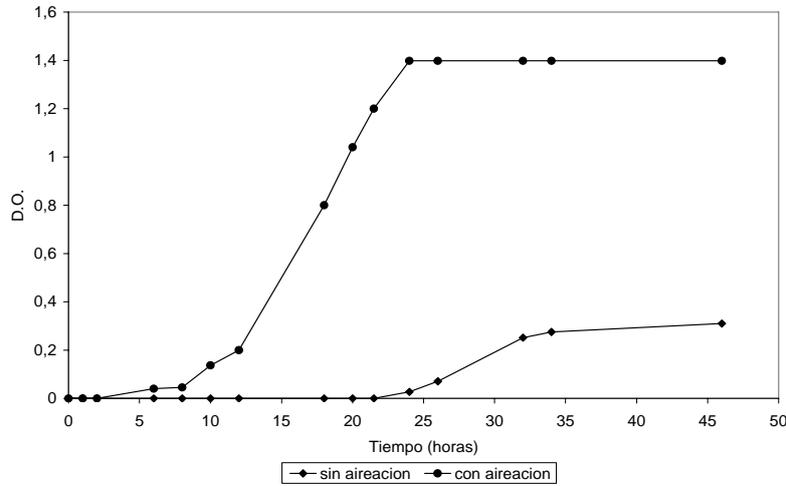


Figura 1: Crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con y sin aireación.

Efecto de la concentración del sustrato en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con aireación.

En la Figura 2 se puede observar que inicialmente los tres cultivos batch con distintas concentraciones de sustrato desarrollaron en forma pareja el crecimiento de las bacterias. Esto sucede durante las primeras 5 horas, pero luego se evidencia una marcada diferencia en el crecimiento de los microorganismos en los diferentes sustratos.

Las curvas de crecimiento muestran mayores velocidades de desarrollo del microorganismo a medida que se incrementa la concentración del medio de cultivo utilizado como sustrato. Trabajando a bajas concentraciones se evidencia una limitación en el crecimiento.

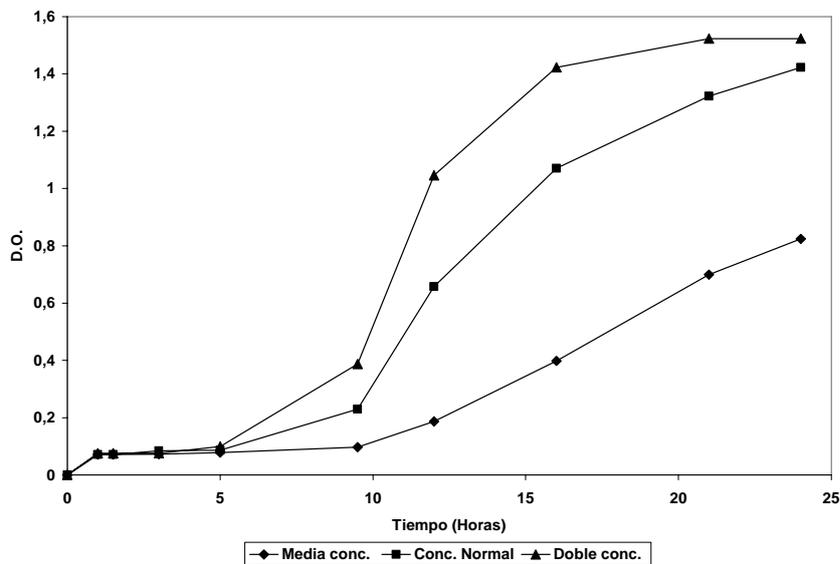


Figura 2: Efecto de la concentración del sustrato en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con aireación.

Crecimiento y efecto del pH en el crecimiento de la cepa en estudio en estado planctónico con aireación.

En la experiencia realizada se evidencia crecimiento bacteriano en todos los casos planteados en el ensayo. El crecimiento manifiesta un retardo para el caso del medio inoculado con la cepa en estudio y tamponado a pH = 5. La acidez del medio resulta en cierto modo inhibitoria en las primeras horas de iniciado el ensayo (hasta las 10 horas aproximadamente), para luego iniciar el crecimiento exponencial normal en este tipo de microorganismo; no obstante la densidad poblacional de bacterias es menor en cada punto de muestreo, respecto del blanco asignado y del medio tamponado a pH = 7.

El crecimiento del sistema denominado blanco y del medio tamponado a pH = 7, describen prácticamente a una misma curva. (Figura 3)

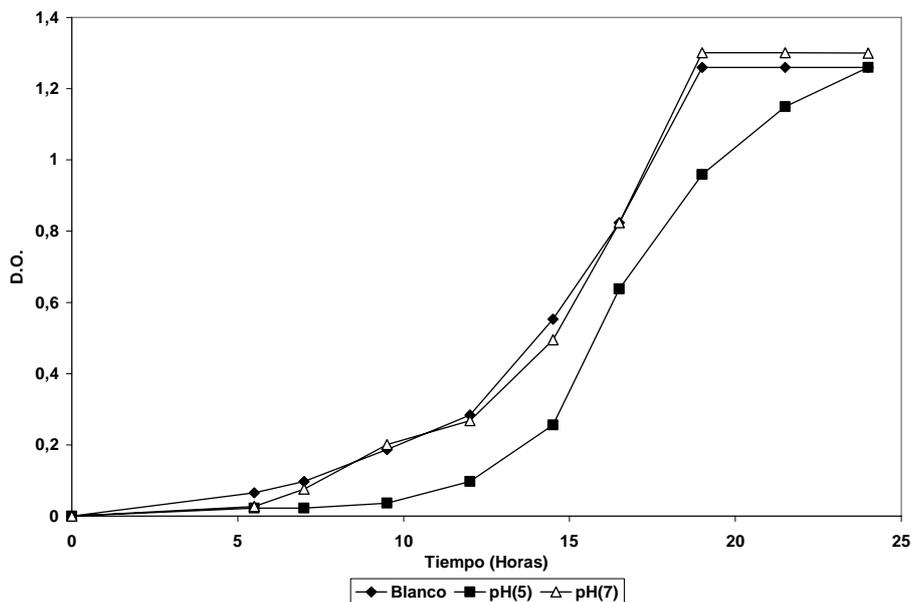


Figura 3: Crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con aireación a distintos valores de pH.

En la evolución del pH de los ensayos realizados en el crecimiento de la cepa en estudio, se observa que éste se mantiene constante en las primeras horas de iniciado el ensayo, aumentando luego con el transcurso del tiempo hasta llegar a valores ligeramente alcalino en todos los casos (Figura 4).

Un dato significativo es que el pH del medio tamponado a pH = 5 crece en el tiempo hasta alcanzar un valor de 8,4. Tanto el blanco, como el medio tamponado a pH = 7 responden a la misma evolución llegando a valores de 8,8 y 8,5 respectivamente al finalizar la experiencia.

E. coli es lisina y ornitina decarboxilasa positiva, lo que implica que degrada dichos aminoácidos generando dióxido de carbono y aminas las que producen alcalinidad en el medio (Schegel, 1997). Lisina y ornitina se encuentran presentes en la peptona y extracto de carne del medio de cultivo utilizado. La cantidad de solución reguladora agregada no fue suficiente para amortiguar el pH y la cantidad de compuestos básicos producidos durante el crecimiento trajo como consecuencia el aumento de pH.

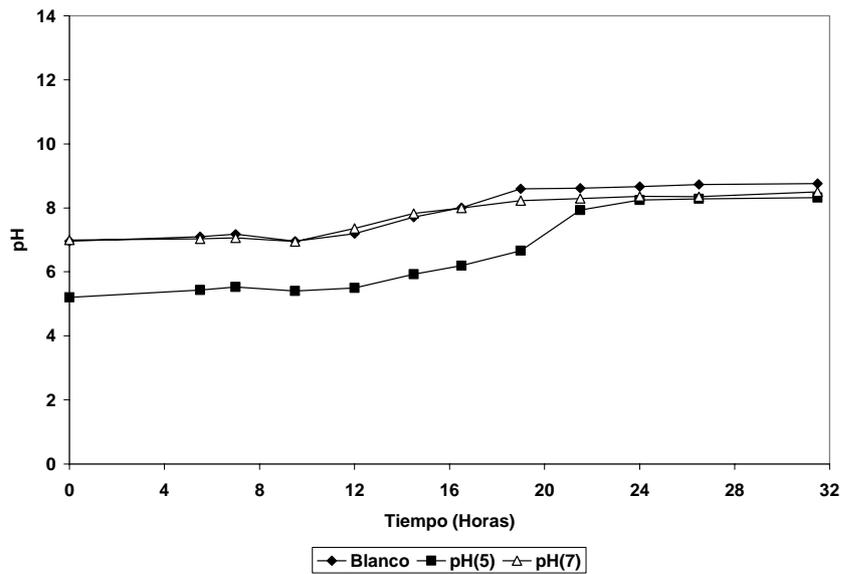


Figura 4: Evolución del pH en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico con aireación.

Al no evidenciar diferencias significativas entre el blanco y el sistema tamponado a pH = 7, se decidió realizar las experiencias siguientes sin regulación de los medios.

Efecto del Cromo (VI) en el crecimiento de *Escherichia coli* en estado planctónico.

Se comprobó una notoria diferencia en las curvas de crecimiento de *E. coli* con adición de Cr(VI) trabajando con y sin aireación (Figura 5). La presencia de oxígeno favoreció el desarrollo de la cepa lográndose los valores máximos de D.O. en períodos de tiempo menores respecto a los sistemas sin aireación. En ambos casos, se observó que el crecimiento de la bacteria en estudio a bajas concentraciones ($5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) es similar al control. En cambio, la mayor concentración de Cr(VI) agregada ($25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) produjo efectos inhibitorios sobre el crecimiento de la bacteria.

Al final de la experiencia se logró el 100 % de eliminación de Cr(VI) para las concentraciones de 5 y $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, en ambas condiciones. En el caso de los sistemas con $25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ de metal, trabajando sin aireación se logró una disminución del 40 % luego de 120 horas de estudio, mientras que con aireación, la remoción fue del 80 % al cabo de 45 horas (Figura N° 6).

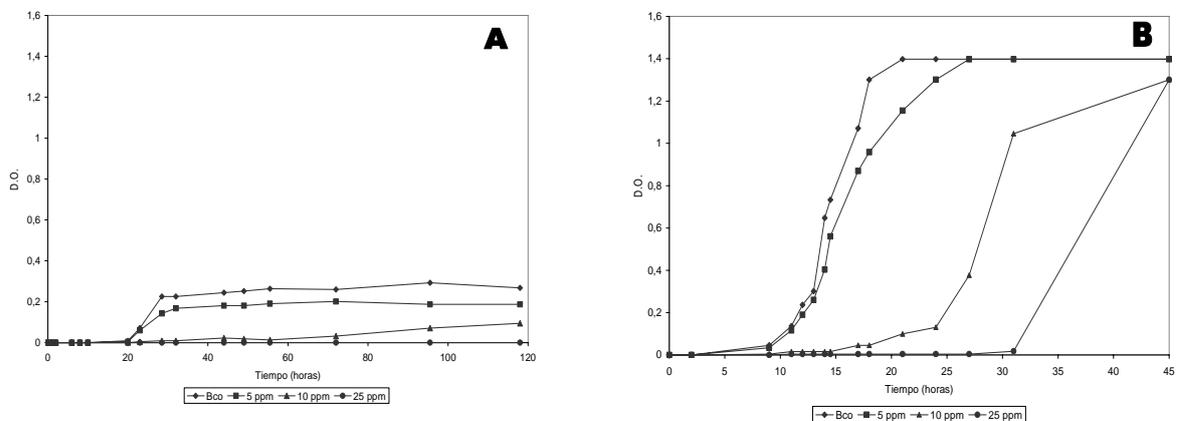


Figura 5: Curvas de crecimiento de *E. coli* con adición de Cr(VI) sin (A) y con aireación (B).

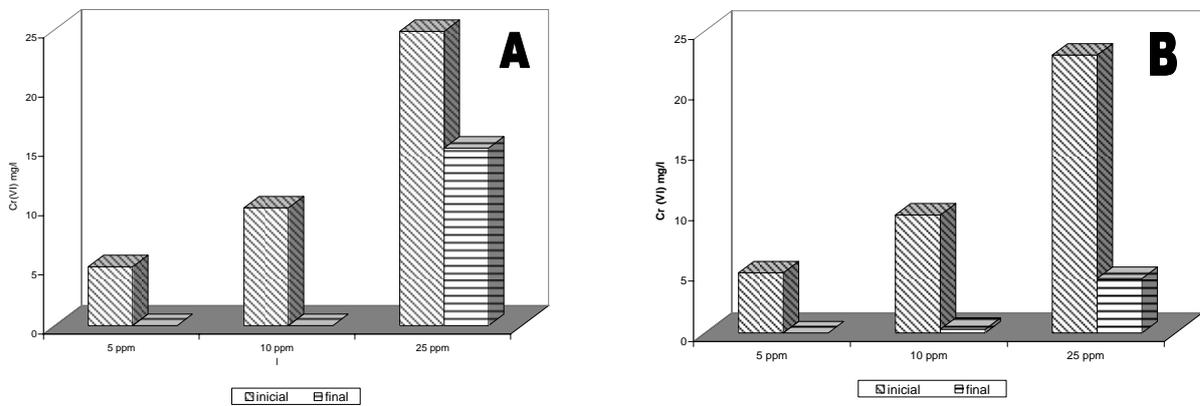


Figura 6: Concentraciones de Cr(VI) inicial y final en las experiencias de crecimiento de *E. coli*, sin aireación (A) y con aireación (B).

Determinación de la reducción de Cromo (VI)

El medio al ser suplementado con dicromato de potasio adquiere una coloración amarilla, la cual al finalizar la experiencia de reducción del Cr(VI) por la cepa en estudio, adquiere una coloración blanca. Esto revelaría en forma indirecta la desaparición o disminución del Cr hexavalente del medio en estudio. La actividad reductora de *E. coli* se constató mediante determinación colorimétrica de Cr hexavalente. Esta técnica analítica sólo revela la disminución de cromato en el medio, sin detectar la presencia de Cr(III).

En la Figura 7, se pueden observar las curvas de reducción de Cr(VI) trabajando con y sin aireación mecánica. En todos los casos se observa que la concentración de Cr(VI) varía muy poco durante las primeras horas de ensayo. Las condiciones de aerobividad favorecen el proceso de reducción de Cr(VI), ya que para las concentraciones mayores, la disminución se logra en períodos de tiempo menor.

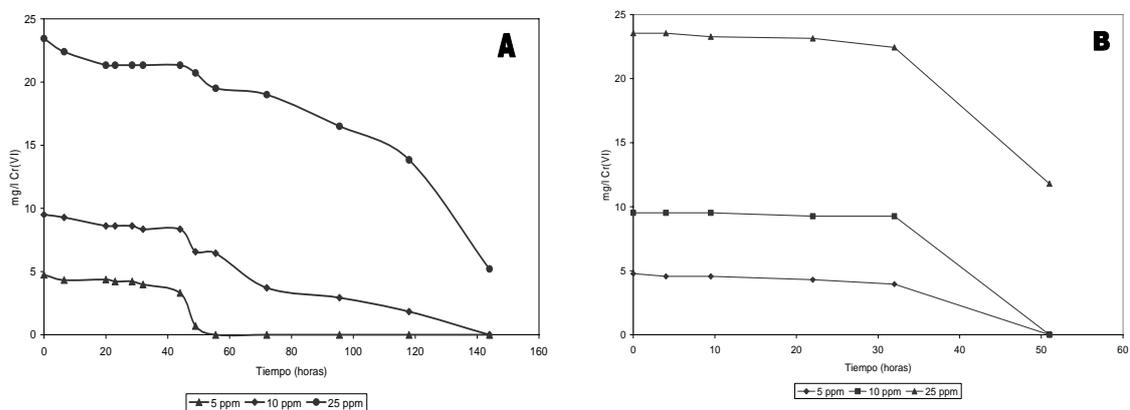


Figura 7: Curvas de reducción de Cr (VI) trabajando con *Escherichia coli* sin aireación (A) y con aireación (B).

Al finalizar la experiencia se logró el 100 % de eliminación de Cr(VI) para las concentraciones de 5 y 10 mg . l⁻¹, en ambas condiciones. En el caso de los sistemas con 25 mg . l⁻¹ de metal, trabajando sin aireación se logró una disminución del 77,8 % luego de 144 horas de estudio, mientras que con aireación, la remoción fue del 49,9 % al cabo de 45 horas.

En la Figura 8 se presentan las concentraciones de Cr hexavalente y trivalente presentes al inicio y al final de la experiencia trabajando con el microorganismo en estudio y con suministro de aire. Se puede observar que para las menores concentraciones (5 y 10 mg . l⁻¹), el contenido de Cr (VI) al finalizar la experiencia se encuentra por debajo del límite de detección del método y casi todo el metal está reducido a su estado de oxidación (III). Trabajando con 25 mg . l⁻¹ no se logró la reducción total en el periodo de tiempo de ensayo lo cual se podría lograr aumentando el tiempo de contacto.

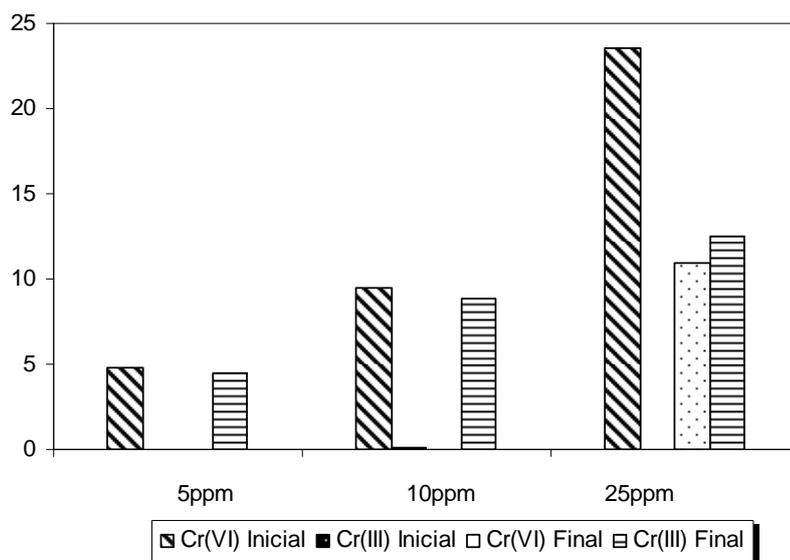


Figura 8: Concentraciones de Cromo (VI) y (III) inicial y final trabajando con *Escherichia coli* con distintas concentraciones de Cromo inicial y con aireación mecánica.

Los valores de pH obtenidos al finalizar la experiencia (8,5 – 8,8), permiten asegurar que el cromo que se genera como producto de la reducción biológica, forma un hidróxido insoluble que precipita y se separa del medio líquido (Figura 9).

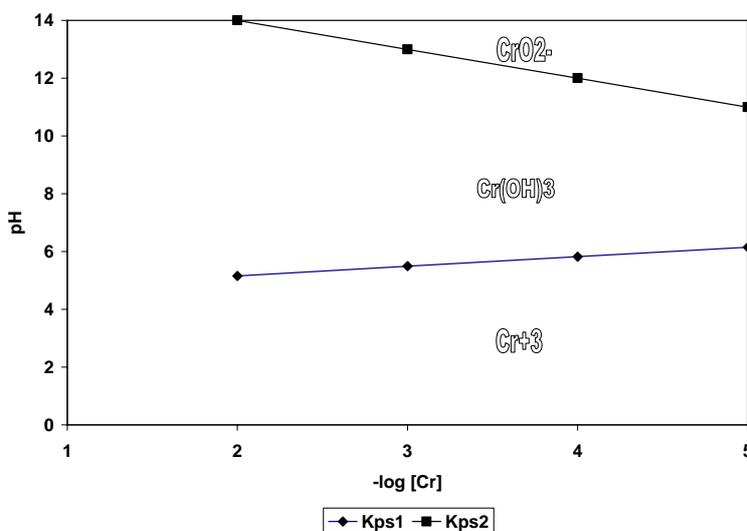


Figura 9: Curvas de distribución de especies de Cr(III) en función del pH del medio

Formación de biopelícula y reducción de Cr (VI).

Se observó con microscopio óptico el crecimiento de la bacteria en estudio encontrándose mayor crecimiento en los distintos medios soportes respecto al estado planctónico (Figura 10). Con carbón activado no se puede visualizar en forma correcta las bacterias debido a las características y color del soporte.

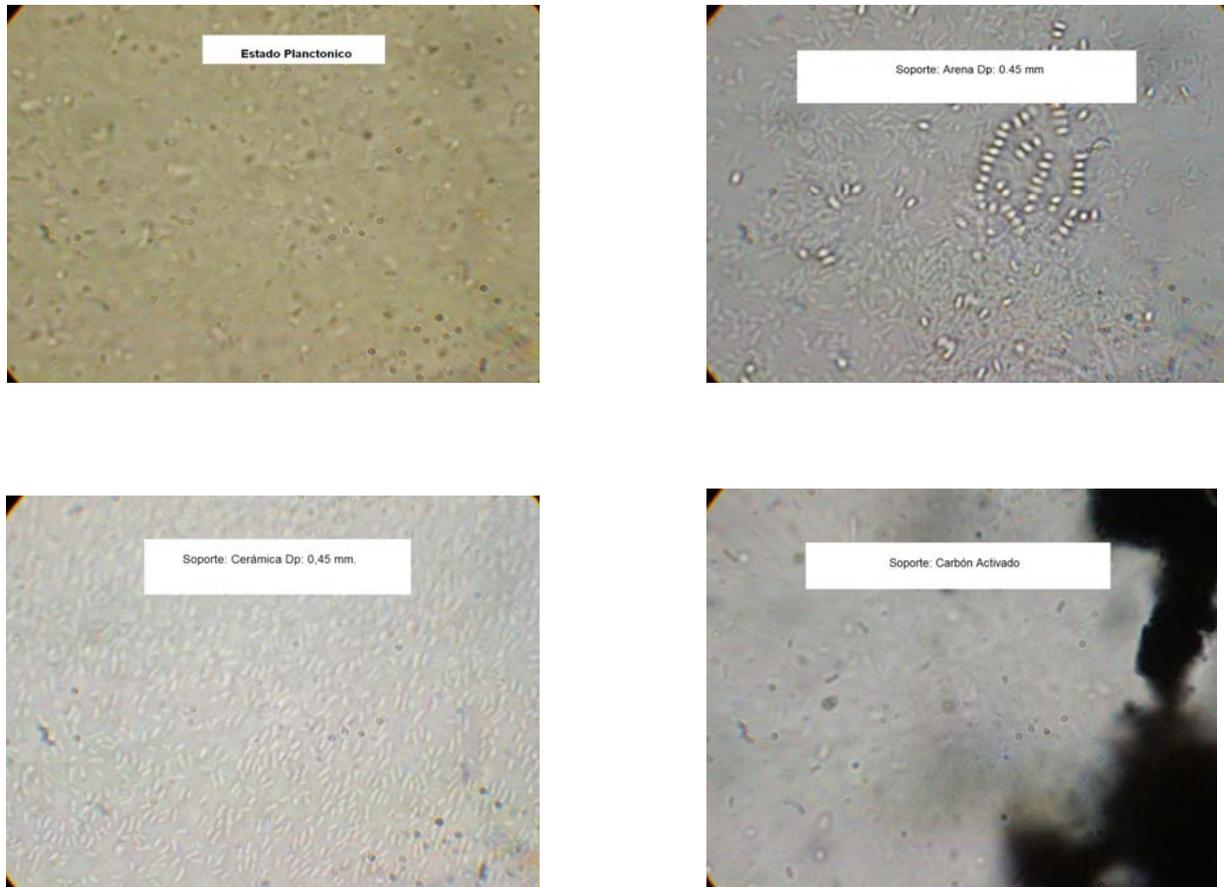


Figura 10: Fotomicrografías de *E. coli* en estado planctónico y de biopelículas utilizando diferentes soportes.

La experiencia realizada muestra un importante aumento en las velocidades de reducción, respecto de las experiencias con la bacteria en estado planctónico. En cuanto a la eliminación de Cr(VI), los ensayos realizados con carbón activado y arena dieron resultados similares durante las primeras 24 horas (Figuras 11 y 12). A las 45 horas con carbón activado la eliminación de Cr hexavalente fue mayor al 99% para las tres concentraciones de trabajo. En la experiencia realizada con arena, la remoción fue total a las 45 horas para los ensayos realizados con 5 y 10 mg . l⁻¹ mientras que para 25 mg . l⁻¹ se requirieron 60 horas para la eliminación completa del metal.

Al utilizar cerámica como soporte (Figura 13), se observa que a las 10 hs de iniciado el ensayo, la eliminación del metal es del 100% respecto de la concentración inicial para el caso del medio suplementado con 5 mg . l⁻¹ de Cr (VI). Para el ensayo con 10 mg . l⁻¹ de Cr (VI), en ese mismo período se observa una reducción del 82 % del metal respecto de la concentración inicial, para llegar a las 18 horas sin detección alguna del metal. Finalmente para el medio suplementado con la mayor concentración (20 mg . l⁻¹) también se observa a las 10 hs una importante disminución (aproximadamente 92%), para llegar a las 18 hs sin vestigios del metal.

En todos los casos se observa que a menores concentraciones iniciales de metal suplementado, el tiempo requerido para su eliminación es menor. Además, se puede concluir que los mejores resultados se obtuvieron utilizando cerámica como soporte.

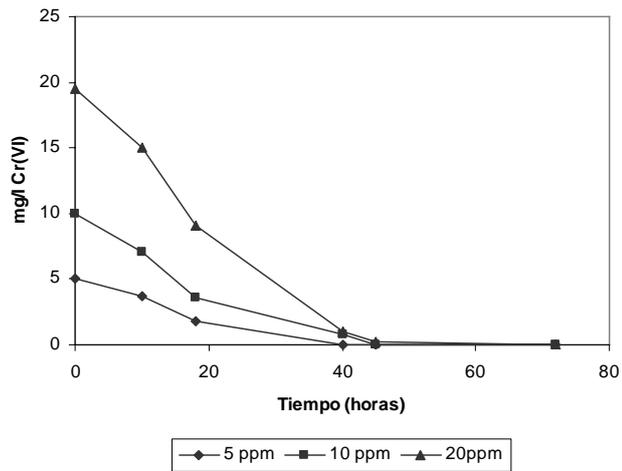


Figura 11: Formación de biopelícula usando Carbón Activado y posterior reducción de Cr (VI).

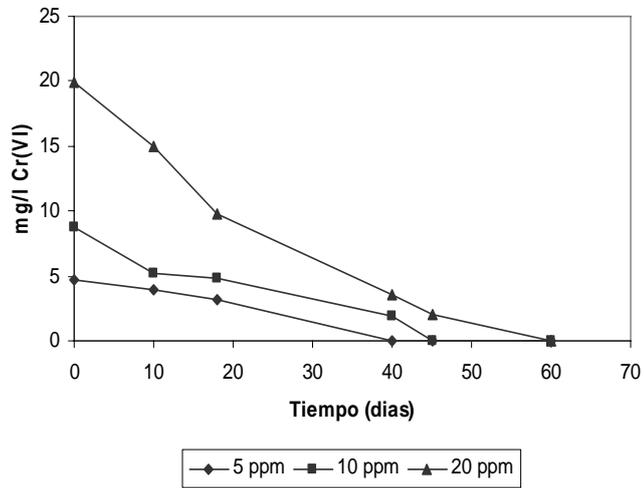


Figura 12: Formación de biopelícula usando Arena y posterior reducción de Cr (VI).

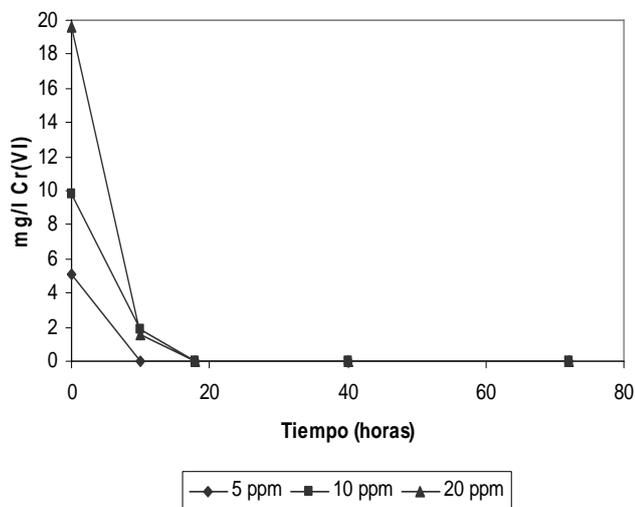


Figura 13: Formación de biopelícula usando Cerámica y posterior reducción de Cr (VI).

CONCLUSIONES

- Se comprobó que la bacteria *Escherichia coli* puede crecer en presencia de Cr(VI).
- Quedó demostrado que las bacterias tienen mayor reproducción cuanto mayor es la concentración del sustrato.
- Se evidenció la influencia del pH en el crecimiento bacteriano, ya que a pH = 7 se logró un desarrollo continuo mientras que a pH = 5 hay un efecto inhibitorio.
- Trabajando con concentraciones de 5 y 10 mg . l⁻¹ de Cr(VI) se logró el 100 % de reducción del metal, tanto con aireación como sin aireación.
- Se verificó que la velocidad de reducción de Cr hexavalente es mayor cuando las bacterias se encuentran en presencia de oxígeno y soportadas mediante materiales inertes.
- Los resultados obtenidos demuestran la posibilidad de utilizar dicha bacteria en la biorremediación de un efluente industrial conteniendo Cr(VI), para lo que se prevé realizar experiencias a escala piloto.

BIBLIOGRAFIA

1. APHA. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. American Public Health Assoc., N. York. 2000.
2. DUXBURY, T. AND B. BICKNELL. Metal-tolerant bacterial populations from natural and metal-polluted soils. *Soil. Biol. Biochem.* 15:243-250. 1983.
3. DUXBURY, T. Ecological aspects of heavy metals responses in microorganisms. *Adv. Microbiol. Ecol.* 8:185-235. 1986.
4. CALDWELL, D. AND J. LAWRENCE. Growth Kinetics of *Pseudomonas fluorescens* microcolonies within the hydrodynamic boundary layers of surface microenvironments. *Microb. Ecol.* 12:299-312. 1986.
5. COSTERTON, J., K. CHENG, G. GEESEY, T. LADD, J. NICKEL, M. DASGUPTA AND T. MARRIE. *Bacteriol. Biofilms in Nature and Disease. Annu. Rev. Microbiol.* 41:435-464. 1987.
6. DUXBURY, T. Ecological aspects of heavy metals responses in microorganisms. *Adv. Microbiol. Ecol.* 8:185-235. 1986.
7. GADD, G. Microbial control of heavy metal pollution. In: *Microbial control of pollution*. Eds. by J. C. Fry & C. Lndd. Cambridge Press. 59-88. 1992.
8. GADD, R. A., HERBERT, C.W. JONES AND I.A WATSON. *Microbial control of pollution*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 60-88. 1992.
9. MONDACA, M.A., CAMPOS, V, MORAGA, R. AND ZAROR, C.A. Chromate Reduction in *Serratia marcescens* Isolated from Tannery Effluent and Potencial Application for Bioremediation of Chromate Pollution. *The Scientific World Journal*, 2: 972-977. 2002.
10. MOORE, J.W. Cadmium. In: *Inorganic contaminants of surface water*. Springer-Verlag, New York. pp. 64-81. 1991.
11. SHEGEL, H.G. *Microbiología General*. Editorial Omega. Barcelona, España. pp 654. 1997