



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CENTRO DE ESTUDIOS DE BIOTECNOLOGÍA INDUSTRIAL**

TÍTULO: Evaluación del Residual de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba. Tratamiento de la Contaminación de Cromo (VI) por Bioadsorción.

Tesis presentada en Opción al Título Académico de
Master en Biotecnología. Mención Biotecnología
Ambiental.

AUTOR: LIC. DANNIS ADRIAN CASCARET CARMENATY.

**TUTORES: DRA. C. ROSA MARIA PÉREZ SILVA.
DRA. C. ALINA MARAÑÓN REYES.**

**SANTIAGO DE CUBA, 2010
“AÑO 52 DE LA REVOLUCIÓN”**

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la tecnología bioadsorción para la remediación del agua residual de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba con contenido metálico, por medio del empleo de biomasa bacteriana capaz de adsorber metales pesados. Para esto, se realizó la caracterización de dos estaciones de monitoreo, una situada en el sedimentador de la planta y la otra a la salida de la fábrica, ubicada en el río Yarayó, en el análisis se demostró que el agua residual no cumple con las regulaciones para el vertido según las Normas Cubanas NC 27:1999, Clase (C) y NC 521:2007, Clase (E); la variabilidad observada en los valores de pH (2,3-8,9 U), los altos valores de conductividad (3,6-8,8 mS.cm⁻¹), dureza total (277-2106 mg.dm⁻³), sulfatos (191-1243 mg.dm⁻³) y sodio (632-1105 mg.dm⁻³) en el río, así como los altos valores de la demanda química de oxígeno y la presencia de metales pesados, se debe en gran medida al residual de la fábrica. De los metales pesados, el Cr, Pb y Zn están por encima de los límites permisibles. Los parámetros analizados, indican el alto nivel de contaminación de este residual y su posible afectación al cuerpo receptor río Yarayó, que desemboca en la Bahía de Santiago de Cuba, ya que no cumplen con la Norma Cubana de vertido de aguas residuales a los cuerpos receptores. En el aislamiento y selección de cepas bacterianas del residual de la planta galvánica; se aislaron 4 cepas resistentes a metales pesados, de ellas la cepa 1 reporta la mayor capacidad de adsorción de cromo (VI). Los experimentos de bioadsorción condujeron a que la biomasa obtenida de la cepa 1 es capaz de remover el 90,1 % de cromo (VI) de la solución patrón estudiada a un valor de pH de 6 unidades y una masa de adsorbente de 0,6 g.dm⁻³; sin embargo, en una matriz real con 1,16 mg.dm⁻³, se logra disminuir la concentración a 0,23 mg.dm⁻³ lo cual corresponde a un porcentaje de remoción del 80,1 %. Los resultados evidencian que la biomasa obtenida por la cepa 1 es capaz de remover los iones cromo (VI).

Palabras Claves: Cromo, bioadsorción, aguas residuales, contaminación, metales pesados.

ABSTRACT

In the present study was to evaluate the biosorption technology for the remediation of wastewater of galvanic plants of the company under "30 November" in Santiago de Cuba with metallic content, through the use of bacterial biomass able to adsorb heavy metals. For this, A characterization of two monitoring stations, one located in the sediment of the plant and the other to the output of the factory, located on the river Yarayó, the analysis demonstrated that wastewater does not meet the regulations for the waste according to the Cuban Standard NC 27:1999, Class (C) and NC 521:2007, Class (E), the observed variability in pH values (2.3-8.9 U), high conductivity values (3.6-8.8 mS.cm⁻¹), total hardness (277-2106 mg.dm⁻³), sulfates (191-1243 mg.dm⁻³) and sodium (632-1105 mg.dm⁻³) in the river and the high values of chemical oxygen demand and the presence of heavy metals are largely due to the residual of the factory. Heavy metals, Cr, Pb and Zn are above permissible limits. The parameters analyzed, indicate the high level of this residual contamination and its possible involvement in the receiving body Yarayó river, which empties into the Bay of Santiago de Cuba, and that do not meet Cuban Standard waste water discharge to the receiving bodies. In the isolation and selection of bacterial strains of galvanic wastewater plant, were isolated 4 strains resistant to heavy metals, of which the strain 1 reported the largest adsorption capacity of chromium (VI). Biosorption experiments led to the biomass obtained from the strain 1 is not capable of removing 90.1% of chromium (VI) standard solution studied at a pH value of 6 units and a mass of adsorbent from 0.6 g.dm⁻³, but in a real array with 1.16 mg.dm⁻³, is achieved by decreasing the concentration to 0.23 mg.dm⁻³ which corresponds to a removal percentage of 80.1%. The results show that the biomass produced by the strain 1 is capable of removing chromium ions (VI).

Keywords: chromium, biosorption, waste waters, pollution, heavy metals.

Índice

	Página
Introducción.	1
Diseño teórico.	3
Capítulo 1.- Revisión bibliográfica.	4
1.1.- Antecedentes.	4
1.2.- Contaminación. Generalidades.	6
1.2.1.- Tipos de contaminación.	7
1.3.- Aguas residuales. Generalidades.	9
1.3.1.- Composición de las aguas residuales.	10
1.3.2.- Parámetros empleados en la caracterización de las aguas.	10
1.4.- Contaminación por metales pesados.	11
1.5.- Cromo. Generalidades.	13
1.5.1.- Papel biológico del cromo.	14
1.6.- Tratamientos de aguas residuales.	15
1.6.1.- Transformaciones mediadas por microorganismos en el tratamiento de metales pesados.	15
1.6.1.1.- Inmovilización de metales pesados.	16
1.6.1.2.- Bioacumulación.	16
1.6.1.3.- Biomineralización.	16
1.6.1.4.- Biotransformación.	17
1.6.1.5.- Quimiosorción mediada por microorganismos.	17
1.6.1.6.- Biosorción.	18
1.7.- Empresa Conformadora “30 de noviembre”.	20
Capítulo 2.- Parte experimental.	21
2.1.- Materiales y métodos.	21
2.1.1. Métodos analíticos.	21
2.1.2.- Normativa empleada para el análisis de los resultados.	21
2.1.3.- Análisis estadístico de los resultados.	22
2.1.4.- Cuantificación del impacto ambiental.	22
2.2.- Protocolos experimentales.	22
2.2.1.- Protocolo para la caracterización de las aguas residuales generadas en el proceso productivo de la Empresa Conformadora “30 de noviembre” y del río Yarayó.	23
2.2.1.1- Localización de los puntos de muestreo.	23
2.2.1.2.- Muestreo y conservación de muestras.	23
2.2.1.3.- Parámetros analizados y métodos empleados.	23
2.2.2.- Protocolo para el aislamiento y selección de cepas bacterianas resistentes a metales pesados.	24
2.2.2.1.- Origen y toma de muestra.	24
2.2.2.2.- Preparación del medio de cultivo para el aislamiento de las bacterias.	24
2.2.2.3.- Aislamiento de microorganismos resistentes a metales pesados.	24
2.2.2.4.- Identificación y conteo.	24
2.2.2.5.- Aislamiento y purificación de cepas bacterianas.	25
2.2.2.6.- Clasificación de gérmenes en gram (+) y gram (-).	25
2.2.3.- Protocolo para la bioadsorción de cromo (VI) por las cepas bacterianas seleccionadas.	25
2.2.3.1.- Crecimiento y obtención de la biomasa seca.	25
2.2.3.2.- Selección del bioadsorbente.	26
2.2.3.3.- Estudio del ph óptimo de bioadsorción.	26

2.2.3.4.- Estudio del tiempo óptimo de bioadsorción.	27
2.2.3.5.- Estudio de la capacidad de bioadsorción.	27
2.2.3.6.- Evaluación de la remoción de cromo (VI) por la biomasa de la cepa bacteriana seleccionada en una matriz real.	27
Capítulo 3.- Resultados y discusión.	28
3.1.- Caracterización físico - química y evaluación de las aguas residuales de la Planta Galvánica, Empresa Conformadora “30 de noviembre” y del río Yarayó.	28
3.1.1.- Análisis de muestras de agua del río Yarayó.	33
3.1.2.- Resultados del análisis estadístico.	33
3.1.3.- Evaluación del impacto ambiental producido por los residuales de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de noviembre”.	34
3.1.3.1.- Análisis de las matrices de impacto.	34
3.1.3.2.- Cuantificación del impacto ambiental.	36
3.2.- Aislamiento y selección de cepas bacterianas resistentes a cromo (VI).	37
3.2.1.- Identificación y conteo en el microscopio óptico.	37
3.2.2.- Clasificación de gérmenes en gram (+) y gram (-).	38
3.2.3.- Crecimiento y obtención de la biomasa.	39
3.3.- Bioadsorción de cromo (VI) por biomasa bacteriana.	39
3.3.1- Selección del adsorbente y estudio del proceso bioadsorción en función del pH.	40
3.3.2.- Estudio del tiempo óptimo de bioadsorción.	41
3.3.3.- Estudio de la capacidad de bioadsorción.	41
3.3.4.- Evaluación de la remoción de cromo (VI) por la cepa bacteriana seleccionada en una matriz real.	42
Conclusiones.	44
Recomendaciones.	45
Bibliografía.	46

INTRODUCCIÓN

La “conquista” de la naturaleza, no solo ha estado marcada por el progreso, la actividad del hombre ha constituido invariablemente un poderoso factor de influencia sobre el planeta, y los cambios introducidos a lo largo de siglos, consciente o inconscientemente, no siempre han sido justificados. El desarrollo vertiginoso de la ciencia y la técnica a nivel mundial, provoca altos índices de contaminación ambiental, dando lugar en la mayoría de los países, a un despertar en el orden social relacionado con la prevención de este problema.

En Cuba, a pesar del trabajo que se realiza en el cuidado y conservación del medio ambiente, la contaminación de los embalses, ríos, presas, mares y bahías por el vertido continuo de aguas residuales sin tratar o insuficientemente depurados, genera serias alteraciones en estos cuerpos o corrientes receptoras, provocando un deterioro, en muchos casos notable, de las condiciones de vida e higiénico-sanitarias de los asentamientos sociales aledaños, desde el punto de vista ambiental, económico, estético y cultural **(Cardero, 2008)**.

Desde hace varias décadas, se estudian y desarrollan métodos para disminuir o eliminar la contaminación provocada por los residuales con contenido metálico que se generan en las industrias, los cuales son vertidos sin tratamiento previo al medio ambiente. Para tratar este tipo de residual, se dispone de métodos electroquímicos, técnicas de precipitación, membranas semipermeables, resinas de intercambio iónico, entre otras; si bien cada técnica es efectiva para una situación particular, el problema de aplicar procesos complicados y económicamente poco convenientes, ha orientado la búsqueda de métodos más baratos de fácil aplicación y soportados sobre la base de principios ecológicos.

En los últimos años se ha incrementado el interés de la Biotecnología Ambiental en el empleo de sistemas biológicos para el tratamiento de las aguas contaminadas con metales pesados, cuya disposición puede agravar la contaminación ambiental. La selección de tecnologías adecuadas, teniendo en cuenta las características de los contaminantes a tratar, además del aprovechamiento del amplio espectro de reacciones metabólicas que exhiben los organismos vivos, constituye un aspecto a tener en cuenta en la concepción de sistemas de tratamiento que minimicen los impactos que ocasionan el vertido de residuales al ambiente **(Orozco y col., 2004)**.

El Programa Territorial de Ciencia y Técnica del Medio Ambiente tiene entre sus líneas: el enfoque metodológico, científico-técnico y económico del manejo integral de residuales, de modo que se pueda diseñar una estrategia científico-tecnológica para el manejo y el aprovechamiento económico de estos **(CITMA, 2003)**.

Existen una serie de parámetros que deben evaluarse para determinar las características de las aguas residuales que son vertidas a los cuerpos receptores, y de esta manera determinar si pueden o no ser vertidos a los mismos.

Los procesos por los cuales los microorganismos interactúan con metales tóxicos son muy diversos, sin embargo, existen tres categorías de procesos biotecnológicos para el tratamiento de residuos líquidos con contenido metálico: biosorción, precipitación extracelular y captación a través de polímeros purificados y de otras moléculas especializadas derivadas de células microbianas. Estos procesos no son excluyentes y pueden involucrar fenómenos físicos- químicos y biológicos **(Lloyd y Lovley, 2003)**.

La reducción microbiana de metales, desempeña un papel determinante en los ciclos de las especies orgánicas e inorgánicas que interactúan en el medio ambiente, siendo la base para nuevos procesos biotecnológicos **(Lloyd, 2001)**.

En la Empresa Conformadora “30 de noviembre”, se vierten grandes cantidades de residuales líquidos contaminados con metales pesados, los cuales impactan al río Yarayó, afectando el equilibrio ecológico e influyendo de forma negativa en el medio ambiente. (<http://www.santiago.cu/cienciapc/numeros/2003/5/pdfs/Bahia.PDF>).

DISEÑO TEÓRICO

Necesidad social.

El río Yarayó está altamente contaminado, siendo una de las causas fundamentales el vertido indiscriminado de residuales sin tratar o con tratamientos deficientes de las industrias ubicadas en su cuenca, que deterioran este ecosistema. Entre estas industrias se encuentra la Empresa Conformadora “30 de Noviembre”.

Problema.

¿Cómo disminuir el impacto negativo que ejercen los residuales vertidos por la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” con alto contenido de cromo (VI) al equilibrio natural de las aguas del río Yarayó?

Hipótesis.

Es posible minimizar el contenido de cromo (VI) presente en el residual generado por la planta galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” mediante el empleo de la técnica de bioadsorción.

Objetivo general.

Evaluar la capacidad de bioadsorción de cromo (VI) por la biomasa obtenida a partir de bacterias aisladas del residual estudiado.

Objetivos específicos:

1. Realizar la caracterización física, química, físico-química y microbiológica de las aguas residuales de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba.
2. Evaluar las aguas residuales de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba.
3. Aislar cepas bacterianas autóctonas resistentes a cromo (VI) de zonas impactadas por el residual estudiado.
4. Seleccionar cepas bacterianas con capacidad de bioadsorber cromo (VI).
5. Evaluar la remoción cromo (VI) por la cepa seleccionada en una matriz real.

CAPÍTULO 1.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1.- ANTECEDENTES

Las actividades industriales generan una contaminación a gran escala con metales pesados (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr, Ni, Hg, Co, Ag, Au) y radionucleoides (U, Th) en el medio ambiente. En los acuíferos y aguas superficiales pueden comprometer seriamente el uso de este recurso como fuente de agua para el consumo humano. La remediación de estos ambientes contaminados mediante la utilización de métodos químicos involucra procesos de costos excesivamente altos debido a la especificidad requerida. Además, este tipo de solución no es aplicable en procesos de remediación in situ, ya que es imposible tratar un metal determinado debido a la competencia existente por la presencia de otros (Vullo, 2003).

Los metales son especies químicas no degradables. Por tal motivo, una vez presentes en el medio ambiente, sólo pueden distribuirse entre los ecosistemas aire - agua - suelo, ya sea cambiando su estado de oxidación o incorporándose a los seres vivos. Los procesos de adsorción y la formación de complejos en medios naturales son responsables de que la mayor parte de los vestigios de metales pesados se acumulen en los sólidos en suspensión, incorporándose rápidamente a los sedimentos, donde se presentan los mayores niveles de concentración de estos contaminantes. Como resultado de estas interacciones, los sedimentos juegan un papel muy importante en la regulación de la calidad del agua. Por su parte, las aguas intersticiales, en contacto directo con los sedimentos, actúan como fuente o sumidero de estos contaminantes y en ellas se observan concentraciones intermedias entre las aguas superficiales y los sedimentos **(Buffle y col., 1987; Hursthouse, 2001; Kalbitz y Wennrich, 1998; Kim y col., 2002).**

Desde hace varias décadas, se estudian y desarrollan métodos para disminuir o eliminar la contaminación provocada por los residuales con contenido metálico que se generan en las industrias, los cuales son vertidos sin tratamiento previo al medio ambiente. Para tratar este tipo de residual, se dispone de métodos electroquímicos, técnicas de precipitación, membranas semipermeables, resinas de intercambio iónico, entre otras; si bien cada técnica es efectiva para una situación particular, el problema de aplicar procesos complicados y económicamente poco convenientes, ha orientado la búsqueda de métodos más baratos de fácil aplicación y soportados sobre la base de principios ecológicos.

En los últimos años se ha incrementado el interés de la Biotecnología Ambiental en el empleo de sistemas biológicos para el tratamiento de las aguas contaminadas con metales pesados, cuya disposición puede agravar la contaminación ambiental. La selección de tecnologías adecuadas, teniendo en cuenta las características de los contaminantes a tratar, además del aprovechamiento del amplio espectro de reacciones metabólicas que exhiben los organismos vivos, constituye un aspecto a tener en cuenta en la concepción de sistemas de tratamiento que minimicen los impactos que ocasionan el vertido de residuales al ambiente.

Los procesos por los cuales los microorganismos interactúan con metales tóxicos son muy diversos, sin embargo, existen tres categorías de procesos biotecnológicos para el tratamiento de residuos líquidos con contenido metálico: biosorción, precipitación extracelular y captación a través de polímeros purificados y de otras moléculas

especializadas derivadas de células microbianas. Estos procesos no son excluyentes y pueden involucrar fenómenos físicos- químicos y biológicos (**Lloyd y col., 2001; Gadd, 2004**). La reducción microbiana de metales, desempeña un papel determinante en los ciclos de las especies orgánicas e inorgánicas que interactúan en el medio ambiente, siendo la base para nuevos procesos biotecnológicos. (**Lloyd y col., 2003**).

Una característica química importante de las paredes celulares, es que poseen igualmente grupos funcionales; las técnicas analíticas nos muestran que en ellas están presentes polímeros sustituidos con grupos aminos, amidos, carboxílicos y fosfatos. Una vez que la biomasa obtenida principalmente de los desechos de las industrias que realizan procesos de fermentación, ha sido secada, el residuo se convierte en un adsorbente eficaz en la remoción de especies metálicas de los efluentes.

En la Empresa Conformadora “30 de noviembre”, se vierten grandes cantidades de residuales líquidos contaminados con metales pesados, los cuales impactan en la bahía Santiaguera afectando el equilibrio ecológico e influyendo de forma negativa en el medio ambiente. Este fenómeno tiene gran impacto en la sociedad, ya que este tipo de contaminante es el causante de desarrollar enfermedades tales como cáncer de pulmón, nariz, laringe y próstata, fallos respiratorios, problemas genéticos, asma, bronquitis crónica, problemas cardiovasculares entre otros. Los peces y los invertebrados marinos son especialmente sensibles a la exposición y pueden transmitirse de forma directa a la cadena alimentaria, por lo que un biotratamiento sustentable de los residuales contaminados, constituye una tecnología, que básicamente permite la recuperación del medio en un período de tiempo relativamente corto.

1.2.- CONTAMINACIÓN. GENERALIDADES.

La contaminación ambiental se define como el cambio no deseado de las características físicas, químicas y biológicas del aire, agua o suelos debido a la introducción en estos de agentes extraños, que afectan al hombre y demás especies, los procesos industriales, las condiciones y calidad de vida y los valores socioculturales. Todo proceso que expulse o libere un contaminante al medio constituye una fuente de contaminación ambiental (**Orozco y col., 2004**).

Por otra parte, se entiende por contaminante, toda clase de materia o energía, que al incorporarse en cualquiera de los componentes ambientales (aire, agua, suelo) o en

los elementos naturales, cambie o modifique su estructura y condición natural original.

La contaminación del medio ambiente, provocada fundamentalmente por el vertido de residuales, abarca todos los ecosistemas que lo constituyen y se manifiesta intensamente en los ecosistemas acuáticos, causando el deterioro de la calidad de las aguas para su consumo humano, agrícola e industrial **(Enkerlin y col., 1997)**.

Existen muchos contaminantes provenientes de fuentes naturales, sin embargo la contaminación originada por la actividad industrial, agrícola, urbana y comercial es la responsable de los problemas más graves de contaminación ambiental **(Maier y col., 2000)**.

El vertido de los residuales no es espontáneo, pues el hombre lo dirige; comúnmente los residuales gaseosos van a la atmósfera y los sólidos y líquidos al suelo, mares y ríos; con ello no se logra el equilibrio ambiental necesario, sino por el contrario da lugar a la contaminación. La contaminación de los recursos hídricos superficiales es un problema cada vez mas grave, debido a que estos se usan como destino final de residuos de diferentes orígenes, sobre todo en las áreas urbanas e incluso en numerosas ciudades **(Orozco y col., 2004)**.

Las fuentes de contaminación más importantes son:

➤ ***Aguas residuales procedentes de poblaciones***, en ellas se incluyen:

1. *aguas negras*, también llamadas aguas fecales o sanitarias
2. *aguas pluviales*: estas aguas arrastran sustancias presentes en la atmósfera, polvo, iones, entre otros; esto es más notable en zonas industriales y en grandes aglomeraciones urbanas.
3. *aguas de limpieza pública*: generalmente en pequeño volumen; su grado de contaminación depende de las condiciones locales.
4. *aguas domésticas*: suelen denominarlas aguas grises, y definir las como las aguas procedentes de los usos domésticos antes de mezclarse con las aguas fecales,
5. *aguas residuales procedentes de las industrias*. Son muy difíciles de clasificar debido a su variabilidad de composición y características.

➤ *Residuos sólidos* procedentes de tierra, de la basura,

➤ *Contaminantes líquidos y sólidos arrastrados por los ríos,*

➤ *Deposición de contaminantes vertidos a la atmósfera.*

Estas descargas son las principales responsables de la alteración de la calidad de las

aguas naturales, que en algunos casos llegan a estar tan contaminadas que su potabilización resulta muy difícil y costosa. En la Figura 1.1 se representa un esquema de las diferentes fuentes de contaminación.

Con el objetivo de reducir la carga contaminante y revertir esta situación se desarrollan diferentes programas, relacionados con el manejo integral de las cuencas hidrográficas, saneamiento de las bahías, reducción de la contaminación en todos los sectores y la aplicación de diversos instrumentos de gestión ambiental (**Fernández, 2005**); recogidos en la Estrategia Ambiental Nacional del 2007.

1.2.1.- Tipos de contaminación.

Según las características de los diferentes contaminantes vertidos al medio, la contaminación se puede clasificar como:

Contaminación biológica: Tiene lugar cuando existen microorganismos (bacterias, hongos, virus, protozoos) que causan un desequilibrio en la naturaleza, alterando las condiciones óptimas del medio y la vida de los organismos presentes. La contaminación biológica es muy frecuente en zonas de gran insalubridad, principalmente en los países subdesarrollados, donde se puede desencadenar una epidemia en un período corto de tiempo. Su control o prevención es relativamente fácil en comparación con la contaminación física o química. Un ejemplo de este tipo de contaminación es la producida por la bacteria patógena *Vibrio cholerae* al hombre. (**Orozco y col., 2004**)

Contaminación física: Es la contaminación que se produce por el efecto de factores físicos-mecánicos relacionados principalmente con la energía como: altas temperaturas, ruido excesivo y ondas electromagnéticas; además del color, turbidez, espumas y radiactividad. Sus efectos pueden ser duraderos y estimular la aparición de determinadas enfermedades y/o anomalías metabólicas en los sistemas vivientes afectados (**Orozco y col., 2004**).

Contaminación química: Es el tipo de contaminación que tiene como causa la acumulación acelerada de materia orgánica o inorgánica. En ocasiones este tipo de contaminación es difícil de atenuar porque las características físicas y químicas de las sustancias varían. La materia orgánica se puede clasificar en: *biodegradable* y *no biodegradable*, por su parte la inorgánica son representados fundamentalmente por los iones de metales pesados. Los elementos esenciales son tóxicos en concentraciones elevadas (**Adriano, 2001**).

Por su origen la contaminación puede ser:

Natural: es causada por los contaminantes formados y emitidos por procesos naturales: erupciones volcánicas, efectos geoclimáticos, y otros.

Antropogénica: tiene su origen en los contaminantes que son productos o resultados de las actividades humanas; por ejemplo: la basura, el “smog”, aguas residuales domésticas e industriales. Suele ser más intensa en áreas cercanas a grandes zonas urbanas o industriales (**Enkerlin y col., 1997**).

Uno de los aspectos más importantes con respecto a los residuales es su caracterización (cada tipo de actividad industrial, según el proceso, vierte un agua residual caracterizada por una contaminación determinada), al realizarla permite conocer los posibles daños que pueden causar en el ambiente y por otra parte tomar decisiones con respecto a su tratamiento y/o aprovechamiento, así como su posterior incidencia en el medio receptor (**Pérez y col., 2002**).

1.3.- AGUAS RESIDUALES. GENERALIDADES.

Uno de los problemas ambientales, recogidos en la Estrategia Ambiental Nacional, es la contaminación de las aguas superficiales y cuerpos receptores (ríos, bahías, lagunas) debido al vertido de residuales líquidos, provenientes en su mayoría de la actividad industrial. La contaminación tiene una significación especial; se considera uno de los factores que más impacta en los ecosistemas acuáticos, causando además afectaciones al suelo, la flora, la fauna y la salud humana al provocar en muchos casos la ruptura del equilibrio de restauración natural de los ecosistemas. La contaminación que se produce en las aguas interiores y marinas es el resultado del vertimiento de residuales sin tratamiento o con tratamiento deficiente debido a dificultades o inexistencia de redes de alcantarillado, al poco aprovechamiento y reutilización de los residuales líquidos de la actividad agroalimentaria e industrial, así como a la no ejecución de todos los programas de control y monitoreo de la calidad de las aguas (**Orozco y col., 2004**).

Las aguas residuales son materiales derivados de residuos domésticos o de procesos industriales, los cuales por razones de salud pública y por consideraciones de recreación económica y estética, no pueden desecharse vertiéndolas en ríos, lagos, mares o corrientes convencionales sin recibir un tratamiento previo adecuado (**Aguirre, 2002**).

La eliminación de las aguas residuales se conoce por vertido; estos se distinguen en urbanos, industriales, agropecuarios y contaminación difusa (purines y lixiviados de

estercoleros). Los primeros se subdividen en aguas domésticas y urbanas; los segundos en aguas de refrigeración directa o indirecta, aguas de proceso: lavados, transporte, aguas de drenaje potencialmente contaminadas o limpias; su contaminación proviene de cualquier actividad industrial en cuyo proceso de producción, transformación o manipulación se utilice el agua. Los líquidos residuales se derivan directamente de la fabricación de todo tipo de productos y consisten en disoluciones acuosas a distinta concentración de los productos empleados en el proceso productivo; es imprescindible el tratamiento de esta agua previo a su vertido debido al poder contaminante que tienen, variable según concentraciones de los agentes contaminantes. Habitualmente, la concentración por agentes contaminantes es diez veces inferior a los líquidos residuales, pero su caudal puede llegar a ser cincuenta veces superior.

([http:// www.ambientum.com/revistanueva/2002/index.asp](http://www.ambientum.com/revistanueva/2002/index.asp), 2009).

1.3.1.- Composición de las aguas residuales.

Las aguas residuales contienen como contaminantes fundamentales materia orgánica de origen biológico (en forma disuelta y suspendida), compuestos orgánicos tóxicos persistentes (plaguicidas, bifenilos policlorados), compuestos inorgánicos (sales, ácidos, bases, nitrógeno, fósforo y metales pesados), gases disueltos (H_2S , N_2 , CO_2 , O_2), microorganismos patógenos (bacterias, virus, hongos y algas) y la temperatura, si la del efluente es superior a la temperatura del agua de origen. **(Bordons y Constantín, 1999)**. El cualificar y cuantificar cada uno de ellos, especialmente en análisis rutinarios de aguas es un trabajo desmesurado y extraordinariamente complejo; por esta causa, y dado que muchos de los agentes producen efectos similares, se ha optado por definir una serie de parámetros generales indicadores de contaminación (y por tanto, también de calidad de aguas) que son los que habitualmente se cuantifican; estos, en la mayoría de los casos engloban un conjunto de parámetros individuales **(Orozco y col., 2004)**.

1.3.2.- Parámetros empleados en la caracterización de las aguas.

Los parámetros empleados para definir la calidad de un agua se clasifican en físicos, químicos y biológicos; todos ellos no se pueden considerar como contaminantes en sentido estricto, pero se utilizan para evaluar la calidad del agua.

Parámetros Físicos: Temperatura (T), pH, Conductividad (λ), Sólidos Totales (ST), Residuos, Turbidez.

Parámetros Químicos: Dureza Total (DT), Demanda Química de Oxígeno (DQO),

Demanda Biológica de Oxígeno (DBO), Sulfatos (SO_4^{2-}), Metales, Oxígeno Disuelto (O_2), Sodio (Na^+), Potasio (K^+) y Nitrógeno Total.

Parámetros Microbiológicos: bacterias, virus, hongos, algas. **(Manahan, 2001).**

¿Cómo pudiera solucionarse el problema generado por la dispersión de contaminantes metálicos en el medio ambiente?

La dispersión de contaminantes metálicos en el medio ambiente puede ser solucionada con técnicas de remediación. Este término se define como el uso intencional de procesos de degradación químico o biológico (biorremediación) para eliminar sustancias contaminantes ambientales que han sido vertidos con conocimiento o accidentalmente en el medio ambiente. Los procesos de remediación pueden efectuarse in situ, o sea en el mismo lugar donde ha ocurrido el derrame, o bien ex situ, separando la porción contaminada y trasladándola a un reactor. Tal es el caso de efluentes industriales o domiciliarios que se tratan previamente al vertido al medio ambiente. **(Gadd, 2004).**

1.4.- CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS.

De los 112 elementos conocidos por el hombre, 84 son metales, por lo que no es de extrañar que las posibilidades de contaminación metálica en el ambiente sean numerosas. Hay que tener presente que los metales son materias naturales que (desde la edad de hierro) han desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de las civilizaciones. **(APHA, 1998).**

Muchos metales desempeñan un papel específico como microelementos para el desarrollo de determinadas funciones vitales en los seres vivos. Estos metales, participan como componentes de algunas enzimas, proteínas estructurales y pigmentos, así como en el mantenimiento del balance iónico y potencial de las células. Sin embargo, altas concentraciones de metales pesados suponen un riesgo y una amenaza para la vida. La contaminación del agua, del suelo y del aire por metales pesados es un problema ambiental muy importante debido fundamentalmente a su toxicidad, persistencia, bioacumulación, y efectos sinérgicos en la biota. El vertido incontrolado de residuos, industrias de transformación de metales o la industria minera, son algunas de las actividades desarrolladas por el hombre y que pueden causar la contaminación del suelo y de las aguas.

Se ha demostrado científicamente que, además de causar algunos de los problemas ambientales más graves, la exposición a metales pesados en determinadas

circunstancias es la causa de la degradación y muerte de vegetación, ríos, animales e, incluso, de daños directos en el hombre. (Cada día mueren aproximadamente 30.000 personas por causa de enfermedades “hídricas”. En los países en vías de desarrollo, el 80% de todas las enfermedades son de origen hídrico. Una cuarta parte de los niños que nacen en dichos países mueren antes de cumplir los cinco años, la gran mayoría por este tipo de enfermedades hídricas.

(<http://www.ecoclimatico.com/archives/danos-para-la-salud-causados-por-etales-pesados>, 2009).

Los efectos de metales en el agua y aguas residuales pasan de beneficioso a molesto y de este a gravemente tóxico. Algunos metales son esenciales para el crecimiento de las plantas y los animales; mientras otros pueden afectar los consumos de agua, los sistemas de tratamiento de aguas residuales y los cuerpos receptores adversamente. La toxicidad de los metales pesados es muy alta. Su acción directa sobre los seres vivos ocurre a través del bloqueo de las actividades biológicas, es decir, la inactivación enzimática por la formación de enlaces entre el metal y los grupos -SH (sulfhidrilos) de las proteínas, causando daños irreversibles en los diferentes organismos. Para que los metales pesados puedan ejercer su toxicidad sobre un ser vivo, éstos deben encontrarse disponibles para ser captados por éste, es decir que el metal debe estar biodisponible. El concepto de biodisponibilidad se encuentra íntimamente relacionado con las condiciones físicoquímicas del ambiente, que determinan la especiación y por lo tanto la concentración de metal libre y lábil. Por ello es fundamental al determinar el grado de contaminación por metales pesados de un ambiente, conocer su biodisponibilidad, es decir, la concentración de metal libre y lábil presente en la muestra **(Vullo, 2003 y Wang y col., 1997).**

Unos de los metales pesados que afectan el medio ambiente es el cromo pero el estado de oxidación que implica su mayor toxicidad es como cromo (VI). Los efluentes industriales que contienen este ión son descargados por industrias químicas, de construcción de maquinarias e instrumentos, de radio electrónica, curtiembres, efluentes de torres refrigerantes de estaciones generadoras de energía eléctrica, entre otras. La concentración de Cr (VI) varía en los efluentes desde docenas a cientos de gramos o miligramos, la cantidad de aguas contaminadas con cromo que se vierten al ambiente varía de docenas a cientos de metros cúbicos por hora. Aun cuando internacionalmente las Concentraciones Máximas permitidas

(MAC) en el ambiente son $0,1 \text{ mg.dm}^{-3}$ de Cr (VI) y $0,5 \text{ mg.dm}^{-3}$ de Cr (III). **(Quer-Brossa , 1983).**

1.5.- CROMO. GENERALIDADES.

En 1762 Johann Gottlob Lehmann descubrió en Siberia un mineral naranja rojizo que denominó plomo rojo de Siberia; este mineral trataba de la crocoita (PbCrO_4), y se creyó que era un compuesto de plomo con selenio y hierro.

En 1770 Peter Simon Pallas estuvo en el mismo lugar que Lehmann y encontró el mineral, que resultó ser muy útil en pinturas debido a sus propiedades como pigmento. Esta aplicación se extendió con rapidez, por ejemplo, se puso de moda un amarillo brillante, obtenido a partir de la crocoita.

En 1797 Nicolas-Louis Vauquelin recibió muestras del mineral. Fue capaz de producir óxido de cromo (CrO_3) mezclando crocoita con ácido clorhídrico (HCl). En 1798 descubrió que se podía aislar cromo metálico calentando el óxido en un horno de carbón. También pudo detectar trazas de cromo en gemas preciosas, como por ejemplo, en rubíes y esmeraldas. Lo llamó cromo (del griego *chroma*, "color") debido a los distintos colores que presentan sus compuestos. **(Téllez y col., 2004)**

El cromo se empleó principalmente en pinturas y otras aplicaciones hasta que, a finales del siglo XIX, se utilizó como aditivo en aceros. Este uso no se extendió hasta principios del siglo XX, cuando se comenzó a obtener cromo metálico mediante aluminotermia. Actualmente un 85 % del cromo se utiliza en aleaciones metálicas. Las principales aplicaciones son como catalizador en la síntesis del amoníaco, en la fabricación de aceros de cromo y aceros inoxidables. Además, los compuestos orgánicos del cromo se emplean como pigmentos para pinturas, y las sales de cromo (VI) se utilizan en la preservación de la madera y el curtido de cueros. **(Theopold, 1997).**

El cromo es un metal de transición duro, frágil, gris acerado y brillante. Es muy resistente frente a la corrosión. El cromo es un metal pesado que funciona químicamente con distintas valencias: bivalente, trivalente y hexavalente, siendo este último de gran importancia por su alto poder tóxico. El cromo es un desnaturalizador de proteínas y precipitante de los ácidos nucleicos; además, es considerable la acción cancerígena de los cromatos sobre el pulmón y el aparato digestivo. **(Quer-Brossa , 1983).**

También es posible obtener compuestos en los que el cromo presenta estados de oxidación más bajos. El cromo forma fundamentalmente compuestos con el oxígeno: óxidos de cromo (II) (CrO), óxido de cromo (III) (Cr_2O_3) y óxido de cromo (VI) (CrO_3). Se conocen también los peróxidos, ácido percrómico y perchromatos y son muy comunes los halogenuros (**Theopold, 1997**).

1.5.1.- Papel biológico del cromo.

En principio, se considera al cromo (en su estado de oxidación 3^+) un elemento esencial, aunque no se conocen con exactitud sus funciones. Parece participar en el metabolismo de los lípidos, en el de los hidratos de carbono, así como otras funciones.

Se ha observado que algunos de sus complejos parecen participar en la potenciación de la acción de la insulina, por lo que se les ha denominado "factor de tolerancia a la glucosa; debido a esta relación con la acción de la insulina, la ausencia de cromo provoca una intolerancia a la glucosa, y esta ausencia provoca la aparición de diversos problemas.

No se ha encontrado ninguna metaloproteína con actividad biológica que contenga cromo y por lo tanto se desconoce cómo actúa.

Por otra parte, los compuestos de cromo en el estado de oxidación 6^+ son muy oxidantes y son carcinógenos. El Cr (VI) por ser un poderoso oxidante de sustancias orgánicas, es peligroso para los organismos vivos y para la salud humana. El ácido crómico y los cromatos pueden producir intoxicaciones accidentales agudas por vía digestiva (**Dreisbach, 1988**). El envenenamiento agudo por ingestión produce vértigo, sed intensa, dolor abdominal, vómito, choque y oliguria o anuria. La muerte se produce por uremia. La inhalación de vapores de cromo por largos periodos, causa ulceración indolora, hemorragia y perforación del tabique nasal, acompañado de secreción nasal fétida, También se ha observado conjuntivitis, lagrimeo y hepatitis aguda con ictericia. Los datos de laboratorio indican que en personas que sobrepasan el valor máximo permisible hay hematuria y proteinuria y deterioro de la función hepatocelular; así mismo, que el cromo y los cromatos son irritantes y destructores para todas las células del organismo. En las muertes por envenenamiento agudo, se encuentra nefritis hemorrágica en el segundo período puede aparecer hipotermia y metahemoglobinuria transitorias (**Gadd, 2000; Quer-Brossa, 1983**).

1.6.- TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES.

Las aguas residuales, contaminadas, son las que han perdido su calidad como resultado de su uso en diversas actividades. Se trata de aguas con un alto contenido en elementos contaminantes, que a su vez van a contaminar aquellos sistemas en los que son evacuadas (**Fernández, 2005**).

El tratamiento que reciben las aguas residuales dependen fundamentalmente de dos factores, el grado de contaminación (caracterización según los parámetros establecidos para su vertido al cuerpo receptor) y la calidad del líquido depurado a obtener.

El tratamiento de aguas contaminadas implica procesos físicos, químicos y biológicos, los que se dividen en cuatro diferentes etapas: **pre-tratamiento**, donde se eliminan los sólidos de gran tamaño y otros más pequeños para proteger el sistema de tratamiento y eliminar la contaminación grosera (**Orozco y col., 2004**); **tratamiento primario**, estos son operaciones físicas o físico-químicas que permiten la separación de sólidos suspendidos o coloidales; **tratamiento secundario o biológico** con el objetivo de eliminar la materia orgánica biodegradable utilizando el metabolismo de los microorganismos y **tratamiento terciario** para eliminar los contaminantes específicos de un agua residual. A pesar de que los procesos de depuración de aguas contaminadas constan de varias etapas, éstas no siempre se aplican consecutivamente. La utilización de uno u otro tratamiento depende de la complejidad del efluente, volumen y requisitos del agua de salida (**Bordons y Constantín, 1999**).

1.6.1.- Transformaciones mediadas por microorganismos en el tratamiento de metales pesados.

Las interacciones entre los microorganismos y los metales u otros elementos como carbono, nitrógeno, azufre y fósforo son componentes fundamentales de los ciclos biogeoquímicos. Las interacciones metal-microbiota son estudiadas entonces en profundidad en el contexto de la biotecnología ambiental, con el objeto de implementar métodos de remoción, recuperación o detoxificación de metales pesados y radionúclidos (**Madigan y Martinko, 2000**). Dependiendo del estado de oxidación que se presente un metal y la especie que esté conformando, un microorganismo puede realizar dos transformaciones posibles. Una correspondería a la movilización del metal, es decir el cambio de un estado insoluble inicial correspondiente a una fase sólida (por ejemplo, metales asociados a suelos, sulfuros u óxidos metálicos), a

un estado soluble final, en fase acuosa. Este proceso se conoce con el nombre de lixiviación microbiana. El otro corresponde a la inmovilización del metal, es decir el pasaje de un estado soluble inicial en fase acuosa a uno insoluble final en fase sólida. A su vez existen en la naturaleza diferentes mecanismos por los cuales la inmovilización del metal puede llegar a ocurrir.

1.6.1.1.- Inmovilización de metales pesados

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y microorganismos tolerantes a metales. Los resistentes se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, inducidos por la presencia del metal (**Valls, 2002**). En cambio, los tolerantes son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Tanto los microorganismos resistentes como tolerantes son de particular interés como captadores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes. La resistencia o tolerancia experimentada por microorganismos es posible gracias a la acción de diferentes mecanismo, como son: biosorción, bioacumulación, biomineralización, biotransformación y quimiosorción (**Lloyd, 2003**).

1.6.1.2.- Bioacumulación.

Este mecanismo celular involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza al metal pesado presente en el entorno celular con gasto de energía. Una vez incorporado el metal pesado al citoplasma, éste es secuestrado por la presencia de proteínas ricas en grupos sulfhidrilos llamadas metalotioneínas o también puede ser compartimentalizado dentro de una vacuola, como ocurre en hongos.

Ejemplo de este proceso es el caso de la acumulación de uranio por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, el cual fue detectado íntegramente en el citoplasma (**Valls, 2002**).

1.6.1.3.- Biomineralización.

Los microorganismos son capaces de precipitar metales en forma de carbonatos e hidróxidos, mediante un mecanismo de resistencia codificado en plásmidos por el funcionamiento de una bomba que expulsa el metal tóxico presente en el citoplasma hacia el exterior celular en contracorriente a un flujo de iones hidronios (H^+) hacia el interior celular. Esto produce una alcalinización localizada sobre la superficie celular externa y por lo tanto la precipitación del metal pesado. Otra forma de precipitar los metales es a través de la formación de sulfuros o fosfatos, como resultado de alguna actividad enzimática celular. Ejemplo de ello es la precipitación de sulfuros metálicos

en reactores con cultivos mixtos de bacterias reductoras de sulfato o la acumulación de sulfuro de cadmio (CdS) en la pared celular de las bacterias *Klebsiella planticola* y *Pseudomonas aeruginosa* (Lloyd, 2001; Lovley, 2000).

1.6.1.4.- Biotransformación.

Es un proceso que involucra un cambio químico sobre el metal pesado, como por ejemplo en el estado de oxidación o metilación. Esta transformación biológica de los metales pesados que resultan tóxicos mediada por enzimas microbianas, puede dar como resultado compuestos poco solubles en agua o bien compuestos volátiles. Un ejemplo claro es el ciclo del Hg en la naturaleza, donde la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* puede reducir el catión Hg^{2+} a Hg^0 , y otros organismos pueden luego metilarlo dando como producto el CH_3Hg^+ y $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$, que son volátiles y aún más tóxicos que el propio Hg. Las reducciones de V (V) a V(III), Au (III) a Au (0) y Cr (VI) a Cr(III), conducen a la precipitación del metal bajo condiciones fisiológicas. De estos últimos el cromo es el metal más ampliamente utilizado en la industria de aceros, automóviles, equipamiento de hospitales y curtiembres, entre otras (Jianlong, 2001).

1.6.1.5.- Quimiosorción mediada por microorganismos.

Éste término describe aquellas reacciones donde los microorganismos biomineralizan un metal, formando un depósito primario. Este depósito primario funciona como núcleo de cristalización, con la subsecuente deposición del metal de interés, promoviendo y acelerando así el mecanismo de mineralización. Un ejemplo de este proceso es el agregado de Fe en un efluente a tratar, en presencia de bacterias reductoras del sulfato. Los microorganismos producen sulfuros que precipitan en forma de FeS, sobre la superficie celular. Los otros metales contaminantes utilizan el FeS formado como soporte y cristalizan sobre sus cristales. Luego, aprovechando las propiedades magnéticas del Fe, pueden separarse fácilmente de la fase soluble, descontaminando así el material (Valls, 2002).

1.6.1.6.- Biosorción.

El término “Bioadsorción” se utiliza para referirse a la captación de metales que lleva a cabo la superficie celular (biomasa) a través de mecanismos físicos-químicos como adsorción o intercambio iónico. Este fenómeno ha adquirido especial atención por sus aplicaciones potenciales como estrategia en la protección del medio ambiente y recuperación de metales pesados (Tsezos, 1985; Volesky, 1990; Chang y Hong, 1994; Chang y col., 1997).

Este es un fenómeno ampliamente estudiado en la biorremediación de diversos metales pesados como el cadmio, cromo, plomo, níquel, zinc y cobre (**Orozco, 2004**). Los microorganismos utilizados como biosorbentes, aislados a partir de ecosistemas contaminados, retienen los metales pesados a intervalos de tiempo relativamente cortos al entrar en contacto con soluciones de dichos metales. Esto minimiza los costos en un proceso de remediación, ya que no requiere el agregado de nutrientes al sistema, al no requerir un metabolismo microbiano activo. La biomasa capaz de participar en estos procesos es fácilmente extraíble de sistemas acuosos como cursos de aguas o efluentes de diversos orígenes, por lo que el proceso global de biorremediación sería rentable. Es por ello que la búsqueda de este tipo de microorganismos se encuentra en crecimiento constante, junto con el estudio de sistemas biosorbentes como por ejemplo la utilización de consorcios microbianos, o sistemas mixtos formados por microorganismos y macromoléculas (polímeros) sorbentes, que incrementarían los rendimientos en la captación de mezclas de metales pesados (**Madigan y Martinko, 2000**).

La bioadsorción de iones metálicos usualmente puede modelarse en dos tipos: 1) Modelo Langmuir, en el cual el aumento del consumo de metal por la biomasa alcanza un equilibrio; y 2) Modelo de Freundlich, en el cual el aumento del consumo del metal por la biomasa incrementa con el tiempo (**Chang y Hong, 1994**). En esta investigación se trabajó la modelación del proceso de adsorción de Cr (VI) por el modelo de Langmuir, este describe que el consumo de metal (mg de metal g⁻¹ de biomasa) es calculado de acuerdo a la ecuación:

$$q = (C_0 - C_e) / X \quad (3.1)$$

donde: q- capacidad de bioadsorción
X- concentración de biomasa
C₀- concentración inicial, y
C_e- concentración del metal en disolución en función del tiempo

El modelo cinético para la bioadsorción del metal fue:

$$\frac{dC}{dt} = -K_1(q_m - q)C + K_2 * q \quad (3.2)$$

donde: K₁ y K₂: son coeficientes de velocidad de adsorción y desorción respectivamente.

C: concentración del ión metálico.
q_m: capacidad máxima de adsorción.

$$\frac{C_e}{q} = \frac{K_d}{q_m} + \frac{1}{q_m} C_e \quad (3.3)$$

$$K_d = \frac{K_1}{K_2} \quad (3.4)$$

Los parámetros de equilibrio K_d y q_m para la isoterma de Langmuir (**Ecuación 3.4**) fueron determinados de los valores de la pendiente (1/q_m) e intercepto (K_d/q_m) por la regresión lineal obtenida de C_e/q vs C_e. (**Langmuir, 1918**).

Los fenómenos de biosorción se caracterizan por la retención del metal mediante una interacción fisicoquímica del metal con ligandos pertenecientes a la superficie celular. Esta interacción se produce con grupos funcionales expuestos hacia el exterior celular pertenecientes a partes de moléculas componentes de las paredes celulares, como por ejemplo carboxilo, amino, hidroxilo, fosfato y sulfhidrilo. Es un mecanismo de cinética rápida que no presenta una alta dependencia con la temperatura y en muchos casos puede estudiarse en detalle mediante la construcción de los modelos de isotermas de Langmuir y Freundlich. (**Jong y Parry, 2004**).

Cualquiera de los mecanismos microbianos descriptos remueve los metales pesados de efluentes contaminados. Los microorganismos autóctonos que sobreviven en sitios contaminados han desarrollado mecanismos de resistencia y/o tolerancia que nos son útiles a la hora de la implementación de procesos de biorremediación.

El rol de los microorganismos es fundamental en los ciclos biogeoquímicos de los metales y su utilización en los procesos de biorremediación de desechos sólidos y líquidos es esencial para el cuidado y conservación del medio ambiente.

1.7.- EMPRESA CONFORMADORA “30 DE NOVIEMBRE”

Esta empresa perteneciente al grupo ACINOX, se encuentra ubicada en el km 2 de la carretera a la Refinería “Hermanos Díaz”, provincia Santiago de Cuba. La misión de la misma es: la conformación de clavos, tornillos (como es conocida), tuercas, arandelas, rayos de bicicletas y cubiertos de mesa (para hotelería y uso doméstico), artículos para la construcción (grampas de techo, espigas de ventana, bisagras, ensambles de persianas), servicios internos de trefilados de alambón y galvanotecnia, orientados a satisfacer las necesidades de clientes tanto en el mercado nacional como internacional con eficiencia, eficacia y calidad. El proceso

productivo de la planta consta de diferentes operaciones unitarias las cuales se reportan en la **Tabla 1.1. y Figura 1.1.**

(<http://www.santiago.cu/cienciapc/num/2003/5/pdfs/bahia>)

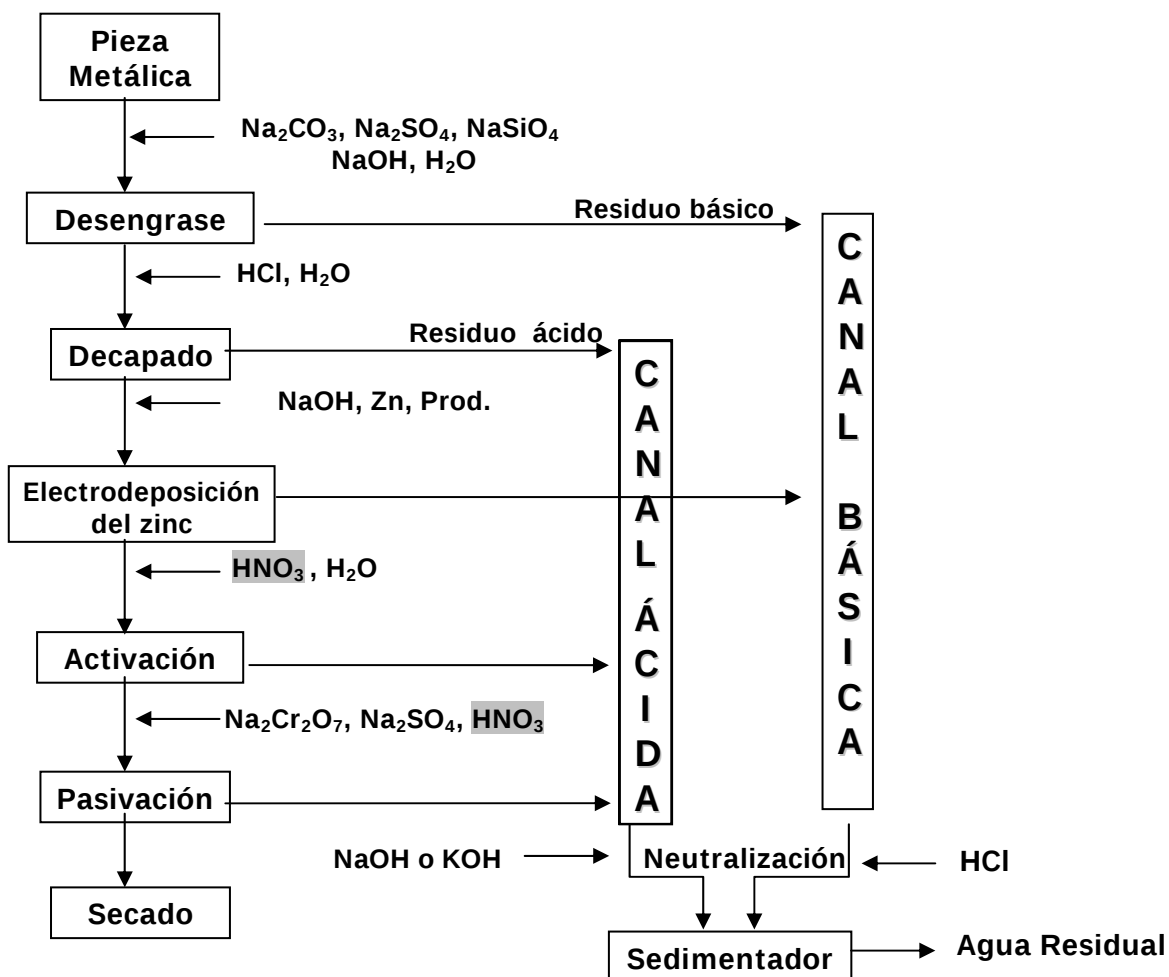


Tabla 1.1.- Etapas del proceso productivo de la Planta Galvánica.

Operación	Reactivos Utilizados
Desengrase Químico	Na ₂ CO ₃ , Na ₂ SO ₄ , NaSiO ₄ , NaOH, H ₂ O
Decapado	HCl, H ₂ O
Electrodeposición del zinc	NaOH, Zn
Aclarado	HNO ₃ , H ₂ O
Pasivación	Na ₂ Cr ₂ O ₇ , Na ₂ SO ₄ , HNO ₃
Secado	-

CAPITULO 2.- PARTE EXPERIMENTAL

2.1.- MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de los experimentos en este trabajo se utilizaron los materiales y equipos del Laboratorio de Química Ambiental del Departamento de Química (**DQ**), el Laboratorio Analítico del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (**CEBI**), pertenecientes a la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Oriente y el Laboratorio de Minerales “Elio Trincado” de la Empresa Geominera Oriental.

La preparación de las soluciones para los ensayos químicos se realizó según los procedimientos normativos de operación de cada una de las técnicas de análisis utilizadas establecidas en la unidad analítica del CEBI (**APHA, 1998**).

2.1.1. Métodos analíticos.

Los métodos analíticos empleados en la realización de la investigación, son métodos estandarizados reportados en las literaturas consultadas, (**Tabla 2.1**).

Tabla 2.1.- Parámetros analizados y métodos empleados.

Parámetros	Métodos Analíticos Empleados
Temperatura	Físico
pH	Potenciométrico
Conductividad eléctrica	Coductimétrico
Sólidos Disueltos	Gravimétrico
Sólidos Sedimentables	Volumétrico
Sólidos Totales	Gravimétrico
Material Flotante	Visual
Sulfatos	Espectrofotométrico
Dureza Total	Volumétrico por formación de complejos
Cloruros	Volumetría por precipitación
Sodio	Fotometría de llama
Potasio	Fotometría de llama
Demanda Química de Oxígeno	Espectrofotométrico
Nitrógeno Total	Kjeldhal
Metales	ICP

Todas las determinaciones se realizaron según APHA, 1998.

De esta forma se emplearon métodos físicos, físico-químicos, químicos y microbiológicos de acuerdo a las etapas de trabajo desarrolladas.

2.1.2.- Normativa empleada para el análisis de los resultados.

Los parámetros físico-químicos determinados a las aguas residuales provenientes de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre”, se comparan con la NC 27:1999, Clase (C) y NC 521:2007, Clase E, con el objetivo de determinar si las mismas, están aptas o no para ser vertidas al cuerpo receptor primario (río Yarayó) y a la Bahía de Santiago de Cuba, respectivamente.

Se determina la capacidad de adsorción de Cr (VI) por la biomasa estudiada y se compara la concentración del metal en solución con los que reporta la NC 521:2007.

2.1.3.- Análisis estadístico de los resultados.

Los datos fueron procesados en una computadora Pentium IV, con ayuda del Sistema Estadístico Statgraphics plus, versión 5.1. Todos los gráficos fueron realizados utilizando el Microsoft Excel versión 2003.

Para detectar diferencias significativas se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA-S), tomando como factor las variables: muestreos, años y como variable dependiente los parámetros analizados.

2.1.4.- Cuantificación del impacto ambiental.

La cuantificación del impacto ambiental del residual en base a un parámetro dado, se determina mediante la siguiente expresión:

$$\text{Impacto Ambiental} = P_R - P_{NC}$$

donde:

P_R : valor del parámetro determinado en el residual.

P_{NC} : valor del parámetro reportado en las Normas Cubanas de Vertimientos de Aguas Residuales a Cuerpos Receptores: NC 27:1999, Clase (C) y NC 521:2007, Clase (E).

El impacto ambiental se expresa en las mismas unidades de los parámetros que se utilizan en la caracterización del residual. (Milán, 2004).

2.2.- PROTOCOLOS EXPERIMENTALES

El plan de trabajo experimental se llevó a cabo a través de la ejecución de los siguientes protocolos

- 1 Protocolo para la caracterización de las aguas residuales generadas en el proceso productivo de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre”.
- 2 Protocolo para el aislamiento y selección de cepas bacterianas resistentes a metales pesados.
- 3 Protocolo para la adsorción de cromo (VI) por las cepas bacterianas seleccionadas.

2.2.1.- Protocolo para la caracterización de las aguas residuales generadas en el proceso productivo de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” y del río Yarayó.

La caracterización de los residuales generados en la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” y del río yarayó, se realizó a través de 5 muestreos, de ellos dos fueron efectuados en los meses de mayo y junio del 2008 y tres en enero, febrero y abril del 2009.

2.2.1.1- Localización de los puntos de muestreo

La localización de los puntos de muestreos se realizó según la metodología establecida en las Normas ISO 5667-1, ISO 5667-3 e ISO 5667-10. Los puntos de muestreo seleccionados fueron: 1- en el área del *sedimentador*, donde convergen las aguas residuales del proceso productivo de la fábrica después del tratamiento de neutralización que se realiza en la Planta Galvánica de la Empresa (**Figura 2.1**). ubicado en el río Yarayó, próximo a la zona de vertido del residual (50 m).



2.2.1.2.- Muestreo y conservación de muestras.

Para recolectar las muestras se utilizaron envases de plástico de 1,5 dm³ de capacidad. La toma y conservación de las mismas, se realizó mediante la metodología establecida en el Standard Methods. **(APHA, 1998).**

2.2.1.3.- Parámetros analizados y métodos empleados

Una vez recolectadas las muestras se les determinaron los parámetros físicos y químicos establecidos en la NC de vertidos:

Temperatura (T), pH, Conductividad Eléctrica (λ), Dureza Total (DT), Sólidos Totales (ST), Sólidos Sedimentables (SS), Sólidos Disueltos (SD), Sodio (Na⁺), Potasio (K⁺), Sulfatos (SO₄²⁻), Cloruros (Cl⁻), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Metales, Material flotante y Nitrógeno Total (Nt). **(Tabla 2.1)**

2.2.2.- Protocolo para el aislamiento y selección de cepas bacterianas resistentes a metales pesados.

El aislamiento y selección de cepas bacterianas resistentes a metales pesados se realizó como se describe a continuación.

2.2.2.1.- Origen y toma de muestra.

El aislamiento de cepas bacterianas se realizó a partir de muestras de agua residual tomadas de forma superficial en el sedimentador de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba.

Las muestras, fueron colectadas en frascos ámbar esterilizados previamente y procesadas dentro de las 24 h de su colecta.

2.2.2.2.- Preparación del medio de cultivo para el aislamiento de las bacterias.

El medio de cultivo apropiado para el crecimiento de bacterias es agar nutriente. La proporción del medio utilizado es de 78 g.dm⁻³. La solución se esteriliza en autoclave a 121 °C durante 15 min.

2.2.2.3.- Aislamiento de microorganismos resistentes a metales pesados.

El aislamiento de microorganismos resistentes a metales pesados se realizó en placas de 9 mm que contenían agar nutriente. Utilizando la técnica de diseminación, se esparció un volumen de 10 µL de muestra inoculado a la placa e incubado por 24

h a la temperatura de 37 °C. El aislamiento se realizó por triplicado y las cepas aisladas fueron conservadas a 4 °C en cuñas de agar nutriente.

2.2.2.4.-Identificación y conteo.

Para la determinación de la población microbiana de bacterias se utilizó el método de recuento directo en un microscopio óptico marca Novel. Previo a la medida se requiere realizar la dilución correspondiente para obtener una concentración a la que puedan distinguirse y contarse las colonias aisladas.

2.2.2.5.-Aislamiento y purificación de cepas bacterianas.

El medio de cultivo utilizado para el aislamiento y purificación fue caldo nutriente, disolviendo 18 g del mismo por litros de solución. El medio preparado se lleva a la autoclave a 121 °C por espacio de 15 minutos. Se realiza la siembra en estrías en placas de 9 mm y se incuba a 37 °C durante 24 h. La purificación se realiza en tubos de ensayos estériles con 5 mL de caldo nutriente, utilizando la técnica de agotamiento. **(Bergeys, 1994).**

2.2.2.6.-Clasificación de gérmenes en Gram (+) y Gram (-).

Para la clasificación de los gérmenes, se le realiza a las colonias purificadas la Tinción de Gram. El método se basa en que los gérmenes se tiñen con la solución violeta cristal que se fija con el yodo liberado por el lugol de gram, luego se añade una solución de alcohol (96 %) que provoca la decoloración de los gérmenes Gram (-). A continuación se utiliza solución de safranina como colorante de contraste, presentándose los Gérmenes Gram (-) de color rosado y los Gram (+) se mantienen de color violeta. **(Bergeys, 1994)**

2.2.3.- Protocolo para la bioadsorción de Cromo (VI) por las cepas bacterianas seleccionadas.

Los ensayos de bioadsorción de cromo (VI) se realizaron por las cepas bacterianas purificadas obtenidas del cultivo en fase exponencial.

2.2.3.1.-Crecimiento y obtención de la biomasa seca.

El crecimiento de biomasa se realiza siguiendo la metodología establecida para el crecimiento bacteriano **(Bergeys, 1994)**. Para revitalizar el cultivo y garantizar su crecimiento se utilizó caldo nutriente que contiene 10 g de peptona como fuente de nitrógeno, 3 g extracto de carne como fuente de proteínas y aminoácidos y NaCl 5g.

Se utilizan soluciones de caldo nutriente a un nivel de concentración de 9 g.dm^{-3} y luego se adiciona el inóculo previamente sembrado en cuñas de agar nutriente. El crecimiento se realiza durante 24 h bajo agitación en zaranda marca SELECTA a 150 rpm ($2,5 \text{ s}^{-1}$).

La biomasa se separa mediante centrifugación en centrifuga marca Sartorius por 20 minutos a 4500 rpm (75 s^{-1}), lavadas dos veces con agua destilada, sometidas al secado a 121°C en estufa marca Aiset y almacenadas en frascos herméticamente tapados y en desecadora.

2.2.3.2.- Selección del bioadsorbente.

Los experimentos de adsorción para la selección del bioadsorbente fueron realizados por triplicado, utilizando $0,6 \text{ g.dm}^{-3}$ de biomasa por cada cepa bacteriana estudiada a temperatura ambiente, a un nivel de concentración de cromo (VI) de $1,16 \text{ mg.dm}^{-3}$, con agitación en zaranda a 200 rpm ($3,33 \text{ s}^{-1}$), durante 1h. Las soluciones de cromo (VI) fueron preparadas a partir de una solución patrón de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ y obtenidas en volumétricos de 100 mL. El valor de pH utilizado para el estudio se corresponde con el valor determinado en las muestras donde se realizó el aislamiento de las cepas bacterianas y fue ajustado utilizando pH-metro marca patrocinic por adición de soluciones diluidas de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio. La solución sobrenadante es filtrada con un filtro Milipore (White GSWP, $0,22 \pm 0,2 \text{ }\mu\text{m}$) de 20 mm de diámetro. **(Jong y Parry, 2004).**

La determinación de la concentración de cromo (VI) se realiza utilizando el método Espectrofotométrico en un espectrofotómetro marca Génesis 10, basado en una reacción de oxidación-reducción en la que el cromo hexavalente reacciona con la 1,5- difenilcarbazida en medio ácido para dar cromo (III) y 1,5-difenilcarbazona de color violeta que se lee espectrofotométricamente a 540 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de cromo hexavalente. El pH óptimo para la formación del complejo es de $1,0 \pm 0,3$ unidades.

2.2.3.3.- Estudio del pH óptimo de bioadsorción.

El experimento fue realizado utilizando como material adsorbente la biomasa seca obtenida de cultivos bacterianos. Se utilizaron $0,6 \text{ g.dm}^{-3}$ de biomasa a temperatura ambiente de acuerdo a la literatura consultada **(Jong y Parry, 2004)**. El nivel de concentración estudiado es de $1,16 \text{ mg.dm}^{-3}$ bajo agitación en zaranda a 200 rpm,

($3,33\text{ s}^{-1}$) durante 1h. Para el ajuste del pH en el intervalo de estudio (3,5 - 6,5 unidades) se utiliza un pH-metro marca pacitronic.

2.2.3.4.- Estudio del tiempo óptimo de bioadsorción.

Los experimentos de dependencia del tiempo se realizan de forma similar a los desarrollados por **Jaime Romero y col.**, en los que $0,6\text{ g.dm}^{-3}$ del adsorbente se lavan con agua bidestilada para eliminar cualquier material soluble que se encuentre presente y pueda interferir en el proceso de adsorción, se toman 10 mL de solución de cromo (VI) a un nivel de concentración de $1,16\text{ mg.dm}^{-3}$, se ajusta el pH a seis unidades y se agita a 200 rpm, ($3,33\text{ s}^{-1}$), realizando toma de muestras a los tiempos: 5, 10, 15, 30, 60 y 90 minutos. (**Romero y col., 2000**).

2.2.3.5.- Estudio de la capacidad de bioadsorción.

La capacidad de bioadsorción de la biomasa bacteriana seleccionada se determina con los experimentos de isotermas de adsorción utilizando el modelo de Langmuir con soluciones de cromo (VI) de concentración igual a 1; 1,5; 2, 2,5; 3; 3,5 y 4,0 mg.dm^{-3} respectivamente. (**Taniguchi y col., 2000; Chang y Hong, 1994**).

2.2.3.6.- Evaluación de la remoción de cromo (VI) por la biomasa de la cepa bacteriana seleccionada en una matriz real.

Para la realización de este estudio, la matriz real a estudiar fue el residual de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre”. El experimento fue realizado utilizando $0,6\text{ g.dm}^{-3}$ de biomasa a temperatura ambiente a un nivel de concentración de $1,16\text{ mg.dm}^{-3}$ con agitación en una zaranda a 200 rpm, ($3,33\text{ s}^{-1}$) y un valor de pH de 6 unidades. Las determinaciones se hicieron por triplicado y utilizando el procedimiento descrito en los experimentos anteriores.

CAPITULO 3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Las industrias que se dedican a la producción de piezas metálicas se encuentran entre las que más inciden en la contaminación de las aguas, debido a que los residuos que generan en muchas de sus operaciones, contienen metales que se encuentran en forma líquida y alcanzan rápidamente las aguas naturales, contaminando de esta manera los ecosistemas que impactan (**Vullo, 2003**).

3.1.- CARACTERIZACIÓN FÍSICO - QUÍMICA y EVALUACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA PLANTA GALVÁNICA, EMPRESA CONFORMADORA “30 DE NOVIEMBRE” Y DEL RÍO YARAYÓ.

Para la caracterización del residual de la planta galvánica se efectuaron 5 muestreos, y se analizaron 13 parámetros. Todos los muestreos se realizaron en períodos productivos, excepto en el muestreo 4 debido a que la planta se encontraba fuera de servicios. Los resultados obtenidos para cada parámetro en los muestreos realizados, se presentan en la **Tabla 3.1** (resultados de los valores medios obtenidos para cada parámetro); para el análisis de los mismos, se tuvo en cuenta lo planteado en la NC 27:1999. “Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y alcantarillados”, y lo establecido para la Clase (C): *Ríos, embalses y zonas hidrogeológicas de menor valor desde el punto de vista del uso.*

Tabla 3.1.- Valores medios obtenidos de los parámetros de caracterización por muestreos.

No.	pH (U)	T (°C)	λ (mS. cm ⁻¹)	DQ O (mg. dm ⁻³)	ST (mg.d m ⁻³)	SD (mg. dm ⁻³)	SS (mLd m ⁻³)	DT (mg. dm ⁻³)	SO ₄ ²⁻ (mg.d m ⁻³)	K ⁺ (mg. dm ⁻³)	Na ⁺ (mg.d m ⁻³)	Cl ⁻ (mg.d m ⁻³)	Nt (mg.d m ⁻³)
1	2. 3	2 7	8.6	132	5865	578 8	ND	210 6	124 3	11	920	1021	-
2	2. 9	2 9	8.8	125	6316	623 1	0.3	117 7	832	12	910	1033	-
3	6. 1	2 6	4.7	39	3942	383 9	0.2	637	470	50	110 5	970	1347 50
4	4. 1	2 4	3.6	22	3085	301 6	0.2	277	191	39	632	562	1491 00
5	8. 9	2 7	4.0	28	3158	310 2	0.5	452	325	47	829	1054	1442 00

pH: El valor de pH del agua tiene influencia en muchas reacciones que tienen lugar en el seno de la misma. En aguas neutras o ligeramente alcalinas predomina la eliminación de oxígeno, mientras que en aguas ácidas domina la evolución de burbujas de hidrógeno (**Skoog y col., 2005**). Es una propiedad de carácter químico

de vital importancia para el desarrollo de la vida acuática. Tiene influencia sobre determinados procesos químicos y biológicos, así como en la naturaleza de las especies iónicas que se encuentran en su seno.

Es un parámetro de carácter general adecuado para determinar la calidad de un agua. Habitualmente, las aguas naturales tienen un cierto carácter básico, con valores de pH comprendidos entre 6,5 - 8,5 unidades. Los océanos tienen un valor medio de 8 unidades (**Orozco y col., 2004**). Los valores de este parámetro en las muestras analizadas, excepto en los muestreos 3 y 5 están fuera del límite máximo permisible por la NC 27:1999, clase C (6 - 9 unidades).

La **Figura 3.1** muestra el comportamiento del pH por muestreo, se observa la irregularidad que presenta el mismo en el período de estudio, esto puede deberse fundamentalmente a la ineficiencia del tratamiento primario (neutralización) que se realiza previo al vertido de las mismas al cuerpo receptor; por lo general son aguas con un marcado carácter ácido.

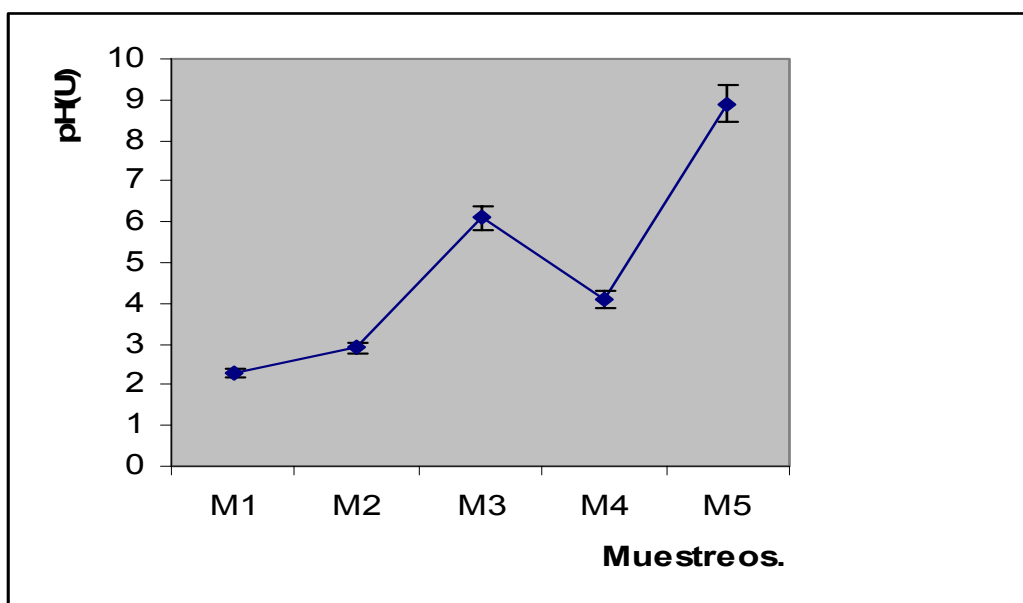


Figura 3.1.- Comportamiento del pH por muestreo.

Temperatura (T): La temperatura es una variable física que influye notablemente en la calidad del agua. Afecta a parámetros o características tales como: solubilidad de gases y sales, cinética de las reacciones químicas y bioquímicas, desplazamientos de equilibrios químicos, tensión superficial y desarrollo de organismos presentes en el agua (**Orozco y col., 2004**).

En los muestreos realizados varía en un intervalo (24 – 29 °C) (**Tabla 3.1**). Al

comparar estos valores con el máximo permisible (50 °C) según NC 27:1999, se observa que en todos los muestreos este parámetro cumple con lo establecido en la Norma, lo que indica que no existe contaminación térmica que contribuya a la reducción de la solubilidad de oxígeno (afectándose la vida acuática en el cuerpo receptor), al aumento de la solubilidad de las sales y a la aceleración de los procesos de putrefacción (Orozco y col., 2004).

Conductividad (Λ): La conductividad eléctrica describe la capacidad de las sustancias de conducir la corriente eléctrica bajo la acción de una fuente externa que genera un campo eléctrico. El transporte de la electricidad en las soluciones de electrolitos es realizado por los iones. Este parámetro da una buena apreciación de la concentración de los iones en disolución (Skoog y col., 2005).

Los electrolitos disueltos en las aguas hacen que estas sean más conductoras, a medida que sea mayor la concentración de los mismos, ya que entra en juego las interacciones iónicas; por tanto en principio, debe existir una relación directa entre conductividad del agua y los electrolitos disueltos (SD) (Figura 3.2).

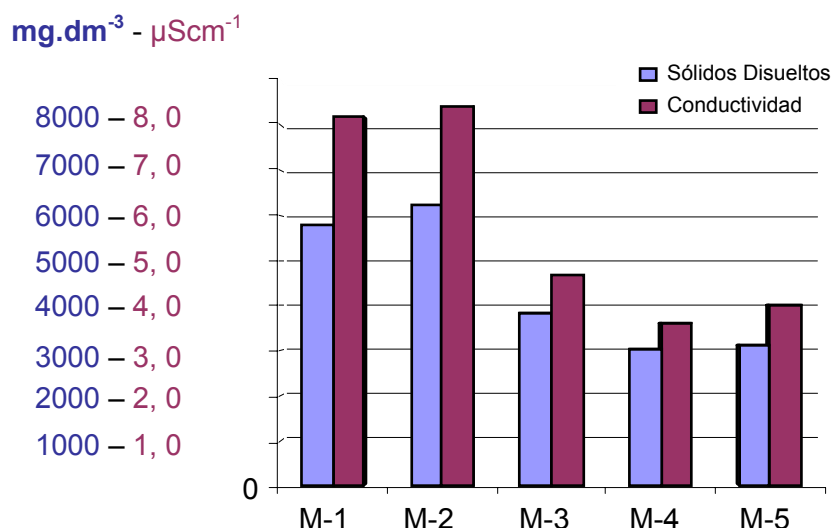


Figura 3.2.- Comportamiento de la Conductividad ($\mu\text{S.cm}^{-1}$) y de los Sólidos Disueltos (mg.dm^{-3}) en ambos muestreos.

La conductividad en estas muestras oscilan entre (3,6 – 8,8 mS.cm^{-1}) (Tabla 3.1) lo que indica la alta salinidad de este residual, debido a la presencia de sales

empleadas en el proceso de producción de la planta (**Tabla 1.1; Figura 1.1**). Los valores obtenidos en todos los muestreos se encuentran por encima del límite máximo permisible ($3,5 \text{ mS.cm}^{-1}$), regulado para el vertido de aguas residuales a cuerpos receptores según (NC 27:1999).

Sólidos totales y disueltos: Estos parámetros no están regulados para el vertido de aguas residuales a los cuerpos receptores según su uso, no obstante, las características físicas del residual indujeron que podía tener importancia la determinación de los mismos.

Los sólidos presentes en el residual provienen fundamentalmente de las operaciones de desengrase, zincado electrolítico y pasivación, donde se emplea una gran cantidad de sales inorgánicas (**Tabla 1.1; Figura 1.1**). El intervalo de concentración de los sólidos totales y sólidos disueltos obtenido, es amplio $3085 - 6816 \text{ mg.dm}^{-3}$ y $3016 - 6231 \text{ mg.dm}^{-3}$ respectivamente (**Tabla 3.1**). La **Figura 3.3** muestra estos resultados; en la misma se observa claramente la relación existente entre ambos parámetros. Si se calcula el porcentaje de sólidos disueltos respecto a los totales, se obtiene un valor promedio de 97.9 %, confirmando lo antes expuesto.

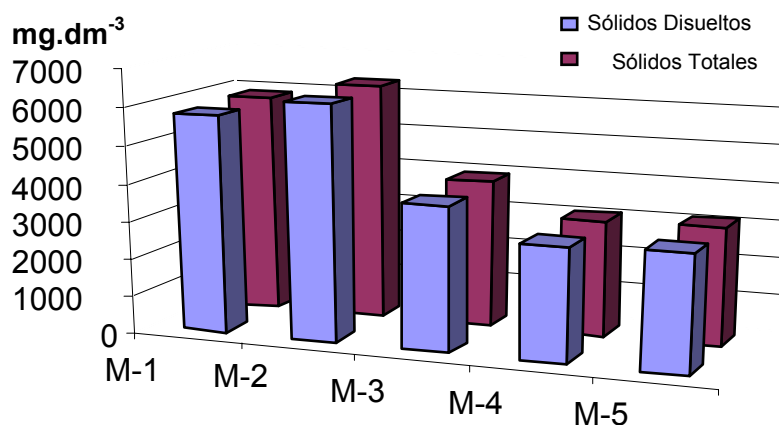


Figura 3.3.- Comportamiento de los sólidos Totales y Disueltos

Sólidos Sedimentables (SS): La NC 27:1999 recoge entre los parámetros a estudiar los SS, que no deben exceder los 5 mL.dm^{-3} ; para estas muestras se observa que los valores están por debajo del normalizado, por lo que no afecta negativamente al medio (**Tabla 3.1**).

Dureza Total y Sulfato: Los principales cationes que causan dureza son: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Mn^{2+} y los principales aniones asociados a ellos son HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- y SiO_3^{2-} . En la práctica debido a la gran diferencia que existe en las aguas naturales entre las cantidades de Ca^{2+} y Mg^{2+} y los otros cationes que producen dureza se acostumbra a decir que la dureza se debe a la presencia de estos iones (**Orozco y col., 2004**).

Los valores obtenidos de dureza total varían en un amplio intervalo 277-2106 mg.dm^{-3} , al igual que para los iones sulfato 191-1003 mg.dm^{-3} (**Tabla 3.1**), podemos observar que este residual presenta elevados valores de estos parámetros. Atendiendo al pH que poseen estas muestras, se pudo inferir que la dureza total no es carbonatada sino sulfatada y puede deberse fundamentalmente a que en los procesos de desengrase y pasivación, se adicionan grandes cantidades de sales sulfatadas. En la **Figura 3.4** se muestra la relación entre dureza total y sulfato.

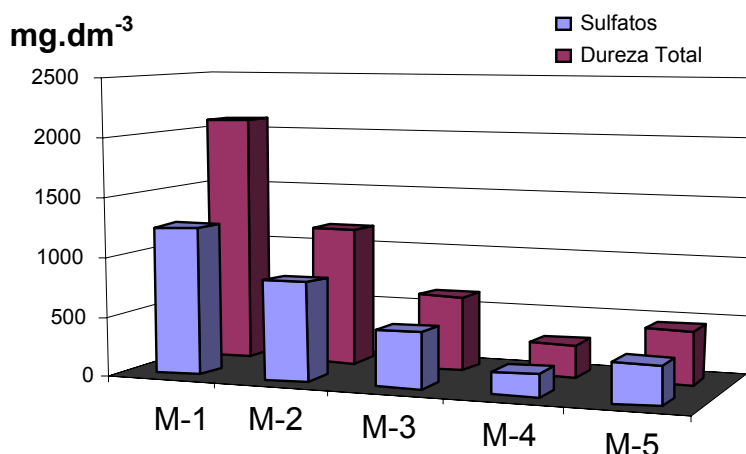


Figura 3.4.- Comportamiento de la Dureza Total y de los iones Sulfato en mg.dm^{-3} para ambos muestreos.

Sodio y Potasio: El sodio forma sales solubles en agua con muchos aniones, la principal el NaCl. Las sales que generan el potasio son más solubles que las del sodio, tiende a formar polihaluros. Ninguno de los dos es considerado tóxico (**Barceló, 2000**). En todos los muestreos se detectaron concentraciones elevadas de iones sodio (829 – 1105 mg.dm^{-3}), esto se debe a que en las diferentes etapas del proceso de la planta se emplean sales inorgánicas con predominio de este ión. Los valores de la concentración de iones potasio oscilaron entre (11 - 50 mg.dm^{-3}), debido

a que en el proceso de neutralización del residual se usa indistintamente hidróxido de sodio o de potasio.

Nitrógeno Total (Nt): La determinación de la cantidad de nitrógeno en la muestra es interesante en el análisis de elementos, la producción de plantas y aguas residuales ya que existen un gran número de productos químicos, así como sustancias puras, cuyo contenido de nitrógeno es un criterio cualitativamente decisivo (**López y col., 2002**). Los valores de nitrógeno total obtenidos oscilan entre 134750 y 144200 mg.dm^{-3} (**Tabla 3.1**), sobrepasando en miles de veces los límites máximos permisibles que regula la NC 27:1999 (20 mg.dm^{-3}), esto se debe a que en los procesos de aclarado y pasivación se utiliza ácido nítrico como reactivo fundamental (**Figura 1.1.**). Este residual al ser vertido al cuerpo receptor con valores tan altos de nitrógeno, puede provocar el fenómeno de eutrofización de las aguas, que se define simplemente como: "crecimiento acelerado de fitoplancton debido a la disponibilidad excesiva de nutrientes"; siendo esto uno de los principales causantes de la degradación ecológica de los ecosistemas acuáticos, debido a que provocan la pérdida de transparencia del agua, afectando la fotosíntesis por la falta de luz y consiguiente aumento de la descomposición de la materia orgánica; todo esto a su vez, hace que disminuya la concentración de oxígeno, implicando la pérdida de biodiversidad (**Carpenter y col., 1998**).

Demanda Química de Oxígeno (DQO): La DQO se usa para medir el contenido de materia orgánica en aguas naturales y residuales y es una medida de control de la calidad del agua. Corresponde a la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la fracción orgánica de una muestra de agua susceptible de oxidarse por un agente oxidante fuerte en medio ácido (**Maskew y col., 1992; Ramalho, 1993**).

En todos los muestreos, se detecta contenido de materia orgánica, susceptible a oxidarse en la mayoría de los casos hasta CO_2 y H_2O , (**Orozco y col., 2004**) y evidencia la contaminación por compuestos orgánicos, que puede deberse a productos de naturaleza orgánica que se emplean en el proceso.

En el período de estudio, los valores de DQO oscilan en un intervalo amplio de 22 a 132 mg.dm^{-3} (**Tabla 3.1**), en los muestreos 1 y 2 los valores están por encima del valor permisible por la NC 27:1999 (120 mg.dm^{-3}); esto indica irregularidades en el proceso productivo de la planta.

Metales: Los metales son especies químicas no degradables, experimentando transformaciones que dependen de diferentes factores como pH, potencial redox, temperatura y debido a diferentes procesos pueden distribuirse entre los entornos aire - agua - suelo, ya sea cambiando su estado de oxidación o incorporándose a los seres vivos (**Salomons y Fröstner, 1995; Kim y col., 2002**). La persistencia en el ambiente de los metales ocasiona una problemática especial. A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden degradarse ni biológica, ni químicamente en la naturaleza. La mayoría de los contaminantes metálicos terminan por alcanzar las aguas superficiales ya que los residuos de muchas operaciones industriales que contienen metales se encuentran en forma líquida y se distribuyen muy fácilmente. (**Vullo, 2003**).

En la **Tabla 3.2** se muestran los valores de la concentración de los metales analizados, que corresponden con los tres primeros muestreos de este estudio. Si se analizan los datos obtenidos, este residual se puede considerar polimetálico por la variedad de los elementos que lo constituyen, así como por sus altas concentraciones.

Tabla 3.2.- Resultados correspondientes a la determinación de metales (concentración media en $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) y valores de la NC 521:2007.

Muestreo	Cu ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)	Pb ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)	Zn ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)	Cr ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)	Cd ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)	Mn ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)
1	1.80	1.28	155.0	8.67	0.16	3.65
2	0.90	1.32	125.0	7.65	0.09	2.80
3	0.11	1.05	115.0	5.61	0.005	1.04
NC521:2007	2.000	0.200	10.000	5.000	0.200	NR

Leyenda: NR= No reportado

La NC 27:1999, "Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y alcantarillados. Especificaciones", dentro de los parámetros básicos que establece no se encuentran los metales, no obstante, tomando en cuenta que la estación de monitoreo en el río Yarayó, esta cerca de su desembocadura en la Bahía de Santiago de Cuba, y a la vez muy cerca del vertido del residual; para tener una referencia de lo que significan estas concentraciones de metales, se comparan los resultados

obtenidos con la NC 521:2007, “Vertimientos de aguas residuales a la zona costera y aguas marinas. Especificaciones”. Clase (E). De manera general, excepto el Cd y el Cu la concentración de Pb, Zn y Cr está por encima de lo que establece esta NC; lo que confirma la alta peligrosidad de este residual.

3.1.1.- Análisis de muestras de agua del río Yarayó.

Una vez realizada la caracterización físico química del residual, se procede a la toma de muestras de agua en el río (cuerpo receptor primario) y la determinación de algunos parámetros físico-químicos, con vistas a corroborar la calidad de las mismas. La toma de muestra se realizó próximo al vertido, aproximadamente a 50 metros (**Figura. 3.5**) y coincidió con los muestreos 4 y 5 realizados al residual. En la **Tabla 3.3** se muestran los resultados obtenidos.

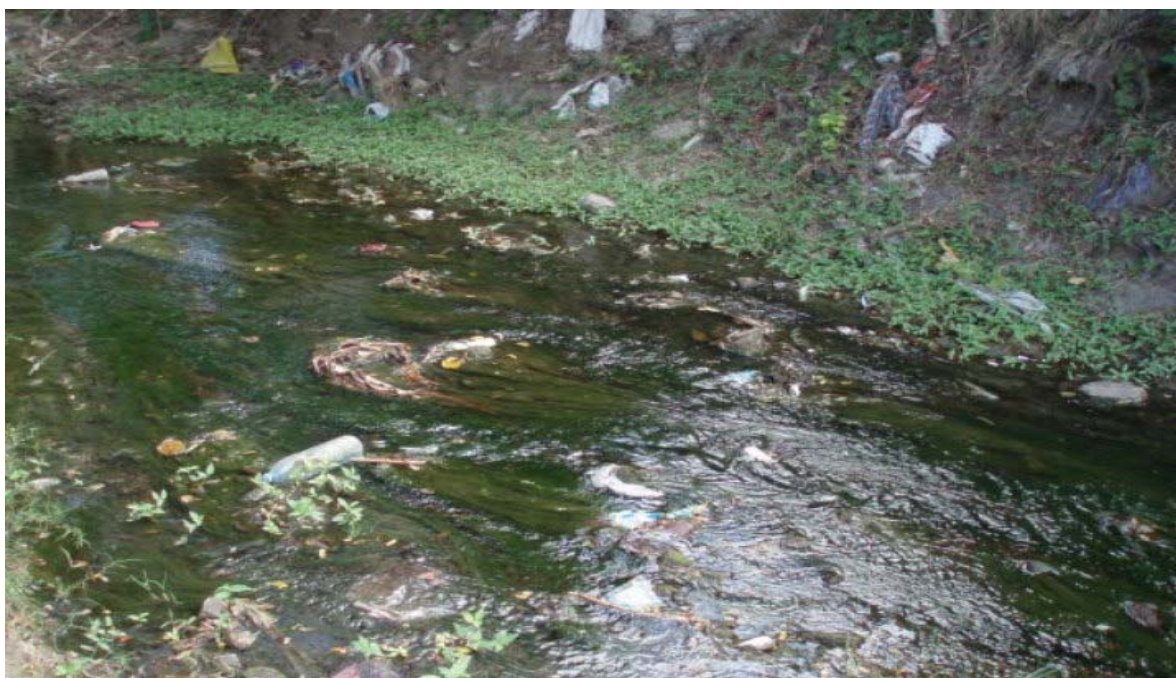


Figura 3.5.- Río Yarayó en la zona próxima al vertido del residual.

Si se analizan los valores que se muestran en la **Tabla 3.3**, y se comparan con los dos últimos muestreos realizados al residual (**Tabla 3.1**) se aprecia que los resultados de DQO y Nt son más altos, igualmente se observa con el contenido de cromo (VI). Esto puede ser debido a que el río Yarayó está afectado por el vertido de residuales de otras fuentes contaminantes antes de recibir el residual generado por la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” (**Milanés, 2003**).

Tabla 3.3.- Resultados de los valores medios obtenidos en el análisis de muestras de agua del río Yarayó.

No.	pH (U)	λ (mS/cm)	DQO (mg.dm ⁻³)	O _D (mg.dm ⁻³)	ST (mg.dm ⁻³)	SD (mg.dm ⁻³)	Nt (mg.dm ⁻³)	Cr ⁶⁺ (mg.dm ⁻³)
1	6.6	0.82	130	1.32	1573	835	155750	1,51
2	7.1	3.57	303	0.46	2680	2672	162400	1,80

n=6

Según plantea la NC 27:1999, las descargas de aguas residuales no podrán producir una disminución del oxígeno disuelto en los cuerpos receptores a valores menores de 2 mg.dm⁻³; en este caso están por debajo de la concentración mínima recomendable. Los valores para los sólidos totales y disueltos son altos (si consideramos el efecto de la dilución), estos resultados corroboran la afectación de las aguas del río próximas al vertido de este residual.

3.1.2.- Resultados del análisis estadístico.

La data experimental obtenida en la caracterización de las muestras, se somete a un análisis de varianza simple (ANOVA-S), tomando como factor las variables: muestreos, años y como variable dependiente los parámetros analizados, para detectar diferencias significativas. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 3.4.**

Como se observa, existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores medios de todas las variables, de un muestreo a otro para un nivel de confianza del 95,0 %. Entre los años existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores medios de las variables excepto para Cl⁻, SS y Na⁺

Estos resultados además de reafirmar la ineficiencia del tratamiento realizado al residual, indican la necesidad de diseñar un sistema de tratamiento que permita reducir la concentración de las variables analizadas por debajo de los límites máximos permisibles según la NC 27:99.

Tabla 3.4.- Resultado del (ANOVA-S) para $p < 0.05$ en las muestras del residual.

Variable dependiente	Factores		P-Valor Muestreo	P-Valor Año
	Muestras	Año		
pH	*	*	0.0000	0.0019
λ	*	*	0.0000	0.0007
DQO	*	*	0.0000	0.0000
ST	*	*	0.0000	0.0000
SD	*	*	0.0000	0.0000
DT	*	*	0.0000	0.0000
Cl ⁻	*	n.s	0.0000	0.1033
SO ₄ ²⁻	*	*	0.0000	0.0000
SS	*	n.s	0.0000	0.1860
Na ⁺	*	n.s	0.0000	0.4947
K ⁺	*	*	0.0000	0.0126
Nt	*	*	0.0000	0.0000

Leyenda: * = hay diferencia estadísticamente significativa.

n.s = no hay diferencia estadísticamente significativa.

3.1.3- Evaluación del Impacto Ambiental producido por los residuales de la planta galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre”.

La Evaluación del Impacto Ambiental (EIA) se realizó en tres etapas: Identificación de las acciones que generan impacto y los factores del medio que pueden resultar afectados (**Tabla 3.5**); valoración de los impactos (**Tabla 3.6**), en base a la tabla de atributos para el cálculo de la importancia (**Tabla 3.7**) y cálculo de la importancia de los impactos (**Tabla 3.8**).

3.1.3.1.- Análisis de las matrices de impacto.

En la valoración de los impactos utilizando la matriz causa-efecto (**Tabla 3.5**), se analizaron las acciones de la planta galvánica que generan impacto y los ecosistemas más afectados por éstas, este último se realizó sobre el análisis de la data experimental obtenida en la caracterización físico química del residual, a partir de la cual se seleccionaron los valores por encima de la Concentración Máxima Admisible (CMA) según las Normas Cubanas NC 27:99 y NC 521:2007; ya que son

los que pudieran producir impactos desfavorables en el medio ambiente, se tomó en cuenta además, la determinación de algunos parámetros físico-químicos (**Tabla 3.3**) a muestras de agua del río (cuerpo receptor primario) y la observación realizada en esta zona, para poder efectuar la EIA (**Figura 3.5**).

Tabla 3.5.- Matriz causa-efecto.

Factores Del Medio		Acciones			
		Mala Manipulación de Reactivos Químicos	Vertimiento de Aguas Residuales	Acumulación de Residuos	Mal funcionamiento del Sistema de Tratamiento
		I1	I2	I3	I4
Nombre	Clave				
Aguas Superficiales	M1		X	X	X
Suelo	M2		X	X	X
Vegetación	M3		X	X	X
Fauna	M4		X	X	X
Relaciones Ecológicas	M5		X	X	X
Salud e higiene	M6	X	X	X	X

En la elaboración de la matriz causa-efecto se analizaron variables o componentes ambientales tales como: mala manipulación de reactivos químicos (I1), vertimiento de aguas residuales (I2), acumulación de residuos (I3), mal funcionamiento del sistema de tratamiento (I4).

Los factores del medio que se consideran afectados por estos componentes son: aguas superficiales (M1), suelo (M2), vegetación (M3), fauna (M4), relaciones ecológicas (M5), salud e higiene (M6).

Posteriormente se construye la Matriz de Valoración de Impactos (**Tabla 3.6**),

Tabla 3.6.- Afectación de los factores del medio.

ESTADO DEL MEDIO													
Código	N T	I N	E X	M O	P E	R V	A C	E F	P R	P B	P S	I	Carácter
M1I2	-	8	12	4	4	2	4	4	2	4	8	80	CRÍTICO
M1I3	-	4	4	2	4	2	4	4	2	4	4	46	MODERADO
M1I4	-	8	12	4	4	2	4	4	2	4	4	76	CRÍTICO
M2I2	-	4	4	2	4	2	4	1	2	4	2	41	MODERADO
M2I3	-	8	8	4	4	2	4	4	2	4	8	72	SEVERO
M2I4	-	4	4	4	4	2	4	4	2	4	2	46	MODERADO
M3I2	-	8	4	2	4	4	4	4	2	4	8	64	SEVERO
M3I3	-	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	64	SEVERO
M3I4	-	4	4	4	4	2	4	4	4	4	2	48	MODERADO
M4I2	-	12	12	4	4	4	4	4	4	4	4	92	CRÍTICO
M4I3	-	4	4	2	4	2	4	4	4	4	1	45	MODERADO
M4I4	-	8	4	4	4	2	4	4	4	4	4	62	SEVERO
M5I2	-	8	4	4	4	2	4	4	4	4	8	66	SEVERO
M5I3	-	8	4	4	4	2	4	4	4	4	2	60	SEVERO
M5I4	-	8	4	4	4	2	4	4	4	4	2	60	SEVERO
M6I1	-	4	1	1	2	1	4	4	1	4	4	35	MODERADO
M6I2	-	8	4	2	4	4	4	1	4	4	2	57	SEVERO
M6I3	-	8	4	2	4	4	4	1	4	4	1	56	SEVERO
M6I4	-	8	4	2	4	4	4	1	4	4	1	52	SEVERO

Esta tabla permite obtener una valoración cualitativa de la importancia de los impactos presentes, en la elaboración de la misma se otorgan valores que describen las características que tienen las acciones sobre cada medio estudiado, con el fin de significar las alteraciones ambientales y poder así valorar su importancia (Milán, 2004). Como se observa en la **Tabla 3.6**, los impactos se cualifican como negativos, significando eso la degradación de los factores del medio involucrados. De un total de 19 impactos, 3 de ellos resultan críticos ($I > 75$), 6 se clasifican de moderados ($25 < I \leq 50$) y 10 valores con carácter severo ($50 < I \leq 75$).

Tabla 3.7.- Valores de los atributos de impactos para realizar la evaluación cualitativa.

NATURALEZA (NT) Impactos negativos – Impactos positivos +	INTENSIDAD (IN) (Grado de destrucción) Baja 1 Media 2 Alta 4 Muy alta 8 Total 12
EXTENSION (EX) (Área de influencia) Puntual 1 Parcial 2 Extenso 4 Total 8 Crítica +4	MOMENTO (MO) (Plazo de manifestación) Largo plazo 1 Medio plazo 2 Inmediato 4
PERSISTENCIA (PE) (Permanencia del efecto) Fugaz 1 Temporal 2 Permanente 4	REVERSIBILIDAD (RV) (Recuperabilidad) Recuperable a corto plazo 1 Recuperable a medio plazo 2 Irrecuperable 4
ACUMULACIÓN (AC) (Incremento progresivo) Simple 1 Sinérgico 2 Acumulativo 4	PROBABILIDAD (PB) (Certidumbre de aparición) Probable 1 Dudoso 2 Cierto 4
EFECTO (EF) (Por la relación causa-efecto) Indirecto 1 Directo 4	PERIODICIDAD (PR) (Regularidad de manifestación) Irregular y discontinuo 1 Periódico 2 Continuo 4
PERCEPCION SOCIAL (PS) (Grado de percepción del impacto por la población) Mínima (25%) 1 Media (50%) 2 Alta (75%) 4 Máxima (100%) 8 Total(mayor de 100%) +4	IMPORTANCIA (I) (Valor total) $I = \pm(3IN+2EX+MO+PE+RV+AC+PB+ EF+ PR +PS)$

Impactos con valores inferiores a 25.....Irrelevantes (Compatibles), Impactos con valores entre 25 y 50.....Moderados, Impactos con valores entre 50 y 75.....Severos, Impactos con valores mayores de 75....Críticos. **Fuente:** Fernández, 1997

A partir de estos resultados se construye la Matriz de Importancia de Impacto (**Tabla 3.8**); lo que permitió calcular el porcentaje de influencia de las acciones seleccionadas, en cada uno de los factores del medio (**Figura.3.6**).

Tabla 3.8.- Matriz de importancia de los impactos.

Factores del Medio	Acciones				Total
	I1	I2	I3	I4	
M1		-80	-46	-76	-202
M2		-41	-72	-46	-159
M3		-64	-64	-48	-176
M4		-92	-45	-62	-199
M5		-66	-60	-60	-186
M6	-35	-57	-56	-52	-200
Total	-35	-400	-343	-344	-1122

En esta figura se observa que en el medio 1: Aguas superficiales, las acciones que más lo afectan son: el vertido de aguas residuales y el mal funcionamiento del sistema de tratamiento. En el medio 2: Suelo, la acumulación de residuos presenta una gran influencia ya que el suelo recibe estas afectaciones y las acumula durante largo tiempo. La vegetación (medio 3), las acciones que más la afectan son: el vertido de las aguas residuales y la acumulación de residuos. La fauna (medio 4), vertido de las aguas residuales y en un porcentaje considerable del mal funcionamiento del sistema de tratamiento. En la figura se observa claramente que las relaciones ecológicas (medio 5) y la salud e higiene (medio 6) son dañadas por las tres acciones fundamentales que generan impacto; vertimiento de aguas

residuales, acumulación de residuos y mal funcionamiento del sistema de tratamiento.

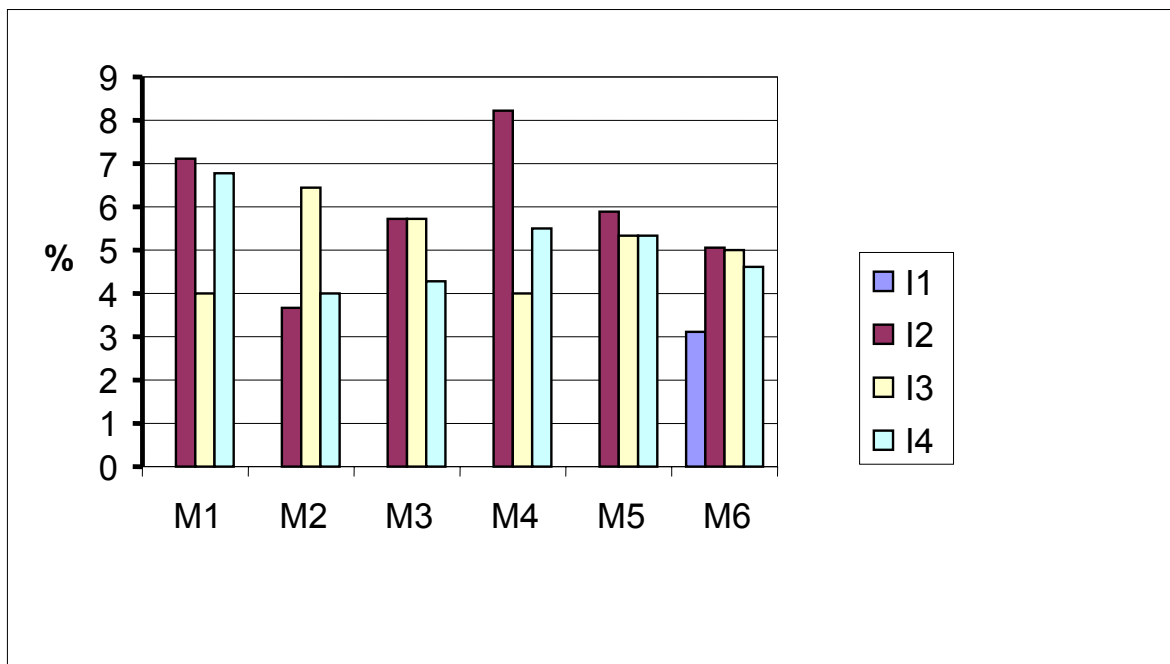


Figura 3.6.- Influencia de las acciones en los factores del medio.

Según la matriz de importancia, se calcula además el porcentaje del aporte de los componentes ambientales como se muestra en la **Figura. 3.7.**

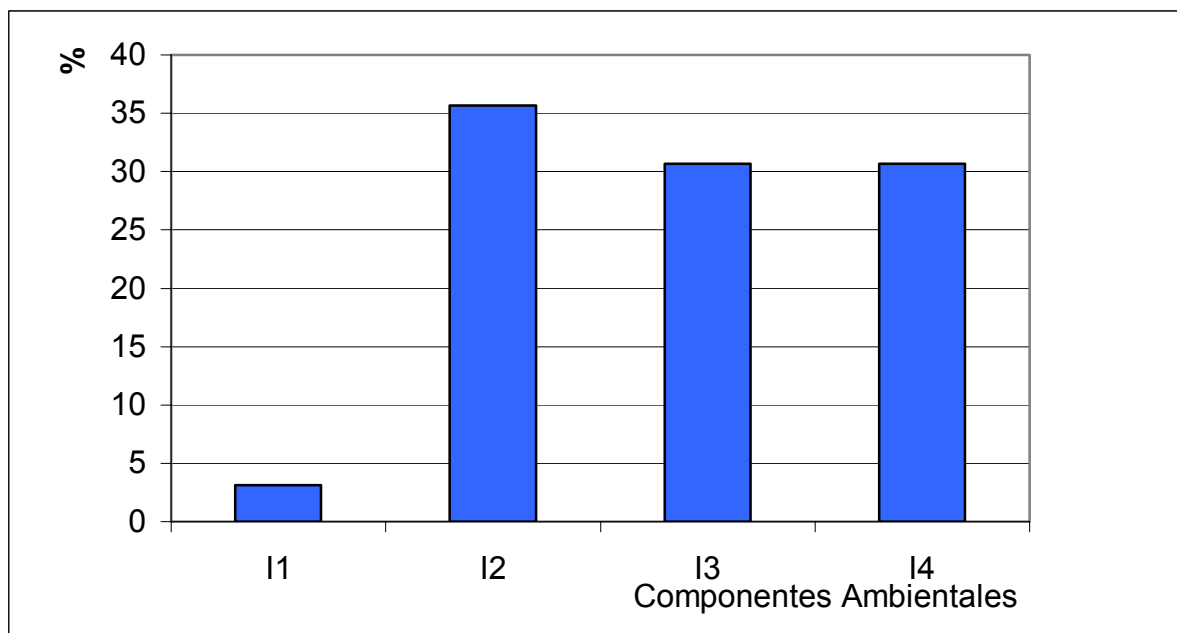


Figura. 3.7.- Aporte de los componentes ambientales según la matriz de importancia.

Como resultado se obtiene que el componente ambiental que más daña el ecosistema con un 36 %, es el vertido de aguas residuales como era de esperar, debido a que la planta vierte sus residuos directamente al río, sin efectuar un tratamiento eficiente a los mismos. Con un menor porcentaje (30 %) pero igualmente significativo que la acumulación de residuos y el mal funcionamiento del sistema de tratamiento.

Por otra parte el factor del medio que más afectaciones recibe (**Figura 3.8**), con un 18 % son las aguas superficiales, continúan casi en igual medida; la fauna y la salud e higiene con 17,7 y 17,8 % respectivamente, en estos casos es una consecuencia de todas las agresiones que recibe el ecosistema.

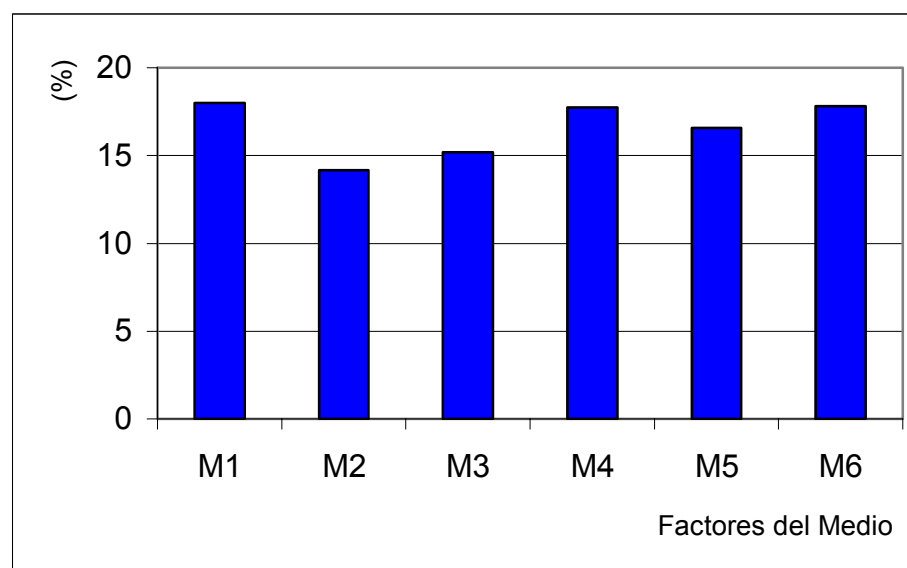


Figura. 3.8.- Afectaciones de los factores del medio.

Las afectaciones se podían apreciar por la coloración y olor de las aguas y el suelo, la no existencia de vida acuática y vegetación en la zona del río cercana al vertido; como resultado de este análisis se obtuvo un valor de impacto total de: -1122 (**Tabla 3.8**).

Los atributos que más influyen en la severidad de los impactos son la intensidad y la extensión; la intensidad se refiere al grado de incidencia de la acción sobre el factor considerado en el ámbito específico en que actúa y la extensión al área influenciada. Se valoran en una escala del 1 (afectación mínima) al 12 (destrucción total del factor) (**Tabla 3.6 y 3.7**).

Tabla 3.8.- Matriz de importancia de los impactos.

Factores del Medio	Acciones				Total
	I1	I2	I3	I4	
M1		-80	-46	-76	-202
M2		-41	-72	-46	-159
M3		-64	-64	-48	-176
M4		-92	-45	-62	-199
M5		-66	-60	-60	-186
M6	-35	-57	-56	-52	-200
Total	-35	-400	-343	-344	-1122

Tomando en cuenta estos resultados y con vista a minimizar el impacto provocado por las acciones de la planta al río, se proponen las siguientes medidas:

1. Programa de monitoreo para controlar la variación de la concentración de los contaminantes en el residual,
2. Implementar un sistema de tratamiento fundamentalmente para eliminar los metales más tóxicos.
3. Plan de medidas para mejorar las relaciones ecológicas en la cuenca del río.

3.1.3.2.- Cuantificación del Impacto Ambiental

La cuantificación del impacto ambiental que causa este residual, se calcula sobre la base de los parámetros descritos en la NC 27:1999. Para el caso de los metales pesados, se tomaron en cuenta las concentraciones que plantea la NC 521:2007 de acuerdo a lo considerado con anterioridad en el epígrafe 3.1. El análisis se realiza a través de la expresión reportada en materiales y métodos, epígrafe 2.1.4. Cuando los valores de los parámetros de caracterización son mayores que los límites permisibles normados, el impacto es positivo y representa un daño ambiental (**Milán, 2004**).

A continuación en la **tabla 3.9** se muestran los valores obtenidos en la cuantificación del impacto.

Tabla 3.9.- Cuantificación del Impacto ambiental

Parámetros	Muestreos				
	1	2	3	4	5
pH (U)	3.7	3.1	-0.1	1.9	-0.1
T (°C)	-23	-21	-26	-24	-23
Λ (mS.cm ⁻¹)	5.1	5.3	1.2	0.1	0.5
DQO (mg.dm ⁻³)	12	15	-81	-98	-92
SS (mL.dm ⁻³)	-5	-4.7	-4.8	-4.8	-4.5
Cu (mg.dm ⁻³)	-0.2	-1.1	-1.9	-	-
Pb (mg.dm ⁻³)	1.08	1.12	0.89	-	-
Zn (mg.dm ⁻³)	145	115	95	-	-
Cr (mg.dm ⁻³)	3.67	2.65	0.61	-	-
Cd (mg.dm ⁻³)	-0.04	-0.11	-0.20	-	-
Nt (mg.dm ⁻³)	-	-	134730	149080	144180

El análisis de los datos, refleja que en todos los muestreos existen parámetros cuyos valores son superiores a los establecidos por la NC 27:1999, por ejemplo pH, Λ , DQO, Nt, y para la NC 521:2007 Pb, Zn y Cr; esto se traduce en una alta contaminación del cuerpo receptor, debido a la descarga sin un tratamiento adecuado de los residuales líquidos de la Planta Galvánica.

3.2.- AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CEPAS BACTERIANAS RESISTENTES A CROMO (VI).

El uso de biomasas muertas para la biosorción de metales tóxicos es un procedimiento que reduce los niveles de concentración de forma rápida y económicamente viable en comparación con los métodos tradicionales.

El aislamiento y selección de cepas resistentes a metales pesados se centró en bacterias, ya que en este grupo se encuentra el mayor número de microorganismos resistentes a condiciones extremas de pH. En el presente trabajo, el aislamiento se llevó por siembra en estrías a partir de un banco de diluciones, sobre Agar Nutriente. A las colonias aisladas y purificadas por la técnica de agotamiento (**Bergeys, 1994**), se le realizaron tinciones de Gram y se determinó la morfología.

3.2.1.- Identificación y conteo en el microscopio óptico.

En el experimento de aislamiento de cepas bacterianas fue determinada la presencia de 4 grupos morfológicos con las características que se reportan a continuación:

- 1.- Color blanquecino amarillento. De bordes enteros, lisas, brillantes, redondas y levantadas.
- 2.- Irregulares, filamentosas y blancas.
- 3.- Blancas de bordes irregulares, planas y lisas.
- 4.- Blancas amarillentas, opacas y de borde entero.

Este resultado infiere que en el residual del sedimentador de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba, se localizan microorganismos bacterianos resistentes a las condiciones adversas del medio.

3.2.2.- Clasificación de gérmenes en Gram (+) y Gram (-).

La composición y estructura de la pared celular en bacterias varía, de tal forma que responden de manera diferente a la tinción de Gram, esta variabilidad está determinada por la estructura y composición química de la pared celular, la cual las divide en dos grandes grupos, bacterias Gram-positivas y bacterias Gram-negativas (**Bergeys, 1994**).

Como resultado de la tinción de Gram realizada a las cepas bacterianas purificadas se observan dos cepas microbianas que por sus características describen ser gérmenes Gram (+), bacilos agrupados en cadenas o independientes con esporas terminales, denominadas Cepa 1 y Cepa 2. Las dos restantes (Cepa 3 y Cepa 4), exhiben características correspondientes a gérmenes Gram (-) con forma de cocos aislados o unidos formando racimos. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 3.10** y se ilustran en las **Figuras 3.9, 3.10, 3.11 y 3.12**.

Los gérmenes Gram (-) son más resistentes ya que poseen una membrana externa, la pared celular y una membrana interna, por lo que de las cuatro cepas de bacterias, dos fijan el colorante violeta cristal, la estructura de la pared celular es más compleja, pues presenta por encima de la capa de péptidoglicano una capa de lipopolisacáridos, en la cual se observan también fosfolípidos, lipoproteínas y proteínas, la cual se denomina como LPS. Esta capa posee propiedades antigénicas. En estas bacterias la capa de péptidoglicano es mucho más estrecha y no poseen ácidos teicoicos. Las dos cepas Gram (+) que son menos resistentes han desarrollado estructuras (esporas terminales) como resultado de la exposición a

condiciones extremas existentes en el residual estudiado como son: bajos valores de pH, altos valores de conductividad, Nitrógeno total, Plomo, Zinc y Cromo. En las especies gram positivas, a diferencia de las Gram negativas, no poseen la capa de LPS, el péptidoglicano es más estrecho y poseen ácido teicoico, la presencia de proteínas es típica en algunas especies, los cationes se enlazan fundamentalmente a grupos carboxilos, mientras que en las gram negativas, suelen asociarse a los fosfatos. Muchas bacterias generan sustancias poliméricas que pueden adsorber iones metálicos (**Falco y col., 2003**).

Tabla 3.10.- Resultados de la tinción de Gram.

Cepa	Color	Clasificación y forma de las células
1	violeta	Gram(+)Bacilos independientes o formando cadenas con esporas terminales.
2	rosado	Gram (-) Cocos unidos formando racimos.
3	rosado	Gram (-) Cocos aislados.
4	violeta	Gram (+) Bacilos agrupados en cadenas con esporas terminales.

Actualmente, se conoce que en estos procesos se utiliza una gran variedad de microorganismos, entre los que se encuentran especies acidófilas; se destacan las bacterias del género *Acidithiobacillus* y *Leptospirillum*. Dentro del género *Acidithiobacillus* se distinguen tres especies que son *At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans* y *At. Caldus*. Otro género importante en estos medios fuertemente ácidos es el *Acidiphilium*, donde la especie más relevante es *Acidiphilium acidiphilum* (**Rawlings, 2002**).

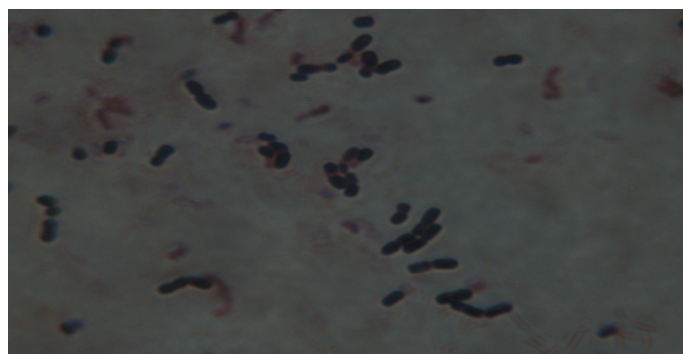


Figura 3.9.- Vista al microscopio x6000. Cepa 1



Figura 3.10.- Vista al microscopio x6000. Ceba 2

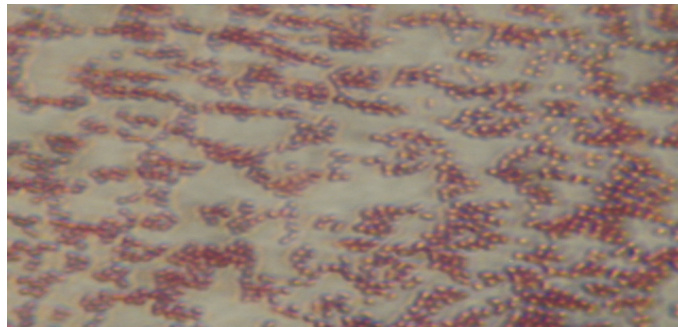


Figura 3.11.- Vista al microscopio x6000. Ceba 3

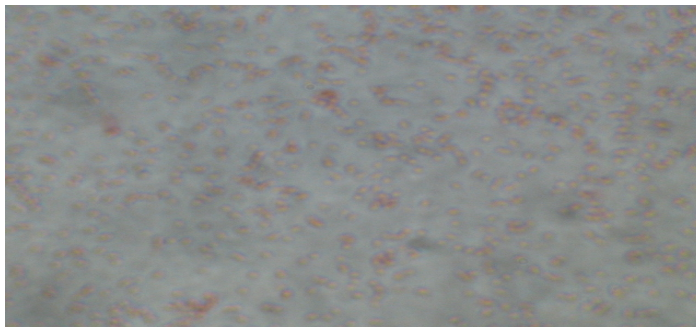


Figura 3.12.- Vista al microscopio x6000. Ceba 4.

3.2.3.- Crecimiento y obtención de la biomasa.

Las cepas aisladas cultivadas en caldo nutriente difieren en las características de la biomasa obtenidas luego de 48 h de cultivo.

Las características del cultivo mostrado por las bacterias estudiadas son las siguientes:

1.- La cepa 1 forma pellets que floculan en forma de grumos blancos perfectamente arrastrables. **(Figura 3.13)**



Figura 3.13.- Biomasa obtenida a partir de la cepa 1.

2.- La cepa 2 produce una biomasa de apariencia gelatinosa.

3.- Las cepas 3 y 4 producen biomasas gelatinosas difíciles de arrastrar. (**Figura 3.14**)



Figura 3.14.- Crecimiento de biomasa bacteriana.

Los rendimientos de biomasa obtenidos se reportan en la **Tabla 3.11**. Estos valores se encuentran dentro de los límites en un rango óptimo según reportes de literatura (**Pérez y col., 2009**). Es posible obtener mejores rendimientos ajustando las

condiciones de crecimiento a las del medio natural considerando que requieran otros elementos nutricionales para su desarrollo.

Tabla 3.11.- Rendimientos de biomasa por cepas aisladas del residual.

Cepas	Rendimiento (%)
1	30,6
2	39,9
3	56,0
4	49,2

3.3.- BIOADSORCIÓN DE CROMO (VI) POR BIOMASA BACTERIANA.

En los procesos de biorremediación se han usado cepas del género *Pseudomonas*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Bacillus*, entre muchos otros microorganismos. El rol fundamental de estos es proporcionar sitios de nucleación adecuados asociados a las superficies celulares (Hussein y col., 2005).

Las bacterias pueden ser biosorbentes muy eficientes de metales. Es por esto que las tecnologías basadas en el uso de cepas bacterianas ofrecen una alternativa viable o ayudan a las técnicas convencionales en la eliminación y/o recuperación de metales.

La experiencia para estudiar la capacidad de adsorber cromo (VI), que posee la biomasa de las 4 cepas aisladas en soluciones acuosas, se desarrolló por triplicado en matraces erlenmeyers de 50 ml de capacidad, dichos matraces contenían las alícuotas del metal estudiado para obtener las concentraciones deseadas y la biomasa obtenida a partir de un cultivo centrifugado.

3.3.1- Selección del adsorbente y estudio del proceso bioadsorción en función del pH.

Para la selección del adsorbente con mayor capacidad de remover los iones cromo (VI) en las soluciones estudiadas, se consideraron las condiciones de pH y concentración del elemento objeto de estudio en el medio natural donde fueron

aisladas las cepas bacterianas. La **Tabla 3.12** reporta los resultados obtenidos para cada cepa, observándose que la cepa 1 es la que refiere mejores resultados, siendo capaz de remover el 39,6 % de los iones cromo (VI) presentes en la solución.

Tabla No. 3.12.- Remoción de cromo (VI) por las cepas bacterianas aisladas.

Cepa	Concentración final (mg.dm ⁻³)	% de remoción
1	0,70	39,6
2	0,92	21,0
3	1,05	9,4
4	1,09	6,0

pH: 2,9 (U) $C(Cr^{6+}) = 1,16 \text{ mg.dm}^{-3}$

La remoción del cromo (VI) en función de los valores de pH se muestra en la **Tabla 3.13 y Figura 3.15** para la cepa seleccionada.

Tabla 3.13.- Remoción de Cr (VI) en función del pH.

pH	% de remoción
3,5	38,0
4,0	62,0
4,5	60,0
5,0	40,0
5,5	80,1
6,0	90,1
6,5	70,0

De estos resultados se infiere que el valor del pH de la solución es un factor importante en los procesos de biosorción debido a la posibilidad que tiene la pared celular de algunos microorganismos, que contienen grupos aminos, amidas, hidroxilos y grupos carboxilos que pueden estar protonados o no, dependiendo del pH de la solución en contacto. Incrementos del pH aumentan el número de cargas negativas en la superficie del absorbente y existe un número relevante de grupos funcionales desprotonados que favorecen la atracción electroquímica de los cationes. Es interesante considerar que puede existir competencia de los cationes presentes

en la solución con los iones hidronios en los sitios activos del adsorbente de naturaleza biológica. En este caso a un valor de pH de 6 unidades se evidencia el mayor por ciento de remoción de cromo (VI) lo cual se corresponde con la literatura reportada. **(Jong y Parry, 2004).**

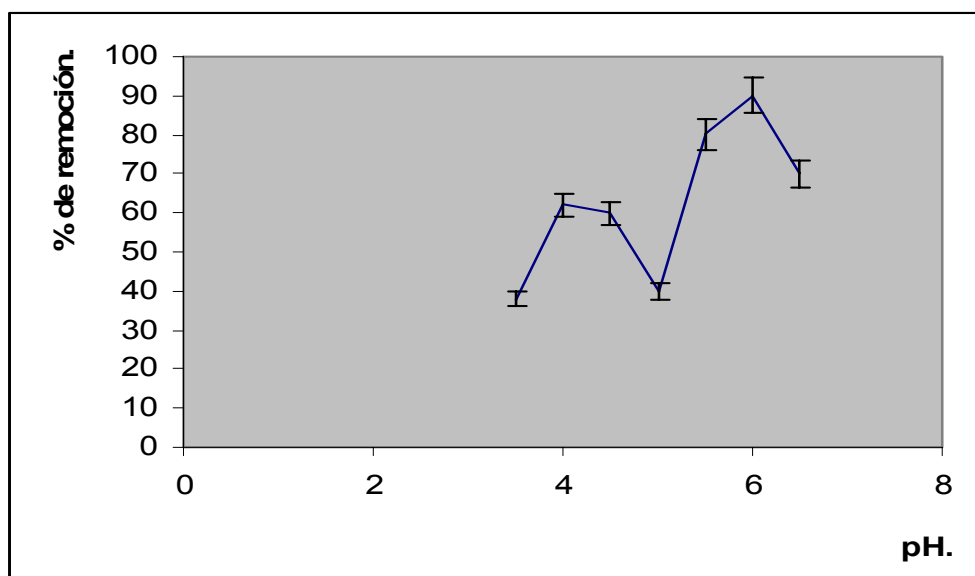


Figura 3.15.- Remoción en función del pH.

Esta tendencia de dependencia del pH indica que la remoción del metal además asociarse físicamente puede estar ocurriendo a través de un mecanismo de intercambio iónico.

En la actualidad se ha trabajado con biosorbentes de naturaleza diferente y los resultados del proceso de biosorción en función del pH pueden ser variables dependiendo de la naturaleza y composición de los sitios de adsorción del material estudiado. Pueden referirse los resultados obtenidos con *Sargassum Sp.*, *R. arrhizus*, *R. nigricans*, *Larrea tridentata*, *Medicago savita* y *Mucor meihi* que reportan valores óptimos de adsorción en función del pH de 3,0; 2,0; 2,0; 6,0; 5,0 y 4,0 unidades respectivamente **(Carmona y col., 2003; Sag y Kutsal, 1996; Gardea-Torresdey y González, 1998; Tobin y Roux, 1998).**

La biomasa obtenida por la cepa 1 reporta los mejores niveles de adsorción del elemento estudiado bajo las condiciones experimentales estudiadas. El nivel de concentración de cromo (VI) analizado es de $1,16 \text{ mg.dm}^{-3}$ teniendo en cuenta que es el valor medio de concentración de cromo (VI) en el residual, un valor de pH de 6 unidades determinado en los experimentos de dependencia de la adsorción en función del pH y una dosis de adsorbente de $0,6 \text{ g.dm}^{-3}$ según establece **(Jong y Parry, 2004).** Bajo estas condiciones el biomaterial es capaz de alcanzar un

porcentaje de remoción del 90,1 % del elemento metálico. Es de vital importancia el hecho de que esta cepa presenta cadenas con esporas terminales, característica estructural que le permite una mayor resistencia a condiciones extremas del medio en que habitan.

3.3.2.- Estudio del tiempo óptimo de bioadsorción.

El estudio del tiempo óptimo de bioadsorción de cromo (VI) fue realizado con la cepa 1. La cantidad de cromo (VI) adsorbida por la biomasa seleccionada en el experimento realizado se muestra en la **Tabla 3.14**. Como se puede observar la adsorción del cromo (VI) es dependiente del tiempo, lo cual sugiere que la retención del ión puede ser a través de la interacción con grupos funcionales localizados en la superficie de la biomasa bacteriana utilizada. A partir de los 30 minutos de contacto del bioadsorbente con la solución estudiada ha sido adsorbido el 90,1 % del cromo (VI) existente en el medio, alcanzando rápidamente el equilibrio.

Tabla 3.14.- Remoción de Cr (VI) en función del tiempo de contacto.

Tiempo (min)	% de remoción
5	68,0
10	75,2
15	80,3
30	90,0
60	90,1
90	90,1

3.3.3.- Estudio de la capacidad de bioadsorción.

El experimento para estudiar la capacidad que posee la biomasa de la cepa bacteriana seleccionada (Cepa 1) de adsorber los iones cromo (VI) en disoluciones acuosas, se desarrolló por triplicado en matraces erlenmeyers de 100 mL de capacidad; dichos matraces contenían la masa de bioadsorbente establecida ($0,6 \text{ g.dm}^{-3}$) y las soluciones del metal a los niveles de concentración establecidos.

La bioadsorción de iones metálicos usualmente puede modelarse utilizando el modelo de Langmuir, en el cual el aumento del consumo de metal por la biomasa alcanza el equilibrio en función del tiempo (**Chang y Hong, 1994**).

La isoterma de adsorción de Langmuir es un modelo no lineal que está basado en un equilibrio de primer orden. En este modelo el metal adsorbido cubre una monocapa en la superficie homogénea del sólido, donde todos los sitios de unión tienen una energía uniforme de adsorción sin interacción entre las moléculas adsorbentes. (**Romero y col., 2000**).

El modelo de la adsorción de Langmuir fue utilizado para evaluar el comportamiento del fenómeno de la adsorción. Este modelo se utilizó para estimar los valores máximos del consumo de los iones cromo (VI) por la biomasa.

La **Tabla 3.15** describe los parámetros del modelo de Langmuir y el coeficiente de correlación para la bioadsorción del cromo (VI). La capacidad máxima de adsorción del metal (q_m) alcanza un valor de $0,0155 \text{ mg.g}^{-1}$ a un valor de pH óptimo de 6 unidades.

Tabla 3.15.- Parámetros cinéticos de la isoterma de adsorción de Langmuir para Cr (VI).

Metal	pH	Langmuir		
		kd	$q_m(\text{mg.g}^{-1})$	r^2
Cr (VI)	6,0	0,0012	0,0155	0,9871

El comportamiento gráfico del proceso de adsorción según el modelo linealizado de la isoterma de Langmuir se observa en la **Figura 3.16**, obteniéndose las constantes de adsorción y un coeficiente de correlación de 0,9871. La tendencia lineal de este comportamiento en las condiciones del experimento demuestra que el proceso puede estudiarse utilizando el modelo seleccionado; aunque normalmente este es más apropiado para el estudio de sistemas al estado gaseoso. (**Langmuir, 1918**).

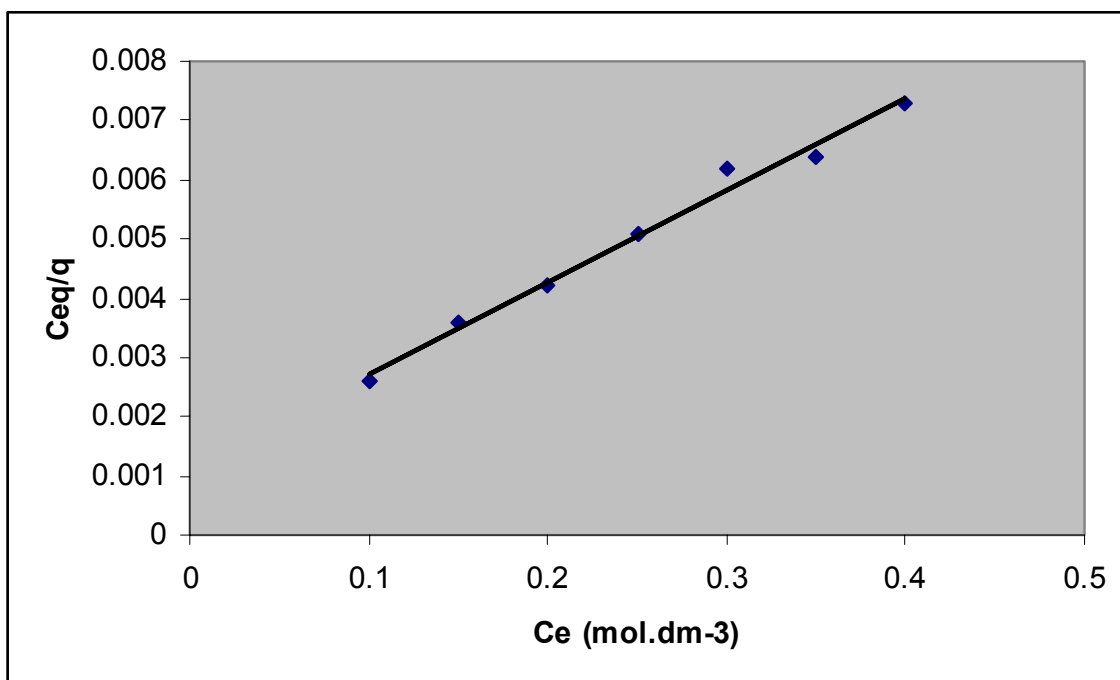


Figura 3.16.- Isotherma de adsorción de Langmuir para la bioadsorción de Cr (VI).

3.3.4.- Evaluación de la remoción de cromo (VI) por la cepa bacteriana seleccionada en una matriz real.

De la evaluación de la remoción de cromo (VI) por la biomasa obtenida a partir de la Cepa 1 en una muestra del residual del sedimentador de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” se obtuvo que para las condiciones de trabajo establecidas en los experimentos descritos anteriormente, el porcentaje de remoción del metal es de 80,1 % para una disminución del metal desde 1,16 mg.d.m⁻³ a 0,23 mg.d.m⁻³. Este valor aún está por encima de los límites permisibles para las descargas de aguas residuales a las zonas costeras y cuerpos receptores (0,1 mg.d.m⁻³) (NC 521:2007), pero puede considerarse como un buen resultado, para continuar los estudios en este sentido, teniendo en cuenta que es una matriz polimetálica donde puede existir competencia de otros cationes en los sitios activos del adsorbente dada la composición de la pared celular de la cepa bacteriana estudiada.

CONCLUSIONES

- 1.- Las aguas residuales de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” se caracterizan por tener un pH ácido, altos valores de conductividad, Nitrógeno total, Plomo, Zinc y Cromo; parámetros que no cumplen con los límites máximos permisibles reportados por las Normas Cubanas de Vertimientos de Aguas Residuales a los Cuerpos Receptores: NC 27:1999, Clase (C) y NC 521:2007, Clase E.
- 2.- Los principales impactos negativos que generan los residuales de la actividad productiva de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” en el cuerpo receptor primario y por consiguiente en la Bahía de Santiago de Cuba son: el vertido de aguas residuales y el funcionamiento ineficiente del sistema de tratamiento.
- 3.- Se aislaron 4 cepas bacterianas resistentes a metales pesados en el residual generado en la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba, de ellas la cepa 1 reporta la mayor capacidad de adsorción, logrando remover el 90,1 % del cromo (VI) a un valor de pH de 6 unidades y una masa de adsorbente de $0,6 \text{ g.dm}^{-3}$.
- 4.- La cepa 1 es capaz de remover los iones cromo (VI) en una matriz real de $1,16 \text{ mg.dm}^{-3}$ a $0,23 \text{ mg.dm}^{-3}$ lo cual corresponde a un porcentaje de remoción del 80,1 %.

RECOMENDACIONES

- 1.- Continuar el estudio de identificación de las cepas bacterianas aisladas.
- 2.- Optimizar el proceso de bioadsorción de cromo (VI) incluyendo el efecto de otros factores en el medio.
- 3.- Evaluar además la capacidad de adsorción de las cepas bacterianas aisladas para los metales Plomo y Zinc que no cumplen con los valores establecidos por las Normas Cubanas de Vertimientos de Aguas Residuales a los Cuerpos Receptores: NC 27:1999, Clase (C) y NC 521:2007, Clase E.

BIBLIOGRAFÍA

- **Adriano D.C. 2001.** “Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risk of metals”. Springer Verlag. New York. USA. pp 867.
- **Aguirre K. 2002.** “Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Metodología del tratamiento”. Trabajo de Diploma. Universidad de Oriente.
- **APHA 1998.** “Standard Methods for the examination of water and wastewater”. 20th Edición. Ed. APHA. Washington D.C. USA. pp 1193.
- **Atlas R.; Bartha R. 2002.** “Ecología microbiana y microbiología ambiental”. 4ta. Edición. Ed. Pearson Educación S.A. Madrid. España. pp 696.
- **Bergey C. 1994.** Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition. Baltimore: Williams & Wilkins.
- **Barceló I. 2000.** “Estudio de la movilización de Ca, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn en sedimentos de la presa José Antonio Alzate en el Estado de México”. Tesis Doctor en Ingeniería-Ciencias del Agua. Universidad Autónoma del Estado de México. pp 132-140.
- **Bordons A.; Constantín, M. 1999.** “Introducción a la Biotecnología Ambiental”. Ed. Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Universidad Rovira y Virgili. Tarragona. España. pp. 111.
- **Buffle J. & Scott A.R. 1987.** Interpretation of Metal Complexation by heterogeneous Complexants in Aquatic Surface Chemistry: Chemical Processes at the Particle - Water Interface. Editado por W. Stumm. John Wiley & Sons.
- **Cardero K. 2008.** “Determinación de los Componentes Principales para la caracterización físico-química de las aguas residuales de La Planta Refinadora de Aceites Comestibles Eraso Santiago. Trabajo de Diploma. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba. Cuba. pp 48.
- **Carmona M.; Antunes M.; Ferreira S. 2004.** Biosorption of chromium using factorial experimental design. *Process biochemistry*. Vol 40 pp 779-788.

- **Carpenter S. R.; Caraco, N. F.; Correll D. L.; Howarth, R. W.; Sharpley, A. N. y Smith V. H. 1998.** "Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen". *Ecological Applications* 8. pp 559-568.
- **Catalán L. J. 1997.** "Contaminación física de las aguas". En: Contaminación e Ingeniería Ambiental, III. S. Ed. FLCYT, Oviedo.
- **Chang J.S, Law R & Chang C.C. 1997.** Biosorption of lead copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. *Water research*. 31:1651-1658.
- **Chang JS & Hong J. 1994.** Biosorption of mercury by inactivated cells of *Pseudomonas aeruginosa* PU21 (Rip64) CSU: Characterization and comparison studies. *Biotechnol Bioeng*. 44:999-1006.
- **Conesa V. 1995.** "Guía Metodológica para la Evaluación del Impacto Ambiental". 3ra Edición. Ed. Mundi- Prensa. pp 190-199.
- **CITMA. 2003.** "Convocatoria a Proyectos Territoriales de Ciencia y Técnica". Delegación Provincial del CITMA. Santiago de Cuba. Cuba
- **Delisle; Schmidt J W. 1977.** "The effects of sulphur on water and aquatic life". Ottawa, National Research Council of Canada.
- **Dreisbach R.; W Roberton. 1988.** Toxicología clínica, edit. El manual moderno S.A. - México.
- **Enkerlin H.; Cano G.; Garza A. 1997.** "Ciencia ambiental y desarrollo sostenible". pp. 373-379.
- **Falco L. y col. 2003.** A comparison of bioleaching of covellite using pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Hydrometallurgy*. 71:31-36.
- **Fernández V.C. 1997.** "Guía Metodológica para la Evaluación de Impacto Ambiental". 3ra Edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. pp 250.
- **Fernández J. M. 2005.** "Caracterización y evaluación de la Planta de Refinado de Aceites Comestibles ERASOL-SANTIAGO". Trabajo de Diploma. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba. Cuba. pp. 49.

- **Flores J. 1993.** “Contaminación del agua”. Reporte del CECODES Ambiental. Programa Control.
- **Gadd G.M. 2000.** Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology*. 11: 271-279.
- **Gadd G.M. 2004.** Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*. 122(2-4), 109-119.
- **Gardea-torresdey J.; González H. 1998.** Phytofiltration of hazardous cadmium, chromium, lead and zinc ions by biomasa of *Medicago savita*(alfafa). *J. Hazard. Mater.* 57: 29-30.
- **González A. 2006.** “Influencia del cierre de la Mina Grande del Cobre en la calidad de las aguas y sedimentos del río”. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Instituto Superior Politécnico José Antonio Echevarría. La Habana. pp 77.
- **Hursthouse A.S. 2001.** The relevance of speciation in the remediation of soils and sediments contaminated by metallic elements - an overview and examples from Central Scotland, UK. *Journal of Environmental Monitoring* 3(1), 49-60.
- **Hussein H., Farag S., Kandil K., Moawad H. 2005.** Tolerance and uptake of heavy metals by *Pseudomonads* *Process Biochemistry*. 40: 955–961.
- **Jianlong W.; Xinmin Z.; Decai D & Ding Z. 2001.** Bioadsorption of lead (II) from aqueous solution by fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Journal of Biotechnology*. 87:273-277.
- **Jong T.; Parry D. L. 2004.** Adsorption of Pb^{2+} , Cd, Zn, Ni, Fe y As on bacterially produce metal sulfides Edit. Elsevier, January.
- **Kalbitz K. & Wennrich R. 1998.** Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland spills and its dependence on dissolved organic matter. *The Science of the Total Environment*. 209:27-39.
- **Kim S; Ma H, Allen H & Cha D. 2002.** Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: effect of complexation kinetics. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21:275-280.

- **Laserna J. y Pérez D. 1994.** Temas Avanzados de Análisis Químico. Ed. Edinfor. España.
- **Lloyd J.R. 2001.** Microbial detoxification of metals and radionuclides, *Current Opinion in Biotechnology*. 12: 248-253.
- **Lloyd J.R.; Leang C.; Hodges M.; Allison L.; Coppi M.V.; Cuifo S.; Methe B.; Sandler S.J & Lovley D.R. 2003.** Biochemical and genetic characterization of PpcA, a periplasmic c-type cytochrome in *Geobacter sulfurreducens*. *Biochemical Journal*. 369(1), 153-161.
- **López C.; Pérez N.; Guerra A. M.; Marañón A.; Cumbá Y. 2002.** “Influencia del Embalse Parada en la calidad de las aguas del río Cobre”. *Revista Cubana de Química*. XIV(3):24-33.
- **López J. 2000.** “Revista Técnica de Laboratorio”. Ed. Aqua Técnica S.A. Valencia. Espana. Tomo II. No 191.
- **Madigan M.T; Martinko J.M & Parker J. 2000.** Microbial Ecology en Brock, Biology of Microorganisms, Ninth Edition, Prentice Hall, N.J., pp: 642-719.
- **Maier R.; Piper, I.; Gerba, Ch. 2000.** “Envieronmental Microbiology”. Cap. 21. Ed. Academic Press. USA. pp 585.
- **Manahan S. 2001.** "Fundamentals of Enviromental Chemistry". CRC Press 2nd Edition, USA.
- **Maskew G.; Gayer J.Y.; Okun D. 1992.** Ingeniería Sanitaria y aguas residuales Ed. Limusa, grupo Noriego, Vol. 3.
- **Milán J. A. 2004.** “Curso de estudio y evaluación de Impacto Ambiental”. Universidad Nacional de Arquitectura. Ed. UNI. Nicaragua. pp 20-30.
- **Milanés B. 2003.** Análisis de fuentes contaminantes en la bahía de Santiago de Cuba. Infogest.
- **Norma ISO 5667-1.** “Calidad del agua muestreo”. Guía para el diseño de programas de muestreo. Parte 1. pp 22.
- **Norma ISO 5667-3.** “Calidad del agua muestreo”. Guía para la preservación y manipulación de Muestra. Parte 3. pp. 17.
- **Norma ISO 5667-10.** “Calidad del agua muestreo”. Guía para el muestreo de aguas residuales. Parte 10. pp 10.

- **Norma Cubana NC 27:1999.** “Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y Alcantarillados. Especificaciones”. Oficina Nacional de Normalización. La Habana. Cuba. pp. 14.
- **Norma Cubana NC 521:2007.** “Vertimiento de aguas residuales a la zona costera y aguas marinas. Especificaciones”. Oficina Nacional de Normalización. La Habana. Cuba. pp 14.
- **Orozco C.; Pérez, A.; González M.; Rodríguez F. y Alfayate J. 2004.** “Contaminación ambiental: una visión desde la Química”. 1ra Edición. Ed. Paraninfo S. A. España. pp. 590.
- **Pérez N.; Marañón A.; Ábalos A. 2002.** “Caracterización de las aguas residuales de la Refinería Hermanos Díaz. Revista Cubana de Química, XVI(1):53-60.
- **Pérez R.M.; Abalos A.; Gómez J.M; Cantero D. 2009.** Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum. Bioresource Technology 100:1533-1538.
- **Quer-Brossa S. 1983.** Toxicología Industrial. Edit. Salvat S.A. Barcelona. España.
- **Ramalho R. S. 1993.** Tratamiento de aguas residuales. Ed. Reverté. S.A.
- **Rawlings D.E. 2002.** Heavy metals mining using microbes. *Annu. Rev. Microbiol.* 56:65-91.
- **Romero J. y col. 2000.** Biosorción de cobre (II) por biomasa de Agave Tequilaza weber (Agave Azul). Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Química. México.
- **Sag Y.; Kutsal T. 1996.** Fully competitive biosorption of chromium (VI) and iron (III) ions from binary metal mixtures by *R. Arrhizus*: use of the competitive Langmuir model. *Process Biochem.* 29 pp 1-5.
- **Salomons y Fröstner U. 1995.** Metals in the hydrocycle, Springer-Verlag. New York Berlin Heidelberg. pp 349
- **Skoog D. A.; Holler, F.G.; Nicman 2005.** “Principios del Análisis Instrumental”. 5ta Edición. Ed. McGraw Hill. USA. pp. 1028.

- **Taniguchi J.; Hemmi H.; Tanahashi K.; Amano N.; Nakayama T. & Nishino T. 2000.** Zinc biosorption by a zinc-resistant bacterium, *Brevibacterium* sp. strain HZM-1. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 54(4):581-588.
- **Téllez M.; Carvajal R.; M. Roxs M.; 2004.** Aspectos Toxicológicos Relacionados Con La Utilización Del Cromo En El Proceso Productivo De Curtiembres. *Rev. Fac. Med. Univ. Nac. Colombia* 52(1).
- **Theopold K.H. 1997.** Chromium: Inorganic and coordination chemistry *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*. Bruce King Ed. 2(1):666-678.
- **Tobin J.; Roux C. 1998.** *Mucor* biosorbent for chromium removal from tanning effluent. *Water Res.* 32, pp. 1407-1416.
- **Tsezos M. 1985.** The selective extraction of metals from solution by microorganisms. A brief overview. *Canadian Metallurgical Quarterly*. 24(2):141-4.
- **Valls M & Lorenzo V. 2002.** Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiol. Rev.* 26(4):327-338.
- **Villaescusa M.; Martínez N.; Miralles M. 2000.** *J.Chem. Technol.Biotechnol.* 75(9) 812-816.
- **Volesky B. 1990.** *Biosorption of Heavy Metals*, CRC Press.
- **Vullo D.; Ceretti H.; Hughes E.; Ramírez S. & Zalts A. 2005.** Indigenous Heavy Metal Multiresistant Microbiota of Las Catonas Stream. *Environmental Monitoring and Assessment*. 17(1-3): 81-97.
- **Vullo D.L. 2003.** Microorganismos y Metales Pesados: Una Interacción En Beneficio Del Medio Ambiente. *Revista Química Viva*. 3(2): 47-56.
- **Wang C.L; Michels P.C; Dawson S.C; Kitisakkul S.; Baross J.A; Keasling J.D & Clark D.S. 1997.** Cadmium Removal by a new strain of *Pseudomonas aeruginosa* in Aerobic Culture. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(10): 4075-4078.

Sitios Web visitados:

- <http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol9/01/03/revisiones/r2v90103.htm>
- [http://www.ecoclimatico.com/archives/danos-para-la-salud-causados-por-metales pesados](http://www.ecoclimatico.com/archives/danos-para-la-salud-causados-por-metales_pesados), 2009.
- <http://www.santiago.cu/cienciapc/numeros/2003/5/pdfs/bahia.PDF>
- [http:// www.ambientum.com/revistanueva/2002/index.asp](http://www.ambientum.com/revistanueva/2002/index.asp), 2009.