



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

COLEGIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS POR BACTERIAS
PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL.**

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:

Licenciatura en Ingeniería Ambiental

Presenta:

BLANCA ISABEL TORREBLANCA HERNÁNDEZ

Director de Tesis:

DR. JOSÉ CARLOS MENDOZA HERNÁNDEZ



Puebla Pue., Diciembre 2016

INDICE

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
2. JUSTIFICACIÓN.....	5
3. OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
4. HIPÓTESIS.....	6
5. capítulo 1. ANTECEDENTES.....	7
6. MARCO TEÓRICO.....	9
6.1. Minería en México.....	9
6.2. Definición de suelo.....	10
6.3. pH.....	12
6.4. Metales pesados.....	13
6.5. Toxicidad de metales pesados.....	14
6.6. Generalidad de los metales pesados estudiados.....	15
6.6.1. Plomo.....	15
6.6.2. Arsénico.....	16
6.6.3. Cobre.....	17
6.6.4. Níquel.....	18
6.7. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	19
6.8. Biorremediación microbiana.....	21

6.9. Biosorción.....	21
6.10. Isotermas de adsorción.....	22
7. CAPITULO II. METODOLOGÍA	24
Preparación del inóculo bacteriano.....	24
Influencia del pH en la biosorción de metales	24
Proceso de Adsorción	25
8. CAPITULO III. Resultados.....	26
9. Conclusion.....	39
10. BIBLIOGRAFÍA.....	40

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En México la minería es una de las principales actividades económicas de mayor tradición, la cual se ha desarrollado por casi cinco siglos, por lo que existe una gran acumulación de residuos mineros (jales) que se han producido durante todo ese tiempo (Moreno 1998). Las minas se encuentran ubicadas en su gran mayoría en la parte norte y central del país. El desarrollo minero en nuestro país y a la falta de normatividad sobre sus residuos, previo a 1990 y a su falta de control en las operaciones, ha conllevado a la generación de una gran cantidad de desechos y sitios contaminados por décadas a lo largo de todo el país.

Uno de los estados más importantes dentro de la industria minera es el estado de Hidalgo el cual ocupa actualmente el tercer lugar en la producción de oro, plata, plomo, zinc y magnesio.

El beneficio de minerales, como parte de las actividades de la minería metálica provoca problemas como la producción de sulfatos y residuos ácidos o de metales pesados. El cambio de estado de oxidación y el pH pueden incrementar o disminuir el riesgo potencial de biodisponibilidad de un metal en el suelo, afectar la fertilidad y/o uso posterior de los mismos, mientras que, en el caso de cuerpos de agua, pueden afectar seriamente su uso para el consumo humano (Volke., *et al.*,2004)

Sin embargo, la actividad de extraer los minerales produce residuos. A estos residuos, producto de la trituración y molienda del mineral, una vez que se han recuperado los metales comerciales se les nombra jales mineros, su constitución es muy variada en su naturaleza tanto química como mineralógica (Mendel Reyes., *et al.* 2008)

Estos jales se caracterizan por contar con una extensa y diversa cantidad de minerales entre los que principalmente se destacan silicatos, óxidos, hidróxidos, sulfuros y sulfatos (Santos Jallath, *et al.*, 2012).

2. JUSTIFICACIÓN

Debido principalmente a la cantidad de suelo involucrado, como sucede en los desechos mineros, y al aumento constante de los sitios contaminados. De esta manera, es importante encontrar opciones biotecnológicas de remediación de bajo costo.

Una de las estrategias emergentes es el uso de tecnologías que usan las plantas como extractoras, mitigadoras y estabilizadoras de los contaminantes (fitorremediación) o que estabilizan y recuperan la productividad del suelo (reforestación) (Cunningham., *et al.*, 1995; McCutcheon, Schnoor 2003). Los beneficios que presenta la fitorremediación involucran, entre otros, crear suelo más sano, promover y sostener comunidades bacterianas esenciales para una biorremediación a largo plazo y en últimas, mejorar el paisaje.

Las interacciones entre los microorganismos-metales han sido estudiadas en los últimos años ya que poseen un potencial en que los microorganismos tienen como atenuadores de la contaminación en suelos, estos tienen la capacidad de modificar la composición de los elementos por ejemplo llevándolos de un estado soluble a insoluble o viceversa (Hullebusch., *et al.*, 2005). Algunos microorganismos realizan actividades más específicas como las bacterias promotoras del crecimiento vegetal que presentan la capacidad de biosorción de metales pesados y además estimulan el crecimiento de las plantas mediante procesos de fijación de minerales y solubilización de nutrientes, lo que los hace ser un sistema potencial para los sistemas de fitorremediación.

3. OBJETIVO GENENRAL

Analizar la biosorción de elementos potencialmente tóxicos por bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Analizar el efecto del pH en la biosorción de metales (Pb, As, Ni, Cu) por las bacterias (*Serratia Mc119*, *Serratia K120*, *Enterobacter N9*, *Enterobacter K131*, *E.coli N16*)

-Analizar la biosorción de metales (Pb, As, Ni, Cu) por las bacterias (*Serratia Mc119*, *Serratia K120*, *Enterobacter N9*, *Enterobacter K131*, *E.coli N16*)

-Determinar las isotermas de biosorción de metales (Pb, As, Ni, Cu) con las bacterias (*Serratia Mc119*, *Serratia K120*, *Enterobacter N9*, *Enterobacter K131*, *E.coli N16*)

4. HIPÓTESIS

H₀ Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal no influyen la biosorción de los elementos potencialmente tóxicos existentes en los jales de minas.

H₁ Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal influyen la biosorción de los elementos potencialmente tóxicos existentes en los jales de minas.

5. CAPITULO 1. ANTECEDENTES

TECNOLOGÍAS DE REMEDIACIÓN

El término tecnología de tratamiento implica cualquier operación unitaria que altera la composición de un contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (EPA 2001). Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de desechos peligrosos que no han sido tratados, y sus capacidades o posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente. El uso de una tecnología de remediación en particular depende, además de los factores específicos del sitio y de las propiedades fisicoquímicas del contaminante, de su disponibilidad, de la fiabilidad demostrada o proyectada, de su estado de y de su costo (Sellers 1999).

TECNOLOGÍAS DE REMEDIACIÓN BIOLÓGICAS.

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren *et al.*, 1997).

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio contaminado o de otros sitios, puede realizarse in situ o ex situ. (Eweis *et al.*, 1998). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo, solventes, explosivos,

metales, conservadores de madera e hidrocarburos aromáticos policíclicos (Van Deuren *et al.*, 1997, Semple *et al.*, 2001).

Tecnologías in situ

Las técnicas in situ buscan estimular y crear un ambiente favorable para el crecimiento microbiano a partir de los contaminantes. Este objetivo generalmente puede lograrse con el suministro de aire u oxígeno (bioventeo), nutrientes (bioestimulación), microorganismos (bioaumentación) y/o humedad, además del control de temperatura y pH (EPA 2001)

Con el objetivo de establecer técnicas de mejoramiento de suelos que sean lo menos invasivas posibles, que generen mayor costo-beneficio, y mejor efecto restaurador en la estructura y funcionamiento del suelo (Ullah A., *et al.*, 2015), se ha propuesto la fitorremediación, la cual comparada con las técnicas convencionales, representa un costo entre 10 y 1000 veces menor (Kidd P., *et al.*, 2009). Esto se debe a que la fitorremediación es un proceso natural, ya que utiliza plantas y sus microorganismos asociados para remover o estabilizar contaminantes, y al mismo tiempo provee al sitio de otras ventajas, como una cobertura vegetal que lo protege de erosión por aire y agua, también reduce la percolación y lixiviación de los contaminantes.

El reto al intentar implementar este tipo de medidas de remediación consiste en la naturaleza de los suelos, pues representan un ambiente hostil para las plantas por la combinación de factores como la toxicidad de los metales, el pH ácido, la inadecuada consistencia del suelo, la baja cantidad de nutrientes y el estado de estrés en el que se encuentran las comunidades microbianas (Grandlic C., *et al.*, 2009). Por tal razón se buscan estrategias que permitan mejorar las posibilidades de éxito de la fitorremediación analizando las variables que envuelven la relación microorganismo-planta.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Minería en México

México es uno de los países de Latinoamérica que se encuentra localizado en una región volcánica rica en minerales. (Volke., *et al.*, 2005).

La minería en México tiene una larga historia, si se considera que aun antes de la época prehispánica los seres humanos ya realizaban actividades mineras y metalúrgicas utilizando estos recursos para su desarrollo, en la excavación de minas, la remoción de minerales, su proceso y la extracción de metales puede causar daños ambientales y destruir un ecosistema.

El impacto de la minería sobre el ambiente y la salud se relaciona con la composición del mineral, el tipo de explotación, el proceso de beneficio y las características de cada mina. Actualmente, la posición de la minería dentro de las industrias de sector primario es significativa aun cuando enfrenta problemas de mercado (Coremi, 1994; Gutiérrez, 2003).

La explotación minera del país se realiza en dos modalidades las cuales son explotación de metales y explotación de piedras preciosas y minerales industriales.

Los elementos potencialmente tóxicos más comunes derivados de estos procesos en el caso de México son Pb, Zn, Cd, Se, Cu, Hg, As, Se, Ni. (Gutiérrez y Moreno, 1997; Gutiérrez 2003).

Uno de los estados que se ha distinguido por ocupar un lugar importante dentro de la industria minera y que cuenta con una sustancial producción y extracción de minerales, es el estado de Hidalgo; actualmente ocupa el tercer lugar en la producción de cadmio y en menor proporción de oro, plata, plomo, zinc y magnesio, dicho estado cuenta con un historial de 500 años de tradición minería (Servicio Geológico Mexicano, 2011).

6.2. Definición de suelo.

La actividad de extraer los minerales produce residuos y a estos residuos que son producto de la trituración y molienda del mineral, una vez que se han recuperado los metales comerciales se les nombra jales mineros, su constitución es muy variada en su naturaleza tanto química como mineralógica. (Mendel Reyes., *et al.* 2008).

Los jales mineros se caracterizan por contar con una extensa y diversa cantidad de minerales entre los que principalmente se destacan silicatos, óxidos, hidróxidos, sulfuros y sulfatos. (Santos Jallath., *et al.*, 2012).

Debido a que los jales se encuentran expuestos a la intemperie, los minerales que los constituyen están sometidos continuamente a una serie de cambios físico-químicos, como reacciones de óxido-reducción, de ácido base, hidrólisis, adsorción-desorción, etc., dando como resultado una alteración en la movilidad, biodisponibilidad y toxicidad de los metales contenidos, derivando en su liberación y consecuente acumulación (Ramos Gómez, *et al.*, 2012).

Todo esto representa un enorme inconveniente ya que los metales pesados que se almacenan en los jales son sustancias altamente tóxicas, no biodegradables. El problema radica en que estos metales son muy resistentes a una descomposición química y provoca que sean productos peligrosos para los organismos; ya que una vez liberados bajo condiciones determinadas producen un impacto ambiental en función de la cuantía y el tipo de metales; lo cual da como resultado una severa contaminación ambiental de tipo permanente y consecuencia de ello un riesgo para la salud. Por lo que el trabajo de fitoestabilización de los metales con las interacciones microorganismo-planta es de suma importancia en este tipo de residuos ya que es necesario disminuir el impacto negativo de la presencia de metales.

De acuerdo a las regulaciones internacionales y nacionales (NOM-141-SEMARNAT-2003), la peligrosidad de los jales está en función de:

1. Su capacidad de generación de acidez.

2. Su contenido de constituyentes tóxicos fácilmente solubles o disponibles. La disponibilidad de los metales y metaloides tóxicos que contienen los jales depende principalmente de (i) pH, (ii) potencial de óxido-reducción. (iii) actividad bacteriana, (iv) composición química y mineralógica original, (v) condiciones climáticas de la región donde se ubiquen. Estos factores determinan el desarrollo y velocidad de procesos físicos y químicos que influyen en la liberación y retención de los metales y metaloides tóxicos (Armienta., *et al.*, 2005).

6.3. pH

Es uno de los parámetros que más influencia tienen en los procesos y en la movilidad de los metales. En general los suelos de pH más básicos presentan adsorción más fuerte para los metales pesados que los de pH más ácidos (Gerriste y Van Driel, 1984; Naidu y Col., 1994).

La influencia del pH se pone de manifiesto al estudiar los procesos de lixiviación en jales mineros, observando un decremento marcado en la movilidad del metal al incrementar los valores de pH y la solubilización de los mismos en condiciones ácidas. Lo anterior es de gran importancia dado el proceso de generación de drenaje ácido que se presenta en jales mineros, producto de la oxidación de los minerales presentes resultando en efluentes con pH muy ácidos.

El pH se considera el factor dominante en el comportamiento de metales, ya que afecta a la carga de superficie de las arcillas, la materia orgánica y los óxidos de Fe y Al e influye en la complejación de los metales con la materia orgánica, en las reacciones de precipitación, disolución, reacciones redox y dispersión de coloides. Un incremento de pH provoca un incremento de la adsorción y retención de cationes, con un máximo en torno a la neutralidad (Evans et al., 1995). Excepciones son el Mo, V, Cr (III) y metaloides como el As y el Se, comúnmente menos móviles bajo condiciones ácidas (Adriano, 2001).

En el caso del Cd, el incremento de la solubilidad con el descenso del pH comienza a un pH de 6,5. En el Pb y Hg comienza a valores de pH 4, mientras que otros elementos como As, Cr, Ni y Cu comienza a solubilizarse a pH entre esos dos valores extremos (Scheffer & Schachtschabel, 1989).

6.4. Metales pesados

Los metales pesados son aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/ cm^3 cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20, una gran concentración en el ambiente puede causar daños en la salud de las personas.

Algunos metales son indispensables en bajas concentraciones, ya que forman parte de sistemas enzimáticos, como el cobalto, zinc, molibdeno, o como el hierro que forma parte de la hemoglobina. Su ausencia causa enfermedades, su exceso intoxicaciones.

El desarrollo tecnológico, el consumo masivo e indiscriminado y la producción de desechos principalmente urbanos, ha provocado la presencia de metales en cantidades importantes en el ambiente, causando diversos efectos sobre la salud y el equilibrio de los ecosistemas. Se incorporan con los alimentos o como partículas que se respiran y se van acumulando en el organismo, hasta llegar a límites de toxicidad. Si la incorporación es lenta se producen intoxicaciones crónicas, que dañan los tejidos u órganos. (FERGUSSON, J.F., 1990. The heavy Elements. Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. Pergamon Press).

Debido a que en México no existen normas específicas para metales pesados en jales, se emplean los conceptos definidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece los criterios para determinar las concentraciones máximas permitidas en suelos contaminados con arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio.

En la siguiente tabla (1) se muestran los límites de algunos elementos potencialmente tóxicos establecidos en la citada norma.

Se observa que los jales de Zimapán contienen elevadas concentraciones de arsénico, plomo y cadmio, algunas de las cuales superan los límites propuestos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

Tabla 1. Contenido de elementos potencialmente tóxicos en muestras de jales procedentes de Zimapán, Hidalgo, y comparación con los límites máximos permisibles establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

Elemento	Uso agrícola / residencial	Uso industrial	Muestra compuesta 1	Muestra compuesta 2
Plomo	400	750	1595.6	37616.9
Arsénico	20	260	21948.7	35616.9

Nota: Todos los resultados están referidos en miligramos del contaminante por kilogramo de jales base seca. Valores establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

6.5. Toxicidad de metales pesados

Aunque los metales pesados se encuentran en la naturaleza, la actividad humana, los procesos industriales, son la mayor fuente de contaminación (Sandstead, 1995; Barman y Bhargava, 1997; Ballester., *et al.*, 1999). Aunque una fuente importante de exposición a los metales es la de carácter laboral, la gran difusión de estos elementos hace que la población general esté expuesta a través de diferentes fuentes como pueden ser el agua, el aire, el suelo y/o los diferentes grupos de alimentos, siendo esta ingesta alimentaria la vía principal de exposición para la población general (Bargagli y cols., 1997; Barman y Bhargava, 1997; Spevackova., *et al.*, 1997; Almela., *et al.*, 2002).

Los metales son causantes en muchas ocasiones de los grandes síndromes tóxicos, siendo el caso del coma producido por el plomo, arsénico o mercurio. Las neuropatías periféricas pueden ser provocadas por plomo, arsénico o talio. En el síndrome hematológico se puede mencionar la anemia por el plomo. En cuanto al síndrome nefrótico, puede ser provocado por el cadmio, el plomo o el mercurio. En el aparato respiratorio, el cadmio puede provocar enfisema, y el arsénico, cáncer de pulmón. (Franco-Vega., *et al.*, 1994; Kucera., *et al.*, 1995; Grandjean y Weihe, 1998; Fredriksson., *et al.*, 1999).

6.6. Generalidad de los metales pesados estudiados

6.6.1. Plomo

Es un metal gris azulado que se presenta en forma natural y en pequeñas cantidades (0.002%) en la corteza terrestre. Generalmente se obtiene a partir de la galena (PbS), la anglesita (PbSO₄) y la cerusita (PbCO₃). El uso más amplio del Pb elemental es para la fabricación de acumuladores; también se emplea en la fabricación de tetra-etilo de plomo, pinturas, cerámicas, forros para cables, elementos de construcción, vidrios especiales, pigmentos, soldadura suave y municiones (Volke-Sepúlveda., *et al.*, 2005). En el suelo el Pb, se encuentra principalmente en forma de Pb²⁺, aunque también se conoce su estado de oxidación Pb⁴⁺. Algunos de los compuestos insolubles son Pb(OH)₂, PbCO₃, PbS, PbSO₄. El carbonato de plomo, formado a pH menor a 6 y el PbS son las formas sólidas más estables del plomo. La velocidad de oxidación del plomo depende de factores como la humedad, la temperatura, el pH, el potencial redox, la cantidad de materia orgánica (Guitart, 2005).

En los seres humanos, el Pb es un elemento que no cumple una función vital en el organismo y que resulta tóxico, incluso en pequeñas dosis. Puede afectar a casi todos los órganos y sistemas en el ser humano. El más sensible es el sistema nervioso, tanto en niños como en adultos.

Los efectos del plomo en la salud de los niños pueden incluir problemas de comportamiento y de aprendizaje (hiperactividad), crecimiento atrasado, problemas auditivos, dolores de cabeza y daño al cerebro y al sistema nervioso central. Los adultos expuestos al plomo pueden sufrir de problemas reproductivos, presión sanguínea alta, trastornos digestivos, dolor en los músculos y en las coyunturas, problemas de memoria y de concentración y trastornos nerviosos (Thomas D Matte, 2003).

6.6.2. Arsénico

El arsénico es un elemento metálico, gris, acerado de símbolo As, número atómico 33, peso atómico 74.9 el cual se encuentra distribuido en la naturaleza, está presente en cantidades bastante abundantes en la corteza terrestre y principalmente en los minerales sulfurosos, se le encuentra natural como mineral de cobalto, aunque por lo general está en la superficie de las rocas combinado con azufre o metales como Mn, Fe, Co, Ni, Ag o Sn.

Las principales actividades humanas fuentes de As son la minería, la siderurgia, la agricultura, la silvicultura, las plantas de tratamiento de combustibles fósiles, los desechos urbanos y la ganadería (Adriano, 2001; Cullen y Reimer, 1989; Fitz y Wenzel, 2002).

El arsénico se puede encontrar en diferentes estados de oxidación: arseniato As (V), arsenito As (III), As elemental (0) y arseniuro As (-III) (Tsai., *et al.*, 2009) encontrándose más frecuentemente como arsenito o arseniato. El arsenito es 70 veces más tóxico que las especies metiladas y 10 veces más tóxico que el arseniato, el cual es poco soluble en agua y por tanto, menos biodisponible (Kumaresan, y Riyazuddin. 2001).

Cuando el arsénico se encuentra en formas insolubles, como un mineral en combinación con sulfuro como el trisulfuro de arsénico As_2S_3 y Arsenopirita (FeAsS) el cual se utiliza en aleaciones con el fin de aumentar su dureza y resistencia al calor, como en las aleaciones con plomo para la fabricación de municiones y de baterías de polarización. También se utiliza para la fabricación de ciertos tipos de vidrio, como componente de dispositivos eléctricos y como agente de adulteración en los productos de germanio y silicio en estado sólido (Gunnar Nordberg, 2000, Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo, Metales: propiedades químicas y toxicidad).

En cambio, cuando se encuentra en formas solubles, como As (III) y As (V), es tóxico para los organismos vivos (Santini., *et al.*, 2000).

La presencia de As (V) y As (III) depende de factores físicos, químicos y biológicos, en este último, los microorganismos juegan un papel fundamental, ya que muchas bacterias son capaces de transformar As (III) a As (V) y viceversa, como un mecanismo de defensa de algunas especies bacterianas (Macur., *et al.*, 2004; Stolz *et al.*, 2010).

6.6.3. Cobre

Es un elemento químico, con número atómico 29; es uno de los metales de transición e importante metal no ferroso. Su utilidad se debe a la combinación de sus propiedades químicas, físicas y mecánicas, así como a sus propiedades eléctricas y su abundancia, entre las que destacan, conductividad eléctrica, la ductilidad, la utilización del mismo en diversos compuestos de interés industrial y su resistencia a la corrosión.

El cobre es de los elementos más abundantes en la corteza terrestre, está considerado entre los más móviles de los metales pesados en varios procesos, aunque también es un elemento traza muy versátil en suelos, interactúa químicamente con minerales y compuestos orgánicos del suelo. Es un elemento esencial para los organismos, siendo tóxico a elevadas concentraciones.

Las principales fuentes de contaminación son: las minas, fábricas de plásticos, lodos residuales, etc. (Biswas K. A. Davenport G. W. "El Cobre Metalurgia extractiva", Ed. Limusa, 1993)

Los iones de cobre precipitan fácilmente con aniones como sulfuros, carbonatos e hidróxidos y estos forman diferentes compuestos en los que se encuentran: la calcopirita (CuFeS_2), la calcosina (CuS), bornita ($2\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2$), tenorita (CuO) y atacamita ($\text{CuCl}_3 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2$). (Aller, 1989)

El Cobre en los suelos puede encontrarse adsorbido en diferentes fracciones y asociado con diversos minerales, dependiendo del pH y en la solución del suelo; enlazado a compuestos orgánicos e inorgánicos. Minerales como los hidróxidos de Fe y Al, carbonatos, fosfatos y arcillas tienen una afinidad para enlazar parte del cobre de los suelos en formas no difusibles; al mismo tiempo, la fijación microbiana juega un papel importante en la inmovilización

6.6.4. Níquel

El Níquel como elemento químico, tiene número atómico 28, su principal estado de oxidación es +2. La distribución del Níquel en la corteza terrestre es muy similar a la familia del Hierro (Fe), que incluye al Cobalto (Co), ambos de característica geológica del tipo siderofílica, por lo que se combina fácilmente con el Fe metálico. En el suelo, el Níquel se presenta con facilidad en forma de compuestos de sulfuro, carbonatos, fosfatos, silicatos. (Kabata-Pendias, A. y Mukherjee, A. B. Trace Elements from Soil to Human. edit. Springer Berlin Heidelberg, 2007).

El Níquel es muy móvil durante los procesos de intemperismo y precipita principalmente con los óxidos de hierro y manganeso, sus concentraciones disminuyen con el aumento de la acidez de las rocas hasta un valor de 5 a 15 ppm, siendo el rango más alto para rocas arcillosas y el más bajo para areniscas. En los suelos este elemento se encuentra asociado con los óxidos de Fe y Mn, sin embargo para la mayoría de los suelos menos del 15% al 30% del Níquel total es extraído con los óxidos de Mn. (Norrish, 1975)

Contenido de elementos potencialmente tóxicos Debido a que en México no existen normas específicas para metales pesados en jales, en este trabajo se emplearon los conceptos definidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece los criterios para determinar las concentraciones máximas permitidas en suelos contaminados con arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio.

6.7. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

El término de bacterias promotoras de crecimiento vegetal PGPB por sus siglas en inglés (Plant Growth Promoting Bacteria) fue acuñado por Joe Kloepper en 1980, en la Universidad de Auburn de Estados Unidos de América, haciendo referencia a un grupo de microorganismos benéficos para el desarrollo de las plantas los cuales se pueden encontrar o no asociadas a diversos tejidos vegetales (Tenuta, 2005).

Existen numerosas evidencias en la literatura que indican que la utilización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal puede tener un rol significativo en la sustentabilidad de los agro ecosistemas (Reed y Glick, 2004; Antoun y Prevost, 2006). En la rizósfera la interacción entre microorganismos y plantas puede ser benéfico, neutral variable o perjudicial para el crecimiento de las plantas.

Constantemente la microflora es sometida a excesivas modificaciones por parte de la dinámica ambiental incluyendo la limitación de nutrientes, la escasez de agua, la exposición a altas temperaturas, acidez, el incremento en la concentración de metales pesados, la alta osmolaridad y salinidad (Abd-Alla y AbdelWahab, 1995). Para la modulación y restauración de estas condiciones adversas los microorganismos tienen amplios mecanismos de los cuales se valen para la alteración de diferentes patrones de genes, actividad enzimática y transporte de proteínas que les permite hacer frente a todas estas nuevas condiciones ambientales (Omar y Abd-Alla, 1992; Abd-Alla, 1994; El-Enany y Abd-Alla, 1995).

Diversas asociaciones entre planta y bacterias pueden impactar positivamente en la salud y bienestar de la planta. (Young Cheol., *et al.*, 2011; Dorothea G, *et al.* 2012) estas bacterias se encuentran en la rizosfera en asociación con raíces (Registeri., *et al.*, 2012) y pueden promover directa: producción de fitohormonas (Yoav Basan *et al.* 2009) el incremento de nutrientes y la disponibilidad de la planta para solubilizar fosfato inorgánico, fijar el nitrógeno atmosférico (Dorothea G *et al.* 2012) e indirectamente: suprimiendo a los patógenos e induciendo a la provocación de resistencia sistémica.

Estos factores pueden ayudar al crecimiento de las plantas (AJay Kumar., *et al.*, 2012), son llamadas bacterias promotoras de crecimiento vegetal (H. Karlidag), *Burkholderia Pseudomonas, Azospirillum, Azotobacter, Klebsiella, Enterobacter, Alcaligenes, Arthrobacter, Bacillus Rhizobium* y *Serratia*, son ejemplo de dichas bacterias (AJay Kumar ., *et al.*, 2012), se han hecho diversos estudios para la remediación de suelos contaminados con metales pesados usando técnicas químicas, físicas y biológicas (Koo, So-Yeon., *et al.*, 2009).

6.8. Biorremediación microbiana.

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y pueden tolerar los metales. Los primeros se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, e inducidos por la presencia de un metal. Ambos tipos de microorganismos son de particular interés como captadores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes de una matriz contaminada. Con base en estos mecanismos las estrategias biológicas para la remoción o inmovilización de contaminantes inorgánicos presentes en una matriz como el suelo, una de las cuales puede dividirse es la biosorción.

6.9. Biosorción

La biosorción es una propiedad general de la biomasa viva y muerta para unir rápidamente y concentrar abióticamente compuestos inorgánicos u orgánicos de soluciones acuosas incluso muy diluidas. Como término específico, la biosorción se usa para representar un método que utiliza materiales de biosorbentes de origen biológico formulados a partir de biomasa no viva para la eliminación de sustancias diana de soluciones acuosas. La biosorción "tradicionalmente" abarca el secuestro de metales pesados, así como elementos de tierras raras y radionucleidos o metaloides, pero la investigación y aplicaciones extendidas a la eliminación de sustancias orgánicas, a saber, tintes y biosorción se está proponiendo para la recuperación de proteínas de alto valor, esteroides farmacéuticos y drogas (Volesky 2007).

Es la separación pasiva de metales y metaloides por interacciones con material biológico vivo o muerto y es, hasta ahora el acercamiento más práctico y ampliamente usado para la biorremediación de metales. (Barkay y Schaefer, 2001)

Implica mecanismos fisicoquímicos por los que las especies metálicas son sorbidas y/o acomplejadas en biomasa o productos microbianos (Gadd, 2000).

Los procesos de biosorción son, esencialmente, pseudo-procesos de intercambio iónico, en los cuales los iones metálicos son intercambiados hacia componentes de carga opuesta unidos a la biomasa o a una resina. En general, dependen del pH y de las características el metal. (Eccles, 1999).

6.10. Isotermas de adsorción

Modelado de las isotermas de biosorción

El modelado del proceso de biosorción es primordial para su mejor comprensión y útil para predecir el desempeño del proceso para diferentes condiciones. Uno de los procesos más importantes para describir los procesos de adsorción es el modelo de las isotermas de adsorción de Langmuir y Freundlich. Estos modelos utilizan parámetros que reflejan, evalúan la naturaleza del biosorbente y son de gran utilidad para poder comparar el rendimiento del proceso de bioadsorción.

El modelo de Langmuir asume que todos los sitios de sorción son idénticos, que cada sitio retiene una molécula y que todos los sitios son energética y estéricamente independientes de la cantidad de soluto adsorbido.

La expresión matemática del modelo se representa mediante la siguiente ecuación:

$$q_e = \frac{Q_0 b C_e}{1 + b C_e}$$

q_e : Capacidad de porción en el equilibrio (mg g⁻¹)

Q_0 : Capacidad de sorción de la monocapa saturada(mg g⁻¹)

C_e : Concentración del sorbato en equilibrio (mg L⁻¹)

b : Constante de equilibrio relacionada a la energía de sorción (L mg⁻¹)

7. CAPITULO II. METODOLOGÍA

Las bacterias fueron aisladas de la rizósfera de jales de minas de Zimapán Hidalgo y caracterizadas bioquímicamente como promotoras del crecimiento vegetal cumpliendo los siguientes parámetros: solubilización de fosfatos, producción de sideróforos, producción de AIA y de la actividad enzimática ACC desaminasa.

Preparación del inóculo bacteriano.

Las 5 cepas bacterianas (nombres de las bacterias) que se seleccionaron previamente se crecieron en tubos con 5 ml de caldo Luria Bertani (LB) a 30°C durante 24 h a 800 rpm. Las bacterias se separaron mediante centrifugación a 10,000 rpm durante 10 minutos.

Influencia del pH en la biosorción de metales

En 20 mL de caldo LB conteniendo 50 ppm de cada uno de los elementos potencialmente tóxicos a probar (Cu, Pb, Ni y As) a los pH de 2 a 7, con 20 mg de biomasa bacteriana seca de las diferentes cepas se incubaron a 30°C, 800 rpm durante 24 horas.

Una vez transcurrido el tiempo las bacterias se separaron por centrifugación a 11 000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se usó para determinar la concentración de metales mediante Absorción Atómica y el pH adecuado en la biosorción de los elementos potencialmente tóxicos.

Proceso de Adsorción

En 50 mL de caldo LB conteniendo 50 ppm del elemento potencialmente tóxico a probar (Cu, Pb, Ni y As) y pH 6.0 se colocaron 20 mg de biomasa bacteriana seca y se puso a incubar a 30°C y 800 rpm. Cada 5 minutos se toma una alícuota de 3 mL, hasta los 60 minutos y posteriormente las últimas 3 muestra fueron cada 20 minutos.

Cada muestra se centrifugó a 11,000 rpm durante 10 minutos para separar las bacterias. El sobrenadante se usó para medir las concentraciones de los elementos potencialmente tóxicos mediante Absorción Atómica.

8. CAPITULO III. RESULTADOS

En la determinación del efecto del pH en la biosorción de As se encontró que en la bacteria *Serratia* k120 adsorbió la mayor concentración de metal a pH 6.0 seguido de pH 7.0, pH 3.0, pH 5.0, pH 4.0, y finalmente el de pH 2.0. Para la bacteria *Enterobacter* N9 la adsorción en orden descendente fue pH 6.0, pH 4.0, pH 3.0, pH 5.0, pH 7.0 y pH 2.0. Para la bacteria *E. coli* N 16 la mayor concentración de metal fue pH 6.0, seguido de pH 7.0, pH 2.0, pH 3.0, pH 5.0 y finalmente en pH 4.0. para la bacteria *Serratia* Mc 119 adsorbió la mayor concentración de metal a pH 6.0 seguido de pH 7.0, pH 5.0, pH 4.0, pH 3.0, y finalmente el de pH 2.0. Para la bacteria *Enterobacter* K 131 la mayor concentración de metal fue pH6.0, seguido de pH 4.0, pH 2.0, pH 3.0, pH 5.0 y finalmente en pH 7.0, como se observa en la figura 1.

pH

El efecto de pH en la biosorción del Arsénico por las bacterias (*Serratia Mc119*, *Serratia K120*, *Enterobacter N9*, *Enterobacter K131*, *E.coli N16*), se ilustran en la Figura 1, en la cual se observa que todas las cepas estudiadas mejoran su eficiencia de biosorción en el pH 6, obteniendo rangos de biosorción de 54 a 57%. La cepa *Enterobacter N9* presento el mayor porcentaje con 57.6, seguido de *Serratia Mc119* con 56.4%.

Este valor de pH es el indicado para establecer las condiciones fisicoquímicas adecuadas en los procesos de biosorción.

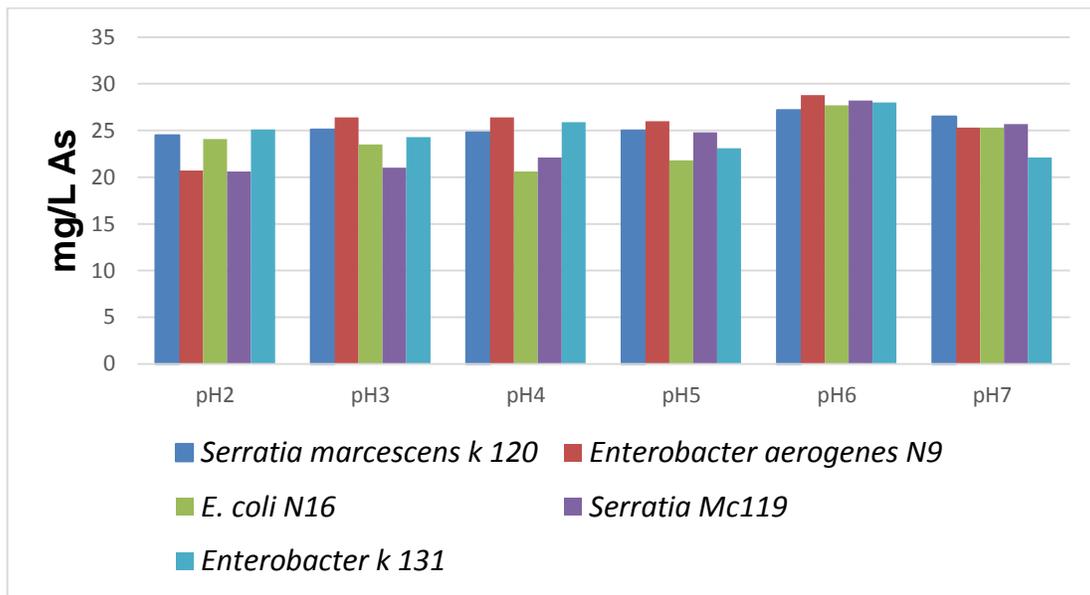


Fig 1. Efecto del pH en la biosorción de As.

En la determinación del efecto del pH en la biosorción de Pb se encontró que en la bacteria *Serratia k120* adsorbió la mayor concentración de metal a pH 6.0 seguido de pH 2.0, pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0, y finalmente el de pH 7.0. Para la bacteria *Enterobacter N9* la adsorción en orden descendente fue pH6.0, pH 2.0, pH 4.0, pH 3.0, pH 5.0 y pH 7.0. Para la bacteria *E. coli N 16* la mayor concentración de metal fue pH 6.0, seguido de pH 2.0, pH 4.0, pH 3.0, pH 7.0 y finalmente en pH 5.0. *Serratia Mc 119* adsorbió la mayor concentración de metal a pH 6.0 seguido de pH 2.0, pH 5.0, pH 4.0, pH 3.0, y finalmente el de pH 7.0. Para la bacteria *Enterobacter K 131* la mayor concentración de metal fue pH 6.0, seguido de pH 7.0, pH 4.0, pH 2.0, pH 5.0 y finalmente en pH 3.0, como se observa en la figura 2.

Plomo

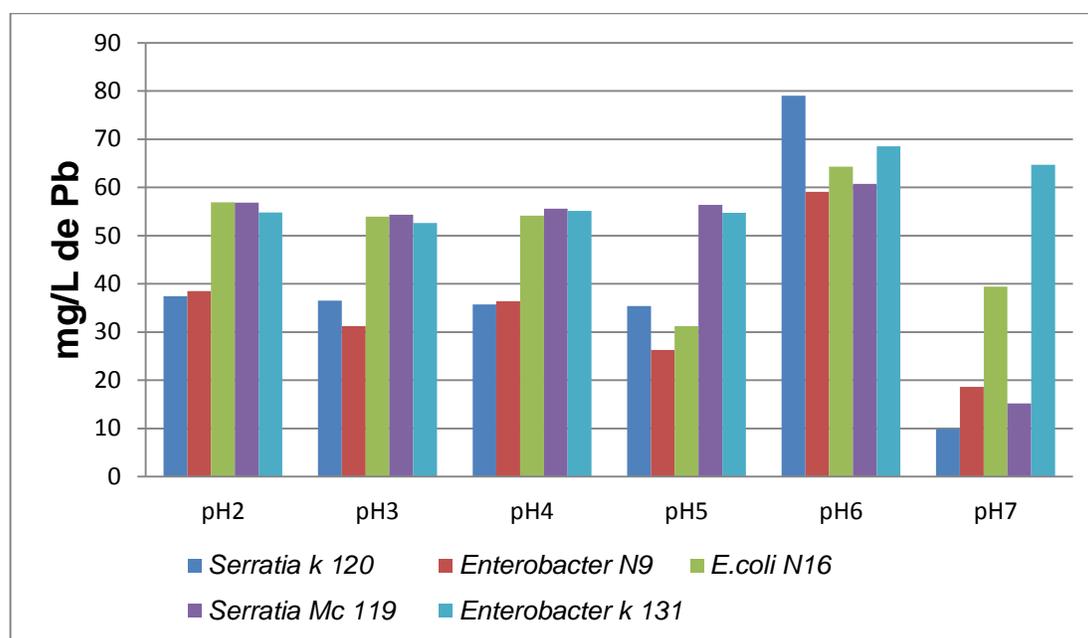


Fig 2. Efecto del pH en la biosorción de Pb.

Adsorción de los metales.

Para la bacteria *Serratia* k120, observamos que la mayor adsorción correspondió al Cu con 2.96 mg/kg seguido de Ni con 1.41 mg/kg, Pb con 0.7 mg/kg y As con 0.25 mg/kg a los 5 minutos del contacto de la cepa bacteriana con el medio.

Se muestra que la tasa de captación de metal aumentó rápidamente en 10 minutos de contacto, disminuyendo después a una velocidad constante a los 30 min. Por lo tanto, se puede concluir que el tiempo de equilibrio apropiado para la biosorción se alcanza a los 30 min. Esto representa el momento en el que se presume que se ha alcanzado una concentración de iones metálicos en equilibrio (Figura 3).

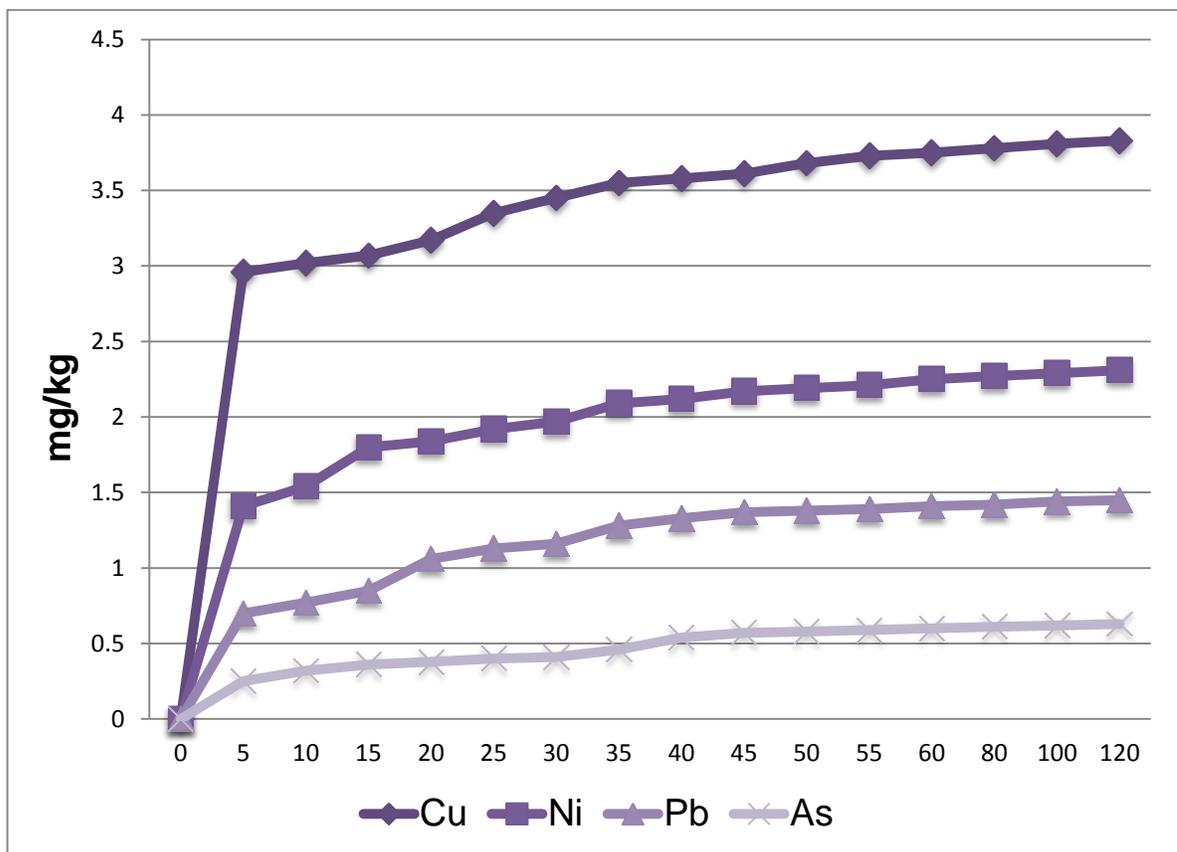


Fig. 3 Concentración de metales con la bacteria *Serratia* K 120

Se muestra que la tasa de captación de metal aumentó rápidamente desde los 5 minutos con el 2.83 mg/kg hasta el minuto 120 con 3.5 mg/ kg y se determinó que la bacteria *Enterobacter N9* tiene una mayor absorción del Cobre.

En el Arsénico, la bacteria no tuvo el mismo efecto ya que se absorbió en el mismo tiempo una menor cantidad del metal, a los 5 minutos se tuvo 0.28 mg/kg y a los 120 min 1.07 mg/kg (Figura 4).

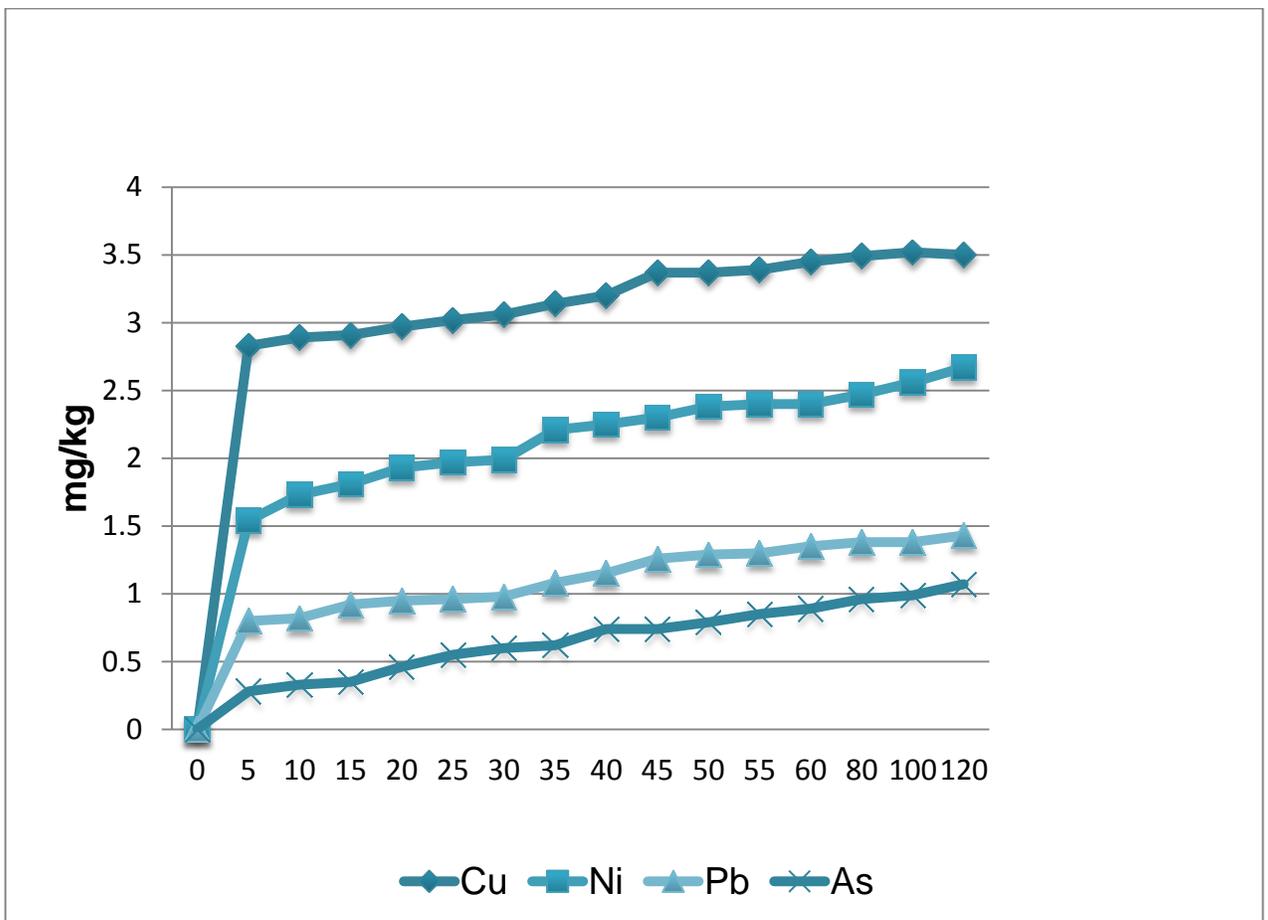


Fig. 4 Concentración de metales con la bacteria *Enterobacter N9*

Se muestra que la tasa de captación de metal aumentó rápidamente desde los 5 minutos con el 2.88 mg/kg hasta el minuto 120 con 4.06 mg/ kg y se determinó que la bacteria *Serratia Mc119* tiene una mayor absorción del Cobre.

En el Plomo, la bacteria no tuvo el mismo efecto ya que se absorbió en el mismo tiempo una menor cantidad del metal, a los 5 minutos se tuvo 0.18 mg/kg y a los 120 min 1.25 mg/kg (Figura 5).

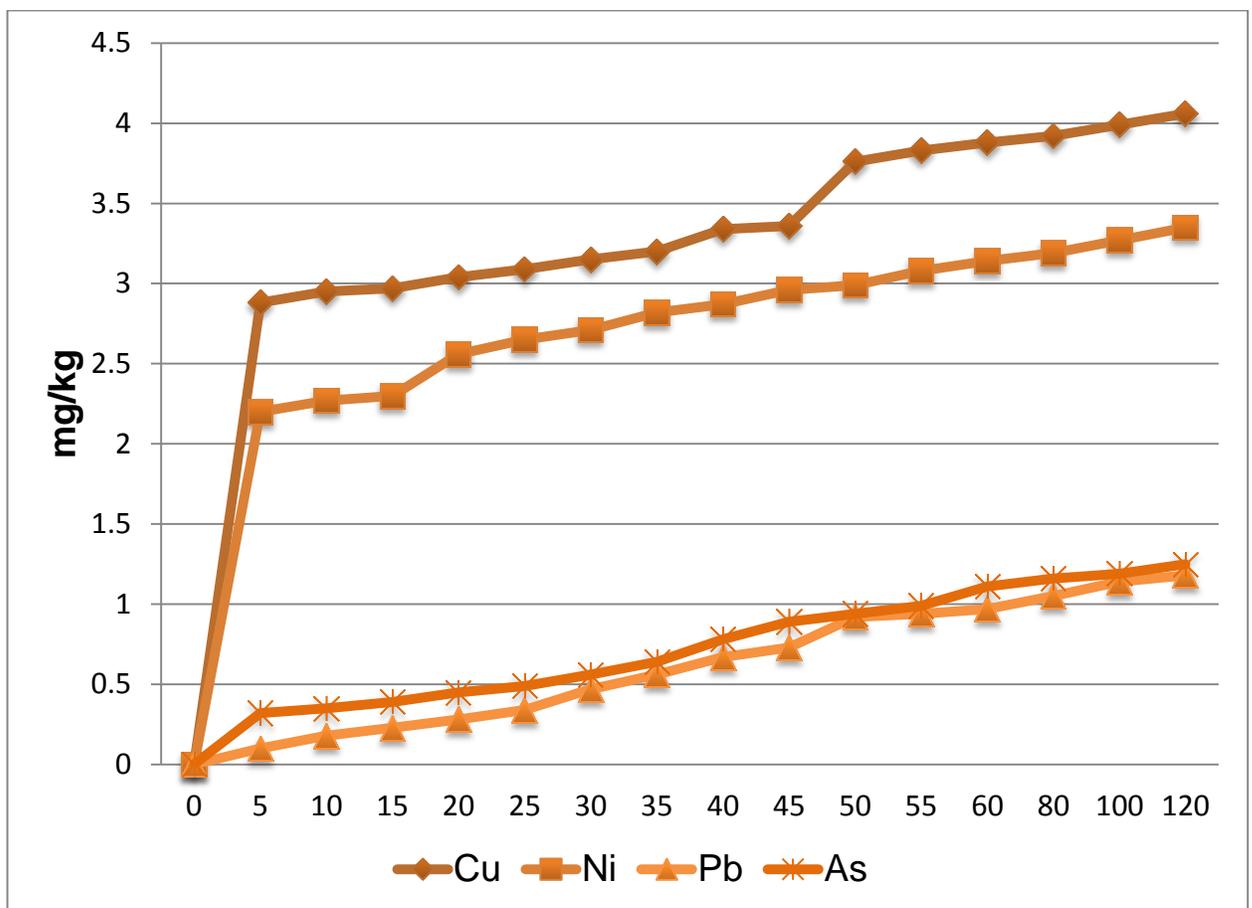


Fig. 5 Concentración de metales con la bacteria *Serratia Mc119*

Se muestra que la tasa de captación de metal aumentó rápidamente desde los 5 minutos con el 2.81 mg/kg hasta el minuto 120 con 3.7 mg/ kg y se determinó que la bacteria *E.coli N16* tiene una mayor absorción del Cobre.

En el Arsénico, la bacteria no tuvo el mismo efecto ya que se absorbió en el mismo tiempo una menor cantidad del metal, a los 5 minutos se tuvo 0.2 mg/kg y a los 120 min 1.08 mg/kg (Figura 6).

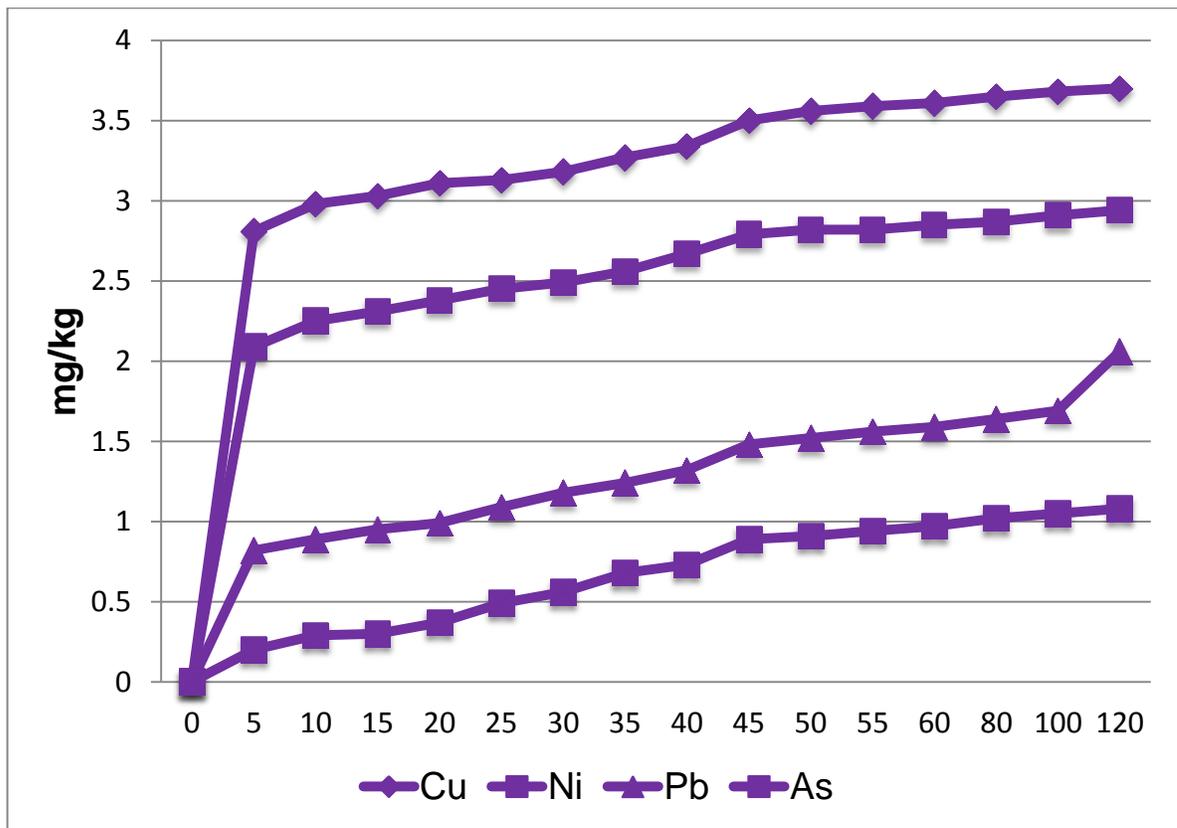


Fig. 6 Concentración de metales con la bacteria *E.coli N16*

Se muestra que la tasa de captación de metal aumentó rápidamente desde los 5 minutos con el 3.15 mg/kg hasta el minuto 120 con 4.18 mg/ kg y se determinó que la bacteria *Enterobacter K131* tiene una mayor absorción del Cobre.

En el Arsénico, la bacteria no tuvo el mismo efecto ya que se absorbió en el mismo tiempo una menor cantidad del metal, a los 5 minutos se tuvo 0.28 mg/kg y a los 120 min 1.29 mg/kg (Figura 7).

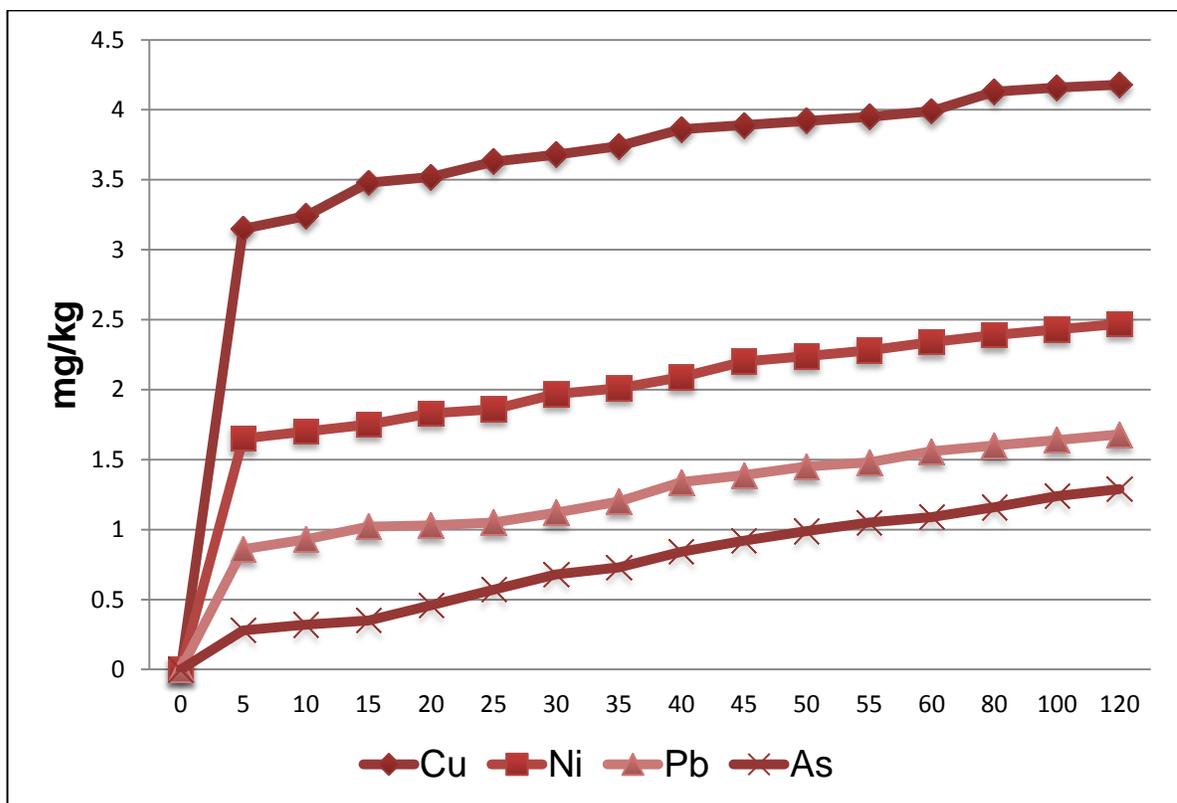


Fig. 7 Concentración de metales con la bacteria *Enterobacter K131*

Isotermas de biosorción.

La curva de isoterma de biosorción representa la distribución de equilibrio de iones metálicos entre la fase acuosa y la fase sólida. La distribución de equilibrio es importante para determinar la capacidad máxima de biosorción. Varios modelos isotérmicos están disponibles para describir esta distribución de equilibrio. Los dos tipos más comunes para describir la isoterma de biosorción son los modelos de Langmuir y Freundlich (Volesky, 1994, 2003)

El tiempo de contacto es uno de los parámetros importantes para una buena aplicación de biosorción. Las mediciones de metales, la captación por biosorción se representaron frente al tiempo, pH óptimo y temperatura. Esto representa que una concentración de iones metálicos de equilibrio ha sido alcanzada.

Isotermas de adsorción de Langmuir

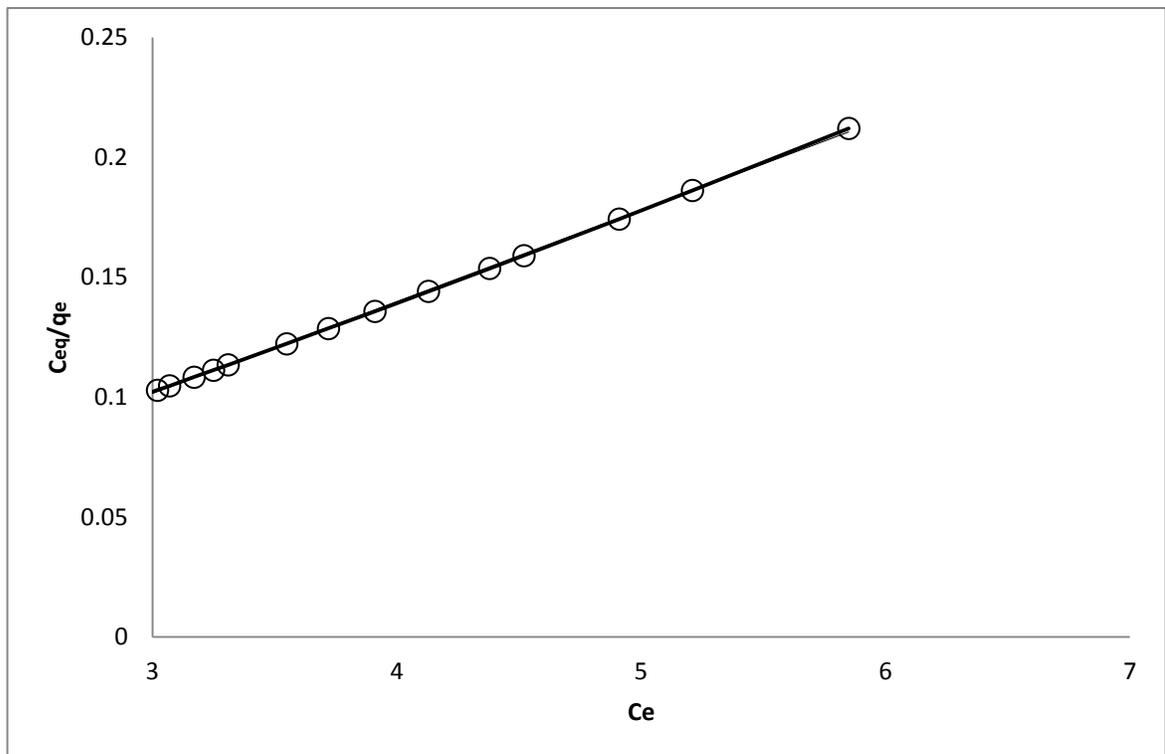


Fig. 9 Isoterma de adsorción de Langmuir

Con la isoterma de adsorción se demuestra la capacidad máxima de biosorción del Cobre. Esto es correspondiente a la cobertura monocapa completa en la superficie de la biomasa.

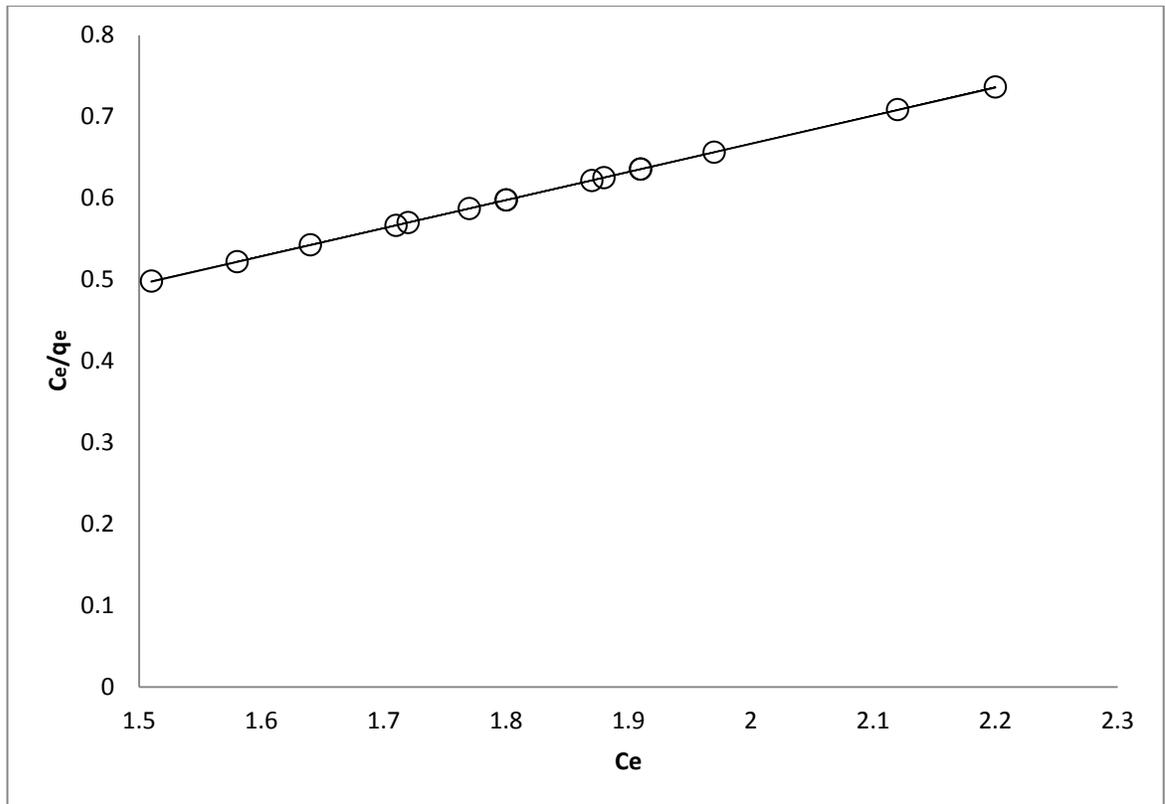


Fig. 10 Isotherma de adsorción de Langmuir

Con la isoterma de adsorción se demuestra la capacidad máxima de biosorción del Níquel

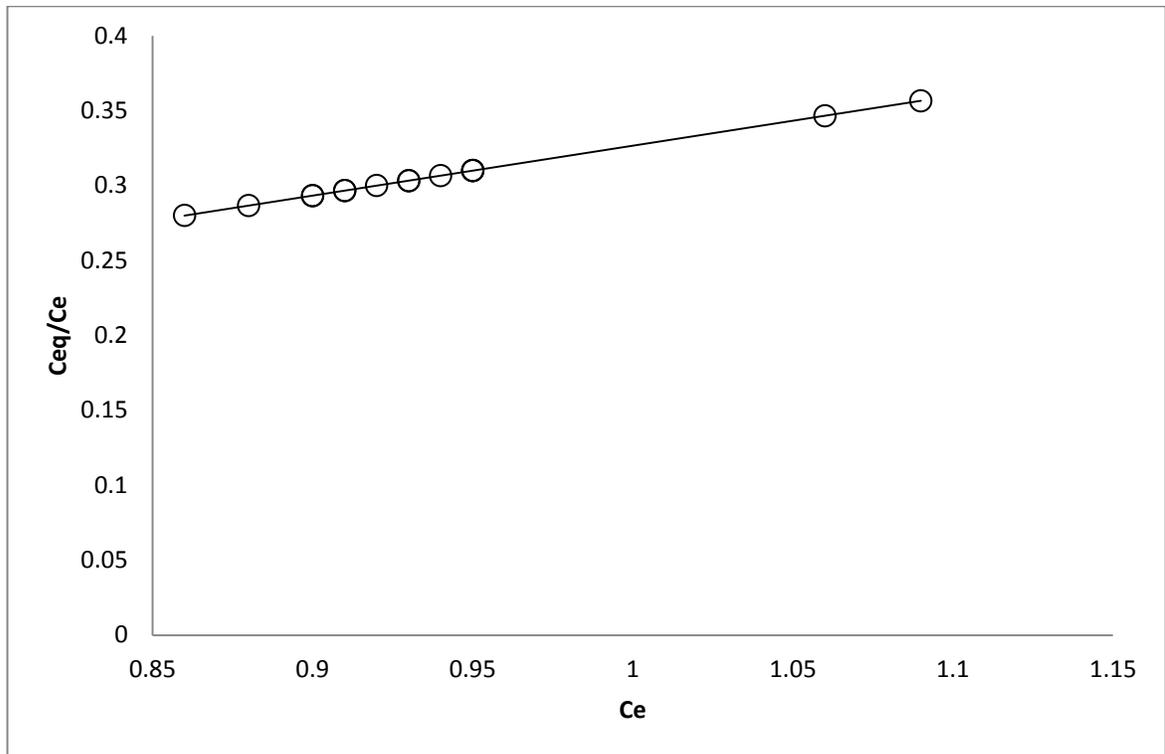


Fig. 11 Isotherma de adsorción de

Con la isoterma de adsorción se demuestra la capacidad máxima de biosorción del Plomo.

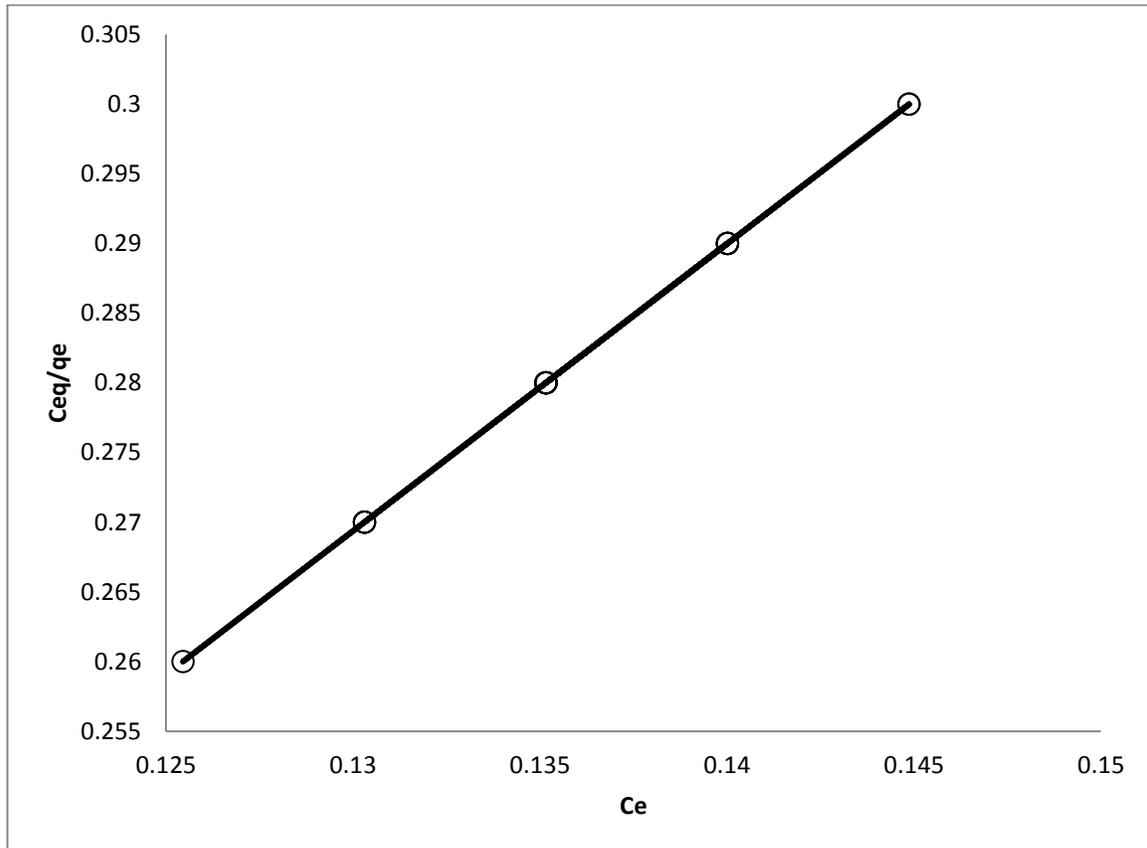


Fig. 12 Isotherma de adsorción de Langmuir

Con la isoterma de adsorción se demuestra la capacidad máxima de biosorción del Arsénico.

Tabla 2. Concentraciones de las isotermas de adsorción de los metales

Metal	q_{max}	b L/mg	r²
Cu	47.04	0.0383	0.999
Ni	48.49	0.3451	0.998
Pb	49.14	0.3329	0.998
As	49.73	2.0599	0.998

q_{max}= capacidad máxima de adsorción del metal

b= constante relacionada con la energía de adsorción

r²=Coeficientes de correlación de regresión

9. CONCLUSION

Con este trabajo nos damos cuenta que el pH si influye en la biosorción de los elementos potencialmente tóxicos As y Pb, lo cual no puede ayudar para los estudios de fitorremediación con las bacterias utilizadas.

En los procesos de adsorción de las bacterias utilizadas se notó que influyen positivamente para los procesos de fitorremediación.

El pH óptimo para la eliminación de los metales fue 6, mientras que el tiempo de contacto fue constante en determinados minutos a temperatura ambiente, dando una capacidad de adsorción máxima correspondiente a la cobertura de monocapa total en la superficie de biomasa calculada a partir de la isoterma de 135m.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Armienta M.A., Rodríguez R. y Cruz O. (1997). Arsenic content in hair of people exposed to natural arsenic polluted groundwater at Zimapán, México. *Environ. Cont. and Toxicology*. 59, 583-589.
- Aller, A.J., Bernal, J.L. y Ma J. Del Nozal. 1989. Geochemistry of trace elements. *Comunicaciones I.N.I.A. Serie: Tecnologia agraria No. 18*. Madrid
- Barkay, T. y J. Schaefer. 2001. Metal and radionuclide bioremediation: issues, considerations and potentials. *Current Opinion in Microbiology*. 4: 318-323.
- Biswas K. A. Davenport G. W. “El Cobre Metalurgia extractiva”, Ed. Limusa, 1993
- DIAZ VARGAS, P., FERRERA-CERRATO, R. ALMARAZ-SUAREZ, J.J. Y ALCANTAR GONZALEZ, G. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de Crecimiento en lechuga. *Terra* 19: 327-335
- Eccles, H. 1999. Treatment of metal-contaminated wastes: why select a biological process. *Trends in Biotechnology*. 17: 462-465.
- Favas P., Pratas, J., Gomes M. y Cala V. (2011). Selective chemical extraction of heavy metals in tailings and soils contaminated by mining activity: Environmental implications. *Journal of Geochemical Exploration*, 111, 160 – 171.
- FERGUSSON, J.F., 1990. The heavy Elements. Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. Pergamon Press.
- Gadd, G.M. 2000. Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology*. 11: 271-279.
- Gerriste y Van Driel, 1984; Naidu y Col., 1994
- Kabata-Pendias, A. y Mukherjee, A. B. Trace Elements from Soil to Human [en línea]. edit. Springer Berlin Heidelberg, 2007, 519

- Kiely, G 1999, Ingeniería ambiental, fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión. Mc Graw Hill, España
- Koo, So-Yeon., *et al.*, 2009
- Kumaresan, M. and P. Riyazuddin. 2001. Overview of speciation chemistry of arsenic. *Curr. Sci.* 80: 837-846.
- Moreno Tovar R. (1998). Caracterización mineralógica y química de desechos mineros (jales), aplicada a la recuperación de valores económicos en Zimapán y Pachuca, Edo. de Hidalgo. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, México, D. F., 89 pp.
- Moreno Tovar Raul, Tellez Hernandez Jesus, Monroy Fernandez Marcos. 2012. Influencia de los minerales de los jales en la bioaccesibilidad de arsénico, plomo, zinc y cadmio en el distrito minero de Zimapan Mexico. Instituto de Metalurgia, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Norrish, K. 1975. The geochemistry and mineralogy of trace element. In Notholas, D. J.; Egan, A. R. Eds. Trace elements in Soil-Animal systems, academic press, New York, 55)
- Omar y Abd-Alla, 1992; Abd-Alla, 1994; El-Enany y Abd-Alla, 1995
- Santini, J. M., L. I. Sly, R. D. Schnagl, and J. M. Macy. 2000. A new chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacterium isolated from a gold mine: Phylogenetic, physiological, and preliminary biochemical studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 92-97.
- Sellers, K. 1999. Fundamentals of hazardous waste site remediation. Lewis Publishers. 326 pp.
- Tsai, S. L., S. Singh, and W. Chen 2009. Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20: 659-667.
- Thomas D Matte, 2003; MC, MPH

- Van Deuren, J.; Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3^a Ed. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Volesky, B y Z.R. Holan. 1995. Biosorption of heavy metals. Biotechnology Progress. 11 (3): 235-250.
- Volke, T.L. y J.A. Velasco. 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT). 64 pp. México. ISBN: 968-817-557-9