



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE INGENIERÍA

CENTRO INTERAMERICANO DE RECURSOS DEL AGUA

**“Remoción de Cd y Pb y reducción de Cr(VI) en  
agua sintética y residual proveniente de una industria de  
galvanoplastia utilizando biomasa bacteriana”.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS DEL AGUA**

P R E S E N T A:

**BIÓL. CECILIA ARACELI CERON RIOS**

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. MARINA ISLAS ESPINOZA**



**TOLUCA, ABRIL 2015.**

## RESUMEN

La contaminación del agua por metales pesados tales como Cd, Pb y Cr(VI) se ha incrementado en forma paralela a la actividad industrial debido a la falta de cumplimiento de la normatividad en la materia y a la inadecuada disposición y manejo de desechos industriales, la exposición a metales pesados en determinadas circunstancias es la causa de la degradación y muerte de la vegetación, ríos, animales e incluso, de daños directos en el hombre. Cierta grupo de bacterias presentan la capacidad de remover y/o reducir estos metales.

En este estudio se utilizaron 8 cepas las de las cuales: *Pseudomonas. cedrina*, *Enterobacter cancerogenus* y *Pseudomonas graminis* fueron aisladas de los sedimentos del río Lerma y utilizadas para este estudio, otras 5 cepas fueron aisladas de una muestra de agua residual proveniente de una industria de galvanoplastia. El objetivo principal fue evaluar la capacidad de reducción de Cr(VI), remoción de Cd y Pb que presentan las 3 especies de bacterias aisladas del río Lerma y otras aisladas del agua residual proveniente de una industria de galvanoplastia,

Se aislaron e identificaron 5 especies del agua residual: *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. nasdae*, *B. altitudinis* y 1B esta última no fue posible identificarla. Una vez identificadas, las cepas fueron preservadas por congelación. Posteriormente se determinó la concentración mínima Inhibitoria (CMI) de las 8 especies, se obtuvieron las curvas de crecimiento bacteriano en agua sintética y residual con Cd, Pb y Cr(VI) a diferentes pHs. Se determinaron los patrones de remoción o reducción de Cd, Pb y Cr(VI) en agua sintética y residual a diferentes pHs.

Las CMI fueron: 165 mg/L de Pb para 1B, *B. nasdae* y *P. graminis*, 207 mg/L para *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. altitudinis*, *P. cedrina* y *E. cancerogenus* a pH 2. 900 mg/L de Cd para *B. nasdae* y *P. graminis*, 1124 mg/L para 1B y 1340 mg/L para *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. altitudinis*, *P. cedrina* y *E. cancerogenus* a pH 2, 4 y 6. Y para Cr(VI) 410 mg/L *P. graminis* y *B. nasdae*, 519 mg/L para 1B y 623 mg/L *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. altitudinis* Y *P. cedrina* a pH 2,4 y 6.

La especie 1B en la mayoría de los casos presento el mayor crecimiento en comparación con las otras siete especies, el crecimiento de las ocho especie fue afectado por el pH del medio ya que a valores de pH 6 en presencia de los metales Cd y Cr(VI) se observaron

valores de crecimiento más altos en comparación con pH 2. La especie 1B fue la que mayor cantidad de Cd y Pb removió del medio en agua sintética y real, redujo la mayor cantidad de Cr(VI) a Cr(III). La cepa 1B representa un potencial biotecnológico el cual puede ser aplicado en sistemas de remoción de Cd y Pb y reducción de Cr(VI).

## Abstract

Water pollution by heavy metals such as Cd, Pb and Cr(VI) has increased in parallel with industrial activity because of the lack of compliance with standards in the field and improper disposal and management of industrial waste, exposure to heavy metals in certain circumstances is the cause of degradation and death of vegetation, rivers, animals and even direct damage in man. Certain group of bacteria have the ability to remove and / or reduce these metals.

In this study we used the 8 strains which: *Pseudomonas cedrina*, *Enterobacter cancerogenus* and *Pseudomonas graminis* were isolated from sediments of the Lerma River and used for this study, other 5 strains were isolated from a sample of wastewater from electroplating industry. The main objective was to evaluate the capacity reduction of Cr(VI) removal of Cd and Pb having the 3 species of bacteria isolated from the Lerma River and other isolated of wastewater from electroplating industry.

Were isolated and identified 5 species from wastewater: *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. nasdae*, *B. altitudinis* and 1B the last was not possible to identify. Once identified, the strains were preserved by freezing. Subsequently, the minimum inhibitory concentration (MIC) of 8 species was determined, bacterial growth curves in synthetic water and wastewater with Cd, Pb and Cr(VI) at different pHs were obtained. Patterns removal or reduction of Cd, Pb and Cr(VI) in synthetic water and wastewater at different pH were determined.

The MICs were: 165 mg / L of Pb for 1B, *B. nasdae* and *P. graminis*, 207 mg / L for *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. altitudinis*, *P. Cedrina* and *E. cancerogenus* to pH 2. 900 mg / L of Cd for *B. nasdae* and *P. graminis*, 1124 mg / L for 1B and 1340 mg / L to *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *B. altitudinis*, *P. cedrina* and *E. cancerogenus* to pH 2, 4 and 6. And for Cr(VI) 410 mg / L *P. graminis* and *B. nasdae*, 519 mg / L to 1B and 623 mg / L *M. phyllosphaerae*, *P. monteilli*, *P. cedrina* and *B. altitudinis* to pH 2,4 and 6.

1B species in most of the cases had the highest growth compared to the other seven species, growth of the eight species was affected by the pH of the medium. For pH 6 in the presence of Cd and Cr(VI) growth highest values were observed compared to pH 2. 1B species was the greatest number of Cd and Pb in medium removed in synthetic and natural water, it reduced a higher quantity of Cr(VI) to Cr(III). 1B represents a

biotechnological potential strain which can be applied in systems of removal of Cd and Pb and reducing Cr(VI).

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>2</b>
2.1 Metales pesados.....	2
2.2 Contaminación por metales en agua.....	3
2.2.1 Fuentes de contaminación por metales.....	3
2.2.2 Industria de galvanoplastia.....	3
2.3 Toxicidad de los metales pesados.....	5
2.3.1 Cadmio.....	6
2.3.2 Plomo.....	7
2.3.3 Cromo.....	8
2.3.3.1 Cromo trivalente: Cr(III).....	8
2.3.3.2 Cromo hexavalente: Cr(VI).....	9
2.4 Tecnologías para el tratamiento de sitios contaminados con metales.....	9
2.4.1 Tratamientos Biológicos.....	10
2.4.2 Capacidad de remoción de metales por microorganismos.....	10
2.4.3 Mecanismos de remoción de metales por microorganismos.....	11
2.4.4 Mecanismo de movilización de metales por microorganismos.....	12
2.4.4.1 Biolixiviación.....	12
2.4.5 Mecanismos de inmovilización de metales por microorganismos.....	12
2.4.5.1 Bioacumulación.....	12
2.4.5.2 Biomineralización.....	13

2.4.5.3 Biosorción.....	13
2.4.5.4 Biotransformación.....	14
2.4.5.5 Quimisorción mediada por microorganismos.....	14
2.5 Microorganismos involucrados en la remoción de metales.....	15
<b>3. JUSTIFICACIÓN CONTEXTUAL Y CIENTÍFICA.....</b>	<b>17</b>
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>18</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>6. METODOLOGÍA.....</b>	<b>20</b>
6.1 Punto de muestreo.....	20
6.2 Toma de muestras.....	20
6.3 Caracterización del agua residual colectada.....	20
6.4 Aislamiento de bacterias provenientes del agua residual de una industria de galvanoplastia.....	22
6.5 Fase de adaptación.....	22
6.5.1 Preparación de soluciones patrón de los metales a evaluar.....	22
6.5.2 Preparación de cultivos.....	22
6.6 Selección de bacterias provenientes de la muestra A1.....	22
6.7 Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI).....	23
6.8 Análisis molecular de las cepas tolerantes a Cd, Pb y Cr(VI).....	23
6.8.1 Extracción de ADN.....	23
6.8.2 Evaluación del ADN por electroforesis.....	23
6.8.3 Amplificación del gen 16S mediante la reacción en cadena de la polimerasa.....	24

6.8.4	Purificación de los productos	24
amplificados.....		
6.8.5	Análisis de	25
secuencias.....		
6.9	Preservación de	25
cepas.....		
6.10	Preparación de soluciones madre de Cd, Pb y	25
Cr(VI).....		
6.11	Preparación de inóculo	26
bacteriano.....		
6.12	Preparación de cultivos en medio	26
líquido.....		
6.13	Curvas de crecimiento	27
bacteriano.....		
6.14	Medición de biomasa	28
bacteriana.....		
6.15	Remoción de Cd, Pb y Cr(VI) en cultivo	29
líquido.....		
6.16	Acumulación celular de los metales Pb, Cd y	29
Cr(VI).....		
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>31</b>
7.1	Caracterización del agua residual	31
colectada.....		
7.2	Aislamiento de bacterias provenientes de agua residual de una	32
cromadora..		
7.3	Fase de	33
adaptación.....		
7.4	Extracción de	33
ADN.....		
7.4.1	Evaluación de los amplicones obtenidos de la reacción en cadena de	33
la polimerasa.....		
7.5	Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI).....	37
7.5.1	Plomo.....	37
7.5.2	Cadmio.....	39

7.5.3 Cromo(VI).....	43
7.7 Curvas de crecimiento bacteriano, remoción y/o reducción	47
7.7.1 Plomo (Etapa I).....	47
7.7.2 Cadmio (Etapa I).....	49
7.7.3 Cr(VI) Etapa I.....	51
7.7.4 Pb, Cd y Cr(VI) en Agua sintética.....	53
7.7.4.1 Cr(VI) en Agua sintética.....	55
7.7.5 Pb, Cd y Cr(VI) en Agua real (A2).....	57
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>9. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>62</b>
<b>10. REFERENCIAS.....</b>	<b>63</b>
<b>11. GLOSARIO.....</b>	<b>66</b>
<b>12. ANEXOS.....</b>	<b>68</b>

### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Microorganismos removedores de metales y sus mecanismos.....	15
Tabla 2: Concentraciones mínimas inhibitorias(CMI) reportadas de Cd, Pb y Cr(VI) para distintos microorganismos.....	16
Tabla 3. Parámetros, equipos y normas utilizadas en la caracterización de la muestra de agua residual proveniente de la cromadora.....	20



Tabla 4. Grupos experimentales de la etapa I.....	27
Tabla 5. Grupos experimentales de la etapa II.....	27
Tabla 6. Grupos experimentales de la etapa III.....	28
Tabla 7. Resultados de la caracterización del agua de la cromadora.....	31
Tabla 8: Colonias aisladas de la muestra A1.....	32
Tabla 9. Concentración de ADN obtenida por muestra.....	34
Tabla 10. Características morfológicas, porcentaje de similitud y número de pares de bases (pb) de las cepas aisladas e identificadas de la muestra A1.....	35
Tabla 11. CMI para Pb a pH 2.....	38
Tabla 12. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Pb a pH 2.....	39
Tabla 13. CMI para Cd a pH 2, 4 y 6.....	41
Tabla 14. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Cd a pH 2.....	41
Tabla 15. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Cd a pH 4.....	42
Tabla 16. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Cd a pH 6.....	42
Tabla 17. CMI para Cr(VI) a pH 2, 4 y 6.....	44
Tabla 18. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Cr(VI) a pH 2.....	45
Tabla 19. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Cr(VI) a pH 4.....	45
Tabla 20. Número de colonias promedio contabilizadas para las CMI de Cr(VI) a pH 6.....	45

**Anexo 2**

Tabla 21. Balance de materia de Pb (0.6 mg/L) a pH 2.....	70
Tabla 22. Balance de materia de Cd (0.6 mg/L) a pH 6.....	70
Tabla 23. Balance de materia de Cr(VI) 250 mg/L a pH 70	70

6.....

Tabla 24. Balance de materia de Pb (0.6 mg/L) a pH 2..... 71

Tabla 25. Balance de materia de Cd (0.6 mg/L) a pH 2..... 71

Tabla 26. Balance de materia de Cr(VI) 250 mg/L a pH 2..... 71

Tabla 27. Balance de materia de Pb (0.6 mg/L) a pH 2..... 72

Tabla 28. Balance de materia de Cd (0.6 mg/L) a pH 2..... 72

Tabla 29. Balance de materia de Cr(VI) 250 mg/L a pH 2..... 72

### **Anexo 3**

Tabla 30. Crecimiento promedio máximo con Pb (0.6 mg/L) a pH 2..... 73

Tabla 31. Crecimiento promedio máximo a pH 2..... 73

Tabla 32. Crecimiento promedio máximo con Cd (0.6 mg/L) a pH 6..... 73

Tabla 33. Crecimiento promedio máximo a pH 6..... 74

Tabla 34. Crecimiento promedio máximo con Cr(VI) 250 mg/L a pH 6..... 74

Tabla 35. Crecimiento promedio máximo en agua sintética a pH 2..... 74

Tabla 36. Crecimiento promedio máximo en agua real (A2) a pH 2..... 75

### **Anexo 4**

Tabla 37. Biomasa con Pb (0.6 mg/L) a pH 2..... 76

Tabla 38. Biomasa con Cd (0.6 mg/L) a pH 6..... 76

Tabla 39. Biomasa con Cr(VI) 250 mg/L a pH 6..... 76

Tabla 40. Biomasa en agua sintética a pH 77

2.....

Tabla 41. Biomasa en agua real (A2) a pH 77

2.....

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos biológicos involucrados en la remoción de metales.....	11
Figura 2. Inoculación, aislamiento y conservación de las bacterias.....	21
Figura 3. Electroforesis en gel de los amplicones de los microorganismos aislados. ....	34
Figura 4. Diagramas de distribución de especies de $Pb^{2+}$ de pH 0-14. (a) $Pb^{2+}$ [2 Mm], (b) $Pb^{2+}$ [4 Mm], (c) $Pb^{2+}$ [6 Mm], (d) $Pb^{2+}$ [8 Mm] y (e) $Pb^{2+}$ [10 Mm].....	37
Figura 5. Diagramas de distribución de especies de $Cd^{2+}$ de pH 0-14. (a) $Cd^{2+}$ [2 mM], (b) $Cd^{2+}$ [4 mM], (c) $Cd^{2+}$ [6 mM], (d) $Cd^{2+}$ [8 mM], (e) $Cd^{2+}$ [10 mM] y (f) $Cd^{2+}$ [12 mM].....	40
Figura 6. Diagramas de distribución de especies de Cr(VI) de pH 0-14. (a) Cr(VI) [2 mM], (b) Cr(VI) [4 mM], (c) Cr(VI) [6 mM], (d) Cr(VI) [8 mM], (e) Cr(VI) [10 mM] y (f) Cr(VI) [12 mM].....	
Figura 7. Cinéticas de crecimiento y remoción de Pb a pH 2: a) 1B, b) <i>M. phyllosphaerae</i> , c) <i>B. nasdae</i> , d) <i>P. monteilli</i> , e) <i>B. altitudinis</i> , f) <i>P. cedrina</i> , g) <i>E. cancerogenus</i> y h) <i>P. graminis</i> .....	47
Figura 8. Cinéticas de crecimiento y remoción de Cd (0.6 mg/L) a pH 6: a) 1B, b) <i>M. phyllosphaerae</i> c) <i>B. nasdae</i> , d) <i>P. monteilli</i> , e) <i>B. altitudinis</i> f) <i>P. cedrina</i> , g) <i>E. cancerogenus</i> , h) <i>P.graminis</i> .....	49
Figura 9. Cinéticas de crecimiento sin y con la presencia de Cr(VI) 250 mg/L a pH 6: a) 1B, b) <i>M. phyllosphaerae</i> c) <i>B. nasdae</i> , d) <i>P. monteilli</i> , e) <i>B. altitudinis</i> f) <i>P. cedrina</i> , g) <i>E. cancerogenus</i> , h) <i>P. graminis</i> .....	51
Figura 10. Cinéticas de crecimiento y remoción de Pb y Cd a pH 2 en Agua sintética: a) 1B, b) <i>M. phyllosphaerae</i> , c) <i>B. nasdae</i> , d) <i>P. monteilli</i> , e) <i>B. altitudinis</i> , f) <i>P. cedrina</i> , g) <i>E. cancerogenus</i> y h) <i>P. graminis</i> .....	53
Figura 11. Cinéticas de crecimiento y remoción en presencia de Pb, Cd (60 mg/L) y Cr(VI) 250 mg/L a pH 2 en agua sintética: a) 1B, b) <i>M. phyllosphaerae</i> , c) <i>B. nasdae</i> , d) <i>P. monteilli</i> , e) <i>B. altitudinis</i> , f) <i>P. cedrina</i> , g) <i>E. cancerogenus</i> y h) <i>P. graminis</i> .....	55
Figura 12. Cinéticas de crecimiento y remoción de Pb y Cd a pH 2 en Agua real: a) 1B, b) <i>M. phyllosphaerae</i> , c) <i>B. nasdae</i> , d) <i>P. monteilli</i> , e) <i>B. altitudinis</i> , f) <i>P. cedrina</i> , g) <i>E. cancerogenus</i> y h) <i>P.</i>	57

*graminis*.....

**Anexo 5**

Figura 13. Diagrama de distribución de especies de Pb, Cd y Cr(VI) de pH 0-14 (en función de 78 Pb).....