



**HAL**  
open science

## Evaluación del empleo de microorganismos en la remoción de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados

Arelis Abalos Rodríguez, Odalys Rodríguez Gámez, Rosa Maria Pérez Silva, Janet Nápoles Álvarez, Isabelle Laffont-Schwob, José Gregorio Cabrera Gómez, Irasema Pérez Portuondo, Javier Ernesto Vilasó Cadre, Rocio Pérez Macías, Leonardo Bahín Deroncelé, et al.

► **To cite this version:**

Arelis Abalos Rodríguez, Odalys Rodríguez Gámez, Rosa Maria Pérez Silva, Janet Nápoles Álvarez, Isabelle Laffont-Schwob, et al.. Evaluación del empleo de microorganismos en la remoción de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 2022, 12 (1). hal-03648654

**HAL Id: hal-03648654**

**<https://hal.science/hal-03648654>**

Submitted on 21 Apr 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License



## CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Premio Anual de la Academia de Ciencias de Cuba, 2020

### Evaluación del empleo de microorganismos en la remoción de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados

Arelis Abalos Rodríguez <sup>1</sup> \* <https://orcid.org/0000-0002-0007-5825>  
Odalys Rodríguez Gámez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6511-7064>  
Rosa María Pérez Silva <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9878-7192>  
Janet Nápoles Álvarez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4221-3672>  
José Gregorio Cabrera Gómez <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9337-1270>  
Isabelle Laffont Schwob <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3630-6450>  
Irasema Pérez Portuondo <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9511-5107>  
Javier Ernesto Vilasó Cadre <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5172-7136>  
Rocío Pérez Macías <sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4817-0901>  
Leonardo Bahín Deroncelé <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-2856-8717>  
Leydis Milenes Santos <sup>5</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5557-6088>

<sup>1</sup> Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup> Instituto de Ciencias Biomédicas (ICB II), Universidad de São Paulo. Sao Paulo, Brasil

<sup>3</sup> Instituto Mediterráneo de Biodiversidad y Ecología (IMBE), Universidad de Marsella. Marsella, Francia

<sup>4</sup> Empresa Geominera Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>5</sup> Refinería de Petróleo Hermanos Díaz. Santiago de Cuba, Cuba

\*Autor para la correspondencia: [aabalos@uo.edu.cu](mailto:aabalos@uo.edu.cu)/ [vrrri@consejo.uo.edu.cu](mailto:vrrri@consejo.uo.edu.cu)

#### RESUMEN

#### Palabras clave

*pseudomonas aeruginosa*; rizobacterias; ramnolípidos; hidrocarburos; metales pesados

**Introducción.** La contaminación por compuestos orgánicos persistentes (COP) y metales pesados en aguas y suelos es un serio problema ambiental. El objetivo fue evaluar el empleo de microorganismos (autóctonos y de colección) y sus productos en la remoción de estos contaminantes. **Métodos.** Los microorganismos autóctonos se aislaron mediante enriquecimiento secuencial. La cuantificación de ramnolípidos y clorofenoles se realizó por métodos colorimétricos y la remoción de hidrocarburos se cuantificó gravimétricamente. Los metales se determinaron por absorción atómica con plasma (AAS-ICP). **Resultados.** El ramnolípidos producido por *Pseudomonas aeruginosa* ORA9 removió más del 50 % del cobre presente en aguas y el 75 % de los hidrocarburos de suelos contaminados. Asimismo, el empleo de 4 cepas bacterianas y bacterias rizosféricas aisladas de suelos contaminados permitieron hasta un 84 % y 72 % de remoción de hidrocarburos y de degradación del herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), respectivamente. Por otra parte, se comprobó la efectividad del empleo de sistemas biológicos para el tratamiento de las aguas contaminadas con hidrocarburos y metales pesados, obteniéndose porcentajes de remoción de hidrocarburos



de 60 % y 84 % con un biorreactor Airlift diseñado y un sistema de reactores aerobio/ anaerobio, respectivamente. Finalmente, utilizando biomasa microbiana seca, se extrajo el 52 %, 23 % y 14 % de los metales cobre, zinc y manganeso, respectivamente, presentes en aguas contaminadas. Como conclusión los resultados de esta investigación constituyen los fundamentos científicos para implementar un paquete tecnológico para la remediación de sitios contaminados con COP y metales pesados utilizando microorganismos.

## Evaluation of the use of microorganisms in the removal of persistent organic compounds and heavy metals

### ABSTRACT

**Introduction.** Contamination by persistent organic compounds (POCs) and heavy metals in waters and soils is a serious environmental problem. Objectives: To evaluate the use of microorganisms (autochthonous and from collection) and their products, in the removal of these contaminants. **Methods.** Autochthonous microorganisms were isolated by sequential enrichment. The quantification of rhamnolipids and chlorophenols was performed by colorimetric methods and hydrocarbon removal was gravimetrically quantified. Metals were determined by plasma atomic absorption (AAS-ICP). **Results.** Rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* ORA9 removed more than 50 % of copper present in waters and 75 % of hydrocarbons from contaminated soils. Likewise, the use of 4 bacterial strains and rhizospheric bacteria isolated from contaminated soils allowed up to 84 % and 72 % of hydrocarbon removal and degradation of herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), respectively. On the other hand, the effectiveness of using biological systems for the treatment of hydrocarbon and heavy metal contaminated waters was verified, obtaining percentages of hydrocarbon removal of 60 % and 84 % with a designed airlift bioreactor and an aerobic/anaerobic reactor system, respectively. Finally, using dry microbial biomass, 52 %, 23 % and 14 % of copper, zinc and manganese metals, respectively, present in contaminated waters were extracted. **Conclusions:** The results of this research constitute the scientific bases to implement a technological package for the remediation of sites contaminated with POCs and heavy metals using microorganisms.

### Keywords

*Pseudomonas aeruginosa*; rhizobacterias; rhamnolipids; hydrocarbons; heavy metals

## INTRODUCCIÓN

La contaminación de ecosistemas acuáticos y terrestres por la presencia de petróleo y sus derivados, metales pesados y otros compuestos orgánicos persistentes (COP) es un serio problema ambiental que se agudiza por la dependencia económica de este combustible y de la industria metalúrgica.<sup>(1)</sup> Frente a esta situación, el uso de tecnologías convencionales es insuficiente, en términos de recursos, consumo de energía y el empleo de productos químicos, especialmente cuando el contaminante se encuentra a bajas concentraciones.<sup>(2)</sup> Por tal motivo, se requiere de tecnologías sostenibles, seguras y ecocompatibles que estimulen los procesos naturales de remoción. En este sentido, el empleo de microorganismos desempeña un papel significativo.

En Cuba, la protección del medio ambiente es un derecho constitucional. El plan de Estado para el Enfrentamiento al Cambio Climático (Tarea Vida), tiene entre sus objetivos la conservación de los ecosistemas y para dar respuesta al cumplimiento de las tareas asociadas al logro de este objetivo, el empleo de métodos biotecnológicos de tratamiento constituyen alternativas de solución amigable con el medio ambiente para tratar la contaminación con compuestos orgánicos persistentes (COP) y metales pesados en diferentes ecosistemas cubanos, en situaciones donde el objetivo principal es retornar la zona afectada a un estado saludable y productivo. Tomando en consideración estos antecedentes, el objetivo del trabajo es evaluar el empleo de microorganismos en la remoción de COP y metales pesados de suelos y aguas impactados.

## MÉTODOS

### Aislamiento y selección de microorganismos degradadores de hidrocarburos

**Aislamiento.** El aislamiento de cepas bacterianas autóctonas con capacidad de remoción de COP y productoras de ramnolípidos se realizó mediante la técnica de enriquecimiento secuencial utilizando compuestos oleosos como única fuente de carbono (figura. 1). En el caso de las rizobacterias, se realizó a partir de una suspensión, en agua estéril, de la tierra que rodeaba las raíces de plantas colectadas en suelos contaminados por hidrocarburos. Las cepas se identificaron utilizando pruebas bioquímicas clásicas para determinar el género y la especie según el Manual Bergey's. <sup>(3)</sup>

**Selección.** Para la selección de las bacterias productoras de ramnolípidos se utilizaron los métodos Agar azul, <sup>(4)</sup> Gota colapsada <sup>(5)</sup> y Aceite difundido <sup>(6)</sup> y se determinaron parámetros físico-químicos y estructurales de la mezcla de ramnolípidos obtenida.

La selección de las cepas degradadoras de petróleo, se realizó evaluando su crecimiento en placas con hidrocarburos como única fuente de carbono. La capacidad biodegradadora se estudió mediante un ensayo de biodegradación en medio líquido mineral con hidrocarburos y crecimiento de los aislados en placas con medio salino y naftaleno. La actividad se evaluó midiendo el halo de degradación (cm). <sup>(7)</sup>

Los aislados rizosféricos con características de promotoras de crecimiento vegetal se seleccionaron atendiendo a

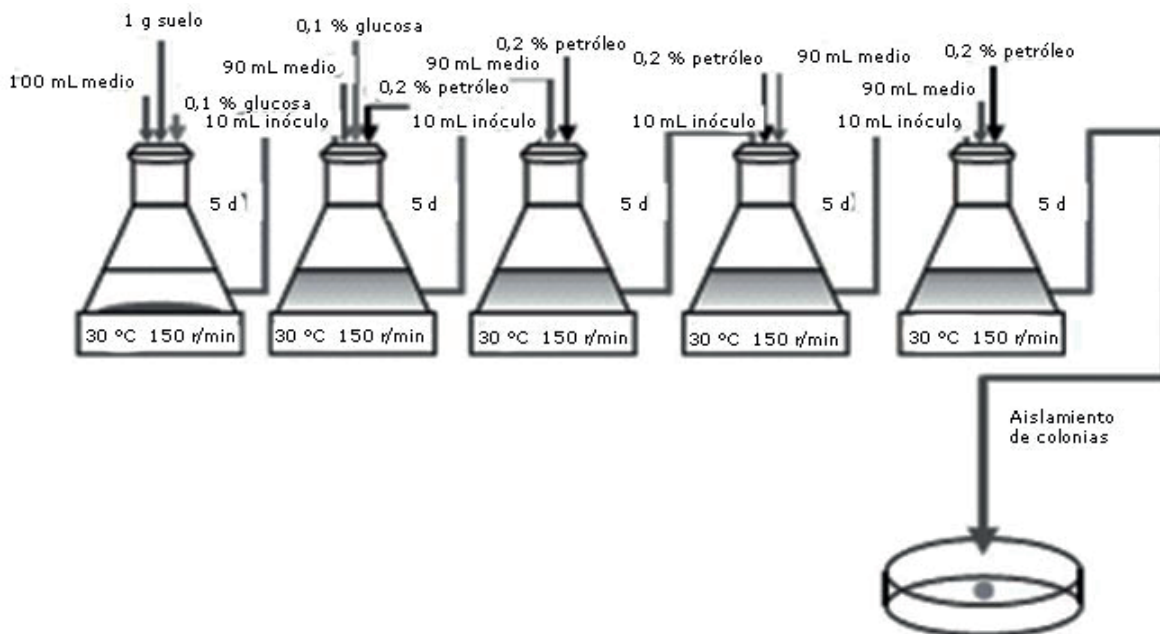
la capacidad de producción de ácidos orgánicos, acetoina, solubilización de fosfatos, ácido indolacético y fijación de nitrógeno atmosférico.

### Evaluación de remoción de hidrocarburos y metales pesados

**Hidrocarburos.** La remoción de hidrocarburos de suelos contaminados se realizó mediante la técnica descrita por Urum *et al* (2006) <sup>(8)</sup> y mediante la técnica de bioaumentación en microcosmos (Nápoles 2005). <sup>(9)</sup> En el caso de aguas contaminadas se evaluó la aplicación de un consorcio bacteriano (*Xanthomonas* sp., *Acinetobacter bouvetii*; *Shewanella* sp.; *Defluviobacter lusatiensis*) obtenido en México y actualmente depositado en la Colección de Cultivos del CEBI. Los ensayos se realizaron en botellas que contenían 50 mL de agua de mar estéril (ME) y sin esterilizar (MSE), suplementados con 10 % de diésel e incubados en zaranda por 21 d. Este consorcio se utilizó en el biorreactor Airlift diseñado en el laboratorio para estos fines.

**Clorofenoles.** Para los ensayos de biodegradación de clorofenoles (ácido 2,4-diclorofenoxiacético, 2,4-D) se evaluaron las rizobacterias con características de promotoras del crecimiento vegetal. Se añadió 1 mL de inóculo a una concentración de  $3 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> a frascos con 100 mL de medio mineral salino con 2,4-D como única fuente de carbono. El cultivo se desarrolló en zaranda a 30 °C.

**Metales pesados.** La remoción de metales pesados de aguas contaminadas se evaluó aplicando ramnolípidos y



**Fig. 1.** Esquema del sistema de enriquecimiento secuencial para el aislamiento de cepas bacterianas degradadoras de COP a partir de suelos contaminados.

bioadsorción con biomasa microbiana seca. Se utilizó una solución de ramnolípidos de 280 mg/L siguiendo la metodología descrita por Elouzi *et al* (2014).<sup>(10)</sup>

Los experimentos de adsorción se realizaron con 0,25 gL<sup>-1</sup> de biomasa seca (*Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011), bajo agitación en zaranda a 175 rpm, pH 6,2 unidades y tiempo de contacto de 60 min.

**Proceso combinado.** Otra opción evaluada para remediar aguas contaminadas con metales pesados que a su vez contienen hidrocarburos fue la integración de los procesos de precipitación de metales pesados y biodegradación de petróleo por las bacterias *Desulfovibrio* sp. y *Pseudomonas aeruginosa* AT18 respectivamente, el cual fue realizado según el sistema experimental descrito en la figura 2, con el empleo de un sistema de reactores combinado aerobio/anaerobio/bioprecipitación.

El reactor anaerobio (bioprecipitación) operó con un cultivo de *Desulfovibrio* sp. En fase de crecimiento exponencial, cuyo efluente se hace pasar por el reactor aerobio (biodegradación) conteniendo el medio mineral y los metales pesados Cr(III), Cu(II), Mn(II) y Zn a concentraciones de 60 mgL<sup>-1</sup>, 50 mgL<sup>-1</sup>, 50 mgL<sup>-1</sup> y 80 mgL<sup>-1</sup> respectivamente, y 2 % (v/v) de una suspensión celular de *Pseudomonas aeruginosa* AT18 (DO<sub>600nm</sub> = 2), obtenida del *pellet* centrifugado (10 min, 5000 g) en fase exponencial. El seguimiento del cultivo se realizó durante los primeros 4 días cada 12 h y a partir de ahí cada 24 h, mediante la determinación de la concentración celular, pH, concentración de sulfato y concentración de sulfuro.<sup>(11)</sup>

## MÉTODOS ANALÍTICOS

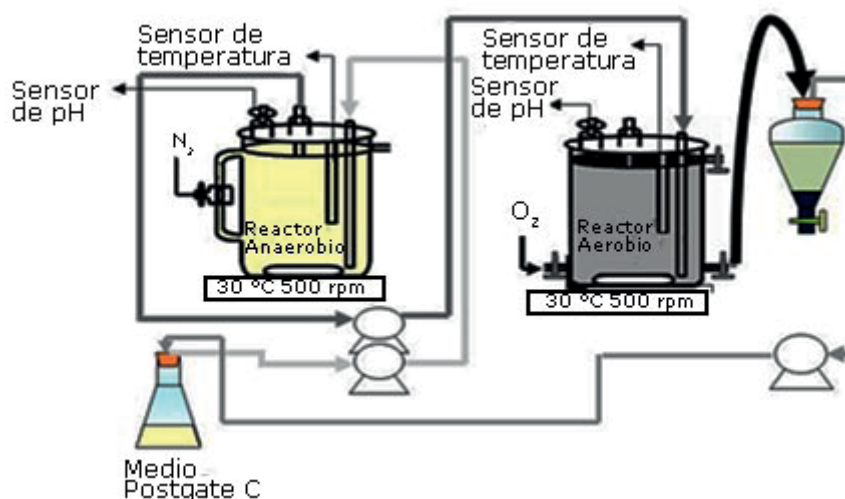
### Cuantificación del ramnolípidos (RL)

El biosurfactante se cuantificó por el método colorimétrico de la Antrona previamente validado.<sup>(12)</sup> Se tomaron 1,25 mL de medio libre de células y se mezclaron con 2,5 mL de reactivo (0,2 g de 9,10-dihidro-9-oxoantraceno por cada 100mL de ácido sulfúrico) en tubos de ensayos inmersos en agua fría (10-15 °C). Se agitaron en vórtex, se colocaron durante 15 min en baño de agua a 100 °C y se enfriaron a temperatura ambiente por 1 h.

La determinación se realizó mediante curva de calibración ( $y = 0,0096x - 0,007$ ,  $r^2 = 0,9975$ ) utilizando soluciones patrones de ramnosa entre 10 y 70 µg mL<sup>-1</sup> preparados a partir de una solución de concentración 1 g/L<sup>-1</sup>, los cuales recibieron el mismo tratamiento que las muestras. Se midió la absorbancia (Spectroquant Pharo 300 Merck) a 625 nm contra blanco de reactivo. La concentración de RL se calculó multiplicando los valores de ramnosa por el factor de corrección 3,4 para compensar la masa extra que representa la porción lipídica del RL.

### Cuantificación de hidrocarburos

Se realiza mediante la determinación de los TPH (*Total Hydrocarbon Petroleum*) por gravimetría, previa extracción líquido/líquido con n-hexano (1).<sup>(13)</sup> En todos los casos se corrigen las muestras respecto a un control y así se determina el porcentaje de biodegradación.



**Fig. 2.** Esquema del sistema empleado para la integración de los procesos precipitación de los iones metálicos Cr<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> y Zn<sup>2+</sup> por *Desulfovibrio* sp. y degradación de petróleo por *Pseudomonas aeruginosa* AT18 (CCCEBI 1044).



$$TPH(\text{mgL}^{-1}) = \frac{(\text{masa del matraz con residuo} - \text{masa del matraz vacío})}{V_m \times 1000} \quad (1)$$

Posteriormente, la fracción alifática fue analizada en un cromatógrafo de gases Termoquest Trace 2000 con detector de ionización a la llama (FID) y columna capilar OBS de 30 m de longitud x  $f_i = 0,25$  mm de diámetro interno. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura inicial 50 °C (1 min); gradiente de temperatura: 5 °C min<sup>-1</sup> hasta 320 °C y a esta temperatura durante 10 min; temperatura detectora: 320 °C; temperatura inyector: 290 °C; flujo de Helio: 1,1 mL/min<sup>-1</sup>; volumen de inyección: 1 mL. La integración de los picos se realizó con el software Chemcard y la representación gráfica de los cromatogramas se obtuvo con el software Sigmaplot 2,0. En la cuantificación de los picos se incluyó la UCM (*unresolved complex mixture*). Todas las muestras se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), con un cromatógrafo de gases HP5890 serie II y un espectrómetro de masas modelo HP5989A.

### Cuantificación de metales pesados

Las concentraciones de los metales se determinaron por espectroscopia óptica de emisión atómica mediante plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) en un espectrómetro Ametek, Alemania. Para esto, las muestras se centrifugaron a 4500 rpm en centrifuga (Neofuge 5 Heal Force, China) durante 10 min; la solución sobrenadante se filtró por medio de jeringuillas con filtros Milipore acoplado (White GSWP, 0,22 ± 0,2 µm) de 20 mm de diámetro para eliminar los sólidos que pueden interferir en el análisis, los filtrados obtenidos se conservaron a 4 °C hasta su posterior lectura.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la investigación se profundiza en el empleo de microorganismos (tabla 1) con capacidad para remover COP y metales pesados presentes en ecosistemas acuáticos y terrestres, ya sea por la producción de biosurfactantes (ramnolípidos) que aumentan la biodisponibilidad, y por ende, la extracción del contaminante, como por sus capacidades metabólicas para la biodegradación.

Se aislaron, de ambientes contaminados con hidrocarburos, 9 cepas bacterianas autóctonas. Todas se encuentran depositadas en la Colección de Cultivos del CEBI.

*Pseudomonas aeruginosa* ORA9 produce un biosurfactanteramnolípido (RL), compuesto biodegradable y poco tóxico<sup>(14)</sup> que removió el 75 % de los hidrocarburos presentes en los suelos estudiados (figura 3A),<sup>(15)</sup> efectividad superior a otras reportadas en la literatura<sup>(6)</sup> en condiciones similares, lo cual avala la aplicabilidad del RL en tareas de remediación.

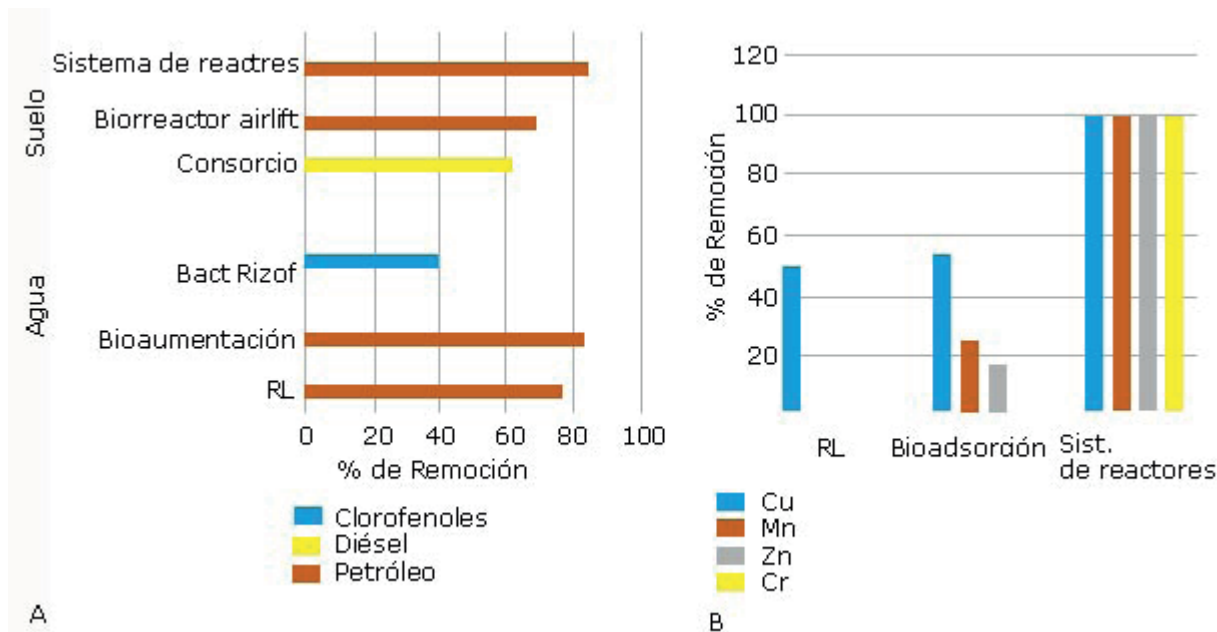
En Cuba no se tienen reportes de la producción de RL, compuestos con probadas aplicaciones no solo en actividades de biorremediación sino también en la agricultura como plaguicidas y en la industria farmacéutica y cosmética. Por primera vez, se presenta una propuesta viable para la producción de este biosurfactante a escala piloto, utilizando el aceite residual de la fritura de alimentos como materia prima barata y renovable,<sup>(16)</sup> lo que permitirá disponer de cantidades suficientes del RL para su aplicación en procesos de remediación a una escala mayor.

Por otra parte, el empleo de 4 cepas de bacilos grampositivos aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de la empresa portuaria permitió un 84 % de remoción de hidrocarburos presentes en suelos (figura 3A) aplicando

**Tabla 1.** Microorganismos utilizados en la remoción de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados

Microorganismo	Contaminante que remueve	Procedimiento de remoción empleado
* <i>P. aeruginosa</i> ORA9 (ramnolípidos)	Hidrocarburos (petróleo) Metales pesados	Lavado de suelo Quelación con ramnolípidos
* Bacilos grampositivos	Hidrocarburos (petróleo)	Biorremediación por bioaumentación (microcosmos)
* Rizobacterias	** (2,4-D)	Biodegradación
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i> AT 18 Desulfovibrio sp.	Hidrocarburos (petróleo) Metales pesados	Sistema de reactores aerobio/anaerobio/ precipitación
Consorcio bacteriano	Hidrocarburos (petróleo, diésel)	Biorreactor Airlift
* <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011	Metales pesados	Bioadsorción

\* Microorganismo autóctono, \*\*ácido 2,4-diclorofenoxiacético



**Fig. 3.** Remoción de COP (A) y metales pesados (B) obtenidos con la aplicación de técnicas biotecnológicas.

biorremediación por bioaumentación, técnica con indudables ventajas por su menor coste económico, la no afectación de otros compartimentos ambientales y la optimización de los recursos.

Por otro lado, rizobacterias de plantas herbáceas (*Scleria*, *Cyperus rotundus* y *Cynodon dactylon*) de suelos contaminados con hidrocarburos degradaron hasta el 72 % del herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D),<sup>(17)</sup> siendo el primer informe de rizobacterias aisladas de estas malezas con capacidad para degradar compuestos fenólicos y que además tienen características de promotoras del crecimiento vegetal, lo que sugiere el potencial de estas herbáceas para aislar bacterias con la capacidad de degradar los clorofenoles y la posibilidad de asociarlas a sistemas de fitorremediación.

En el tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos (figura 1A) se utilizó un consorcio bacteriano (tabla 1), que en los primeros 10 d del estudio, removió el 62 % de hidrocarburos (diésel) en agua de mar,<sup>(18)</sup> demostrándose la efectividad y ventajas del consorcio sobre cultivos puros, atribuidas a los efectos sinérgicos que se establecen entre sus miembros. Este mismo consorcio removió el 69 % de hidrocarburos de aguas contaminadas por el proceso productivo de la Refinería de Petróleo Hermanos Díaz de Santiago de Cuba, utilizando un biorreactor airlift diseñado en condiciones de laboratorio, constituyendo novedad el empleo de este sistema biológico para la remoción de hidrocarburos de aguas contaminadas.

La remediación de la contaminación por metales pesados constituye un desafío, debido a que no pueden ser degradados. En la investigación se presentan los resultados de la

remoción de Cu, Zn y Mn de aguas contaminadas de la laguna formada en la antigua mina de cobre de Santiago de Cuba (figura 3B), con el objetivo de reducir la contaminación por estos metales en este ecosistema acuático. Con la aplicación de una solución de RL (280 mg L<sup>-1</sup>) se obtuvo, en 10 h de contacto, un 50 % de remoción de Cu. El tiempo de contacto y la relación RL/agua fueron los factores de mayor influencia en la remoción.

Como alternativa al empleo de biosurfactantes, se utilizó la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 alcanzándose 52 %, 23 % y 14 % de remoción de Cu, Zn y Mn, respectivamente, y se determinó además la influencia del pH en el proceso de adsorción.<sup>(19)</sup> Se observa en todos los casos aumento de la adsorción con el transcurso del tiempo hasta los 60 min, tiempo a partir del cual no se aprecia aumento considerable del proceso. Los resultados infieren que la bioadsorción del cobre, manganeso y zinc es dependiente del tiempo, lo cual sugiere que la retención del ión, puede ser por la interacción con grupos funcionales localizados en la superficie de la biomasa utilizada. A partir de los 60 min de contacto del bioadsorbente con las soluciones estudiadas, se adsorbe el 46,2 % del cobre (II), el 65,0 % del zinc y el 42,3 % del manganeso (II) existente en el medio, alcanzando rápidamente el equilibrio. De acuerdo a los resultados, el metal mejor adsorbido fue el zinc, seguido por el cobre (II) y luego el manganeso (II), aunque se debe destacar que el zinc fue el de menor concentración de partida (4,0 mg/L<sup>-1</sup>) y cobre (II) la mayor concentración (45,0 mg/L<sup>-1</sup>).

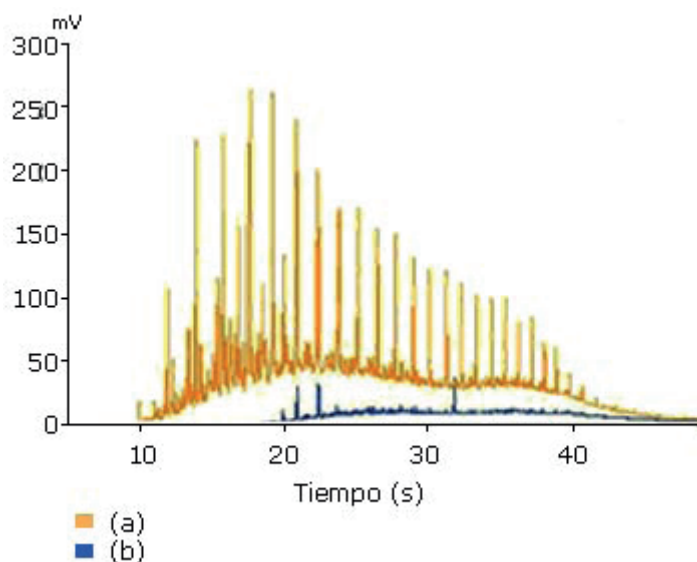
Este trabajo constituye el primer reporte de acciones de tratamiento directo de las aguas de la Laguna azul del Cobre, <sup>(20)</sup> sitio que por su ubicación geográfica en las proximidades del santuario de Nuestra Señora de la Caridad del Cobre, puede convertirse en un espacio con fines recreativos, turísticos, de conservación de la biodiversidad, la acuicultura, la irrigación y como abasto de agua para otras actividades mineras que se desarrollan en la zona, en un marco donde a nivel mundial se realizan ingentes esfuerzos para la recuperación y protección del vital líquido.

También se evaluó el empleo de un sistema de reactores aerobios/anaerobios/precipitación para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con hidrocarburos y metales pesados, utilizando *Pseudomonas aeruginosa* AT18 y *Desulfovibrio* sp, donde se obtuvo la total remoción de los metales y un 84 % de degradación hidrocarburos en 20 d (figura 3B). Los resultados del análisis por cromatografía gaseosa (figura 4) evidencian la degradación total de las fracciones correspondientes a n-alcános, isoprenoides y naftenos, quedando solo

sin degradar parte de los hidrocarburos aromáticos, degradación que es atribuida fundamentalmente a *Pseudomonas aeruginosa* AT18, aunque existe la posibilidad de que parte de los hidrocarburos presentes en la mezcla compleja del petróleo Mesa 30/Puerto Escondido sea debido a la acción de *Desulfovibrio* sp. Este constituye el primer reporte de la utilización de una combinación de reactores aerobio/anaerobio/precipitación para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con hidrocarburos y metales pesados, en un mismo sistema. <sup>(11)</sup>

## Conclusiones

Los ensayos realizados demostraron las potencialidades de la microbiota autóctona, para la remediación de aguas y suelos contaminados con COP y metales pesados. Los resultados promisorios a escala de laboratorio, son escalables y constituyen herramientas nuevas y útiles para implementar un paquete tecnológico para la remoción de estos contaminantes.



**Fig. 4.** Perfil cromatográfico del crudo Mesa 30/Puerto Escondido: (a) antes y (b) después del tratamiento con *Pseudomonas aeruginosa* AT18 a las 480 h de cultivo en sistema de tratamiento integrado precipitación-biodegradación.

## Agradecimientos

Los autores del trabajo agradecen a la Universidad de Oriente, Programa Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), Secretaría de Estado de Cooperación Internacional (España), Consejería de la Presidencia de la Junta de Andalucía. Proyectos de cooperación Internacional en el Ámbito Universitario, Agencia Universitaria de la Francofonía (AUF) Buró Caribe, Embajada de Francia en Cuba, Secretaría de Relaciones Exteriores de México, Programa VLIR-UO y Programa CAPES-MES por el financiamiento a los proyectos que sus-

tentaron la investigación desarrollada. También agradecen a las instituciones que colaboraron con la consecución de los resultados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Usman M, Dadrasnia A, Lim K, Mahmud A, Ismail S. Application of biosurfactants in environmental biotechnology; remediation of oil and heavy metal., AIMS Bioengineering. 2016;3(3):289-304.
2. Khalid S, Shahid M, Niazi N, Murtaza B, Bibi I, Dumat C. A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. J. Geochem. Explor. 2016;182:247-68.



3. Bergey's. Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Segunda edición. Garrity G.M y otros (eds.). Springer. 2001.
4. Siegmund I, Wagner F. New method for detecting rhamnolipids excreted by *Pseudomonas* species during growth on mineral agar. Biotechnol. Techniques. 1991;5(4):265-8.
5. Jain D, Collins-Thompson D, Lee H. A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms. J. Microbiol. Methods. 1991;13(4):271-9.
6. Morikawa M, Hirata Y, Imanaka T. A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants. Biochim Biophys Acta. 2000; 1488(3):211-8.
7. Pérez RM, Camacho M., Gómez JM, Abalos A, Cantero D. Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2008;39(1):44-51.
8. Urum K, Grigson S, Pekdemir T, McMenamy S.A comparison of the efficiency of different surfactants for removal of crude oil from contaminated soils. Chemosphere. 2006;62:1403-10.
9. Nápoles J, Marañón A, Cumbá F, Anllo Y, Abalos A. Tratabilidad de suelos contaminados con petróleo aplicando microcosmos. Rev. Cubana de Química. 2005;XVII(1):179-88.
10. Elouzi A, Akasha A, Elgerbi A, El-Baseir M, El Gammudi B. Removal of heavy metals contamination by bio-Surfactants (Rhamnolipids). J. Chem. Pharm. Res. 2012;4(9):4337-41.
11. Pérez RM, Cabrera G, Gómez JM, Abalos A, Cantero D. Combined strategy for the precipitation of heavy metals and biodegradation of petroleum in industrial wastewaters. J. Hazard. Mater. 2010;182:896-902.
12. Rodríguez O., Vilasó JE., Aguilera I, Pérez RM, Abalos A. Validación por verificación del método colorimétrico de la antrona para la cuantificación de ramnolípidos. Rev Cubana de Química. 2013. XXV(3):287-94.
13. American Press. Health Association (APHA). Standard Methods for the examination of water and wastewater. 23th edition. USA: Washington DC. USA; 2017.
14. Rodríguez O, Abalos A, Vilasó J, Cabrera JG. Screening and Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria Isolated from Contaminated Soils with Oily Wastes. J. Environ. Treat. Tech.2017;5(1):5-11.
15. Vilasó JE, Rodríguez O, Abalos A. Extracción de petróleo en suelo contaminado empleando ramnolípidos producidos por *Pseudomonasaeruginosa* ORA9. Rev. Int. Contam. Ambie. 2017; 33(3): 485-493.
16. Rodríguez O, Nápoles J, González Y, Abalos A. Simulación de propuestas tecnológicas para la producción de ramnolípidos ORA9 a escala piloto. Rev. Tecnología. Química, 2019;39(3):638-54.
17. Pérez I, Meriño L, Pérez RM, Abalos A, Weyens N, Cuypers A. Plantas herbáceas de ambientes contaminados como fuentes de bacterias degradadoras y promotoras del crecimiento vegetal. Cultivos Tropicales.2019;40(2)e01.
18. Nápoles J, Bahín L, Gutiérrez M, Del Toro D, Abalos A. Degradación de diésel en agua de mar utilizando un consorcio bacteriano. Rev. Tecnología Química. 2019;39(2):397-412.
19. Fernández M, Calzado O, Cascaret D, Pérez RM. Factores de mayor influencia en la adsorción de metales pesados por biomasa seca de *Kluyveromycesmarxianus* CCEBI 2011. Rev. Cubana de Química,2018;38(2):335-45.
20. Rodríguez O., Laffont-Schwob I., Aguilera I., Pascale P., Laurent V., Pérez R., Petit ME., Acebal AT., Masotti V., Perraud I. y Abalos A. Assessment of water quality from the Blue Lagoon of El Cobre mine in Santiago de Cuba: A preliminary study for water reuse. Environ. Sci. Pollut. Res., 2019;26:16366-77

---

Recibido: 30/05/2021

Aprobado: 30/08/2021

---

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

### Contribuciones de los autores

Conceptualización: Arelis Abalos Rodríguez

Curación de datos: Odalys Rodríguez Gámez, Rosa María Pérez Silva, Irasema Pérez Portuondo, Janet Nápoles Álvarez, Rocío Pérez Macías, Leonardo Bahín Deroncelé, Leydis Milenes Santos Montoya  
Análisis formal: Rodríguez Gámez, Rosa María Pérez Silva, Irasema Pérez Portuondo, Janet Nápoles Álvarez

Adquisición de fondos: Arelis Abalos Rodríguez, Isabelle Laffont-Schwob, José Gregorio Cabrera Gómez

Investigación: Odalys Rodríguez Gámez, Rosa María Pérez Silva, Irasema Pérez Portuondo, Janet Nápoles Álvarez, Rocío Pérez Macías, Leonardo Bahín Deroncelé, Leydis Milenes Santos Montoya  
Metodología: Odalys Rodríguez Gámez, Rosa María Pérez Silva Janet Nápoles Álvarez

Administración del proyecto: Arelis Abalos Rodríguez, Isabelle Laffont Schwob, José Gregorio Cabrera Gómez

Recursos: Isabelle Laffont-Schwob, José Gregorio Cabrera Gómez  
Supervisión: Arelis Abalos Rodríguez, Isabelle Laffont Schwob, José Gregorio Cabrera Gómez

Validación: Arelis Abalos Rodríguez

Visualización: Odalys Rodríguez Gámez, Rosa María Pérez Silva, Irasema Pérez Portuondo, Janet Nápoles Álvarez

Redacción-borrador original: Odalys Rodríguez Gámez, Rosa María Pérez Silva

Redacción-revisión y edición: Arelis Abalos Rodríguez

### Financiación

Este trabajo fue financiado por 4 proyectos institucionales de la Universidad de Oriente, 1 Proyecto Ramal (Protección del Medio Ambiente y el Desarrollo Sostenible Cubano) y 8 Proyectos internacionales (Programa CYTED, Secretaría de Estado de Cooperación Internacional (España), Consejería de la Presidencia de la Junta de Andalucía, AUF Buró Caribe, Embajada de Francia en Cuba, Secretaría de Relaciones Exteriores de México, Programa VLIR-UO y Programa CAPES-MES)

### Cómo citar este artículo

Abalos Rodríguez A, Rodríguez Gámez O, Pérez Silva RM, Nápoles Álvarez J *et al.* Evaluación del empleo de microorganismos en la remoción de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba [internet] 2022[citado en día, mes y año];12(1): e1055. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1055>

