



## ARTÍCULO ORIGINAL

## Remoción de plomo por rizobacterias aisladas de humedales: efecto de factores implicados en el proceso

*Lead removal by rhizobacteria isolated from wetlands: effect of factors involved in the process*

Armando Martínez-Sardiña<sup>1</sup>, Jasmany H. Sardiñas-del Río<sup>1</sup>, Maira M. Pérez-Villar<sup>2</sup>, Margie Zorrilla-Velazco<sup>2</sup>, Irina Salgado-Bernal<sup>1</sup>, Lizandra Pérez-Bou<sup>1</sup>, Sheyla Alleyne-Veitía<sup>3</sup>, Odalys Collazo-García<sup>3</sup>, María E. Carballo-Valdés<sup>1\*</sup>

### RESUMEN

1 Departamento de Microbiología y Virología. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba

2 Centro de Estudio de Química Aplicada, Facultad Química Farmacia. Universidad Central de las Villas. Cuba

3 Laboratorio LUCES. Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad de La Habana. Cuba.

La presencia de metales pesados en los efluentes domésticos e industriales es un problema a nivel mundial y su solución es un reto para el saneamiento ambiental. Para la eliminación de especies metálicas de los efluentes contaminados, los sistemas biológicos como los microorganismos constituyen una alternativa ecológica y eficiente. El objetivo del trabajo fue determinar en rizobacterias la capacidad de remover  $Pb^{2+}$  presente en soluciones acuosas, el efecto del tiempo de contacto y del pH en el proceso. Se emplearon 24 cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de las plantas *Heliconia rostrata* y *Cyperus* sp. plantadas en humedales artificiales y de *Typha dominguensis*, planta perteneciente a humedales naturales. Todas las biomasas bacterianas mostraron capacidad para remover el plomo y de ellas el 84,61 % logró capturar concentraciones superiores a los 20  $mg.g^{-1}$  del metal. En tres de las rizobacterias más promisorias se evidenció la rapidez del proceso, siendo suficiente 0,5h para alcanzar porcentajes de captura entre 36,8 y 85,5 %. Además, presentaron a pH 6,0 la mayor remoción de  $Pb^{2+}$  con valores desde 29 a 35,8  $mg.g^{-1}$ . Estos resultados, indican las potencialidades de las rizobacterias para ser empleadas en la eliminación o disminución de la contaminación por plomo en aguas residuales.

\*Autoras para correspondencia: [mecarballo@fbio.uh.cu](mailto:mecarballo@fbio.uh.cu)

**Palabras clave:** rizobacteria, plomo ( $Pb^{2+}$ ), remoción, pH, tiempo de contacto

### ABSTRACT

*The presence of heavy metals in domestic and industrial effluents is a worldwide problem and its solution is a challenge for the environmental sanitation. For the elimination of metallic species from contaminated effluents, biological systems such as microorganisms constitute an ecological and efficient alternative. In the present research the ability of rhizobacteria to remove  $Pb^{2+}$  present in aqueous solutions, the effect of contact time and pH in the process was determined. Twenty-four bacterial strains isolated from the rhizosphere of the plants *Heliconia rostrata* and *Cyperus* sp. planted in artificial wetlands and *Typha dominguensis*, a plant belonging to natural wetlands, were used. All the bacterial biomasses showed capacity to remove lead and the 84.61 % of them*

Recibido: 2022-10-23

Aceptado: 2022-12-17

achieved to uptake concentrations greater than  $20 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  of the metal. In three of the most promising rhizobacteria the speed of the process was evident, being enough 0.5h to reach uptake percentages between 36.8 and 85.5 %. In addition, they presented at pH 6.0 the highest  $Pb^{2+}$  removal with values from 29 to  $35.8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ . These results indicate the potential of rhizobacteria to be use in the elimination or reduction of lead contamination in wastewater.

**Keywords:** rhizobacteria, lead ( $Pb^{2+}$ ), removal, pH, contact time

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la elevada demanda de agua potable constituye uno de los principales problemas a nivel mundial. Este recurso natural, luego de ser utilizado y contaminado, frecuentemente se vierte como agua residual de origen doméstico e industrial a los cuerpos de agua superficiales, sin previo tratamiento (Carballo *et al.*, 2011; Montalván *et al.*, 2014; Pimentel *et al.*, 2018). El deterioro de estos ecosistemas acuáticos por la presencia de compuestos químicos que incluye a los metales (Kumar *et al.*, 2016; Fawzy *et al.*, 2017; Hernández-Baranda *et al.*, 2021) ha generado una significativa preocupación debido a la utilidad de los recursos hídricos en el sustento de la vida en el planeta (Larramendi *et al.*, 2021).

En Cuba existen diferentes sistemas de aguas naturales contaminados por elementos metálicos, a consecuencia también del vertido en los ecosistemas acuáticos de aguas residuales sin tratamiento o tratadas deficientemente (Carballo *et al.*, 2011; Montalván *et al.*, 2014). Entre estos cuerpos de agua contaminados se encuentra el río Almendares, en ciudad de La Habana, donde se ha detectado la presencia de iones metálicos como  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  y  $Cr^{2+}$  en el agua y/o sedimento (Cazorla *et al.*, 2005; Graham *et al.*, 2011; Santana *et al.*, 2015; Hernández-Baranda *et al.*, 2021).

El riesgo que representan las diferentes especies metálicas es que pueden ser muy dañinas para las células vivas con efectos tóxicos que se manifiestan a través de la cadena trófica con una mayor repercusión en el nivel más elevado, los seres humanos (Keramati *et al.*, 2011). En particular el  $Pb^{2+}$  influye desfavorablemente en el crecimiento y sobrevivencia de comunidades microbianas (Pérez-Cordero *et al.*, 2015). Además, puede ocasionar efectos adversos a la salud humana (Mielke *et al.*, 2007; 2011), tales como daños en los riñones y en los sistemas reproductivo, nervioso, cardiovascular y hematopoyético (Chen *et al.*, 2019). También provoca alteraciones en el sistema endocrino, genotoxicidad, inhibición de la actividad

enzimática, muerte celular y problemas inflamatorios (Devóz, 2017).

Para la eliminación de las especies metálicas, contaminantes de aguas residuales, se han aplicado métodos físicos y químicos (Bahobil *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2018), los que pueden presentar desventajas tales como costos elevados, limitada efectividad a bajas concentraciones de las especies metálicas ( $1\text{-}100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y provocar contaminaciones secundarias (Kumar *et al.*, 2016; Alegre y Gutiérrez, 2021). Estas tecnologías pueden complementarse con métodos más amigables con el medio ambiente, como los biotecnológicos, enfocados en el uso de biosorbentes naturales, de bajo costo y renovables, entre las que se destacan las biomasas microbianas que pueden capturar los metales pesados presentes en efluentes, por su amplia diversidad estructural y metabólica que las caracteriza (Infante *et al.*, 2014; Pérez *et al.*, 2016; Migahed *et al.*, 2016; Carballo *et al.*, 2017). Estos sistemas biológicos representan una alternativa económica, eficiente y ecológica (Li *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2017).

Teniendo en cuenta que la remoción de metales pesados de las aguas es de vital importancia en términos de protección de la salud pública y el medio ambiente, el objetivo del presente trabajo fue determinar en rizobacterias la capacidad de remover  $Pb^{2+}$  presente en soluciones acuosas, el efecto del tiempo de contacto y del pH en el proceso.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Microorganismos

Se utilizaron 24 cepas bacterianas rizosféricas procedentes de las plantas *Heliconia rostrata* (JC-1, JC-3, JC-4, JC-5, JC-6), *Cyperus* sp. (JH-15, JH-16, JH-18, JH-19, JH-20, JH-21, JH-22, JH-23) y *Typha dominguensis* (T-113, T-115, T-125, T-217, T-311, T-117, T-119, T-229, T-316, T-1113, T-1115). *H. rostrata* y *Cyperus* sp. se encontraban plantadas en humedales artificiales, a escala de laboratorio para el tratamiento de aguas procedentes de la industria

textil y aguas residuales contaminadas con metales, respectivamente. Estos humedales fueron construidos en el Centro de Estudio de Química Aplicada, Facultad Química Farmacia, Universidad Central Marta Abreu de Villa Clara, Cuba. Las plantas de *T. domingensis* se seleccionaron de humedales naturales ribereños, en el río Almendares, La Habana, Cuba.

Todas las rizobacterias pertenecen a la Colección de Cultivos Microbianos de la Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

#### Obtención de la biomasa bacteriana

A partir de la obtención del preinóculo de cada bacteria a  $30 \pm 2^\circ C$  durante 24 h, en medio Caldo nutriente y en agitación a  $120 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , se propagaron las biomazas en Erlenmeyer de 1 000 mL con un volumen efectivo de 400 mL del mismo medio de cultivo, inoculado al 10 %. Los cultivos se incubaron a las condiciones referidas anteriormente. La colecta de la biomasa bacteriana se realizó por centrifugación 5 000 g durante 20 minutos y posteriormente se reprecipitaron con agua bidestilada a 8 000 g por diez minutos.

#### Determinación de la remoción de $Pb^{2+}$ por rizobacterias

Las biomazas bacterianas se pusieron en contacto con la solución de iones plomo, preparada en agua bidestilada estéril a partir de  $Pb(NO_3)_2$ . La proporción biomasa-metal fue de  $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}:1 \text{ mM}\cdot\text{L}^{-1}$ . La suspensión microorganismo-metal se colocó en zaranda orbital a  $120 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  a  $28 \pm 2^\circ C$ , se ajustó y controló el pH a 6,0 con HCl (0,1 M) o NaOH (0,1 M), según se requirió durante 24 h, condiciones que se utilizaron como control de los siguientes experimentos. El sobrenadante se colectó, se colectó el sobrenadante por centrifugación a 8 000 g durante 10 minutos y se conservó a  $4^\circ C$  hasta su análisis. Como control negativo se utilizó la solución de metal libre de microorganismo.

#### Evaluación del efecto del tiempo de contacto en la remoción de $Pb^{2+}$

Durante 24 horas de contacto entre la biomasa y los iones  $Pb^{2+}$  se tomaron 2 mL de muestras a los siguientes tiempos:  $T_0 = 0$ ;  $T_1 = 0,5$ ;  $T_2 = 1$ ;  $T_3 = 6$ ;  $T_4 = 8$ ;  $T_5 = 8$ ;  $T_6 = 22$ ;  $T_7 = 24$  h. En cada tiempo el sobrenadante con el metal residual se colectó por centrifugación a 8 000 durante 10 minutos y se conservó a  $4^\circ C$  para su posterior análisis.

#### Evaluación del efecto del pH en la remoción de $Pb^{2+}$

Se emplearon tres valores de pH (5,0; 6,0 y 7,0) durante el experimento de biosorción del metal. En cada caso el pH fue controlado y ajustado por adición de NaOH (0,1M) o HCl (0,1M), según se requirió, a diferentes intervalos de tiempo durante las 24 horas de contacto entre la biomasa y el metal.

#### Análisis del metal residual

El análisis del  $Pb^{2+}$  residual se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica Phillips PU 9100X con llama de aire-acetileno, la corriente de la lámpara utilizada fue de 10mA y la  $\lambda=217\text{nm}$ . La cantidad de metal capturado, (mg por gramo de biomasa) fue determinada según la siguiente ecuación:  $q = (C_i - C_f) V/m$  (Viera y Volesky, 2003), donde q: mg de metal capturado por gramo de biomasa ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  $C_i$  y  $C_f$ : concentración inicial y residual del metal ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), V: volumen de la solución (L) y m: masa del biosorbente (g).

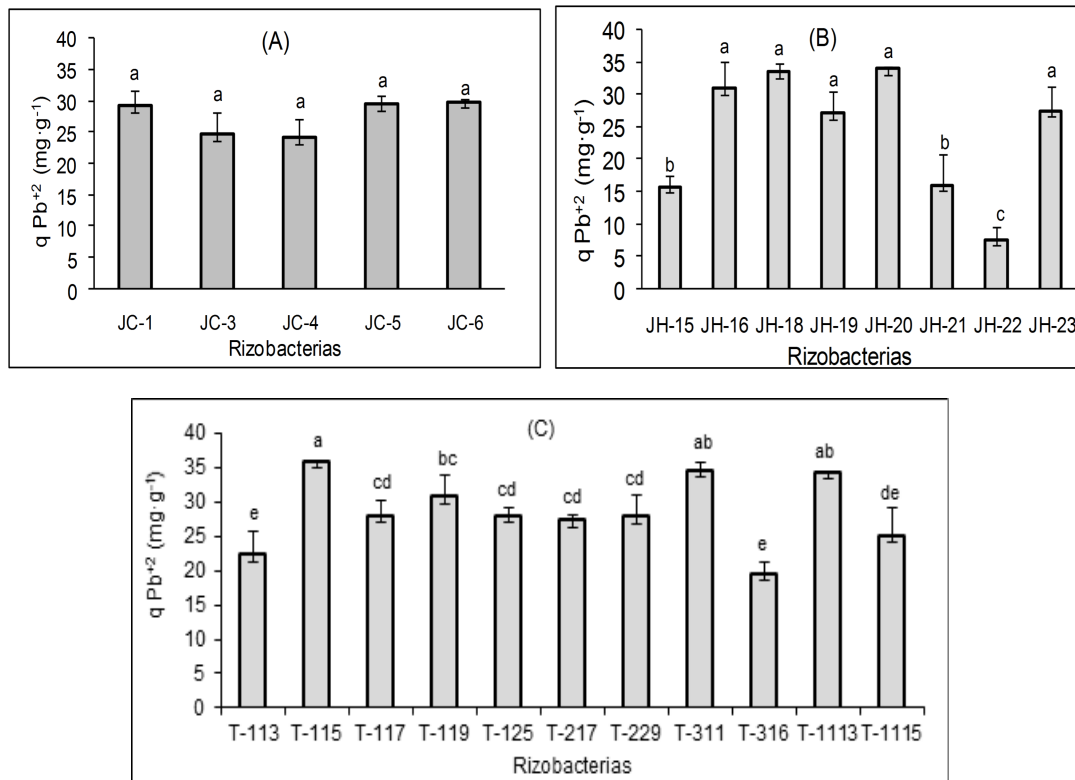
#### Análisis biométricos

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. A los datos se les comprobó la normalidad y homogeneidad de varianza mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Bartlett, respectivamente. Posteriormente se aplicó ANOVA de clasificación simple, y prueba de Tukey *a posteriori* para la comparación de más de dos medias, referidas a los niveles de remoción (q) a un nivel de significación de 0.05. En el caso de los valores de (q) que no cumplieron con la premisa de homogeneidad de varianza ni normalidad se les aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis con comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman. Para el procesamiento estadístico se empleó el programa de computación Microsoft Excel y el paquete de programas estadístico Statistica 8.0 para Windows.

## RESULTADOS

#### Remoción de iones plomo por rizobacterias

Las rizobacterias presentaron la capacidad de remover el  $Pb^{2+}$  de la solución acuosa, con valores que oscilaron entre  $7,74 \pm 1,738$  y  $35,88 \pm 0,042 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (Fig. 1 A, B y C). Se aprecia que las cinco rizobacterias, procedentes de *Cyperus* sp. (Figura 1A) no mostraron diferencias significativas entre sí. En el caso de las cepas del suelo rizosférico de *Heliconia rostrata* y de *Typha domingensis*, Fig. 1B y 1C, respectivamente, se



**Figura 1.** Remoción de  $Pb^{2+}$  de solución acuosa por rizobacterias.

Condiciones experimentales:  $28 \pm 2^\circ C$ , pH-6,0, metal en solución-1mM, biomasa  $2 g.L^{-1}$ , agitación a  $120 r.min^{-1}$ , 24 h.,  $q = mg$  de metal capturado por gramo de biomasa. A- rizobacterias de *Cyperus sp.*, B- rizobacterias de *Heliconia rostrata*, C- rizobacterias de *Typha dominguensis*. Barras de error representan desviación estándar ( $n=3$ ). Se aplicó ANOVA para los microorganismos analizados en los gráficos A y B. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre los valores de ( $q$ ) de los microorganismos para  $p < 0.05$ , según la prueba estadística *Tukey a posteriori*. En el gráfico C se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y posteriormente el procedimiento de Conover-Iman.

**Figure 1.** Removal of  $Pb^{2+}$  from aqueous solution by rhizobacteria.

Experimental conditions:  $28 \pm 2^\circ C$ , pH-6.0, metal solution 1mM, biomass  $2 g.L^{-1}$ , shaking  $120 r.min^{-1}$ , 24h.,  $q = mg$  of metal captured per gram of biomass. A- rhizobacterias of *Cyperus sp.*, B- rhizobacterias of *Heliconia rostrata*, C- rhizobacterias of *Typha dominguensis*. Error bars represent standard deviation ( $n=3$ ). Simple classification ANOVA was applied for the microorganism analyzed in graphs A and B. Different letters indicate significant differences among isolates' removal levels ( $p < 0.05$ , statistical test *Tukey's a posteriori*). In graph C, the non-parametric Kruskal-Wallis test was applied followed by the Conover-Iman procedure.

detectó una mayor variedad en cuanto a sus capacidades de capturar el metal, resultado sustentado estadísticamente. El 84,61 % de las cepas bacterianas lograron capturar los iones metálicos con valores superiores a  $20 mg.g^{-1}$ .

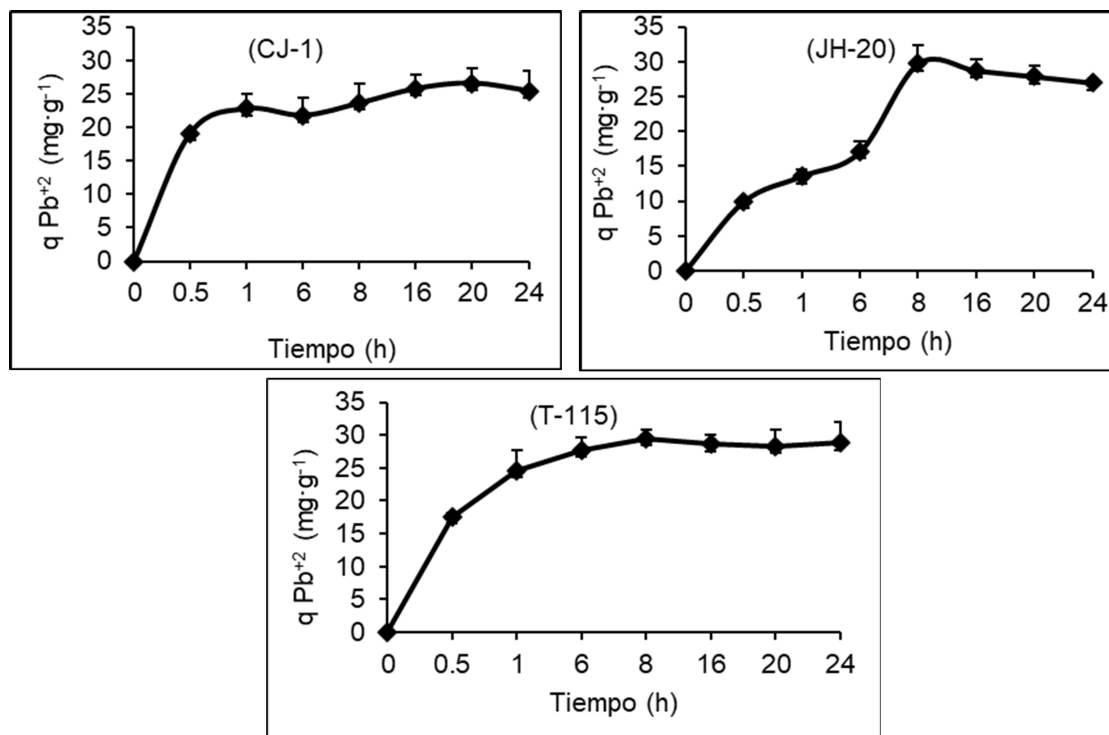
#### Efecto del tiempo de contacto biomasa-metal sobre la remoción de los iones plomo

En la figura 2 se observa la remoción del plomo en el tiempo por tres de las cepas de rizobacterias (JC-1, JH-20, T-115) seleccionadas al azar entre las de mayor capacidad de captura del metal (Fig. 1 A, B, C). Se evidenció que el proceso de remoción por las

biomasas bacterianas es rápido en las primeras horas y después tiende a alcanzar un equilibrio. Este comportamiento fue más acentuado en las cepas JC-1 y T-115 que alcanzaron valores de captura de los iones  $Pb^{2+}$  a las 0,5h de contacto con el metal que se corresponden con porcentajes de remoción de 75,89 y 85,5 %, respectivamente.

Para estas dos cepas 8h resultaron ser suficientes para lograr el equilibrio entre la biomasa y la especie metálica con valores elevados de captura del plomo.

Una conducta diferente se pudo apreciar por la cepa JH-20 que a las 0,5 horas inmovilizó en su biomasa



**Figura 2.** Cinética de remoción de  $Pb^{2+}$  en solución acuosa por rizobacterias.

Condiciones experimentales:  $28 \pm 2^\circ C$ , pH-6,0, metal en solución-1mM, biomasa  $2 g \cdot L^{-1}$ , agitación a  $120 r \cdot min^{-1}$ ,  $q = mg$  de metal capturado por gramo de biomasa. Barras de error representan desviación estándar ( $n=3$ ).

**Figure 2.** Removal kinetics of  $Pb^{2+}$  in aqueous solutions by rhizobacteria.

Experimental conditions:  $28 \pm 2^\circ C$ , pH-6.0, metal solution 1mM, biomass  $2 g \cdot L^{-1}$ , shaking  $120 r \cdot min^{-1}$ .  $q = mg$  of metal captured per gram of biomass. Error bars represent standard deviation ( $n=3$ ).

solo el 36,8% del plomo y en una segunda fase alcanzó, a las 8h, la máxima capacidad de remoción, seguida por una ligera disminución hasta las 24h con tendencia al equilibrio entre la biomasa y el metal. A partir de ese comportamiento se puede inferir que el tiempo de contacto más adecuado para esta rizobacteria correspondería entre las 16 y 24h.

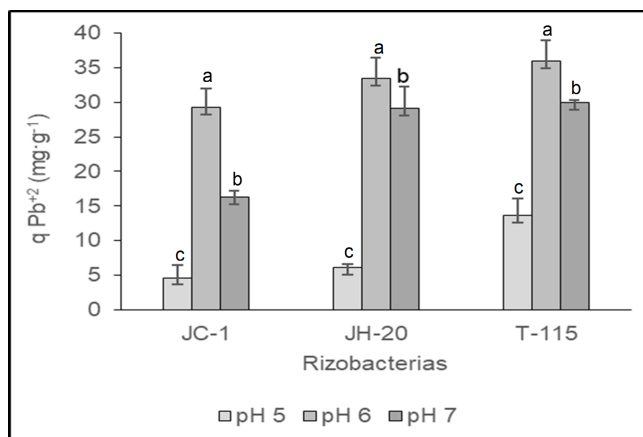
#### Efecto del pH sobre la remoción de los iones $Pb^{2+}$

El efecto del pH en la remoción bacteriana del metal se muestra en la figura 3. A pH 6,0 se obtuvieron los mayores valores de captura del plomo, resultados que difirieron estadísticamente de los detectados a los otros valores de pH en cada rizobacteria. En todas las cepas bacterianas a pH 5,0 se detectaron los más bajos valores de remoción de los iones, con reducciones entre el 61 y 84 % en la captura de la especie metálica con respecto a los resultados del control (pH 6,0).

## DISCUSIÓN

La capacidad de capturar los iones metálicos de  $Pb^{2+}$  que presentaron el 84,61% de las rizobacterias con valores superiores a  $20 mg \cdot g^{-1}$  (Fig. 1 A, B y C), indica las potencialidades de las mismas para ser empleadas en la eliminación o disminución de la contaminación de aguas residuales por este metal.

Lo anterior se sustenta en que un biosorbente con capacidad de capturar metales a valores superiores a  $15 mg \cdot g^{-1}$ , resulta adecuado para competir o complementarse con tecnologías físicas y químicas utilizadas para estos fines (Brierley *et al.*, 1986; Cañizares-Villanueva, 2000). Además, se pone de manifiesto la afinidad por el plomo que presentan las rizobacterias ensayadas. Este comportamiento se ha informado para diferentes especies metálicas en otras bacterias, así como en hongos, levaduras y microalgas. Estas biomásas microbianas resultan



**Figura 3.** Efecto del pH en la remoción  $Pb^{2+}$  por rizobacterias

Condiciones experimentales:  $28 \pm 2^\circ C$ , metal en solución-  $1mM \cdot L^{-1}$ , biomasa  $2 g \cdot L^{-1}$ , agitación a  $120 r \cdot min^{-1}$ , 24 h. Barras de error representan desviación estándar de tres repeticiones por pH. Se aplicó ANOVA de clasificación simple para cada microorganismo analizado. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre los valores de (q) de los diferentes pH para  $p < 0.05$ , según la prueba estadística *Tukey a posteriori*.

**Figure 3.** Effect of pH on  $Pb^{2+}$  removal by rhizobacteria.

Experimental conditions:  $28 \pm 2^\circ C$ , metal solution  $1mM$ , biomass  $2 g \cdot L^{-1}$ , shaking  $120 r \cdot min^{-1}$ , 24h.  $q = mg$  of metal captured per gram of biomass. Error bars represent standard deviation ( $n=3$ ). Simple classification ANOVA was applied for each microorganism analyzed. Different letters indicate significant differences between the values of (q) of the different pH ( $p < 0.05$ , statistical test *Tukey's a posteriori*).

alternativas factibles para la remoción de metales (Ghaima *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017; Choińska-Pulita y Sobolczyk-Bednareka, 2018).

Las interacciones que se establecen entre las rizobacterias ensayadas con el metal, pueden ser consecuencia del funcionamiento de la acumulación extracelular o biosorción.

En este mecanismo la captura ocurre de forma pasiva e independiente de la actividad metabólica, a través de submecanismos como la adsorción física, el intercambio iónico, la precipitación inorgánica o la combinación de estos procesos, los que involucran a la pared celular (Salgado *et al.*, 2015; Choińska-Pulita y Sobolczyk-Bednareka, 2018). En consideración a lo anterior, si se tiene en cuenta que estas bacterias son Gram positivas, el peptidoglicano facilita el enlace de los iones metálicos a los sitios activos con cargas negativas presentes en el mismo (Salgado *et al.*, 2015; Jaafar *et al.*, 2016). Entre los grupos aniónicos que dispone este componente estructural están los carboxilos y fosfatos, con carga negativa, de los ácidos teicoicos, que interactúan con los cationes metálicos (Goswami *et al.*, 2017; Demircan y Memon, 2022).

Otro posible mecanismo responsable de la remoción de los metales pesados en las rizobacterias evaluadas es la bioacumulación o acumulación intracelular, que

depende del metabolismo microbiano activo ya que está mediado por sistemas de proteínas transportadoras que pueden incorporar al citosol los metales (Marrero *et al.*, 2007; Segun y Oluranti, 2017). A partir de la presencia de los iones metálicos en el interior celular, estos pueden ser atrapados por proteínas enlazadoras de metales como las metalotioneínas, secuestrados en gránulos citoplasmáticos o ser transformados por acciones enzimáticas (Fosso y Mulaba, 2017).

Estudios previos avalan las capacidades de los microorganismos y en particular de las bacterias de capturar diferentes especies metálicas, dado fundamentalmente por la composición celular, así como por sus características fisiológicas, metabólicas y genéticas (Infante *et al.*, 2014; Pérez *et al.*, 2016; Carballo *et al.*, 2017; Fawzy *et al.*, 2017). Diferentes investigaciones confirman la remoción de  $Pb^{2+}$ , por *Enterobacter cloacae* AB6 (Suriya *et al.*, 2013), *Bacillus subtilis* FZUL-33 (Cheng *et al.*, 2016) y los géneros *Pseudomonas* y *Proteus* (Choińska-Pulita y Sobolczyk-Bednareka, 2018).

Si bien la remoción de metales pesados es posible con bacterias aisladas de ambientes no contaminados sin enriquecimiento previo, cepas bacterianas más resistentes, frecuentemente correlacionadas con el

nivel de contaminación en un ambiente resultan más prometedoras (Ortiz *et al.* 2017; Castro y Marin, 2018). Es importante tener en cuenta que microorganismos aislados de sitios impactados por contaminación aumenta las probabilidades de encontrar una mayor diversidad de respuestas frente a los compuestos contaminantes (Haferburg y Kothe, 2007; Samuel *et al.*, 2012, 2013), probablemente por los mecanismos de adaptación que desarrollan en estas condiciones. Entre las potencialidades de las bacterias rizosféricas se destaca su contribución a la desintoxicación de ambientes con concentraciones de metales, superiores a las permisibles, según las normas internacionales (Glick, 2010; Ma *et al.*, 2011). Varias investigaciones sugieren que las bacterias endófitas están equipadas con mecanismos para el secuestro de metales, tales como la producción de sideróforos y ácidos orgánicos. Estos permiten que disminuya la toxicidad y disponibilidad de dichos contaminantes inorgánicos en los ecosistemas (Sheng *et al.*, 2008; Weyens *et al.*, 2010).

De manera general la captura del metal de los metales por biosorbentes microbianos inicialmente mediante una rápida adsorción física o intercambio iónico sobre la superficie celular debido a la disponibilidad de sitios de enlace con alta afinidad por los metales. A medida que los sitios de unión se van ocupando con los metales, tiene lugar la saturación del sistema que conduce a la disminución de la afinidad biosorbente-metal, hasta alcanzar un equilibrio (Najam y Muzaffar, 2016; Okoli *et al.*, 2017). Durante este proceso pueden acontecer tanto la biosorción como la bioacumulación, este último dependiente de una gran variedad de procesos químicos, físicos y biológicos (Segun y Oluranti, 2017). Además, es un proceso más lento que la biosorción, sin embargo, ambos mecanismos de captura están presentes, primero se realiza en un tiempo corto una fase de biosorción seguida de otra más lenta de bioacumulación (Fosso y Mulaba, 2017; Demircan y Memon, 2022). Ambos mecanismos pueden estar presentes en las tres bacterias analizadas, no obstante, un comportamiento en mayor correspondencia a esta posibilidad está presente en la cepa JH-20.

Resultados similares se han informado en la biosorción de  $Pb^{2+}$  por *Bacillus thuringiensis* OSM29, procedente de efluentes industriales que presentó un tiempo óptimo de 30 min. para su máxima capacidad

de captura (Oves *et al.*, 2013). Posteriormente, se determinó el perfil de adsorción de  $Pb^{2+}$  por *Bacillus* sp. 8-I el que mostró una rápida sorción ( $35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) dentro de los primeros 30 min. Sin embargo, la remoción del metal incrementó con el tiempo de contacto y alcanzó el equilibrio alrededor de los 240 min. (Salmani *et al.*, 2016). De todos estos resultados se puede inferir que las diferencias que se pueden presentar en cuanto al tiempo de captura de los metales para alcanzar una máxima remoción y un rápido equilibrio de biosorción va a depender de cada microorganismo, ya que estos tienen una carga neta de superficie y composición particular que influyen en la unión al catión. Además, va a depender de la especie metálica, entre otros factores (Meitei, 2013; Nwidi y Agunwamba, 2015; Linget *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2017).

En la literatura científica especializada se ha informado que la determinación del tiempo de contacto biomasa-metal o cinética de remoción de las especies metálicas constituye un aspecto importante a considerar para definir la eficiencia de cualquier biosorbente (Pérez *et al.*, 2018). De esta manera es posible establecer el tiempo mínimo adecuado para cada cepa bacteriana frente a los metales, donde la máxima captura se mantiene constante.

El comportamiento de las rizobacterias a valores de pH ligeramente ácidos (pH 5,0) puede deberse a que se produce una protonación en los grupos funcionales polares de la superficie celular (aldehídos, cetonas, aminas, alcoholes, fenoles y carboxilos). Consecuentemente, predominan cargas positivas en la superficie de la célula bacteriana y estas condiciones evita la unión de los cationes metálicos cargados positivamente (Najam y Muzaffar, 2016; Ben-Ali *et al.*, 2017; Thuong *et al.*, 2019).

La mayor captura del plomo a pH 6,0, confirmada estadísticamente, puede ser consecuencia de la disminución de protones ( $H^+$ ) libres en la solución. De esta manera se facilita la unión de los cationes a los sitios funcionales de la biomasa, debido a que se favorece la carga negativa del biosorbente por la ionización de los grupos activos (Najam y Muzaffar, 2016). Estos resultados son coincidentes con los informados para *Bacillus thuringiensis* OSM29, cuyas capacidades de biosorción de plomo incrementaron con un aumento en el pH y el valor óptimo de este factor químico para la remoción de los iones fue de 6,0 (Mohammad *et al.*, 2012). Posteriormente, se

detectó que el valor de pH de 6,2 posibilitó los mejores resultados en el proceso de bioadsorción de  $Pb^{2+}$  con *Kluyveromyces marxianus* CCEBI (Tur-Naranjol *et al.*, 2013).

La disminución de la remoción del metal a pH 7,0 puede estar relacionada con una ligera precipitación de los cationes en la solución. Los iones metálicos precipitan con el incremento del pH en forma de complejos, lo que influye negativamente en el proceso de biosorción y se produce la reducción en la remoción (Amboga *et al.*, 2014; Chinhoga, 2016). Definir el valor de pH al cual ocurre este fenómeno es bien controversial en la literatura, por ejemplo, algunos autores refieren valores de pH superiores a 6,0 (Amboga *et al.*, 2014), mientras que otros informan la precipitación de los iones de plomo a valores de pH iguales o superiores a 8,0 (Larenas *et al.*, 2008).

El pH es un parámetro importante a tener en cuenta en el proceso de biosorción, este afecta la solubilidad de los metales o la activación de los grupos funcionales en la biomasa, por lo tanto, la interacción de los cationes metálicos con los sitios de unión de la biomasa es muy sensible a los valores de este parámetro (Tur-Naranjo *et al.*, 2013; Al-Homaidan *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2015).

En este trabajo se evidenció que las bacterias rizosféricas poseen potencialidades para la remoción del  $Pb^{2+}$  en solución acuosa, por lo que constituyen sistemas biológicos prometedores en la eliminación de este contaminante ambiental. La biorremoción de plomo es un proceso dependiente de factores ambientales y de las características del microorganismo utilizado. El ajuste de las condiciones operacionales del proceso favorecerá la aplicación y eficiencia de las biomasas bacterianas en tecnologías de tratamiento de efluentes contaminados con  $Pb^{2+}$ .

## LITERATURA CITADA

- Alegre, A. y S.M. Gutiérrez (2021). Remoción de cadmio y plomo en un efluente minero de Ticapampa-Recuay, Ancash con biomasa seca de *Serratia marcescens* M8a-2T. An. Cient. Univ. Centro Perú. 82(2): 336-345.
- Al-Homaidan, A., H.J. Al-Houri, A. Al-Hazzani, G. Elgaaly *et al.* (2014). Biosorption of copper ions from aqueous solutions by *Spirulina platensis* biomass. Arab. J. Chem. 7: 57-62.
- Amboga, D., J. Mmari, P. Mwanza y J.W. Gichuki (2014). Adsorption of Pb (II) ions from aqueous solutions by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): equilibrium and kinetic studies. Int. J. Environ. Pollut. Environ. Model. 2: 1929-2732.
- Bahobil, A., R. Bayoumi, H. Atta y M. El-Sehrawey (2017). Fungal biosorption for cadmium and mercury heavy metal ions isolated from some polluted localities in KSA. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 6 (6): 2138-2154.
- Ben-Alli, S., I. Jaouali, S. Souissi-Najar y A. Ouedemi (2017). Characterization and adsorption capacity of raw pomegranate peel biosorbent for copper removal. J. Clean. Prod. 142: 3809-3821.
- Brierley, C.L., D.P. Kelly, K.J. Seal y D.J. Best (1986). in: I.J. Higgýns, D.J. Best and J. Jones (Eds.), Biotechnology, Blackwell, Oxford: 163-212.
- Cañizares-Villanueva, R.O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Rev. Latinoam. Microbiol. 42: 131-141.
- Carballo, M.E., M. Heydrich, N. Rojas, I. Salgado *et al.* (2011). Impact of microbial and chemical pollution in Cuban freshwater ecosystems: strategies for environmental recovery. Biotecnol. Apl. 28: 274-277.
- Carballo, M.E., A. Martínez, I. Salgado-Bernal, L. Pérez-Bou *et al.* (2017). Standardization of variables involved in cadmium and zinc microbial removal from aqueous solutions. Biotecnol. Apl. 33: 1221-1225.
- Castro, F.L. y J.C. Marín (2018). Comparación de la ecotoxicidad por metales pesados sobre bacterias heterótrofas de dos sitios contrastados del lago de Maracaibo (Venezuela). Rev. Fac. Cienc. Bás. 14(1): 9-17.
- Cazorla, L.L., S.O. Rieumont, D. Medro, M. Luzardo *et al.* (2005). El monitoreo de los niveles de metales pesados en los cuerpos de aguas superficiales. Un acercamiento a las tendencias actuales. Contribución a la Educación y la Protección Ambiental 6: ISBN 959-7136-35-X.
- Chen, X., X. Zhu, G. Wang, Z. Zhou *et al.* (2019). The association between lead and cadmium co-exposure and renal dysfunction. Ecotoxicol. Environ. Saf. 173: 429-435.
- Cheng, Y., W. Ling, S. Huang, X. Li *et al.* (2016). Bioremediation of acetate Pb (II) compound contaminants by *Bacillus subtilis* FZUL-33. J. Environ. Sci. 45: 94-99.
- Chinhoga, N. (2016). Defining a spectrum of metals biosorbed by *Paenibacillus castaneae* with respect to heavy metal contamination in Gauteng. Faculty of Sciences, University of the Witwatersrand, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Environmental Sciences.
- Choińska-Pulita, A. y J. Sobolczyk-Bednarek (2018). Optimization of copper, lead and cadmium biosorption onto newly isolated bacterium using a Box-Behnken design. Ecotoxicol. Environ. Saf. 149: 275-283.
- Demircan, O. y A. Memon (2022). Bioremediation of heavy metals by use of bacteria. Turk. J. Agric. For. 10(2): 134-141.
- Devóz, P.P. (2017). Lead (Pb) exposure induces disturbances in epigenetic status in workers exposed to this metal. J. Toxicol. Environ. Health Sci. 80(19-21): 1098-1105.
- Fawzy, E.M., F.F. Abdel-Motaal y S.A. El-zayat (2017). Biosorption of heavy metals onto different eco-friendly substrates. J. Toxicol. Environ. Health Sci. 9(5): 35-44.
- Fosso, E. y A. Mulaba (2017). Challenges in the escalation of metal-biosorbing processes: applied and commercialized technologies. Minerals Processing and Technology Research Center 1-20.

- Ghaima, K.K., A.I. Mohamed, W.Y. Meshhdany y A.A. Abdulhassan (2017). Resistance and bioadsorption of cadmium by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from agricultural soil. IJAES. 12 (9): 1649-1660.
- Glick, B.R. (2010). Using soil bacteria to facilitate phytoremediation II. *Biotechnol.* 28: 367-74.
- Goswami, L., N.A. Manikandan, K. Pakshirajan y G. Pugazhenth (2017). Simultaneous heavy metal removal and anthracene biodegradation by the oleaginous bacteria *Rhodococcus opacus*. *Biotech.* 7(37): 2-9.
- Graham, D.W., S. Olivares Rieumont, C.W. Knapp, L. Lima et al. (2011). Antibiotic resistance gene abundances associated with waste discharges to the Almendares river near Havana, Cuba. *Environ. Sci. Technol.* 45: 418-424.
- Haferburg, G. y E. Kothe (2007). Microbes and metals: interactions in the environment. *J. Basic Microbiol.* 47: 453-467.
- Hernández-Baranda, Y., P. Rodríguez-Hernández, M. Peña-Icart, Y. Meriño-Hernández et al. (2021). Caracterización química y agronómica del agua del río Tapaste, ubicado en el nacimiento de la Cuenca Almendares-Vento. *Cult. trop.* 42(3). ISSN:1819-4087 DOI: <https://doi.org/10.1234/ct.v42i3.1595>
- Infante, C., D. De Arco y E. Angulo (2014). Removal of lead, mercury and nickel using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. MVZ Cordoba.* 19(2): 25-31
- Jaafar, R., A. Al-Sulami, A. Al-Tae, F. Aldoghachi et al. (2016). Biosorption of some heavy metals by *Deinococcus radiodurans* Isolated from soil in Basra Governorate-Iraq. *J. Bioremediat. Biodegrad.* 7(2): 1-4.
- Keramati, P., M. Hoodaji y A. Tahmourespour (2011). Multi-metal resistance study of bacteria highly resistant to mercury isolated from dental clinic effluent. *Afr. Journal of Microbiol. Res.* 5(7): 831-837.
- Kumar, B., K. Smita, E. Sánchez, C. Stael et al. (2016). Andean Sachainchi (*Plukenetia volubilis* L.) shell biomass as a new biosorbents for  $Pb^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  ions. *Ecol. Eng.* 93: 152-158.
- Larenas, C., M. Andrango y P. Inga (2008). Estudio isotérmico de biosorción de plomo en aguas utilizando residuos vegetales. *La Granja* 8(2): 3-8.
- Larramendi, E.M., G. Millán y M.A. Plana (2021). Escasez y contaminación del agua, realidades del siglo XXI. *Rev.* 16deabril (259): 1-7.
- Li, X., W. Peng, Y. Jia, L. Lu et al. (2016). Removal of cadmium and zinc from contaminated wastewater using *Rhodobacter sphaeroides*. *Water Scie. Technol.* 25(4): 25-36.
- Ling, M., L.P. Teen, A. Mujahid y P. Proksch (2016). Initial screening of mangrove endophytic fungi for antimicrobial compounds and heavy metal biosorption potential. *Sains Malays.* 45(7): 1063-1071.
- Ma, Y., M.N.V. Prasad, M. Rajkumar y H. Freitas (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils II. *Biotechnol.* 29: 248-258.
- Marrero, J., G. Auling, O. Coto y D.H. Nies (2007). High-level resistance to cobalt and nickel but probably no transenvelope efflux: metal resistance in the Cuban *Serratia marcescens* strain C-111. *Microb. Ecol.* 53: 123-133.
- Meitei, M.N. (2013). Lead (II) and cadmium (II) biosorption on *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleiden biomass. *J. Environ. Chem. Eng.* 1: 200-207.
- Mielke, H.W., E.T. Powell, C.R. Gonzales y J.P.W. Mielke (2007). Potential lead on play surfaces: evaluation of the "PLOPS" sampler as a new tool for primary lead prevention. *Environ. Res.* 103: 154-159.
- Mielke, H.W., M.A.S. Laidlaw y C.R. Gonzales (2011). Estimation of leaded (Pb) gasoline's continuing material and health impacts on 90 US urbanized areas. *Environ. Int.* 37: 248-257.
- Migahed, F., A. Abdelrazak y G.Fawzy (2016). Batch and continuous removal of heavy metals from industrial effluents using microbial consortia. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* doi 10.1007/s13762-016-1229-3.
- Mohammad, O., S.K. Mohammad y Z. Almas (2012). Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil. *Saudi J. Biol. Sci.* 20: 121-129.
- Montalván, A., Y. Aguilera, E. Veitia y O. Brígido (2014). Sistema de indicadores para la gestión integrada de aguas residuales industriales. *Revista Avanzada Científica.* 7(3): 1-18.
- Muñoz, A.J., F. Espinola, M. Moya y E. Ruiz (2015). Biosorption of Pb (II) ions by *Klebsiella* sp. 3S1 isolated from a wastewater treatment plant: kinetics and mechanisms studies. *BioMed research international.* 2015: 1-12
- Najam, R. y S.A. Muzaffar (2016). Removal of Cu(II), Zn(II) and Cd (II) ions from aqueous solutions by adsorption on walnut shell-Equilibrium and thermodynamic studies: treatment of effluents from electroplating industry. *Desalination Water Treat.* 57(56): 27363-27373.
- Nwidi, I.C. y J.C. Agunwamba (2015). Selection of biosorbents for biosorption of three heavy metals in a flow-batch reactor using removal efficiency as parameter. *Niger. J. Technol.* 34(2): 406-413.
- Okoli, C., P. Diagbaya, I. Anigbogu, B. Olu-Owolabi et al. (2017). Competitive biosorption of Pb(II) and Cd(II) ions from aqueous solutions using chemically modified moss biomass (*Barbularia barenensis*). *Earth Sci.* 76(33): 2-7.
- Ortiz, J., E. Escalante-Espinosa, R.L. Fócil-Monterrubio y H. César (2017). Dinámica de poblaciones bacterianas y actividad deshidrogenasa durante la biorremediación de suelo recién contaminado e intemperizado con hidrocarburos. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 33(2): 237-246.
- Oves, M., M. Saghir y A. Zaidi (2013). Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil. *Saudi J. Biol. Sci.* 20: 121-129.
- Pérez-Cordero, A., Z. Barraza-Roman y D. Martínez-Pacheco (2015). Identificación de bacterias endófitas resistentes a plomo, aisladas de plantas de arroz. *Agron. Mesoam.* 26(2): 267-276
- Pérez, K.R., et al. (2016). Use of *Scenedesmus* for the removal of nutrients and heavy metals from waste waters of the textile industry. *Ing. Solidar.* 12(20): 95-98.
- Pérez, L., I. Salgado, C. Larrea y A. Martínez et al. (2018). Biosorción microbiana de metales pesados: características del proceso. *Rev. Cub. Cien. Biol.* 6(1): 1-12.
- Pimentel, G., R. Flores, Y. Alfaro, D. Villarreal y A. de la Cruz

- (2018). Aplicación de bacterias benéficas como modelo experimental para la reducción de sólidos y conductividad en aguas residuales. *RIC. 4 (Especial)*: 57-61.
- Salgado B. I., J.E. Pérez, M.E. Carballo, A.M. Martínez *et al.* (2015). Aplicación de rizobacterias en la biorremediación del cromo hexavalente presente en aguas residuales. *Rev. Cub. Cien. Biol.* 4(2): 20-34.
- Salmani, B.K., M. Ali, H. Babavalian, H. Tebyanian *et al.* (2016). Removing lead from Iranian industrial wastewater. *Int. Lett. Nat. Sci.* 57: 79-88.
- Samuel, J., P.M. Lien., H. Ravishankar, A. Mathut *et al.* (2013). The differential stress response of adapted chromite mine isolates *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* and its impact on bioremediation potential. *Biodegradation* 24: 846-852.
- Samuel, J., M.L. Paul, M. Pulimi, M.J. Nirmalra *et al.* (2012). Hexavalent chromium bioremoval through adaptation and consortia development from Sukinda chromite mine isolates. *Ind. Eng. Chem. Res.* 51: 3740-3749.
- Santana, J., C.G. Massone, M. Valdés y R. Vázquez *et al.* (2015). Occurrence and source appraisal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface waters of the Almendares River, Cuba. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 69(2): 143-152.
- Segun, A.A. y B.O. Oluranti (2017). A New strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 14(1): 94.
- Sheng, X.F., J.J. Xia, C.Y. Jiang y L.Y. He *et al.* (2008). Characterization of heavy-metal resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environ. Pollut.* 156: 1164-1170.
- Sun, L., X. Cao, M. Li, X. Zhang *et al.* (2017). Enhanced bioremediation of lead-contaminated soil by *Solanum Nigrum L.* with *Mucor circinelloides*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (10): 9681-9689.
- Suriya, J., S. Bharathiraja y R. Rajasekaran (2013) Biosorption of heavy metals by biomass of *Enterobacter cloacae* isolated from metal-polluted soils. *Int. J. Chem. Technol.* 5(3): 1329-1336.
- Thuong, N.T., T.N. Nguyen, L.G. Bach, D.T. Nguyen *et al.* (2019). Adsorptive removal of Pb (II) using exfoliated graphite adsorbent: influence of experimental conditions and magnetic CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> decoration. *IJUM Eng. J.* 20(1): 202-215.
- Tur-Naranjo, E., T.M. Orberá-Ratón, Y. Romagosa-Álvarez y R.M. Pérez-Silva (2013). Bioadsorción de plomo (II) por biomasa microbiana seca: Efecto del pH. *Rev. Cuba. Quím.* 25(1): 75-81.
- Viera, R.H.S.F. y B. Volesky (2003). Biosorption: a solution to pollution. *Int. Microbiol.* 3: 17-24.
- Weyens N.S., Croes J., Dupae L.N.D., Van der L.R. y Carleer J.V. (2010). Endophytic bacteria improve phytoremediation of Ni and TCE co-contamination. *Environ. Pollut.* 158: 2422-2427
- Zhang, Z., R. Cai, W. Zhang, Y. Fu *et al.* (2017). Biosorption of heavy metals onto different eco-friendly substrates. *J. Toxicol. Environ. Health Sci.* 9(5): 35-44.



Los resultados publicados en la Revista Cubana de Ciencias Biológicas se presentan bajo la Creative Commons Attribution License 4.0.

(CC BY 4.0 — <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)