Remoción de Cromo Hexavalente en Agua por Levaduras Tolerantes a Metales Pesados, Aisladas de los Azufres de Michoacán

Villanueva-Barboza, C. F.[1]; Saucedo-Lucero, J. O. [2]; López-Ramírez, V.[1]; Rodríguez-Gómez, D.[1] .

Datos de Adscripción:

[1] Carlos Fernando Villanueva Barboza. Tecnológico Nacional de México/ITS de Irapuato. LIS19111181@irapuato.tecnm.mx.com. https://orcid.org/0009-0004-9015-7745

[2] José Octavio Saucedo Lucero. CIATEC AC, Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías competitivas. jsaucedo@ciatec.mx. https://orcid.org/0000-0002-5870-4575

[1] Varinia López Ramírez. Tecnológico Nacional de México/ITS de Irapuato. varinia.lr@irapuato.tecnm.mx. https://orcid.org/0000-0002-0948-9960

[1]✉ Divanery Rodríguez Gómez. División de Ingeniería Bioquímica. Tecnológico Nacional de México/ITS de Irapuato. divanery@irapuato.tecnm.mx. https://orcid.org/0000-0002-4457-5338

Resumen **- La contaminación por cromo, Cr(VI), en suelos y cuerpos de agua es un problema ambiental y de salud humana, debido a la toxicidad de este metal y su uso extensivo en la industria, principalmente en la curtiduría del cuero. En el Bajío y otras regiones de México, la contaminación por Cr(VI) es un problema que necesita atención. Los métodos fisicoquímicos para remover metales pesados son costosos y poco amigables con el ambiente. En este trabajo se evaluó la tolerancia de diez cepas de levaduras a 141 ppm de Cr(VI) en solución acuosa a temperatura de 37 y 40°C. Estas cepas fueron aisladas de Los Azufres, Michoacán, lo cual sugiere que están adaptadas a trabajar en un amplio rango de temperaturas. Se determinó el porcentaje de células vivas mediante la técnica de conteo con cámara de Neubauer y tinción con azul de metileno. Se seleccionó la cepa de levadura que presentó mayor tolerancia (*Yarrowia sp.*) para la remoción del metal a concentración de 100 ppm en un sistema de biorreactores, la concentración final de Cr(VI) en medio líquido se evaluó con el método 1,5-difenilcarbazida. *Yarrowia sp. y* logró remover en promedio 56% de Cr(VI), a 28°C, durante 21 días, con 30 g L^{-1} de sacarosa y 20 ml L^{-1} de glicerol. Esta cepa presentó además 88% de células vivas en la concentración de 141 ppm de Cr (VI) a 37-40°C. Esto sugiere que es viable implementar un sistema de cultivo líquido para la remoción de Cr(VI) usando las levaduras seleccionadas.**

Palabras Clave - Biorreactores, Cr (VI), difenilcarbazida, levadura, Yarrowia sp.

Abstract **– Chrome (Cr(VI)) contamination in soil and water poses a significant environmental and human health risk due to its toxicity and widespread industrial use, particularly in leather tanning. In the Bajio and other regions of Mexico, Cr(VI) contamination is an emerging concern that requires effective remediation strategies. Physicochemical methods to remove heavy metals are expensive and environmentally unfriendly. This study evaluated the tolerance of ten yeast strains to 141 ppm Cr(VI) in aqueous solution at 37 and 40 °C. The strains, isolated from Los Azufres, Michoacán, are likely adapted to function in a wide range of temperatures. The percentage of live cells was determined by the Neubauer chamber counting technique and methylene blue staining. The most tolerant strain (*Yarrowia sp.*) was selected for removing the metal at a concentration of 100 ppm in a bioreactor system. The final concentration of Cr(VI) in the liquid medium was evaluated with the 1,5-diphenylcarbazide method. *Yarrowia sp.* removed an average of 56% Cr(VI) at 28 °C over 21 days in a medium containing 30 g L^{-1} of sucrose and 20 ml L^{-1} of glycerol. It also showed that 88% of live cells were present at a concentration of 141 ppm Cr(VI) at 37-40 °C. These results suggest that it is feasible to implement a liquid culture system for the removal of Cr(VI) using the selected yeast strains.**

Keywords - Bioreactors, Cr (VI), diphenylcarbazide, Yarrowia sp., yeast.

I. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas se ven afectados por la presencia de cromo liberado sin tratamiento a partir de diversas industrias. Estas incluyen sectores como el revestimiento de plásticos, la galvanoplastia de metales para prevenir la corrosión, el curtido y acabado de cueros, la fabricación de pigmentos y el uso de conservantes en la madera (Bastidas y Saguay, 2022). Dentro de las diversas opciones de remediación de este metal, la biorremediación se ve limitada por la alta toxicidad de este metal y la baja adaptación de los microorganismos al ambiente contaminado. Por lo que es necesario seleccionar microorganismos capaces de tolerar altas concentraciones de Cromo para implementar su aplicación efectiva. El cromo hexavalente (Cr VI) representa un riesgo significativo para la salud humana, especialmente para las personas empleadas en la industria del acero y textiles. Aquellos que fuman tabaco también pueden enfrentar una exposición elevada a este elemento (Montoya et al., 2010).

Debido a su capacidad como potente agente oxidante de compuestos orgánicos, el ácido crómico y los cromatos pueden ocasionar intoxicaciones agudas por ingestión accidental. Esto se manifiesta con síntomas como vértigo, intensa sed, dolor abdominal, vómitos, choque y la posible presencia de oliguria o anuria, pudiendo llevar a la uremia y la muerte. La inhalación prolongada de vapores de cromo puede dar lugar a úlceras indoloras, hemorragias, perforación del tabique nasal, secreción

https://doi.org/10.62805/cid2025.CID038

This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

nasal desagradable, conjuntivitis, lagrimeo, hepatitis aguda con ictericia, y deterioro de la función hepática en individuos que exceden los niveles máximos permitidos. Además, se ha observado que el cromo y los cromatos son irritantes y destructores para las células del cuerpo (Otiniano et al., 2019). Los compuestos de cromo se encuentran catalogados en el grupo 1 de elementos carcinógenos según la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC). Asimismo, los compuestos de Cr(VI), junto con los compuestos de níquel y los vapores de soldadura, deben considerarse potenciales carcinógenos de acuerdo con las regulaciones de la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) establecidas en la Norma 29 CFR 1910.1200 (Montoya et al., 2010).

En la ciudad de León en el estado de Guanajuato, México, las descargas de las empresas curtidoras se efectúan directamente en los sistemas de alcantarillado de aguas residuales municipales sin tratamiento. En la técnica del curtido al cromo la piel absorbe de un 60-80% del cromo usado, el cual se añade en forma de sulfato de cromo ($Cr(OH)SO_4$), por lo que, el 20-40% va a las descargas de agua residual, llegando a concentraciones de 5 g L^{-1} en los efluentes de agua, al año se emplean 1,254,750 L de agua en procesos de curtiduría (López, 2016).

Según Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, los límites máximos permisibles de cromo hexavalente son: 280 mg Kg^{-1} en suelo agrícola/residente/comercial, y 510 mg Kg^{1} en suelo industrial (SEMARNAT, 2004). Hay otras consideraciones al determinar qué uso se le dará al suelo, que son estas: a) Si se presentan usos del suelo en un sitio, se considerará el uso que predomine. b) Cuando en los programas de ordenamiento ecológico y de desarrollo urbano no estén establecidos los usos del suelo, se usará el valor residencial. De acuerdo a SEMARNAT (2021), con Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, los límites máximos permisibles de cromo en cuerpos de agua se presentan en la Tabla 1.

La contaminación con metales pesados ha llevado al desarrollo de diferentes enfoques fisicoquímicos para abordar el problema. Entre las técnicas identificadas para eliminar metales pesados de las aguas residuales se incluyen la filtración mediante membranas, la precipitación química y el intercambio iónico. No obstante, su aplicación es limitada debido a su eficacia reducida, a los elevados costos asociados y a las necesidades de postratamientos (Torrel, 2020).

Tabla 1
Límites máximos permisibles en cuerpos de agua según NOM-001-SEMARNAT-2021.

Parámetros (mg L^{-1})	*Promedio mensual*	*Promedio diario*	*Valor inmediato*
Ríos, arroyos, canales, drenes	1	1.25	1.5
Embalses, lagos y lagunas	0.5	0.75	1
Zonas marinas mexicanas	1	1.25	1.5
Riego de áreas verdes	0.5	0.75	1
Infiltración y otros riegos	0.5	0.75	1
Cárstico	0.5	0.75	1

La biorremediación pretende estimular a los microorganismos añadiendo nutrientes y compuestos químicos, para que puedan descomponer o eliminar los contaminantes. En este proceso, las enzimas microbianas desempeñan un papel directo en la transformación o descomposición de dichos contaminantes. La eficiencia de este proceso depende de varios factores como la cantidad y la toxicidad de los contaminantes, la capacidad degradativa de los mismos, así como la habilidad para monitorear el progreso de la biorremediación, se pueden emplear biorreactores para tratar materiales sólidos, como suelos, sedimentos o lodos, así como aguas contaminadas. Estos biorreactores consisten en contenedores que contienen inóculos, nutrientes y parámetros controlados para llevar a cabo la biorremediación (Cota-Ruiz et al., 2019).

Por todo lo anterior, hay que encontrar microorganismos capaces de tolerar altas concentraciones de Cr(VI) mediante una selección de levaduras tolerantes a metales pesados para su aplicación en biorremediación. De acuerdo con estudios previos realizados en el Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana del ITESI, las levaduras *Yarrowia sp. Candida duoboushaemoni* y *Candida glabrata* aisladas de Los Azufres, Michoacán, podrían tener alta resistencia a concentraciones de cromo debido a que en estudios preliminares probaron ser resistentes a altas concentraciones de otros metales pesados como cadmio, cobre y zinc. Algunos de los mecanismos de biorremediación comunes en las levaduras son la unión a metales, la bioacumulación, la biosorción y la transformación de la valencia del metal.

En cuanto a la unión a metales, estos se adhieren a la superficie de las células a través de una variedad de mecanismos que comprenden interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, uniones covalentes, interacciones redox, precipitación extracelular o una combinación de estos procesos. En particular, los grupos con carga negativa, como los carboxilos, hidroxilos y fosforilos presentes en la pared celular bacteriana, actúan como puntos de atracción para los iones metálicos, y los retienen.
Cuando estos metales se unen a la superficie celular, existe la posibilidad de que se incorporen y acumulen en el interior de las células, en un proceso conocido como bioacumulación. La bioacumulación es una función celular que implica la utilización de un sistema de transporte de membrana para incorporar el metal pesado del entorno celular, lo que requiere un gasto de energía. Esta energía se suministra a través de la H^{+}-ATPasa. En el caso de hongos, se almacena en las vacuolas (Beltrán-Pineda y Gómez-Rodríguez, 2016).

Por otro lado, la biosorción consiste en la retención de metales por medio de una biomasa completa, ya sea viva o inactiva, a través de procesos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico (Torrel, 2020).

https://doi.org/10.62805/cid2025.CID038
This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

En la transformación de la valencia del metal dependiendo del estado de oxidación del metal un microorganismo puede realizar dos posibles transformaciones, una corresponde a la movilización del metal, es decir, la transformación del estado insoluble inicial que corresponde a una fase sólida, a un estado soluble final que se presenta en fase acuosa, este proceso se conoce como lixiviación; la otra transformación es la inmovilización del metal que es un proceso en donde la fase soluble inicial en fase acuosa pasa a un estado insoluble final en fase sólida. Los metales de diferentes valencias varían en su toxicidad; cuando se excretan enzimas redox especiales, los microorganismos pueden transformar el metal en formas menos tóxicas.

Los microorganismos pueden detoxificar metales por transformación en la valencia y reducir enzimáticamente un metal en procesos metabólicos que no están relacionados con la asimilación del metal; en este caso varias bacterias acoplan la oxidación de ácidos orgánicos simples, alcoholes, hidrógeno o compuestos aromáticos con la reducción de Fe(III) o Mn(IV) (Beltrán-Pineda y Gómez-Rodríguez, 2016).

Por otra parte, las cepas del presente estudio podrían presentar una alta tolerancia a metales debido a que, en la composición del suelo de Los Azufres, Michoacán están presentes en su mayoría compuestos como SiO_2, TiO_2, Al_2O_3, Fe_2O_3, MnO, MgO, CaO, Na_2O, K_2O, P_2O_6, a la vez que existen elementos traza como Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Zr, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Y, Dy, Ho, Er, Yb, Lu, V, Cr, Nb, Hf, Ta, Pb, Th y U (Arce et al., 2021).

Es crucial explorar el potencial de la biodiversidad microbiana presente en esta región para desarrollar aplicaciones ambientales, especialmente ante la creciente escasez del agua. La crisis mundial del agua afecta a miles de millones de personas y se proyecta que se agravará en las próximas décadas. Por ello, es fundamental identificar cepas microbianas con la capacidad para ser implementadas en sistemas de biorremediación.

La investigación en este campo no solo tiene el potencial de mitigar los efectos de la contaminación del agua, sino que también puede contribuir a la restauración de ecosistemas acuáticos dañados. Además, el desarrollo de tecnologías basadas en microorganismos puede ofrecer soluciones sostenibles y económicamente viables para el tratamiento de aguas residuales y la remediación de suelos contaminados.

II. PARTE TÉCNICA DEL ARTÍCULO

2.1 Selección de cepas

Se utilizaron las 10 cepas de levaduras pertenecientes al cepario del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana de ITESI, las cuales fueron aisladas de Los Azufres, Michoacán. Las levaduras se reactivaron sembrándolas en agar YPD (extracto de levadura, peptona, dextrosa). Los códigos de identificación son: 17, 18, 19, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 230, las cuales corresponden a los géneros: *Yarrowia* sp. (225 y 230), *Candida duobuschaemoni* (224) y *Candida glabrata* (223, 227 y 228), respectivamente.

Para la selección inicial de levaduras se realizó el cultivo de las levaduras en tubos Eppendorf de 1.5 ml conteniendo medio líquido YPD (De Aguirre y Rausch, 2019), y concentraciones de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) entre 50 y 350 ppm, correspondientes a concentraciones de Cr(VI) que van de 17 a 124 ppm. Después, la viabilidad de las cepas se corroboró con el crecimiento en placas de Petri con agar YPD. La levadura que presentó crecimiento a la concentración más alta se eligió para remover Cr(VI) en un sistema de biorreactores.

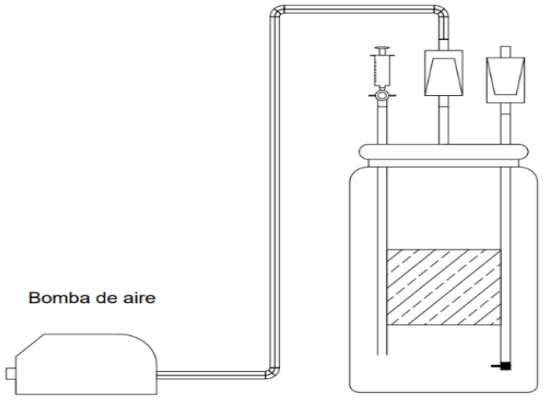
2.2 Evaluación de la toxicidad de las levaduras en Cr(VI) a diferentes temperaturas.

Las 10 cepas de levaduras se inocularon de manera individual en tubos *Eppendorf* con medio líquido YPD y $K_2Cr_2O_7$, se ajustó la concentración de Cr(VI) a 141 ppm. Los tubos se incubaron a 37°C y a 40°C durante 48 h. Posteriormente se agregó una gota de azul de lactofenol (López-Jacome et al., 2014) y se realizó el conteo de 100 células en cámara de Neubauer (Sánchez et al., 2017) para obtener el porcentaje de células vivas (transparentes) y muertas (color azul).

2.3 Esquema de los biorreactores

Se emplearon 3 biorreactores de vidrio de capacidad de 1.5 L cada uno, los cuales presentaban tres orificios con mangueras, una para la entrada de aire conectada a una bomba de aire de pecera, otra manguera para facilitar el intercambio gaseoso y la tercera para suministrar medio mineral y la toma de muestra a lo largo del ensayo, según se muestra en el esquema de la Figura 1.

Figura 1
Esquema de biorreactores.



https://doi.org/10.62805/cid2025.CID038
This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

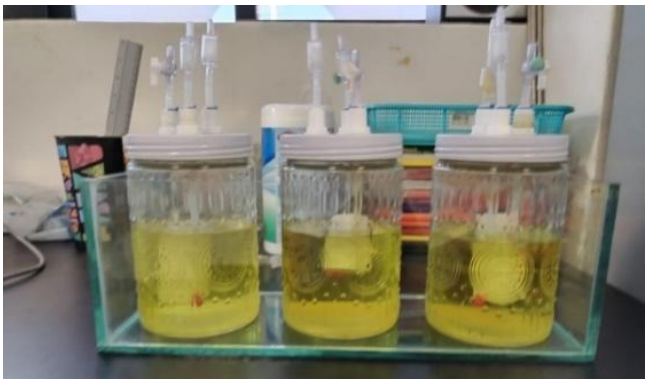
Año: 2025. Volumen: 1. Numero:11 ISSN: 2448-623X

Los reactores descritos se operaron por lote y por triplicado, estos contenían 1 L de medio mineral con la siguiente composición de sales (g): ($NaNO_3$, 18; KH_2PO_4, 1.3; $MgSO_4$•$7H_2O$, 0.38; $CaSO_4$•$2H_2O$, 0.25; $CaCl_2$, 0.055; $FeSO_4$•$7H_2O$, 0.0015; $MnSO_4$•H2O, 0.012; $ZnSO_4$•7H2O, 0.013; $CuSO_4$•5H2O, 0.0023; $CoCl_2$•6H2O, 0.0015; H_3BO_3, 0.0015) (Morales et al., 2017). La concentración de Cr(VI) fue de 100 ppm por la adición de 282 mg de $K_2Cr_2O_7$ en cada uno de los biorreactores. El pH se ajustó a 5 por adición de ácido clorhídrico. Se evaluaron diversos tratamientos modificando la fuente de carbono y la temperatura, para estos experimentos se usó la cepa seleccionada con mayor tolerancia al cromo.

2.4 Condiciones experimentales de los biorreactores

Los tratamientos por comparar fueron las diversas fuentes de carbono y la temperatura. Para el primer tratamiento se usó como fuente de carbono, glicerol (10 ml L^{-1}) los primeros 12 días, posteriormente se adicionó sacarosa (30 g L^{-1}), el cultivo total duró 21 días a 28°C. Para el segundo tratamiento se emplearon 30 g L^{-1} de glucosa como única fuente de carbono, también a 28°C. Para una tercera condición, se modificó la concentración de glucosa a 50 g L^{-1} y la temperatura, 34° C. Por último, se usó glucosa (50 g L^{-1}) a 40° C, esta temperatura se logró al colocar los reactores dentro de una pecera con agua con control de temperatura (Figura 2). Se calculó la relación carbono/nitrógeno (C/N) de cada medio de cultivo usando la composición química de sus fuentes de carbono y nitrógeno.

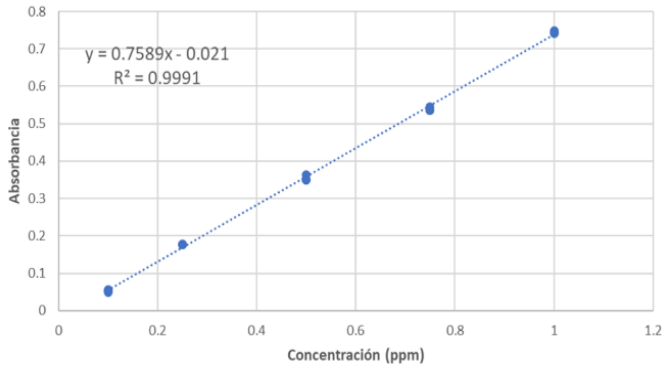
Figura 2
Sistema de reactores para remoción de Cr(VI)



A. Análisis de la concentración de Cr(VI) en los reactores

Los reactores fueron muestreados a intervalos definidos y se evaluó el crecimiento por espectrofotometría (Genesys 10s) a una longitud de onda de 620 nm. Mientras que la concentración de Cr(VI) se siguió a través de la metodología reportada en la NMX-AA-044-SCFI-2014 (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, 2014), la cual se fundamenta en que el reactivo 1,5-difenilcarbazida reacciona con el Cr(VI) en medio ácido generando un compuesto color violeta, el cual es cuantificado a una longitud de onda de 540 nm. Para realizar la medición primero se debe hacer una curva de calibración (Figura 3), usando soluciones con distintas concentraciones de Cr(VI) en un rango de 0.1 a 1 g L^{-1}

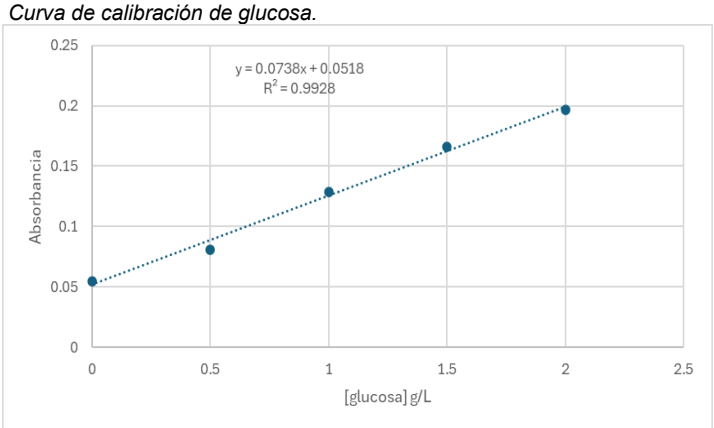
Figura 3
Curva de calibración de Cr(VI).



2.5 Análisis de la concentración de glucosa en los reactores

También se midió la glucosa residual siguiendo la metodología de la prueba DNS (Xiao et al., 2004)., para la cual primero se realizó una curva de calibración (Figura 4) con muestras que tenían distintas concentraciones de glucosa; 0.5 g L^{-1}, 1 g L^{-1}, 1.5 g L^{-1}, 2 g L^{-1} Se agregaron 20 µL de muestras, 40 µL de buffer y 120 µL de DNS en los tubos para después calentar a 95°C durante 5 minutos. De los tubos de reacción se tomaron 36 µL de muestra y se añadieron en las celdas de lectura del espectrofotómetro que contenían 160 µL de agua para después ser medidos en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

Figura 4
Curva de calibración de glucosa.



https://doi.org/10.62805/cid2025.CID038

This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

2.6 *Análisis estadístico*

Los análisis estadísticos realizados fueron ANOVA de una vía con nivel de significancia del 5% y análisis Post-hoc con la prueba de Tukey, se usó el programa Minitab.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la primera parte, con respecto a la evaluación de la tolerancia de las 10 cepas a diferentes concentraciones de Cr(VI) y la toxicidad de este compuesto expresada por el porcentaje de mortalidad a 141 ppm. Según se observa en la Tabla 2, la cepa 230 se ve más afectada por la presencia de cromo a las dos temperaturas evaluadas. Un cambio importante por el efecto de la temperatura se observó en la cepa 18, ya que disminuyó su % de células muertas a la mitad al crecer a 40°C respecto al porcentaje de células muertas a 37°C. En general, las otras levaduras presentan un porcentaje de células muertas entre 7 y 21%, lo cual es bajo, considerando las condiciones de experimentación y la toxicidad ampliamente reportada para cromo sobre las células.

Tabla 2
Porcentaje de levaduras muertas a concentración de 141 ppm de Cr(VI).

# de cepa de levadura	*Células muertas (%) a 37 °C*	*Células muertas (%) a 40 °C*
17	16	9
18	30	14
19	12	8
223	15	16
224	14	17
225	12	13
226	14	21
227	10	10
228	7	18
230	34	36

Respecto a la selección de las levaduras con mayor tolerancia a cromo, todas las cepas crecieron en las concentraciones de Cr(VI) de 106 ppm, mientras que solamente la cepa 225 creció a 124 ppm, la cual corresponde al género *Yarrowia sp.*, por lo cual fue la cepa seleccionada para los siguientes experimentos para la eliminación de cromo en el reactor.

En las Tablas 3 y 4 se resumen los resultados de los experimentos realizados en el reactor donde se emplearon diferentes condiciones de experimentación. Se puede apreciar que usando glicerol y sacarosa se obtuvo el mayor crecimiento y la mejor remoción de Cr(VI), llegando a un máximo de 54%.

Al comparar los resultados de los reactores crecidos a 34 y a 40°C con 50 g L^{-1} de glucosa, el mayor crecimiento y la mayor remoción de cromo se obtuvieron a 34°C. No se pudo relacionar con los resultados de la toxicidad a menor escala presentados en la Tabla 2 donde la levadura 225 presentó una mortalidad similar a 37 y a 40° C. Los resultados de la operación de biorreactores a 40°C, demuestran que esta temperatura no es óptima para remover Cr(VI), porque si bien, las levaduras pueden mantenerse vivas, pierden su capacidad de remover Cr(VI), por lo que la mejor temperatura para trabajar las levaduras y remover Cr(VI) es en un rango de 34 – 37° C.

En el experimento a 50 g L^{-1} de glucosa y 40 °C, el crecimiento de la biomasa fue poco, tampoco hubo remoción de Cr(VI). Al analizar la cantidad de sustrato consumida en este experimento, es similar a la consumida en el experimento a 50 g L^{-1} de glucosa y 34 °C (Tabla 3), lo que indica que las levaduras estaban vivas y creciendo, pero no tenían la capacidad de remover el Cr(VI) del medio, por lo que se da a entender que temperaturas cercanas y/o superiores a 40 °C inhiben la capacidad de remover Cr(VI) de la levadura *Yarrowia spp*.

Se presentó un aumento del pH en los reactores, lo que indicaría un posible mecanismo de biorremediación que cambie la valencia del metal de Cr(VI) a Cr(III), pues la forma en que se presenta comúnmente el Cr(III) es en forma de hidróxido de cromo ($Cr(OH)_3$) (Panigatti et al., 2012). Sin embargo, la presencia de este compuesto no fue confirmada por experimentación.

En el experimento a 50 g L-1 de glucosa y 34 °C se puede apreciar que tuvo un mayor crecimiento de biomasa a comparación del experimento a 30 g L-1 de glucosa y 28 °C (Tabla 3), y a pesar que a 28°C se obtuvo 9% más de remoción, esto demoró 10 días más de cultivo, lo que podría indicar que si los biorreactores se operaran durante más tiempo, habría mayor crecimiento de biomasa y remoción.

Tabla 3
Parámetros de experimentos en reactores. Concentración de cromo (ppm), Concentración de glucosa (g L^{-1}), Absorbancia a 620 nm (Abs)

Fuente de carbono		***Valor inicial***	***Valor final***
Sacarosa/ glicerol (28°C, 21 días)	pH	5	5.47
	Cr(VI) (ppm)	100	46.05
	Abs. Biomasa	0.017	0.19
Glucosa (28°C, 21 días)	Glucosa (g L^{-1})	30	23.37
	pH	5	6.77
	Cr(VI) (ppm)	100	60.67
	Abs. Biomasa	0.062	0.09
Glucosa (34°C, 11 días)	Glucosa (g L^{-1})	50	41.67
	pH	5	5.17
	Cr(VI) (ppm)	100	70.77
	Abs. Biomasa	0.088	0.18
Glucosa (40°C, 11 días)	Glucosa (g L^{-1})	50	40.67
	pH	5	6.83
	Cr(VI) (ppm)	100	100.33
	Abs. Biomasa	0.068	0.09

https://doi.org/10.62805/cid2025.CID038
This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Año: 2025. Volumen: 1. Numero:11 ISSN: 2448-623X

Al realizar un análisis de varianza y la prueba de Tukey (Tabla 4), se observó que el consumo de sustrato no presentó diferencias significativas entre los experimentos que contenían glucosa. Esto indica que el experimento más eficiente en cuanto a la relación biomasa sustrato fue el que contenía 50 g L-1 de glucosa y 34 °C (Tabla 3), ya que generó una cantidad de biomasa equivalente a la obtenida en el experimento con 30 g L-1 de sacarosa y 20 ml L-1 de glicerol, pero en un menor tiempo (11 días). En términos de remoción de Cr(VI), el experimento más eficaz fue el que combinó 30 g L-1 de sacarosa y 20 ml L-1 de glicerol.

Tabla 4
Análisis estadístico de la remoción de Cr (VI) y consumo de sustrato en los distintos experimentos. Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas.

Experimento	*% remoción de Cr (VI)*	*% consumo de sustrato*
30 g L^{-1} sacarosa 20 ml L^{-1} glicerol	53.95^{a}±5.5	----
30 g L^{-1} glucosa a 28 °C	39.33^{ab}±10.6	22.11^{a}
50 g L^{-1} glucosa a 34 °C	29.23^{b}±7.2	18.67^{a}
50 g L^{-1} glucosa a 40 °C	0^{c}±16.0	16.67^{a}

Una posible explicación para la capacidad de las levaduras de remover Cr(VI) es su origen, fueron aisladas de Los Azufres Michoacán, una zona donde existe el cromo como elemento traza en el suelo (Arce et al., 2021). Esto sugiere que dichas levaduras pudieron haber desarrollado mecanismos de adaptación, como mayor tolerancia a metales pesados, incluido el cromo.

El análisis de la relación carbono/nitrógeno (C/N) reveló que el medio con 30 g L^{-1} de sacarosa y 20 mL L^{-1} de glicerol presentó una C/N de 7.2, mientras que el medio con 30 g L^{-1} de glucosa mostró una relación de 5. Para aumentar esta proporción, se incrementó la concentración de glucosa a 50 g L^{-1} en experimentos posteriores, logrando una relación C/N de 8.4. Según Torres et al. (2011), una relación cercana a 10 favorece el crecimiento celular, lo que respalda que una C/N de 8 haya sido adecuada para la remoción de Cr(VI) a 100 ppm. Los mejores resultados se obtuvieron en los experimentos con relaciones C/N de 7.2 y 8.4, incubados a 34 °C durante 11 días.

Una relación C/N cercana a 8 favoreció el aprovechamiento del sustrato para la producción de biomasa, lo cual está estrechamente relacionado con la eficacia en la remoción de Cr(VI). Esto puede explicarse tanto por la biosorción, donde una mayor biomasa implica mayor área de contacto, como por mecanismos de reducción del metal, en los que un incremento de biomasa también eleva la capacidad de eliminación.

Existen diferencias entre las fuentes de carbono utilizadas: la sacarosa es un disacárido compuesto por fructosa y glucosa, mientras que la glucosa es un monosacárido. La glucosa ingresa directamente a la glucólisis, generando ATP de inmediato, mientras que la sacarosa debe primero hidrolizarse en sus azúcares simples para ser procesada.

En el estudio de Sánchez (2020), se reportó la remoción de Cr(VI) por dos cepas de *Yarrowia lipolytica* (AMJ3 y AMJ6), con porcentajes promedio de biosorción de 42 % (a 15 ppm) y 39 % (a 50 ppm), respectivamente. En comparación, el primer experimento en reactor de este estudio (Tabla 4) logró una remoción superior a concentraciones mayores, lo que sugiere que la cepa de *Yarrowia sp*. (225), aislada de Los Azufres, es más eficiente que las previamente reportadas.

Además, se han documentado otras levaduras como *Candida famata*, la cual, según Soto et al. (2017), logró una remoción del 83 % de Cr(VI), reduciendo su concentración de 98.53 ppm a 16.70 ppm.

Salas-Silva (2024) reportó resultados exitosos en la remoción de Cr(VI) utilizando panca de maíz. Como propuesta de continuación, sería interesante evaluar la combinación de *Yarrowia sp*. con panca de maíz u otros residuos lignocelulósicos.

Asimismo, Chaudhary et al. (2022) demostraron la capacidad de hongos filamentosos como *Aspergillus niveus, A. niger* y *A. flavus* para remover individualmente entre el 80 % y el 88 % de Cr(VI) a 50 ppm. Al formar un consorcio con estas cepas, se logró una remoción del 90 %. Estos hallazgos sugieren que la creación de consorcios microbianos con alto potencial puede ser una estrategia efectiva para aumentar la eficiencia de remoción de cromo. Cabe destacar que dichos estudios se enfocaron en concentraciones más bajas de Cr(VI) que las empleadas en este trabajo, por lo que reducir la concentración podría mejorar las condiciones de crecimiento y disminuir la toxicidad para las cepas utilizadas.

Por último, los análisis de tolerancia a diferentes temperaturas resultaron particularmente interesantes. La respuesta a variaciones de temperatura parece ser específica de cada cepa, como se ha observado en bacterias del género *Bacillus*, donde no se identificó un patrón claro (Pérez et al., 2018). Dado que las levaduras utilizadas fueron aisladas de un entorno con temperaturas promedio de hasta 80 °C, se habría esperado un mejor desempeño a temperaturas elevadas; sin embargo, las condiciones óptimas se alcanzaron a 34 °C.

IV. CONCLUSIONES

La cepa *Yarrowia sp*. es una gran candidata para procesos de biorremediación de Cr(VI), ya que además de presentar tolerancia a este metal, también demostró su capacidad para removerlo de medios líquidos altamente contaminados. El experimento con una concentración de 50 g L^{-1} de glucosa y 34 °C fue el más eficiente tanto en la producción de biomasa como en la remoción de Cr(VI).

https://doi.org/10.62805/cid2025.CID038
This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Una relación carbono/nitrógeno (C/N) cercana a 8 tuvo un efecto positivo en la generación de biomasa u en la eficiencia de remoción de Cr(VI), tal como se evidenció en los experimentos con 30 g L^{-1} de sacarosa y 20 ml L^{-1} de glicerol y el de 50 g L^{-1} de glucosa. Aunque las levaduras permanecieron viables a 40°C, no se garantiza la capacidad de remover Cr(VI), por lo tanto, 34°C se establece como la mejor temperatura en la que se favorece la remoción del metal y el crecimiento celular.

V. AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y al Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, A. C., por las facilidades y acceso a sus laboratorios, equipos y materiales para llevar a cabo este trabajo.

VI. REFERENCIAS

Arce, J., Rangel, E., Moreno, G., Saucedo, R., Castro, R., Macías, J. (2021). Caracterización geoquímica, petrográfica y evolución magmática del Campo Volcánico de Los Azufres, Michoacán, durante el Pleistoceno. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas. 8. (2)*. 122 – 140. https://doi.org/10.22201/cgeo.20072902e.2021.2.1646

Beltrán-Pineda, M. E., Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas, 12(2), 172-197.* https://doi.org/10.18359/rfcb.2027

Bastidas, L., Saguay, C. (2022). Evaluación del mesocarpio de *Citrus sinensis* y *Citrus limon* en tratamiento de efluentes industriales con presencia de plomo y cromo. [Tesis de licenciatura, Universidad Agraria del Ecuador]. https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/BASTIDAS%20MUENTES%20LEISSY%20GEOMARA.pdf

Chaudhary, P., Beniwal, V., Sharma, P., Goyal, S., Kumar, R., Alkhanjaf, A. A. M., & Umar, A. (2022). Unloading hazardous Cr and tannic acid from real and synthetic wastewater by novel fungal consortia. Environmental Technology & Innovation, 26, 102230. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102230

Cota-Ruiz, K., Nuñez-Gastelúm, J. A., Delgado-Rios, M., Martínez-Martínez A. (2019). Biorremediación: *Actualidad de conceptos y aplicaciones*. Biotecnia, 21(1), 37-44. https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i1.811

De Aguirre, L. G. G. C., Rausch, A. L. (2019). Incidencia de bacilos Gram (-) productores de cambapenemasas en el Hospital Escuela “Gral. José F. de San Martín” de la ciudad de Corrientes, Argentina, durante el mes de agosto del 2018. *Extensionismo, innovación y transferencia tecnológica*, 5, 222. https://doi.org/10.30972/eitt.503756

López, M. (2016). Tratamiento de un efluente proveniente de un laboratorio del cuero de CIATEC, A.C. mediante un proceso de electrocoagulación. [Tesis de licenciatura, Universidad de Guanajuato].

López-Jácome, L. E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en discapacidad*, 3(1), 10-18. https://www.medigraphic.com/pdfs/invdis/ir-2014/ir141b.pdf

Montoya, N. M., Casas, P. A., & Wandurraga, C. C. (2010). Plomo, cromo III y cromo VI y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia y tecnología para la salud visual y ocular*, 8(1), 77-88. https://saludvisual.lasalle.edu.co/article/view/1660

Morales, P., Cáceres, M., Scott, F., Díaz-Robles, L., Aroca, G., Vergara-Fernández, A. (2017). Biodegradation of benzo[α]pyrene, toluene, and formaldehyde from the gas phase by a consortium of *Rhodococcus erythropolis* and *Fusarium solani*. Applied Microbiology and Biotechnology 101, 6765–6777. 10.1007/s00253-017-8400-8

Otiniano García, M., Collantes, L., Castillo, H., Luján Velásquez, M., Castillo, M. (2019). Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por *Pseudomonas sp.* y su efecto sobre el ciclo celular de *Allium* cepa. *Revista Médica Vallejiana,* 4. 32-42. 10.18050/revistamedicavallejiana.v4i1.2218

Panigatti, M. C., Griffa, C., Boglione, R., Gentinetta, F., Cassina, D. (2012*)*. Uso de *Escherichia coli* para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI). *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 11-24. https://www.researchgate.net/publication/277273769_Uso_de_Escherichia_coli_para_biorremediacion_de_efluentes_contaminados_por_cromo_VI

Pérez Bou, L., Salgado Bernal, I., Larrea Duarte, C., Martínez Sardiñas, A., Cruz Arias, M. E., Carballo Valdés, M. E. (2018). Biosorción microbiana de metales pesados: características del proceso. Cuban Journal of Biological Sciences, 6(1). https://revistas.uh.cu/rccb/article/view/1196

Salas-Silva, J. C. (2024). Remoción de cromo VI con panca de maíz como biosorbente en muestras sintéticas a nivel de laboratorio [Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Federico Villareal]. https://hdl.handle.net/20.500.13084/8840

Sánchez, M. C., Vergara, V., Polo, L. D., Álvarez Aldana, A. (2017). Primer acercamiento del estudiante de Microbiología a las técnicas de recuento en superficie, profundidad y cámara De Neubauer. Recuperado de: https://hdl.handle.net/10901/17612.

Sánchez, T. (2020*)*. Evaluación de resistencia y biosorción de metales pesados en levaduras nativas aisladas de lagunas altoandinas contaminadas con relaves mineros. [Tesis de Doctorado, Universidad Mayor de San Marcos]. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/affed9aa-e685-410d-9085-4d928690b8b0

Secretaria de Comercio y Fomento Industrial (2014). NMX-AA-044-SCFI-2014 que instituye la medición de cromo hexavalente en aguas naturales, salinas, residuales y residuales tratadas en los Estados Unidos Mexicanos. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166148/nmx-aa-044-scfi-2014.pdf

This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Año: 2025. Volumen: 1. Numero:11 ISSN: 2448-623X

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2021). NOM-001-SEMARNAT-2021 que establece los límites permisibles de los contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación. http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ecol/semarnat001-2022_03.pdf

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2004). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-147-semarnat-ssa1-2004

Soto Rueda, E. M., Landázuri, P., Loango, N. (2017). Remoción de cromo hexavalente de aguas residuales con microorganismos adaptados a medios ricos en cromo. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, 1(29), 49–57.* https://revistaaccb.org/r/index.php/accb/article/view/140

Torrel, R. M. (2020). Evaluación de la bioacumulación de plomo en tallo, hojas y coronta de *Zea mays* en muestras sintéticas [Tesis de licenciatura, Universidad Privada del Norte] Recuperado de http://hdl.handle.net/11537/24206

Torres López, A. M., Quintero Díaz, J. C., Atehortua Garcés, L. (2011). Efecto de nutrientes sobre la producción de biomasa del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*. Revista Colombiana de Biotecnología, 13(1), 103-109. https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/22949/38236

Xiao, Z., Storms, R., Tsang, A. (2004). Microplate-based filter paper assay to measure total cellulase activity. *Biotechnology and Bioengineering*, *88*(7), 832-837.https://doi.org/10.1002/bit.20286

h t t p s : / / d o i . o r g / 1 0 . 6 2 8 0 5 / c i d 2 0 2 5 . C I D 0 3 8

This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/