



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS DEL DISEÑO Y DE LA
CONSTRUCCIÓN**

**ESTUDIO SOBRE LOS MECANISMOS DE REMOCIÓN DE
CADMIO Y CROMO EN LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN
ENRIQUECIDAS CON BIOFLÓCULOS**

TESIS

QUE PRESENTA

Q.F.B ROSALINDA AGUIRRE SOTO

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN INGENIERÍA
EN EL AREA AMBIENTAL**

TUTOR: DR. FRANCISCO JAVIER AVELAR GONZÁLEZ.

COTUTOR: DRA. ALMA LILIÁN GUERRERO BARRERA.

AGUASCALIENTES, AGS 03 DE JULIO DE 2009.



Aguascalientes, Ags., 30 de Junio de 2009

M. EN C. MARIO ANDRADE CERVANTES
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DEL DISEÑO
Y DE LA CONTRUCCIÓN
PRESENTE.

Por este medio, hago constar que el **Q.F.B. Rosalinda Aguirre Soto**, cumplió con todos los requisitos de su trabajo del proyecto de tesis: "*Estudios sobre mecanismos de remoción de cadmio y cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos*", de la Maestría en Ingeniería en el área Ambiental.

Su documento de tesis ha sido revisado y avalado como versión final por los miembros del comité tutorial, por lo cual puede procederse a la programación de su Examen de Grado.

Sin otro particular por el momento, quedo de usted.

A T E N T A M E N T E
"SE LUMEN PROFERRE"

COMITÉ TUTORAL


DR. FRANCISCO JAVIER AVELAR GONZÁLEZ
TUTOR


DRA. ALMA LILIAN GUERRERO BARRERA
COTUTOR


DR. ELSA MARCELA RAMÍREZ LÓPEZ
ASESOR

c.c.p. I.B.Q. Rosalinda Aguirre Soto.- Alumno.
c.c.p. Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
01 JUL. 2009
CENTRO DE CIENCIAS DEL DISEÑO
Y DE LA CONSTRUCCIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES



Centro de Ciencias del
Diseño y de la Construcción

Oficio No. DC-D-267-09

Q.F.B. ROSALINDA AGUIRRE SOTO
P R E S E N T E.

Atendiendo a su comunicado con fecha 30 de junio del presente le comunico que no hay inconveniente en aprobar lo solicitado, a la vez debo recordarle que sin menoscabo a los artículos respectivos al proceso de titulación al grado de Maestría que nos indica el reglamento de Docencia de nuestra Institución.

Sin más por el momento me despido de Usted con un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERRE"
Aguascalientes, Ags., 01 de Julio de 2009.

M. EN ADMON. MARIO ANDRADE CERVANTES
DECANO

c.c.p. M. en I. Luis Gilberto Zavala Peñaflor – Jefe del Depto. de Geotecnia e Hidráulica
c.c.p. Dr. Francisco Javier Avelar González - Tutor
c.c.p. Dra. Alma Lillán Guerrero Barrera – Cotutor
c.c.p. Dra. Elsa Marcela Ramírez López – Asesor
c.c.p. Archivo

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

A **Dios**, por todas las bendiciones concedidas.

A mi **Madre**, por su apoyo y amor incondicional.

A mi **Padre**, cuyo recuerdo me impulsó a seguir adelante.

A mi abuelo, por sus consejos y palabras de aliento.

A mis hermanos, cuñados y sobrinos, por su cariño y apoyo.

A los doctores Francisco Javier Avelar González y Alma Lilián Guerrero Barrera, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y el apoyo ofrecido en este proyecto.

Por todos los gratos momentos compartidos, a mis compañeros de maestría: Rafael, Francisco Javier, Gamaliel, Rocío, Ofelia, Azael, Hugo, Raymundo, Eduardo L., Antonio, Juan Carlos, Hector, Eduardo, Álvaro, Luis, J.Rosario, y Pedro.

Por los conocimientos ofrecidos, a todos y cada uno de mis maestros: Evangelina Tapia, Lupita Lira, Adriana Nieto, Samanta Ramos, Francisco Javier Avelar, Carlos González, José Luis López, Sergio I. Martínez, Jorge Rodríguez, Javier Amador, Miguel Salas, Joel Castillo.

Por su amistad, ayuda y apoyo ofrecidos en mi trabajo de tesis, a mis compañeros de laboratorio: Luis Fernando, Samanta, Romelia, Mónica, Nayeli, Abril, Marcela, Alejandra, Laurita Yamamoto, Víctor, Manuel, Israel, Juan y Cesar.

Por todo el apoyo y oportunidades recibidas en el trabajo, a Miss Brenda y Miss Evelyn Cháirez L.

RESUMEN

El agua es un recurso natural indispensable para la vida en nuestro planeta y para las actividades del ser humano. Se estima que en las últimas décadas, la disponibilidad de este recurso ha ido decreciendo y continuará haciéndolo progresivamente, debido a varios factores tanto sociales como naturales. La disminución del agua presente en los cuerpos de agua para su abastecimiento y el aumento constante de la contaminación de los mismos ha ido mermando la disponibilidad de agua para uso humano y el medio ambiente en general, por lo que es necesario continuar con estrategias orientadas en la sustentabilidad.

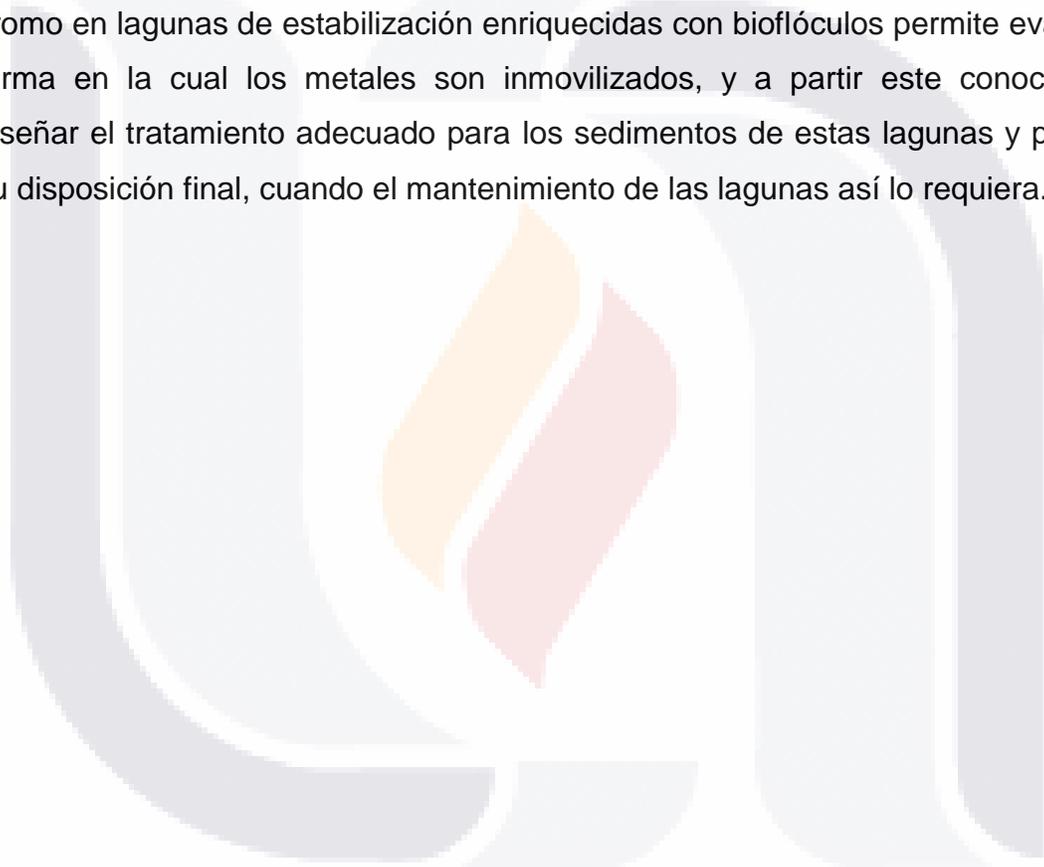
El uso de lagunas de estabilización es una práctica común para el tratamiento de aguas residuales en caracterizado por su bajo costo de inversión, operación y mantenimiento, por su sencillez de operación y su alta eficiencia en remoción de patógenos. Lamentablemente presentan algunas desventajas, como la necesidad de grandes extensiones de terreno para poder aumentar los tiempos de retención y permitir que la baja biomasa activa pueda remover eficazmente la materia orgánica, además, por ser un tratamiento biológico, es altamente susceptible a descargas industriales que contengan altas cargas de contaminantes tóxicos, como es el caso de metales pesados.

Algunos métodos han sido propuestos para mejorar la eficiencia de dichas lagunas, uno de ellos es incrementando la concentración de biomasa activa por medio de enriquecimiento con bioflóculos provenientes de sedimentadores secundarios. Este método alternativo ha mostrado mejorar la eficiencia de remoción de materia orgánica y otros contaminantes como fenol y algunos metales pesados como el cromo y cadmio.

En el presente trabajo se evalúa por medio de microscopía de fluorescencia los principales mecanismos de remoción de cadmio y cromo en lagunas de estabilización que han sido enriquecidas con bioflóculos, obteniendo como resultados: que el metal removido en dichas lagunas se encuentra tanto adsorbido

en la biomasa, como en forma de cristales. Además, en el caso de la laguna tratada con cromo VI, fue posible concluir que el cromo VI es reducido a cromo III. Estos resultados nos permiten complementar estudios anteriores, en los cuales, aunque se había determinado la presencia del metal removido tanto en fracciones orgánicas como inorgánicas del sedimento de las lagunas, era necesario comprobar los mecanismos biológicos implícitos en tales procesos.

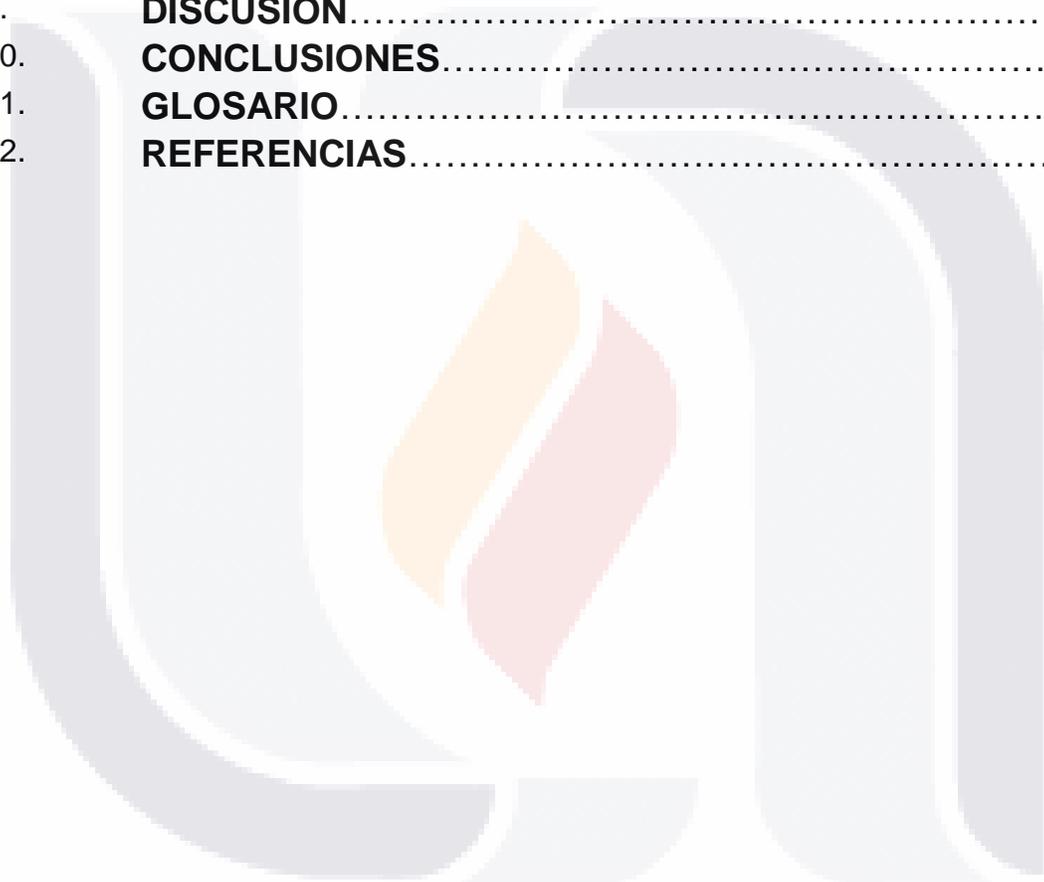
El conocimiento de los principales mecanismos de remoción de cadmio y cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos permite evaluar la forma en la cual los metales son inmovilizados, y a partir este conocimiento diseñar el tratamiento adecuado para los sedimentos de estas lagunas y previo a su disposición final, cuando el mantenimiento de las lagunas así lo requiera.



ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	AGUA.....	1
1.1.1	DISPONIBILIDAD.....	1
1.1.2	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DISPONIBILIDAD DEL AGUA.....	2
1.1.3	SALUD Y AGUA.....	6
1.2	METALES PESADOS.....	7
1.2.1	CROMO.....	8
1.2.2	CADMIO.....	10
1.3	TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	11
1.3.1	ESTADÍSTICAS GENERALES DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN MÉXICO.....	11
1.3.2	DESCRIPCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	13
1.4	LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN.....	14
1.4.1	CLASIFICACIÓN DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN....	16
1.4.2	VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN.....	17
1.5	MECANISMOS BACTERIOLÓGICOS Y SU INTERACCIÓN CON METALES PESADOS.....	19
2.	ANTECEDENTES	24
3.	JUSTIFICACIÓN	25
4.	HIPÓTESIS	26
5.	OBJETIVO GENERAL	26
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
7.	METODOLOGÍA	27
7.1	INSTALACIÓN DE LAGUNAS ESCALA LABORATORIO.....	27
7.2	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE BIOFLÓCULO.....	30
7.3	MICROSCOPIA DE EPIFLUORESCENCIA.....	30
7.3.1	Microscopía de epifluorescencia en sales de cadmio, cromo III y cromo IV.....	30
7.3.2	Microscopía de epifluorescencia de Agua residual sintética.....	30
7.33	Microscopía de epifluorescencia de Bioflóculos.....	31
7.4	MICROSCOPIA CONFOCAL.....	31
8.	RESULTADOS	32
8.1	MICROSCOPIA DE EPIFLUORESCENCIA.....	33

8.1.1	MICROFOTOGRAFÍAS DE SALES DE CROMATO DE POTASIO, CLORURO CRÓMICO Y CLORURO DE CADMIO.....	34
8.1.2	MICROFOTOGRAFÍAS DE SALES COMPONENTES DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA.....	35
8.2	MICROFOTOGRAFÍAS DE BIOFLÓCULOS.....	37
8.2.1	Microfotografías de laguna sin tratamiento con metales.....	37
8.2.2	Microfotografías de laguna tratada con 153 mg/L de cromo.....	37
8.2.3	Microfotografías de laguna tratada con 107.7 mg/L de cadmio...	40
8.1	MICROSCOPIA CONFOCAL.....	42
9.	DISCUSIÓN	44
10.	CONCLUSIONES	47
11.	GLOSARIO	49
12.	REFERENCIAS	57

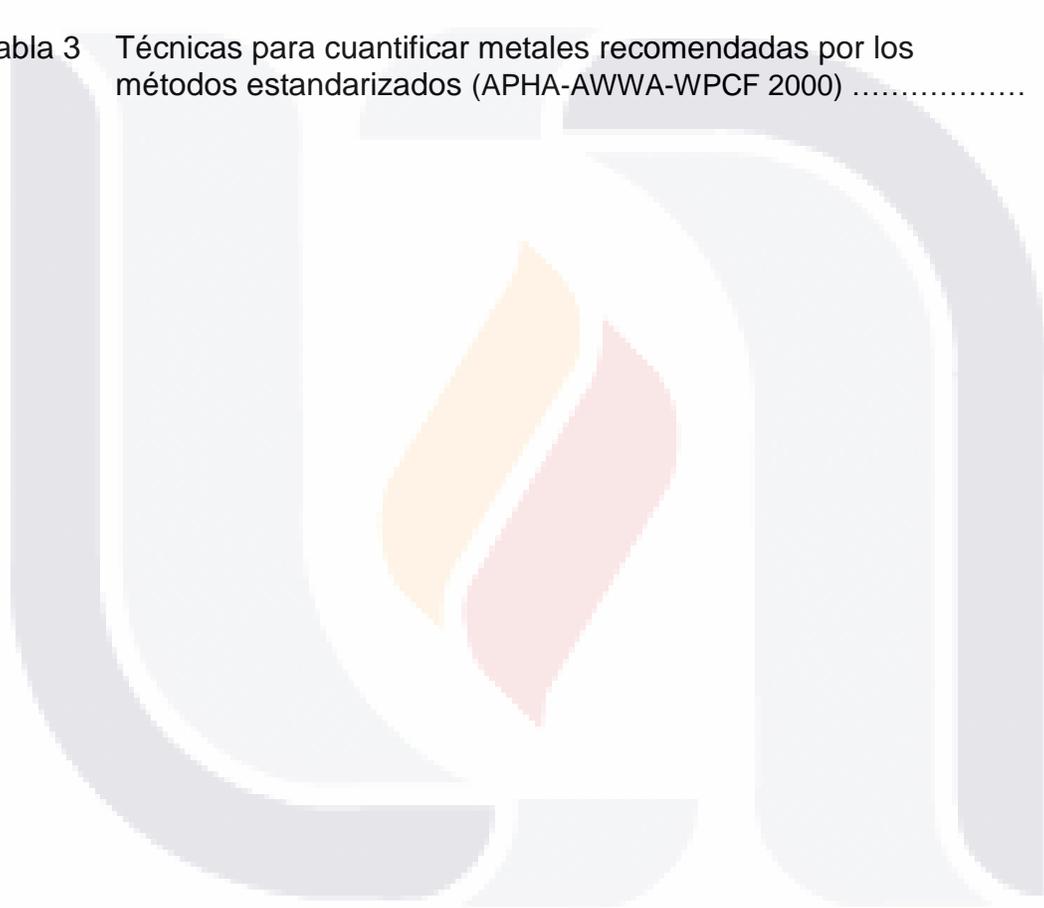


ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Esquema de laguna de estabilización Eckenfelder.....	27
Figura 2	Microfotografía de sales de dicromato de potasio (Cromo VI) en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	34
Figura 3	Microfotografía de sales de cloruro crómico (cromo III) en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	34
Figura 4	Microfotografía de sales de cloruro de cadmio en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	35
Figura 5	Microfotografía de Sales de Fosfato monoácido de potasio (KH_2PO_4) en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	35
Figura 6	Microfotografía de sales de sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	36
Figura 7	Microfotografía de cloruro de sodio (NaCl) en campo claro (a) y fluorescencia (b).	36
Figura 8	Microfotografía de cloruro de amonio (NH_4Cl) en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	37
Figura 9	Microfotografía de sales de Urea (NH_2) ₂ en campo claro (a) y fluorescencia (b).....	37
Figura 10	Microfotografías de bioflóculo proveniente de la laguna control negativo (libre de metales) en campo claro (a,c,e) y fluorescencia (b,d,f).....	38
Figura 11	Microfotografías de bioflóculos provenientes de la laguna tratada con cromo VI. (a,c,e) campo claro y (b,d,f) fluorescencia.....	39
Figura 12	Microfotografías de bioflóculos provenientes de la laguna tratada con cromo VI. (g,i) campo claro y (h,j) fluorescencia...	40
Figura 13	Microfotografías de bioflóculos provenientes de la laguna tratada con cadmio. (a,c,e,g) campo claro y (b,d,f,j) fluorescencia.....	41
Figura 14	Microfotografía de sedimentos de laguna control negativo (libre de metales).....	42
Figura 15	Microfotografía de sedimentos de laguna tratada con dicromato de potasio (Cr VI).....	43
Figura 16	Microfotografía de sedimentos de laguna tratada con cloruro de cadmio.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales, 2007.....	12
Tabla 2	Solución Madre de agua residual sintética residuales en México, 2007.....	28
Tabla 3	Técnicas para cuantificar metales recomendadas por los métodos estandarizados (APHA-AWWA-WPCF 2000)	29



1. INTRODUCCIÓN

1.1 AGUA

La vida en este planeta depende indispensablemente de la presencia de agua, ya sea en forma de vapor, sólido o en su estado líquido. El agua tiene un rol insustituible en la regulación del funcionamiento de la biósfera, así como en el balance global de la energía del planeta (Soares, Vargas y Nuñez, 2008)

El agua es uno de los compuestos más abundantes en la corteza terrestre, extendiéndose desde una profundidad promedio de unos 800 metros en la litósfera, hasta una altura promedio de 16 km en la atmósfera (Martínez, 2000). Atraviesa por una sucesión de etapas al pasar de los mares a la tierra y volver a los mares en un constante movimiento conocido como ciclo hidrológico: El agua en la atmósfera es consecuencia de la evapotranspiración de las plantas y la evaporación del agua superficial presente en ríos, lagos y océano, al condensarse este vapor de agua precipita en forma de lluvia, siendo retenida una parte por la vegetación, edificios, glaciares, lagos, etc., la cual regresará a la atmósfera en forma de vapor, y la otra parte escurre superficial o subterráneamente hasta volver tarde o temprano al mar (Martínez, 2000).

1.1.1 DISPONIBILIDAD

A pesar de su abundancia en el planeta, menos del 0.01% del total existente en la Tierra es potable y solo un 1% del agua total de la hidrósfera es aprovechable en forma fácil y económica con la actual tecnología (Martínez, 2000). La disponibilidad a nivel mundial no es homogénea, encontrándose fluctuaciones muy marcadas en este aspecto en el mundo, mientras que en unos países abunda el agua, en otros es muy escasa (INEGI, 2000).

De los 177 países de los cuales se dispone información, México se encuentra en el lugar 89 en términos de disponibilidad natural media per cápita, 4 312 m³/hab/año (CNA, 2008A). Sin embargo, el total del agua superficial disponible en México no se encuentra homogéneamente distribuida, dos terceras partes del territorio nacional son áridas o semiáridas (CNA, 2008A). La zona sur del país presenta la mayor disponibilidad natural media de agua de país debido a que presenta los valores más altos de escurrimiento y recarga media total (INEGI, 2009). En general, el 67% de la lluvia en México se presenta en tan sólo cuatro meses al año, lo que dificulta su aprovechamiento.

La disponibilidad de agua en México es 458 000 millones de metros cúbicos anuales (CNA, 2008A) y para el año 2007, contaba con una disponibilidad natural media de 4 313 m³/hab/año (CNA, 2008A).

A nivel mundial, de manera muy generalizada, el 70% del agua disponible se utiliza para agricultura, 20% para industria y 10% para uso doméstico (UNESCO, 2007); mientras que en México el 77% del consumo de agua se utiliza para fines agrícolas, el 14 % para abastecimiento público, 5% para termoeléctricas y un 4% para la industria autoabastecida. Del total del recurso utilizado, el 63% proviene de fuentes superficiales y el restante 37% de fuentes subterráneas (CNA, 2008A).

1.1.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DISPONIBILIDAD DEL AGUA

Lamentablemente se prevé que la disponibilidad de agua en México y a nivel mundial, se verá fuertemente afectada por diversos factores, principalmente por aspectos de tipo social y cambio climático.

CAMBIO CLIMÁTICO.

El calentamiento de la tierra ha empezado a influir drásticamente en el ciclo hidrológico global. En forma general puede dilucidarse que este calentamiento traerá un aumento en la evaporación y precipitación de lluvias, influyendo sobre fenómenos hidrológicos extremos como sequías e inundaciones (UNESCO,

2009). Un aumento en la temperatura global, incidirá en mayor demanda de agua, sobre todo por los ecosistemas y la agricultura (IMTA, 2007), interferirá en la calidad del agua en ríos y con mayor intensidad, en lagos, humedales y ecosistemas costeros. Reducirá la disponibilidad de agua por causa de deshielo de glaciares y casquetes polares. Además disminuirá la humedad del suelo, debido a lo cual, la vegetación irá siendo sustituida a semiárida o árida, por lo que la productividad de algunos cultivos disminuirá, lo que implica una disminución en la producción de alimentos (CNA, 2008B)

CRECIMIENTO DEMOGRÁFICO.

La población mundial asciende a unos 6 700 millones de personas y va aumentando a razón de 75 millones por año (UNFPA, 2007). Se calcula que para el año 2030 el aumento en la población disminuirá la disponibilidad media natural per-cápita a 3783 m³/hab/año (CNA, 2008B; INEGI, 2005). El crecimiento demográfico implica una mayor demanda en productos agrícolas, tanto para abastecimiento de alimentos como de diversos productos; lo que motiva a un incremento en el consumo de agua virtual. Por ejemplo, el uso agrícola del agua emplea un 70% del consumo total de agua a nivel mundial, para producir 1 Kg de trigo, se necesita entre 800 y 400 litros de agua, de igual forma, para producir 1 Kg de carne de res se invierten entre 2000 y 16000 litros de agua; o bien, para producir un litro de biocombustible se necesitan entre 1 000 y 4000 litros de agua (UNESCO, 2009). Este tipo de consumo de agua que no tiene contacto directo con el hombre, pero se emplea en la producción de un producto o servicio se le conoce como agua virtual (CNA, 2008A). Además, el aumento en la población trae consigo cambios en uso de suelo y alteraciones en zonas de captación de cuencas por deforestación y erosión (IMTA, 2007).

NIVEL DE VIDA.

El aumento en los niveles de vida, implica un aumento en el consumo de energía (crecimiento hidroeléctrico y de biocombustibles), y en los hábitos alimentarios, lo cual origina un aumento en el uso de agua virtual; además implica

un mayor desarrollo en el área industrial y tecnológica, para poder satisfacer las nuevas necesidades y hábitos de la población.

URBANIZACIÓN.

La sociedad actual tiende a centralizarse y vivir en ciudades. Casi la mitad de la población humana 3300 millones de personas viven en zonas urbanas y se calcula que para el año 2030 serán alrededor de 5000 millones, albergándose el 80% de estas personas en zonas urbanas de países en desarrollo (UNFPA, 2007).

Estos asentamientos urbanos, constituyen en su mayoría un territorio de importancia crítica, tanto social como ambiental. Se prevé que entre el año 2000 y 2030, la población urbana del mundo aumentará en un 72%, mientras que la superficie de zonas edificadas donde viven más de 100 000 habitantes podría aumentar en un 175 % (UNFPA, 2007). La expansión territorial de estas zonas afecta las condiciones del medio ambiente, como es la invasión de tierras fértiles agrícolas, así como la reducción de superficie necesaria para la infiltración y recarga de agua de los mantos acuíferos, alterando aún más el ciclo hidrológico y por ende la disponibilidad de agua. De igual importancia, esta acumulación de personas en zonas localizadas implicará mayor necesidad de abasto de agua potable, disminuyendo la disponibilidad media per cápita en esas zonas.

Un factor más, importante en la afectación de la disponibilidad de agua, es que estos asentamientos urbanos traen consigo una mayor contaminación del medio ambiente, lo que implica que la calidad del agua se ve afectada en forma notoria por la contaminación debida a residuos urbanos e industriales. Una alta población trae consigo un aumento en la cantidad de desechos sólidos y aguas residuales, los cuales si no son bien manejados, tienden a ser descargados principalmente en cuerpos de agua superficiales, disminuyendo la calidad del agua de los mismos y por lo tanto la disponibilidad de agua dulce superficial.

DISPONIBILIDAD DEL AGUA SUBTERRÁNEA

La calidad del agua subterránea se está convirtiendo en un factor limitante de la disponibilidad de agua (CNA, 2008A). Al disminuir la calidad del agua superficial, y aumentar el consumo de agua en zonas áridas y semiáridas, la principal fuente alterna de abastecimiento de agua es el recurso presente en los acuíferos. Las aguas subterráneas pueden considerarse como un recurso no renovable, debido a que su tiempo de recarga es demasiado amplio, llegando a cientos de miles de años. Así, cuando el grado de explotación de las cuencas de agua subterránea supera en gran escala la recarga natural del acuífero, este consumo inmoderado puede traer consigo diversos problemas asociados con la sobre explotación éstas, como son la subsidencia del terreno, intrusión salina y deterioro de la calidad de agua subterránea (Wall, 1974).

En México los acuíferos tienen una importancia especial, debido a que son las únicas fuentes confiables de suministro de agua en regiones áridas y semiáridas del país; proporcionan el agua requerida a un 70% de la población, así como de la mayoría de las industrias, y sustentan una tercera parte del riego total (CNA, 2008B). Del Volumen total de agua utilizado en México para usos consuntivos, el 37% (30000 millones de m³/año) proviene de fuentes subterráneas. Lamentablemente, la sobredemanda y limitada disponibilidad de aguas superficiales en gran parte del territorio mexicano ha propiciado que de un total de 653 acuíferos, 101 se encuentren sobreexplotados y 17 sufran intrusión marina (CNA, 2008A). La sobreexplotación de acuíferos en el país ha traído consigo el agotamiento de manantiales, desaparición de lagos, disminución del gasto base de ríos, y problemas en la salud originados por contaminación biológica externa y por la presencia en concentraciones superiores a las permisibles de elementos químicos como flúor y arsénico provenientes de las rocas que conforman la estructura geológica de los acuíferos (CNA, 2008B).

Este recurso hidráulico es fundamental e indispensable para un gran sector de la población mexicana, principalmente en estados semiáridos donde la principal

fuelle de abastecimiento de agua proviene de los acuíferos. Por ejemplo, en el estado de Aguascalientes el 71.7% es subterránea y el 28.3% agua superficial. Siendo su principal uso el agrícola con un 79.2%, uso público 19% y un uso industrial de 1.8%. En el estado de zacatecas, de forma similar, el 77% del agua utilizada es de origen subterráneo y 23% de origen superficial; en este caso, del total del agua consumida, el 90.8% se emplea en uso agrícola, 7.9% para uso público y sólo el 1.3% para uso industrial (CNA, 2008A).

1.1.3 SALUD Y AGUA

Como hemos visto, el agua es uno de los recursos naturales más importantes para mantener la calidad de vida de la población. Aproximadamente un 80% de las enfermedades que azotan a los países en desarrollo tienen relación directa con el agua (UNESCO, 2007). Estimaciones de la OMS indican que anualmente mueren 1.5 millones de personas por enfermedades diarreicas (CNA, 2008; CNA 2008B)

El aumento en la urbanización, la mala infraestructura de saneamiento, la inadecuada descarga de aguas residuales, contribuyen a la generación de ambientes poco saludables (OPS, 2007). Se estima que el 24 % de la morbilidad mundial puede atribuirse a factores relacionados con el ambiente. En países desarrollados el porcentaje de mortalidad atribuible a factores relacionados con el ambiente es de 17%, mientras que en países en desarrollo es del 25% (OPS, 2007). La mala disposición de aguas residuales domésticas contaminan los cuerpos receptores tanto superficiales como de aguas subterráneas. El riego con aguas residuales se ha asociado con la transmisión de enfermedades entéricas y parecimientos originados por tóxicos presentes en ellas; razón por la cual, muchos problemas de salud continuarán agravándose si se continúa presentando una escasa cobertura de agua potable y un saneamiento inadecuado del agua residual.

En año 2002, las Naciones Unidas acordaron un Pacto Internacional de Derechos Económicos, Sociales y Culturales, en el cual por primera vez se reconoció que el agua es un derecho humano fundamental. Se estableció la

obligación de los gobiernos de asegurar progresivamente que todos tengan acceso a agua potable suficiente, segura, a precio asequible y de calidad aceptable para su uso (OPS, 2007). En el caso de México, el gobierno actual, por medio del Plan Hídrico Nacional 2007-2012, entre sus cinco objetivos primordiales incluye el incremento al acceso y calidad de servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento; y dentro del saneamiento, se formula aumentar el tratamiento de agua residual en un 23.6% para llegar a una meta acumulada de tratamiento del 60% del total del agua residual colectada en todo el país (CNA 2008B).

1.2 METALES PESADOS

Los metales pesados encontrados en aguas residuales provenientes principalmente de la actividad industrial tienen una alta persistencia en el medio ambiente (Branco *et al*, 2005), representando serios riesgos para la salud y sobrevivencia de los seres vivos en general (Faisal *et al*, 2005) debido a que tienden a magnificarse biológicamente a través de la cadena alimenticia.

Se considera como metal pesado a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico en concentraciones bajas. La agencia de protección del medio ambiente de los Estados Unidos (EPA) ha clasificado trece metales como altamente contaminantes: aluminio, antimonio, arsénico, berilio, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel, selenio, plata y zinc. Siendo los más tóxicos el arsénico, cadmio, cromo, mercurio y plomo, contaminantes que tienden a acumularse en los sedimentos y el agua (Prieto, 2005).

Los metales pesados, junto con el arsénico (metaloide) son sustancias bioacumulables y por ello sus efectos se pueden reflejar en el mediano o en el largo plazo. Su forma más tóxica es generalmente cuando están ionizados; sin embargo, en ocasiones al formar complejos se potencia la toxicidad como es el caso del metilmercurio.

El mecanismo de toxicidad de los metales no esenciales ocurre a través del desplazamiento de metales esenciales de sus sitios de unión o a través de interacciones con ligandos; por ejemplo, los metales pesados divalentes, como Hg^{2+} y Cd^{2+} tienden a unirse a grupos sulfhidrilo y así inhibir la actividad de varias enzimas. En altas concentraciones los metales esenciales y no esenciales producen daños a la membrana celular, alteración específica de enzimas, alteran funciones celulares y dañan la estructura del ADN. (Srivastava & Thakur, 2006)

1.2.1 CROMO.

El cromo es el segundo contaminante inorgánico de aguas subterráneas en sitios de desechos peligrosos (Horton y Sheridan, 2006). Es un contaminante prioritario de suelo y agua que antropogénicamente proviene principalmente de industrias para la fabricación de pigmentos, aleaciones, galvanoplastia, curtido de cuero, preservación de madera y síntesis química (Priester, 2006).

El cromo es un elemento del grupo VI, sub grupo I, tiene un peso atómico de 52 y número atómico de 24. Presenta varios estados de oxidación, siendo el estado +3 el más estable, seguido de +6, aunque se pueden presentar estados +1, +4 y +5 que son muy inestables (Bargallo, 1972; Srivastava y Thakur, 2006). Tiene un alto punto de fusión 1930 °C y de ebullición 2482 °C (Choppin, 1974). Es muy duro y no se altera en contacto con aire frío, y calentado a la temperatura del rojo en presencia de aire se recubre de una capa muy delgada de óxido, lo cual le da las propiedades para ser utilizado en aleaciones y galvanoplastia.

El cromo está bastante extendido en la naturaleza en diversos minerales, Se calcula que la presencia de cromo en la corteza terrestre es aproximadamente del 0.035% (Bargalló, 1972). Las menas más importantes son de cromita, compuesta por óxidos de hierro y cromo ($\text{Cr}_2\text{O}_3 \cdot \text{FeO}$) y la crocoíta que es un compuesto de plomo, PbCrO_4 . Los principales yacimientos de cromo a nivel mundial se localizan en el estado de Montana (U.S.A), en Siberia, Rumanía, Turquía y África del Sur. En México se han explotado en pequeña escala algunos yacimientos de Cromita. Algunos ejemplos de compuestos de cromo en diferentes

estados de oxidación y sus usos son: Cloruro cromoso CrCl_2 , que se utiliza como reductor de algunos compuestos orgánicos; Óxido Crómico Cr_2O_3 , suele utilizarse como pigmento azul verde en fundido en vidrio o cerámica y como catalizador; Sulfato crómico $\text{Cr}(\text{SO}_4)_3$, se utiliza en tintorería como mordiente en curtido de pieles, y junto con otras sales de níquel se emplea para el cromado electrolítico de objetos de otros metales, generalmente hierro; Dicromato de potasio $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, es un poderoso oxidante muy utilizado en laboratorios e industria, se aplica a despolarizantes de pilas eléctricas, y en la pigmentofotografía (Bargallo, 1972).

El cromo III es un elemento con un papel esencial en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas, debido a que es parte del oligopéptido cromodulina, el cual potencializa los efectos de la insulina, facilitando la unión de ésta a los receptores en la superficie de la célula y mejorando la sensibilidad en las células beta pancreáticas, estimula la asimilación de aminoácidos en las células musculares y reduce los riesgos de aterogénesis (Afonne *et al*, 2002; Pechova y Pavlata, 2007). En cambio, el cromo VI es altamente tóxico debido a que es un fuerte oxidante capaz de atravesar las membranas biológicas, reaccionando con componentes protéicos y ácidos nucleares; dicha reacción con material genético le da las propiedades carcinogénicas al cromo VI. El cromo puede absorberse por vía respiratoria, gastrointestinal o cutánea, siendo la respiratoria la de mayor importancia (Katzung, 1999). El envenenamiento agudo produce síntomas de vómito, diarrea, hemorragia gastrointestinal, necrosis de hígado y riñón. En exposiciones crónicas dérmicas, el cromo VI produce úlceras crónicas en piel y dermatitis imitativa aguda. Cuando es por inhalación, el cromo VI causa irritación en el tracto respiratorio, ulceración y perforación nasal, rinitis, bronco espasmos y neumonía, así como aumenta el riesgo de cáncer de pulmón. También se relaciona con anomalías en la morfología de espermatozoides, necrosis renal, hemorragias gastrointestinales debido a la ulceración de la mucosa intestinal, y efectos carcinogénicos de pulmón, principalmente cuando se encuentra en forma de cromatos de zinc y calcio (Afonne *et al*, 2002; Kumar, 2005; Pechova y Pavlata, 2007).

1.2.2 CADMIO

El cadmio es un elemento divalente del Grupo II, subgrupo 2 de la tabla periódica, con número atómico de 48 y densidad de relativa de 8.65. El porcentaje de cadmio en la corteza terrestre es de 1.8×10^{-5} . No se encuentra libre en la naturaleza y sus minerales son muy escasos, por lo que la mayor parte del cadmio se obtiene como greenockita (CdS) en menas de zinc, que contienen aproximadamente 0.2 a 0.4% de cadmio. Las principales menas se localizan en E.U.A. CANADÁ, México, Australia, Bélgica y Corea. En México los principales yacimientos de zinc y por consiguiente de cadmio se localizaban en los estados de Chihuahua (Santa Eulalia), Zacatecas (Fresnillo), SLP (Charcas) y Coahuila (Sabinas), llegando a ocupar el primer lugar en producción de cadmio a nivel mundial en el año de 1952 (Borgalló, 1971). Su principal uso es como cubierta electrodepositada sobre hierro o acero contra corrosión, también en la producción de baterías Niquel-Cadmio, como reactivo en la industria química, principalmente en la de los fertilizantes fosfatados industriales y como pigmento. Las aleaciones de cadmio se emplean en piezas de motores que operan a altas velocidades y temperaturas elevadas (Choppin, 1974).

El cadmio es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo; los suelos ácidos aumentan la biodisponibilidad del cadmio por las plantas, entrando de esta forma a la cadena alimenticia. En sistemas acuáticos, el cadmio es bioacumulable en ostras, mejillones, langostas y peces.

En el ser humano, las vías de absorción son básicamente gastrointestinal (2 a 6%), respiratoria y cutánea (8-12%). La mayor fuente de exposición es a través de alimentos, bebidas, humo de cigarrillos y exposición laboral. Cuando la absorción es respiratoria, el cadmio se extiende en la circulación generalmente en forma de complejos cisteína-cadmio, en tanto que la adsorción dérmica es facilitada por dos mecanismos: por la unión de iones de cadmio libres a radicales sulfhidrilo de la cisteína presente en la queratina epidérmica, o por la inducción y acomplejación con

metalotioneína. Una vez absorbido el cadmio el primer órgano en llegar es el hígado produciendo necrosis y apoptosis de hepatocitos.

La intoxicación aguda a través de inhalación de cadmio (concentraciones superiores a $1\text{mg}/\text{m}^3$ durante 8 horas), produce pneumonitis química, y la ingesta de alimentos contaminados con cadmio (concentraciones superiores a $15\text{ mg}/\text{L}$) produce síntomas de intoxicación alimentaria.

A largo plazo, el cadmio se acumula principalmente en riñón, teniendo una vida media de aproximadamente diez años, causando necrosis celular tubular, aumento de riesgos de cálculos renales y aumento de eliminación por la orina de aminoácidos, glucosas y minerales como calcio y fosfato. A nivel reproductivo, interfiere en la biosíntesis de progesterona y testosterona, y produce como bajo peso al nacer y aumento de abortos espontáneos cuando hay exposición maternal. A nivel óseo produce una baja mineralización y densidad ósea, así como está asociado a la enfermedad Itai-Itai, caracterizada por un bajo grado de mineralización ósea, aumento de tasa de fracturas y osteoporosis e intenso dolor asociado a huesos. Epidemiológicamente no se ha podido demostrar convincentemente que el cadmio sea una causa de cáncer de próstata; sin embargo en los últimos años se ha clasificado como un cancerígeno humano del grupo I debido a su asociación con el cáncer renal, pero tan sólo el cadmio que ha sido absorbido por vía respiratoria muestra dicho potencial (Godt *et al*, 2006).

1.3 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

1.3.1 ESTADÍSTICAS GENERALES DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN MÉXICO.

En el año 2000, en toda América latina, tan solo el 14% del agua residual colectada recibía tratamiento, y de ésta, sólo el 6% tenía efluentes de calidad aceptable.

En México, en el año 2007, se recolectaron 7660 millones de m^3 / año de aguas residuales municipales y se trataron 2500 millones de m^3 /año; así como de

5980 millones de m³/año de aguas residuales industriales, se trataron 940 mil millones de m³/año. Es decir, se trató el 38.3% del total de agua recolectada en el sistema de alcantarillado. De esta agua tratada, se estima que se reutilizaron el 71.4% equivalente a 4722 millones de m³ de agua (150m³/s) principalmente en agricultura (58.5%) Servicios domésticos (6.7%), industrial (5.2%) y termoeléctricas (1%) (CNA, 2008A).

De los procesos de tratamiento de aguas residuales municipales en México, el más usado en número corresponde a las lagunas de estabilización, seguida por el proceso de lodos activados. Inversamente, refiriéndose a caudal tratado, el proceso de lodos activados trata un promedio de 35.15 m³/s siendo el proceso que trata el mayor porcentaje de caudal de agua residuales municipales y las lagunas de estabilización tratan un caudal de 14.24 m³/s ocupando el segundo lugar en caudal tratado (Ver tabla 1) (CNA, 2008A).

PRINCIPALES PROCESOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES, 2007			
PROCESO	NÚMERO	CAUDAL TRATADO (m³/s)	PORCENTAJE DE CAUDAL TRATADO %
Lagunas de estabilización	646	14.24	17.96
Lodos activados	417	35.14	44.32
Humedal artificial (Wetland)	130	0.48	0.61
Reactor anaerobio de flujo ascendente	111	1.04	1.31
Tanque séptico	77	0.13	0.16
Filtros biológicos	74	3.56	4.49
Tanque Imhoff	59	0.39	0.49
Reactor enzimático	59	0.11	0.14
Lagunas aireadas	26	6.08	7.66
Zanjas de oxidación	20	2-18	2.75
Primario avanzado	14	8.68	10.96
Primario	13	2.07	2.61
Biodiscos	6	0.47	0.59
Otros	58	4.73	5.97

Fuente: CNA, 2008. Estadísticas del agua en México.

Tabla 1

En el estado de Aguascalientes para diciembre de 2007 se contaba con 108 plantas tratadoras de aguas residuales municipales y 46 industriales en operación, con un caudal tratado entre 2 a 3.14 m³/s. Mientras que en el estado de Zacatecas se contaba únicamente con 35 plantas tratadoras de aguas residuales municipales y 7 industriales, para tratar un caudal total de 0.46 m³/s (CNA, 2008A)

1.3.2 DESCRIPCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.

Las aguas residuales provienen principalmente de zonas residenciales, comerciales, centros institucionales, centros recreativos, zonas industriales y agua pluvial (Crites y Tchobanoglous, 2000). Todas estas fuentes le confieren un caudal y concentración de constituyentes característicos al agua residual.

El tratamiento de aguas residuales es una combinación de operaciones físicas, procesos biológicos y químicos que remueven el material suspendido coloidal o disuelto en ellas, con el principal fin de remover DBO, sólidos suspendidos y remoción de patógenos, y es común agregar remoción de nitrógeno y fósforo, remoción de sustancias orgánicas refractarias, inorgánicas disueltas y trazas de metales pesados (Romero, 1999).

Existen diversas opciones típicas para el tratamiento de aguas residuales:

Tratamiento preliminar. Cuyo objetivo es remover aquellos constituyentes que pueden causar dificultades de operación y mantenimiento en los siguientes procesos, principalmente residuos de gran tamaño como basuras, arenas, y material flotante como las grasas y aceites. Las operaciones y procesos que se pueden emplear en el pretratamiento son el tamizado grueso y fino, dilaceración, remoción de arena, homogeneización de caudales y remoción de sólidos suspendidos totales (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf & Eddy, 1996).

Tratamiento primario. Su objetivo es la remoción parcial de sólidos suspendidos y materia orgánica. Este tratamiento remueve aproximadamente el

60% de sólidos suspendidos y 35% de DBO, y consta de procesos como tanques Imhof, sedimentador-desnatador, reactores para coagulación y/o floculación (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf & Eddy, 1996).

Tratamiento secundario. Se emplea principalmente para la remoción de DBO soluble y sólidos suspendidos (Romero, 1999). Consta de tratamiento biológico y sedimentación secundaria, con el fin de estabilizar la materia orgánica, además de coagular y remover los sólidos coloidales que no sedimentan en los procesos físicos. Emplean dos reacciones principales que conforman el proceso metabólico: las reacciones catabólicas, que producen la descomposición de moléculas orgánicas complejas en sustancias simples, junto con la liberación de energía, y las reacciones anabólicas, que permiten la formación de más moléculas complejas y generalmente requieren energía, la cual obtienen de las reacciones catabólicas (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf & Eddy, 1996).

Tratamiento terciario o avanzado. Supone la remoción de nutrientes para evitar la eutrofización de fuentes receptoras o para mejorar la calidad del efluente secundario, a fin de adecuar el agua para su reutilización o disposición final en base a las normas establecidas (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf & Eddy, 1996).

1.4 LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN

Las lagunas de estabilización son un sistema de tratamiento convencionales de bajo costo y consumo de energía (León, 2002; Romero, 1999; Peng, 2005). Son el sistema de tratamiento de aguas residuales más antiguo conocido, con referencias de uso de estanques para almacenar y depurar agua con antigüedad de 3 000 años (Avelar, 2001). Se fundamentan en la característica de autodepuración que poseen los cuerpos de agua por medio de acción de la flora microbiana y el oxígeno disuelto en ellos para poder permitir la digestión biológica de la materia orgánica; así como la presencia de procesos

físicos y químicos como la sedimentación de partículas pesadas y reacciones dependientes de pH.

Son estructuras simples donde se embalsan aguas residuales, con poca profundidad y períodos de retención relativamente grandes (1-40 días), en las cuales mediante la acción conjunta de algas, bacterias y otros organismos, se logra la estabilización biológica de la materia orgánica biodegradable. El tratamiento de aguas residuales a través de estos sistemas consiste en reducir el contenido de sólidos suspendidos por sedimentación, disminuir la DBO, estabilizar los compuestos orgánicos biodegradables y reducir el número de organismos patógenos (Guevara, 1996).

Las lagunas de estabilización son un verdadero ecosistema que involucran una multitud de poblaciones con interacciones complejas entre sí (Avelar, 1994). Entre los principales grupos de organismos que se desarrollan en estos sistemas incluyen bacterias, algas, hongos, protozoarios, rotíferos, crustáceos y larvas. Siendo las Bacteria y las algas los principales organismos involucrados en la estabilización de los desechos contenidos en el agua residual. La diferencia en términos de procesos microbiológicos con otros sistemas de tratamiento de aguas residuales es la presencia de microalgas, las cuales a través de su metabolismo fotosintético liberan oxígeno, el cual será utilizado por bacterias heterótrofas para llevar a cabo la descomposición aerobia de la materia orgánica (Peng, 2005). Es por esto que antiguamente se conocían como lagunas de oxidación (Guevara y León, 1996) para indicar la oxidación de la materia orgánica a través de la gran cantidad de oxígeno producido por las algas por medio de la fotosíntesis; sin embargo, el uso de este término es incorrecto debido a que intervienen otros procesos en la estabilización (descomposición) de la materia orgánica como son la reducción por digestión bacteriana, la sedimentación de partículas inorgánicas como parásitos, quistes de protozoarias y huevos de helmintos, y la eliminación de patógenos entéricos por la acción biocida de la luz ultravioleta proveniente de la radiación solar (Romero, 1999).

Los mecanismos para la remoción de diversos constituyentes a través de lagunas son los siguientes: La remoción de DBO solubles es por medio de su reducción mediante la oxidación bacteriana, excepto en las anaerobias, mientras que la DBO particulada se remueve por sedimentación. Los sólidos suspendidos en el afluente se remueven en las lagunas por sedimentación, la remoción de nitrógeno se obtiene como resultado de la combinación de volatilización de amoníaco, captura del mismo a través de algas, nitrificación/desnitrificación, acumulación de lodos y adsorción sobre los sólidos del fondo. La remoción de fósforo en estos sistemas es mínima, en cambio, tienen una excelente remoción de patógenos como consecuencia de la muerte natural de estos organismos, por sedimentación y por adsorción y principalmente por la acción biocida de los rayos ultravioletas provenientes de la radiación solar (Armas, 2000; Well, 2007)

1.4.1 CLASIFICACIÓN DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN.

Existen diversas formas de clasificar las lagunas de estabilización. Una opción es por medio de la ubicación que ocupan con relación a otros procesos: primarias o de aguas crudas, cuyo propósito básico es la remoción de DBO, coliformes fecales y sólidos suspendidos; Las lagunas secundarias, si reciben efluentes de otros procesos de tratamiento y cuya función primordial es la remoción de DBO y coliformes fecales, y por último lagunas de maduración si su propósito fundamental es reducir el número de organismos patógenos. (Guevara y Leon, 1996; Yañez 1993)

Otra forma de clasificar las lagunas es según la naturaleza de la actividad biológica que tiene lugar, la cual es función de la cantidad de oxígeno disuelto presente en ellas; anaerobia, facultativa y aerobia (Yanez, 1993). Para esto se hace circular el agua en diferentes condiciones ambientales causadas por diferencias de profundidad:

Lagunas anaerobias. Son lagunas en las cuales la remoción de DBO se realiza por medio de sedimentación de sólidos sedimentables y la digestión anaerobia en la capa de lodos resultante (Guevara y León, 1996). El ambiente

anaerobio en las lagunas se favorece por medio de una profundidad que oscila entre 2.4 y 5 metros, siendo la más común de 2.5 metros (Avelar, 2001; Guevara y Leon, 1996; Romero, 1994) y altas cargas orgánicas, del orden de 1000 mg/L de DBO. Trabajan a una temperatura óptima entre 15 y 35 °C (Metcalf & Eddy, 1996).

Lagunas facultativas. Son el tipo de lagunas más comunes en el tratamiento de aguas residuales (Romero, 1996). Combinan la actividad bacteriana aerobia y anaerobia. La fotosíntesis y reaeración superficial proporcionan oxígeno en las capas superiores, las capas intermedias son facultativas y la capa de sólidos del fondo está sometida a digestión anaerobia (Metcalf & Eddy, 1996). Su carga de diseño se encuentra en el rango de 50-300 mg/L de DBO, con profundidades entre 1 a 2.5 m y una temperatura óptima de 10 a 35°C. .

Lagunas aerobias. También conocidas como lagunas de oxidación, son lagunas en las cuales la estabilización de la materia orgánica se lleva a cabo en condiciones completamente aerobias. En ellas se remueve principalmente patógenos debido a que se presenta mayor temperatura y pH (pH cercano a 9 por la fotosíntesis de las algas) y principalmente a la alta intensidad de radiación solar que reciben por ser poco profundas (0.5 a 1m) (Avelar, 2001; Guevara y León, 1996; Romero, 1999).

1.4.2 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN

Las ventajas del uso de lagunas de estabilización incluyen bajos costos de inversión, requerimiento mínimo de capacitación del personal encargado de su operación, evacuación y disposición de lodos en intervalos relativamente grandes (Armas, 2000; Crites y Tchobanoglous, 2000; Romero 1999).

Las desventajas incluyen la necesidad de grandes extensiones de terreno, el efluente provee una alta concentración de algas que puede ocasionar problemas en fuentes receptoras superficiales. Las lagunas sin aireación a menudo no cumplen las normas exigentes de vertimiento, pueden causar impactos

negativos sobre las aguas subterráneas si no se impermeabilizan o se daña el recubrimiento y generan malos olores si el diseño es inapropiado o si tiene una operación incorrecta. Debido a la baja concentración de biomasa, los tiempos de retención suelen ser muy altos. Tienen una gran susceptibilidad al arrastre de la biomasa durante las tormentas, así como una amplia sensibilidad a las fluctuaciones climáticas por lo que no se han podido estandarizar criterios de diseño confiables (Avelar, 2001; Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf & Eddy, 1996).

Se han propuesto diversos procedimientos para mitigar las anteriores desventajas e intentar mejorar el funcionamiento y la eficacia de las lagunas. como son: El uso de lagunas más profundas, de 3 a 13 metros y así ocupar menos terreno para la construcción, pero aumentando el costo de la misma y o propiciando la generación de malos olores debido a la digestión anaerobia; Aumentando la carga orgánica y reduciendo el tamaño de las lagunas, formando de esta manera lagunas anóxicas; modificando el diseño hidráulico para que el influente se distribuya homogéneamente en toda la laguna y optimice espacios (Pearson y Mara 1989; Muttamara y Puetpaiboon 1997). Utilizando series de laguna pequeñas especializadas en diferentes contaminantes (Pearson y Mara 1989); utilizando baffles, que son paredes que se utilizan como deflectores que dirigen el flujo a través de la laguna, los cuales además proveer una superficie sumergida en la cual los microorganismos pueden pegarse y así incrementar la concentración de microorganismos en la laguna e incrementar la tasa de estabilización orgánica; reducen los cortos circuitos (Muttamara y Puetpaiboon, 1997); Induciendo el desarrollo de biopelículas, colocando un soporte donde pueda crecer la biomasa pero con el riesgo de limitar la transferencia de masa debido al engrosamiento excesivo de películas y acumulación de escorias (Muttamara y Puetpaiboon, 1997). Incrementando la concentración de biomasa activa por medio de enriquecimiento con bioflóculos (Avelar *et al* 2001). El presente trabajo, es parte de un proyecto de investigación, para evaluar cómo el enriquecimiento con bioflóculos, previamente mencionado, mejora la eficiencia de

remoción de contaminantes y aumenta la resistencia de las lagunas a la presencia de altas concentraciones de contaminantes tóxicos, como son los fenoles y metales pesados.

Uno de los principales problemas tanto de las lagunas de estabilización, como de cualquier otro sistema de tratamiento biológico de aguas residuales, es que sus procesos biológicos son altamente influenciados por la presencia de altas concentraciones de metales pesados en las aguas residuales (Faisal *et al*, 2005). Afortunadamente, existen algunas bacterias resistentes a ellos, las cuales pueden ser aprovechadas para remediar este problema dependiendo de los mecanismos de resistencia que utilice.

1.5 MECANISMOS MICROBIOLÓGICOS Y SU INTERACCIÓN CON METALES PESADOS

Los microorganismos no poseen la capacidad de eliminar los metales del medio ambiente, pero algunos tienen la capacidad de inmovilizarlos. Existen microorganismos que presentan resistencia a la acción tóxica de metales pesados, con la ayuda de diversos mecanismos: Exclusión por barreras permeables; Secuestro intra y extracelular; Bombas de expulsión activas, en las cuales moléculas como metalotionina y ATPasa tipo-P están involucradas en el transporte de iones metálicos a través de las membranas celulares, permitiendo la entrada y expulsión de dichos iones (Naz *et al*, 2005); Reducción enzimática y reducción en la sensibilidad de sitios de unión para iones metálicos (Srisvastava y Thakur, 2006). De estos procesos biológicos, solo algunos son útiles o potencialmente útiles para la remediación de metales pesados (Shiever y Volesky, 2000).

La captación de metales pesados por medio de los microorganismos puede ser efectuada mediante dos procesos principales: un mecanismo activo dependiente de la actividad metabólica llamado bioacumulación, y mediante un

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

mecanismo pasivo que implica biosorción y/o complejación (Shiever y Volesky 2000):

Bioadsorción. Algunos tipos de biomasa microbiana pueden retener altas cantidades de iones metálicos por la formación de complejos con ligandos celulares en forma pasiva. La superficie de la mayoría de las células son altamente aniónicas debido a que poseen grupos funcionales como: amino, carboxilo, hidroxilo, fosfatos y sulfhidrilos (Lloyd, Anderson & Macaskie, 2005; Volesky *et al*, 2005). Dichas moléculas, en soluciones acuosas pueden reaccionar con iones metálicos. Otra forma de adsorción es por medio de polímeros que retienen los metales y limitan el contacto de estos xenobióticos con las células (Beveridge *et al*, 1983). La bioadsorción normalmente incluye cuatro procesos distintos: adsorción, quioadsorción, intercambio catiónico y micro-precipitación (Shiever y Volesky, 2000).

Un mecanismo de resistencia, el cual es respuesta directa a la presencia de metales pesados tóxicos, es la habilidad de las bacterias de formar moléculas en la membrana celular, las cuales tienen la función de transportar metales solubles en el exterior de la célula. Un segundo mecanismo es a partir de la producción de compuestos proteínicos quelantes de metales. Dichos quelantes previenen la entrada del metal a la célula, los cuales reducen la biodisponibilidad del metal y pueden inducir la formación de cristales. Un tercer mecanismo de resistencia es la habilidad de las bacterias de reducir la concentración de algunos compuestos tóxicos produciendo formas metálicas volátiles, como el metilmercurio (Southam, 2000).

Las reacciones de intercambio iónico juegan un importante rol en la adsorción de metales. En condiciones normales de crecimiento, las células poseen sitios aniónicos para permitir el transporte de cationes divalentes fisiológicamente necesarios como son el calcio y el magnesio. Cuando se encuentran metales pesados disueltos en el líquido extracelular, éstos compiten por la unión con los anteriores sitios de unión (Southam, 2000).

Bioquimiadsorción. Es un tipo de encapsulamiento o conjugación, en la cual hay una inclusión por intercambio catiónico de un catión metálico dentro de la estructura cristalina de un material previamente depositado. El depósito primario actúa como cristal hospedero para la subsiguiente disposición del metal de interés. De esta forma, el depósito primario actúa acelerando las reacciones de precipitación del metal de interés (Magaña, 2007).

Bioacumulación. Es la asimilación celular de metales por medio de transporte activo hacia el interior de la célula (Shiever y volesky 2000). Para esto es necesario que el microorganismo sea resistente a los metales (Volesky y Holan 1995). Algunos metales pesados pueden ingresar a las células utilizando los sistemas de transporte para oligo y micro nutrientes metálicos. Una vez dentro de la célula, los metales tóxicos son secuestrados por metalotioneinas, que son un grupo de pequeñas proteínas, aproximadamente de 60 aminoácidos, ricas en cisteína, especializadas en la unión de metales pesados (Naz *et al*, 2005), o bien, son segregados por vacuolas o encapsulados en vesículas de membrana (Magaña, 2007; Opperman Piater y Heerden, 2008).

Biotransformación. Es una forma de destoxificar aquellas sustancias susceptibles de ser transformados a una forma menos tóxica. En el caso de metales tóxicos, estos pueden ser transformados en formas menos solubles o volátiles: La biometilación y la reducción bacteriana pueden incrementar la volatilidad de los metales. Algunas bacterias del género *Pseudomona*, *Arthrobacter*, *Escherichia* y *Bacilluros* tienen la capacidad de catalizar y reducir el cromo VI a través de la enzima cromato reductasa (Elangovan *et al* 2006; Fude *et al* 1994, Priester, 2006). Otras bacterias, como es el caso de la bacterias reductoras de sulfato y de hierro, pueden usar el cromo VI como aceptor de electrones alterno para la oxidación de compuestos orgánicos y su crecimiento anaerobio (Arias y Tebo, 2003; Fude *et al* 1994; Magaña, 2007).

Bioprecipitación. O biomineralización, es la formación de precipitados metálicos insolubles, vía la generación microbiana de ligandos. Este mecanismo

comienza principalmente por la bioadsorción de los metales en la superficie celular, principalmente en determinados sitios de unión, los cuales permiten que el metal se localice en determinados núcleos. A través de un amplio rango de reacciones redox las bacterias pueden afectar la solubilidad de los metales y propiciar su microprecipitación (Southam,2000).

Otra forma de bioprecipitación, se observa a través del metabolismo de bacterias sulfato reductoras: Los sulfuros, carbonatos, hidróxidos y fosfatos metálicos son muy insolubles en agua. Las bacterias sulfato-reductoras son bacterias anaerobias estrictas, las cuales se caracterizan por su capacidad de reducir sulfato a sulfuro para su respiración, con la oxidación simultánea de sustratos orgánicos, y liberar dichos iones sulfuros que reaccionan fácilmente con metales y formar sulfuros metálicos (Naz *et al*, 2005; Wang, 2000). Otras bacterias como *Citrobacter sp* y *Escherichia coli* expresan fosfatasas ácidas periplasmáticas que hidrolizan los fosfatos orgánicos, liberando fosfato inorgánico el cual interactúa con los metales y los precipita sobre la superficie de la célula (Appukuttan *et al*, 2006).

Los **Biopolímeros** o sustancias poliméricas extracelulares (EPS) por sus siglas en inglés, son sustancias secretadas por microorganismos, formadas por polisacáridos o fibras de glicoproteínas entrelazadas, en las cuales se encuentran adheridas otras moléculas como enzimas, ADN, detritus y constituyentes abióticos sorbidos (Priester, 2006; Stypka, 1998). Estos biopolímeros tienen diversas funciones como son la conservación y concentración de enzimas digestivas, como reservorio de alimentos, protección contra estrés causado por diversos agentes, entre los cuales se encuentran los metales pesados. Los mecanismos por medio de los cuales los biopolímeros pueden interactuar con los metales pesados son principalmente la adhesión y complejación. Los residuos cargados eléctricamente presentes en el exterior de las moléculas integrantes de los biopolímeros ayudan a la interacción y unión de iones metálicos (Huat el al, 2005; Sutherland, 2001).

Tradicionalmente, los métodos convencionales utilizados para la remoción de metales pesados son por medio de procesos de precipitación química, oxidación, reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico y tecnologías de membrana (Canizares-Villanueva, 2000; Metcalf & Eddy, 1996)). Dichos procesos requieren forzosamente ser parte del tratamiento previo al biológico, o en dado caso, se excluye el uso de tratamiento biológico para remoción de metales pesados cuando su concentración es relativamente alta en las aguas residuales.

Los mecanismos de resistencia microbiana, enlistados previamente, han dado pauta al desarrollo e investigación de métodos alternativos para la remoción de metales pesados en aguas residuales por medio de tratamiento biológico. Una alternativa de este tipo, es el proyecto de estudio de lagunas de estabilización facultativas, las cuales han sido enriquecidas con bioflóculos, y tratadas con metales pesados para investigar si su aclimatación a dichos contaminantes permite un tratamiento adecuado del agua residual contaminada con cromo y cadmio (Prieto, 2005).

2. ANTECEDENTES

Estudios recientes han propuesto un nuevo método para mejorar la eficiencia de lagunas de estabilización, incrementando la biomasa activa en ellas por medio de la inoculación de lodos activados provenientes de plantas tratadoras de aguas residuales, cuya aclimatación permite el desarrollo de un lecho de bioflóculos sedimentados con una capacidad metabólica superior a la biomasa suspendida. Se ha mostrado que este enriquecimiento con bioflóculos incrementa la tasa de remoción de materia orgánica común en más del 100% (Avelar *et al.*, 2001) y realiza una biodegradación de fenol 5.5 veces mayor en comparación con las lagunas tradicionales (Avelar, 1994; Avelar *et al.*, 2001).

Se han realizado estudios más recientes sobre la remoción de cromo y cadmio en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos, en los cuales se encontraron que dichas lagunas remueven y acumulan mayores concentraciones de cadmio y cromo que las lagunas convencionales (Prieto, 2005); presentan además una mejor inmovilización de metales en los sedimentos, los cuales fueron procesados a fin de separar las fracciones inorgánicas y orgánicas y analizar su contenido de metales por espectroscopía de absorción atómica. De los resultados obtenidos, se dedujo que presuntamente la bioprecipitación y la bioadsorción fueron los principales mecanismos de remoción (Magaña, 2007). No obstante, es necesario utilizar diferentes técnicas, por ejemplo, el uso de microscopía, para poder corroborar dichos resultados. Con base en esto y aprovechando las propiedades que tienen algunas sustancias para absorber energía radiante, principalmente luz ultravioleta, y reemitirla en forma de otro fotón con mayor longitud de onda, fenómeno conocido como fluorescencia (González-Morán, 2008; Harrison *et al.* 2006; Maron & Prutton, 1974), se utilizó microscopía de fluorescencia, empleando un microscopio de fluorescencia y microscopio confocal, para continuar investigando los principales mecanismos de remoción de cromo y cadmio en los sedimentos de lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos.

3. JUSTIFICACIÓN

Dentro del foro internacional del agua, 2004, la Comisión Nacional del Agua advirtió que la contaminación de este vital líquido se ha convertido en un serio problema nacional.

La disponibilidad del agua en México continúa menguando constantemente debido al aumento desproporcionado del consumo de ella. El incremento demográfico y el desarrollo industrial, aunado con el cambio climático, han traído consigo un aumento en la demanda de agua, y por consiguiente, un aumento en la cantidad de aguas residuales, las cuales, en su mayoría (62%) (CNA, 208) son vertidas en forma cruda en cuerpos receptores, contribuyendo de forma grave a la contaminación aguas superficiales, suelo y acuíferos.

Las lagunas de estabilización son los sistemas de tratamiento más comunes en países en desarrollo, debido a su alto rendimiento, simplicidad de operación y bajo costo de construcción, operación y mantenimiento (Peng, 2005). Los efluentes de las lagunas de estabilización, gracias a su calidad bacteriológica, pueden ser reutilizados en cualquier actividad agropecuaria, desde horticultura, hasta forestación. El empleo de aguas residuales tratadas permite beneficios como uso eficiente del agua, provisión de abonos naturales, generación de alimentos, incrementa la frontera agrícola en zonas con escasa agua, etc. Lamentablemente, la presencia de tóxicos como los metales pesados provenientes de descargas industriales, representa una limitación para su reuso.

El presente trabajo es parte complementaria de un proyecto de evaluación de la remoción de cromo y cadmio en lagunas de estabilización que han sido enriquecidas con bioflóculos, para comprobar los mecanismos biológicos mediante los cuales dichas lagunas mejoran la remoción e inmovilización de altas cargas de cromo VI y cadmio presentes en aguas residuales.

4. HIPÓTESIS

La bioadsorción y bioprecipitación son los principales mecanismos de remoción de cadmio y cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar los principales mecanismos biológicos responsables de la remoción de cromo y cadmio en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Demostrar la bioreducción de cromo VI a Cr III en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos, por medio de microscopía de epifluorescencia y confocal.
2. Comprobar por medio de microscopía de epifluorescencia y confocal la presencia de cristales de cadmio y cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos.
3. Demostrar por medio de microscopía de epifluorescencia y confocal la bioadsorción en la biomasa de cadmio y cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos.

7. METODOLOGÍA

7.1 INSTALACIÓN DE LAGUNAS ESCALA LABORATORIO.

Se emplearon cuatro lagunas de estabilización de tipo Eckenfelder a escala laboratorio, de 85 L de capacidad, 0.80 m de largo, 0.37 m de ancho y 0.28 m de profundidad; fabricadas en acero inoxidable. Todos sus bordes, vértices y puntos de soldadura se sellaron con silicón, para evitar las posibles fugas. Las lagunas de tipo Eckenfelder están divididas en tres reactores de 27.7 L de capacidad y en seis celdas de 13.33 L de capacidad, divididas por medio de cinco mamparas con la finalidad de conducir el agua por un recorrido preestablecido, reduciendo los cortos circuitos en el sistema (figura 1).

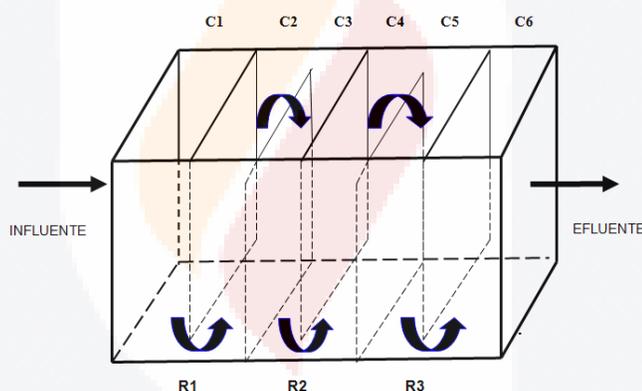


Fig. 1. Esquema de laguna de estabilización Eckenfelder. Vista lateral de una laguna Eckenfelder de 85 L de capacidad, dividida por 5 mamparas, que dirigen el flujo del influente.

Tres lagunas fueron enriquecidas, cada una con el 25% V/V de lodos activados provenientes del sedimentador secundario de la planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de Aguascalientes (10.69 g/L de SSV) y con el 10% de una suspensión de algas silvestres provenientes del cuerpo de agua receptor del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la

Universidad Autónoma de Aguascalientes. Una cuarta laguna se instaló sin enriquecimiento con lodos activados, únicamente se inoculó con algas (laguna control no enriquecida).

Previo a la alimentación con cromo y cadmio, las cuatro lagunas se aclimataron durante 52 días utilizando exclusivamente fuentes de carbono convencionales (450 mg DQO/L), a partir de diluciones crecientes de una solución madre de agua residual sintética (ver tabla 2), hasta obtener una eficiencia de DQO (85%) y sometidas a fotoperiodos de 12 h y 690 lux.

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN
Peptona de gelatina	1000 g
Extracto de carne	690 g
Urea	135 g
Cloruro de Calcio	13.6 g
Cloruro de Sodio	31.5 g
Cloruro de Amonio	7.7 g
Sulfato de Magnesio heptahidratado	9.0 g
Fosfato diácido de Potasio	38.25 g
Fosfato ácido de potasio	98.0 g
Fosfato ácido de Sodio	150.3 g

Tabla 2. Solución Madre de agua residual sintética con una DQO de 400 g/L, la cual se esteriliza inmediatamente después de ser preparada. A partir de esta Solución Madre, se realizan diluciones para alimentar las lagunas a la concentración requerida. (Dávila, 2002)

Una vez aclimatadas las lagunas, una de las lagunas enriquecidas fue alimentada con solución de cloruro de cadmio en concentraciones crecientes para permitir la aclimatación de los microorganismos presentes en ella al metal, hasta llegar a una concentración máxima de 107 mg/L (Prieto, 2005) y continuar con dicha concentración por el resto del experimento. De igual manera, la segunda

laguna enriquecida fue tratada con concentraciones crecientes de una solución de dicromato de potasio (cromo VI) hasta llegar a una concentración máxima de 153 mg/L de cromo, y la tercer laguna enriquecida no recibió tratamiento con metales pesados (laguna control negativo) (Prieto, 2005). La elección de mantener estas concentraciones de alimentación con metales se debe a que en estudios previos realizados por Magaña (2007) y Prieto (2005), empleando métodos de digestión y espectrofotometría de absorción atómica, de acuerdo con los métodos estandarizados (Tabla 3) (APHA-AWWA-WPCF 2000), permitieron cuantificar y comparar el grado de remoción e inmovilización de los metales, tanto en lagunas de estabilización enriquecidas, como no enriquecidas con bioflóculos, llegando a la elección de estas cantidades máximas de alimentación con cromo y cadmio.

PARÁMETRO	MÉTODO
Cromo VI (difenilcarbacida)	3500-Cr-B
Cromo total (Espectrofotometría de absorción atómica en flama)	3111-C
Cadmio (espectrofotometría de absorción atómica en flama)	3111-C

Tabla 3. Técnicas para cuantificar metales recomendadas por los métodos estandarizados (APHA-AWWA-WPCF 2000), que permiten determinar eficiencias y tasas de remoción de cadmio y cromo, así como eficiencia de reducción de cromo VI a Cr III (Prieto, 2005).

7.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE BIOFLÓCULOS.

Una vez que las lagunas se aclimataron a los metales respectivos, se tomaron muestras del sedimento presente en cada una de ellas, incluyendo muestras del control negativo (libre de metales). Previa agitación en vórtex por un minuto, se tomaron 100 μL de la suspensión, los cuales fueron centrifugados a 5000 X g durante 10 min a temperatura ambiente. Se separó la pastilla celular del sobrenadante. La pastilla celular fue lavada tres veces con 500 μL de PBS (0.145M de fosfato de potasio, 0.15 M de fosfato de potasio dibásico) pH 7.4. Finalmente la pastilla celular fue resuspendida en una dilución 1:10 de PBS.

7.3 MICROSCOPIA DE EPIFLUORESCENCIA.

7.3.1 Microscopía de epifluorescencia en sales de cadmio, cromo III y cromo VI.

Para tener un punto de referencia sobre la fluorescencia de cadmio y cromo, se colocaron 3 μL de una solución de cloruro de cadmio CdCl_2 (10 mg/mL), dicromato de potasio $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (10 mg/mL) y cloruro de cromo III CrCl_3 , las cuales se dejaron secar para estimular la precipitación de los cristales y poder observar la fluorescencia que presentan cada uno de ellos por medio del microscopio de epifluorescencia Zeiss Axioscope 40®, y se tomaron las microfotografías correspondientes en campo claro y fluorescencia a través del sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

7.3.2 Microscopía de epifluorescencia de Agua residual sintética.

De igual forma, se tomaron microfotografías de las principales sales que forman parte del agua residual sintética para observar si hay fluorescencia que pudiera interferir en el análisis. Dichas sales fueron: Fosfato monoácido de potasio (KH_2PO_4), sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), cloruro de sodio (NaCl), cloruro de amonio (NH_4Cl) y Urea (NH_2)₂.

7.3.3 Microscopía de epifluorescencia de Bioflóculos.

Se tomaron 3 μ L de la muestra de bioflóculos sedimentados y se colocaron sobre un portaobjetos con pozos y el cubreobjetos fue fijado con esmalte transparente de uñas para mantener hidratada la muestra durante su observación a través del microscopio de epifluorescencia (Zeiss AxioScope 40®), empleando el filtro de 488-500 nm y un objetivo de 40X. Se tomaron microfotografías por medio del sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®, tanto en microscopio óptico como en epifluorescencia.

7.4 MICROSCOPIA CONFOCAL.

También conocida como CLMS por sus siglas en inglés (confocal laser scanning microscopy). Se prepararon muestras de bioflóculos provenientes de las tres lagunas enriquecidas de la forma previamente descrita, y se observaron en el microscopio confocal laser Leica DMI 4000B®.

- a) Primero se escaneó cada muestra a tres diferentes longitudes de onda: 488, 532 y 635, para determinar cual de estas longitudes de onda produce la mayor fluorescencia.
- b) Una vez determinada la longitud de onda óptima (635 nm), se realizó el análisis microscópico de cada una de las muestras.

8. RESULTADOS

Estudios anteriores han comprobado que el método de enriquecimiento de lagunas de estabilización por medio de inoculación de lodos activados (bioflóculos) para incrementar la biomasa activa, mejora la eficiencia de remoción de altas cargas de materia orgánica y ciertos contaminantes tóxicos en comparación con lagunas convencionales (Avelar, 1994; Avelar, 2001; Ramos, 2005). Una vez aclimatadas las lagunas, se han descrito incrementos en la remoción de DQO mayores al 100% empleando lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos, con respecto a los sistemas tradicionales (Avelar *et al*,2001), así como mayor resistencia y eficiencia de remoción de materia orgánica común en presencia de elevadas concentraciones de fenol, llegando a obtener una eficiencia de remoción máxima de fenol del orden del 70%, en contraste con una eficiencia de remoción de fenol máxima de 35% en lagunas no enriquecidas (Ramos, 2005). Prieto en 2005, realizó estudios determinando que las lagunas enriquecidas, alimentadas y aclimatadas con cadmio o cromo en forma individual, presentaban altas tasas y eficiencias de remoción. En el caso de cadmio, se logró obtener una tasa de remoción de 39.8 Kg Cd/ha/día, con una eficiencia de remoción de 90.98%, en comparación con la laguna no enriquecida que presentó una tasa de remoción de 39.5 Kg Cd/ha/día, y una eficiencia de remoción de 84.37%. En el caso de la laguna enriquecida con bioflóculos tratada con cromo VI a 153 mg/L, presentó entre dos a tres veces mayor eficiencia de remoción que la laguna control no enriquecida y se observó, una mayor reducción de cromo VI a cromo III (19 a 20 veces mayor), que en la laguna control no enriquecida. De igual forma, en estudios realizados alimentando una mezcla de metales (As 172 mg/L, Cd 80.8 mg/L, Cr 128.1 mg/L y Hg 60 mg/L) se observó mayor eficiencia de remoción de DQO y metales que la laguna control no enriquecida, aunque ligeramente menores que cuando se alimenta con el metal en forma individual (Aguilar, 2006).

Se comprobó también que el enriquecimiento con bioflóculos aumenta de manera significativa la remoción de dichos metales a través del sedimento de las lagunas, y presentaron una mayor inmovilización del metal dentro de los sedimentos que las lagunas control (Avelar, 2009), encontrándose que los metales se encuentran inmovilizados tanto en la fase orgánica de los sedimentos como en fase inorgánica (Magaña, 2007). “La concentración de metales en la fracción inorgánica (cristales) de los sedimentos se considera un indicador del mecanismo de bioprecipitación; en tanto que la concentración de metales en la fracción orgánica (biomasa) de los sedimentos se asume como un indicador de los mecanismos de bioadsorción y bioacumulación” (Avelar, 2009). La laguna tratada con cromo presentó una distribución en los sedimentos de cromo total presente en la fase inorgánica de 61.5 % y un 38.5% en la fase orgánica; y en el caso de cadmio se determinó una distribución del metal presente en la fase inorgánica de 71.5% y de 28.5% en la fase orgánica (Avelar, 2009; Magaña; 2007). Sin embargo, en la investigación de Magaña, no se pudo separar eficientemente las fracciones inorgánica y orgánica de los sedimentos, por lo que era probable haber sobreestimado las concentraciones del metal en cualquiera de las fracciones. Por lo que los resultados que se presentan a continuación, permiten aclarar el panorama y poder dilucidar en mejor forma, si los metales han sido inmovilizados a través de la biomasa, o en forma de cristales.

8.1 MICROSCOPIA DE EPIFLUORESCENCIA.

Los resultados obtenidos del análisis de microscopio de epifluorescencia Zeiss Axioscope 40® y microfotografías a través del sistema Image Pro Plus Media Cybernetics® fueron los siguientes:

8.1.1 MICROFOTOGRAFÍAS DE SALES DE DICROMATO DE POTASIO, CLORURO CRÓMICO Y CLORURO DE CADMIO.

Los cristales de dicromato de potasio (Cr VI) presentaron una fluorescencia color naranja a través del filtro. Los cristales de cloruro crómico (Cr III) presentaron una fluorescencia color verde, y los cristales de cadmio mostraron una fluorescencia también color verde.

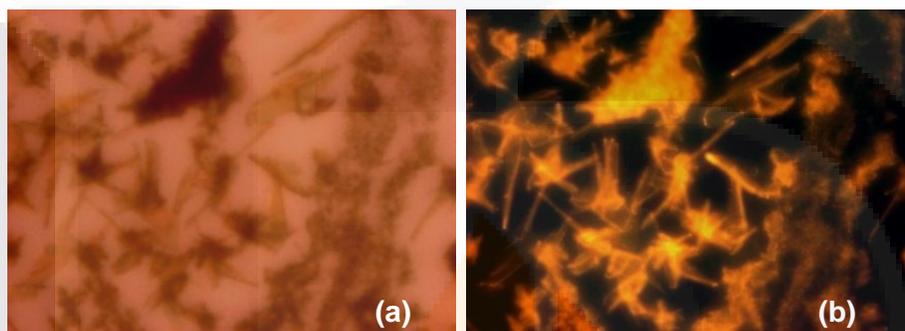


Fig. 2 Microfotografía de sales de dicromato de potasio (Cromo VI) en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

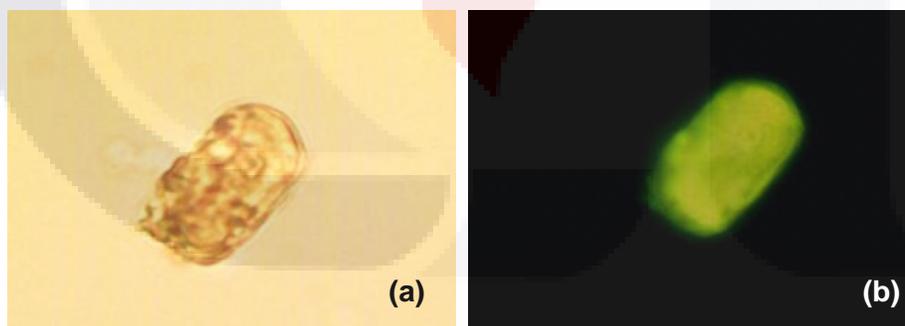


Fig. 3 Microfotografía de sales de cloruro crómico (cromo III) en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

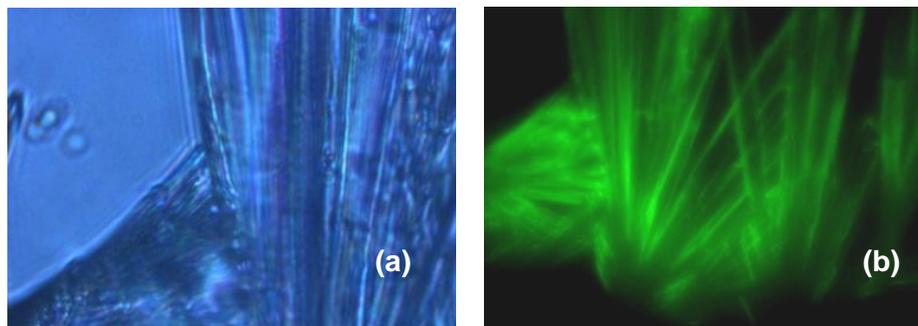


Fig.4 Microfotografía de sales de cloruro de cadmio en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

8.1.2 MICROFOTOGRAFÍAS DE SALES COMPONENTES DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA.

La observación en microscopio de fluorescencia mostró que las sales de fosfato monoácido de potasio (KH_2PO_4), cloruro de amonio (NH_4Cl) y urea (NH_2)₄ no prestan fluorescencia; en cambio, se observó que las sales de sulfato de magnesio heptahidratado y cloruro de sodio (NaCl) muestran una mínima fluorescencia.

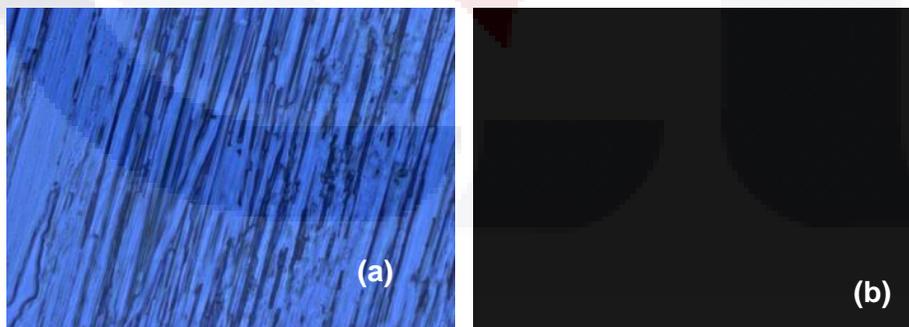


Fig. 5 Microfotografía de Sales de Fosfato monoácido de potasio (KH_2PO_4) en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

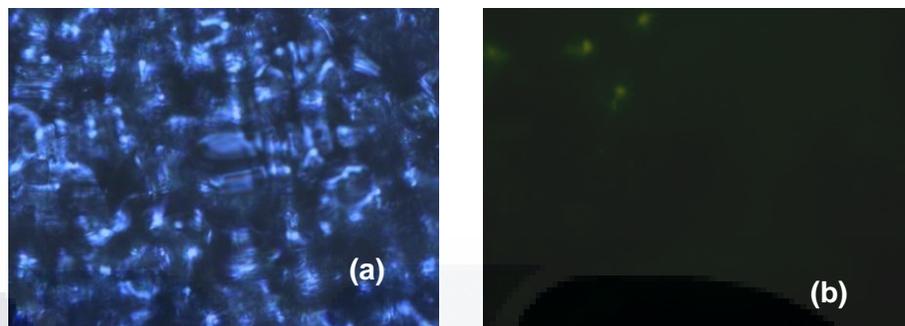


Fig. 6 Microfotografía de sales de sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

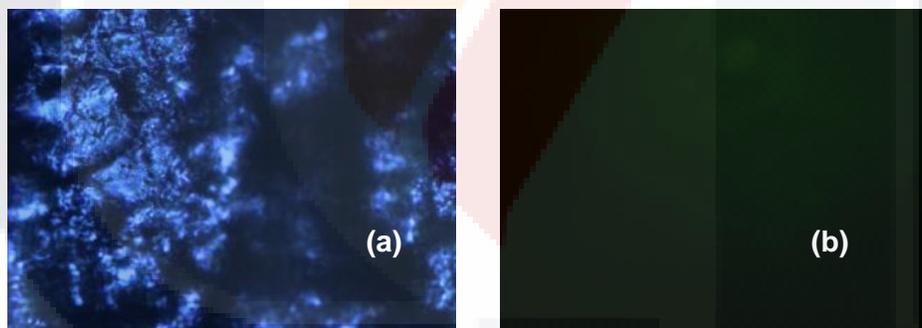


Fig.7 Microfotografía de cloruro de sodio (NaCl) en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

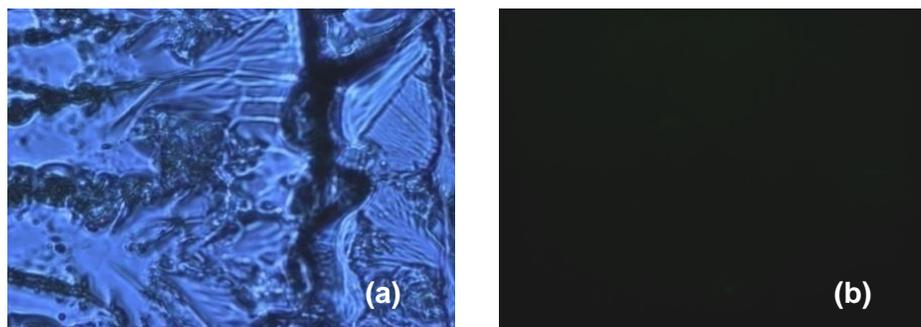


Fig.8 Microfotografía de cloruro de amonio (NH_4Cl) en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

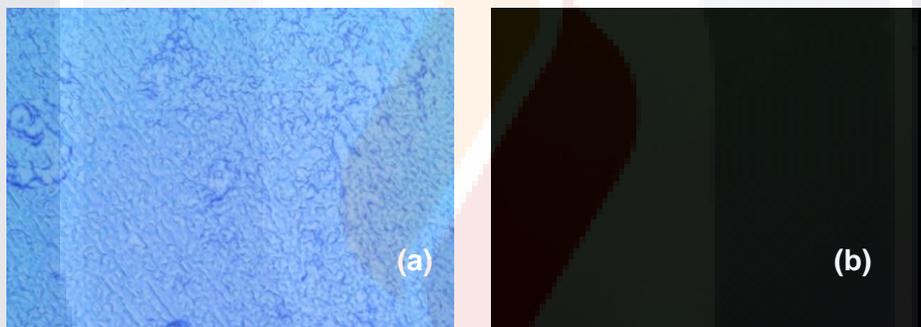


Fig. 9 Microfotografía de sales de Urea (NH_2)₂ en campo claro (a) y fluorescencia (b). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

8.2 MICROFOTOGRAFÍAS DE BIOFLÓCULOS.

8.2.1 Microfotografías de la laguna libre de metales.

Se realizaron observaciones en el microscopio de epifluorescencia de la muestra proveniente de lagunas de estabilización control negativo (sin tratamiento con metales pesados), en las cuales no se observó fluorescencia visible alguna.

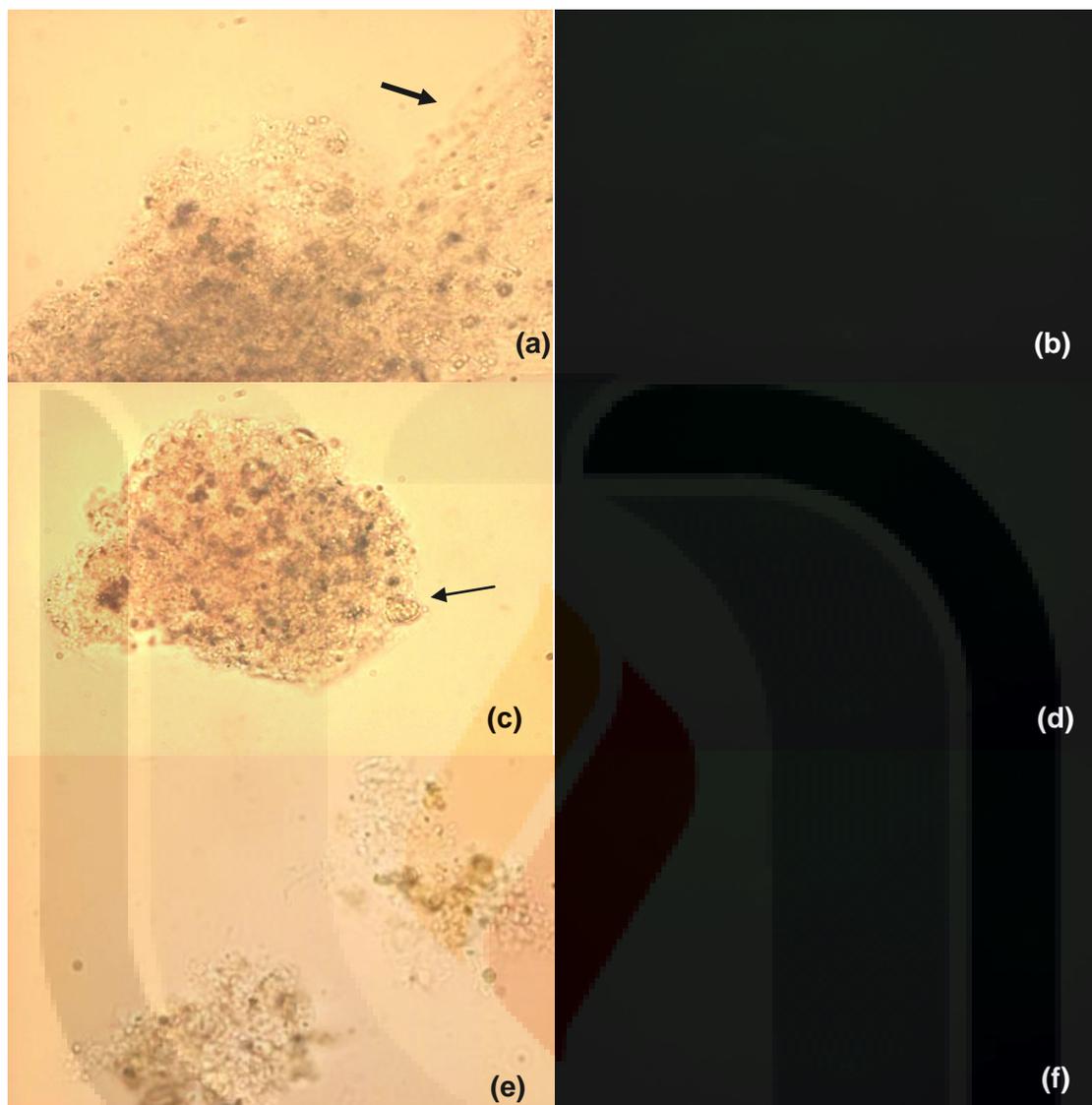


Fig. 10 Microfotografías de bioflóculo proveniente de la laguna control negativo (libre de metales) en campo claro (a,c,e) y fluorescencia (b,d,f). (a) Es posible observar una sustancia mucosa dentro de la biomasa, posiblemente EPS (flecha gruesa). En (c) se puede observar cristales dentro de la biomasa (flecha). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

8.2.2 Microfotografías de laguna tratada con 153 mg/L de cromo VI.

El análisis de la laguna tratada con cromo VI, mostró la presencia de cromo III (fluorescencia verde) y cromo VI (fluorescencia naranja) en el sedimento de

dicha laguna. La gran mayoría del cromo inmovilizado en los sedimentos de la laguna fue cromo III

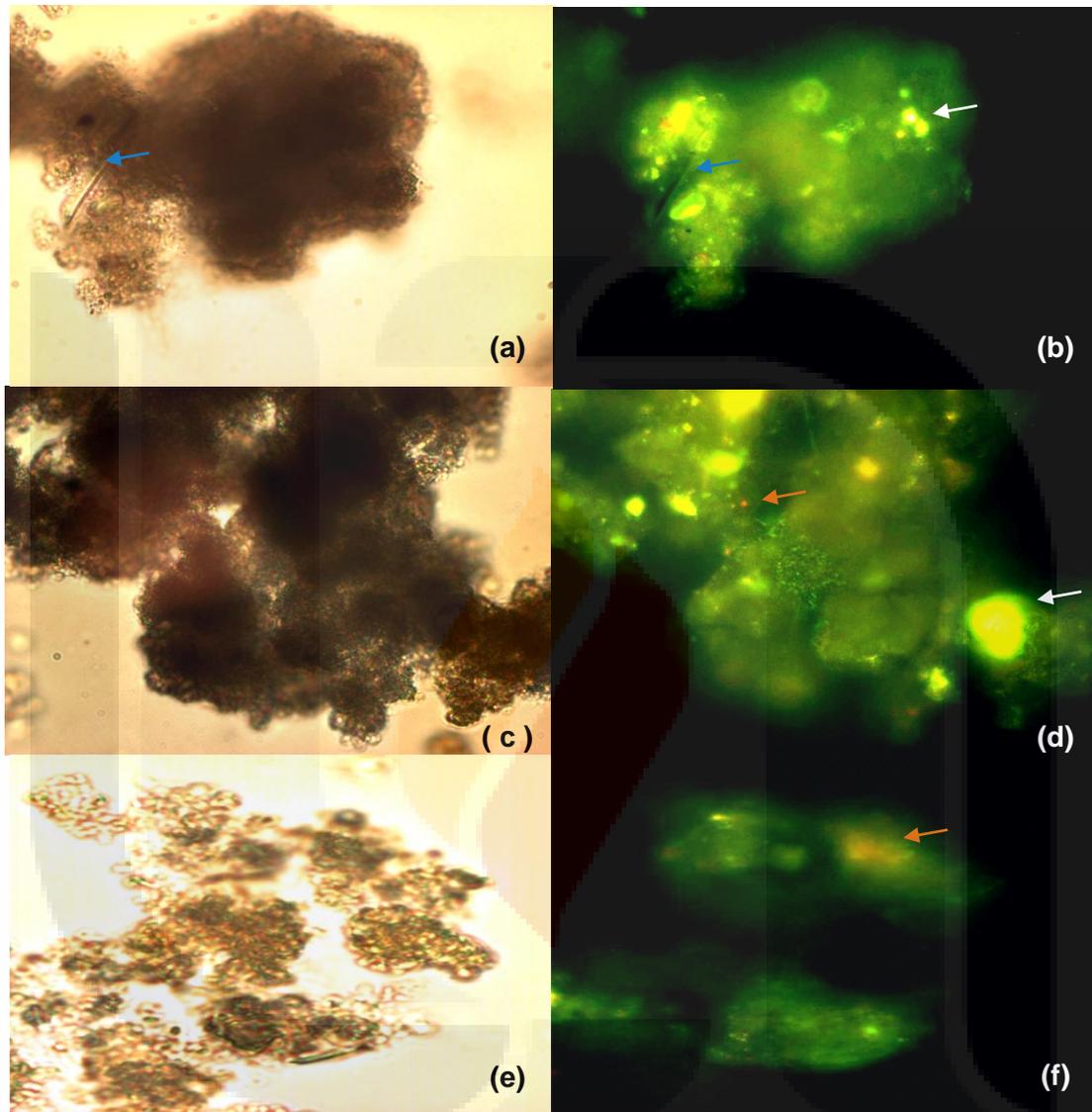


Fig. 11 Microfotografías de bioflóculos provenientes de la laguna tratada con cromo VI. (a,c,e) campo claro y (b,d,f) fluorescencia. (a) y (b) Biomasa y pequeños cristales (flecha blanca) que presentan fluorescencia correspondiente a cromo III, además de un cristal que no fluoresce (flecha azul), indicando la presencia de cristales sin cromo. (d) y (f) Biomazas que presentan fluorescencia verde y en menor mucho menor proporción fluorescencia naranja (flecha naranja) además de un cristal de gran tamaño de cromo III (Flecha blanca). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40@. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

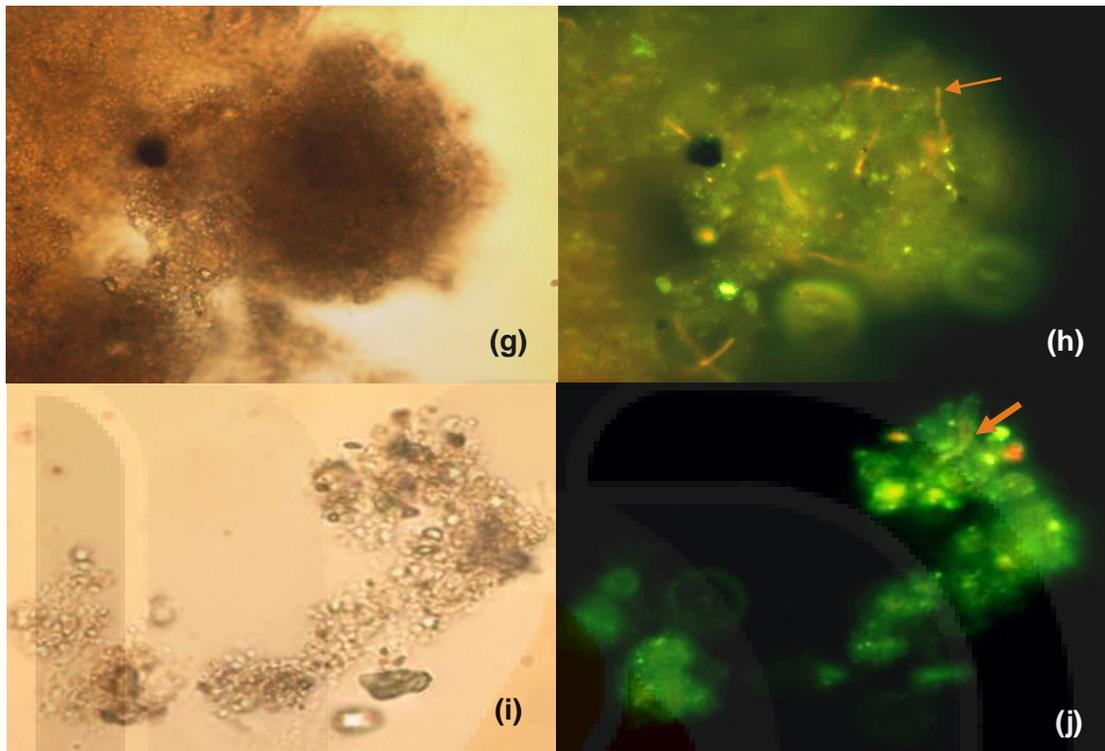


Fig. 12 Microfotografías de bioflóculos provenientes de la laguna tratada con cromo VI. (g,i) campo claro y (h,j) fluorescencia. (g) y (h) Biomazas con fluorescencia de cromo III en mayor proporción y pequeños cristales de cromo III, así como la presencia de cromo III y cromo VI adherido a probable EPS (flecha naranja). (i) y (j) En la parte superior de la biomasa se observa cromo adherido a EPS (flecha naranja gruesa). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

8.2.3 Microfotografías de laguna tratada con 107.7 mg/L de cadmio.

Las muestras provenientes de los sedimentos de la laguna enriquecida con bioflóculos y tratada con cloruro de cadmio, mostró la presencia de fluorescencia color verde, tanto en cristales como en biomasa.

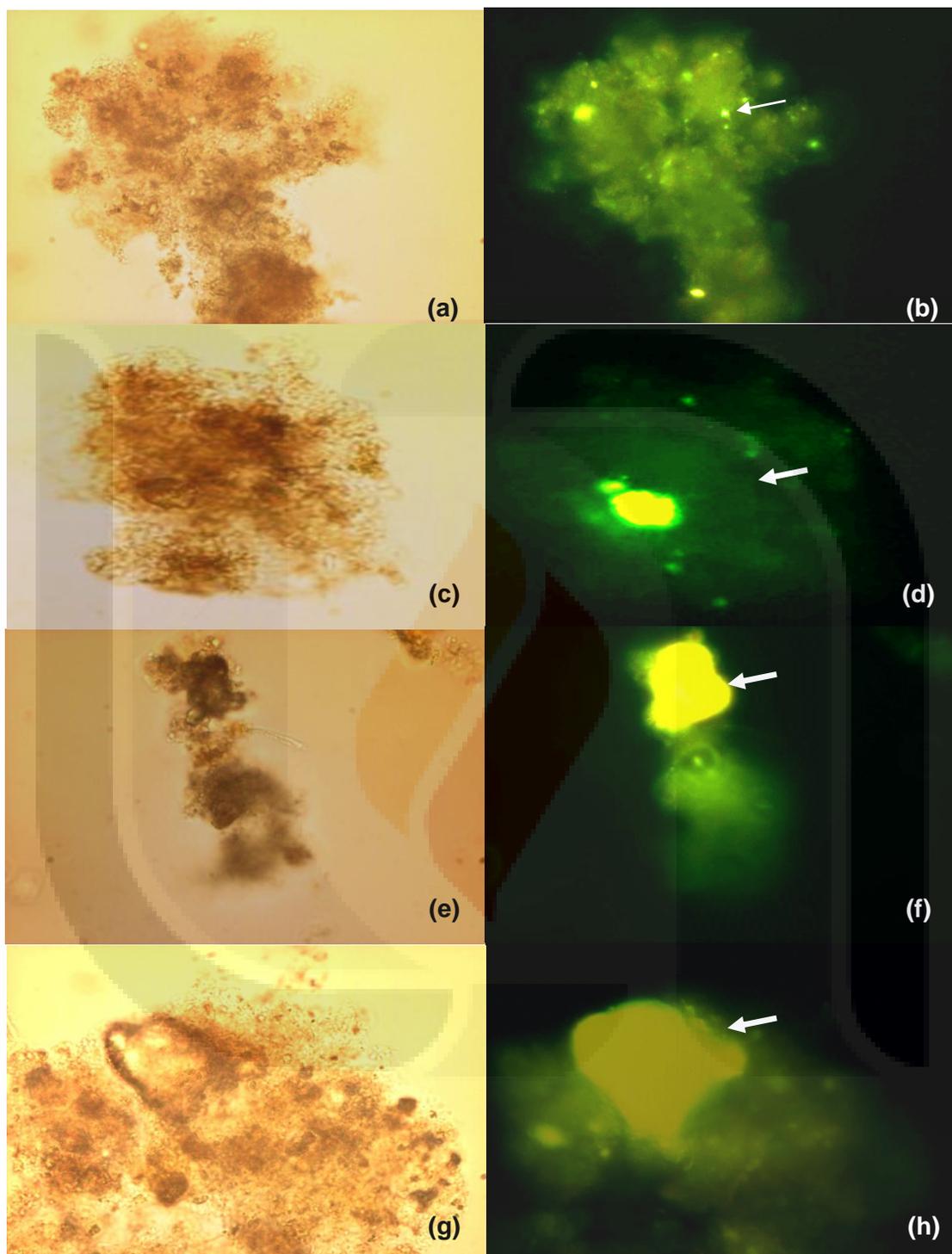


Fig. 13 Microfotografías de bioflóculos provenientes de la laguna tratada con cadmio. (a,c,e,g) campo claro y (b,d,f,j) fluorescencia. (a) Biomasa y microcristales (flecha blanca) con fluorescencia verde correspondiente a cadmio (d), (f) y (h) presentan

cristales de cadmio de diversos tamaños (Flechas blancas gruesas). Observaciones con microscopio Zeiss Axioscope 40®. Ampliación **40X**. Filtro de fluoresceína. Las imágenes fueron capturadas por el sistema Image Pro Plus Media Cybernetics®.

8.1 MICROSCOPIA CONFOCAL.

Una vez escaneadas las muestras a diferentes longitudes de onda, se determinó que la longitud de onda óptima para el análisis de fluorescencia de los metales es a 635 nm.

Laguna control.

Las muestras de sedimentos provenientes de la laguna control libre de metales, presentaron tan solo pequeñas partículas con fluorescencia.

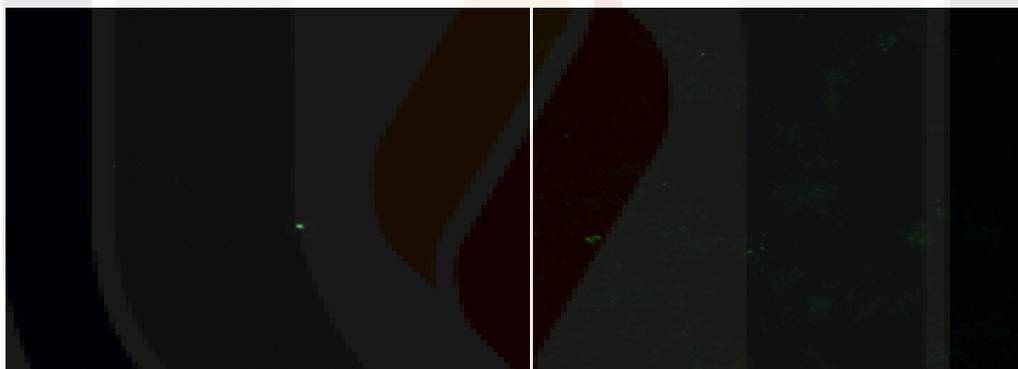


Fig. 14 Microfotografía de sedimentos de laguna control negativo (libre de metales). Microscopio confocal laser Leica DMI 4000B®. Ampliación **60X**. A una longitud de onda de 635 nm.

Laguna tratada con cromo VI.

Los sedimentos de la laguna tratada con 153 mg/L de dicromato de potasio (Cr VI), mostraron una gran fluorescencia presente en la biomasa.

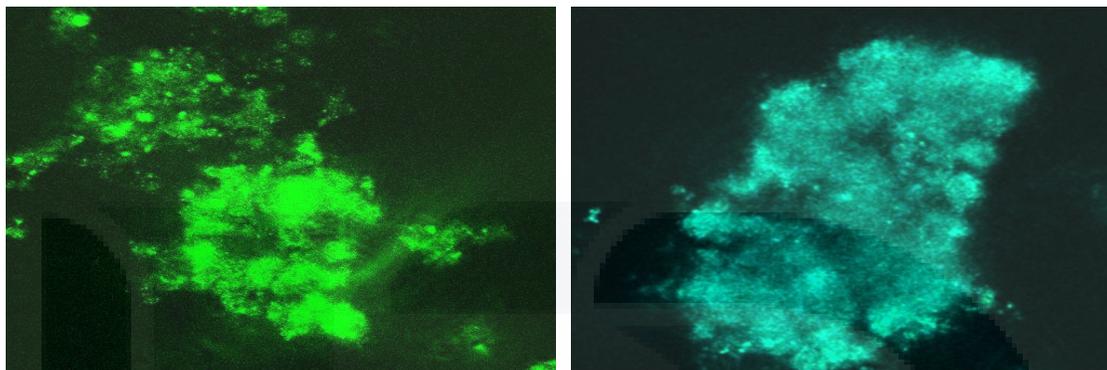


Fig. 15 Microfotografía de sedimentos de laguna tratada con dicromato de potasio (Cr VI). Microscopio confocal laser Leica DMI 4000B®. Ampliación **60X**. A una longitud de onda de 635 nm.

Laguna tratada con cadmio.

De igual forma, los sedimentos provenientes de la laguna tratada con cloruro de cadmio, a una concentración de 107 mg/L de cadmio presentaron una importante fluorescencia.

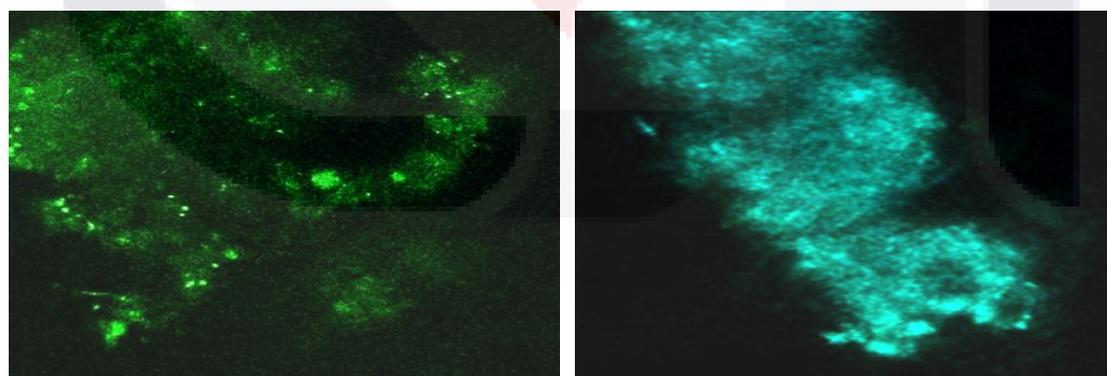


Fig. 16 Microfotografía de sedimentos de laguna tratada con cloruro de cadmio. Microscopio confocal laser Leica DMI 4000B®. Ampliación **60X**. A una longitud de onda de 635 nm.

9. DISCUSIÓN

Al realizar el análisis de las muestras de la laguna control negativo en el microscopio de epifluorescencia, no se observó fluorescencia significativa. Sin embargo, al observarla por medio del microscopio confocal, se pudo localizar una leve fluorescencia. Esta fluorescencia encontrada en el análisis confocal, muy probablemente se deba a la fluorescencia que emiten las sales que conforman el agua residual sintética con que fueron alimentadas. Como dicha fluorescencia fue muy pequeña, se deduce que la interferencia con el análisis de las muestras de lagunas tratadas con metales es mínima.

En el análisis por microscopía de fluorescencia, pudimos observar la existencia de fluorescencia en cristales y biomasa presentes en los sedimentos de las lagunas tratadas con metales pesados, y aunque algunas sales que integran el agua residual sintética presentaron una leve fluorescencia, como se comentó anteriormente, no interfirieron en el análisis de los sedimentos de las lagunas tratadas con metales. Por lo tanto, si la única diferencia entre el tratamiento de la laguna control con las lagunas problema es la adición del metal, se deduce que la fluorescencia corresponde a la presencia del metal en estudio.

En las tres lagunas se logró observar la presencia de material con apariencia mucoide. Dicho material muy probablemente corresponde a polímeros extracelulares secretados por los microorganismos presentes en la laguna de estabilización. Lo anterior, y el hecho de observar agregaciones de gran tamaño de bacterias, aún después de haber sido sometidas a la agitación mediante vórtex, nos indica que las bacterias en el sedimento de la laguna se encuentran asociadas por medio de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que les permiten subsistir en forma de Biopelículas. Esta afirmación concuerda con los resultados de varios autores, las cuales indican que el hecho de que las bacterias se

agrupen en forma de Biopelícula les confiere una resistencia al estrés por metales pesados (Harrison, Turner y Cery 2005).

Al comparar la fluorescencia naranja emitida por los cristales de dicromato de potasio (Cromo VI) y la fluorescencia verde de los cristales de cloruro crómico (Cromo III), con las fluorescencias naranja y verde presente en las muestras de la laguna tratada con dicromato de potasio, nos indica que los microorganismos están utilizando el mecanismo de biorreducción para destoxificar el ambiente (Elangovan, 2006). Este mecanismo también puede ser confirmado, por los cristales fluorescentes encontrados en dicha laguna, ya que una vía de precipitación de cromo es a través de la reducción de cromo VI a cromo III, el cual es menos soluble y tiene menor toxicidad, por lo que puede ser precipitado o adsorbido por los microorganismos (Elangovan, 2006; Faisal, 2005; Horton *et al.* 2006; Srivastava y Thakur 2006). Como en estudios anteriores se mostró que la precipitación de metales pesados no ocurre en ausencia de biomasa viva (Prieto, 2005), esto nos lleva a concluir que la biomasa activa en los sedimentos de la laguna está bioreduciendo el cromo VI a cromo III, conduciendo a la formación de bioprecipitados.

La presencia de fluorescencia naranja en forma de cristales, puede deberse a un aumento en el pH del ambiente motivado por la biomasa viva, o bien, la biomasa ha desarrollado mecanismos para “secuestrar” estos cristales de cromo VI, previniendo su dilución en el medio y disminuyendo de esta forma la biodisponibilidad del metal.

La existencia de fluorescencia en forma mucoide, nos sugiere presencia de sustancias poliméricas extracelulares (biopolímero) a las cuales se han adherido los metales. Esto concuerda con diversos autores que indican que un mecanismo de defensa de las biopelículas al estrés por metales pesados es a través de la adhesión del metal al biopolímero, disminuyendo la biodisponibilidad del metal (Harrison, 2005; Qureshi *et al* 2001; Shiever y Volesky, 2000).

Uno de los mecanismos que utilizan las bacterias para retener metales es mediante bioadsorción (Shiever y Volesky 2000). El análisis microscópico permitió observar fluorescencia presente en la biomasa, resultado que coincide con aquellos obtenidos en estudios paralelos realizados por Prieto (2005), en donde se logró demostrar la remoción de metales pesados a través de biomasa activa e inactiva, lo cual nos indica que entre los mecanismos presentes en la remoción de cadmio y cromo por los bioflóculos está la bioadsorción.

La presencia de cristales de cadmio y cromo en diferentes tamaños y formas podría explicarse de la siguiente manera: según los resultados obtenidos, la vía más probable de remoción de cromo y cadmio se inicia por la bioadsorción de los metales en la biomasa, seguida de un proceso de microprecipitación en la superficie celular. Cuando la superficie celular comienza a saturarse del metal, las células empiezan a perder sitios de unión que les permitan el acceso a los nutrientes por medio de difusión, por lo que las bacterias comienzan a acumular el metal precipitado en núcleos o sitios de unión, permitiendo el aumento de volumen de los microcristales (Southam, 2000). Otra forma de bioprecipitación podría estar mediada por bacterias sulfato reductoras. Las BSR a través de su metabolismo, liberan ligandos sulfuros producidos por la reducción de sulfatos, los cuales pueden reaccionar con los metales pesados induciendo la formación de sulfuros metálicos insolubles (Naz *et al*, 2005). Además, en el caso del cromo VI, las bacterias sulfato reductoras lo pueden utilizar como aceptor de electrones, reduciendo el cromo VI a cromo III, el cual es menos soluble y por lo tanto precipita (Arias & tebo, 2003; Beveridge *et al*, 1983; Fude *et al*, 1994).

10. CONCLUSIONES

En estudios anteriores se había logrado determinar que las lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos y tratadas con cromo y cadmio, presentaron mayor eficiencia que las lagunas convencionales, demostrando por medio de espectroscopía de absorción atómica la presencia de metales en los sedimentos en fracciones inorgánicas y orgánicas (Magaña, 2007). Además, se ha señalado que la precipitación fisicoquímica de cadmio y cromo es prácticamente nula (Prieto, 2005). Por lo cual, el hecho de encontrar fluorescencia idéntica a la mostrada por los cristales de cromo o cadmio en las lagunas a través de microscopía de fluorescencia, implica que *uno de los principales mecanismos de remoción de cadmio y cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos es la bioprecipitación.*

De igual manera, en la laguna tratada con cromo VI, el hecho de conocer que el cromo III tiene menor solubilidad que el cromo VI y encontrar cristales con fluorescencia color verde idéntica a la observada en los cristales control de cloruro de cromo III, implica la presencia mayoritaria de cromo III en los sedimentos de la laguna, y por lo tanto a reafirmar la hipótesis de *que la biorreducción es uno de los mecanismos presentes en la remoción de cromo en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos.*

La microscopía de fluorescencia, tanto en microscopio de epifluorescencia como en el confocal, nos permitió *demostrar la presencia de cadmio y cromo en la biomasa*, resultado que nos lleva a corroborar que la bioadsorción es otro de los principales mecanismos de remoción de metales presentes en las lagunas.

La morfología de la biomasa observada a través de la microscopía nos indica que los microorganismos presentes en los sedimentos de las lagunas de estabilización facultativas, se encuentran asociados en forma de biopelículas, Lo

cual les confiere mayor resistencia y adaptación a estrés causado por metales pesados.

En resumen:

1. Se observó una importante fluorescencia en la superficie de la biomasa, lo cual implica bioadsorción.
2. Se observó la presencia de microcristales de cadmio y cromo en la biomasa, lo que implica la presencia de bioprecipitación como uno de los principales mecanismos de remoción de dichos metales. Probablemente, primero se presentó bioadsorción y en seguida la precipitación de los metales.
3. Se alimentó exclusivamente con dicromato de potasio (cromo VI), y se observó mayoritariamente en cristales y biomasa cromo III, lo cual implica que casi todo el cromo VI fue biorreducido a cromo III.
4. La presencia de sustancias mucosas fluorescentes, nos indica una adsorción o acomplejamiento de cadmio y cromo en sustancias poliméricas extracelulares (EPS).

11. GLOSARIO

- Ambiente.-** Conjunto de elementos físicos, químicos, biológicos capaces de causar efectos directos e indirectos a corto o largo plazo sobre los seres vivos.
- Aclimatación.-** Cambios fisiológicos graduales que presenta un organismo en respuesta a cambios lentos de duración relativamente grande en el ambiente.
- Acuífero.-** Formación geológica subterránea compuesta de grava, arena o piedra porosa, capaz de almacenar agua subterránea y permitir que la misma fluya hacia pozos y/o arroyos.
- Adaptación.-** Ajuste de un organismo a su medio; característica que capacita al organismo a sobrevivir en su medio.
- ADN.-** Ácido desoxirribonucleico. Moléculas de las células que contienen la información genética codificada en orden específico de sus nucleótidos constituyentes y que son responsables de la transferencia de esta de generación en generación.
- Adsorción.-** Propiedad que tienen algunas sustancias de aumentar la concentración, sobre su superficie, de otras sustancias, por lo general gases o cuerpos disueltos.
- Aerobio.-** Proceso biológico que se desarrolla solamente en presencia de oxígeno molecular.
- Aglutinación.-** Colección en grupos de células o en partículas distribuidas en un líquido.
- Agua residual.-** Agua contaminada procedente de hogares o de la industria.
- Agua subterránea.-** El agua subterránea es parte de la precipitación que se filtra a través del suelo hacia los estratos porosos y en ocasiones los satura de agua. Se mueve lentamente hacia los niveles bajos, generalmente en ángulos inclinados (debido a la gravedad) y, eventualmente, llegan a los manantiales, los arroyos, lagos y océanos.
- Agua superficial.-** Agua naturalmente expuesta a la atmósfera, como en los ríos, lagos, reservorios, pozos, flujos, mares, estuarios, etc.
- Agua virtual.-** Es la cantidad de agua que se utiliza o integra a un producto, bien o servicio.

Algas.- Tipo de protista que realiza la fotosíntesis; Eucarionte fotosintético, puede ser unicelular, filamentosa o pluricelular pero carece de los tejidos encontrados en los vegetales.

Anaerobio facultativo. Organismo que puede crecer en presencia de oxígeno molecular o sin él.

Anaerobio.- Que solamente crece o metaboliza en ausencia de oxígeno molecular.

Anión.- Ion portador de carga negativa.

Atmósfera.- Capa gaseosa que rodea a la tierra y que tiene diferentes niveles de concentración de diversos elementos, entre los que destacan el nitrógeno, oxígeno y gases inertes

Bacterias.- Dominio de organismos procariontes caracterizados por paredes celulares que contienen péptidoglicanos.

Bioacumulación.- Asimilación celular de sustancias por medio de transporte activo hacia el interior de la célula; Acumulación neta, con el paso del tiempo, de sustancias persistentes en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua).

Bioadsorción.- Acumulación de sustancias en la superficie o interface celular; Interacción química de cationes metálicos, dando por resultado la formación de complejos, con ligandos celulares, generalmente ubicados en las capas externas de las células microbianas.

Biocombustible.- Los biocombustibles son combustibles no fósiles que se obtienen a partir de materias orgánicas de origen agrícola.

Biodegradable en sustancias inorgánicas por la acción de microorganismos.

Bioflóculo.- Masa floculada formada por la acumulación de partículas suspendidas de origen biológico.

Biomagnificación.- Tendencia de algunos productos químicos a acumularse a lo largo de la cadena trófica, exhibiendo concentraciones sucesivamente mayores al ascender el nivel trófico. La concentración del producto en el organismo consumidor es mayor que la concentración del mismo producto en el organismo consumido.

Biomasa.- Volumen o masa total de los organismos vivientes de una comunidad o ecosistema.

Biometilación.- Adición de un grupo metilo (-CH₃) a una molécula por proceso biológicos.

Biom mineralización.- Formación de precipitados metálicos insolubles, vía la generación microbiana de ligandos.

Biopelícula.- (*biofilm*), Comunidad microbiana que suele formarse como una película viscosa sobre una superficie; Es un consorcio de microorganismos adheridos a superficies, embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que les ayuda a retener el alimento y a protegerse de agentes externos tóxicos. Se forman espontáneamente en presencia de humedad y pueden vivir con mínimas trazas de nutrientes. Se adaptan a un medio adverso mientras lo cambian a su alrededor y se le vuelven a adaptar, esta cualidad se basa en la activación de diversos grupos de genes.

Biopolímero.- Son sustancias poliméricas extracelulares, constituidas principalmente por polisacáridos (polímeros de azúcares).

Bioquimiadsorción.- Inclusión, por intercambio catiónico, de un catión metálico dentro de la estructura cristalina de un material previamente depositado.

Biósfera.- Parte del sistema terrestre que comprende todos los ecosistemas y organismos vivos presentes en la atmósfera, la tierra (biosfera terrestre) o los océanos (biosfera marina), incluida la materia orgánica muerta derivada de ellos, como la basura, la materia orgánica del suelo y los detritos oceánico

Cadmio.- El cadmio es un elemento divalente del Grupo II, subgrupo 2 de la tabla periódica, con número atómico de 48 y densidad de relativa de 8.65.

Cambio climático global.- Son el conjunto de cambios que se manifiestan en los patrones climáticos a nivel mundial, como resultado de las alteraciones que ocasionan las actividades humanas.

Carcinogénicos.- Se dice de una sustancia que causa o induce cáncer.

Catión.- Ion portador de carga positiva.

CEPIS.- Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y ciencias del ambiente.

Ciclo hidrológico.- Sucesión de etapas al pasar de los mares a la tierra y volver a los mares en un constante movimiento

Coagulación.- Proceso por el cual dos o más partículas se combinan para formar una de mayor tamaño; Consiste en la desestabilización de las partículas coloidales, empleando productos químicos (coagulantes) que neutralizan la carga eléctrica de los coloides.

Coliformes fecales.- Son microorganismos con una estructura parecida a una bacteria común que se llama *Escherichia coli* y se transmiten por medio de los excrementos. Tradicionalmente se les considera como indicadores de contaminación fecal.

Coliformes.- Bacilos aerobios o anaerobios facultativos, gramnegativos y no formadores de esporas que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas dentro de las 48 horas a 35°C.

Coloide.- Sistema de dos fases en el cual las partículas de una fase, que fluctúan en tamaño de 1 a 1000 milimicras, están dispersas en la segunda fase.

Compuestos orgánicos.- Sustancias que están compuestas de varios elementos, pero el principal es una cadena de átomos de carbono que están tanto en los seres vivos como en los minerales.

Contaminación.- Son las modificaciones o alteraciones dañinas que sufren las condiciones ambientales por la presencia de elementos o agentes (físicos, químicos, biológicos) nocivos.

Cromo.- Elemento químico de masa atómica 51,996 y número atómico 24. Es un metal denso, duro y brillante, presente en la naturaleza combinado en minerales de los que el principal es la cromita. Tiene aplicaciones en siderurgia. El cromo y sus compuestos son tóxicos.

DBO.- Demanda bioquímica de oxígeno. Oxígeno consumido en la degradación de sustancias oxidables del agua por la acción microbiológica, medido en condiciones estandarizadas. Se expresa en miligramos de oxígeno por litro. Un valor DBO elevado indica un agua con demasiada materia

Detritus.- Residuos que provienen de la descomposición de fuentes orgánicas y minerales.

DQO.- Demanda Química de Oxígeno. Es la cantidad de oxígeno requerida para oxidar la materia orgánica e inorgánica contenida en el agua después de corregir la influencia de los cloruros; Representa la cantidad de oxígeno consumida por las sustancias reductoras presentes en el agua, sin intervención de organismos vivos. El valor de la DQO es siempre mayor al de la DBO debido a que existen compuestos susceptibles a la oxidación que no son biodegradables.

EAM.- Estadísticas del agua en México.

Efluente.- Salida o flujos salientes de cualquier sistema que despacha flujos de agua.

EPS.- Sustancias poliméricas extracelulares (Extracellular polymeric substances) Son sustancias excretadas por las bacterias formadas por polisacáridos o fibras glicoproteináceas entrelazadas, formadas alrededor de una célula o grupo de células. Juegan un importante rol en la agregación celular, adhesión celular, formación de biopelículas y protección de células de ambientes hostiles.

Espasmo.- Los espasmos son contracciones de las manos, los dedos pulgares, los pies o los dedos de los pies que se observan algunas veces acompañadas de calambres musculares, fasciculaciones y convulsiones. Los espasmos por lo general son breves, pero pueden ser severos y dolorosos

Especie.- Grupo de organismos con características genéticas similares, que se pueden reproducir entre sí y dar una descendencia fértil.

Evaporación.- Conversión gradual de un líquido en gas sin que haya ebullición

Facultativo.- Tratamiento biológico de aguas residuales que consiste en la combinación de procesos anaerobios y aerobios.

Floculación.- Agrupación de las partículas coloidales desestabilizadas, formando agregados de mayor tamaño denominados "flóculos", los cuales sedimentan por gravedad.

Fluorescencia.- Propiedad que poseen algunas sustancias de transformar la radiación recibida en otra de frecuencia diferente y generalmente menor que la absorbida; el fenómeno presenta particular interés cuando la radiación absorbida es invisible (ultravioleta) y la emitida visible.

Fotosíntesis.- Conjunto de reacciones que realizan todas las plantas verdes (que poseen clorofila), las cianofíceas y algunas bacterias, y a través de las cuales se sintetizan glúcidos o hidratos de carbono por acción de la luz, dióxido de carbono atmosférico y agua, en presencia de clorofila y otros pigmentos.

Helminto.- Parásito vermiforme intestinal, redondo o aplanado.

Heterótrofo.- Organismo que no puede sintetizar compuestos orgánicos a partir de sustancias inorgánicas y, por tanto, debe consumir alimentos orgánicos

Hidrosfera.- Parte del sistema climático que comprende las aguas superficiales y subterráneas en estado líquido, como los océanos, los mares, los ríos, los lagos de agua dulce, el agua subterránea, etc.

Hongos.- Son organismos heterótrofos, unicelulares y multicelulares, la mayoría aerobios estrictos, pueden crecer con muy poca humedad y toleran un medio ambiente con pH relativamente bajo; Descomponedor saprotrófico, cuyo cuerpo está compuesto por filamentos llamados hifas que forman una masa denominada micelio.

IMTA.- Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

INEGI.- Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

Influyente.- Fluido que entra a un sistema.

Intrusión salina.- Fenómeno en el cual el agua del mar se introduce por el subsuelo hacia el interior del continente, ocasionando la salinización del agua subterránea.

Ion.- Átomo o grupo de átomos portadores de carga eléctrica, ya positiva (catión) o negativa (anión).

Laguna de estabilización.- Es una masa de agua relativamente poco profunda contenida en un estanque de tierra de configuración controlada, cuya finalidad es el tratamiento de agua residual.

Ligandos.- Iones o moléculas que rodean a un metal en un complejo.

Litósfera.- Capa superior de la parte sólida de la Tierra, tanto continental como oceánica, que comprende todas las rocas de la corteza terrestre y la parte fría, principalmente elástica, del manto superior.

Lodos.- Producto residual proveniente del tratamiento de aguas residuales. Según el tipo de tratamiento y la naturaleza de los contaminantes eliminados, serán lodos de naturaleza predominantemente inorgánica u orgánica.

Lux.- Es la cantidad de iluminación que emite una fuente de luz de un Watt a un metro de distancia sobre un metro cuadrado de superficie de color blanco.

Luz U.V.- Luz ultravioleta; la porción del espectro electromagnético cuya longitud de onda es menor que la de la luz visible pero mayor que la de los rayos x, es decir, varía entre los 400 y 100 nm.

Metales pesados.- Elementos químicos metálicos con masas atómicas y densidad relativamente elevadas.

Micronutrientes.- Elemento esencial necesario, en pequeñas cantidades, para el crecimiento de los seres vivos; tal como boro, cobre zinc y cromo.

Microorganismos.- Cualquier organismo vivo demasiado pequeño para ser observado a simple vista, como las bacterias, los virus, los protozoos, las algas unicelulares y numerosas especies de hongos.

Necrosis.- Muerte celular patológica.

Nutriente.- Término genérico para cualquier sustancia que pueda utilizarse en los procesos metabólicos del organismo.

OEI.- Organización de Estados Iberoamericanos para la educación la ciencia y la cultura.

OPS.- Organización Panamericana de la Salud.

Persistencia.- Capacidad que tienen algunas sustancias de permanecer en el ambiente por tiempo prolongado sin degradarse por la acción del sol, por microorganismos, o por los cambios de su estructura química.

pH.- (potencial de Hidrógeno). Logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno por virtud de la cual se expresa el grado de acidez o alcalinidad de un líquido.

Pneumonitis.- Inflamación del pulmón.

Precipitación.- Fenómeno por el cual una sustancia soluble se transforma en otra insoluble.

Protozoarios.- Son organismos móviles microscópicos, unicelulares, eucarióticos, heterótrofos, fagótrofos, depredadores o detritívoros, que viven en ambientes húmedos o directamente en medios acuáticos. Actúan como purificadores de los efluentes de procesos biológicos de tratamientos de aguas residuales al consumir bacterias y partículas.

Reducción.- En términos químicos, es cualquier reacción química en la que hay ganancia de uno o más electrones en un átomo o en un anión; Disminución algebraica en el número de oxidación de una sustancia.

Remoción.- Acción de remover, o depurar.

Renal.- Relativo o concerniente al riñón.

Residuos peligrosos.- Son aquellas sustancias en cualquier estado físico que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, inflamables, tóxicas y biológico-infecciosas, y por su forma de manejo pueden representar un riesgo para el equilibrio ecológico, el ambiente y la salud de la población en general.

Resistencia.- Es la capacidad de ciertos microorganismos de soportar perturbaciones generalmente dañinas para ellos.

Rinitis.- Inflamación de la mucosa nasal.

S.S. – Sólidos Suspendidos. Son los residuos no filtrables del agua natural o residual, desecados a temperatura normalizada, después de haberlos lavado con un disolvente orgánico con el fin de eliminar aceites.

Sedimentación.- Proceso de tratamiento de aguas residuales, para separar sólidos en suspensión de las mismas. Se basa en la diferencia de peso específico entre las partículas sólidas y el líquido donde se encuentran.

Toxicidad.- La capacidad o la propiedad de una sustancia de causar efectos adversos sobre la salud.

Tóxico.- Sustancias que pueden causar perturbación o daño sobre una especie.

Transporte activo.- Transferencia de una sustancia hacia dentro o hacia fuera de una célula a través de su membrana contra un gradiente de concentración por un proceso que requiere gasto de energía.

UNESCO . - United Nations Educational Scientific and Cultural Organization. Organización de las Naciones Unidas para la educación la ciencia y la cultura.

UNFPA.- United Nations Population Fund. Fondo de Población de las Naciones Unidas.

Uso Consumtivo.- Es el uso del agua que no se devuelve en forma inmediata al ciclo del agua.

Uso sostenible.- Es la utilización de los recursos naturales, contribuye a que se respete la funcionalidad y la capacidad de renovación natural de los ecosistemas de los cuales son parte.

Volátil.- Capaz de evaporarse a temperatura y presión normales.

Vórtex.- Aparato de laboratorio para homogeneizar muestras por medio de remolino producido por el giro de una masa de fluido más o menos cilíndrica.

Xenobiótico.- Compuesto externo a un organismo vivo que interaccionan con él, generalmente a través de alteraciones metabólicas.

12. REFERENCIAS

1. Affone O., Orisakwe O., Ekane M A., Akumika D. (2002) Zinc protects chromium-induced testicular injury in mice. *Indian Journal of Pharmacology* **34**: 26-31.
2. Aguilar S.J. (2006) Remoción de plomo y de mezclas de Cd, Hg, Cr y As en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencias en el área de toxicología. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
3. Allan V.J.M., Callow M.E., Macaskie L.E. Paterson-Beedle M. (2002) Effect of nutrient limitation on biofilm formation and phosphatase activity of a *Citrobacter* sp. *Microbiology* **148**: 277–288.
4. Appukuttan D., Rao A.S., Apte S.K. (2006) Engineering of *Deinococcus radiodurans* R1 for Bioprecipitation of Uranium from Dilute Nuclear Waste . *Appl Environ Microbiol.* **72**(12): 7873–7878.
5. Arias Y.M., Tebo B.M. (2003) Cr(VI) Reduction by Sulfidogenic and Nonsulfidogenic Microbial Consortia *Appl Environ Microbiol* **69** (3) 1847–1853.
6. Armas J.E. (2000) Cintética de remoción de bacterias en lagunas de estabilización. *Ingeniería hidráulica y ambiental.* **23**(1).
7. Avelar F.J. (2009) Informe final de proyecto “Estudio sobre los principales mecanismos de remoción y géneros microbianos implicados en la depuración de metales pesados, empleando lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos”.
8. Avelar F.J., Martínez-Pereda P., Thalasso F., Rodríguez-Vazquez R., Esparza-García F.J. (2001). Upgrading of facultative waste stabilisation ponds Under high organic load. *Biotechnol. Lett.* **23**(14), 1115-1118.

9. Avelar G. F. J. (1994). "Estudio sobre la remoción Fenol en Modelos Lagunas de Estabilización de tipo Facultativo". Tesis de maestría. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. CINVESTAV-IPN. México D.F.
10. Bargalló M. (1972) Tratado de química inorgánica. 2ª ed. Editorial Porrúa. México. pp 843-862, 978-997.
11. Beveridge T.J., Meloche J.D., Fyfe W.S., Murray R.G.E. (1983) Diagenesis of Metals Chemically Complexed to Bacteria: Laboratory Formation of Metal Phosphates, Sulfides, and Organic Condensates in Artificial Sediments. *Appl Environ Microbiol.* **45**(3): 1094–1108.
12. Burmølle M., Webb J.S., Rao D., Hansen L.H., Sørensen S.J., Kjelleberg S. (2006) Enhanced Biofilm Formation and Increased Resistance to Antimicrobial Agents and Bacterial Invasion Are Caused by Synergistic Interactions in Multispecies Biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**(6) 3916–3923.
13. Cañizares-Villanueva R.O. (200) Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana *Revista Latinoamericana de Microbiología* **42**:131-143.
14. Cecen F., Gürsoy G. (2001) Biosorption of heavy metals from landfill leachate onto activated sludge. *J. Environ. Sci. Health.* **36**(6): 987-998.
15. Chen H., Pan S. (2005) Bioremediation potential of spirulina: toxicity and biosorption studies of lead. *J Zhejiang Univ Sci B.* **6**(3): 171–174.
16. Choppin G., Jaffe B, Summerlin L., Jackson L. (1974) Química. Ed. PCSA. México D.F. pp 430-339.
17. CNA. (2008B) Programa nacional hídrico 2007-2012.
18. CNA. (2008A) Estadísticas del agua en México.
19. Crites R., Tchobanoglous G. (2000) Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. Mc Graw-Hill, Bogotá. 776 pp.
20. Dávila D.J.L. (2002) Enriquecimiento con bioflóculos de lagunas de estabilización facultativas y evaluación de su capacidad para remover altas

cargas de materia orgánica común y mezclas fenol-anilina. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencias en el área toxicología. Universidad Autónoma de Aguascalientes.

21. Dogsa I., Kriechbaum M., Stopar D., Laggner P. (2005) Structure of Bacterial Extracellular Polymeric Substances at Different pH Values as Determined by SAXS. *Biophys J.* **89** (4): 2711–2720.
22. Elangovan R., Abhipsa S., Rohit B., Ligy P., Chandraraj K. (2006) Reduction of Cr(VI) by a *Bacillus* sp. *Biotechnology Letters* (2006) **28**: 247–252.
23. Faisal M., Hameed A., Hasnain S. (2005) Chromium-resistant bacteria and cyanobacteria: impact on Cr (VI) reduction potential and plant growth. *J Ind Microbiol Biotechnol.* **32**: 615–621.
24. Faisal M., Hasnain S. (2005) Bacterial Cr(VI) reduction concurrently improves sunflower (*Helianthus annuus* L.) growth. *Biotechnology Letters* **27**: 943–947.
25. Folkesson A., Haagensen J.A.J., Zampaloni C., Sternberg C., Molin S. (2008) Biofilm Induced Tolerance towards Antimicrobial Peptides. *PLoS ONE.* 3(4): e1891.
26. Fude L., Harris B., Urrutia M.M., Beveridge T.J. (1994) Reduction of Cr(VI) by a Consortium of Sulfate-Reducing Bacteria (SRB III). *Appl Environ Microbiol.* **60**(5) 1525-1531.
27. Godt J. Sheidig F., Grosse-Siestrup C., Esche V., Brandenburg P., Reich A., Groneberg D. (2006) The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *J Occup Med Toxicol.* **1**: 22.
28. González-Morán M.G. (2008) Técnicas de laboratorio en biología celular y molecular. AGT Editor. S.A. México D.F. pp 74-85.
29. Guevara A., Leon G. (1996) Propuesta metodológica evaluación de lagunas de estabilización. OPS/CEPIS.
30. Hansen S.K., Haagensen J.A.J., Gjermansen M., Jørgensen, Tolker-Nielsen T., Molin S. (2007) Characterization of a *Pseudomonas putida*

- Rough Variant Evolved in a Mixed-Species Biofilm with *Acinetobacter* sp. Strain C6. *J Bacteriol.* **189**(13): 4932–4943.
31. Harrison J., Turner R., Ceri H. (2005) Metal tolerance in bacterial biofilm. *Recent research developments in microbiology* **9**(9) 33-55.
32. Harrison J.J., Ceri H., Roper N., Badry E.A., Sproule K.M., Turner R.J. (2005) Persister cells mediate tolerance to metal oxyanions in *Escherichia coli*. *Microbiology* **151**: 3181-3195.
33. Harrison J.J., Ceri H., YErly J., Stremick C.A., Hu Y., Martinuzzi R., Torner R.J. (2006) The use of microscopy and three-dimensional visualization to evaluate the structure of microbial biofilms cultivated in the Calgary Biofilm Device. *Biol. Proced. Online* **8**(1): 194-215.
34. Horton R., Apel W.A. Thompson V., Sheridan P. (2006) Low temperature reduction of hexavalent chromium by a microbial enrichment consortium and a novel strain of *Arthrobacter aurescens* *BMC Microbiology* **6**:5.
35. Houghton S.R. and Mara D.D. (1992) The effects of sulphide generation in waste stabilization ponds on photosynthetic populations and effluent quality. *Water Sci. Technol.* **26** (7-8): 1759-1768.
36. Hu Z., Hidalgo G., Houston P.L., Hay A.G., Shuler M.L., Abruna, Luib L.W. (2005) Determination of Spatial Distributions of Zinc and Active Biomass in Microbial Biofilms by Two-Photon Laser Scanning Microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* **71** (7) :4014–4021.
37. IMTA (2007) Efectos del cambio climático en los recursos hídricos de México. *Gaceta del IMTA*, **7**.
38. INEGI (2005) Página web. http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/rur_urb.aspx?tema=P
39. INEGI, 2009. Estadísticas a propósito del día mundial del agua. <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2009/agua09.doc> -
40. Katzung B.G. (1999) *Farmacología Básica y Clínica*. 7ª Ed. México: Manual Moderno. 1097-1101.

41. Kumar W., Sathwara N., Gautam A., Agarwal K., Shah B., Kulkarni P., Patel K., Patel A., Mdave L., Parikh D., Saiyed H.. (2005) Semen quality of industrial workers occupationally exposed to chromium. *J. Occup Health.* **47**: 424-430.
42. León G. Uso de efluentes de lagunas de estabilización: Seminario Internacional de lagunas de estabilización. CEPIS. Lima.
43. León, G. (1995) Aspectos generales y principios básicos de los sistemas de lagunas de estabilización. Seminario Internacional/ Lagunas de estabilización. CEPIS/OPS. Lima.
44. Leung W.C., Wong F.F., Chua H., Lo W., Yu P.H.F., Leung C.K. (2000) Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. *Water Science and Technology.* **41**(12): 233-240.
45. Lloyd J., Anderson R., Macaskie L. (2005) Bioremediation of metals and radionuclides. En: Atlas M. y Philp J. (eds.) *Bioremediation: Applied Microbial Solutions for Real-World Environmental Cleanup.* AS; Press. U.S.A. pp 293-317.
46. Magaña O. (2007) Remoción de metales pesados en lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos: distribución de los metales en sedimentos y estimación del grado de inmovilización. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en procesos biotecnológicos. Universidad de Guadalajara.
47. Maron S.H., Prutton C.F., (1974) *Fundamentos de fisicoquímica.* Ed. Limusa. México. pp 822-823.
48. Martínez Martínez S.I. (2000) *Introducción a la hidrología superficial.* Textos universitarios. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes. pp 14-15.
49. Martinez R.J., Wang Y., Raimondo M., Coombs J.M., Barkay T., Sobecky P.A. (2006) Horizontal Gene Transfer of PIB-Type ATPases among

- Bacteria Isolated from Radionuclide- and Metal-Contaminated Subsurface Soils. *Appl Environ Microbiol.* **72**(5). 3111–3118.
50. McKinney R. (1956) Activity microorganismos in organic waste disposal II. Aerobic processes. *Appl Microbiol.* **5**(3):167-174.
51. Metcalf & Eddy Inc. (1996) Ingeniería de aguas residuales, Tratamiento, vertido y reutilización. Tomo I. Mc Graw-Hill, México. 752 pp.
52. Moons P., Houdt R.V., Aertsen A., Vanoirbeek K., Engelborghs Y., Michiels C.W..(2006) Role of Quorum Sensing and Antimicrobial Component Production by *SERRATIA PLYMUTHICA* in Formation of Biofilms, Including Mixed Biofilms with *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* **72**(11): 7294–7300.
53. Muttamara S. and Puepaiboon U. (1997) Roles of baffles in waste stabilization ponds. *Water Sci. Technol.* **35**: 275-284.
54. Naja G., Mustin C., Volesky B., Berthelin J. (2005) A high-resolution titrator: a new approach to studying binding sites of microbial biosorbents. *Water Research.* **39**: 579-588.
55. Naz N., Young H., Ahmed N., Gadd G. (2005) Cadmium Accumulation and DNA Homology with Metal Resistance Genes in Sulfate-Reducing Bacteria. *Appl Environ Microbiol.* **71**(8): 4610–4618.
56. OEI (2009) 22 de marzo día mundial del agua. Nuevo informe de UNESCO destaca el papel crucial del agua en el desarrollo. Pág. En internet: <http://www.oei.es/cienciayuniversidad/spipphp?article156>.
57. Ofer R., Yerachmiel A., Shumel Y. (2003) Marine macroalgae as biosorbents for cadmium and nickel in water. *Water Env. Research.* **75**(3): 246-253.
58. Opperman D.J., Piater L.A., Heerden E. (2008) A Novel Chromate Reductase from *Thermus scotoductus* SA-01 Related to Old Yellow Enzyme J *Bacteriol.* **190**(8): 3076–3082.
59. OPS (2007) Salud en las Américas. Artículo en internet. <http://www.paho.org/la/vol1regionalcap3.html>.

60. Pearson H.W. and Mara D.D. (1989) Big is not best with waste stabilization ponds. *Water Qual. Int.* **1**: 28-29.
61. Pechova A., Pavlata L. (2007) Chromium as an essential nutrient: a review. *Veterinarni Medicina*, **52(1)**: 1–18.
62. Peng J., Wang B., Wang L., (2005) Multi-sate ponds-wetlands exosystem for effective wastewater treatment. *J Zhejiang Univ Sci B.* **6(5)**: 346-352.
63. Priester J., Olson S.G., Webb S.M., Neu M.P., Hersman L.E., Holden P.A. (2006) Enhanced Exopolymer Production and Chromium Stabilization in *Pseudomonas putida* Unsaturated Biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* **72(3)**: 1988–1996.
64. Prieto C. (2005) Remoción de cadmio y cromo empleando lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Toxicología Maestría. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
65. Qureshi F.M. Badar U., Ahmed N. (2001) Biosorption of Copper by a Bacterial Biofilm on a Flexible Polyvinyl Chloride Conduct. *Appl. Environ. Microbiol.* **67** (9): 4349–435
66. Ramos G.M.S. (2003) Remoción de compuestos fenólicos en lagunas de estabilización facultativas enriquecidas con bioflóculos. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencias en el área de toxicología.. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
67. Ramos S.M., Dávila, J. L., Esparza F., Thalasso F., Alba, J., Guerrero A. L., Avelar F. J. 2005. Treatment of wastewater containing high phenol concentrations using stabilisation ponds enriched with activated sludge. *Water Sci. Technol.* **51(12)**: 257-260.
68. Romero Rojas J.A. (1999). Tratamiento de aguas residuales por lagunas de estabilización. 3ª ed. Alfaomega. México.
69. Sauer K.. (2003) The genomics and proteomics of biofilm formation. *Genome Biology* , **4**: 219

70. Schiever S., Volesky B. (2000) Biosorption processes for heavy metal removal. En Lovely D. R. (Eds.) Environmental microbe-metal interactions. AMS Press, Washington, D.C., USA, pp 329-361.
71. Shih P., Huang C. (2002) Effects of quorum-sensing deficiency on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy **49**: 309-314.
72. Soares D., Vargas S., Nuño M.R. La gestión de los recursos hídricos:realidades y perspectivas. Tomo I. Pag.380.
73. Southam G. (2000) Environmental Microbe-Metal Interactions. Bacterial surface-mediated mineral formation. Ed. Derek R. Lovley. Washington. D.C. pp 257-276.
74. Srivastava S. Thakur I. (2006) Evaluation of biosorption potency of *Acinetobacter* sp. For removal of hexavalent chromium from tannery effluent. Biodegradation. **18** (5): 637-36.
75. Stypca A. (1998) *Factors influencing sludge settling parameters and solids flux in the activated sludge process. A Literature Review*, Report No. 4, Royal institute of Technology, Kungl Tekniska Hogskolan, Stockholm, Sweden. Advanced Wastewater Treatment ISBN: 91-7170-363-2.
76. Sutherland I.W.. (2001) Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology **147**: 3-9
77. Sutherland I.W.. (2001) Exopolysaccharides in biofilms, flocs and related Structures. Water Science and Technology **43**(6): 77-86 .
78. Teitzel G.M., Parsek M.R.. (2003) Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic *Pseudomonas aeruginosa* Applied and Environmental Microbiology, **69** (4) 2313-2320.
79. UNESCO (2009) Water in a changing world. The United Nations world water development. Report 3. UNESCO Publishing. Paris.
80. UNFPA (2007) State of world population 2007. Unleashing the potential of urban growth. Pag. En internet. <http://www.unfpa.org/swp/2007/english/introduction.html>.

81. Volesky B, Holan ZR (1995) Biosorption of heavy metals. *Biotechnol Prog* **11**:235–250.
82. Wall W. (1974) *Ingeniería de sistemas en recursos hidráulicos*. C.E.C.S.A. 365. pp.
83. Wang C.L., Maratukulam P.D., Lum A.M., Douglas S.C. Keasling J.D. (2000) Metabolic Engineering of an Aerobic Sulfate Reduction Pathway and Its Application to Precipitation of Cadmium on the Cell Surface. *Appl Environ Microbiol.* **66**(10): 4497–4502.
84. WELL (2007) Wastewater treatment options. Artículo en internet. <http://www./boro.ac.uk/well/resources/technicalbriefs/64-wastewater-treatment-options.pdf>.
85. Wuertz S., Bishop P., Wilderer P. (2003) *Biofilm in wastewater treatment an interdisciplinary approach*. IWA Publishing. London.
86. Yanez F. (1993) *Lagunas de estabilización*, ed. CEPIS, Lima. Perú.