

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

**FACULTAD DE INGENIERIA CIVIL
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**ESTUDIO DE LA VARIACION DEL pH A NIVEL DE
REACTOR BIOLOGICO, SOBRE LA REMOCION DE
DIETILENGLICOL DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL**

T E S I S

**QUE CON OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
INGENIERIA AMBIENTAL**

P R E S E N T A :

Q.B.P: RICARDO CARRENO ANDRADE

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE DE 1994

TM

Z68834

.C5

FIC

1994

C37



1020091185

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE INGENIERIA CIVIL
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ESTUDIO DE LA VARIACION DEL pH A NIVEL DE
REACTOR BIOLOGICO, SOBRE LA REMOCION DE
DIETILENGLICOL DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL

TESIS

QUE CON OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
INGENIERIA AMBIENTAL

PRESENTA:

Q.B.P: RICARDO CARRENO ANDRADE

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE DE 1994

TH
26234
o.c.
1
1
2



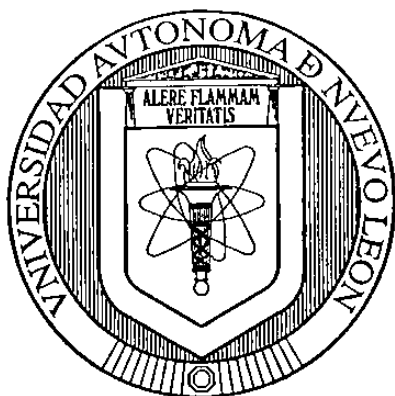
FONDO TESIS

166311

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE INGENIERIA CIVIL

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ESTUDIO DE LA VARIACION DEL pH A NIVEL DE REACTOR
BIOLOGICO, SOBRE LA REMOCION DE DIETILENGLICOL DE
AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL.

TESIS

QUE EN OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN INGENIERIA AMBIENTAL

PRESENTA:

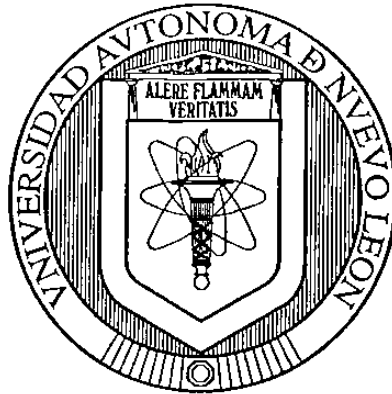
Q.B.P. RICARDO CARREÑO ANDRADE

MONTERREY, N.L. SEPTIEMBRE DE 1994

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE INGENIERIA CIVIL

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ESTUDIO DE LA VARIACION DEL pH A NIVEL DE REACTOR
BIOLOGICO, SOBRE LA REMOCION DE DIETILENGLICOL DE
AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL.

Q.B.P. RICARDO CARREÑO ANDRADE

ASESOR DE TESIS
M.C. BLANCA E. RODRIGUEZ URIBE

DEDICATORIA

A mis padres

FRANCISCA ESTHELA Y RICARDO

Por su amor apoyo y comprensión brindados durante el estudio de esta maestría, dandome lo mejor para salir adelante.

A mis hermanos

NELSON AARON

YOKO IBETT

KEYKO DAYANA LYZET

MYRLDA XAMAN-EK YURIKO

YOSHIMI ELI

Con cariño para Rosa María Morán

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por permitirme cumplir con esta meta, dandome vida, paz y armonía.

A la M.C. Blanca E. Rodríguez Uribe

Por sus atinados consejos durante el desarrollo de esta tesis, por su apoyo a mis decisiones para la realización de la misma y por ser una buena amiga.

A todos mis maestros, por permitirme aprender de su experiencia y conocimientos.

A CONACYT por el apoyo otorgado durante la realización de mis estudios de postgrado, así como para el desarrollo de esta investigación.

A el GRUPO CYDSA y a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por el apoyo brindado a este estudio, dentro del programa de vinculación ESCUELA-EMPRESA.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas: Felipe, Ulises, Luis Gerardo, Enedelia, Sr. Salvador y María Elena; especialmente a Rocío Torres y Gabriela Galavíz, por su ayuda .

A todos mis compañeros y amigos de estudios de la maestría, y todos aquellos que de alguna forma me apoyaron para la realización de este trabajo.

INDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
OBJETIVOS	5
a. Objetivo principal	5
b. Objetivos específicos	5
ANTECEDENTES	6
1. El problema de la contaminación con productos químicos.	6
2. La industria y la contaminación del agua.	8
3. Características y usos del dietilenglicol.	9
4. Eliminación de contaminantes del ambiente.	11
5. Los microorganismos en el control de desechos químicos.	12
6. Biodegradación de contaminantes ambientales.	13
7. Tratamiento biológico del agua residual.	16
8. Bioremediación.	18
9. Estudio de biodegradación de glicoles.	20
MATERIAL Y METODO	
1. Obtención de muestras.	25
2. Método de aislamiento de microorganismos.	25
3. Selección de cepas.	26
4. Determinación de la cinética de crecimiento a nivel de matraz.	27
5. Determinación de la curva de biodegradabilidad.	28
6. Cinéticas preeliminarias sobre agua residual industrial.	29
7. Evaluación de la variación del pH sobre la remoción de	

	Página
dietilenglicol a nivel de reactor bioológico.	30
RESULTADOS.	31
CONCLUSIONES Y DISCUSIONES.	62
BIBLIOGRAFIA.	64

REFERENCIA DE TABLAS Y GRAFICAS

	Página	
Tabla No. 1	Cepas puras aisladas, capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono.	36
Tabla No. 2	Cultivos mixtos de bacterias, capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono.	37
Tabla No. 3	Porcentaje de remoción de dietilenglicol en los distintos ensayos de pH controlado a nivel de reactor biológico.	38
Tabla No. 4	Porcentaje de remoción de DQO en los distintos ensayos con pH controlado, a nivel de reactor biológico.	38
Gráfica No. 1	Producción de biomasa a 84 h de incubación de las cepas puras de microorganismos aislados.	39
Gráfica No. 2	Producción de biomasa a 84 h de incubación de los cultivos mixtos microbianos aislados.	40
Gráfica No. 3	Cepas con mayor producción de biomasa a 84 h de incubación.	41
Gráfica No. 4	Curva de crecimiento y medición del pH de la cepa RC-004 a nivel de matraz, con	

	Página
agua sintética.	42
Gráfica No. 5 Curva de crecimiento y medición del pH, de la cepa RCM-003 a nivel de matraz, con agua sintética.	43
Gráfica No. 6 Curva de crecimiento de la cepa RCM-007 a nivel de matraz, con agua sintética.	44
Gráfica No. 7 Medición del pH durante el desarrollo de la cinética de la cepa RCM-007 a nivel matraz.	45
Gráfica No. 8 Curva de calibración de estándares de dietilenglicol, análisis por cromatogra- fía de gases.	46
Gráfica No. 9 Curva de biodegradación de dietilenglicol a nivel de matraz con agua sintética, de la cepa RC-004.	47
Gráfica No.10 Curva de biodegradación de dietilenglicol nivel de matraz con agua sintética, de la cepa RCM-003.	48
Gráfica No.11 Curva de biodegradación de dietilenglicol a nivel de matraz con agua sintética, de la cepa RCM-007.	49
Gráfica No.12 Curva de crecimiento y comportamiento del pH a nivel de matraz con agua residual, de la cepa RCM-007.	50
Gráfica No.13 Curva de crecimiento y degradación de dietilenglicol a nivel de matraz con	

	agua residual, de la cepa RCM-007.	51
Gráfica No.14	Curva de crecimiento y comportamiento del pH, en reactor biológico de la cepa RCM-007.	52
Gráfica No.15	Curva de crecimiento y degradación de dietilenglicol en reactor biológico, de la cepa RCM-007.	53
Gráfica No.16	Curvas de crecimiento de la cepa RCM-007 a pH 4.5.	54
Gráfica No.17	Curva de biodegradación de dietilenglicol por la cepa RCM-007 a pH 4.5.	55
Gráfica No.18	Curvas de crecimiento de la cepa RCM-007 a pH 7.	56
Gráfica No.19	Curva de biodegradación de dietilenglicol por la cepa RCM-007 a pH 7.	57
Gráfica No.20	Curvas de crecimiento de la cepa RCM-007 a pH 8.	58
Gráfica No.21	Curvas de biodegradación de dietilenglicol por la cepa RCM-007 a pH 8.	59
Gráfica No.22	Remoción de dietilenglicol en las diferentes condiciones de pH.	60
Gráfica No.23	Remoción de DQO en las diferentes condiciones de pH.	61

RESUMEN

La remoción de contaminantes químicos del agua por medio de microorganismos específicos, es una alternativa que pretende ser un método eficiente y no muy caro para el tratamiento de agua residual industrial. Este método se agrupa dentro de una de las técnicas consideradas dentro de las tecnologías limpias, como es la bioremediación. En esta investigación se planteó la obtención de microorganismos capaces de remover dietilenglicol de agua residual industrial y la medición del efecto de la variación del pH sobre dicha remoción. Para ello se aislaron y seleccionaron microorganismos de suelo y agua residual industrial, capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono; se ensayaron a nivel de matraz y utilizando agua sintética como medio de cultivo, por medio de un análisis de peso seco, se seleccionaron las tres cepas con mayor rendimiento en producción de biomasa. Estas cepas se ensayaron a nivel de matraz, utilizando medio sintético con dietilenglicol como única fuente de carbono; se realizó una determinación de biodegradación de dietilenglicol, mediante un análisis por cromatografía de gases, del dietilenglicol remanente. Se seleccionó la cepa que presentó el mayor índice de remoción de dietilenglicol (cepa RCM-007). Se ensayó a nivel de reactor biológico con agua residual industrial como medio de cultivo, a diferentes condiciones de pH. La cepa RCM-007 presentó niveles de remoción de dietilenglicol del 60.0 % a un pH 4.5, 71.9 % a un pH de 7.0 y un 75.8 % a un pH de 8.0. Además se realizó un análisis de remoción de DQO (Demanda química de oxígeno), donde a un pH de 4.5 se removió un 28.0 %, a pH 7.0 se removió un 30.0 % y a pH de 8.0 un 58.3 %. Por lo

que podemos concluir que en las condiciones ambientales preestablecidas en esta investigación, la condición óptima de pH para la remoción de dietilenglicol y DQO de agua residual industrial, por la cepa RCM-007 es de pH 8.0.

INTRODUCCION

El agua es un invaluable recurso natural, que es importante para la vida de todo organismo viviente y para sus actividades. De ahí la importancia de la descarga de desechos industriales hacia los cuerpos de agua (55).

El gran auge de la industrialización a nivel mundial, en las últimas décadas ha traído consigo además del incremento de desechos, también un aumento en la presencia de compuestos orgánicos xenobióticos como contaminantes del agua, muchos de estos son poco o nada biodegradables, son conocidos o sospechosos de causar cancer, mutagénesis o alguna otra alteración (9). Un ejemplo de compuestos xenobióticos, es el dietilenglicol, que es un compuesto altamente miscible en el agua, por lo que es ampliamente utilizado en la industria: para la formulación de anticongelantes y fluídos hidráulicos; como solvente en la fabricación de lacas, resinas, pinturas; como agente suavizador. El dietilenglicol puede causar alteraciones a pulmón, hígado y riñones, en humanos y animales (25).

Una manera de remediar la descarga de residuos industriales al medio ambiente, puede ser mediante el uso de microorganismos. Los microorganismos tienen un papel importante en el ciclo natural de los elementos, debido principalmente a la actividad degradadora microbiana (16).

La remoción de contaminantes ambientales por biodegradación, tiene sus bases en el tratamiento de aguas residuales (63). Los efluentes de agua residual industrial, pueden contener material biodegradable, aunque en términos generales, viene acompañado de material tóxico para los

microorganismos utilizados en la depuración biológica, por lo tanto algunos de estos compuestos no van a ser removidos por los tratamientos convencionales de lodos activados, de ahí la importancia de desarrollar procesos alternos usuales como la bioremediación, que es el uso controlado de la biodegradación para remover productos químicos, ofrece perspectivas para llegar a ser un método eficiente y no muy caro para la remoción de contaminantes del ambiente (16).

OBJETIVOS

a. Objetivo principal.

Obtener microorganismos, aislados de suelo o agua residual industrial, que a nivel de matraz sean capaces de degradar dietilenglicol. Posteriormente, determinar a nivel de reactor biológico el pH en el cual se presenta el mayor grado de remoción de dietilenglicol contenido en agua residual industrial.

b. Objetivos específicos.

Aislar de suelo y de agua residual industrial, microorganismos capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono.

Determinar la cinética de crecimiento de los microorganismos y mezclas de microorganismos seleccionados.

Determinar las curvas de biodegradabilidad del dietilenglicol a nivel de matraz, de los microorganismos y mezclas de microorganismos seleccionados.

Determinar a nivel de reactor biológico, el pH en el cual se presenta el mayor grado de remoción de dietilenglicol presente en agua residual industrial.

ANTECEDENTES

1. El problema de la contaminación con productos químicos.

Los contaminantes ambientales han sido definidos por Hutzinger y Veerkamp como: "Químicos de origen natural o sintético que han sido descargados por actividades humanas, hacia el ambiente, donde ellos tienen un efecto indeseable sobre el ambiente o sobre el mismo hombre. El efecto sobre el ambiente puede ser sobre organismos vivos o sobre entidades no vivientes" (41).

El crecimiento poblacional e industrial han aumentado la descarga de contaminantes en el ambiente, debido a que esta necesita más productos químicos, energía y productos agrícolas.

Los productos químicos y desechos químicos, toman diferentes rutas en el ambiente. Ambos pueden entrar a la ecosfera directamente o después de pasar por algún tipo de tratamiento. El uso tan amplio y disperso de productos químicos por consumidores, hace su descarga hacia el ambiente, muy difícil de controlar. Por otro lado los efluentes concentrados de contaminantes químicos, de las plantas industriales justifican el desarrollo de tecnología sofisticada pero eficiente para el control de dichos efluentes (41).

La descarga de químicos hacia la ecosfera sigue alguna de las siguientes rutas:

a. Directamente del consumidor hacia el ambiente. Esto es cuando los consumidores descargan hacia el suelo, agua o aire, productos contaminantes. Aquí podemos mencionar el uso de pesticidas, aerosoles,

solventes, etc.

b. A través de los efluentes de plantas de tratamiento de agua residual.

c. Accidentalmente. Derrames durante el transporte, fugas de sitios de disposición de desechos, etc.

d. Descargas deliberadas (41).

El problema de la persistencia de compuestos extraños al ambiente, se observó inicialmente en países desarrollados. Pero este problema se fué ampliando hacia los demás países, por la cantidad y diversidad de productos químicos sintéticos que son producidos por la industria. Existen más de cinco millones de compuestos químicos conocidos por el hombre, cerca de 53,500 de ellos, son de importancia comercial (41).

Para evaluar el potencial contaminante de un compuesto químico en particular, se debe tomar en cuenta la cantidad a la cual se descarga al ambiente, sus propiedades químicas y toxicológicas y la estructura química; siendo esta última de principal importancia en la determinación de sí es acumulable o no, mientras que la concentración y toxicidad determinan el impacto ambiental de la acumulación, o sea, su significado como contaminante (50).

La persistencia en el ambiente se observa principalmente en los productos xenobióticos, que son compuestos hechos por el hombre y que no se encuentran naturalmente en el medio ambiente.

El movimiento de materia orgánica en el ciclo del carbono por fotosíntesis y biodegradación es de aproximadamente 2×10^{11} toneladas al año, mientras que la producción mundial de aceite es de 3×10^9 toneladas por año y la síntesis de químicos orgánicos, contaminantes y otros, es de aproximadamente 2×10^8 toneladas por año. Por consecuencia

existe un gran desequilibrio en la naturaleza, el cual se trata de compensar por medio del tratamiento de desechos contaminantes(41).

2. La industria y la contaminación del agua.

De los muchos servicios que pueda prestar el agua a nuestra sociedad, los que pueden definirse como básicos para la industria son, los de transferencia de calor, generación de energía y la aplicación a procesos.

En los procesos industriales el agua realiza importantes funciones: se utiliza para transportar otros materiales en diferentes procedimientos de lavado, como materia prima y un sin número de otras aplicaciones que pueden ser exclusivas de una sola industria e incluso de una sola planta (4). Las aguas gastadas en el proceso generan por lo común, la carga más grande de contaminación de los efluentes de plantas industriales , con base en el promedio diario.

La importancia de la descarga de desechos industriales en relación con el abastecimiento y uso del agua no es la misma en diferentes partes del país, el problema varía dentro de un área dependiendo de la distribución y tipo de industria (55). Aunque en nuestro país encontramos una gran diversidad de industrias distribuidas a través del mismo, es notorio que la mayoría de las industrias están instaladas en polos de concentración bien definidos, donde en estos polos, por consecuencia tendremos un fuerte problema con respecto a la contaminación del agua.

En la actualidad los criterios de calidad del agua de los efluentes, son definidos por normas estatales y federales. Al considerar

el tratamiento de un efluente para su descarga a una corriente u otro cuerpo de agua receptor, cada descarga de una planta se debe considerar de forma individual. Esto se debe a que las características de los efluentes varían mucho, aun en plantas de la misma industria que tengan la misma capacidad y los mismos procesos (23).

3. Características y usos del dietilenglicol.

El dietilenglicol (2-hidroxi-etil-eter, 2,2' oxidietanol) (3), es un compuesto orgánico xenobiótico. Presenta un punto de ebullición de 245°C, una densidad de 1.118. Punto de fusión de -10°C y punto de ignición de 143°C.

Fue sintetizado por Lourenco y Wurtz en 1859 y se comercializó por Unión Carbide en 1928. Es un producto (9 a 10 %) de etilenglicol producido por hidrólisis del óxido de etileno (36). Es altamente miscible en agua, acetona, benceno, tetracloruro de carbono, eter dietílico, metanol, por lo que es muy útil como disolvente (53).

De la producción total del dietilenglicol, alrededor del 35 % es usado como intermediario en la manufactura de resinas de poliéster no saturados y polioles para poliuretanos, aproximadamente el 15 % es convertido a trietilenglicol, 10 % se consume como agente suavizante y lubricante para textiles y 10 % para deshidratación de gas natural (36).

En general los glicoles de cadena corta (C₂ a C₄), son usados en la formulación de anticongelantes y fluidos hidráulicos, como solventes para productos farmacéuticos, aditivos alimenticios, cosméticos y pinturas (48).

Desde el punto de vista toxicológico es importante, ya que en el

año de 1937 ocurrieron arriba de 100 muertes en los Estados Unidos, como resultado de la ingestión de un elixir de sulfanilamida, en el cual se utilizó al dietilenglicol como solvente en una proporción del 72%. Los casos fatales mostraron una falla renal progresiva con muerte en menos de ocho días después de presentarse anuria (30)(11).

Por otro lado el dietilenglicol puede causar en el humano alteraciones a pulmón, hígado y riñones, causa depresión del sistema nervioso central en un grado 3 (en una escala donde los signos se acentúan hasta llegar al 3) (24)(25). La sintomatología que presenta el ser humano al intoxicarse con dietilenglicol, es la siguiente.

- a. Depresión del sistema nervioso central.
- b. Acidosis metabólica.
- c. Nausea, vómito y algunas veces diarrea.
- d. Dolor de cabeza prominente.
- e. Anuria.
- f. Falla renal aguda.
- g. Pueden aparecer lesiones patológicas críticas menores en cerebro, hígado, meninges y corazón (25).

Al ser ingerido, este se oxida en el organismo y se transforma en ácido oxálico, que a su vez se une con iones calcio para formar oxalato de calcio que precipita en los tubulos renales provocando lesiones y obstrucción que conduce a una anuria. También se han encontrado estos cristales en cerebro y medula osea (12) (24).

La dosis letal para el hombre, probablemente sea de 1 a 2 g/kg (69).

4. Eliminación de contaminantes del ambiente.

Una vez que un producto químico es descargado al ambiente, este puede ser removido por varios medios. evaporación, disolución, degradación fisicoquímica (50).

La mineralización o degradación completa de compuestos químicos orgánicos en ecosistemas naturales es principalmente debido a los microorganismos, dependiendo de las características estructurales de los compuestos químicos, son las responsables de que el ataque microbiano sea retardado o no tenga efecto, lo que puede llevar a su acumulación en el ambiente (41).

En cuanto a las reacciones abióticas de los compuestos químicos en el ambiente, los dos tipos de reacciones más importantes que involucran la transformación de contaminantes orgánicos en sistemas acuáticos naturales: son reacciones con nucleófilos (el más importante es el agua) y reacciones de oxidación-reducción.

Las reacciones nucleofílicas de sustitución, especialmente la hidrólisis, han sido extensamente caracterizadas para muchas clases de contaminantes.

Las reacciones redox, sin embargo, son complicadas por la diversidad de agentes reductores y mediadores de la reacción que pueden ser involucrados en reacciones redox abióticas y la participación directa de procesos mediados biológicamente en muchas clases importantes de reacciones de este tipo (46).

La oxidación química ha sido utilizada para tratar productos químicos orgánicos peligrosos y contaminantes , en solución acuosa. Los productos químicos oxidantes son relativamente no selectivos y pueden

llegar a oxidar otros compuestos presentes en los desechos, antes de oxidar el contaminante de interés. Por lo tanto este proceso se ha limitado a la aplicación sobre sistemas que puedan contener grandes cantidades de compuestos oxidables (50).

5. Los microorganismos en el control de desechos químicos.

Una de las principales diferencias entre los macroorganismos y los microorganismos, se puede apreciar en el metabolismo de compuestos químicos tóxicos, ya que estos últimos tienen la capacidad para mediar la mineralización de muchos compuestos químicos orgánicos tóxicos a dióxido de carbono y agua. Los microorganismos utilizan estos compuestos químicos como fuente de carbono y energía (50).

Como fue resaltado por Alexander, los microorganismos son de principal importancia para el cambio en la estructura de productos químicos introducidos en el suelo o en el agua.

Los tipos de transformaciones microbianas de los compuestos químicos orgánicos son:

a. Mineralización. Es el mas deseable, genera como productos de la degradación de compuestos orgánicos contaminantes, dióxido de carbono, agua, biomasa y posiblemente amonio.

b. Cometabolismo. Es un proceso por el cual los microorganismos en presencia obligada de un sustrato esencial para el crecimiento, transforma otro sustrato no esencial.

c. Acumulación celular. Se va acumulando el producto químico en la masa microbiana.

d. Una unión de compuestos xenobióticos al humus, que se puede

catalizar por enzimas microbianas (41).

Esta interacción de los microorganismos con los productos químicos ha sido explotada para el tratamiento de desechos municipales e industriales en instalaciones diseñadas para optimizar los procesos de degradación mediada por microorganismos. La misma capacidad degradativa utilizada para el tratamiento de desechos, se presenta en el ambiente (50).

6. Biodegradación de contaminantes ambientales.

Existe hoy en día cierta presión para la introducción de tecnología segura para el medio ambiente. La microbiología y biotecnología juegan un papel importante en el desarrollo de tecnologías para producir menos desechos y contaminantes. Esto puede llevarnos al uso de técnicas biológicas para el reciclado de compuestos de desecho y contaminantes (41).

La biodegradación, es la capacidad de los microorganismos de degradar compuestos orgánicos, y es uno de los procesos mas importantes que gobiernan el destino de un producto químico después de su descarga al ambiente (65). La biodegradación de contaminantes en el ambiente es un proceso complejo, de quien sus aspectos cuantitativos y cualitativos depende de la naturaleza y cantidad del contaminante presente, el ambiente y condiciones ambientales estacionales y la composición de la comunidad microbiana nativa (7). La meta sobre todas las cosas en biodegradación de desechos químicos orgánicos, es el tratamiento efectivo o minimización de residuos, utilizando procesos biológicos

(68).

La biodegradación, ha sido reconocida como un proceso significativo para la remoción de compuestos químicos del ambiente (16). Sin embargo, la biodegradación de desechos a gran escala no ha sido implementada (68). Existe una serie de obstáculos para la introducción de las tecnologías de biodegradación utilizando cepas especializadas. Una de ellas es el escepticismo en cuanto a que las cepas de laboratorio puedan sobrevivir en sistemas de tratamiento no estériles y otro argumento se refiere, que al momento de utilizar sistemas abiertos, puedan llegar cepas no inoculadas que causen desequilibrio de la cepa de interés. Sin embargo, esta tecnología tiene como ventajas que la afinidad al sustrato permite la remoción de xenobióticos en bajas concentraciones, reciclado de xenobióticos a compuestos naturales y bajo consumo de energía en comparación con los procesos fisico-químicos de remoción de desechos químicos (41).

La implementación y el éxito comercial de la biodegradación depende de la demostración de las ventajas técnicas o viabilidad económica, cuestiones legales y regulatorias, prioridades de negocios, cuestiones de mercado y consideraciones políticas y sociales (68).

Un ejemplo de la biodegradación es el control de la contaminación por hidrocarburos y la interconversión de estos, para propósitos industriales. Muchos investigadores han demostrado que existen microorganismos que degradan al petróleo, ubicuamente (19). Algunos microorganismos los cuales se ha probado su crecimiento en hidrocarburos, engloban a hongos por ejemplo del género *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp, dentro de las bacterias se pueden mencionar algunos géneros como *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Achromobacter* sp y *Flavobacterium* sp (19).

Ciertos microorganismos y notablemente los del género Pseudomonas sp., pueden cometabolizar varios compuestos xenobióticos que incluyen herbicidas como el dalapon. Otro grupo de bacterias, los actinomicetos, tienen la capacidad de atacar una amplia variedad de compuestos orgánicos complejos que incluyen: fenoles, piridinas, gliceridos, esteroides, compuestos aromáticos clorinados y no clorinados, parafinas y otros compuestos de cadena larga y hasta lignocelulosa (37).

Algunos investigadores se han dado a la tarea de aislar microorganismos en especial bacterias, de sistemas de lodos activados, para observar la biodegradación de compuestos específicos, como por ejemplo alquilbencen-sulfonato de sodio (2) y 4-clorofenol (5).

Por otra parte, se han realizado un sin número de trabajos de investigación con respecto a la biodegradación de compuestos orgánicos a nivel de laboratorio, que son potencialmente contaminantes ambientales. Dentro de otras investigaciones, se pueden mencionar: La biodegradación de queroseno por levaduras del género Saccharomyces sp. Rhodotorula sp. y Aureobasidium sp (54); biodegradación de alquilbencen-sulfonatos por una bacteria denominada Pseudomonas fluorescens (66); degradación de tolueno y tetracloruro de etileno por cepas bacterianas nativas de suelo contaminado con estos compuestos (22); degradación de compuestos aromáticos y anilina y sus derivados, por medio de bacterias aisladas de suelo (18) (42) (43).

Se han realizado algunas investigaciones sobre la remoción de contaminantes específicos, de efluentes industriales; dentro de estas podemos encontrar la investigación de Campos y col., que estudian la biodegradación de compuestos clorofenólicos en efluente de una industria papelera, utilizando una cepa de Pseudomonas sp (13). Por otra parte

estudio Ibarra y Rodríguez, aislaron una cepa de Pseudomonas sp. de suelos contaminados con pentaclorofenol y lo ensayaron en un cultivo en lote, utilizando como sustrato agua residual de una industria papelera (31). En otra investigación, se utilizó al hongo Geotrichum candidum en crecimiento tipo cultivo en lote y cultivo continuo sencillo y doble, a nivel de laboratorio, produciendo la remoción del 92 % de la carga de los desechos de una destilería (51).

En Europa la biofiltración, que es el uso de microorganismos adheridos en una fase sólida fija para la degradación de contaminantes, es un método de control de la contaminación reconocido y bien establecido. Se ha utilizado para el control de olores contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos y para compuestos volátiles de una gran variedad de industrias y fuentes del sector público (63).

Manem y Rittman (1992), cuantifican la remoción de compuestos fenólicos clorinados y bencenos, en un experimento de simulación de un filtro biológico, utilizado en el tratamiento de agua potable (47).

En Monterrey , N.L., se utiliza actualmente un proceso de biodegradación a nivel industrial de remoción de contaminantes del aire, llamado Biocyd; el cuál tiene la función de remover ácido sulfhídrico, dióxido de carbono o compuestos orgánicos volátiles de una corriente gaseosa. Predominando los organismos heterotróficos, que utilizan a estos contaminantes como única fuente de carbono (63).

7. Tratamiento biológico del agua residual.

El tratamiento biológico de las aguas residuales es un ejemplo

clásico de procesos a gran escala que han tenido éxito en un área vital de la biotecnología y ésta es la resultante de la aplicación coordinada de la ingeniería y la microbiología. Existe un vasto campo de sistemas biológicos de tratamiento de uso corriente en la purificación de aguas residuales industriales y domésticas.

Los procesos de tratamiento biológicos se han considerado en términos de dos clases principales de sistemas que se han desarrollado. Son los sistemas de crecimiento en suspensión, como los procesos de lodos activados y los sistemas de crecimiento adherido, como son los biofiltros (70).

El tratamiento biológico de las aguas residuales se basa en el proceso aparentemente simple en el que una población mixta de microorganismos utiliza como nutrientes sustancias que contaminan el agua. Este es el mecanismo por el cuál las corrientes de aguas naturales, como lagos y ríos, se autopurifican.

En los procesos naturales, los solutos se eliminan principalmente por descomposición, por lo general oxidación, por metabolismo microbiano y conversión en material celular.

En el tratamiento de residuos, son bien recibidos casi todos los organismos que contribuyen a la remoción del sustrato y estos tienden a ser autoselectivos (70). Este proceso involucra la intervención de organismos de tipo eucarionte como las algas y los hongos y de tipo procarionte como las bacterias. Estos microorganismos se encargan de transformar porciones considerables de materia orgánica disuelta de fácil degradación a sólidos biológicos de rápida sedimentación (45).

El tratamiento biológico de aguas residuales conteniendo bajas concentraciones de contaminantes, es típicamente una de las tecnologías

más eficientes y con mejor relación costo beneficio, de tratamiento de desechos, disponible para la industria. Sin embargo, cuando se presentan sustancias tóxicas, recalcitrantes o difíciles de degradar, los tanques aereados que contienen una población mixta aclimatada, no alcanzan a tener una buena eficiencia de remoción de contaminantes (6).

8. Bioremediación.

La bioremediación es una tecnología en la cual se emplean microorganismos para desintoxicar (sic) o destruir desechos contaminantes (15), y representa uno de las técnicas considerada dentro del grupo de tecnologías limpias (29).

La bioremediación es una tecnología bastante reciente. A pesar de que en laboratorios de investigación se ha logrado identificar microorganismos que degradan casi todos los productos orgánicos en pequeña escala, y si se les deja suficiente tiempo; a escala industrial las aplicaciones han sido limitadas (15).

La conceptualización del término bioremediación fué desarrollada para los procesos donde los desechos orgánicos son biológicamente degradados bajo condiciones controladas hasta un estado inócuo, en la actualidad, en términos relativos toma un significado distinto, particularmente como una potencial, efectiva y no muy costosa tecnología de descontaminación (44).

Este término ha sido manejado para describir el proceso por el cuál el uso de organismos vivientes (en conjunto o independiente del empleo de otras tecnologías) son empleados para la descontaminación efectiva de sistemas contaminados. En muchos casos se utilizan

bacterias, sin embargo, también se han utilizado hongos y plantas.

Una ventaja de la bioremediación es que este proceso puede ser utilizado sobre el sitio contaminado con un mínimo de equipo y espacio, como es el caso de suelos contaminados (49).

La tecnología de remediación in situ esta emergiendo de la etapa experimental hacia una tecnología probada. La biodisponibilidad es uno de los factores el cual ayuda a un proceso óptimo de biodegradación (64).

Para la bioremediación se ha propuesto inocular con bacterias degradadoras de contaminantes; esta inoculación involucra la introducción de microorganismos en ambientes naturales para incrementar la velocidad y la extensión de la biodegradación de contaminantes (7).

El uso de bacterias metanotróficas para el tratamiento de agua subterránea contaminada, es un método de bioremediación alternativo a los metodos fisicotérmicos destructivos (61).

En muchos casos el control de contaminantes del aire por medio de microorganismos, utilizando tecnología de bioremediación, representa la mejor relación costo-beneficio. Los microorganismos son usados para el control de emisiones al aire en tres tipos de dispositivos, biofiltros, filtros percoladores y bioscrubbers.

Los biofiltros se han usado para el control de olores y compuestos orgánicos volátiles en aire contaminado. Se han utilizado lechos empacados y lechos de suelo en plantas de tratamiento de agua residual, para el control de olores asociados al ácido sulfhídrico, terpenos, mercaptanos y otros compuestos (7).

Los contaminantes más comunmente tratados por remediación son:

a. Mezclas complejas tales como aceite crudo, aceite combustible

pesado, queroseno y carbón mineral.

b. Mezclas restringidas tales como solventes, explosivos y preservadores de madera.

c. Desechos diversos sujetos a disposición (29).

9. Estudio de biodegradación de glicoles.

Bond y Straub (1974); presentan un estudio de biodegradación de dietilenglicol, utilizando como parámetro de medición la demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Encontraron que en un sistema de lodos activados se removió el 40 %, cuando se alimentó 333 ppm de dietilenglicol; mientras que en un sistema con agua de río, se presentó una remoción de 20 % de DBO, cuando se alimentó con 50 ppm de dietilenglicol (10).

En 1975, Haines y Alexander; estudiaron la degradación microbiana del polietilenglicol, utilizando microorganismos de suelo. Observaron la degradación de mono, di, tri, tetra y polietilenglicoles. Ellos utilizaron una cepa de Pseudomonas aeruginosa, determinando el grado de biodegradabilidad mediante la medición de la variación en la demanda bioquímica de oxígeno (28).

Kaplan y colaboradores (1981), ensayan la biodegradabilidad de cuatro glicoles derivados de los correspondientes esteres de nitrato. Concluyeron que el polietilenglicol fué fácilmente degradado bajo una gran variedad de cultivos, mientras que el dietilenglicol y trietilenglicol no fueron fáciles de biodegradar (32).

Grant y colaboradores (1983), trabajaron con una cepa de Alcaligenes faecalis que tenía la capacidad de degradar tres esteres de glicol y

varios detergentes no iónicos. Para el estudio de esta bacteria, se le hizo crecer en un medio mínimo con etilenglicol, otros glicoles de cadena corta y polietilenglicol, como fuente de carbono (26).

King y Painter (1983), consideran al dietilenglicol como un candidato potencial para usarlo en la validación de alguna modificación del método de biodegradabilidad. Ellos utilizan un método manométrico de respirometría para medir la biodegradabilidad de productos químicos en el agua (35).

En un experimento Dwyer y Tiedje (1983), obtuvieron un cultivo metanogénico capaz de degradar polietilenglicol y etilenglicol, de lodo de agua residual. Los rangos de degradación de etilenglicol, dietilenglicol y polietilenglicol, tienen una relación inversa al número de monómeros de óxido de etileno por mol, obteniendo rangos de degradación de 0.13 a 0.84 μ de unidades de óxido de etileno por hora (20).

De Fluvio y colaboradores (1985), miden la biodegradabilidad de compuestos orgánicos no volátiles, entre ellos el dietilenglicol, bajo condiciones anaeróbicas en un medio preparado de agua de mar, mostrando un 75 % de degradación (17).

Una investigación llevada a cabo por Schoeberl (1985), demostró que el catabolismo de dietilenglicol y trietilenglicol por Pseudomonas fluorescens, involucra dos vías metabólicas (56).

En un estudio del metabolismo del etilenglicol, dietilenglicol y tetraetilenglicol por un aislado de Alcaligenes glycoovorans, realizado por Schoerbel (1986), se encontró que el etilenglicol es convertido a malato y piruvato, mientras que el dietilenglicol es convertido a glioxilato antes de entrar a los ciclos del ácido dicarboxílico y tricarboxílico

(57).

Lee y colaboradores (1986), aislaron una cepa bacteriana capaz de utilizar polietilenglicol como única fuente de carbono, y fué identificada como Micrococcus sp. Esta cepa se aisló de suelo y agua residual de una industria. Presentó alta actividad en cuanto a biodegradación, llevando una biodegradación completa a las 72 h con una concentración de polietilenglicol de 0.2 (peso/volumen) (40).

Dos cepas bacterianas aisladas por Dwyer y Tiedje (1986), presentaron capacidad para degradar polietilenglicol, se obtuvieron de cultivos enriquecidos de digestores de lodos de agua residual municipal. Utilizaron para su estudio una cepa de Desulfovibrio desulfuricans que metaboliza oligómeros de glicoles, etilenglicol, dietilenglicol, trietilenglicol y tetraetilenglicol. Otra cepa que metaboliza desde dietilenglicol hasta polietilenglicol, se identificó como Bacteroides sp. (21).

Se logró fermentar alkiletóxilatos (éteres alquilo de polietilenglicol) completamente hasta metano y dióxido de carbono, en un estudio realizado por Wagener y colaboradores (1988). Los cultivos se inocularon con lodos anóxicos, se aislaron dos cepas bacterianas degradadoras de polietilenglicol, que degradaban completamente polímeros con peso molecular de 1000. Se identificaron las cepas como Pelobacter propionicus y Acetobacterium sp. (67).

Battersby y Wilson (1989), se dieron a la tarea de examinar la degradación potencial de 77 compuestos químicos orgánicos en condiciones metanogénicas, con un digestor de lodos anaeróbicos. Entre otros compuestos, se observó la degradación de etilenglicol, dietilenglicol y tetraetilenglicol, lograndose completamente cuando la concentración inicial fué de 50 mg/l. La biodegradación fué medida en terminos de gas

total (metano y dióxido de carbono) (8).

En una evaluación aeróbica de dietilenglicol en biofilms sobre polipropileno como medio de soporte, los bioreactores mostraron una biodegradación de 1 g de dietilenglicol/dm³, en las primeras dos etapas. Se logró una degradación de 0.015 g/dm³ al realizar tres etapas de degradación, al tener una concentración inicial de 3 g de dietilenglicol/dm³ (Gvozdzyak,1990) (27).

Sedina e Ivanov (1991), analizaron una mezcla de bacterias con capacidad de degradar al dietilenglicol. En cultivos puros, se identificaron cepas bacterianas de los generos Alcaligenes sp., Mycobacterium sp., Rhodococcus sp. y Achromobaacter sp. Se estableció que el catbolismo del dietilenglicol sigue la ruta metabólica del glicolato. La bacteria con mayor actividad degradadora se identificó como Alcaligenes paradoxus (58).

En un estudio sobre un proceso nuevo de biotratamiento para desechos de glicoles, Raja y colaboradores (1991), manejan un proceso microbiológico por medio del cuál obtuvieron una remoción de más del 90 % en terminos de DBO/DQO (52).

Kilroy y Gray (1992), evaluaron a escala de planta piloto la tratabilidad del etilenglicol mediante lodos activados. Concluyeron que concentraciones de etilenglicol de 0.1 % en los influentes de la planta si eran tratables, mientras que concentraciones mayores, lograban alterar la eficiencia de degradación de los microorganismos (34).

Sedina (1992), aisló una cepa bacteriana, la cuál puede utilizar dietilenglicol como única fuente de carbono y se obtuvo de una planta de tratamiento de agua de drenaje. Esta cepa se identificó como Pseudomonas pulida. Encontró que las concentraciones de dietilenglicol óptimas para su crecimiento estan en el rango de 5 a 40 g/l (59). En otra investigación,

estudia la destrucción del dietilenglicol y el etilenglicol por Pseudomonas pulida en un cultivo tipo batch. Utilizó una concentración de dietilenglicol de 209 mg/l. El rango específico de crecimiento de biomasa en la región de sustrato limitante, depende de la concentración de dietilenglicol en el medio y sigue la ecuación de Monod. El rango específico de crecimiento del cultivo es independiente de la concentración de etilenglicol en el medio, dentro de un rango de 0.08 a 10 g/l (60).

Larson y colaboradores (1992), reportan un método de ensayo para estimar la biodegradación de ciertos compuestos, principalmente polímeros en agua. Este método se aplica para etilenglicol, dietilenglicol y polietilenglicol, en sistemas de poca biomasa. El método involucra la aclimatación de microorganismos al material de ensayo en un minisistema continuo de lodos activados, seguido por la determinación de dióxido de carbono en un medio mineral de sales utilizando una dilución del inóculo microbiano (38).

Torres (1994), reporta cepas de microorganismos aislados de suelo previamente expuesto a compuestos químicos, capaces de degradar al etilenglicol, en un ensayo a nivel de matraz utilizando medio sintético, con una concentración de etilenglicol 0.077 M (62).

MATERIAL Y METODO

1. Obtención de muestras.

Para el aislamiento de los microorganismos se utilizó una muestra de suelo, previamente expuesta a productos químicos, además se utilizó agua residual industrial, la cual se tomó directamente del drenaje.

2. Método de aislamiento de microorganismos.

Para el aislamiento de microorganismos, de muestra de suelo, en un frasco de dilución de 100 ml de capacidad, se suspendieron 10 g de suelo en 90 ml de agua destilada, se agitó fuertemente por cinco minutos, de esta suspensión se realizaron diluciones decimales seriadas. Se depositó 1 ml de cada dilución a cajas de petri estériles, sembrándose por difusión con 15 ml de agar sales dietilenglicol fundido a 45°C. Posteriormente, una vez solidificado el medio, se incubaron a 30°C ± 2°C durante 72 h (39). Las colonias que se reprodujeron en el medio, fueron aisladas por separado en el medio antes mencionado, tomando con un asa bacteriológica las colonias individuales e inoculándolas en cajas de petri esteriles que contenían 15 ml de medio sólido, luego fueron incubadas a 30°C ± 2°C por 72 h. Estas cepas se conservaron realizando resiembras periódicas cada dos meses en medio agar sales dietilenglicol y se mantuvieron a 4°C para su mantenimiento y su posterior uso.

En el aislamiento de microorganismos de muestra de agua residual, se tomó una muestra de agua con el asa bacteriológica y se inoculó en

cajas de petri estériles, que contenían 15 ml de medio sólido agar sales dietilenglicol. Se incubaron a $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 h. Las cepas obtenidas se mantuvieron a 4°C para su mantenimiento y su posterior uso.

El medio de aislamiento seleccionados para el crecimiento de microorganismos capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono, fué el medio sales dietilenglicol (1).

KH_2PO_4	1.00 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.20 g/l
NaCl	0.30 g/l
CaCl_2	0.10 g/l
FeCl_3	0.02 g/l
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.00 g/l
Extracto de levadura	1.00 mg/l
pH	7.00
Agar	8.00 g/l
Dietilenglicol	5.00 g/l

El dietilenglicol se agregó después de esterilizarse a 121°C por 15 minutos.

3. Selección de cepas.

El criterio seguido para la selección de las cepas de importancia para este trabajo, fué el de el rendimiento en producción de biomasa en el medio mínimo con dietilenglicol como única fuente de carbono, basandonos en la técnica de peso seco que a continuación se describe.

Cada una de las cepas puras y cultivos mixtos obtenidos en el

aislamiento, se inocularon en matraces erlenmeyer de 250 ml de capacidad, conteniendo 50 ml de caldo sales dietilenglicol. Se incubaron a $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ a 60 rpm, por 84 h. Luego se filtró el medio inoculado a través de un filtro Millipore de $0.45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro (previamente secado hasta peso constante) en un equipo de filtración Millipore, en condiciones de vacío. Se secó el filtro conteniendo la muestra, hasta peso constante en una estufa a 121°C , y el peso seco se obtuvo mediante la diferencia de pesos del filtro con la muestra y el filtro sin la muestra (5).

4. Determinación de la cinética de crecimiento a nivel de matraz.

Cada una de las cepas seleccionadas (cepa pura o cultivo mixto), se inoculó en un matraz erlenmeyer de 250 ml de capacidad conteniendo 50 ml de medio. Se incubaron a $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con una agitación de 60 rpm por un tiempo de 24 h. Posteriormente se realizaron dos pases subsecuentes inoculando 1 % v/v del medio inoculado con 24 h de incubación a un matraz con medio sin inocular. Después de un tercer pase, se comenzó a determinar la cinética de crecimiento, inoculando series de siete matraces de 250 ml conteniendo 50 ml de medio, por cada cepa. Se tomaron lecturas cada 12 h, se monitoreó mediante la utilización de dos técnicas que a continuación se describen:

a) Cuenta viable en placa. Del medio de cultivo inoculado se tomó un mililitro de muestra y se realizaron diluciones decimales seriadas hasta 10^4 . Se tomó un ml de cada una de las tres últimas diluciones y se vació en cajas de petri estériles. Posteriormente se les agregó 15 ml de medio sólido, para sembrar por difusión. Se incubaron las cajas inoculadas a

30°C ± 2°C. Por último se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro en un contador de colonias SOLBAT.

b) Densidad óptica (esta determinación se realizó para las cepas seleccionadas que no presentaron formación de aglomerados celulares en exceso en medio líquido). De los matraces inoculados se tomó una porción de la muestra, en la celda del espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER modelo 340, y se procedió a tomar la lectura de absorbancia a 550 nm (longitud de onda obtenida por un análisis previo de la comparación de absorbancia del medio de cultivo solo, contra medio de cultivo inoculado a través de diferentes longitudes de onda, desde 330 hasta 1000 nm).

Otro parámetro que se determinó a través del desarrollo de la cinética de crecimiento, fué la medición del pH mediante un potenciómetro marca Corning modelo 10.

5. Determinación de la curva de biodegradabilidad.

Durante el crecimiento de las cepas, se determinó la concentración de dietilenglicol remanente, mediante un análisis cromatográfico, utilizando un cromatógrafo de gases marca Shimadzu modelo GC-154, con una columna DB-5 (30 m x 0.32 mm) .Tomando muestras cada 12 h durante las 72 h que abarcó el seguimiento de la cinética. La cepa con el mayor grado de remoción del dietilenglicol, fué seleccionada para la fase posterior de este trabajo, que fué la determinación de la remoción del dietilenglicol en agua residual industrial.

6. Cinéticas preeliminares sobre agua residual industrial.

Se desarrollaron cinéticas de crecimiento de la cepa seleccionada en el punto anterior, utilizando como medio de cultivo agua residual, donde se utiliza al dietilenglicol como agente suavizador de empaques de celofán. Esta agua residual se tomó directamente de la tubería del drenaje de las tinas de proceso. Para la determinación de las cinéticas utilizando el agua residual, a esta última no se le adicionó algún nutriente. Las cinéticas preeliminares se desarrollaron a nivel de matraz y a nivel de reactor biológico.

a. Cinética preliminar a nivel de matraz.

El desarrollo de ésta cinética fué similar a las determinadas sobre medio de cultivo sintético, utilizando los mismos parámetros; medición del pH, cuenta viable en placa, determinación de dietilenglicol remanente por cromatografía de gases y densidad óptica a 400 nm (para la medición de este parámetro, se realizó un análisis de comparación de absorbancia del agua residual sin inocular contra un agua residual inoculada, a diferentes longitudes de onda, desde 330 hasta 1000 nm).

b. Cinética preliminar a nivel de reactor biológico.

Esta cinética, se desarrolló en un microfermentador New Brunswick Scientific, utilizando un contenedor de vidrio con 14 l de capacidad, al

cual se le agregó 7 l de agua residual industrial como medio de crecimiento. Este sistema se manejó en condiciones no estériles, con una temperatura de 31°C, 60 rpm , con una aereación de 1 cc/min. La duración de la cinética fué de 72 h, midiendo los parámetros mencionados en el punto anterior.

7. Evaluación de la variación del pH sobre la remoción de dietilenglicol a nivel de reactor biológico.

Se desarrollaron cinéticas de crecimiento y biodegradación del dietilenglicol, a nivel de reactor biológico utilizando como medio de cultivo agua residual industrial. En condiciones no estériles, con una temperatura controlada de 31°C, 60 rpm, con una aereación de 1 cc/min y variando las condiciones de pH en las diferentes cinéticas realizadas, se manejaron tres condiciones de pH, ácido (4.5), neutro (7.0) y básico (8.0).

En esta etapa de la investigación, al igual que en el ensayo preeliminar a nivel de reactor biológico, se incluyó la determinación de un parámetro que nos determina el grado de biodegradación, pero a un nivel más general en comparación con la determinación específica de la concentración de dietilenglicol por medio del uso de cromatografía de gases. Esta determinación se llevo a cabo al inicio de cada uno de los ensayos y a las 36 h de incubación, las muestras se tomaron del reactor y fueron centrifugadas a 2,500 rpm por 15 minutos, para eliminar el crecimiento microbiano, por lo que las determinaciones se realizaron de los sobrenadantes siguiendo la tecnica estandarizada (23).

RESULTADOS

A partir de dos muestras de suelo, expuestas previamente a productos químicos y una muestra de agua residual, se lograron aislar un total de seis cepas puras y siete cultivos mixtos capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono, cuando se utilizó medio mínimo con sales y dietilenglicol, para su aislamiento. La mayor parte de estas cepas, se aislaron de suelo y solo una mezcla de microorganismos se aisló de la muestra de agua residual. Las claves de las cepas y sus características se muestran en las tablas 1 y 2.

Se encontró que al momento de propagar estas cepas en medio líquido con sales y dietilenglicol, que una cepa pura y dos cepas de cultivo mixto de microorganismos, presentaron el mayor rendimiento de producción de biomasa (Gráficas 1 y 2). Por lo que estas cepas se seleccionaron para su análisis de biodegradación de dietilenglicol, a nivel de matraz, siendo las cepas seleccionadas: RC-004, RCM-003 y RCM-007 (Gráfica 3)

Las cepas seleccionadas presentaron las siguientes características:

RC-004. Bacteria con forma de bacilo, tinción de Gram positiva. Aislada de suelo expuesto previamente a compuestos químicos.

RCM-003. Mezcla de bacterias, de tipo actinomiceto, tinción de Gram positiva, bacterias con forma de cocos, tinción de Gram positiva. Estas bacterias fueron aisladas de suelo previamente expuesto a compuestos químicos.

RCM-007. Mezcla de bacterias. Bacterias con forma de bacilos pequeños, tinción de Gram negativa, bacilos gruesos de tamaño regular, tinción de Gram negativa, bacilos largos delgados tinción de Gram negativa, bacilos gruesos de tamaño regular tinción de Gram positiva. Esta mezcla de bacterias se aisló de la muestra de agua residual.

En las gráficas 4, 5, 6 y 7 se muestran los comportamientos de las cepas seleccionadas, en cuanto a crecimiento y pH. Una de las diferencias mas notables, entre estas gráficas de las tres cepas, a parte del grado de crecimiento de la cepa RCM-007, lo representa la tendencia del pH a través del tiempo en el que se desarrolla la cinética de crecimiento. En las cepas RC-004 y RCM-003, se puede decir que prácticamente no existe variación de pH, mientras que en la gráfica de la cepa RCM-007 si existe una notoria variación.

Para la determinación de la biodegradación del dietilenglicol, se desarrollo una curva de calibración para su comparación con los resultados obtenidos en cromatografía de gases, transformando estos resultados a concentración de dietilenglicol en partes por millón. Los resultados corregidos, al realizar un análisis de regresión lineal, se muestran a continuación:

Concentración de dietilenglicol ppm	Area
2,000	1'004,104
4,000	2'008,208
6,000	3'012,313
8,000	4'016,417
10,000	5'020,522

La curva de calibración se muestra en la gráfica número 8, presento una correlación de 0.9994, lo que significa que presenta un rango de correlación confiable.

Dentro de los análisis de biodegradación a nivel de matraz y utilizando agua residual como medio de cultivo, se presentó lo siguiente: La cepa RC-004 logró degradar una concentración de dietilenglicol de 7,500 ppm hasta 5,740 ppm, obteniendo un 23.46 % de remoción (Gráfica 9), la cepa RCM-003, logró degradar de una concentración de 7,500 ppm a una concentración de 5,130 ppm, obteniendo un 31.6 % de remoción de dietilenglicol (Gráfica 10), mientras que la cepa RCM-007 degradó de una concentración de dietilenglicol de 7,500 ppm a una concentración de 4,520 ppm, lo que representó una remoción del 39.73 % (Gráfica 11). Observando que la cepa RCM 007 obtuvo el mayor grado de remoción de dietilenglicol, se utilizó esta cepa para la parte experimental de remoción del dietilenglicol de agua residual industrial,

que se llevó a cabo en el reactor biológico.

En las gráficas 12, 13, 14 y 15, se muestran los comportamientos en cuanto a crecimiento, pH y remoción de dietilenglicol, de los ensayos preeliminares a nivel de matraz y de reactor biológico, utilizando agua residual como medio de cultivo. En los dos ensayos se muestra un comportamiento similar, obteniendo grados de remoción de dietilenglicol del 46.87 % a nivel de matraz y del 48.57 % a nivel de reactor biológico, notándose una tendencia del pH de variar desde un valor ácido, de alrededor de 4.5 hasta un valor básico de alrededor de 9.

Al cuantificar el efecto de la variación del pH sobre la remoción de dietilenglicol a nivel de reactor biológico, sobre agua residual industrial (Tabla 3 y gráfica 22), por la cepa RCM-007 (Gráfica 16), se encontró que esta cepa logró remover después de 72 h de incubación a un pH ácido de 4.5, 2,400 ppm de dietilenglicol de una concentración inicial de 4,000 ppm, lo que representa una remoción del 60 % (Gráfica 17). A un pH neutro (pH 7, Gráfica 18), logró remover 4,100 ppm de dietilenglicol de una concentración inicial de 5,700 ppm, representando un 71.9 % de remoción (Gráfica 19). Y con un pH de 8 (Gráfica 20), se logró remover de 4,400 ppm, lo que representa un 75.8 % de remoción (Gráfica 21).

Dentro de los análisis de biodegradación a nivel general, mediante las determinaciones de la demanda química de oxígeno (DQO, Tabla 4), se encontró que para el ensayo preliminar a nivel de reactor biológico, existe una disminución de los valores de DQO de 10,970 a 8,883 ppm, ésta

disminución significa la eliminación de un 19 % del DQO. En los ensayos a nivel de reactor biológico y con el pH controlado, se observa que para el ensayo con pH de 4.5 se eliminan 13,463 ppm de DQO, esto representa una eliminación del 28 % de DQO. Para el ensayo con pH de 7, se observó una disminución del DQO de 38,900 ppm a 27,230 ppm, que representa un 30 % de eliminación del DQO. Mientras que para el ensayo realizado con un pH de 8, la concentración de DQO disminuye de 23,393 ppm hasta 9,747 ppm, representando una disminución del 58.33 % (Gráfica 23).

CEPA	CARACTERISTICAS
RC-001	Bacterias filamentosas tipo actinomiceto Gram +.
RC-002	Bacterias con forma de cocos Gram +.
RC-003	Bacterias filamentosas tipo actinomiceto Gram +.
RC-004	Bacterias con forma de bacilos Gram +.
RC-005	Bacterias con forma de cocos Gram +.
RC-006	Bacterias filamentosas tipo actinomiceto Gram +.

Tabla 1. Cepas puras aisladas, capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono.

Tabla 2. Cultivos mixto de bacterias, capaces de utilizar al dietilenglicol como única fuente de carbono.

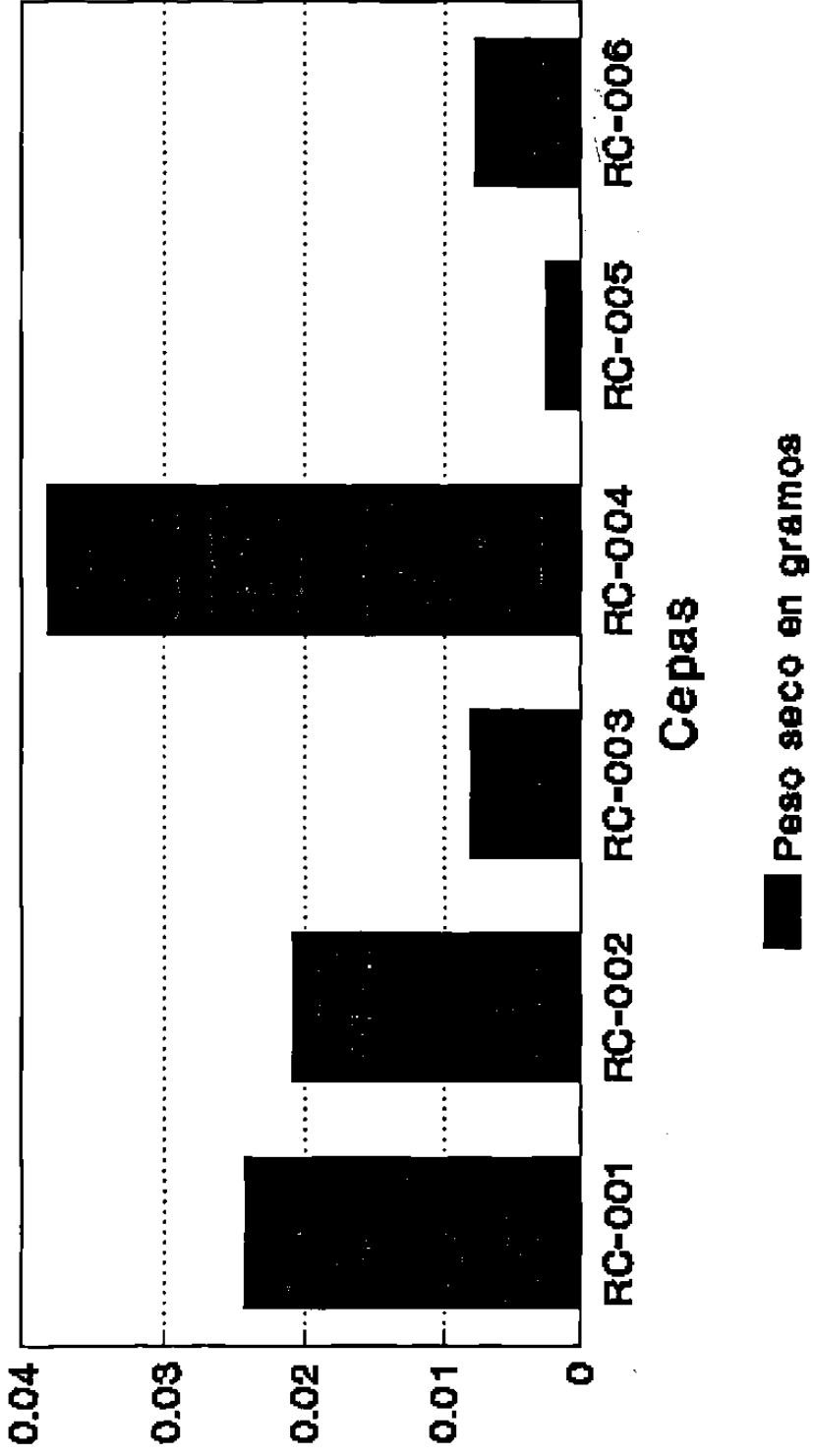
MEZCLA	MICROORGANISMOS
RCM-001	Cocos Gram + y bacilos Gram +.
RCM-002	Cocos Gram + y actinomicetos Gram +.
RCM-003	Cocos Gram + y actinomicetos Gram +.
RCM-004	Cocos Gram + y actinomicetos Gram +.
RCM-005	Cocos Gram + y actinomicetos Gram +.
RCM-006	Bacilos Gram -, bacilos Gram + y actinomicetos Gram +.
RCM-007	Bacilos Gram + y bacilos Gram -.

Tabla 3. Porcentaje de remoción de dietilenglicol en los distintos ensayos de pH controlado, a nivel de reactor biológico.

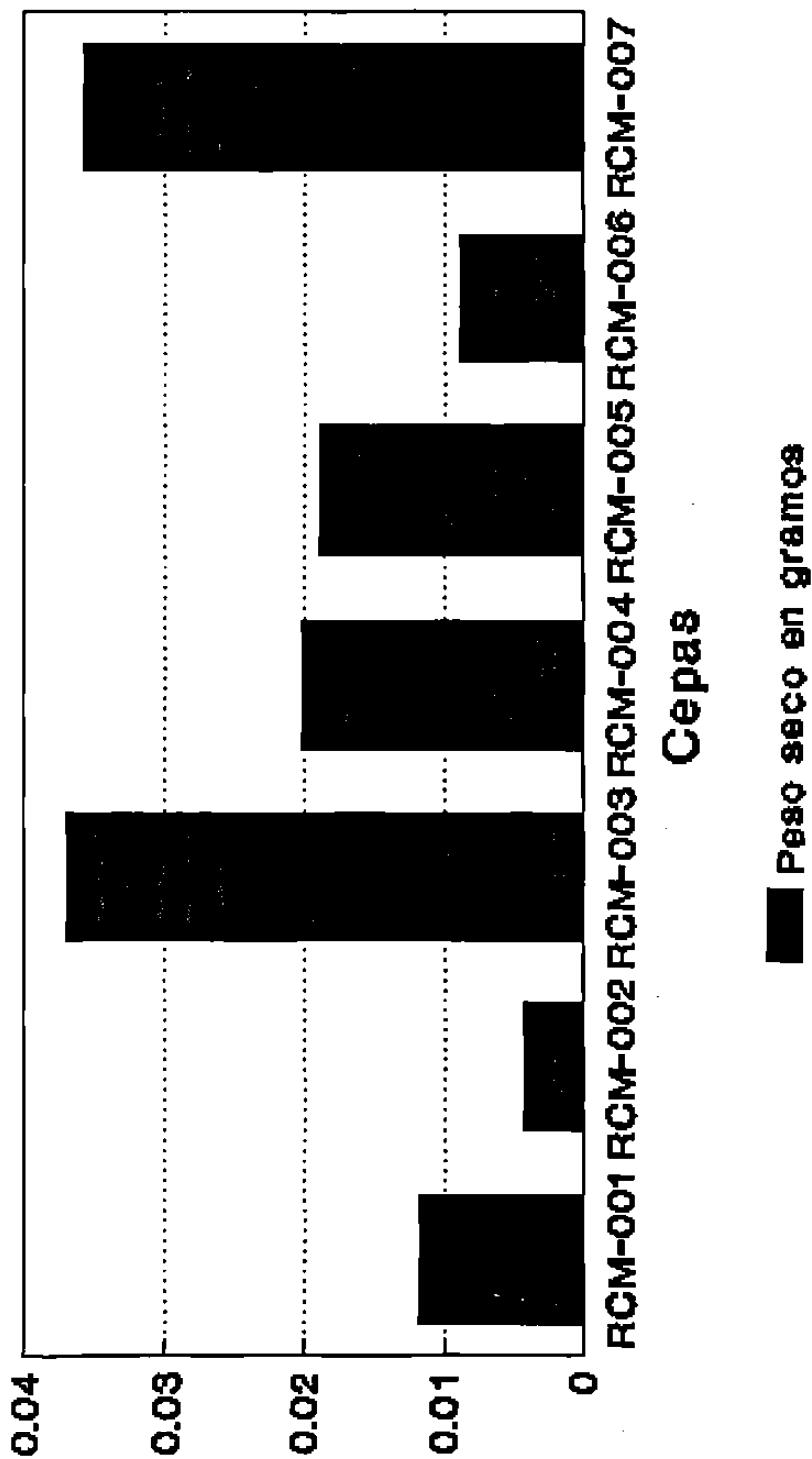
pH	DEG * ppm		% DE REMOCION
	0 h	72 h	
4.5	4,000	1,600	60.00
7.0	5,700	1,600	71.90
8.0	5,800	1,400	75.86

Tabla 4. Porcentaje de remoción de DQO en los distintos ensayos de pH controlado, a nivel de reactor biológico.

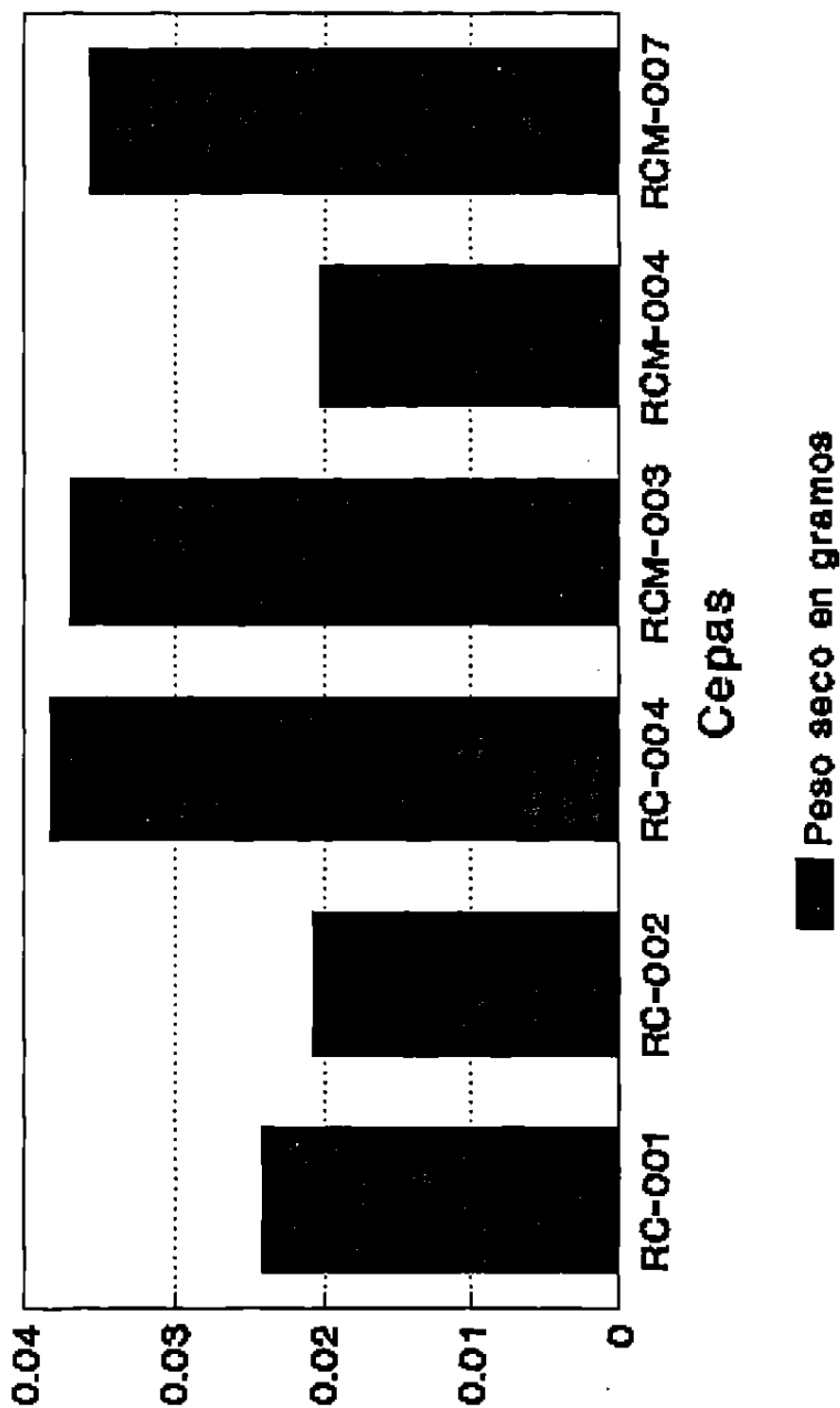
pH	DQO ppm		% DE REMOCION
	0 h	36 h	
4.5	48,080	34,617	28.00
7.0	38,900	27,230	30.00
8.0	23,393	9,747	58.33



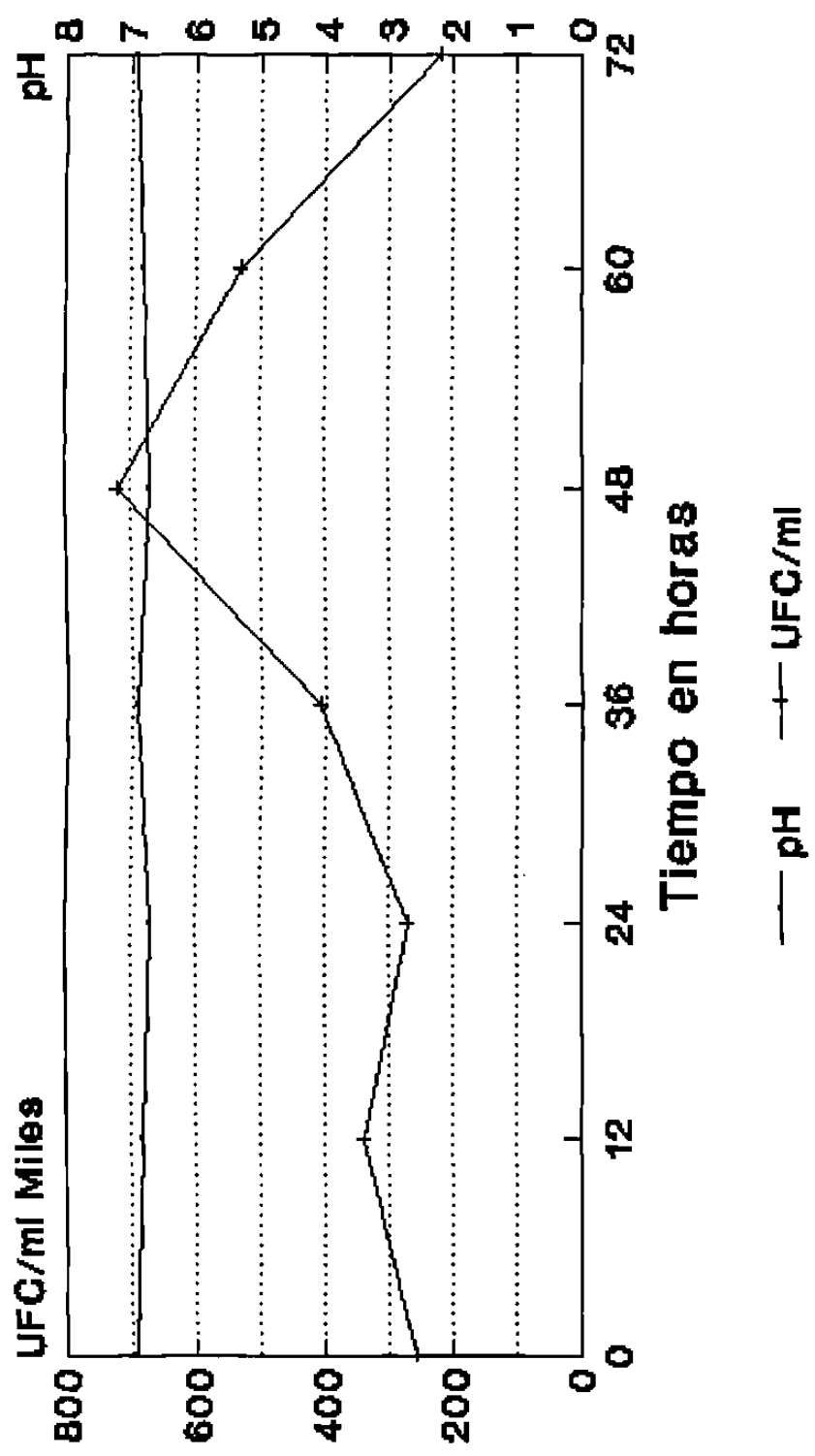
Gráfica 1. Producción de biomasa a 84 h de incubación de las cepas puras de microorganismos aislados.



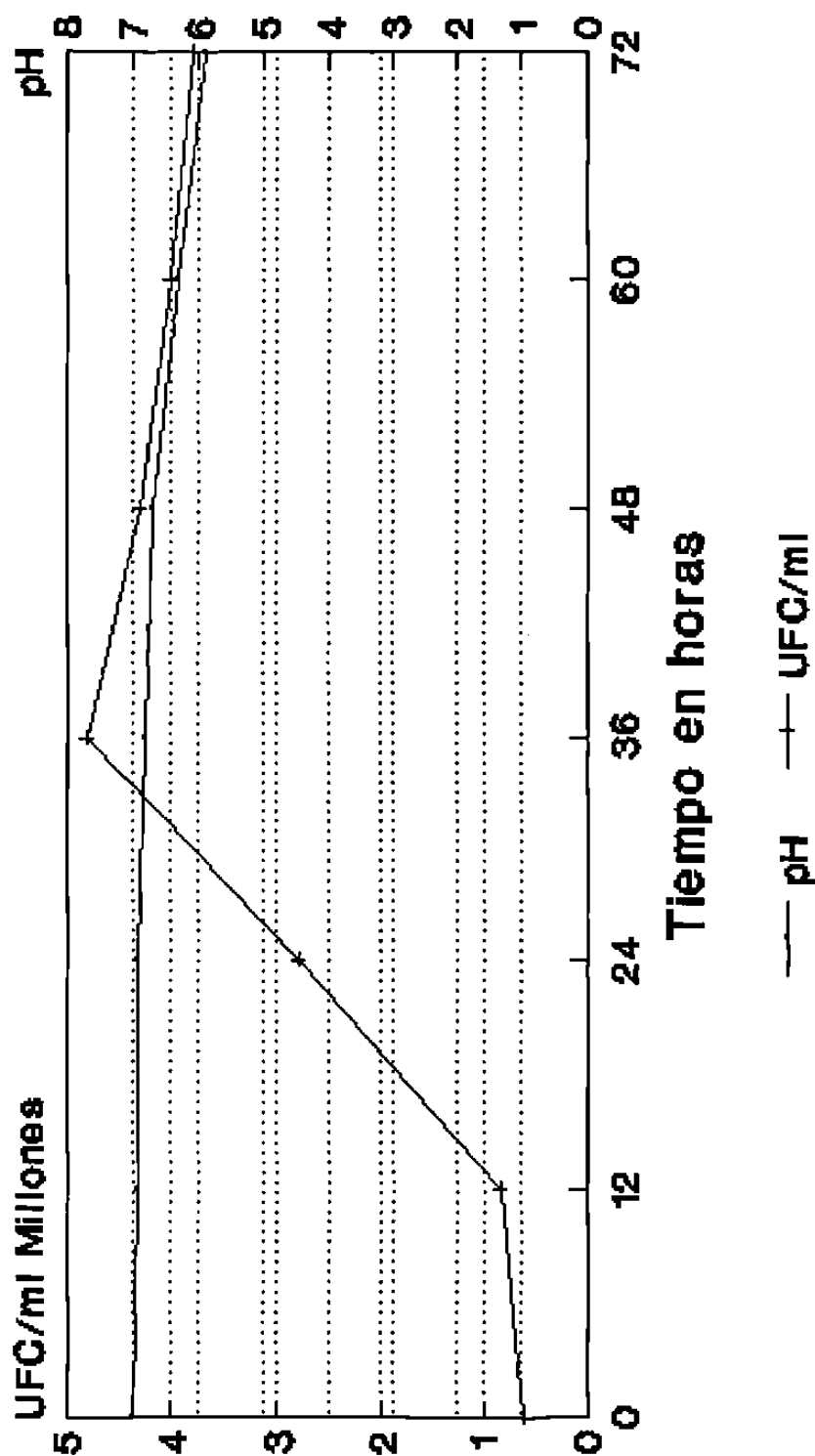
Gráfica 2. Producción de biomasa a 84 h de incubación de los cultivos mixtos microbianos aislados.



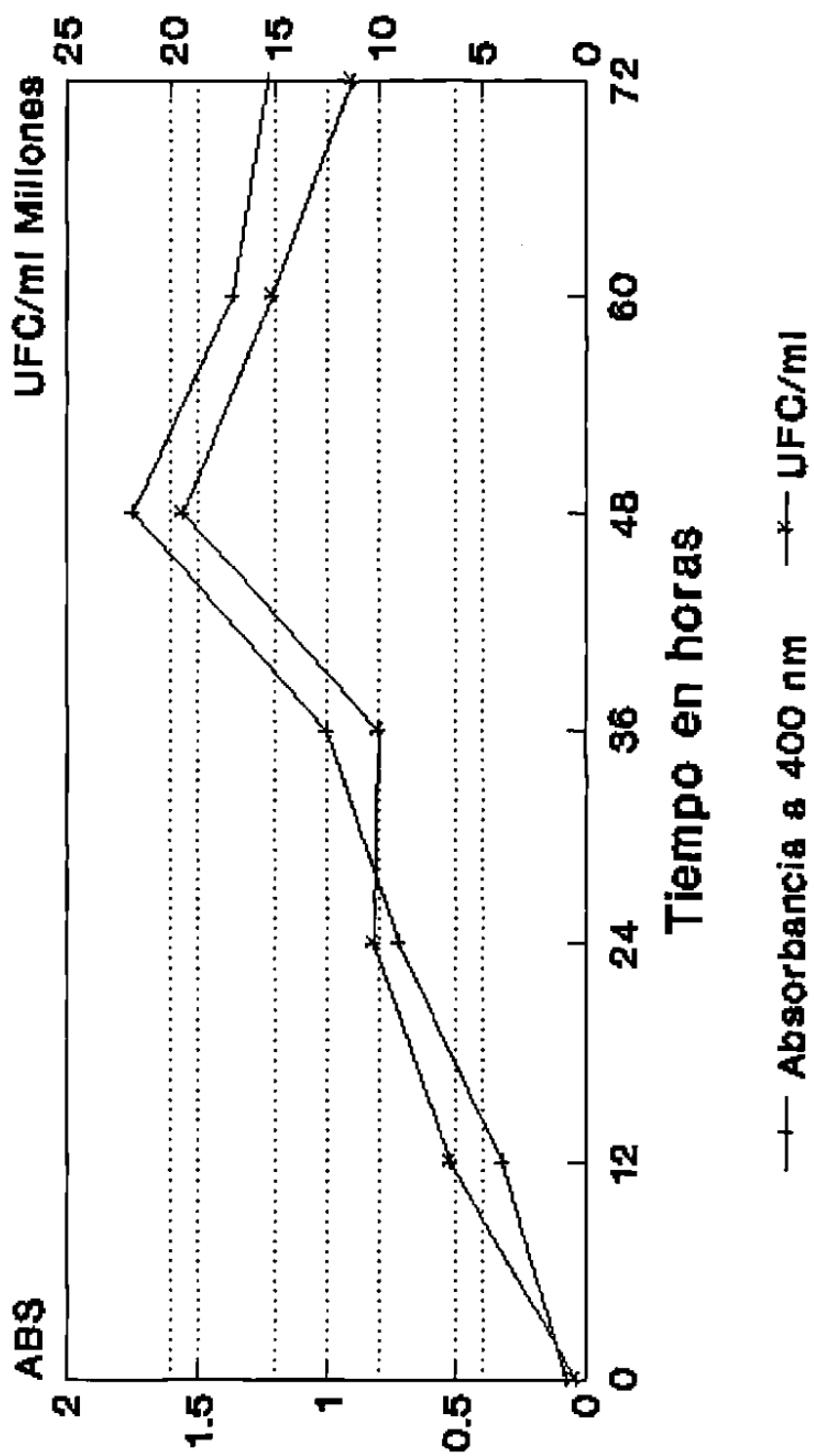
Gráfica 3. Cepas con mayor producción de biomasa a 84 h de incubación.



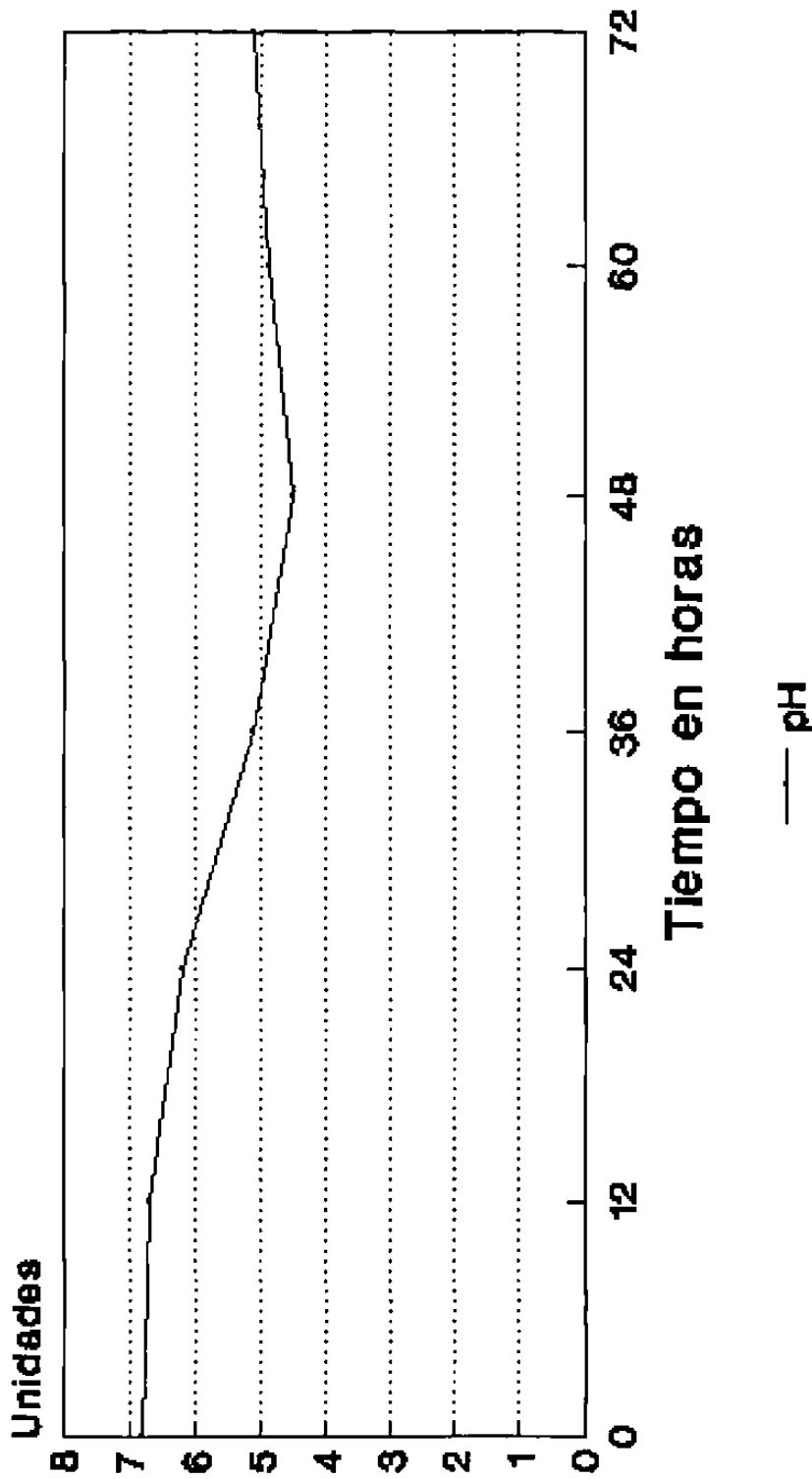
Gráfica 4. Curva de crecimiento y medición de pH de la cepa RC-004 a nivel de matraz, con agua sintética.



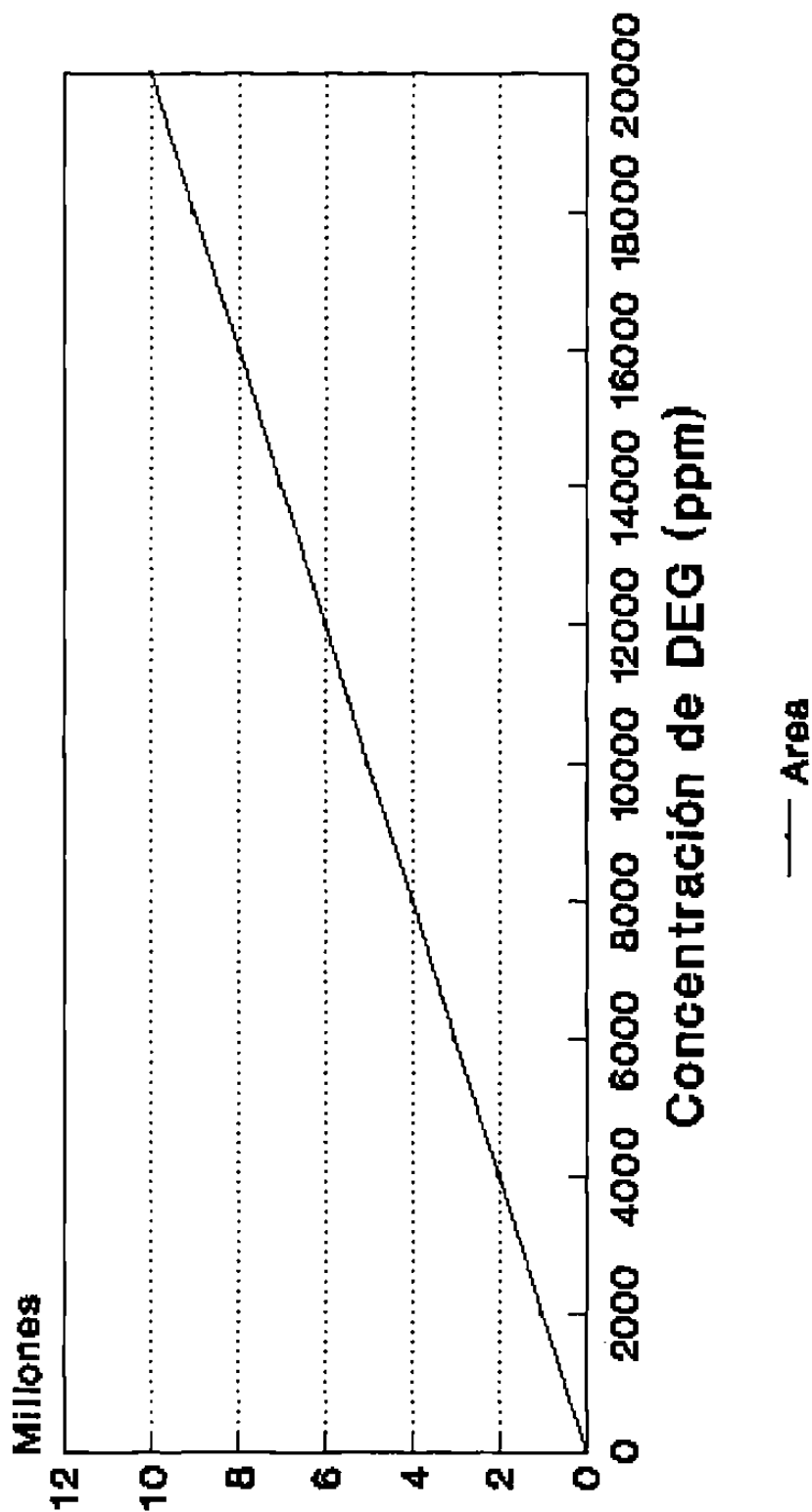
Gráfica 5. Curva de crecimiento y medición de pH, de la cepa RCM-003 a nivel matraz, con agua sintética.



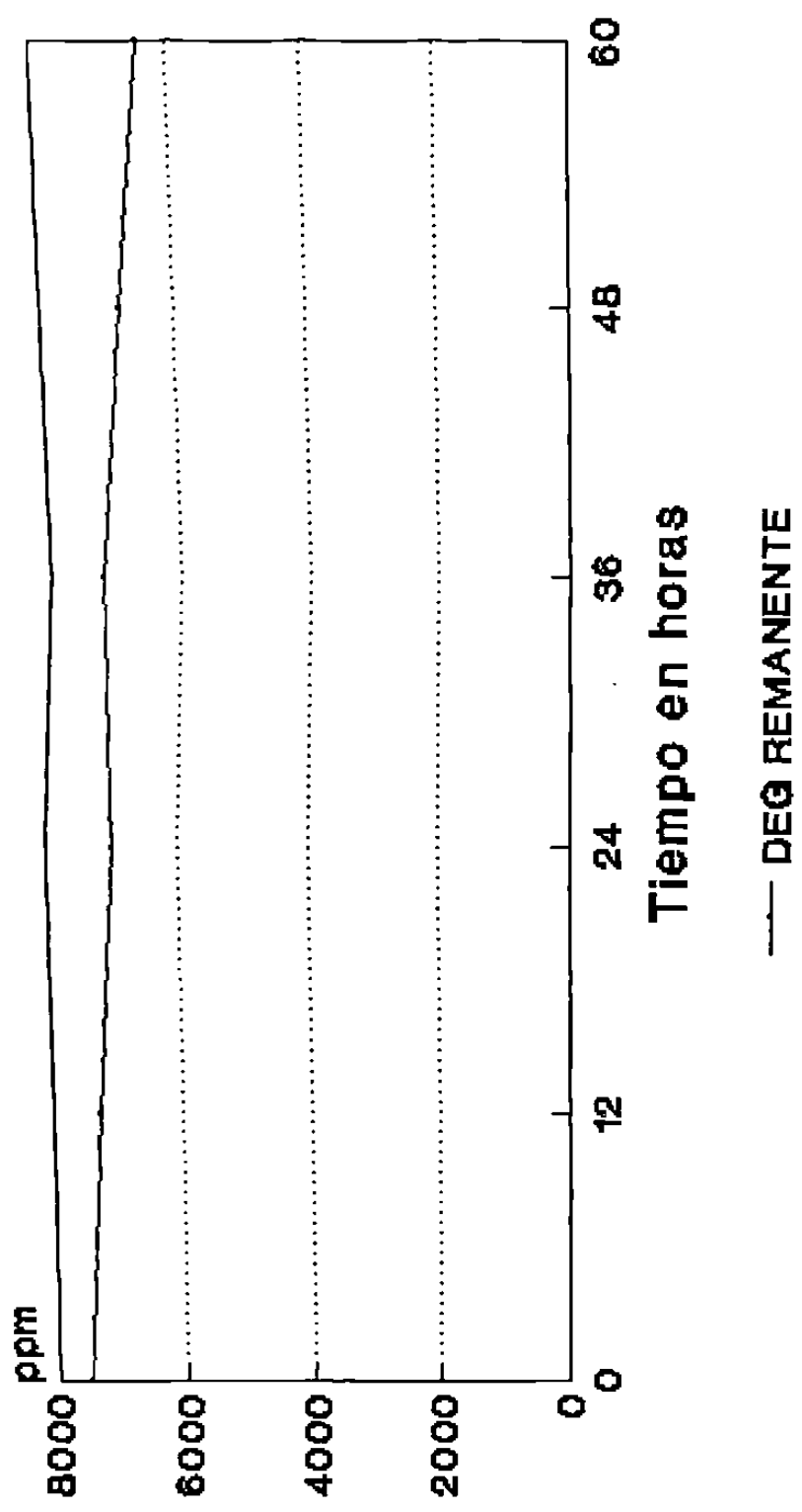
Gráfica 6. Curva de crecimiento de la cepa RCM-007 a nivel de matraz, con agua sintética.



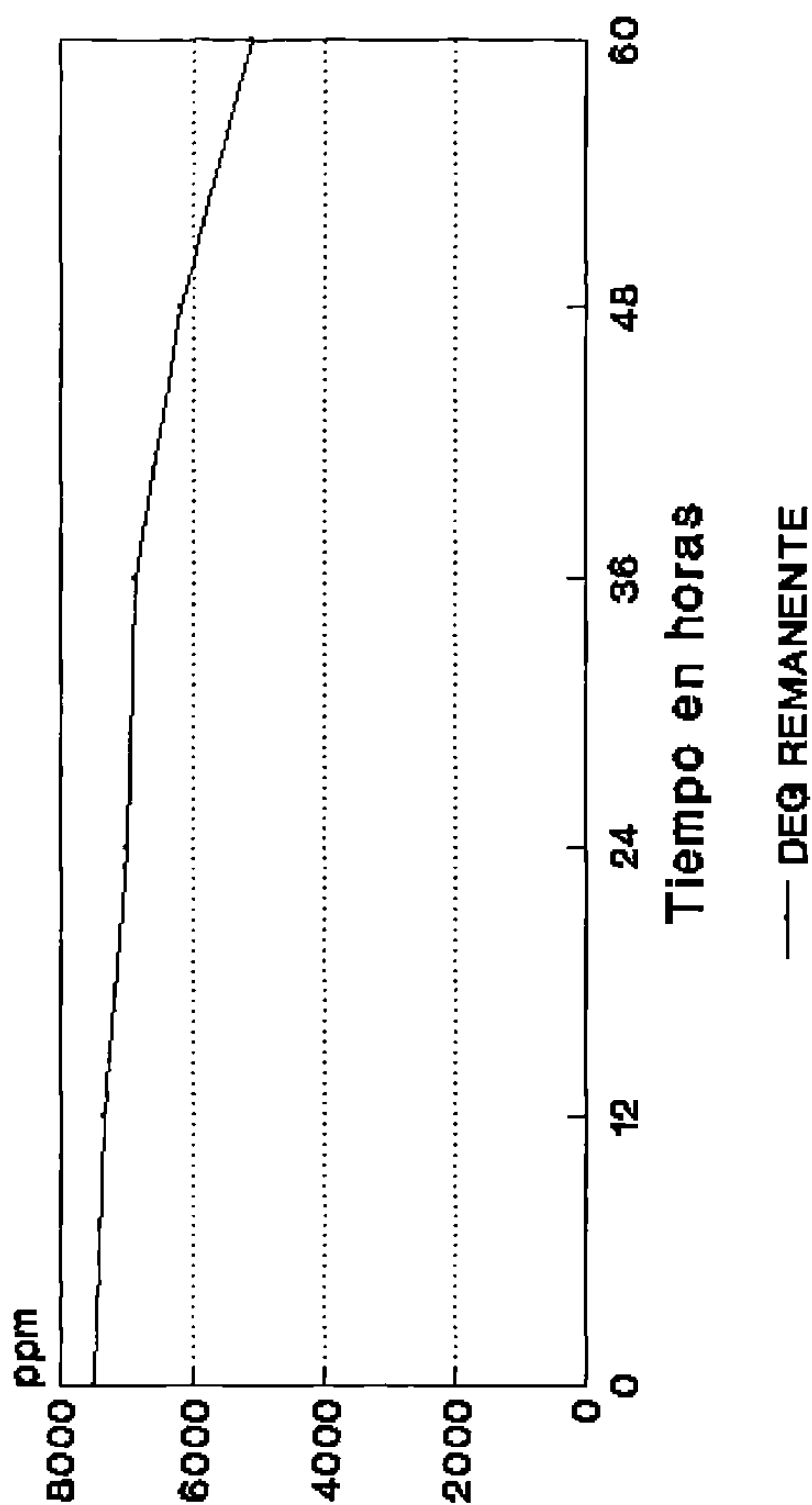
Gráfica 7. Medición del pH durante el desarrollo de la cinética de la cepa RCM-007 a nivel matraz.



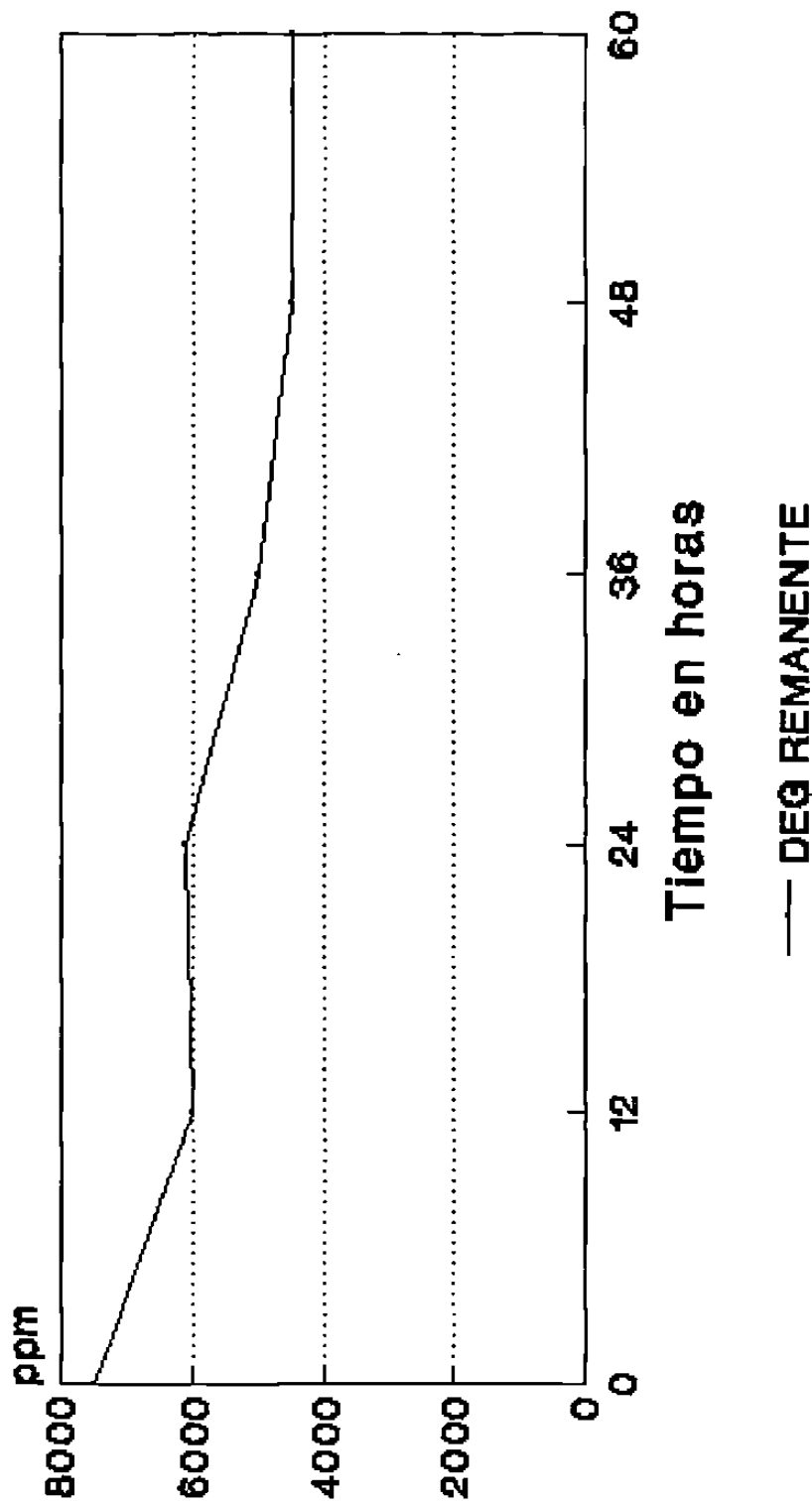
Gráfica 8. Curva de calibración de estándares de dietilenglicol, análisis por cromatografía de gases.



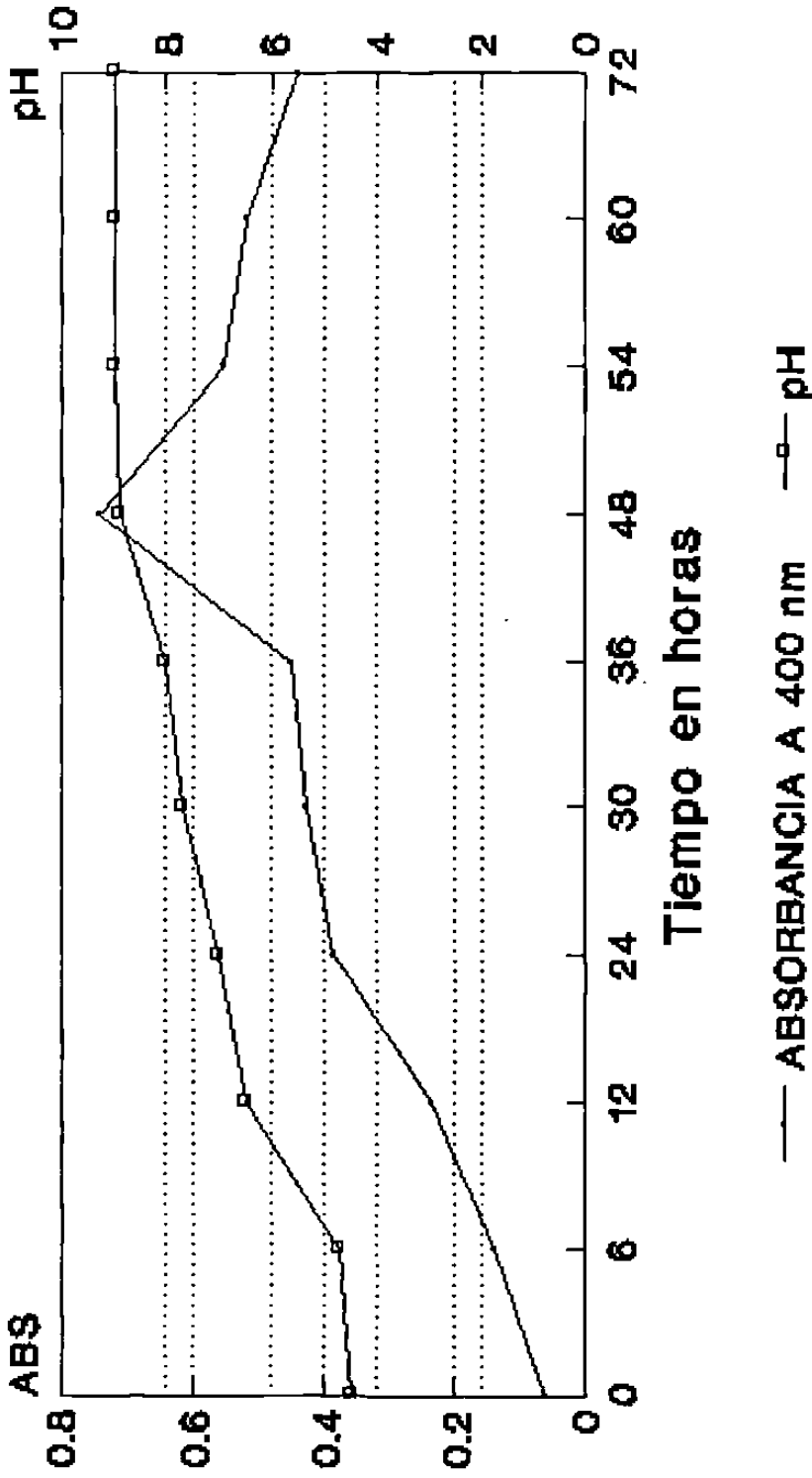
Gráfica 9. Curva de biodegradación de dietilenglicol a nivel de matraz con agua sintética, de la cepa RC-004.



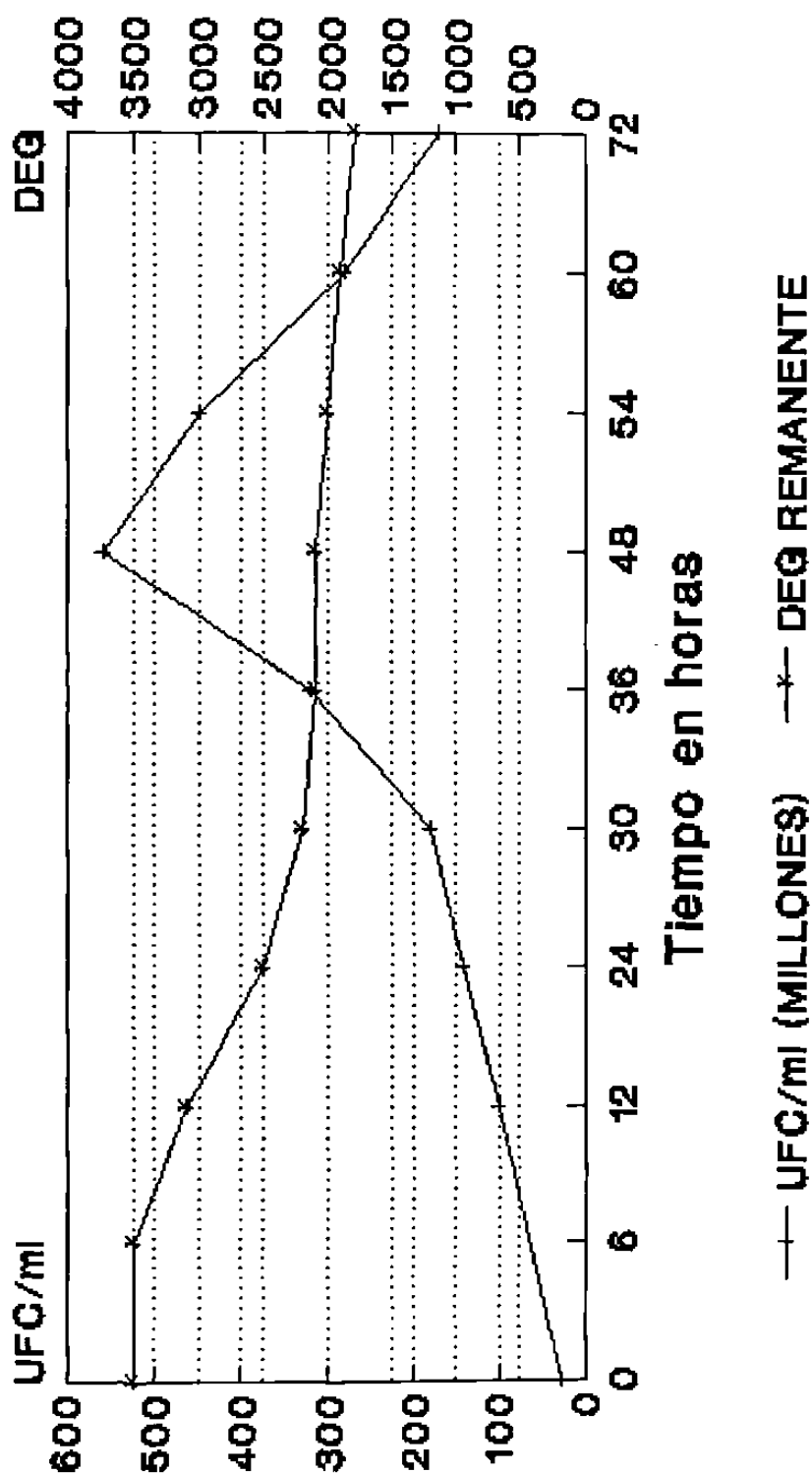
Gráfica 10. Curva de biodegradación de dietilenglicol a nivel de matraz con agua sintética, de la cepa RCM-003.



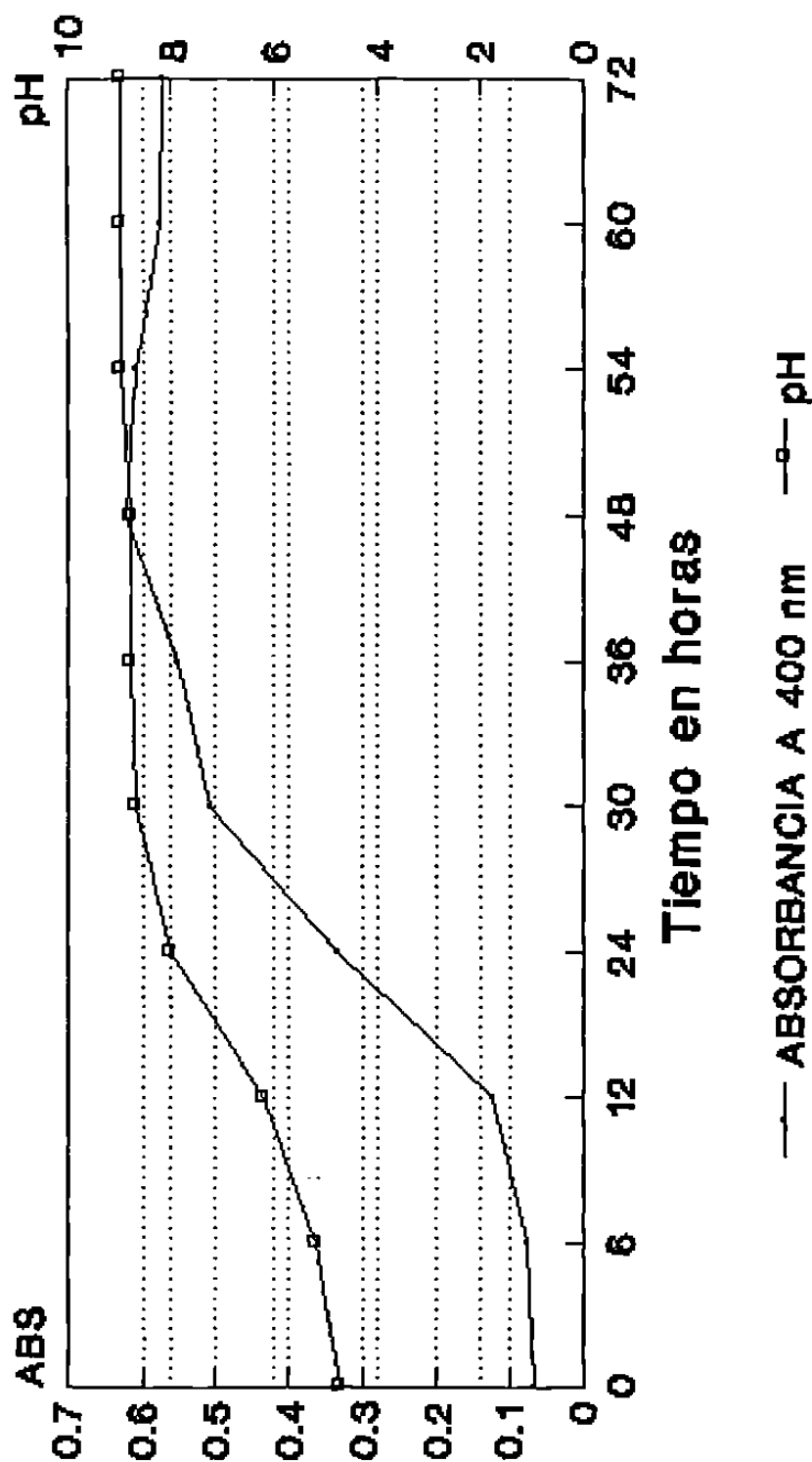
Gráfica 11. Curva de biodegradación de dietilenglicol a nivel de matraz con agua sintética, de la cepa RCM-007.



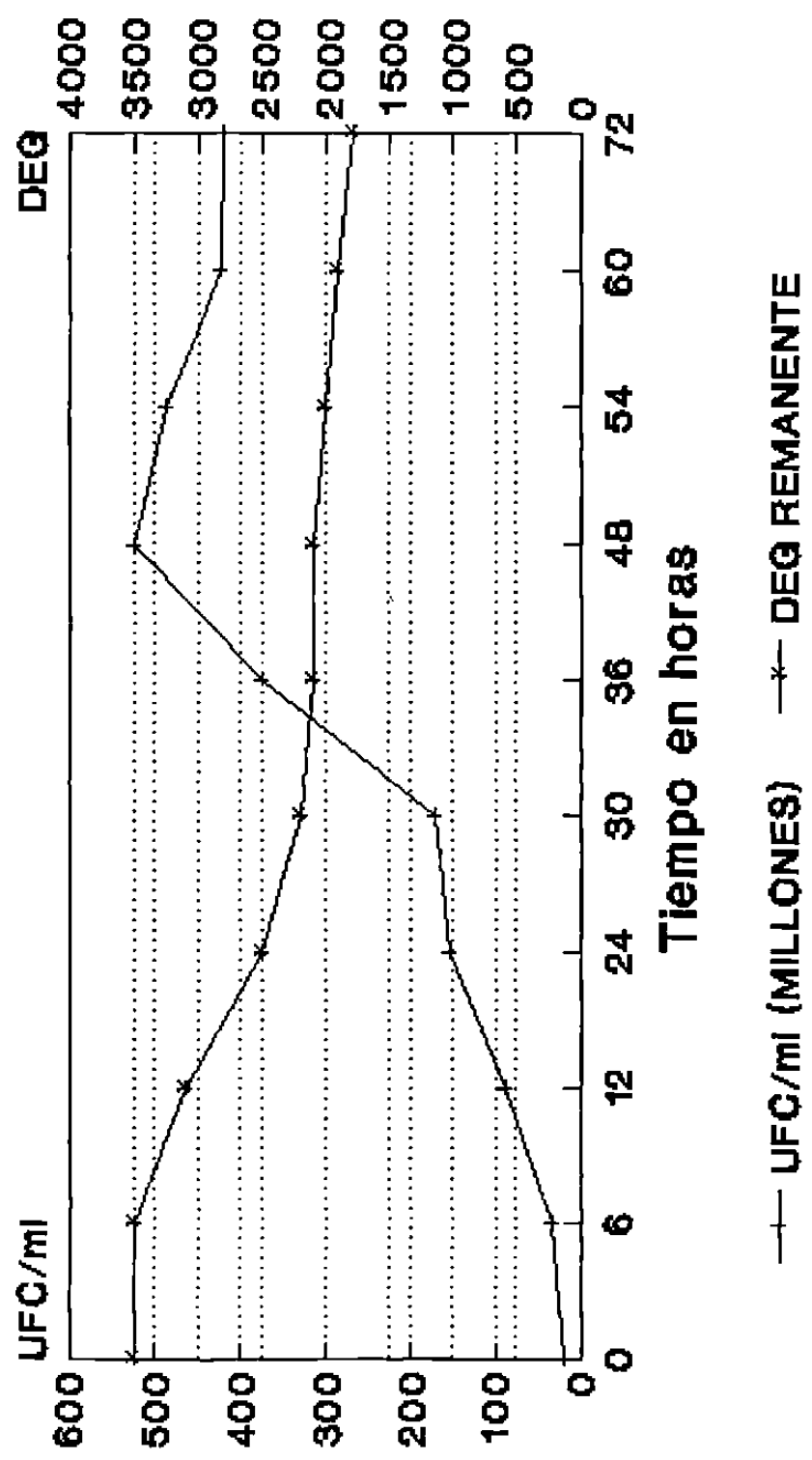
Gráfica 12. Curva de Crecimiento y comportamiento de pH a nivel de matraz con agua residual, de la cepa RCM-007.



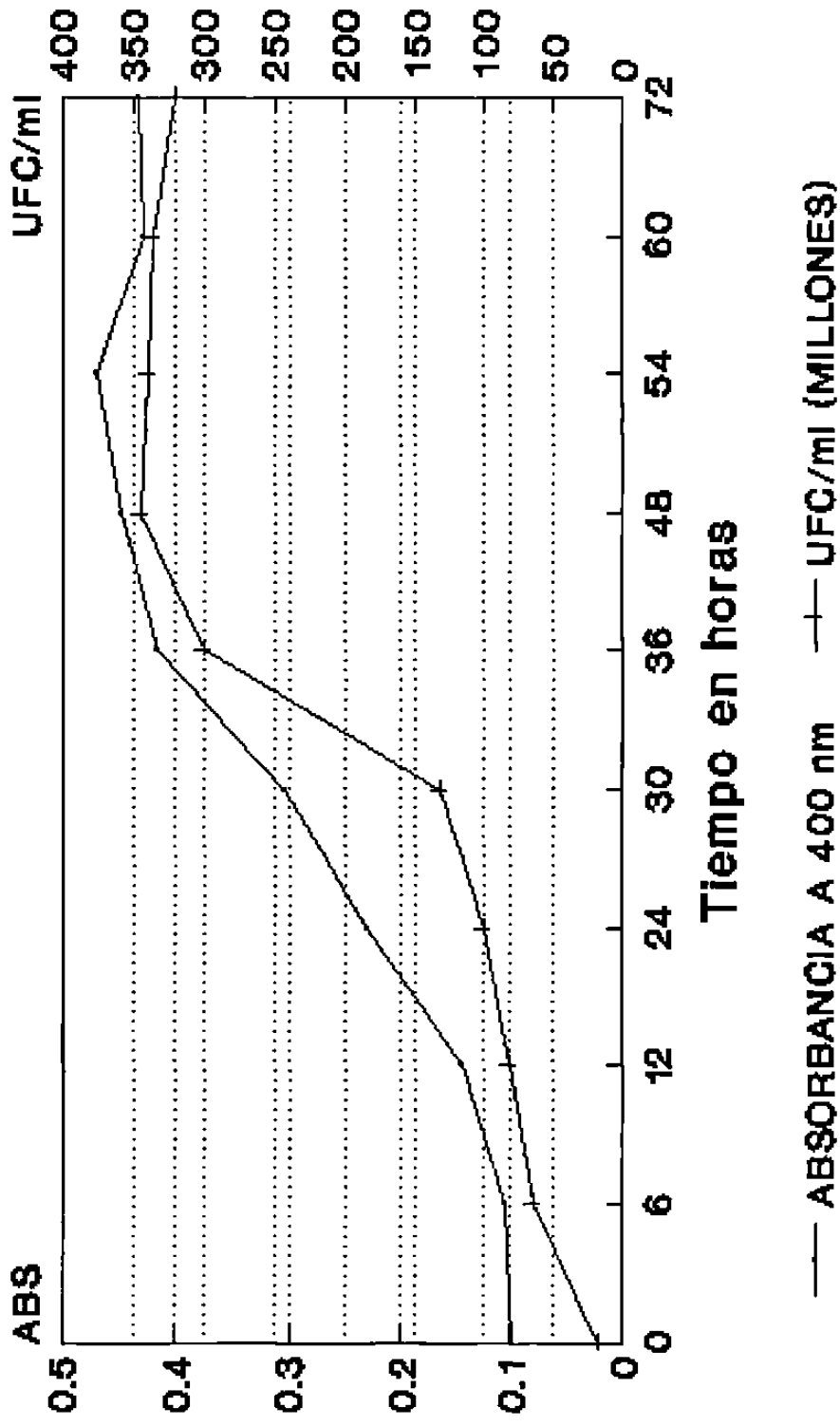
Gráfica 13. Curva de Crecimiento y degradación de dietilenglicol a nivel matraz con agua residual, de la cepa RCM-007.



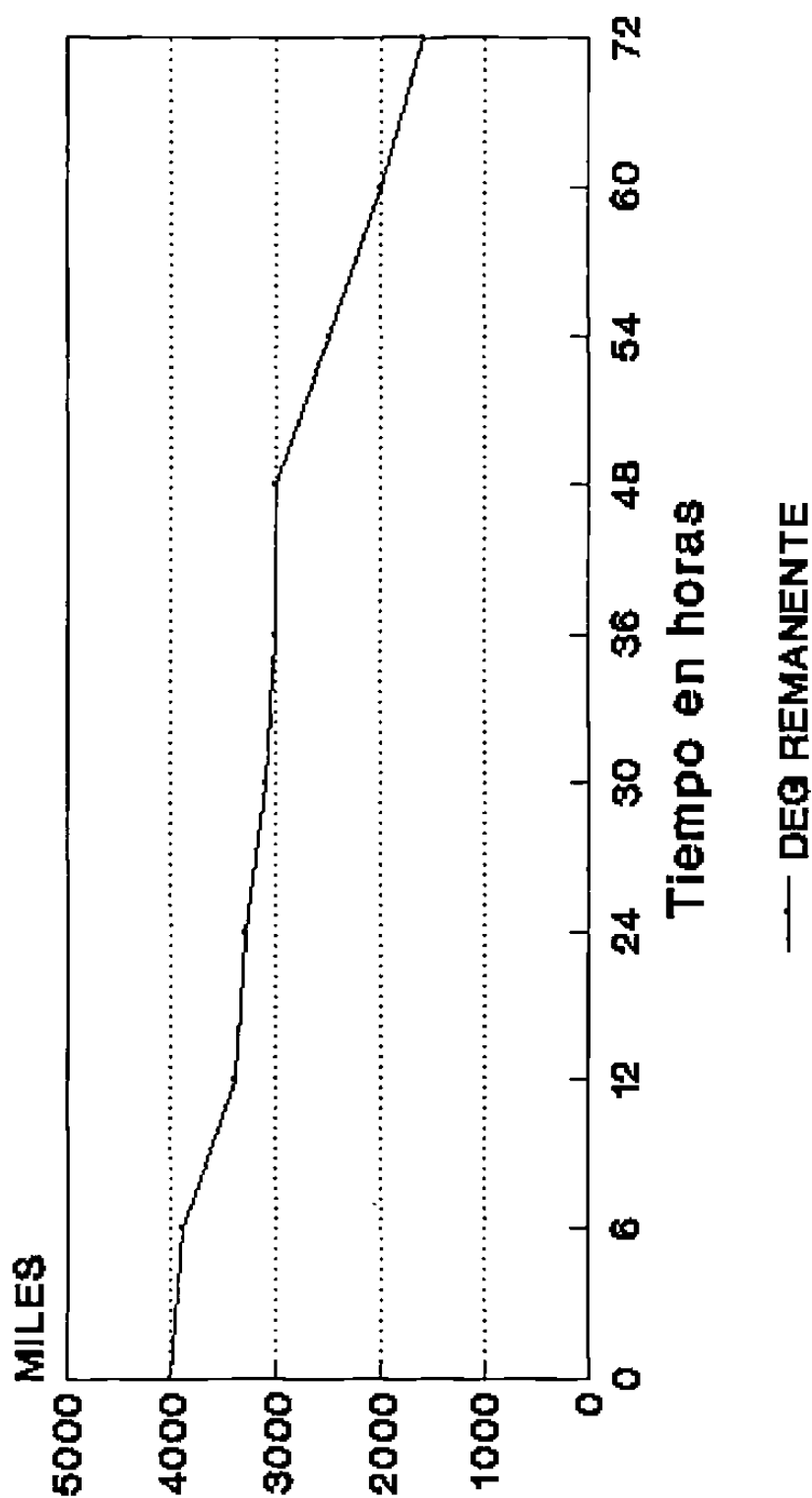
Gráfica 14. Curva de Crecimiento y comportamiento del pH, en reactor biológico de la cepa RCM-007.



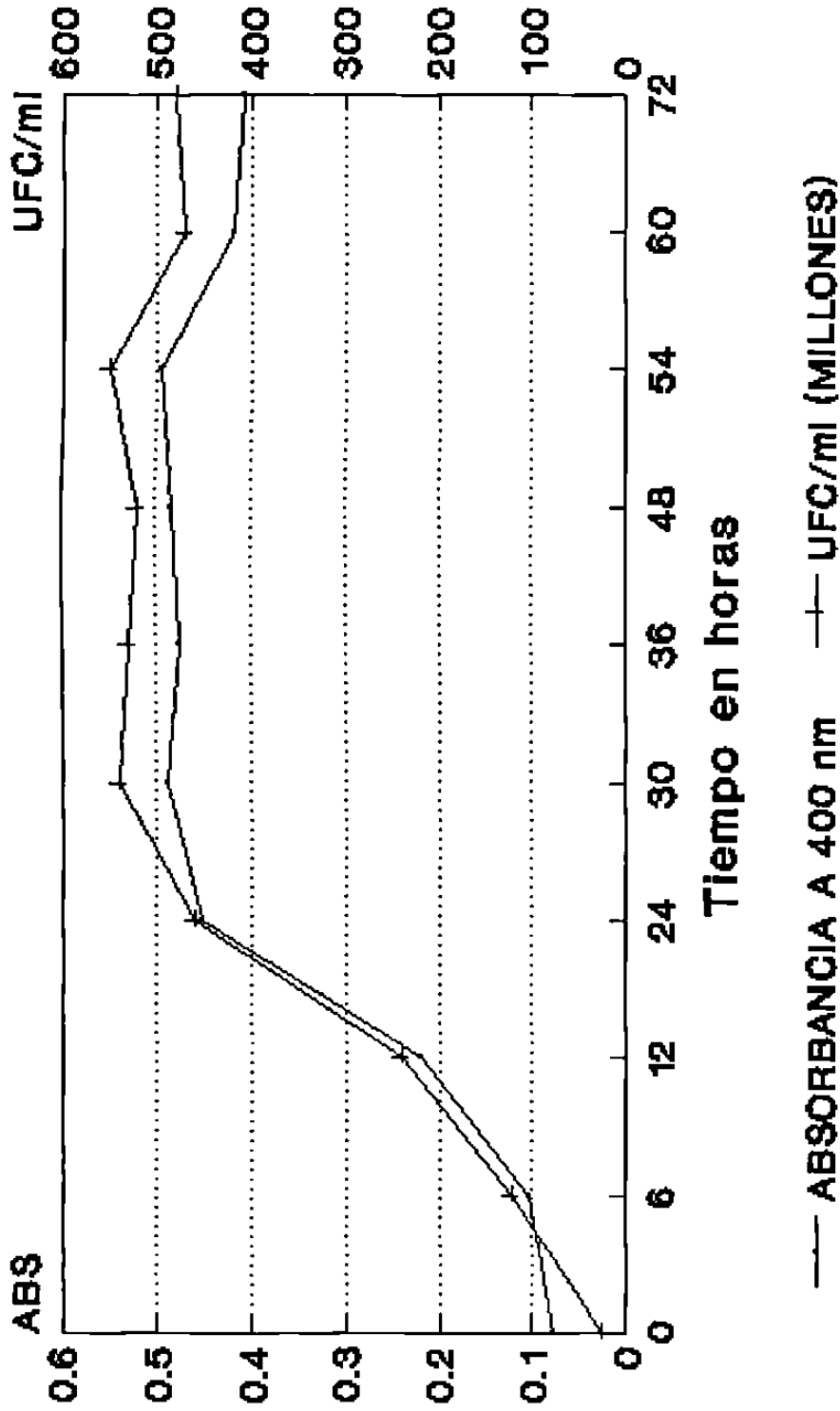
Gráfica 15. Curva de Crecimiento y degradación de dietilenglicol en reactor biológico, de la cepa RCM-007.



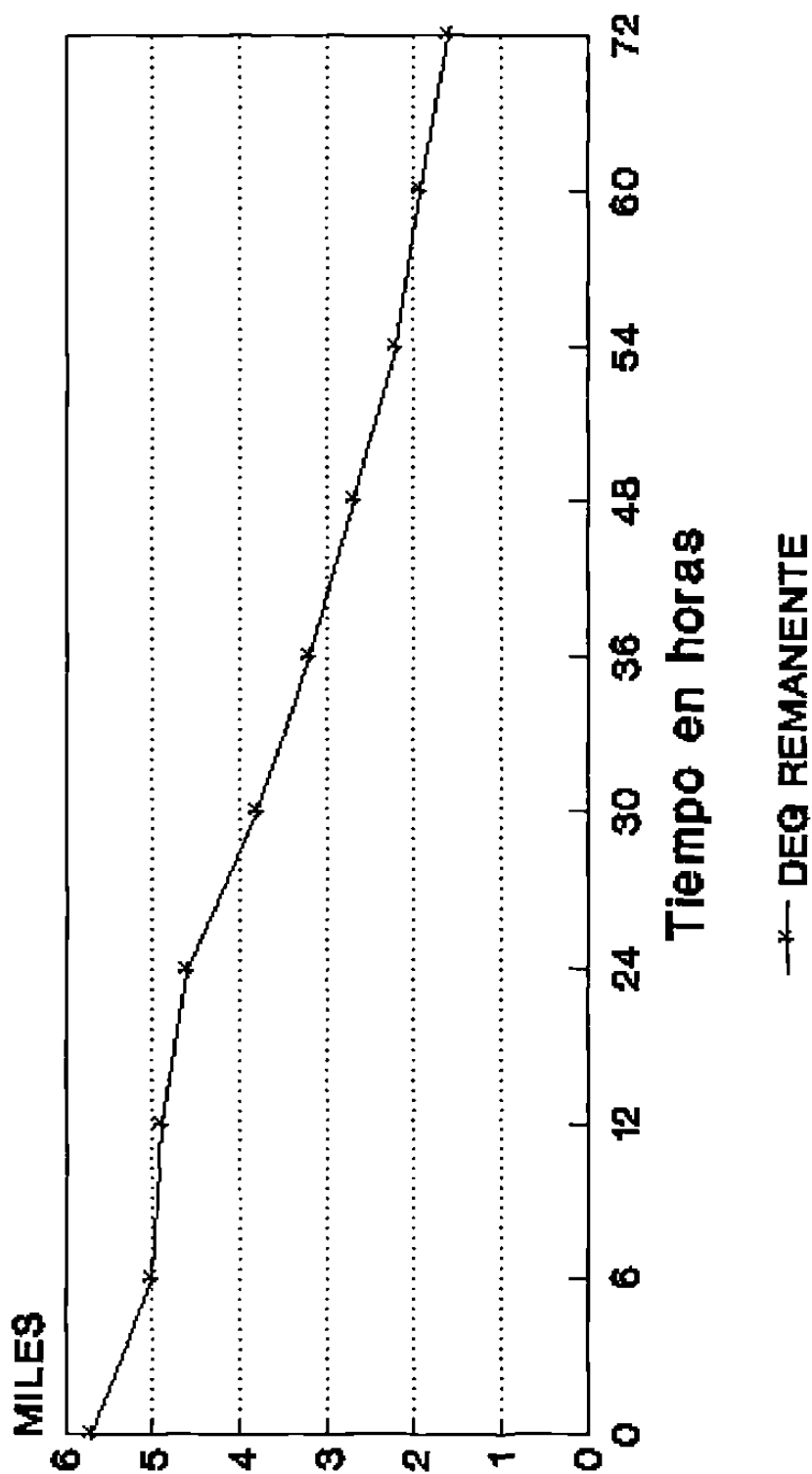
Gráfica 16. Curvas de crecimiento de la cepa RCM-007 a pH 4.5.



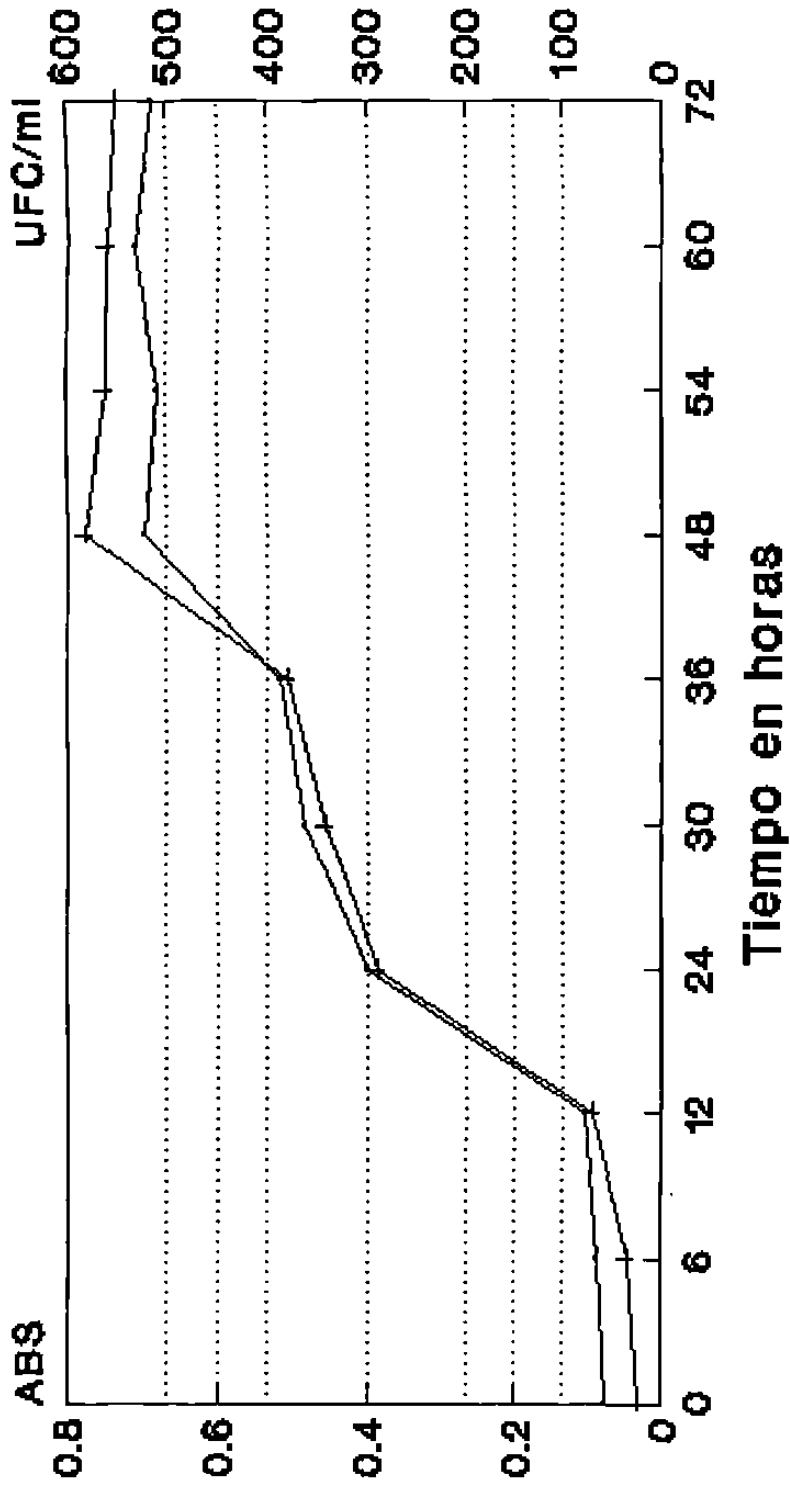
Gráfica 17. Curva de biodegradación de dietilenglicol por la cepa RCM-007 a pH 4.5.



Gráfica 18. Curvas de crecimiento de la cepa RCM-007 a pH 7.

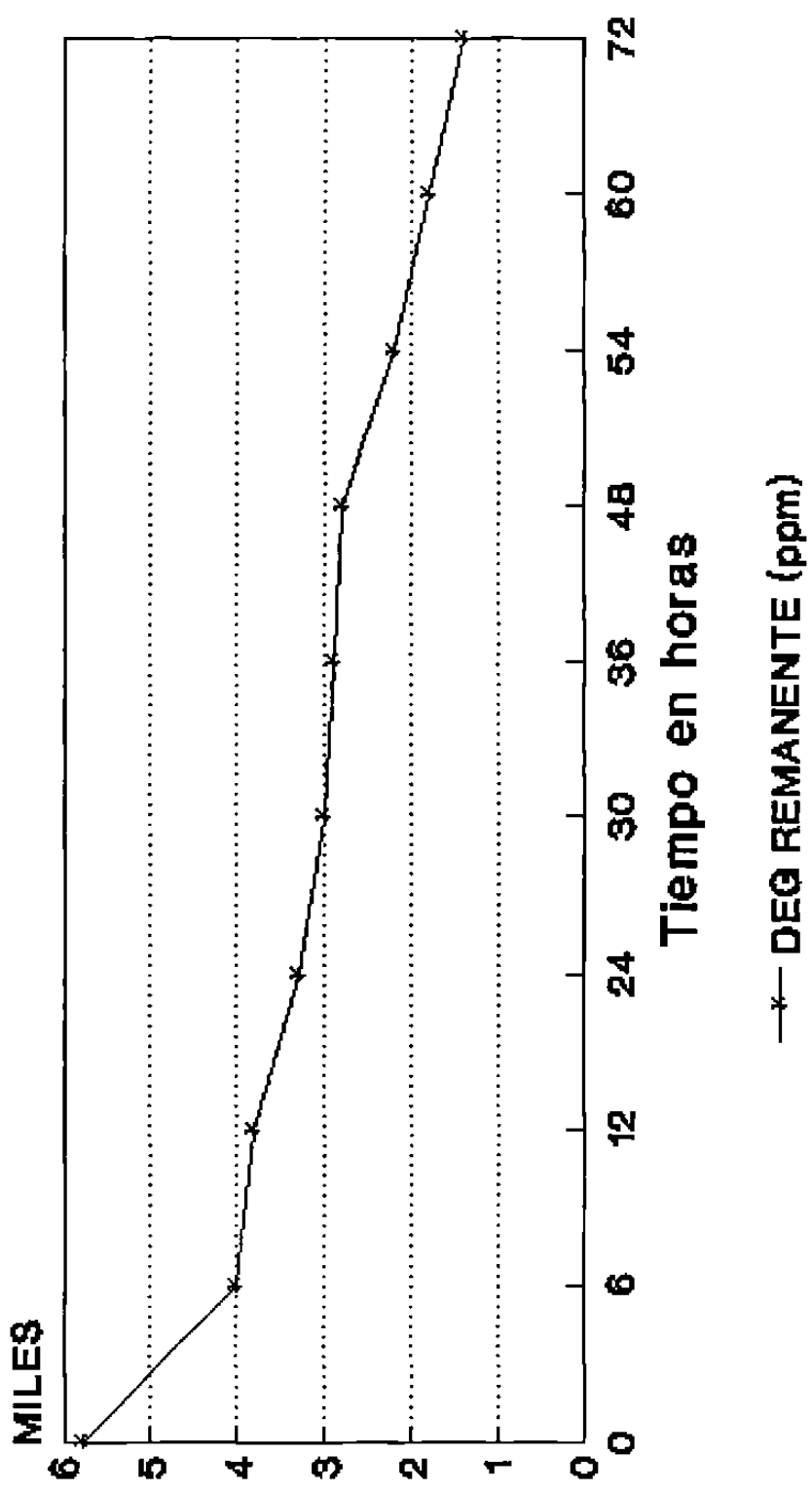


Gráfica 19. Curva de biodegradación de dietilenglicol por la cepa RCM-007 a pH 7.

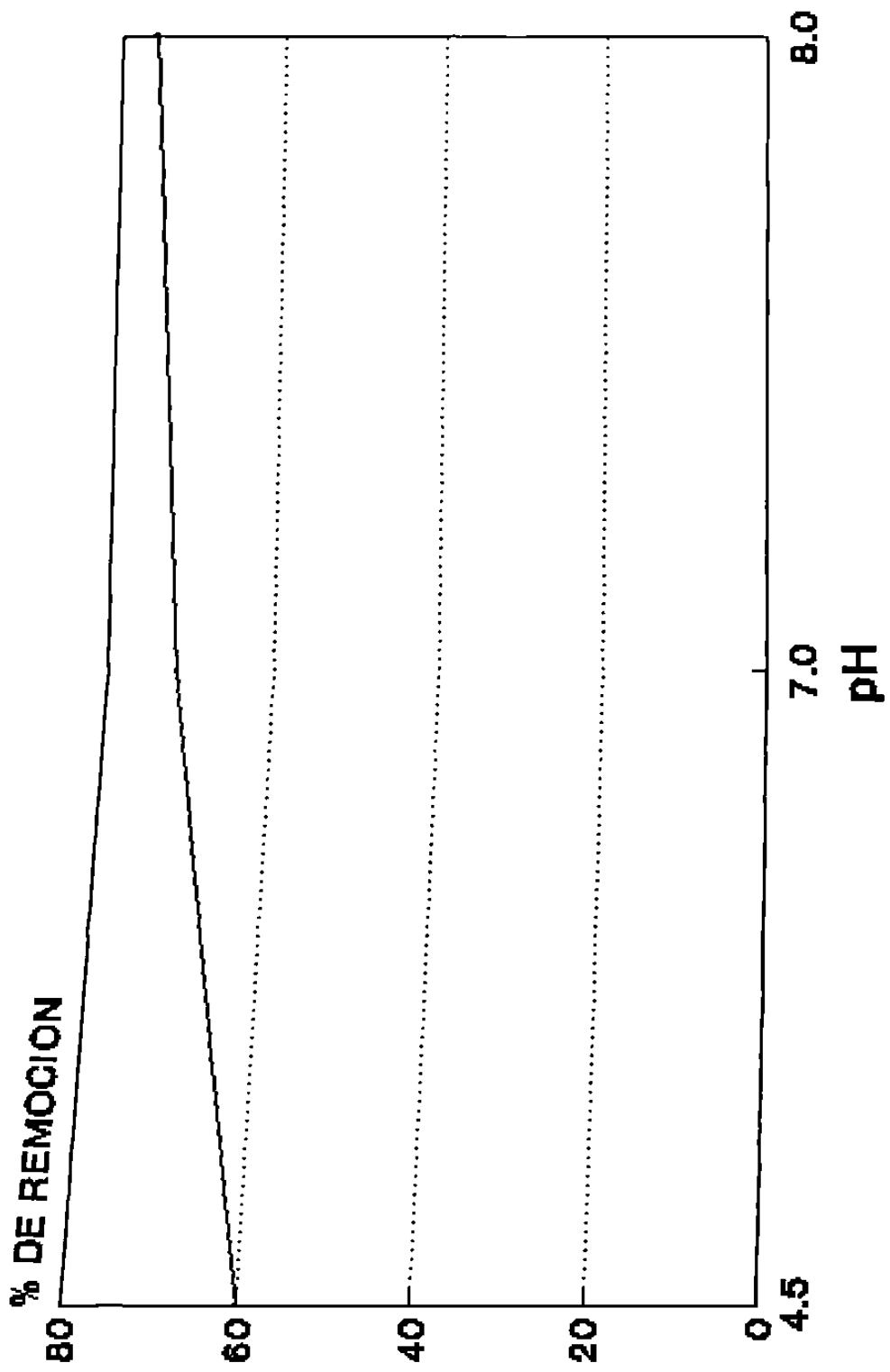


— ABSORBANCIA A 400 nm —+— UFC/ml (MILLONES)

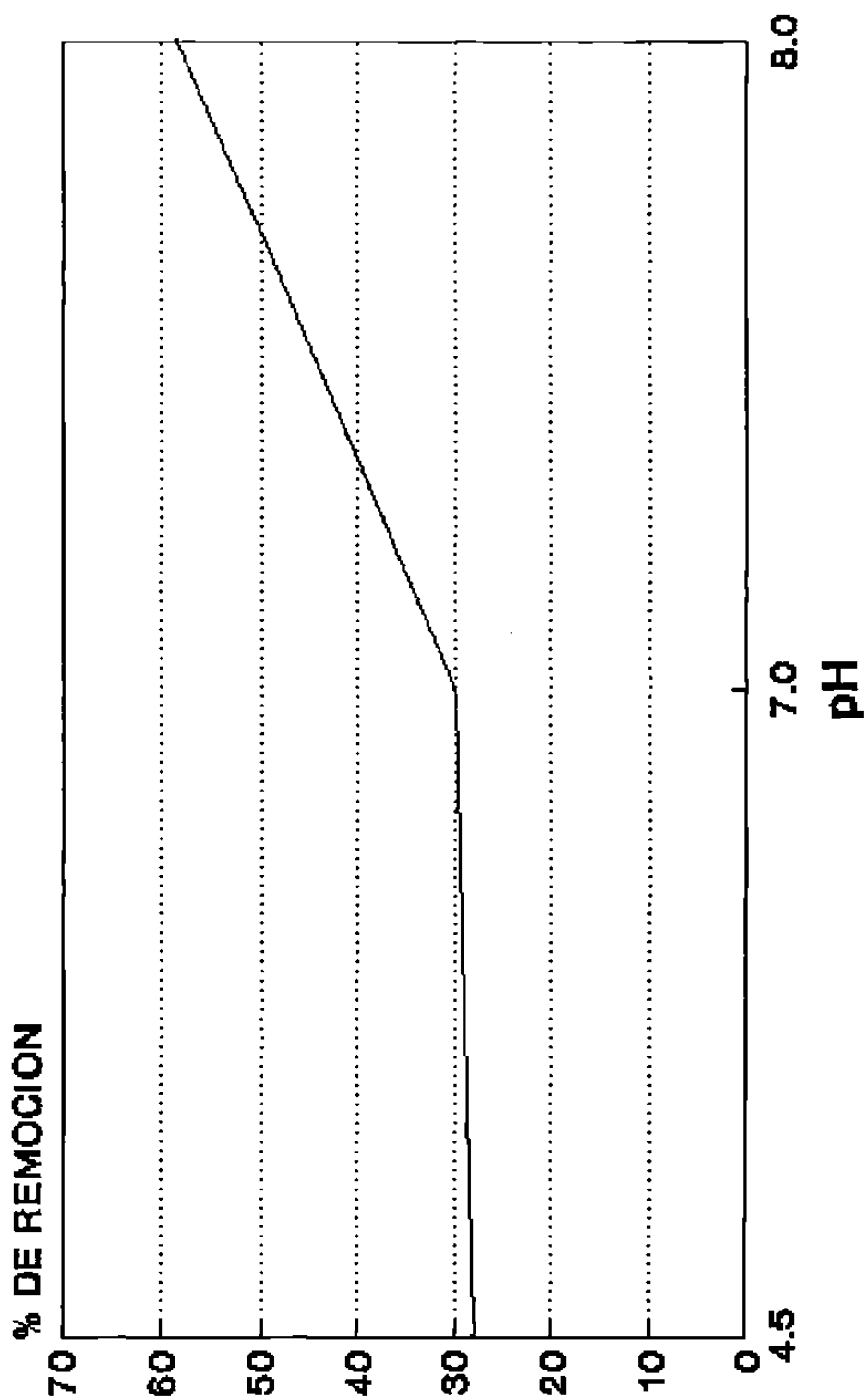
Gráfica 20. Curvas de crecimiento de la cepa RCM-007 a pH 8.



Gráfica 21. Curva de biodegradación de dietilenglicol por la cepa RCM-007 a pH 8.



Gráfica 22. Remoción de Dietilenglicol en las diferentes condiciones de pH.



Gráfica 23. Remoción de DQO en las diferentes condiciones de pH.

CONCLUSIONES Y DISCUSIONES

De las seis cepas puras y siete cepas de cultivos mixtos microbianos aislados, se seleccionó por su eficiencia de remoción de dietilenglicol, a una mezcla microbiana proveniente de agua residual industrial. Esto nos lleva a la conclusión que las cepas nativas presentan una alta afinidad por los compuestos a degradar, con los que tienen contacto habitualmente, en este caso, los microorganismos que se desarrollan en las instalaciones de donde se tomó la muestra de agua residual tienen la capacidad de utilizar al dietilenglicol como fuente de carbono y/o energía, cuando se les proporciona las condiciones ambientales y tiempo necesarios.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se concluye que conforme se aumenta el potencial de hidrógeno la remoción de dietilenglicol y de demanda química de oxígeno (DQO), también va en aumento. Sin embargo como se observa en las gráficas de crecimiento y degradación de dietilenglicol en los ensayos preeliminares donde no se controló la condición ambiental de pH, que al llegar a un valor de pH 9, el crecimiento de la cepa microbiana se detenía.

Concluyendo con esta investigación, que el pH óptimo para la biodegradación de dietilenglicol de la muestra de agua residual industrial utilizada es de 8, para nuestra cepa de ensayo y las condiciones ambientales propuestas.

Esta tecnología puede ser utilizada a nivel de pretratamiento de

agua residual industrial en las que se descargue dietilenglicol, así como también en las plantas de tratamiento de agua residual.

Se recomienda continuar con esta investigación, para determinar todas las condiciones ambientales óptimas para aumentar el índice de remoción de dietilenglicol y poder llegar a la implementación de esta tecnología a nivel industrial.

BIBLIOGRAFIA

1. Aaronson, S. 1970. Experimental microbial ecology Academic Press. U.S.A. pp 91-2.
2. Aldape, C.J. 1985. Biodegradación de alquilbencensulfonato de sodio por Pseudomonas aeruginosa aislada de un sistema de lodos activados. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.
3. Aldrich. 1992-1993. Catalog handbook of fine chemicals. Aldrich Chemical Company Inc. U.S.A. pp. 438.
4. American Society for Testing and Materials. 1976. Manual de aguas para usos industriales. Tercera edición. Ed. Limusa. México. pp. 33-43.
5. Armato, S. 1992. Procesos fermentativos. Curso latinoamericano. Síntesis de bioproductos y escalamiento de procesos biotecnológicos. Universidad de Costa Rica. pp. 124.
6. Armenante, P.M. 1992. Integrated anaerobic-aerobic process for biodegradation of chlorinated aromatic compounds. Environ. Progress. 11(2), 113-122.
7. Atlas, R.M. and R. Bartha. 1993. Microbial ecology. Third edition. Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. U.S.A. pp. 417-433..
8. Battersby, N.S. and V. Wilson. 1989. Survey of the anaerobic biodegradation potential of organic chemicals in digesting sludge. Appl. Environ. Microbiol. 55(2) 433-9.
9. Bennett G. and K. Olmstead. 1992. Microorganisms get to work. Chemistry in Britain. pp. 133-137.
10. Bond, R.G. and C.P. Straub. 1974. Wastewater, treatment and disposal. In Handbook of environmental control. CRC Press. U.S.A.

- Vol. IV pp. 235-68.
11. Brooks, V.J. 1975 Poisons. Third edition. Robert E. Krieger Publishing Co. U.S.A. pp.168.
 12. Calabrese, A.I. y E.A. Astolfi. 1972. Toxicología. Segunda edición. Ed. Kapeluz. Argentina. pp 94-5.
 13. Campos, M.D. 1993. Estudio de la biodegradación de compuestos clorofenólicos y su determinación por cromatografía de gases. Biotecnología V Congreso Nacional. Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C. pp AM 173-6.
 14. Cervantes, C. 1993. El empleo de bacterias en la descontaminación de iones inorgánicos tóxicos. Biotecnología V Congreso Nacional. Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C. pp M-30 a M-40.
 15. Chow, S. et al. 1992. Bioremediación. Revista del Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos. 29,37-50.
 16. Dean, D.R. Biodegradation of toxic wastes in soil. ASM News. 53(9) 490-2.
 17. De Fluvio, S. et al. 1985. Biotic degradation of organic compounds in seawater. Shake flask method. Rapp. ISTISAN. 85(27) 67.
 18. Ditzelmuller, G. et al. 1989. Microbial degradation of chlorinated phenolic xenobiotics. Envirotech Vienna. International Society for Environmental Protection.
 19. Dutson, G.K. 1970. Land spreading, a conserving and non polluting method of disposing of oily wastes. In advances in water pollution research proceedings of the 5th international conference held in San Francisco and Hawaii. Pergamon Press. Vol. 1. Seccion 11-36.
 20. Dwyer, D.F. and J.M. Tiedje. 1983. Degradation of ethyleneglycol

- and polyethylene glycols by methanogenic consortia. Appl. Environ. Microbiol. 16(1) 185-90.
21. Dwyer, D.F. and J.M. Tiedje. 1986. Metabolism of polyethylene glycol by two anaerobic bacteria *Desulfovibrio desulfuricans* and *Bacteroides* sp. Appl. Environ. Microbiol. 52(4) 852-6.
 22. Fan, S. and K.M. Scow. 1993. Biodegradation of trichloroethylene and toluene by indigenous microbial population in soil. Appl. Environ. Microbiol. 59(6) 1911-18.
 23. Franson, M.A. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th. edition. APHA-AWWA-WPCF. U.S.A. pp. 5-10.
 24. Frejaville, J.P. y R. Bourdon. 1978. Toxicología clínica y analítica. Segunda edición Ed. JIMS. España. pp. 516-9.
 25. Gosselin, M. Clinical toxicology of commercial products. Fourth edition. Ed. Williams & Wilkins. U.S.A. pp. 119-50.
 26. Grant, M.A. and W.J. Payne. 1983. Anaerobic growth of *Alcaligenes faecalis* var *denitrificans* at the expense of ether glycols and nonionic detergents. Biotechnol. Bioeng. 25(2) 627-30.
 27. Gvozdyak, P.I. 1990. Conversion of diethyleneglycol by microorganisms in a multisection bioreactor. Khim. Tekhnol. Vody. 12(7) 652-4.
 28. Haines, J.R. and M. Alexander. 1975. Microbial degradation of polyethylene glycols. Appl. Microbiol. 621-5.
 29. Hamer, G. 1993. Some biotechnological and bioprocess engineering aspects of bioremediation processes. Biotecnología V Congreso Nacional. Revista de la Sociedad Mexicana de biotecnología y bioingeniería A.C. pp C41-50.
 30. Hamilton and Hardy. Industrial toxicology. Third edition. pp. 301.

31. Ibarra, M. y R. Rodríguez. 1993. Biodegradación de compuestos fenólicos. Biotecnología V Congreso Nacional. Revista de la Sociedad Mexicana de biotecnología y bioingeniería A.C. pp. AM-119-22.
32. Kaplan, D.L. et al. 1981. Decomposition of glycols from nitrate ester propellants. Gov. Rep. Announce Index (U.S.).
33. Kemmer, F.N. and J McCallion. Manual del agua . Nalco Chemical Company. Ed. McGraw-Hill. Tomo III. Cap. 40.
34. Kilroy, A.C. and N.F. Gray. 1992. Pilot plant investigations of tretability of ethyleneglycol by activated sludge. Environ. Technol. 13(3) 293-300.
35. King, E.F. and H.A. Painter. 1983. Assessment of biodegradability of chemicals in water by manometric respirometry. Comm. Eur. Communities. EUR 8631. pp.31.
36. Kirk-Othmer. 1978. Encyclopedia of chemical technology. Third edition. Wiley Interscience Publishers. U.S.A. pp. 946-9.
37. Kobayashi, H. and B.E. Rittman. 1982. Microbial removal of hazardous organic compounds. Environ. Sci. Technol. 16(3) 170-83.
38. Larson, R.J. et al. 1992. Screening methodology for determination of polymer biodegradation. Polym. Mater. Sci. Eng. 67, 348-50.
39. Lawrence, C.H. 1956. A method of isolating actinomycetes from scabby potato tissue and soil with minimal contamination. Can. J. Bot. 34, 44-7.
40. Lee, J.K. et al. 1986. Microbial degradation of polyethylene glycol. Misaengmul Hakhoechi. 24(3) 329-34.
41. Leisingier, T. 1987. Microorganisms and persistent compounds an overview. In microbial technologies overcome environmental

- problems of persistent pollutants. Editor M. Alexander. United Nations Environment Programme. Nairobi. pp 20-9.
42. Loidl, M. et al. 1989. Mechanism of detoxification of monochlorinated anilines by a soil bacterium. Envirotech Vienna. International Society for Environmental Protection.
 43. Loidl, M. et al. 1990. Degradation of aniline and monochlorinated anilines by soil-born Pseudomonas acidovorans strains. Arch. Microbiol. 155, 56-61.
 44. Lucero, H. y C. Duran. 1992. La biotecnología ambiental, un enfoque necesario hacia la recuperación de suelos contaminados. Biotecnología. 2(1) 7-13.
 45. Luna, V.M. y C. Duran. 1991. Tratamiento biológico de aguas residuales de la industria del proceso. Primer curso nacional de microbiología industrial. U.A.N.L. pp 1-19.
 46. Macalady, D. and R. Schwarzenbach. 1993. Predictions of chemical transformation rates of organic pollutants in aquatic systems. In Chemical exposure predictions. Lewis Publishers. U.S.A. pp 27-46.
 47. Manem, J.A. and B.E. Rittman. 1992. Removing trace-level organic pollutants in biological filter. J. AWWA. pp. 152-7.
 48. Moffatt, E.J. et al. 1986. A gas-liquid chromatographic method for quantitation of 1,3-butylene glycol in whole blood or plasma and separation of the short chain glycols. J. Analytical. 10(1)
 49. Molnaa, B.A. and R.B. Grubbs. Bioremediation of petroleum contaminated soils using a microbial consortia as inoculum.
 50. Nelson, N. 1987. Clean up of contaminated sites. In Toxic chemicals, health and the environment. The Johns Hopkins University Press. U.S.A. pp 205-79.

51. Quinn, J.P. and R. Marchant. 1980. The treatment of malt whiskey distillery waste using the fungus Geotrichum candidum Wat. Research. 14(5) 545-51. Rndidum.aja, L.M. et al. 1991. Novel biotreatment process for glycol wastes. Appl. Biochem. Biotechnol. 28(29) 827-41.
53. Romero, A. 1993. Estudio sobre el manejo de los esteres de glicol en México. Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas. 24(3) 13-15.
54. Romo, N.P.1977. Aislamiento e identificación de microorganismos degradadores de hidrocarburos. Facultad de Ciencias Biologicas. U.A.N.L. Tesis.
55. Rudolfs, W. 1953. Industrial wastes. L.E.C. Publishers Inc. U.S.A. pp. 1-7.
56. Schoeberl, P. 1985. The metabolism of monoethylene and diethyleneglycol by Corynebacterium spec. strain E and Pseudomonas fluorescens strain P201. Tenside Deterg. 22(2) 70-7.
57. Schoeberl, P. 1986. Catabolism and metabolism of oligoethyleneglycol. Divergent catabolic and metabolic pathways of mono-, di- and tetraethyleneglycol in Alcaligenes glycovorans. Tenside Surfactants. 23(5) 255-66.
58. Sedina, S.A. and V.N. Ivanov. 1991. Composition and metabolic activity of the association of bacteria decomposing diethyleneglycol. Mikrobiol. Zh. 53(3) 30-8.
59. Sedina, S.A. 1992. Diethyleneglycol degradation by Pseudomonas putida BS-2. Mikrobiol. Zh. 54(1) 61-7.
60. Sedina, S.A. 1992. Kinetics of destruction of glycols by Pseudomonas putida BS-2 strain. Mikrobiol. Zh. 54(5) 53-9.

61. Strand, S.E. 1991. Biodegradation of chlorinated solvents in a sparged, methanotrophic biofilm reactor. J. WPCF. 63(6) 859-67.
62. Torres, R. 1994. Degradación biológica de etilenglicol. Facultad de Ciencias Químicas. U.A.N.L. Tesis.
63. Ugarte, M.L. 1993. Sistema biológico Biocyd para remoción de contaminantes de aire. Biotecnología V Congreso Nacional. Revista de la Sociedad Mexicana de biotecnología y bioingeniería A.C. Vol. 3 pp S-12-16.
64. Van Vree, G. 1992. Application of in situ bioremediation techniques concerning PAH at laboratory and pilot plant scale. Envirotech Vienna. International Society for Environmental Protection. pp 653-63.
65. Vasseur, P. 1993. Quantitative structure biodegradability relationships for predictive purposes. In Chemical exposure predictions. Lewis Publishers. U.S.A. pp. 47-60.
66. Villarreal, L. 1977. Biodegradación de alquil-bencensulfonato (ABS) por Pseudomonas fluorescens NHIJ B-254. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L. Tesis.
67. Wagener, S. and B. Schink. 1988. Fermentative degradation of nonionic surfactants and polyethyleneglycol by enrichment cultures and by pure cultures of homoacetogenic and propionate-forming bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 54(2) 561-5.
68. Wick, C.B. and G.E. Pierce. 1990. An integrated approach to development and implementation of biodegradation systems for treatment of hazardous organic wastes. J. Ind. Microbiol. 31, 81-96.
69. Williams, P.L. and J.L. Burson. 1985. Industrial toxicology. Van

- Nostram Reinhold Company. U.S.A. pp. 242-3.
70. Winkler, M. 1986. Tratamiento biológico de aguas de desecho. Primera edición. Ed. LIMUSA. pp. 15-45.

taller de encuadernación

ENCUADERNACIONES PROFESIONALES

Tacuba N°1645 Ote.entre Félix U.Gómez y Héroes del 47
Tel.44-65-25 Monterrey, Nuevo León

