



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

FISIOLOGIA DE LOS MICROORGANISMOS
QUE INTERVIENEN EN EL TRATAMIENTO BIOLÓGICO
DEL AGUA

TRABAJO ESCRITO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
ESTELA PATRICIA MEZA BAUTISTA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Prof. GUADALUPE VELEZ PRATT



Vocal: Prof. HOMERO HERNANDEZ MONTES _____

Secretario: Prof. RODOLFO PASTELIN PALACTOS _____

1er. Suplente: Prof. MA. ELSA ESCUDERO GARCIA _____

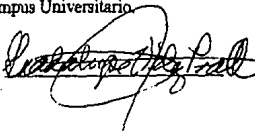
2do. Suplente: Prof. JESUS FERNADO MONTIEL AGUIRRE _____

Sitio donde desarrollo el tema:

Bibliotecas del Campus Universitario

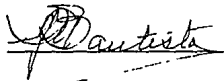
Nombre completo y

firma del asesor: Prof. Guadalupe VelezPratt



Nombre completo y

firma del sustentante: ESTELA PATRICIA MEZA BAUTISTA



DEDICO ESTE TRABAJO A:

MIS PADRES POR TODO SU APOYO INCONDICIONAL

LA PROFESORA GUADALUPE VELEZ PRATT POR SU ORIENTACION Y ASESORIA

LOS PROFESORES HOMERO HERNANDEZ MONTES Y RODOLFO PASTELIN
PALACIOS POR FORMAR PARTE DE EL JURADO

POR OTRO LADO AL DR. MANUEL AGUILAR ROMO POR TODAS LAS
FACILIDADES OTORGADAS

Y A MONICA JIMENEZ VELAZQUEZ POR SU APOYO PARA LA
MECANOGRAFIA DEL PRESENTE TRABAJO

INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN	1
--------------	---

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES	3
--------------	---

II.1 Microorganismos que intervienen en plantas de tratamiento de aguas residuales y su función.	4
--	---

II.1.1 Actinomicetos	4
----------------------	---

II.1.2 Protozoarios	6
---------------------	---

II.1.3 Rotíferos	10
------------------	----

II.1.4 Nemátodos de vida libre	12
--------------------------------	----

II.1.5 Bacterias coliformes	14
-----------------------------	----

II.2 Innovaciones en procesos biológicos para el control de la contaminación.	15
---	----

CAPÍTULO III

MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN BIORREMEDIACIÓN Y SU FISIOLÓGÍA	28
---	----

III.1 Papel de los microorganismos	28
------------------------------------	----

III.2 Energía metabólica	32
--------------------------	----

III.3 Microorganismos heterótrofos aerobios	39
---	----

III.3.1 Nutrición	40
-------------------	----

III.3.1.1 Carbono	40
-------------------	----

III.3.1.2 Nitrógeno, sales basales y otros factores del crecimiento	41
---	----

III.3.1.3 Factores del medio ambiente	44
---------------------------------------	----

III.3.1.4 Inhibición	45
----------------------	----

III.4 Microorganismos heterótrofos anaeróbicos	45
--	----

III.4.1 Presencia en la planta de tratamiento	46
III.4.1.1 Producción de sulfuro	52
III.4.1.2 Denitrificación	54
III.5 Microorganismos autotróficos	55
CAPÍTULO IV	
TRANSFORMACIONES BIOQUÍMICAS DURANTE EL TRATAMIENTO DEL AGUA	65
IV.1 Efecto de la acumulación del ácido sobre procesos microbianos en aguas naturales	65
IV.2 Transporte microbiano de metales tóxicos	68
IV.2.1 Acumulación intracelular	68
IV.2.2 Interacciones con pared celular	69
IV.2.3 Sideróforos	70
IV.2.4 Procesos extracelulares	70
IV.2.5 Interacciones polímero extracelulares-metal	71
IV.2.6 Volatilización de metales por transformación	72
IV.3 Hidrocarburos	72
IV.4 La importancia del intercambio genético en la degradación de sustancias xenobióticas	75
IV.4.1 Intercambio genético	75
IV.4.2 Desarrollo molecular	78
IV.4.3 La ecología de la transferencia genética	80
IV.4.4 Abastecimiento de genes	81
IV.5 Contribución de los procesos biotecnológicos al medio ambiente	82
IV.5.1 Evaluación del riesgo	83
CONCLUSIONES	87
BIBLIOGRAFÍA	89

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Aceptor final de electrones
AH ₂	Energía almacenada de la materia orgánica
ADP	Adenosin difosfato
ATP	Adenosin trifosfato
B	Compuesto orgánico oxidado
BH ₂	Compuesto orgánico reducido
BAP	Biomasa asociada al producto
COD	Carbono orgánico disuelto
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DH ₂	Donador de electrones
FP	Flavoproteínas
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
H ₂	Hidrógeno
LPS	Lipopolisacáridos
NH ₄ ⁺	Amonio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotido (reducido)
NO ₃ ⁻	Nitrato
NTK	Nitrógeno total Kjeldahl
O ₂	Oxígeno
PAU	Productos asociados a su utilización
PMS	Productos microbianos solubles

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Desde tiempo atrás se sabe que se produce degradación microbiana de sustancias orgánicas tanto en aguas naturales como en residuales con mayor carga orgánica, las cuales son descargadas en los cuerpos de agua. Este proceso se denomina autopurificación natural de las aguas.(3)

El crecimiento demográfico y la expansión industrial han dado como resultado una demanda excesiva de esta capacidad de autopurificación de las aguas, lo que ha hecho que aumenten los esfuerzos por clarificar las aguas residuales parcial o totalmente, mediante diversos métodos entre los que se encuentra el biológico.

Las aguas residuales domésticas, industriales y comerciales, contienen una gran diversidad de sustancias en forma insolubles y solubles, las cuales son aprovechadas por los microorganismos para su desarrollo (multiplicación) y para procesos metabólicos (conservación), lo que permitirá removerlas del agua residual. La conversión de dichas sustancias puede realizarse en un medio que contenga oxígeno (aerobio) o que carezca de él (anaerobio).

La biotecnología en el medio ambiente para el control de la contaminación utiliza procesos biológicos para remoción de contaminantes de agua contaminada, agua residual y otros medios. Un proceso biológico es un sistema de ingeniería en el que intervienen los microorganismos adecuados en cantidad suficiente para eliminar la concentración de contaminantes. Por lo tanto, con el advenimiento de la biotecnología en el medio ambiente significa que se deben encontrar mejores vías para la identificación y mejor utilización de los microorganismos capaces de realizar el tratamiento deseado.

Los indicadores en el proceso de tratamiento del agua residual son las bacterias. Las aguas residuales que contienen compuestos orgánicos biológicamente degradables constituyen los medios nutritivos para las bacterias, pues allí pueden crecer, creando así las condiciones necesarias para el desarrollo y la multiplicación de microorganismos vivientes de otros niveles tróficos.

Con lo expuesto anteriormente, parecen estar resueltos los problemas de tratamiento de las aguas residuales, lo que ha generado la "industrialización de microorganismos" para tales fines, por lo que actualmente se promueven tanto a nivel industrial como doméstico el uso de productos biológicos importados, principalmente, con lo que para el primer nivel industrial, sugieren que cumplirán con la legislación sobre descargas de aguas residuales y por otro en nuestros hogares evitaremos problemas de diversa índole como son: la acumulación de grasas en desagües, la eliminación de lodos en fosas sépticas, etc.

La importación de los mencionados productos biológicos actualmente se enfrenta a la siguiente "problemática", no existe legislación que regule desde su entrada al país, almacenamiento, utilización, efectos al medio ambiente, etc.

Objetivos

- Recopilar información especializada y la que es aplicada por los especialistas en el tema que sustente el uso de productos biológicos en los procesos de tratamiento de aguas residuales.
- Revisar la fisiología de los microorganismos utilizados en los procesos de tratamiento de agua residuales
- Comentar sobre la Regulación sanitaria de los mismos.

CAPITULO II

ANTECEDENTES

Los métodos biológicos naturales fueron aplicados incluso en tiempos de la cultura grecorromana, con fines distintos a los de la purificación, su primera aplicación fue para riego de jardines. El uso sistemático de métodos de tratamiento de aguas residuales controlados se inició el siglo pasado (3).

Los avances en el tratamiento de las aguas residuales empezó cuando las condiciones de los cuerpos receptores en las zonas industrializadas se volvieron intolerables.

A mediados del Siglo XIX se hallaba muy difundido el uso de los denominados campos de drenaje, hasta que se detectaron los problemas de higiene que los mismos originaban. Desde entonces, se fueron introduciendo cada vez más métodos para el tratamiento de las aguas residuales de procedencia doméstica.

Se fomentó el desarrollo de métodos artificiales de tratamiento, éstos se aplicaron primero como tratamiento preliminar a los procesos naturales, y con el transcurso del tiempo se les llegó a considerar como trenes de tratamiento. Al principio, el proceso se utilizaba para disminuir la emanación de olores desagradables en los campos de drenaje durante la etapa preliminar del tratamiento de las aguas residuales. En 1882 y 1884, se establecieron plantas de tratamiento químico en las que utilizaban sulfato de calcio, de aluminio o de hierro.

La utilización intencional de procesos biológicos para tratar las aguas residuales sólo pudo iniciarse después de que Koch y otros descubrieron el potencial de las bacterias en el Siglo

XIX. Los nuevos materiales para el proceso de filtración biológica y un mejor entendimiento de los procesos biológicos han permitido avances sustanciales en este campo.

Desde tiempo atrás se conoce la aplicación de procesos de digestión para estabilizar los lodos de las aguas residuales. El método de estabilización aerobia de lodos comenzó a difundirse a partir de la década de los 50's, inicialmente se aplicaba en sistemas pequeños pero en la actualidad se utiliza en plantas a gran escala.

El uso de sistemas y equipos técnicos posibilitó el control y la mayor aplicación de procesos biológicos (que en condiciones naturales se produce en las aguas naturales sin intervención del hombre), en los sistemas de tratamiento del agua, en un espacio comparativamente más reducido. En las diferentes etapas biológicas de las plantas de tratamiento, se encuentran generalmente cultivos mixtos en cuanto a especies de microorganismos.

La estabilización - es proceso redox por el cual los microorganismos aprovechan las sustancias disueltas, bajo condiciones aerobias, anaerobias y facultativas. En general, los productos biológicos que se están importando son cultivos mixtos de microorganismos, los cuales deben desarrollarse en las condiciones para los usos bajo los cuales fueron aislados.

II.1 MICROORGANISMOS QUE INTERVIENEN EN PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES Y SU FUNCIÓN

II.1.1 ACTINOMICETOS

Los actinomicetos son un grupo de microorganismos que pertenecen al reino Procariotae, poseen características generales de organismos procariotes y de hongos, ya que contienen

peptidoglicanos, carecen de membrana nuclear y organelos y por otro lado muestran algún grado de reproducción real durante una etapa de su ciclo de vida y micelio aerobio. Su reproducción es más lenta que las bacterias y están normalmente presentes en el proceso de tratamiento de aguas residuales. (5)

Papel de los Actinomicetos en las Operaciones del Tratamiento de Aguas Residuales

Los actinomicetos han sido identificados como habitantes en los procesos biológicos de aguas residuales y saprófitos en tierra, pero en general se presentan en menor número que otros microorganismos. Los géneros más frecuentemente reportados en procesos de tratamiento de aguas residuales son: Arthrobacter, Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia y Rhodococcus.

Crece en un amplio rango de compuestos orgánicos, incluyendo sustratos recalcitrantes (difíciles para degradar), tales como hidrocarburos de cadena larga, pesticidas, compuestos aromáticos complejos y en biomasa microbiana muerta, por lo que son importantes en la remoción de estos compuestos. También pueden crecer sobre compuestos fácilmente degradables, como azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular. Sin embargo, generalmente, crecen más lentamente sobre estos compuestos en comparación con las bacterias. Algunos requieren oxígeno, mientras otros pueden ser anaerobios facultativos o anaerobios estrictos. La mayoría crece en el rango de pH de 6.0 a 8.5.

Los actinomicetos tienen la ventaja para sobrevivir sin nutrientes por grandes periodos (varias semanas), comparando con otras bacterias (muchas horas a pocos días), lo que es favorable para ellos.

II.1.2 PROTOZOARIOS

Protozoarios significa "animales primitivos", son unicelulares microscópicos, miden de 5 a 1000 μ , por lo que son visibles con ayuda de microscopio. Existe gran diversidad morfológica y fisiológica en el mismo grupo.

Son células libres, esencialmente acuáticas; viven en agua dulce, salada y ambientes marinos. Las plantas de tratamiento de aguas residuales aerobicas están colonizadas con protozoarios relacionándolos con el mejoramiento de la calidad del efluente. Los miembros de los subfilum Sarcostigophora y Ciliophora han sido encontrados en el proceso de tratamiento de aguas residuales. Los primeros incluyen a organismos que contiene flagelos y pseudópodos (amebas), órganos que utilizan para su transporte y alimentación. Dentro de los flagelados existen especies parcial o totalmente autótrofas (absorben luz solar y utilizan bióxido de carbono), por lo que comparten algunas características de algas, y los que han denominado como animales flagelados, incoloros y no comparten características con algas.

Con relación al subfilum Ciliophora, se distinguen por contener cilios en alguna etapa de su vida rodeando al protozooario y dentro de su boca (especializados para su alimentación), este grupo se ha reportado como el mas dominante en el tratamiento de aguas residuales aeróbico.

Los protozoarios encontrados en plantas de tratamiento de aguas residuales pertenecen a uno de los siguiente cuatro grupos nutricionales: autótrofos, organismos saprobios, fagótrofos y carnívoros. Todos los autótrofos son flagelados, y son productores primarios capaces de absorber luz solar y fijar dióxido de carbono, almacenan compuestos orgánicos para ser consumidos por especies que comen plantas. Además de luz requieren de iones inorgánicos y elementos traza, los cuales están presentes en el agua residual. La luz se considera el

factor limitante para estos organismos y consecuentemente no estarán presentes en aquellos procesos de tratamiento donde no haya luz.

Los organismos saprobios son flagelados del tipo animal y no contienen clorofila por lo tanto no necesitan luz solar pero utilizan compuestos orgánicos disueltos en el agua residual. Muchos de estos protozoarios requieren vitaminas, las cuales son producidas por las bacterias. Compiten con las bacterias heterótrofas por los complejos orgánicos del agua residual.

Los fagótrofos se alimentan principalmente de bacterias pero sus requerimientos nutricionales son compuestos complejos. Existen reportes de que no todas las bacterias forman parte de su dieta. Otras investigaciones muestran que las bacterias productoras de pigmentos son tóxicas a las amebas y ciliados.

Los protozoarios carnívoros se alimentan de otros protozoarios. En los procesos de las plantas de tratamiento generalmente los contienen, estos son ciliados peritricos y succionadores.

El oxígeno disuelto, es uno de los factores más importantes que determinan la ausencia o presencia de algunas especies, considerando si son aerobios o anaerobios.

La temperatura, no es un factor limitante, aun no se ha demostrado relación entre su presencia con este factor.

pH y Concentración de Dióxido de Carbono.- el pH en las plantas de tratamiento normalmente no varía fuera del rango de 6.0 a 8.0. La mayoría de las especies de

protozoarios se desarrollan en este rango de pH, por lo que con un pH menor de 5 es peligroso para estos organismos.

En la naturaleza, el pH está íntimamente ligado con la concentración de bióxido de carbono y la actividad biológica en el agua, condicionándose la presencia de organismos vivos, ya que pueden existir gradientes químicos los cuales juegan una parte importante en el manejo de una comunidad de protozoarios de vida libre asociados con microorganismos filamentosos.

El bióxido de carbono, la fuente principal de carbono de flagelados fotosintéticos es el factor principal adverso y limitante en la distribución de ciliados. La capacidad de resistir es la característica distintiva de las especies asociadas con medio ambientes contaminados con orgánicos.

La luz, como fuente de energía de organismos fotosintéticos es muy limitada en algunos procesos de tratamiento de aguas residuales. Esta condición es la principal de encontrar pocos protozoarios fotosintéticos.

Los residuos tóxicos, tales como fenol son biodegradables o con una dilución tal que los efectos tóxicos son inadvertidos. Para el caso de metales en concentraciones de 1 a 3 mg/l pueden tener efectos letales en cultivos puros.

Nutrientes Orgánicos e Inorgánicos, además de los materiales solubles orgánicos e inorgánicos el agua cruda residual contiene cantidades considerables de material coloidal suspendido y bacterias. Los compuestos orgánicos solubles proveen de alimento constante para organismos saprobios, y las bacterias son alimentos para protozoarios fagotróficos.

Se han observado tasas de crecimiento, para Vorticella sp. entre 15 a 20 cm/seg; para Carchesium velocidades de 5 a 15 cm/seg.

Papel de Protozoarios en las Operaciones de las Plantas de Tratamiento

Los protozoarios impactan en la calidad del efluente en diversas formas; lo más importante es la remoción de bacterias por predación para la formación de flóculos, además de degradar residuos orgánicos.

Protozoarios en cultivos puros pueden flocular partículas de materias en suspensión y bacterias aumentando la clarificación del efluente y formación de lodo. Algunos protozoarios tales como amebas, pueden ingerir bacterias floculadas con lo que se reduce la formación de lodos.

No solo se remueven exceso de bacterias de aguas residuales, también se favorece el desarrollo de bacterias "sanas" produciendo un flóculo. El tratamiento de aguas residuales evaluada por el consumo de oxígeno acompañado por la degradación, ocurre más rápido y fortalece los procesos en presencia de ciliados y bacterias que cuando solo se encuentran bacterias.

Es a través de la predación que los protozoarios indirectamente disminuyen la actividad bacteriana limitando su número, debido a que capturan bacterias en su estado fisiológico joven por lo que su tasa de asimilación de materiales orgánicos está grandemente incrementada.

II.1.3 ROTIFEROS

Los rotíferos son útiles en la estabilización de residuos orgánicos. Ayudan a estimular la actividad por descomposición de la microflora, mejoran la penetración de oxígeno y reciclan nutrientes minerales. A diferencia de los protozoarios, son raramente encontrados en gran cantidad en los procesos de tratamiento de aguas residuales. Solo en sistemas con aireación son las formas predominantes. Los rotíferos pueden consumir grandes fracciones de floculos de lodos activados que los protozoarios no utilizan.

Los rotíferos son encontrados en todos los habitats acuáticos y son los más simples y más pequeños macroinvertebrados. El filum Rotifera es un pequeño grupo de organismos con aproximadamente 2000 especies identificadas. El nombre de rotíferos significa soporte de llantas

y proviene de las palabras latinas "rota" de llanta y ferre "soportar".

El tamaño de los rotíferos es de 40-500 μm y tienen como promedio de vida de 6 - 45 días.

La mayoría de los rotíferos son incoloros, solo con la ingestión de alimentos aparentan tener color.

Los rotíferos semejan sacos esféricos o gusanos delgados, tienen tres distintas regiones en el cuerpo, cabeza, tronco y pies. La cabeza está compuesta por corona, boca abierta y mastax, en donde se encuentran mandíbulas conocidas como el trophus. El trophus es una parte muy fuerte del cuerpo localizada en la cavidad bucal que puede ser de uno o diferentes tipos: masticadores, moledores, chupadores, predadores obligados (con mandíbulas reducidas pero con ganchos). Los diferentes tipos de trophus es una de las muchas características morfológicas usadas para su identificación.

La función del trophus es filtrar y capturar partículas de alimento. Los rotíferos se alimentan de bacterias, detritos y protozoarios mientras que otros se alimentan de fitoplancton o algas, los cambios en las aguas residuales en la fuerza y composición puede resultar en cambios en el número y tipos de rotíferos en el proceso de tratamiento.

Los rotíferos se encuentran en número pequeño en los procesos de tratamiento de aguas residuales, poseen buen apetito, con lo que compensan su número reducido. Se han reportado especies que consumen 12,000 células de fitoplancton/día.

El esófago, el estómago, el tracto intestinal, gónadas y ano están localizados en el tronco del rotífero.

El pie es una estructura muscular con la cual se traslada y dirige el rotífero, otros tienen puntillas y glándulas unificadoras cuya es para transportarse.

Los rotíferos también se transportan por nado o arrastre libre. El nado libre se produce por la acción de las corrientes producidas por los cilios de la cabeza y la corona dándose dirección y movimiento controlado con el pie, el cual actúa como timón.

Papel de los rotíferos en las operaciones de tratamiento de aguas residuales.

Participan en la estabilización de residuos orgánicos de lagos y filtros rociadores y lodos activados. Esto incluye estimulación de la actividad de la microflora y su descomposición mejorando la penetración de oxígeno y reciclando nutrientes minerales. Esta acción provee un alto nivel en el tratamiento de aguas residuales.

En procesos de filtros rociadores, la contribución de los rotíferos es eliminar la capa superior de microorganismos. El oxígeno es capaz de penetrar a capas inferiores por lo que se incrementa la aireación resultando la estabilización de la materia orgánica por los microorganismos.

En el proceso de lodos activados, por el consumo de grandes cantidades de bacterias, los rotíferos ayudan a mantener la población bacteriana en su estado de crecimiento. Además, la turbiedad del efluente secundario se reduce ya que los rotíferos consumen lo que no forma parte de los flocos bacterianos. Los rotíferos facilitan la formación de los flocos por fraccionamiento lo que permite penetración de oxígeno al floculo. La sustancia mucosa segregada por la boca o pie también participa en la formación del floculo y este puede actuar como sitio de unión entre las bacterias con otros materiales.

Resumiendo en los procesos aeróbicos con el gran consumo de bacterias y sólidos se contribuye a la disminución de DBO y los rotíferos que viven en la lama evitan condiciones anaerobias.

II. 1.4 NEMATODOS DE VIDA LIBRE.

Los nemátodos de vida libre son macroinvertebrados terrestres (animales sin columna vertebral) capaces de vivir en el habitat de agua dulce. Las tierras están infestadas con nemátodos de vida libre, estos macroinvertebrados continuamente entran a las plantas de tratamiento de aguas residuales y pueden estar presentes en procesos de tratamiento aerobico, en donde su número es grandemente variado.

Los nemátodos de vida libre incluyen gusanos en forma de anguila, redondos, lombriz filiforme (nemátodo ascaride). Son macroscópicos miden de 0.5 a 3 mm de largo y de 0.002 a 0.005 mm de ancho. En apariencia son similares las especies.

Los nemátodos no están segmentados, pero parecen segmentados por lo delgado de su cutícula o epidermis. Tienen cuerpo cilíndrico terminado en punta; la boca y labios están localizados en terminal anterior, así como la cabeza, el esófago y tracto digestivo. Poseen sistemas de excreción, muscular, nervioso y reproductivo. Se transportan por movimientos musculares, de los fluidos del cuerpo por las propiedades de elasticidad de la cutícula. Esta forma de locomoción permite al nemátodo moverse por la tierra, fango, tejidos de plantas y de otros animales y también le permite nadar.

Los nemátodos encontrados en agua dulce o en agua de drenaje, se desarrollan en medio ambiente aeróbico donde el alimento sea abundante, su dieta consiste en algas, plantas acuáticas, bacterias, material orgánico en descomposición, otros nemátodos, protozoarios y rotíferos.

Los nemátodos pueden ser encontrados en gran número en el efluente de las plantas de tratamiento, particularmente de los procesos de lodos activados, debido a su motilidad y resistencia a la cloración. Actualmente no han sido encontradas correlaciones entre la presencia de diversos géneros de nemátodos y los procesos de tratamiento aeróbicos.

Papel de los nemátodos en las operaciones del tratamiento de aguas residuales

Los nemátodos realizan diversas actividades para la estabilización general de aguas residuales, lodos, lodos-fertilizantes. Lo más importante se realiza en el proceso de filtros rociadores.

Construyen cuevas o túneles en la biopelícula conservando poros de la misma con lo que el oxígeno puede penetrar a lo profundo de la biopelícula incrementándose la actividad microbiana y consecuentemente la degradación de residuos orgánicos. Asimismo, se reciclan compuestos ricos en energía y nutrientes los cuales promueven la actividad microbiana.

II.1.5 BACTERIAS COLIFORMES

Las bacterias coliformes, especialmente coliformes fecales son flora natural y normal de intestinos de animales de sangre caliente incluyendo humanos. Los coliformes coexisten en materia fecal con las patógenas -causantes de enfermedad- tales como ciertas bacterias, virus y protozoarios. Las bacterias coliformes fecales son las más abundantes en materia fecal y también pueden encontrarse en tierra y vegetales.

Los coliformes se encuentran en altas concentraciones en aguas residuales y generalmente se distribuyen o no están presentes en otros habitats. La presencia de bacterias coliformes en agua se considera como indicador de contaminación.

Coliformes totales. Incluye a los coliformes fecales y una amplia variedad de otras especies. Son Gram negativos anaerobios facultativos y no forman esporas. Están asociados con materia fecal, pero algunas especies florecen con cierta vegetación, en tierra y en algunos procesos industriales.

Coliformes fecales. Son un subgrupo de coliformes totales. Son termotolerantes, por lo que son capaces de vivir en animales de sangre caliente.

II.2 INNOVACIONES EN PROCESOS BIOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN

En la biotecnología del medio ambiente es fundamental la combinación la ingeniería y de microbiología ecológica entre otras materias. Los controles a través del proceso son usados para seleccionar los tipos y cantidades de los diversos microorganismos para la formación de un sistema ecológico interrelacionado con el fin de que se realice un tratamiento. Estos controles son sobre el abastecimiento del sustrato, retención celular y proceso "principal" de tratamiento. El control sobre el suministro de sustrato, es difícil, por la gran variedad de bacterias que pueden ser seleccionadas o eliminadas por la presencia de diversos donadores y aceptores de electrones disponibles como sustrato. Los contaminantes más comunes del agua residual son donadores o aceptores de electrones, por lo que la selección de los microorganismos puede realizarse controlando otros sustratos. Por ejemplo, NH_4^+ es donador de electrones común en los contaminantes del agua residual. Cuando se abastece oxígeno actúa como aceptor de electrones, entonces las bacterias nitrificantes son capaces de ganar energía y desarrollar a través de oxidación aerobia de NH_4^+ a NO_3^- . Otro contaminante común donador de electrones es la materia orgánica, normalmente medida como demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Cuando el oxígeno es abastecido como aceptor de electrones, las bacterias heterótrofas aerobias se desarrollan a través de oxidación aerobia del carbono del DBO a bióxido de carbono. Por otro lado, si no se cuenta con aceptor de electrones, el consorcio de microorganismos fermentadores, incluyendo las arqueobacterias productoras de metano, pueden ser seleccionadas, en este caso la DBO es convertida a metano (líquido a gas) por desnitrificación cuando un aceptor de electrones es abastecido, tal como materia orgánica, azufre reducido o hidrógeno. (8)

La retención de células como control de tratamiento en su forma más simple se utiliza un reactor de gran volumen el que generalmente es caro y prohibitivo por el tamaño de los

contenedores. La estrategia de retención de células que permite volúmenes pequeños con altas concentraciones de células son: 1) Sedimentación con reciclamiento, 2) Fijación.

Cuando se agregan bacterias en formas de tamaños entre 50 -200 μm , se les denominan floculos, los cuales pueden concentrarse por sedimentación en un clarificador. Este concentrado de células es reciclado a un reactor principal, el que se abastece con los sustratos apropiados. El efluente clarificado contiene muy poca biomasa la que es concentrada por sedimentación y reciclada. El sistema de reciclamiento de células son llamados sistemas de lodos activados.

La segunda estrategia de retención es fijación. Este proceso utiliza una gran cantidad de superficie sobre un medio, tal como roca, tierra o plástico. Las bacterias son fijadas para formar biopelículas, las que son agregadas en capas de bacterias y polímeros extracelulares. El flujo de agua pasado por la biopelícula, extrae los contaminantes de los líquidos mientras se fijan microorganismos en el mismo proceso. Los microorganismos realizan las mismas reacciones que pueden ser seleccionadas y acumuladas por el reciclamiento de las células y por la retención de la biopelícula. Además de la gran acumulación de biomasa, esta retención celular tiene la función de selección, aumentando el abastecimiento de sustrato. Algunos microorganismos tales como los nitrificantes y metanogénicos se desarrollan más despacio que otros, pueden formar poblaciones estables solo cuando el tiempo de retención celular es de 10 a 15 días o mayor. Estos microorganismos de desarrollo lento no son seleccionados si la retención celular es pobre, aunque los sustratos estén disponibles, estas células retenidas pueden ser usadas para seleccionar otra especie de crecimiento lento.

Otro control sobre un proceso de tratamiento biológico es la carga, este concepto está relacionado con el tiempo de contacto entre los microorganismos y los contaminantes y que su concentración sea menor al standard del tratamiento. La carga involucra un análisis de la

cinética del proceso, lo que implica que se debe realizar un estudio especial para cada tipo de agua a tratar lo cual no es objeto de este trabajo.

En la tabla II.1, se muestran algunos ejemplos de procesos biológicos usados en biotecnología del medio ambiente.

TABLA II.1

Ejemplos comunes de procesos biológicos con la biotecnología del medio ambiente

Nombre del Proceso	Donador de electrones	Aceptor de electrones	Retención de células
Lagunas aerobias	DBO	O ₂	Volumen
Lodos activados convencional	DBO y/o NH ₄ ⁺	O ₂ O ₂	Reciclamiento de células
Filtros biológicos de contacto	DBO y/o NH ₄ ⁺	O ₂ O ₂	Biopelícula Biopelículas
Denitrificación	DBO, H ₂ ó S ²⁻	NO ₃	Reciclamiento de células o biopelícula
Filtros anaerobios	DBO	DBO ó CO ₂	Biopelícula
Digestión anaerobia	DBO (en forma de lodos)	DBO ó CO ₂	Volumen
Reactor ascendente	DBO	DBO ó CO ₂	Biopelícula formada sobre granulos con lodos

Aunque los procesos biológicos han sido utilizados por muchas décadas, las innovaciones tienen el propósito de aumentar la eficiencia.

Se deben considerar tres factores en la innovación de los tratamientos y su implantación: regulación sanitaria, presiones económicas y los avances científico-tecnológicos.

En el campo de la investigación, se está tratando de explicar y explotar más sobre las diferencias entre los sustratos, partes celulares, células dentro de una comunidad y durante el proceso. Por lo tanto, para el control se debe describir el nivel molecular, celular, de comunidades y dentro del reactor.

El control del sustrato en el proceso.

Tradicionalmente un sustrato es un donador de electrones disuelto que tiene una tasa de crecimiento limitada. Algunas veces el concepto se extiende para incluir los aceptores de electrones no disueltos.

Las características de los sustratos tradicionales es que son moléculas disueltas y que tienen una tasa de crecimiento limitada. La tabla II.2, compara el sustrato tradicional con otros 4 tipos de sustratos lo que es importante en la innovación de procesos biológicos.

La materia orgánica coloidal, es un sustrato particulado, últimamente se considera como un donador de electrones diferente al tradicional que primero debe ser capturado e hidrolizado para ser utilizado por la bacteria. Por lo tanto el fenómeno fisicoquímico del transporte de partículas, adhesión e hidrólisis extracelular enzimática son pasos adicionales que pueden afectar la tasa de remoción y utilización del donador de electrones.

TABLA II.2

Principales características de cinco sustratos en la innovación de procesos biológicos

1. Tradicional

- a. Donador de electrones disuelto (y algunas veces aceptor)
- b. Tasa de crecimiento limitada

2. Particulado

- a. No disuelto, pero coloidal
- b. Debe estar hidrolizado antes de estar disponible para que sea un donador de electrones
- c. Frecuentemente debe ser capturado por mecanismos fisicoquímicos antes de que ocurra la hidrólisis

3. Almacenamiento interno

- a. Presente internamente, generalmente incluido como un cuerpo sólido
- b. Sirve como almacenamiento de electrones y energía
- c. Se reconstruye y se agota (cíclicamente) con el cambio de las condiciones del medio ambiente

4. Secundario

- a. Contribución insignificante para el crecimiento y mantenimiento de la célula; por lo tanto
- b. No es limitante de la tasa de crecimiento
- c. Requiere el consumo de un sustrato primario para la creación y sostenimiento de la masa celular
- d. Puede ser manejado a muy bajas concentraciones

5. Producido

- a. Producido como resultado natural del metabolismo celular
- b. Consumido por la misma bacteria y otras
- c. Difícil para ser biodegradado, sus fracciones tienden a acumularse

El almacenamiento interno de sustratos ha sido incrementado por las bacterias formadoras de flocúlos y las que remueven fósforo. En altas concentraciones de donadores de electrones solubles orgánicos (acetato) y una deficiencia de aceptores de electrones, las bacterias son capaces para absorber el donador de electrones y almacenarlo como polímero no disuelto, tal como polihidroxibutirato (PHB). Este material almacenado puede ser hidrolizado y oxidado cuando los sustratos externos donadores de electrones están agotados aunque son necesarios aceptores de electrones. La energía almacenada como sustrato en forma interna es seleccionada por los microorganismos en condiciones óptimas o de carencia del donador de electrones. Tal selección tiene importancia práctica, ya que bajo condiciones de almacenamiento de polímeros forman buenos flocúlos, por lo que pueden acumular mayores cantidades que la cantidad normal de fósforo. En el caso de almacenamiento extra de fósforo es en la forma de polifosfato, para ser usados en condiciones fermentativas.

La biodegradación de compuestos orgánicos a bajas concentraciones ha servido para diferenciar entre sustratos primarios y secundarios. Un sustrato primario normalmente es un nutriente tradicional y tiene tasa de crecimiento limitada por el donador de electrones. Por otro lado, un sustrato secundario es un donador de electrones en baja concentración que sirve para mantener la biomasa. Por lo tanto se consume biomasa con la utilización del sustrato primario pero por la presencia del sustrato secundario no se limita su crecimiento.

La clase final de sustrato es el que se produce, ya que es formado y liberado como parte del metabolismo celular. Los materiales solubles liberados por los microorganismos son llamados productos microbianos solubles (PMS). Una porción de estos se forman en proporción directa a la utilización del sustrato se les conoce como productos asociados a sus utilización (PAU). La segunda porción de PMS son formados a través del metabolismo basal y decae o se activa la formación de biomasa asociada al producto (BAP).

Célula bacteriana en el proceso

En la tabla II.3, se mencionan ejemplos de las principales diferencias de las estructuras internas de las células bacterianas. Como son sustratos internos y contenido genético.

TABLA II.3

Ejemplos de la diferenciación estructural celular

1 Sustratos internos

- a. Almacenamiento interno, tal como PHB y polifosfato (ver tabla II.2)
- b. NADH/NAD
- c. ATP/ADP

2 Contenido genético

- a. Inmóvil y esencial
- b. Móvil y accesorio

Las reacciones microbianas ocurren a través de múltiples vías, que gradualmente oxidan o reducen sustratos, produciendo acarreadores de electrones (NADH) y energía (ATP) que actúan como fuentes internas de alimento. Las cinéticas de utilización para sustratos externos puede ser afectada por el estado de oxidación-reducción de los sustratos internos. Por ejemplo, un decremento en la concentración interna en la relación NADH/NAD puede incrementar la tasa de utilización del donador de electrones, mientras que un decremento en la concentración interna en la relación ATP/ADP puede incrementar la tasa de utilización del aceptor de electrones. Así, las expresiones cinéticas normalmente usadas para describir las tasas de utilización de sustrato en términos de concentración externa (función de MONOD) contienen parámetros que no son constantes, pero depende de la concentración interna.

La segunda característica celular estructuralmente importante involucra a la capacidad genética de los microorganismos. Los genes presentes que codifican para todas las funciones celulares se almacenan y se replican en el DNA. La mayor parte del DNA de la célula bacteriana está contenido en los cromosomas, los cuales están caracterizados por ser esenciales e inmóviles. La inmovilización significa que los cromosomas no son transferidos a los límites celulares. Cuando una célula se divide en dos células hijas, el cromosoma replicado confiere a cada una de sus células hijas un cromosoma que codifica para las funciones que son requeridas para el crecimiento y mantenimiento normal de la célula.

Muchas bacterias contienen "otro" DNA además del cromosomal. Estos elementos- incluyendo plásmidos, transposones y DNA viral- generalmente son más pequeños que el cromosomal, móviles y condicionantes, de estos los más importantes parecen ser los plásmidos. La movilidad se refiere a que pueden ser transferidos de una célula a otra independientemente de su replicación. El mecanismo de transferencia más común parece ser la conjugación, en la cual el plásmido es replicado, independientemente de la división celular debido a que son transferidos de una célula donadora a una receptora.

Se consideran secundarios o concomitantes debido a que las características codificadas no son esenciales para las operaciones rutinarias de la célula. Cuando el plásmido es accesorio del DNA, codifica para usos muy interesantes y reacciones especiales como son: biodegradación de compuestos halogenados y otros compuestos químicos, como son la resistencia a antibióticos y "utilización" de metales pesados.

Algunos de estos genes que realizan la biodegradación o resistencia a compuestos químicos son encontrados en plásmidos y han contribuido para la innovación de tratamientos, lo que sugiere que las estrategias tradicionales para el control de los procesos pueden no ser las

adecuadas en la selección de la bacteria que degrade los compuestos orgánicos a diversas concentraciones.

El control de la comunidad microbiana en el proceso

La comunidad microbiana es el siguiente nivel en el control del proceso. Los procesos del medio ambiente casi siempre involucran mezclas de cultivos. El control en el balance ecológico en las comunidades microbianas es una área especial de investigación que se resume en la tabla II.4.

TABLA II.4

Áreas de investigación sobre la comunidad microbiana

1. Formación del floculo contra organismos heterótrofos
2. Coexistencia de heterótrofos y autótrofos
3. Los que contienen genes contra los libres de genes

La competencia entre los formadores de floculos contra los heterótrofos filamentosos en los procesos de lodos activados es de gran importancia para el control de la comunidad. La retención de células es útil en tratamientos con lodos activados, ya que las bacterias deben agregarse en floculos densos y grandes. Cuando los floculos contienen además gran cantidad de bacterias heterótrofas filamentosas que crecen extendiendo sus largos filamentos fuera del floculo primario, el lodo sedimentado y su compactación se dificulta. Este tipo de

lodo formado con muchos filamentos es denominado lodo "inflado" y deteriora la calidad del efluente y produce fallas en la retención celular.

Las bacterias formadoras de floculos filamentosos utilizan como sustrato a los donadores y aceptores de electrones. Estudios de investigación han identificado las condiciones más aptas para la formación del floculo de este tipo reportándose que son favorecidos por tres principales condiciones:

1. Alta DBO con baja concentración de oxígeno disuelto
2. Largos tiempos de retención
3. Entrada de azufre reducido

Ciertos heterótrofos formadores de floculo son capaces de almacenar internamente sustrato cuando la concentración del donador de electrones es muy alta, por lo que pueden competir sobre los filamentosos, los cuales no son capaces de almacenar donadores de electrones y por lo tanto mueren de hambre.

Los controles ecológicos sobre la comunidad se realizan regularmente por la exposición de los lodos activados a periodos largos de concentraciones altas de DBO.

El segundo grupo mencionado en la tabla II.4 es la coexistencia de bacterias autótrofas y heterótrofas. Las heterótrofas usan carbono orgánico como fuente de carbono (DBO), mientras que los autótrofos pueden reducir el carbono de la oxidación del bióxido de carbono durante la síntesis. El impacto de esta diferencia en la fuente de carbono es el que la energía y electrones necesarios para la síntesis de las células autótrofas es mucho mayor que para las heterótrofas. Así en el campo y tasa de crecimiento específico de los autótrofos son

sustancialmente menores que para heterótrofos. Cuando todos los sustratos están ampliamente disponibles, los autótrofos competitivamente están en desventaja debido a sus tasas de crecimiento lentas. La mayor competencia se encuentra entre heterótrofos aerobios y bacterias nitrificantes.

Con las diferentes fuentes de carbono, los heterótrofos y autótrofos compiten en otras vías, por ejemplo, muchas veces utilizan el mismo aceptor de electrones. Sin embargo, la forma más común de competencia es para espacios desables en flóculos o biopelículas. Los autótrofos de crecimiento lento pueden ser empujados hacia lugares con menores ventajas por el rápido crecimiento de los heterótrofos que pueden crecer rápidamente en lugares seleccionados y evitar o expulsar a los autótrofos, los lugares principales son casi siempre aquellos que tienen las mayores concentraciones en sustratos donadores y aceptores de electrones. La existencia simultánea de autótrofos y heterótrofos es deseable y algunas veces se requiere para el adecuado tratamiento, pero debe evaluarse considerando los resultados esperados. Investigaciones preliminares muestran que las especies que crecen lentamente tienden a ser relegadas a la profundidad de las biopelículas. Los microorganismos en estas capas generalmente se encuentran en desventaja ya que las concentraciones de sustrato son reducidas debido a la difusión de gradientes. Además, los sustratos que los heterótrofos también pueden usar están completamente agotados en las capas más externas de la biopelícula. Por otro lado, los autótrofos pueden estar protegidos en la profundidad de la biopelícula por lo que pueden mejorar su mantenimiento en una mezcla de comunidades de la biopelícula. La competencia ecológica por sustratos y espacio es un tópico nuevo de investigación que necesita mayor explicación práctica y científica.

La última parte de la tabla II.4, sobre las ventajas genéticas de las poblaciones y de acuerdo a la selección ecológica de los genes que codifican sobre los cromosomas de las especies de la comunidad, el control en la distribución de plásmidos puede alterar las capacidades

genéticas dentro de una misma especie. Por lo que la distribución de genes entre las especies a nivel de la comunidad puede imponerse sobre las comunidades normales.

El control en el proceso de tratamiento

Este control trata las interacciones entre los fenómenos biológicos y los no biológicos. En muchos casos, el control del proceso se implementa sobre el sustrato, célula y la comunidad. En la tabla II.5, se mencionan 3 áreas de investigación para el mejor entendimiento y control del proceso. En todos los casos, los fenómenos no biológicos son cruciales pero las relaciones en los niveles biológicos son importantes.

TABLA II.5

Ejemplos de control en el proceso de tratamiento

1. Establecimiento de macro y microzonas dentro del proceso, por ejemplo:
 - a. Diferencias entre aceptores de electrones: áreas aerobias, anóxicas y anaerobias
 - b. Concentraciones con altas y bajas concentraciones de donadores de electrones

2. Diferencias en los equipos
 - a. Mejoramiento de los clarificadores
 - b. Membranas

3. Exploración de mecanismos de remoción no biodegradables
 - a. Adsorción
 - b. Volatilización

El establecimiento de zonas dentro de los procesos es un ejemplo interesante de como el proceso de tratamiento se realiza mejor, las zonas son físicamente diferentes así como los sitios y tiempos dentro de un proceso. Como se muestra en la tabla II.5, estas zonas son caracterizadas por tener diferentes aceptores y donadores de electrones.

Uno de los casos más comunes de establecimiento de zonas de aceptores de electrones, es en un lodo denitrificante de aguas residuales que contienen DBO y nitrógeno total Kjeldahl (NTK). La DBO y el nitrógeno de amonio en el NTK son sustratos donadores de electrones que deben ser oxidados y removidos. La oxidación de amonio produce nitrato, el cual produce un posible aceptor de electrones que generalmente debe ser removido. El concepto de nitrificación del lodo depende del uso del oxígeno como aceptor de electrones para producir nitrato de amonio.

Subsecuentemente, el nitrato es usado como aceptor de electrones para oxidar DBO. La DBO restante debe ser oxidada aerobicamente con oxígeno como aceptor de electrones.

La zonificación es requerida para que se realicen las reacciones de denitrificación por las bacterias denitrificantes las cuales no deben ser expuestas a concentraciones de oxígeno disuelto. Por otro lado, la nitrificación cesa si la concentración de oxígeno disuelto que está en contacto con los nitrificantes es baja.

CAPÍTULO III

MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN BIORREMEDIACIÓN Y SU FISIOLÓGIA

III.1 EL PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS

En el tratamiento biológico de aguas residuales, el grupo más abundante de microorganismos son las bacterias, y este es el grupo de mayor importancia en términos de utilización de la materia orgánica presente en aguas residuales. Por lo que los principios básicos son aplicables a otros grupos de microorganismos. (7)

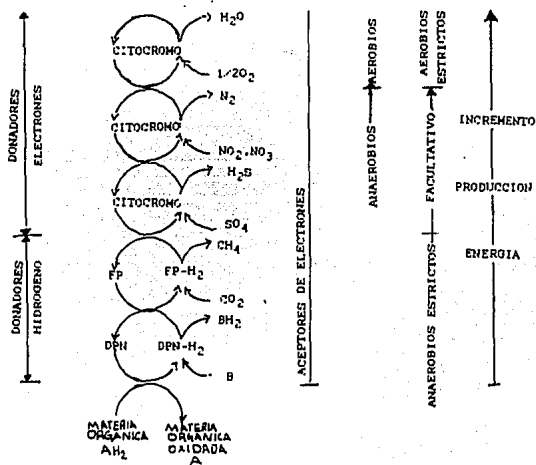
La materia orgánica de las aguas residuales es utilizada por los microorganismos a través de una serie de reacciones en las que son necesarias enzimas las cuales son proteínas o proteínas combinadas con moléculas orgánicas o inorgánicas de bajo peso molecular. Estas actúan como catalizadores formando complejos con los sustratos orgánicos los que son convertidos a productos específicos, liberando la enzima original para ser utilizada en la misma reacción. Las enzimas tienen un alto grado de especificidad al sustrato, por lo tanto la célula bacteriana debe producir diferentes enzimas para la utilización de los diferentes sustratos. Los microorganismos producen dos tipos de enzimas: extracelulares, las cuales convierten el sustrato fuera de la célula a una forma tal que pueda penetrarla y ser degradado por las enzimas intracelulares, las cuales están encargadas de las reacciones de síntesis y producción de energía para la célula. Normalmente el producto de una reacción catalizada por enzimas, inmediatamente se combina con otras enzimas hasta la elaboración del producto final, el cual es el requerido por la célula.

La reacción de oxidación se puede definir como el uso de oxígeno o la pérdida de hidrógeno del sustrato (fuente de alimento), para el caso de la glucosa es la pérdida de electrones.

Estas reducciones son descritas en términos de hidrógenos o donadores de electrones (sustrato) e hidrógeno o aceptores de electrones.

Los electrones perdidos por el donador son transportados por diversas vías bioquímicas hasta un último aceptor de electrones, que para una reacción aeróbica es el oxígeno. Los donadores de electrones orgánicos son utilizados en metabolismo heterótrofo, mientras que en el metabolismo autótrofo se usan donadores de electrones inorgánicos. Dependiendo del aceptor de electrones final será la cantidad de energía disponible del sustrato. En general las relaciones entre la producción de energía de los metabolismos aeróbicos y anaeróbicos está resumido en la figura III.1.

FIGURA III.1



La energía almacenada en la materia orgánica (AH_2) es liberada en los procesos biológicos por la deshidrogenación de los sustratos seguida de la transferencia de un electrón o electrones hasta un último aceptor. Se produce cantidad de energía por la oxidación de un mol de sustrato por el metabolismo aerobio cuando se usa como último aceptor de electrones el oxígeno. En la respiración facultativa, el oxígeno se enlaza a un nitrato o sulfato, produciéndose menor cantidad de energía en comparación con el metabolismo aeróbico. La menor cantidad de energía resulta de la respiración anaerobia estricta, donde la oxidación de AH_2 está acoplada con la reducción de un compuesto orgánico oxidado (B) a BH_2 , un compuesto orgánico reducido.

La preferencia por el uso de aceptores de electrones se basa en la producción de energía en un cultivo mixto como lo muestra la tabla III.1.

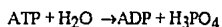
TABLA III.1

Preferencia en la selección de aceptores de electrones durante la oxidación microbiana de materia orgánica.

			↓
AEROBIO	$AH_2 + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + \text{ENERGÍA}$	DECREMENTO	
↓	$AH_2 + NO_3 \rightarrow N_2 + H_2O + \text{ENERGÍA}$	EN LA	
FACULTATIVO	$AH_2 + SO_4 \rightarrow H_2S + H_2O + \text{ENERGÍA}$	PRODUCCIÓN	
↓	$AH_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + H_2O + \text{ENERGÍA}$	DE	
ANAEROBIO	$AH_2 + B \rightarrow BH_2 + A + \text{ENERGÍA}$	ENERGÍA	↓

La utilización de los aceptores de electrones presentes en solución es en orden decreciente: oxígeno, nitrato, sulfato y compuestos orgánicos oxidados, por lo tanto, la formación de sulfuro de hidrógeno seguirá de una reducción de nitrato.

La energía producida en la célula por la oxidación de compuestos orgánicos e inorgánica o por la fotosíntesis es almacenada dentro de la célula en la forma de enlaces fosfato sobre una molécula de adenosin difosfato ADP formando adenosin trifosfato ATP, lo cual es conocido como fosforilación a nivel de sustrato. Cuando se requiere energía, ésta puede ser liberada y utilizada para otras reacciones, con la finalidad de formar los metabolitos necesarios para síntesis o movilidad, hidrolizando la molécula de ATP a ADP:



El segundo método de obtención de energía es la fosforilación oxidativa. Los electrones, normalmente pares, son producidos por la oxidación de un donador de electrones (DH_2) y transportados a través de un sistema de transporte de electrones hasta un aceptor final de electrones (A). El sistema de transporte de electrones está constituido por una serie de acarreadores de electrones integrados para que la gran cantidad de energía producida por la oxidación del donador de electrones se libere en pequeñas cantidades, las que son utilizadas en las reacciones de fosforilación endérgica de ADP a ATP.

Las reacciones de óxido-reducción son realizadas exclusivamente por enzimas, pero éstas para catalizar las reacciones dependen de su estructura, de co-factores, los cuales pueden ser metales o moléculas orgánicas, utilizándose éstas últimas también como acarreadores de electrones. De las más importantes co-enzimas es la nicotinamida adenina dinucleotido, conocido como NAD en su forma oxidada y $\text{NADH} + \text{H}^+$ en su forma reducida y las

flavoproteínas (FP). Los citocromos son pigmentos respiratorios que realizan reacciones de óxido-reducción y servir como acarreadores de hidrógeno.

En términos de remoción, la tasa de oxidación de carbono, nitrificación y desnitrificación dependen de la tasa de crecimiento microbiano y en particular de la tasa de crecimiento bacteriano. Los nutrientes se toman y transportan al interior de las células incrementándose el tamaño y masa de la bacteria así como la cantidad de enzimas y ácidos nucleicos.

Las células empiezan a dividirse cuando se han construido las enzimas apropiadas y se ha alcanzado la concentración adecuada para su reproducción aumentándose la población rápidamente. La tasa de metabolismo y en particular la tasa de crecimiento se limitan por su capacidad para procesar el sustrato.

En cultivos de sistemas cerrados la acumulación de metabolitos tóxicos, cambios en la concentración de nutrientes, y factores del medio ambiente como el oxígeno y pH pueden ser responsables para la declinación de la fase de crecimiento, decreciendo la densidad microbiana y consecuentemente la tasa de remoción de sustrato. La curva de crecimiento microbiano no es una característica básica de las células bacterianas pero es una respuesta a las condiciones del medio ambiente dentro de un sistema cerrado.

III.2 ENERGÍA METABÓLICA.

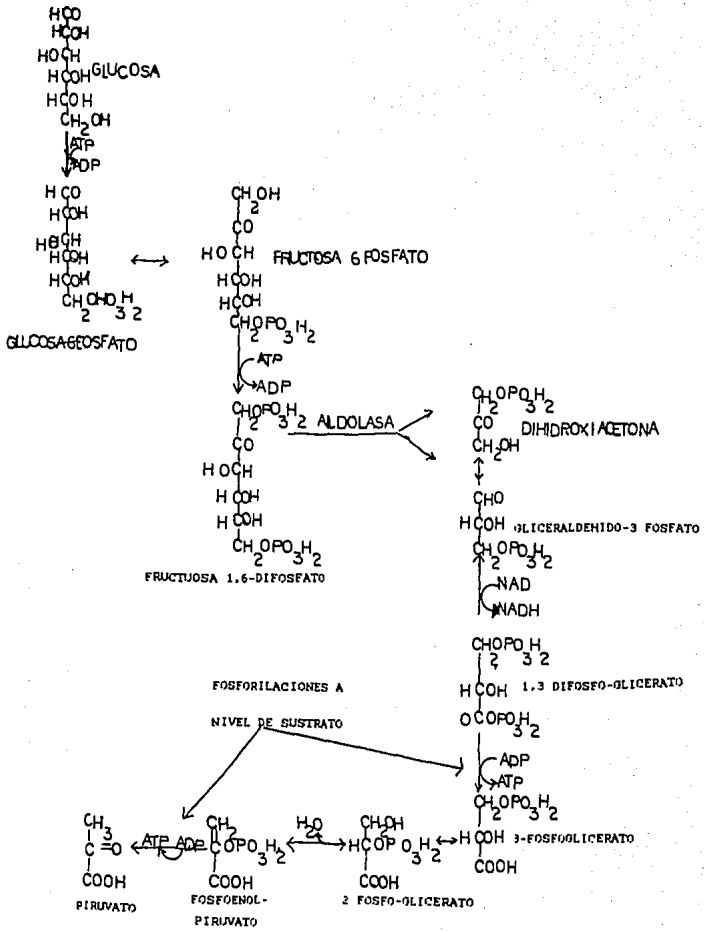
Hay tres métodos generales por los cuales los heterótrofos obtienen energía, fermentación; respiración aeróbica o anaeróbica. La fermentación y la respiración son los dos tipos fundamentales de metabolismo y difieren en que con la respiración se requiere de un aceptor de electrones externo, oxígeno en respiración aeróbica y dióxido, sulfato o nitrato en

respiración anaerobia. La fermentación no requiere de un aceptor de electrones externo, ya que el sustrato es el donador de electrones pero es necesaria una molécula orgánica como aceptor de electrones.

Los microorganismos heterótrofos, como las bacterias, hongos y algunos protozoarios, son capaces de utilizar un gran rango de compuestos orgánicos como fuente de carbono, como son los diferentes tipos de azúcares, alcoholes o aminoácidos, lípidos polimerizados y proteínas. Estas fuentes de carbono se convierten en compuestos intermediarios con menor número de carbonos tales como piruvato y acetil-Co enzima A.

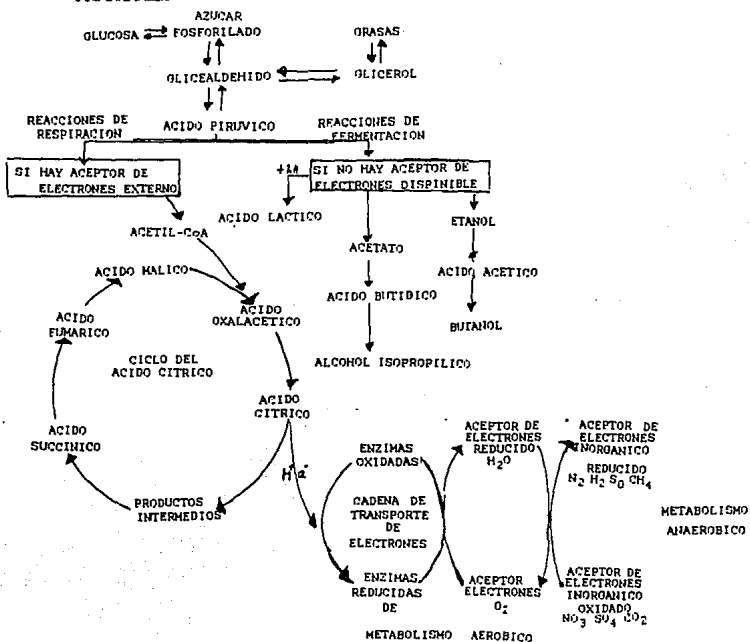
La transformación de carbohidratos a glucosa y posterior formación de ácido pirúvico es común en todos los microorganismos que metabolizan carbohidratos. La molécula del sustrato se rompe por una serie de reacciones catalizadas por enzimas liberando pequeñas cantidades de energía en cada oxidación y recuperación por la fosforilación a nivel de sustrato ($ADP \rightarrow ATP$). Esto se realiza sin la participación de un aceptor de electrones, por lo tanto es una reacción de fermentación. El término fermentación describe cualquier metabolismo anaeróbico en el que se produce energía y en el que no se involucra una cadena de transporte de electrones. El ácido pirúvico es el compuesto central en el metabolismo, ya que a partir de él se pueden metabolizar diversos productos dependiendo del organismo y del medio ambiente en el que se desarrolle, como por ejemplo la vía de fermentación de glucosa a piruvato.

FIGURA III.2



Si está presente un aceptor de electrones, el ácido pirúvico puede ser convertido a Acetil - CoA el cual entra al ciclo del ácido cítrico (también conocido como de Krebs o del ácido tricarbóxico).

FIGURA III.3



Sin embargo, si no existe un aceptor de electrones disponible, el ácido pirúvico a través de una vía fermentativa se producen diversas reacciones alternativas, con las cuales no solo se regenera NAD, también se producen diversos productos de fermentación, entre otros etanol, ácido acético, ácido propiónico. En un sistema de transporte de electrones la mayoría de las bacterias de las aguas residuales tienen tres sitios de fosforilación, como se muestra en las figuras III.4 y III.5.

La cantidad de ATP formado por la fosforilación oxidativa es también diferente, siendo mucho menor durante anaerobiosis. La razón es que la cantidad de ATP formado por el paso de pares de electrones a través del sistema de transporte depende de la diferencia en el potencial REDOX entre el donador y aceptor de electrones, figura III.6.

Como el oxígeno tiene un potencial REDOX menor que los aceptores de electrones inorgánicos, se libera más ATP. En términos de producción de energía, la fermentación de la glucosa produce dos moléculas de ATP por hexosa, comparada con 38-39 moléculas de ATP durante la respiración aeróbica.

FIGURA III.5

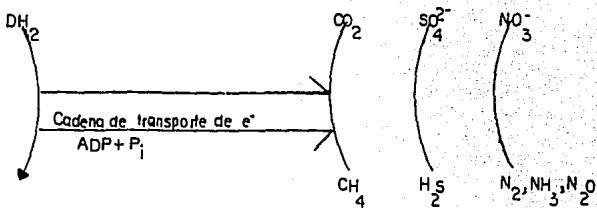
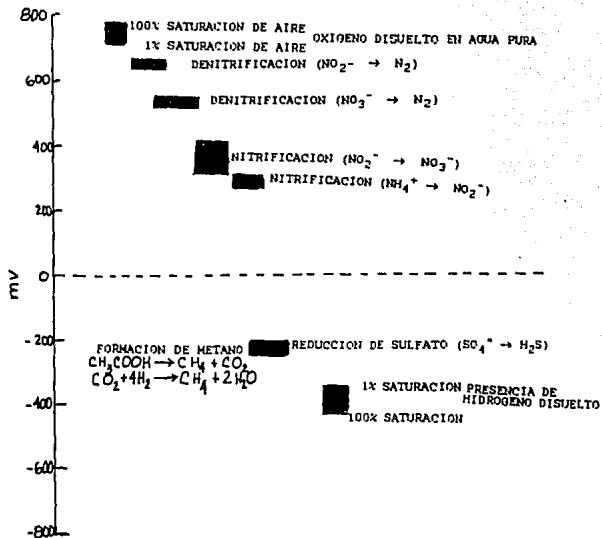


FIGURA III.6



III.3 MICROORGANISMOS HETERÓTROFOS AERÓBICOS

Las bacterias son los organismos más versátiles asociados con el tratamiento de aguas residuales con base en sus características físicas y los sustratos presentes para ser metabolizados, en comparación con hongos, protozoarios y organismos invertebrados que también juegan un papel importante.

Las bacterias, son el nivel trófico básico en todos los sistemas de tratamiento de aguas residuales debido a que se encuentran en mayor cantidad. Las bacterias dominantes son las heterótrofas aeróbicas que degradan y eventualmente mineralizan los compuestos orgánicos presentes en aguas residuales produciendo dióxido de carbono y agua. Su tamaño pequeño y gran área superficial de contacto con relación a su cantidad se les considera muy eficientes en términos de intercambio de nutrientes y catabolismo, con el medio líquido en el cual están suspendidas. Su periodo corto de reproducción el cual puede llegar a ser menor a 20 minutos en un cultivo puro, hace que las bacterias cuenten con una ventaja con relación al sustrato disponible comparadolas con otros organismos. Los protozoarios, por ejemplo, tienen un tiempo de duplicación de 10 horas, aunque algunas especies es de 2 horas.

Las comunidades de bacterias encontradas en los procesos de tratamiento son de una gran variedad de géneros, los dominantes son aeróbicos heterótrofos, Gram negativos, bacterias alargadas con flagelos polares. La flora bacteriana de los tratamientos aeróbicos son básicamente, Zoogloea, Pseudomonas, Chromobacter, Achromobacter, Alcaligenes y Flavobacterium. Todos son capaces de oxidar compuestos orgánicos hasta dióxido de carbono y agua, como se muestra en la tabla III.2.

III.3.1 Nutrición

Las aguas residuales domésticas contienen una rica variedad de compuestos orgánicos, inorgánicos, elementos traza y factores de crecimiento orgánicos. Los microorganismos presentes no solo son las especies que pueden metabolizar los constituyentes de las aguas residuales, también se encuentran los que utilizan los productos generados por los microorganismos y especies que consumen a los primeros. Como ya se mencionó los heterótrofos necesitan dos categorías de nutrientes: para producir energía que se utiliza en crecimiento y metabolismo; y elementos químicos requeridos para la biosíntesis.

Las plantas y los animales están compuestos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre y el metabolismo de bacterias y hongos requiere de estos compuestos. También son necesarios compuestos químicos para el crecimiento de los heterótrofos tales como, potasio, magnesio, manganeso y calcio los que son usados para la producción de cofactores enzimáticos y construcción de proteínas y elementos traza de hierro, cobalto, cobre, zinc y molibdeno, importantes en la producción de cofactores de enzimas específicas y factores de crecimiento. La naturaleza específica de las aguas residuales determinará las especies heterótrofas presentes.

III.3.1.1 Carbono

La mayoría de los heterótrofos aeróbicos utilizan el mismo compuesto o compuestos como fuente de energía y carbono. Una gran variedad de compuestos orgánicos pueden ser utilizados, aunque la mayoría de las especies utilizan compuestos solubles, tales como azúcares, los que son asimilados por las bacterias y hongos. Las grasas y proteínas y sus subproductos, son menos aceptados, variándose su capacidad de utilización entre las

especies. Las sustancias insolubles y las solubles, como celulosa, lignina, y ácidos grasos de cadena larga son utilizados por micrororganismos especialistas, muchas de estas especies los utilizan como sustratos secundarios. La investigación sobre los requerimientos nutricionales de los microorganismos en aguas residuales es limitado, las fuentes de carbono que favorecen el desarrollo de especies heterótrofas son la glucosa, manosa, galactosa, lactosa, fructosa, maltosa, sucrosa, manitol, succinato, lactato, fumarato, piruvato, acetato y glicerol. Otros compuesto tales como aminoácidos, alcoholes, y ácidos orgánicos, son sustitutos de la fuente de carbono si la glucosa está ausente. Para llevar a cabo lo anterior, es necesario se aplique el mecanismo de represión enzimática. Para los casos en que las bacterias son capaces de degradar polisacaridos con altos pesos moleculares, producen enzimas extracelulares para degradar el polímero a un tamaño molecular tal que pueda penetrar la membrana de la pared celular.

III.3.1.2 Nitrógeno, sales basales y otros factores de crecimiento

Una gran variedad de especies son capaces de utilizar diversas formas de nitrógeno, la mayoría de las bacterias y de los hongos usan amonio como única fuente de nitrógeno y su crecimiento es mejor con una fuente de nitrógeno inorgánica. Sin embargo, los aminoácidos pueden ser utilizados como fuente de carbono y de nitrógeno, pero por otro lado, se ha observado que su presencia como única fuente de nitrógeno resulta ser tóxica para algunos microorganismos.

El fósforo se requiere en niveles menores que el nitrógeno. Los fosfatos son constituyentes comunes de aguas residuales y generalmente se satisfacen los requerimientos de los microorganismos.

TABLA III.2

ORGANISMO	REACCION	REQUERIMIENTOS DE OXIGENO	OBSERVACIONES
<hr/>			
1. DEGRADADORES ORGANICOS	ORGANICOS A CO ₂		
<i>Sphaerobacter coli</i> <i>Sphaerobacter rumicantium</i> <i>Sphaerobacter acidophilus</i> <i>Sphaerobacter</i> sp. <i>Clostridium</i> sp. <i>Clostridium</i> sp. <i>Clostridium</i>	Y H ₂ O	FACULTATIVO	ORGANISMO INDICADOR ACTIVOS EN EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS UTILIZAN POLISACARIDOS Y CARBOHIDRATOS
<i>Clostridia</i> sp. <i>Bacillus</i> sp.		ANAEROBIO FACULTATIVO	PROTEOLITICO
2. USADORES DEL NITROGENO			
<i>Nitrosomonas</i>	NH ₃ → NO ₂	AEROBICO	NITRIFICACION
<i>Nitrobacter</i>	NO ₂ → NO ₃	AEROBICO	
<i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>Anaerobaculum</i> sp.	N ₂ → NO ₃		SIMBIOTICO NO SIMBIOTICO
<i>Clostridium pasteurianum</i> <i>Thiobacillus denitrificans</i>	NO ₃ + 2S + H ₂ O → H ₂ S + SO ₄ ²⁻ + N ₂	ANAEROBICO	AUTOTROFICO
<i>Nitrosomonas denitrificans</i> <i>Spirillum</i>	NO ₃ → NH ₃	ANAEROBICO	HETEROTROFO

TABLA III.2

3. BACTERIAS DEL AZUFRE

<i>Aggriates</i> <i>Thiothrix</i> <i>Thiothrix thiooxidans</i>	OXIDACION DEL S $ZH_2S + O_2 \rightarrow ZS + H_2O$ $ZS + H_2O + 3O_2 \rightarrow ZSO_4 + 4H$	AEROBICO	AUTOTROFO
Desulfotribrio	REDUCCION DEL S $CH_3COOH + SO_4 \rightarrow 2CO_2 + H_2S + 2OH$ $4H_2 + SO_4 \rightarrow H_2S + 2H_2O + 2OH$	ANAEROBIO	CONSUMEN ORGANICOS DURANTE LA REACCION REDUCCION AUTOTROFA

4. BACTERIAS DEL METANO

<i>Methanobacillus</i> <i>Methanococcus</i> <i>Methanobacterium</i> <i>Methanobacterium</i>	ALCOHOLES $\rightarrow CH_4 + CO_2$ FORMATO $+ H_2 \rightarrow CH_4$ $H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4$	ANAEROBIO	FERMENTACION DEL METANO EN LODOS DIGESTION Y OTROS PROCESOS ANAEROBIOS REDUCCION DEL DIOXIDO DE CARBONO
<i>Methanobacterium</i> <i>Methanobacterium</i>	ACETATO, BUTIRATO $\rightarrow CH_4$ $CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$	AEROBIO	OXIDACION DEL METANO

5. BACTERIAS DE FIERRO

<i>Leptothrix</i> sp. <i>Gallionella</i> sp.	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$	AEROBIO	ATOTROFO-CAUSA CORROSION
---	-------------------------------	---------	--------------------------

6. OTROS

<i>Acetivibrio</i> <i>Thiothrix</i> <i>Thiothrix</i> sp.	$CO_2 + 1/2O_2 \rightarrow CO$ OXIDA CIANURO CELULOSA-PROTEINAS	AEROBIO	
--	---	---------	--

Algunos *microorganismos* requieren de factores de crecimiento orgánicos tales como los del grupo de las vitaminas B, las cuales son *precursores enzimáticos* o co-enzimas, sin embargo, muchas especies son capaces de sintetizar sus propios factores de crecimiento.

La diferencia de cualquier factor de crecimiento dará como resultado reducción en la diversidad de especies dando como resultado deficiencias en el tratamiento.

III.3.1.3 Factores del medio ambiente

Oxígeno disuelto, sirve como un aceptor de electrones para los heterótrofos aeróbicos en aguas residuales. En términos de utilización de sustrato y producción de energía, los heterótrofos aeróbicos son mucho más eficientes que los *microorganismos anaeróbicos*. Los *microorganismos facultativos* también crecen mejor y mayor eficiencia en presencia de oxígeno.

La temperatura, en términos de remoción, aumenta la eficiencia entre 35-40°C, después de lo cual las bacterias reducen su tamaño y número generándose una fase dispersa y como consecuencia efluentes turbios.

Los *microorganismos heterótrofos* son independientes de la luz, sin embargo, en lagunas de estabilización facultativas la luz es vital para que las algas produzcan oxígeno para mantener la demanda de los heterótrofos. Por otro lado, los hongos productores de pigmentos necesitan de este elemento o su presencia se restringe a la superficie de las lagunas.

III.3.1.4 Inhibición

Muchos metales pesados y compuestos orgánicos son tóxicos a los heterótrofos aeróbicos, tanto en cultivos puros como en las plantas de tratamiento. En los procesos de tratamiento, estos compuestos pueden encontrarse en concentraciones menores debido a la adsorción de los compuestos en la materia orgánica y en los floculos, también por las reacciones químicas como precipitación o quelación con otros constituyentes presentes en las aguas residuales como otras sustancias tóxicas. Sin embargo, si la concentración de las sustancias tóxicas se incrementa, se pueden llegar a los estados de; inhibición, lisis y muerte celular. Cuando el tratamiento de las aguas residuales contiene sustancias inhibitorias, puede ocurrir algún grado de aclimatación y selección de especies tolerantes. Los metales tales como cobre y mercurio considerados tóxicos, se pueden acomplejar con enzimas y otros agentes metabólicos conectados con la respiración resultando inactivos. Otras sustancias orgánicas que contengan nitrógeno y ocasionalmente sulfuro, compiten con enzimas por metales esenciales los cuales actúan como co-enzimas y catalizadores. Mientras que el fenol y detergentes actúan transformando la célula o causando su desintegración. Las aguas residuales con altas concentraciones de sales o compuestos de nitrógeno también inhiben el proceso de tratamiento biológico afectando particularmente a los heterótrofos aeróbicos, por el estrés osmótico, aunque depende del proceso de tratamiento ya que en filtros percoladores ayuda a formar la biocapa.

III.4 MICROORGANISMOS HETERÓTROFOS ANAERÓBICOS

Las bacterias anaeróbicas heterótrofas no crecen en presencia de oxígeno, siendo facultativas pueden adaptarse al medio ambiente. El principal papel de estos microorganismos anaerobios estrictos es en la digestión de los lodos convirtiéndolos a formas estables. La

digestión normalmente toma lugar en reactores construidos especialmente para tal fin. En la anaerobiosis se producen malos olores se presenta *interferencia* en la formación del floculo debido a la denitrificación produciéndose sedimentación en los tanques de aereación y en los procesos de lodos activados.

El sustrato orgánico es degradado en ausencia de oxígeno a dióxido de carbono y metano con pequeñas cantidades de bacterias en crecimiento. Aproximadamente el 90% de la energía química disponible, del material orgánico, se convierte en metano. Aparte de ser una forma económica de formación de gas metano, el proceso de tratamiento anaeróbico tiene muchas ventajas con relación al proceso de tratamiento aeróbico, tal como menor producción de biomasa por unidad de sustrato utilizado (la menor producción de biomasa significa un menor requerimiento de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes y factores de crecimiento), mayor conversión de orgánicos sin la presencia de oxígeno y más bajos costos de construcción y operación. Sin embargo, la mayor desventaja es que se requieren de temperaturas elevadas para mantener la actividad microbiana en niveles razonables, además de las ya mencionadas.

III.4.1 Presencia en la planta de tratamiento.

III.4.1.1 Digestión anaerobia

El proceso de digestión de lodos es generalmente considerado como un proceso de dos fases, la fase no metanogénica seguida por una metanogénica, pero para mejor descripción se resume en tres etapas; hidrólisis, formación de ácido (fase no metanogénica), seguida por la formación de metano (fase metanogénica) como se muestra en la figura III.7.

ESTADO I
HIDROLISIS

LOS
COMPUESTOS EN
MAYORES CANTIDADES

GRASAS



CADENA LARGA
ACIDOS GRASOS
GLICEROL

PROTEINAS



AMINOACIDOS
PEPTIDOS DE CADENA
CORTA

POLISACARIDOS



DISACARIDOS
MONOSACARIDOS

INCREMENTO
DE
BACTERIAS

ESTADO II
FORMACION DE ACIDOS

VOLATILES
ACIDOS GRASOS
ALCOHOLES
ALDEHIDOS
CETONAS
AMONIO
DIOXIDO DE CARBONO
HIDROGENO
AGUA

INCREMENTO
DE
BACTERIAS

ESTADO III
FORMACION DE METANO

METANO
DIOXIDO
AGUA

INCREMENTO
DE
BACTERIAS

FIGURA III.7

Es conveniente imaginar estas tres etapas como diferentes niveles tróficos, y que éstas ocurren en un digestor, ya que los microorganismos involucrados en cada etapa son metabólicamente dependientes de los otros para su sobrevivencia. Las bacterias metanogénicas requieren de los productos finales catabolizados de las bacterias formadoras de ácidos. Sin embargo, estas últimas especies eventualmente se inhiben por la presencia de sus productos si éstos no fueron degradados por las bacterias metanogénicas. Aunque las bacterias son el grupo mayoritario involucrado en la digestión anaerobia, los protozoarios ciliados y flagelados y algunos hongos anaerobios también están presentes. El proceso no se realiza con la presencia de aceptores de electrones tales como oxígeno, sulfato, nitrato. La obtención de la energía es por el sistema de transformación de ATP y energía almacenada por la reacción de ADP y fosfato inorgánico para formar ATP. La energía conservada en los enlaces pirofosfato es usado para hidrólisis de ATP a ADP o AMP.

En la primera etapa, la mayor parte de los sustratos de los lodos son hidrolizados a componentes básicos: proteínas a aminoácidos por enzimas extracelulares llamadas proteasas, las grasas a glicerol y a ácidos grasos de cadena larga, los polisacáridos a mono o di sacáridos.

Las proteínas son hidrolizadas a unidades más pequeñas, tales como polipéptidos, oligopéptidos o aminoácidos por enzimas extracelulares llamadas proteasas, las cuales solo son producidas por un grupo pequeño de bacterias. La mayoría de las bacterias son capaces de utilizar estos pequeños péptidos o los aminoácidos, los cuales pasan a través de la pared celular y son rotos dentro de la célula. La producción de proteasa es mayor que la requerida aun cuando las bacterias productoras de proteasa estén presentes en menor porcentaje del total de bacterias. Los estimados indican que esta sobreproducción es en el orden de 50 veces más que lo requerido. La mayoría de las bacterias proteolíticas son las formadoras de

esporas como Clostridium sp. Se sabe poco acerca de las bacterias lipolíticas aún cuando han demostrado ser altamente efectivas en digestores anaerobios.

Las bacterias celulolíticas anaerobias están presentes en todos anaerobios y son predominantemente cocobacterias Gram negativas.

La heterogeneidad del grupo de las bacterias en cuanto a ser facultativas o anaerobias, las cuales son las responsables de la hidrólisis, son también responsables de la formación de los ácidos. En esta segunda etapa, el sustrato hidrolizado es convertido a ácidos orgánicos y alcoholes, con producción de nuevas células. Son utilizadas varias vías bioquímicas, incluyendo fermentación y beta oxidación. Hay muy poca estabilización del sustrato en términos de remoción de DBO_5 o COD, con los productos de la fermentación ácida que en su mayoría son moléculas orgánicas. Las bacterias anaerobias obligadas están presentes en mucho mayor cantidad que las facultativas o las aerobias. Los mejores organismos formadores de ácidos son Bacillus sp., Micrococcus sp. y Pseudomonas sp., pero no se ha realizado mucho trabajo sobre la taxonomía de los mismos. Mono y disacáridos, ácidos grasos de cadena larga, glicerol, aminoácidos y péptidos de cadena corta son las principales fuentes de carbono para su crecimiento y como productos finales, ácidos grasos saturados, dióxido de carbono y amonio. Además se producen en menores cantidades alcoholes, aldehídos y cetonas. El concepto piruvato también se aplica como anteriormente se describió. Cuando no está presente un aceptor de electrones, como es el caso en la fermentación ácida, el piruvato puede seguir diversas reacciones con regeneración de NAD de $NADH^+$. Los ácidos acético, propiónico, butírico y láctico son los productos finales más frecuentes de la segunda etapa.

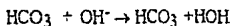
El propiónico y los ácidos grasos de cadena larga son degradados por un grupo de organismos intermediarios llamados bacterias acetogénicas obligadas productoras de

hidrogeno, aunque otras bacterias productoras de ácido, las bacterias homacetogénicas, producen ácido acético y algunas veces otros ácidos.

La tercera y etapa final de la digestión anaerobia es la producción del metano donde los productos finales de la fermentación ácida son convertidos a gases, principalmente metano y dióxido de carbono, por diversas especies de bacterias anaerobias obligadas. En esta etapa, ocurre la estabilización completa del sustrato y como su producto final es gas se considera más eficiente que la estabilización aeróbica completa. El metano es un producto final ideal y no es tóxico, escapa fácilmente del sitio de producción utilizándose un proceso de separación, no es muy soluble, inerte en condiciones anaerobias y puede ser fácilmente colectado y usado como una fuente de energía. En la fermentación anaeróbica completa de carbohidratos se produce bióxido de carbono y metano, en iguales cantidades.

El dióxido de carbono parcialmente escapa como gas, porque a diferencia del metano, es relativamente soluble en agua, reacciona con cualquier ión hidróxido del sistema para producir iones bicarbonato. El comportamiento del gas de dióxido de carbono depende de pH, concentración de bicarbonato, temperatura y composición del sustrato. La biodegradación de proteínas es deaminada para producir amonio el que reacciona con agua.

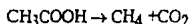
Esta es la mejor fuente de iones hidroxido los cuales reaccionan con el dióxido de carbono durante la metanogénesis para formar iones bicarbonato:



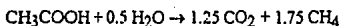
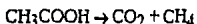
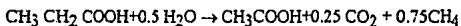
Por lo tanto, el contenido de proteínas de las aguas residuales como sustrato afectará significativamente la cantidad de bióxido de carbono liberado en la solución así como su

función de buffer del sistema en términos de bicarbonato. La porción del bióxido de carbono incorporado en el ión bicarbonato es removido del reactor en su fase líquida. La digestión anaerobia y producción de metano no solo se realizan en digestores, también se lleva a cabo en medio ambientes naturales incluyendo el tracto digestivo de la mayoría de los animales, en los sedimentos de los lagos y ríos y en los estuarios, pantanos. Las bacterias responsables de la metanogénesis en los digestores es similar a aquellas encontradas en otros medio ambientes, aunque es poco cononocido sobre ellas debido a los problemas de aislamiento y mantenimiento de los cultivos bajo condiciones anaerobias. La mayoría de las bacterias anaerobias pertenecen al género Metanobacterium, Methanosarcina, Methanospirillum y Methanococcus. Los metanógenos son diversas especies por lo que su morfología celular es diferente. Sus requerimientos nutricionales son simples: dióxido de carbono, amonio y sulfuro. El amonio es la fuente de nitrógeno para su crecimiento y las especies no metanogénicas se sabe que utilizan aminoácidos o péptidos, el sulfuro es la fuente más común de azufre, aunque algunas especies pueden utilizar cysteina. Los metanógenos contienen un número de co-enzimas único, por ejemplo, la co-enzima 420 está involucrada en lugar de la ferredoxina, la co-enzima M es usada en las reacciones de metilación y el factor B se requiere para la formación de la enzima de metano de metil co-enzima M. La síntesis de ATP se realiza vía transporte de electrones y unión a la fosforilación. La ultraestructura y composición celular de las metanógenas son diferentes de las bacterias típicas, se ha sugerido que son bacterias primitivas. El grupo no contiene ácido murámico en su pared celular y esto unido a sus únicas co-enzimas y única secuencia de oligonucleótidos de la molécula de RNA y ribosomas 16 S, se han utilizado para su reclasificación.

La formación del metano a partir del ácido acético es un proceso de una etapa, realizada por un grupo de bacterias. La fermentación del metano a partir del ácido propiónico es un proceso que involucra dos etapas y dos grupos de bacterias, formando ácido acético como intermediario



Las bacterias ácido fermentadoras son tolerantes a los cambios de pH y temperatura además de mayor tasa de crecimiento en comparación con las bacterias metanofermentadoras. Esta diferencia en la tasa de crecimiento, unida con la mayor sensibilidad a los factores del medio ambiente, es la condición que se utiliza para el control total de la digestión anaerobia.



III.4.1.1.1 Producción de sulfuro

La producción de sulfuro de hidrógeno es manifestación más común de la anaerobiosis. El sulfuro es producido por los microorganismos anaerobios por dos vías.

Las proteínas son desdobladas a aminoácidos, y las que contienen azufre, (con cisteína y metionina) son degradadas hasta la producción de sulfuro. Los géneros Proteus, Bacteroides sp. y algunos Clostridium, pueden crecer anaerobicamente y capaces de producir sulfuro de proteínas, solo Bacteroides spp. es obligado de heces. En sistemas los sistemas de aguas

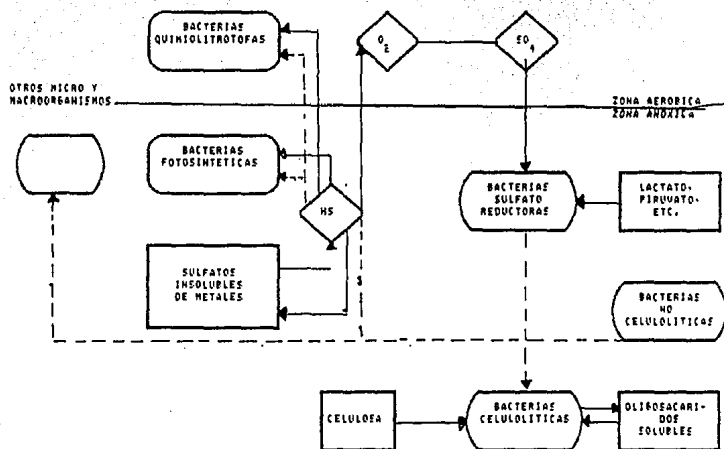
residuales, la mayoría del sulfuro producido por la reducción del sulfato en condiciones anaerobicas es por Desulfovibrio desulfuricans.

Las bacterias reductoras del sulfato utilizan un grupo restringido de fuentes de carbono, tales como lactato y malato y dependen de los productos metabólicos de otras bacterias anaeróbicas que utilizan compuestos orgánicos más complejos. Las bacterias reductoras del sulfato son encontradas en gran variedad de medio ambientes anaeróbicos en donde exista abastecimiento de sulfato, el que se utiliza en vez de oxígeno durante la respiración, además de que también debe existir materia orgánica y bacterias capaces de utilizar la materia orgánica para producir lactato.

Cuando los metales pesados están presentes en los sedimentos donde las bacterias reductoras están activas, el sulfuro producido reacciona para formar sales insolubles; la coloración negra es frecuentemente asociada con los sedimentos anaeróbicos por la formación de sulfuro ferroso. Si no hay metales, el sulfuro escapa en la columna de agua o a la atmósfera como sulfuro de hidrógeno. La liberación del sulfuro de hidrógeno depende de la presión, temperatura y pH.

El sulfuro puede ser usado como una fuente de energía por las bacterias oxidantes del azufre o como donador de electrones por algunas bacterias fotosintéticas. Pero comúnmente es químicamente oxidado para mantener las condiciones anóxicas como se muestra en la figura III.8.

FIGURA III.8



III.4.1.1.2 Denitrificación

El nitrato puede ser convertido via nitrato a nitrógeno gaseoso por el proceso conocido como denitrificación. Este ocurre en cualquier efluente cuando no exista oxígeno o esté en muy bajas concentraciones. El proceso lo realiza un amplio rango de microorganismos

anaerobios facultativos, los más comunes: son Pseudomonas sp., Denitrobacillus sp., Spirillum sp., Micrococcus sp. y Xanthomonas sp.

III.5 MICROORGANISMOS AUTOTRÓFICOS

Los autótrofos son incapaces de utilizar materia orgánica, utilizan dióxido de carbono o carbonato como su única fuente de carbono para la síntesis de material celular y obtienen energía para su metabolismo ya sea por la oxidación o reducción de compuestos inorgánicos (quimioautótrofos) o por fotosíntesis (fotoautótrofos).

Las bacterias quimioautótrofas son capaces de oxidar un amplio rango de elementos que están presentes en forma reducida:

BACTERIA	DONADOR DE ELECTRONES	PRODUCTO	GENERO PRINCIPAL
DEL AZUFRE	$S^2 + 2O_4^{2-} \rightarrow$	SO_4^{2-}	<u>Thiobacillus</u>
	$S^0 + 1 SO_2 + H_2O \rightarrow$	$SO_4^{2-} + 2H^+$	<u>Thiobacillus</u>
NITRIFICANTES	$NH_3 + 1 SO_2 \rightarrow$	$NO_2 + H_2O + H^+$	<u>Nitrosomonas</u>
	$NO_2 + 1 SO_2 \rightarrow$	NO_3^-	<u>Nitrobacter</u>
DEL HIDROGENO	$H_2 + 0.5O_2 \rightarrow$	H_2O	<u>Hydrogenomonas</u>

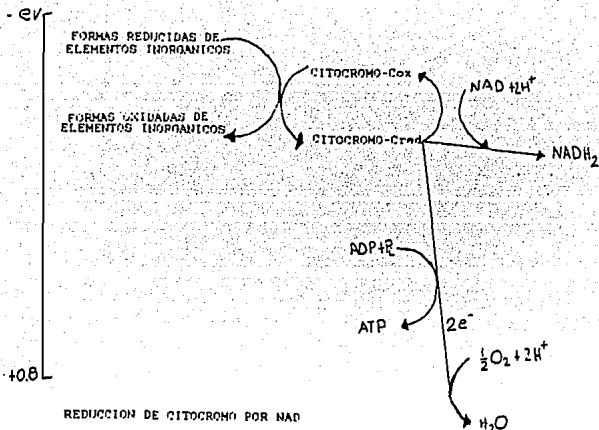
Sin embargo, las condiciones requeridas para el activo crecimiento de estas bacterias son críticas. El grupo requiere abundante abastecimiento de compuestos inorgánicos reducidos (NH_3 , NO_2^- , H_2S), agentes oxidantes (O_2) ó para algunas especies NO_3^- , el cual debe tener

mayor potencial REDOX que el agente reducido y dióxido de carbono como fuente de carbono. Los quimioautótrofos son organismos aerobios, aunque pueden crecer con presiones parciales de oxígeno y algunas especies son capaces de utilizar otros agentes oxidantes. A diferencia de los fotótrofos, no requieren de luz y no contienen pigmentos. Como grupo, pueden oxidar un amplio rango de compuestos inorgánicos reducidos, aunque individualmente las especies son muy específicas en las reacciones que catalizan y en las condiciones del medio ambiente que requieren. La energía para el metabolismo de los autótrofos es esencialmente la misma que los heterótrofos, con formación de ATP por fosforilación oxidativa. Los electrones producidos de la oxidación de las moléculas inorgánicas reducidas entran al sistema de transporte de electrones a nivel del citocromo-c. En todas las reacciones de los quimioautótrofos, el oxígeno es el aceptor de electrones, los electrones fluyen a través de la cadena de transporte de electrones, via una serie de acarreadores biológicos REDOX con reacciones exergónicas hasta el oxígeno produciéndose un cambio de energía negativa libre lo cual es usado para la síntesis de ATP. Por ejemplo, en el caso de la oxidación de NO_2^- a NO_3^- sólo se produce una molécula de ATP por NO_2^- oxidado.

Del ADP y NAD tienen similares potenciales REDOX, la NADH_2 puede ser sintetizada en lugar de ATP cuando el citocromo-c es reducido, como se muestra en la figura III.9.

Los fotoautótrofos usan el dióxido de carbono libre como única fuente de carbono y liberan energía de la luz solar. Hay muchas bacterias fotoautótrofas presentes y en pequeño número en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, pero las más importantes del grupo son las eucarióticas fotoautótrofas en el que se incluyen a las algas verdaderas, briofitas y plantas superiores. Con la excepción de los briofitas, las algas son los únicos eucariotes fotótrofos encontrados en el tratamiento de aguas residuales, aunque los macrofitos son usados en climas templados.

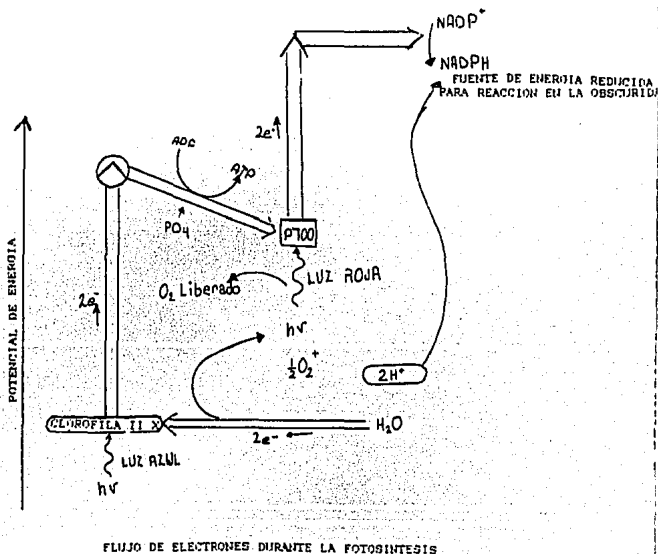
FIGURA III.9



Aunque las algas son encontradas en pequeño número en la mayoría de los sistemas de tratamiento aerobio son particularmente importantes en la estabilización de las lagunas donde proporcionan el oxígeno para las bacterias heterotróficas y quimioautótrofas. Como otras plantas las algas usan dióxido de carbono libre como única fuente de carbono y obtiene todos sus requerimientos de energía de la luz solar por el proceso de fotosíntesis (fotofosforilación). Esencialmente, el agua es oxidada liberando electrones los cuales después son usados para reducir el dióxido de carbono a carbohidratos. Ocurren dos reacciones básicas, una dependiente de luz y la otra en la oscuridad, ambas utilizan el producto de reacción dependiente de la energía solar. La energía de onda corta de la luz es absorbida por la clorofila, la cual abastece de energía para oxidar el agua, liberando oxígeno y electrones. El nivel de energía de los electrones es reducido por el paso de un electrón a través de un sistema de transporte, el cual libera energía en la forma de ATP. Los electrones

son re-energizados por la absorción de energía de onda larga por el pigmento P700 en el tejido de la planta. Esto es usado para reducir NADP a NADPH, lo cual proporciona energía la que será utilizada en las reacciones de la oscuridad, como se esquematiza en la figura III.10.

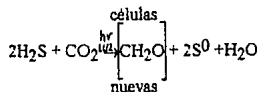
FIGURA III.10



El ATP y el NADPH producido por las reacciones con luz son utilizadas para reducir 6 moléculas de dióxido de carbono para formar una molécula de hexosa en la reacción de la oscuridad con la enzima 6-ribulosa-1, 5-difosfato requerida para catalizar la reacción, la que es regenerada al final del ciclo.

Existen diferencias importantes en los pigmentos entre los varios grupos de eucariotes fotoautótrofos, lo cual refleja su adaptación al medio ambiente en el que cada uno se desarrolla. Por ejemplo las algas verdes son encontradas cerca de la superficie del agua en las lagunas de estabilización donde absorben luz roja, así como las algas rojas crecen a menores profundidades en las lagunas donde hay menor penetración de la luz roja y usan el pigmento ficoeritrina para absorber luz de menor longitud de onda.

Los dos grupos principales de bacterias fotoautótrofas asociadas con el tratamiento de aguas residuales son las bacterias verde y púrpuras fotosintéticas, de las primera la familia más importante, Chlorobacteriaceae es la más simple de los fotoautótrofos, continen pigmentos bacterioclorofílicos y requieren de dióxido de carbono, luz, condiciones anaerobias e hidrógeno o una forma de sulfuro reducido para su crecimiento. Son aisladas comunmente de medio ambiente anaerobio, rico en sulfuro de hidrógeno, tal como digestores de lodos o capas de lodos en lagunas de estabilización, allí son conocidas como bacterias verdes fotosintéticas sulfurosas. En la oxidación del sulfuro de hidrógeno por Chlorobium sp., se produce azufre elemental, el cual es liberado en el medio ambiente:

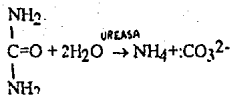


El sulfuro de hidrógeno no es agente reductor fuerte (insuficientemente negativo) para reducir el dióxido de carbono. La oxidación es de hecho dependiente de la luz, con luz visible absorbida por la bacterioclorofila, la cual oxida el sulfuro de hidrógeno, liberando electrones que son subsecuentemente atrapados por un compuesto con mayor potencial REDOX.

Las bacterias púrpuras fotosintéticas también contienen los pigmentos de la bacterioclorofila pero aparecen como rojos o púrpuras debido a la presencia de los pigmentos de los caretonoides. Hay dos grupos principalmente, las bacterias del púrpuras del azufre o Thiorhodaceae (*chromatium* sp.) y las bacterias púrpuras del no azufre, las primeras son móviles requieren de luz, condiciones anaerobias y sulfuro de hidrógeno o hidrógeno para la asimilación de dióxido de carbono. Las especies de este grupo se encuentran en las lagunas de estabilización y producen sulfuro elemental del sulfuro de hidrógeno, el cual es depositado en las células bacterianas donde se acumula. Las bacterias púrpuras no del azufre, las Athiorhodaceae (*Rhodospseudomonas* sp. y *Rhodospirillum* sp.) son capaces de utilizar formas reducidas de sulfuro pero también utilizan hidrógeno, son de medio ambiente anaerobio y requieren de luz y dióxido de carbono y también utilizan compuestos orgánicos tales como acetato en vez de dióxido de carbono. Esta capacidad muestra que todos los organismos fotosintéticos son autótrofos y que este grupo se describe mejor como fotoheterótrofo.

Las algas azul verdes, Cyanophyceae, no son un grupo importante en el tratamiento de aguas residuales, aunque ocasionalmente han sido aisladas de sistemas aeróbicos y anaeróbicos. Bajo condiciones anaerobias, usan luz para reducir el nitrógeno gaseoso a amonio, proceso conocido como fijación de nitrógeno, también bajo condiciones aerobias son dependientes de la luz para la asimilación de dióxido de carbono sin el uso de un fuerte agente reductor, tal como el sulfuro de hidrógeno. Producen oxígeno en la misma proporción como asimilan dióxido de carbono.

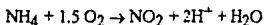
Las principales fuentes de nitrógeno orgánico son las aguas residuales domésticas, desechos de granjas, con alto contenido proteínico. En el sistema de drenaje, el nitrógeno orgánico es rápidamente deaminado y la urea es hidrolizada por la enzima ureasa para liberar amonio.



Cuando las aguas residuales entran a la planta de tratamiento, el 90% del nitrógeno está en forma de amonio o como un compuesto orgánico inestable, el cual rápidamente se transforma en amonio. Las aguas residuales domésticas, contienen nitrógeno en exceso para los requerimientos microbianos y oxidación de carbono presente, por lo tanto solo parte del nitrógeno es removido por la actividad convencional heterotrófica, siendo incorporado a la biomasa del microorganismo. Esto también se aplica para el fósforo. El nitrógeno residual estimula la actividad autotrófica, la cual si se descarga dentro de un curso de agua, será en la forma de actividad fotoautotrófica, por ejemplo, eutroficación. La utilización de nitrógeno por los fotoautótrofos produce gran cantidad de biomasa en la forma de algas, debido a que la proporción de nitrógeno en la biomasa es pequeña. El problema es que el nutriente es asimilado dentro de las células, para la síntesis de aminoácidos, enzimas y ácidos nucleicos, por lo que hay una relación directa entre la remoción de nutrientes y producción de biomasa. Solo una pequeña proporción de amonio-nitrógeno es asimilado en la biomasa de los heterótrofos durante el tratamiento de aguas residuales y bajo altas concentraciones en la mayoría de las unidades de tratamiento biológico mixto el resultante es oxidado por las bacterias quimioautótrofas. Las bacterias autótrofas son capaces de utilizar el nitrógeno, como fuente de energía (no asimilativas), para producir pequeñas cantidades de biomasa. El amonio, la forma reducida de nitrógeno es oxidado por bacterias autótrofas nitrificantes a nitrato, vía nitrito, proceso conocido como nitrificación.

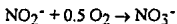
La oxidación microbiana del amonio y de los iones amonio ocurre en dos etapas, cada una de las cuales involucra diferentes especies de bacterias quimioautótrofas nitrificantes. Los quimioautótrofos utilizan amonio o nitrito como fuente de energía, oxígeno como aceptor

final de electrones y dióxido de carbono o carbonato como fuente de carbono. La primera etapa es la oxidación de los iones amonio a nitrito:

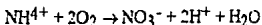


Esta reacción generalmente se considera que es catalizada por el género *Nitrosomonas* principalmente los géneros *N. europea* y *N. monocella* las más frecuentemente aisladas. Sin embargo, también se ha identificado que realizan esta función incluye *Nitrococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosocystis* y *Nitrosogloea*. Los iones hidrógeno liberados en la oxidación de amonio a nitrito bajan el pH, esto puede ser un problema en sistemas cerrados o sistemas con un largo periodo de retención, donde exista una gran cantidad de amonio para nitrificación, pudiéndose llegar a provocar inhibición.

La segunda etapa, el nitrito es oxidado a nitrato:



El género *Nitrobacter* se considera el responsable en la segunda reacción de nitrificación, con *N. winogradskyi* siendo la única especie identificada. Una segunda especie *N. agilis* también ha sido aislada pero aún no es del todo aceptada su participación. *Nitrocystis*, *Nitrococcus* y *Nitrosospira* también se han citado que oxidan el nitrito a nitrato. La reacción de nitrificación completa muestra que la oxidación del amonio a nitrato requiere de una gran cantidad de oxígeno



Existen evidencias que las bacterias nitrificantes no pueden ser autótrofos obligados, ya que tienen la capacidad de utilizar ciertos compuestos orgánicos, así como lo hacen las bacterias nitrificantes heterótrofas encontradas en suelo. (Arthrobacter sp., Aspergillus sp.)

Las bacterias nitrificantes cuando se comparan con los organismos heterótrofos tienen crecimiento lento, por lo tanto se requieren tiempos de retención largos con el fin de obtener suficiente tiempo de contacto entre el agua residual y las bacterias que aseguren la nitrificación. Con lo anterior, se evita la pérdida de organismos nitrificantes y se producen nuevos organismos, para mantener la población nitrificante.

El oxígeno disuelto es usado como aceptor final de electrones por los organismos nitrificantes y a bajas concentraciones de oxígeno se inhibe la nitrificación, ya que bajo condiciones anaeróbicas los organismos nitrificantes mueren después de 24 horas, por lo que el oxígeno es un sustrato limitante en términos de bacterias nitrificantes.

La materia orgánica se sabe que inhibe la nitrificación y se incrementa con grandes cargas de inorgánicos, esto es probablemente debido al incremento en la actividad de los heterótrofos, los cuales debido a su mayor tasa de crecimiento, compiten exitosamente con las bacterias nitrificantes, esto es por el oxígeno disuelto y nutrientes. La competencia directa de los heterótrofos con los fotoautótrofos si la luz está disponible, es la principal falla en los sistemas de tratamiento biológico. La mayoría de los compuestos orgánicos e inorgánicos, especialmente metales, inhiben la nitrificación. Similar a otros microorganismos, las bacterias nitrificantes requieren trazas de elementos; Nitrosomonas requieren cantidades traza de calcio, magnesio y cobre; y Nitrobacter cantidades traza de molibdeno. Nitrosomonas y Nitrobacter son más susceptibles a la inhibición que los microorganismos heterótrofos. Sin embargo es difícil establecer detalles sobre la inhibición debido a la mezcla de cultivos y concentración de sustancias tóxicas que causan inhibición en mayor grado que

en cultivos puros. Aunque también las bacterias nitrificantes son capaces de aclimatarse a concentraciones mucho más elevadas de compuestos inhibidores si se les permite acostumbrarse lentamente al incremento de esas concentraciones.

Estudios en cultivos puros han mostrado que las bacterias nitrificantes son sensibles a un amplio rango de compuestos inorgánicos y orgánicos pero también han demostrado su capacidad para aclimatarse a concentraciones relativamente altas. Prácticamente, son raramente inhibidas por un amplio rango de iones encontrados en aguas residuales.

CAPÍTULO IV

TRANSFORMACIONES BIOQUÍMICAS DURANTE EL TRATAMIENTO DEL AGUA

VI.1 EFECTO DE LA ACUMULACIÓN DEL ÁCIDO SOBRE PROCESOS MICROBIANOS EN AGUAS NATURALES.

La influencia de la acumulación de ácidos depende de la cantidad de ácidos fuertes depositados y la capacidad del ecosistema para neutralizarlos. Las aguas naturales con baja capacidad de neutralización están en mayor riesgo de acidificación y afectación. Estos efectos incluyen cambios en la composición de especies biológicas y en los ciclos biogeoquímicos, por los iones introducidos resultando movilización y bioacumulación de algunos metales y decremento de carbono orgánico en la interfase del sedimento. Asimismo se permite mayor penetración de luz con lo que aumenta la temperatura, incrementándose la biomasa de las algas, además de precipitarse carbono orgánico suspendido. También se observa aumento en la concentración de sulfato y iones H^+ , así como de manganeso, sodio, zinc y aluminio. Consecuentemente se produce reducción de sulfato a sulfito por bacterias en los sedimentos generando alcalinidad y almacenamiento de azufre en sedimentos, mitigándose la acidificación. (6)

Como respuesta al proceso anterior las tasas de los procesos microbianos básicos tales como producción primaria, descomposición de materia orgánica y regeneración de nutrientes no parecen ser seriamente afectados con un pH en el cuerpo de agua por abajo del que afecta a organismos de otros niveles tróficos superiores.

El efecto de la acumulación de ácido y acidificación sobre la comunidad bacteriana primero provoca un cambio en la composición de especies o lo que es lo mismo en el uso de varios

aceptores de electrones entre las bacterias del sedimento, en la reducción de la biomasa o en las tasas metabólicas completas.

Los efectos más importantes por la acumulación de ácido sobre las bacterias pueden ser los cambios en los ciclos del nitrato y sulfato. El aumento microbiano y reducción de sulfato, nitrato y otros aceptores de electrones incluyendo fierro y manganeso son generados por alcalinidad que puede mitigar los efectos de acumulación de ácido sobre los cambios en el pH. La suma de todas las bases se le conoce como capacidad de neutralización de ácidos.

Otros efectos por los procesos de acidificación en los procesos microbianos incluye la estimulación de nitrato de la producción primaria en sistemas donde es el nutriente limitante, alteración de procesos microbianos que intervienen en la biogeoquímica de metales y decremento de actividad microbiana, incluyendo disminución en tasas de descomposición de materia orgánica y producción secundaria en un pH extremo.

La presencia de bióxido de carbono como buffer primario en las reacciones que producen o consumen bióxido de carbono pueden alterar el pH temporalmente hasta que se logra equilibrio con el bióxido de carbono atmosférico. La oxidación del carbono orgánico por bacterias heterótrofas que usan oxígeno como aceptor de electrones y fijación de bióxido de carbono por fotótrofas son reacciones que ejemplifican el balance de bióxido de carbono. La respiración y fotosíntesis pueden producir suficiente bióxido de carbono o removerlo, respectivamente, para alterar el pH en máximo 2 o 3 unidades del neutro. El incremento de pH observado en agua superficial se refleja con el desarrollo de algas.

Las reacciones en las cuales el nitrato o sulfato son reducidas a través de proceso de asimilación o desasimilación, consumen H^+ . En la desasimilación reductiva, el sulfato y nitrato actúan como aceptores de electrones durante la oxidación de materia orgánica por

bacterias. La desasimilación reductiva del sulfato y desnitrificación son procesos anóxicos y se llevan a cabo en los sedimentos. La mineralización de nitrógeno orgánico a amonio también produce alcalinidad. Inversamente la oxidación de sulfuro reducido o del amonio genera acidez.

A continuación se presentan los cambios por los que los procesos microbianos modifican la química Acido-Base de aguas superficiales.

Ciclo del Nitrógeno

Asimilación de amonio	acidez
Asimilación de nitrato	alcalinidad
Desnitrificación	alcalinidad
Nitrificación	acidez
Amonificación	alcalinidad

Ciclo del Azufre

Desasimilación del azufre reducido	alcalinidad
Asimilación de sulfato	
. formación de ester sulfato	alcalinidad
. reducción a sulfuros orgánicos	alcalinidad
H-S-oxidación	acidez

Ciclo del hierro

Fe(II) oxidación a Fe(OH) ₃	acidez
Fe(OH) ₂	alcalinidad

Los procesos biogeoquímicos mediados por microorganismos no son afectados por la acidificación de aguas naturales, como lo son los ciclos de vida de organismos superiores.

La influencia de la acumulación de ácido sobre los procesos microbianos, los ciclos de nitrógeno y azufre son los más estimulados, generando alcalinidad, lo que mitiga el efecto de los ácidos fuertes depositados.

Uno de los efectos negativos de la acumulación de ácidos es el incremento en la movilización y bioacumulación de algunos metales. Las bacterias juegan un papel importante, especialmente en el ciclo del mercurio produciendo su bioacumulación en organismos superiores.

IV.2 TRANSPORTE MICROBIANO DE METALES TÓXICOS.

IV.2.1 Acumulación intracelular

La asimilación bacteriana de metales puede ser importante en detoxificación, función enzimática y en las características físicas de las células. (4)

Las uniones extracelulares o a pared celular por ligaduras transportan lentamente los metales complejados a través de la pared celular. Los metales son liberados dentro de la célula, incorporándolos a vías bioquímicas, o atrapados en forma inactiva por acomplejamiento con otros ligandos afines. El protoplasma de *E. coli* normalmente contiene 0.3% de elementos traza tales como manganeso, cobalto, cobre, zinc y molibdeno. De éstos cobre y zinc se consideran tóxicos, pero ahora se sabe que éstos son esenciales para la actividad de algunas enzimas. El níquel es componente de la hidrogenasa en muchos microorganismos y su adición se ha encontrado que estimula el crecimiento de quimiolitótrofos.

El cadmio es acumulado por un gran número de organismos, investigaciones con Citrobacter sugieren que se acumula uniéndose a la célula con los grupos fosfato. Esto se presume como un mecanismo de detoxificación y es similar a la acumulación de plomo como $PbHPO_4$ por diversas especies de Citrobacter. Cuando la célula muere se presume que el metal es liberado para su acomplejamiento.

Un número de metales son enzimáticamente alterados intracelularmente, esto no se realiza en la acumulación. En la transformación ocurre a menos tóxico y en ciertos casos a formas volátiles. La capacidad de ciertas células bacterianas para acumular metales intracelularmente ha sido explorado en prácticas mineras, particularmente en el manejo de efluentes de lagos. El uranio se ha demostrado que se acumula rápidamente en *Sacharomyces cereviceae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

IV.2.2 Interacciones con pared celular

La unión de metales a superficies celulares juega un papel importante en aguas naturales, la adsorción en células vivas o muertas se considera una solución práctica a muchos problemas de contaminación. La superficie de las algas contiene grupos funcionales que han mostrado unión competitiva a metales con muchos ligandos disueltos. Se ha sugerido que los grupos carboxilos, amino, tio, hidroxil e hidroxil-carboxílicos interactúan sobre la superficie de fitoplanton coordinadamente con iones metálicos.

Las bacterias poseen lipopolisacáridos (LPS) en sus membranas externas, sección hidrofóbica y fosforilada (-lipido A-; oligosacárido central y cadenas de azúcares); las cadenas que sobresalen de la membrana celular contienen diversos grupos funcionales capaces de unirse a metales.

Los grupos fosforilos de LPS y fosfolípidos son los sitios más electronegativos que se unen al metal. Los metales tóxicos polivalentes son los que se unen primero a las moléculas de LPS debido a sus sitios reactivos opuestos. Esto se ha sugerido para movilizar los metales tóxicos y prevenir su entrada a la célula. Se puede suponer que las bacterias y algas afines a metales se encuentran en mayor número en donde se encuentran los metales.

IV.2.3 Sideróforos

Los sideróforos son de dos clases, una clase contiene grupos hidroximate que se unen fuertemente al ión férrico, esta actividad es función del tamaño y carga del ión. Como análogos se consideran al aluminio, galio, cromo³⁺, iones trivalentes de igual tamaño al hierro. El otro tipo es el del catecolato; el molibdeno, favorece la acumulación del metal dentro de la célula, requiriéndose de la enzima nitrogenasa. Se ha reportado que bajo condiciones de deficiencia de molibdeno las bacterias fijadoras de nitrógeno secretan catecolato.

El acomplejamiento del cobre con los sideróforos del cobre hidroximate y catecolato se ha reportado que secuestran al cobre para producción de tirosina, así como para la reducción de su que afecta a las cianobacterias.

IV.2.4 Procesos Extracelulares

La investigación realizada para la aplicación industrial de la interacción microbiana-metal, se ha realizado principalmente en minería, lo que ha contribuido para explicar el mecanismo de solubilización y transporte de metales. Los ácidos orgánicos e inorgánicos producidos por

microorganismos Thiobacillus, Serratia, Pseudomonas, Bacillus, Penicillium y Aspergillus son extraen metales de los sustratos sólidos. Por ejemplo el zinc se extrae selectivamente de residuos industriales con producción de ácido nítrico utilizando Penicillium. Los metales tóxicos pueden ser movilizados bajo condiciones anaerobias coprecipitando con óxidos de hierro. Esto último es un proceso importante y es ampliamente usado para el tratamiento de lagos con alto contenido de metales.

Se utiliza Clostridium sp.(fijador de nitrógeno) para solubilización en asociación con fierro, cadmio y zinc por reducción enzimática del ión férrico, mientras que el plomo en particular es solubilizado por acción indirecta de metabolitos bacterianos.

IV.2.5 Interacciones Polímero extracelulares-metal

La interacción entre exopolisacáridos bacterianos y metales se denomina floculación biológica de metales lo que se observa en los procesos de tratamiento de aguas residuales. Las interacciones con iones metálicos son consideradas como consecuencia directa por la presencia de grupos funcionales cargados negativamente sobre el exopolímero. Estos grupos incluyen piruvato, fosfato, hidroxil, succinil y ácido urónico.

La adsorción de metales tóxicos disueltos a agregados orgánicos o inorgánicos puede resultar por el siguiente proceso.

1. Inmovilización como una sal inorgánica insoluble.
2. Adsorción a pared celular bacteriana con subsecuente transformación y liberación.
3. Unión a material extracelular que puede ser subsecuentemente degradado por una partícula de tierra con subsecuente retención en fase móvil (acuática) como un complejo metálico disuelto o coloidal.

IV.2.6 Volatilización de metales por transformación

La resistencia del ión mercurio es la más estudiada. El mecanismo aceptado es la reducción de Hg^{2+} a Hg^{6+} por la mercurio reductasa, con subsecuente volatilización. La mercurioreductasa, ha sido aislada de E. coli, Thiobacillus ferrooxidans, Streptomyces, Streptococcus y Caulobacter.

Indudablemente la transformación del medio ambiente más estudiada de metales tóxicos es la metilación del mercurio.

La metilación del mercurio es la transformación más estudiada en el medio ambiente. Experimentos en cultivos puros muestran que muchas bacterias, tales como Clostridium, Neuspora, Pseudomonas, Bacillus, Mycobacterium, E. coli, Aerobacter aerogenes, Bacillus megaterium, y ciertos hongos han sido capaces de metilar el mercurio pero las bacterias sulfato reductoras son las de mayor importancia.

IV.3 HIDROCARBUROS

Bacterias, hongos filamentosos, levaduras, cianobacterias, diatomeas y otras algas eucarióticas tienen la capacidad para oxidar hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en un tamaño entre el naftaleno y el benzopireno. Los hidrocarburos di y tri cíclicos son más susceptibles a la degradación microbiana que otros hidrocarburos policíclicos aromáticos con mayores pesos moleculares. La hidroxilación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos siempre involucran la incorporación de oxígeno molecular, sin embargo, hay diferencias en el mecanismo de hidroxilación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos por microorganismos eucariotes y procariotes. Las bacterias oxigenan los hidrocarburos aromáticos policíclicos para formar un dihidrodiool con una configuración cis. En esta

reacción ambos átomos del oxígeno molecular son incorporados en el hidrocarburo policíclico aromático via una dioxigenasa. Los cis-dihidrodióles pueden pasar por via metabólica a una piridina por una reacción de dehidrogenación nucleotido dependiente al campo de los catecoles, el cual puede actuar como sustrato partiendo el anillo enzimáticamente con la completa mineralización del hidrocarburo policíclico aromático. Los genes para la oxidación inicial de los hidrocarburos aromáticos policíclicos están localizados en plásmidos. En contraste a las bacterias, los hongos oxidan los hidrocarburos aromáticos policíclicos via citocromo p-450 monoxigenasa para formar óxidos arenos los cuales pueden isomerizar a los fenoles o someter a hidratación enzimática al campo de trans-dihidrodióles.

(2)

Además, la capacidad de los hongos para formar conjugados fenólicos de sulfato y de glucoronidos sugiere que estas reacciones pueden ser importantes en la detoxificación y eliminación de HAP.

Múltiples vías oxidativas pueden estar involucradas en el metabolismo de los HAP por las cianobacterias. Pero, no se sabe mucho acerca de las enzimas y cofactores involucrados en estas reacciones.

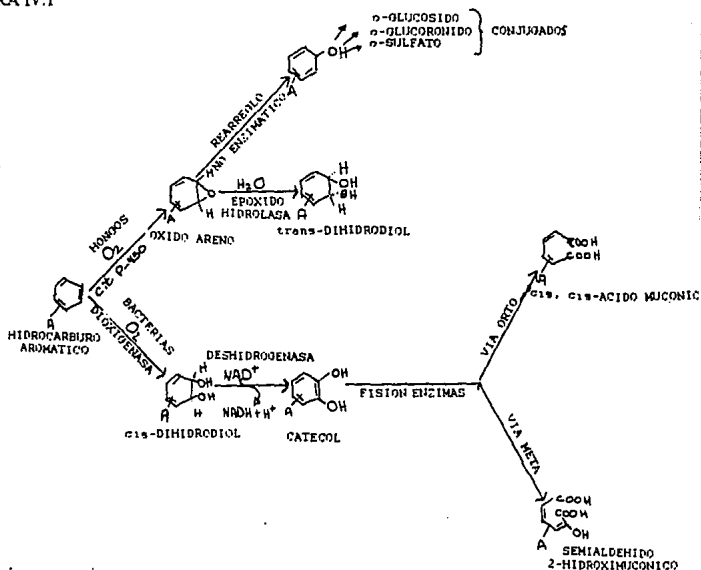
Es necesario realizar mayor investigación para establecer las tasas de degradación en habitats naturales y determinar cual es la contribución de los eucariotes y procariotes en la biodegradación completa de los HAP.

Tampoco se sabe de los productos que se forman por el rompimiento del anillo y secuencia de las reacciones en la oxidación de los HAP, con mas de tres anillos.

Con el advenimiento de las técnicas genéticas bioquímicas, tales como clonación de genes, mutagénesis con transposones, proverán de nuevos conocimientos en la bioquímica y regulación de las vías metabólicas para la degradación de HAP. Con la manipulación genética de bacterias podrá ser aplicada en la remoción de los HAP del medio ambiente.

En la figura IV.1 se presentan las posibles reacciones de degradación que realizan los procariotes y eucariotes.

FIGURA IV.1



IV.4 LA IMPORTANCIA DEL INTERCAMBIO GENÉTICO EN LA DEGRADACION DE SUSTANCIAS QUÍMICAS XENOBIÓTICAS.

Existen ciertas sustancias químicas sintéticas, que por su toxicidad y bioacumulación son inaceptables por sus efectos al medio ambiente, a estas se les conoce como compuestos recalcitrantes, tales como pentaclorofenol (PCP), 1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenol) etano (DDT), ácido acético-2,4,5 triclorofenoxil(2,4,5-T) y bifenilos policlorinados (PCBs) y xenobióticas a las sustancias químicas sintéticas cuando los microorganismos no han estado en contacto con ellas, lo que nos da la oportunidad de estudiar la evolución microbiana de nuevas vías degradativas. Las bacterias han desarrollado mecanismos para degradar compuestos complejos naturales como, lignina, material húmico, etc., a través de nuevas vías metabólicas que requieren de las condiciones ambientales que puedan apoyar un gran pool genes que puedan transferirse, con el fin de catabolizar las sustancias xenobióticas. (1)

La transferencia de genes que catabolizan las sustancias xenobióticas se ha demostrado en el laboratorio bajo condiciones de presión selectiva, que atraviesan barreras taxonomicas. La construcción natural de nuevas vías de degradación de sustancias xenobióticas se realiza a través del intercambio genético.

IV.4.1 Intercambio genético

La adaptación microbiana a nuevos e inusuales sustratos puede ilustrarse a través de la descomposición de sustancias xenobióticas. Las estrategias bioquímicas y genéticas para mejorar la degradación incluye: inducción enzimática, expresión de genes escondidos o previamente reprimidos, cambios de población, mutación y transferencia genética. El tiempo requerido para la degradación química puede ser el resultado de factores bióticos, como el

agotamiento o preferencia de los sustratos no xenobióticos; el desarrollo de una especie originalmente presente en bajo número puede alcanzar una densidad significativa; o el tiempo requerido para la mutación genética y reordenamiento. El periodo de aclimatación puede llevar varias semanas en el cual puede realizarse intercambio genético como un mecanismo de adaptación microbiana a las sustancias químicas peligrosas. La información genética puede ser transferida entre poblaciones asociadas a través de transducción mediada por fagos, transformación de DNA desnudo, y conjugación asistida por fagos.

La transferencia de DNA se ha demostrado que ocurre a través de transducción en medio ambientes naturales. La sobrevivencia de fagos infecciosos generalmente decrece en presencia de microflora natural. La presencia de uno o más fagos pudiera ser una fuente de fagos transductores a la población que los rodea si los huéspedes infectados son inducidos a lisarse por las condiciones del medio ambiente o de la comunidad.

La capacidad para transformar el DNA es muy amplia pero universalmente no distribuida entre las bacterias. El proceso involucra el reconocimiento y enlazamiento del DNA a la superficie celular, el transporte activo del DNA a través de la membrana de la célula y la integración del DNA extranjero al huésped replicador. La presencia del DNA extracelular se ha demostrado por transformación natural que ha dado como resultado un cambio ecológico. El tiempo de permanencia del DNA desnudo puede incrementarse a través protección física, química conferida por tierra, sedimentos o materiales húmicos. Los plásmidos son hilos circulares de DNA que se pueden replicar sin la presencia del cromosoma del huésped.

Los plásmidos más pequeños son mantenidos generalmente en múltiples copias, arriba de 40 por microorganismo. Ciertos plásmidos pueden intercambiar material genético de un donador a un receptor en un proceso llamado conjugación. Los plásmidos conjugados pueden cambiar partes del cromosoma de un huésped. Los plásmidos no conjugados

también pueden ser transmitidos a bacterias receptoras si el plásmido conjugado co-habita en o es introducido a la célula huésped. La codificación es para la producción de características tales como el pili sexual y de superficie que permiten la transferencia del material genético a través del contacto de célula a célula. La expresión del operón está generalmente reprimido en estos plásmidos. La pérdida de la homología secuencial evita la integración de plásmidos al DNA interespecies dentro del cromosoma del huésped, pero un número ya compatible de plásmidos puede ser estable con una célula individual.

Los plásmidos generalmente acarrean transposones e insertan secuencias (IS) que son capaces de translocar genes. Tanto los transposones como secuencias insertadas pueden formar copias por ellos mismos y relocalizarse en una nueva sección no homóloga de DNA. A diferencia de los transposones, las secuencias insertadas no codifican para una característica fácilmente reconocible. Los transposones y las secuencias insertadas causan mutaciones por la inactivación de los genes dentro de los cuales fueron insertados. Bajo condiciones óptimas las frecuencias de transposición varían entre transposones. Este intercambio intracelular de elementos genéticos móviles puede incrementar la flexibilidad de la expresión genética a través de la recombinación de genes. El incremento en la tasa de mutación causada por el movimiento de genes puede dar una ventaja al huésped.

Los genes pueden variar en el número de copias. Si se incrementa el número de copias de los genes se contribuye a una mayor actividad enzimática, por lo que la expresión fenotípica se determina por la dosis de genes. La duplicación de genes permite mutaciones, supresiones y recombinación sobre copias extra de DNA sin perder la función metabólica especial. Los eventos mutacionales tales como la sustitución de una base de DNA puede favorecer la expresión catabólica si están asociados con la transferencia de bloques de genes.

IV.4.2 Desarrollo Molecular

Los genes codificados para el metabolismo de pesticidas, PCBs, y otros compuestos xenobióticos, amplían la utilización de sustratos por la presencia de plásmidos en las bacterias las cuales serán capaces de utilizar clorobenzoatos, clorofenoles, clorotoluenos, cloroanilinas y clorobifenilos. La formación de catecoles (dihidroxilbenzeno) muestra ser una estrategia importante para la desestabilización de anillos aromáticos halogenados y no halogenados. Cuando se construye una vía metabólica, usualmente por el agotamiento del sustrato específico, en este caso, es necesario protegerse de los productos intermediarios que son contraproductivos para lograr una mayor degradación. La ruptura de los Meta-anillos es la mejor vía degradativa para catecoles no halogenados, pero para catecoles clorados esta ruta puede dirigirse a la formación de metabolitos que provoquen "muerte" o por ser altamente "suicidas" que inactivan la enzima que cataliza el rompimiento de los anillos (pirocatecasa). Se propone en la tabla IV.1 el proceso de adaptación microbiana a productos xenobióticos:

TABLA IV.1

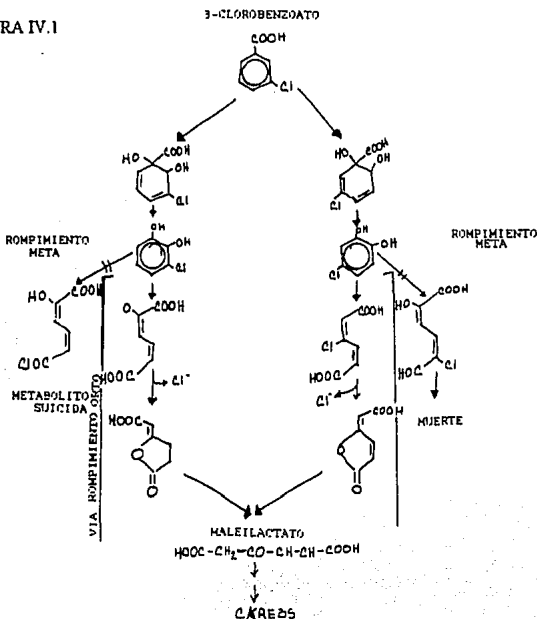
Secuencia metabólica en la adaptación microbiana para la degradación del clorofenol

1. Prevenir la formación de productos que provoquen muerte por el rompimiento del meta anillo.
2. Establecimiento de la secuencia en la asimilación de un clorocatecol para la adquisición de plásmidos con información genética adecuada.
3. Inducción de niveles altos de fenol hidroxilasa para degradación y detoxificación de clorofenol.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

A través de la manipulación genética, Reieke y Knackmuss construyeron una vía metabólica para la mineralización de sustratos clorinados aromáticos. Las secuencias metabólicas son mostradas en la figura IV.1. Los autores aislaron un transconjugado capaz de usar 4-clorobenzoato como la única fuente de carbono y energía con una combinación entre *Pseudomona putida* (que cuenta con el plásmido específico TOL) y *Pseudomona B13* (que utiliza el 3-clorobenzoato). Sugieren que el gene resultante fue capaz de usar el 4-benzoato modificando la vía de rompimiento del anillo ortho. Los pasos enzimáticos críticos para la conversión catabólica de haloaromáticos similares, son la pirocatecasa, la cicloisomerasa decolorante y la hidrolasa.

FIGURA IV.1



Como los bifenilos clorinados son persistentes en el medio ambiente, existen consorcios de bacterias y co-cultivos capaces de realizar transformaciones, cometabolizar y mineralizar ciertos miembros de esta clase de compuestos.

El desarrollo de más de una vía degradativa por deshidrogenación y el hecho de que en medio ambientes anaerobios los PCB's pueden ser reducidos dehalogenándolos y utilizarse como sustrato o como aceptores de electrones demostrándose la versatilidad de la adaptación microbiana a estos compuestos exóticos.

IV.4.3 La Ecología de la Transferencia Genética.

Un gran número de bacterias portadoras de plásmidos, las cuales compiten con una cantidad de microflora natural, demuestra mayor transferencia genética in situ, siendo necesario contacto célula a célula en conjunción o beneficio, como en transducción y transformación. El medio ambiente (por ejemplo: potencial redox, presencia de superficies adsorventes, temperatura, agua disponible) no solo determina el tamaño y la diversidad de la población microbiana también influye sobre la tasa de transferencia del material genético. A continuación se presentan los factores ambientales que favorecen la adaptación microbiana a los productos xenobióticos por el intercambio de material genético:

- Gran cantidad de DNA bacteriano receptor.
- Micronicho en el que se favorezcan cambios en los parámetros del medio ambiente y acercamiento con altas concentraciones de xenobióticos.
- Presencia de diversos productos análogos naturales que favorezcan el cometabolismo que induzca actividad enzimática.

- Presencia de microorganismos catabólicamente versátiles (tipo pseudomonas).
- Presencia de microorganismos capaces de transmitir plásmidos, especialmente de aquellos que contienen características con amplia utilización de sustratos.

Los sistemas acuáticos, las superficies e las interfases son sitios de gran acumulo de nutrientes y de xenobióticos, así como para su degradación microbiana.

Generalmente, los plásmidos que no transfieren características selectivas son eliminados por exclusión competitiva. Por otro lado, aun cuando no existan agentes externos que promuevan la utilización de la información de los plásmidos (presión externa) ésta puede ser mantenida en la memoria de la comunidad microbiana como estrategia.

IV.4.4 Abastecimiento de genes

Los genes catabólicos están agrupados en operones sobre cromosomas y plásmidos. Este agrupamiento permite codificar para la expresión fenotípica en los segmentos de DNA, tal como la dehalogenación.

Los plásmidos conjugados y fagos que se utilizan en la transducción permiten interacción genética horizontal entre comunidades microbianas, tal intercambio genético no necesariamente requiere de adherencia a un "multiorganismo" o a un "superorganismo", pero esta unión pudiera ampliar temporalmente la base genética que se selecciona del medio ambiente. El rearrreglo y el intercambio de genes intracelular incrementa la variabilidad microbiana por tiempos cortos. Esta plasmiticidad genómica puede ser beneficiosa en la adaptación de la comunidad a la contaminación xenobiótica.

Suelos, sedimentos y lodos que contiene xenobióticos cuentan con microhabitats con poblaciones adaptadas a los nuevos químicos. La variabilidad de las condiciones del medio ambiente puede apoyar la gran cantidad de retos genéticos y de estrategias adaptativas. La degradación xenobiótica puede estar limitada por la tasa de transferencia genética, los rearrreglos internos, la densidad de los nichos microbianos que apoyan la diversidad de reservorios genéticos.

IV.4.5 Contribución de los Procesos Biotecnológicos al Medio Ambiente

Los daños y riesgos asociados con la liberación de nuevos organismos al medio ambiente y los cambios de la biotecnología tradicional no han sido completamente estudiados. En numerosos casos, no se cuenta con información sobre las consecuencias por las interacciones en el medio ambiente. (9)

La mayoría de lo liberado al medio ambiente seguirá el patrón de: liberación, dispersión, sobrevivencia y posterior interacción, éste último puede ser a nivel físico o genético.

Con relación a medios acuáticos, es difícil predecir el transporte de los microorganismos tanto en aguas superficiales como subterráneas, por la influencia de mecanismos físicos, como su unión a partículas.

La sobrevivencia de todos los microorganismos depende de las condiciones del medio ambiente, por ejemplo: temperatura, interacciones biológicas, competencia y dispersión; producción de toxinas (como muestra de la patogenicidad).

Una vez liberados, dispersos y sobreviviendo en las nuevas condiciones del medio ambiente, el organismo es capaz de transferir sus muestras genéticas a otros miembros del ecosistema. Con la aparición de nuevos organismos la mayoría preferirá poco intercambio genético, no siendo esto una garantía, ya que hay numerosos ejemplos de intercambio genético con el medio ambiente. Los genes pueden ser transferidos entre las mismas especies, o entre generos. Grabow y Prozeski estudiaron la transferencia de plásmidos multiresistentes a drogas en la población bacteriana en el tratamiento terciario de aguas residuales. Estas fueron entre *E. coli* y *Salmonella typhi*.

Hada y Sizemore reportaron que las bacterias contienen más de un plásmido, aun cuando hubieran sido aisladas en áreas coteras no contaminadas, aunque con menor cantidad de plásmidos que lo reportado para áreas contaminadas.

Los efectos negativos más significativos del intercambio de genes a la fecha ha sido la transferencia de genes resistentes a los antibióticos por organismos patógenos para el hombre. Este problema es mundial. Las bacterias resistentes a los antibióticos han sido aisladas en numerosos lugares y en agua para bebida.

IV.4.6 Evaluación de riesgo

Riesgo puede definirse como una medida de probabilidad y la severidad del daño y es generalmente evaluada a través de tres tipos de investigaciones: 1) Medida de la exposición (determinado las condiciones de exposición), 2) Identificación del daño (contribución de los efectos al daño), incluyendo la medida de dosis-respuesta (relativa a los efectos por la exposición), y 3) Caracterización del riesgo (estimación del riesgo completo).

Un modelo descriptivo usual para la evaluación del riesgo por la aplicación de un producto biotecnológico presentado en un reporte, sugiere una serie de eventos que necesitan ser considerados en la evaluación.

1. Formación: desarrollo de un microorganismos biotecnológicamente alterados en forma deliberada o accidental.
2. Liberación: deliberada o accidental de algunos de estos microorganismos en el medio ambiente.
3. Proliferación: multiplicación, reconstrucción genética, desarrollo, transporte, modificación y muerte de estos microorganismos en el medio ambiente, incluyendo posible transferencia de material genético a otros microorganismos.
4. Establecimiento: en un nicho del ecosistema, incluyendo posible colonización en humanos u otra biota.
5. Efectos sobre humanos y efectos ecológicos: ocurren por la interacción de los organismos con algunos huéspedes o factores del medio ambiente.

Krimsky y Frenkel describen las situaciones de riesgo que pueden aparecer como sigue:

- Efectos impredecibles y posiblemente irreversibles en el medio ambiente.
- Infecciones en humanos y animales.
- Elección de huéspedes por patógenos convencionales.

- Bioefluentes que pueden adicionar cambios en la calidad de las fuentes de agua o tierra por la aplicación en gran escala de procesos biotecnológicos.
- Efectos secundarios adversos o de naturaleza incierta por la utilización en el medio ambiente de organismos sometidos a ingeniería genética.

Los microorganismos (su actividad) son usados para detoxificación y degradación de drenajes industriales. El proceso de lodos activados, desarrollado en este siglo, depende de microorganismos nativos de las aguas residuales. Sin embargo, en la actualidad en todo el mundo existen 20 empresas que comercializan cultivos para ser aplicados en el tratamiento de aguas residuales.

Los esfuerzos están encaminados para mejorar la eficiencia en las plantas de tratamiento por la adición de cultivos especiales o bacterias genéticamente ingenieradas. Pseudomona putida cuenta con plásmidos compatibles de otras especies, dando capacidades únicas de multiutilización de sustratos, los plásmidos específicos son para la degradación de octano, xileno, m-xileno, alcanfor y salicilato.

Los microorganismos para la degradación industrial de compuestos orgánicos tales, como bifenil policlorinados y el herbicida ácido 2,4,5 triclora fenoxiacético(2,4,5) han sido desarrollados a escala de laboratorio. La degradación de compuestos xenobióticos es generalmente el resultado de actividad metabólica concertada por diferentes miembros de una comunidad microbiana altamente interactiva. Slater reportó que un compuesto haloaromático puede ser degradado por microorganismos. Dorn aisló Pseudomona sp. clase B13, la cual puede crecer sobre benzoato.

En el caso del tratamiento de aguas residuales los microorganismos pueden tener una vía directa elaborada por el hombre dentro del medio ambiente. Algunos tomadores de decisiones están conscientes que el desarrollo de nuevos microorganismos para el tratamiento de aguas residuales puede constituir una nueva forma de contaminación.

IV.5.2 Los problemas para la regulación de la Biotecnología.

La regulación gubernamental de la biotecnología es compleja y se requiere para su aprobación la aplicación en el campo del nuevo microorganismo genéticamente manejado. Estas regulaciones provocan altos costos y tiempo perdido para las compañías que desean probar nuevos productos en el medio ambiente. Las regulaciones intentan balancear entre la protección del medio ambiente y el hombre y al mismo tiempo ser no inflexibles a los nuevos avances y beneficios a la sociedad.

Una de las consecuencias de la regulación comprensiva de la biotecnología en algunos países es que generalmente estas regulaciones están siendo evitadas para hacer pruebas en otros países, donde la regulación no es estricta.

CONCLUSIONES.

1. El avance en la ingeniería genética esta proporcionando beneficios potenciales a la sociedad a través del desarrollo de nuevos microorganismos y productos. El desarrollo de estos organismos ha sido exitoso, por lo cual ha habido un incremento en el número de aprobaciones gubernamentales con relación a microorganismos ingenieridos genéticamente en los pasados años. Sin embargo, este potencial debe balancearse por la introducción de problemas y riesgos potenciales.
2. Uno de los mayores problemas enfrentados por la liberación de los nuevos microorganismos en el medio ambiente es la falta de datos, el más importante es el intercambio de genes que ocurre entre varias especies; la resistencia a antibióticos es el ejemplo más evidente de esto, ya que al no poder describir los efectos de la liberación al medio ambiente, no se podrán evaluar los riesgos asociados por la exposición.
3. Considerando que en la práctica la operación y mantenimiento de una planta de tratamiento de agua residual muestra que no se cuenta con personal capacitado, la utilización de microorganismos *manejados* genéticamente representaría mayor riesgo, ya que como cualquier otro producto alguien diseña, otros comercializan y finalmente nadie se hace responsable de su manejo.
4. Con relación a la fisiología de los microorganismos no se ha investigado lo suficiente ya que no se conocen a ciencia cierta los mecanismos bioquímicos.
5. En los sistemas de aguas residuales es imprescindible la presencia y participación de los microorganismos ya que los encontramos tanto en ambientes aerobicos, anaerobicos y facultativos.

6. Es necesario en el tratamiento de aguas residuales la presencia y participación de cultivos mixtos de microorganismos. Un microorganismo por si sólo no es capaz de estabilizar el sistema de tratamiento.
7. Se puede afirmar que el Co-metabolismo es el principal mecanismo de interacción entre los cultivos mixtos de microorganismos que participan en los sistemas de tratamiento de aguas residuales.
8. Los avances logrados con la Ingeniería Genética demuestran que puede ser posible tratar aguas residuales con cualquier sustancia contaminante.
9. Se recomienda mayor difusión del papel que juegan los microorganismos en el tratamiento de aguas residuales, principalmente entre los operadores y responsables de las plantas.
10. Estados Unidos y muchos otros países cuentan con agencias reguladoras sobre salud pública y el medio ambiente. Estas regulaciones deben balancear el desarrollo industrial y evitar el daño al medio ambiente y los riesgos a la salud pública. En el caso de México, con relación a la regulación no cuenta con la misma.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boyle Michael. The Importance of Genetic Exchange in Degradation of Xenobiotic Chemicals. *Environmental Microbiology*, by Ralph Mitchell. Pages 319-334. Ed. Willey-Liss, 1992. United States of America
2. Cerniglia Carl E. Microbial Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Advances in Applied Microbiology*, Volume 30. Pages 31-71. 1984. Ed. Academic Press. USA.
3. Czys W., Deene A., Rump H., Scheneider W., Staude E., Supper W., Blitz E., Böhnke B., Doetsch P., Dreschmann P., Pöppinghaus K., Siekmann K., Thoma S. *Manual de Disposición de Aguas Residuales. Origen, Descarga, Tratamiento y Análisis de Aguas Residuales. Tomo I.* Pages . 1991. Ed. CEPIS, Perú.
4. Ford Tim, Mitchell R. Microbial Transport of Toxic Metals. *Environmental Microbiology*. by Ralph Mitchell. Pages 83-102. Ed. Willey-Liss, 1992. United States of America
5. Gerardi M.H., Horsfall F.L. *Wastewater Biology: The Microlife.* Pages 121-122. 1991. Ed. Imperial Printing Co. USA.
6. Glimour Cynthia C. Effects of Acid Deposition on Microbial Processes in Natural Waters. *Environmental Microbiology*, by Ralph Mitchell. Pages 33-54. Ed. Willey-Liss, 1992. United States of America

7. Gray N. F. Biology of Wastewater Treatment. Biological Waste Treatment, by Eckenfelder Jr. W. W, O'Connor D. J. Pages 150-231. 1992. Ed. Pergamon. USA.

8. Ritman B. E. Innovations in Biological Processes for Pollution Control. Environmental Microbiology, by Ralph Mitchell. Pages 265-286. Ed. Willey-Liss, 1992. United States of America

9. Thakur M. S., Kennedy M. J., Karanth N. G. An Environmental Assessment of Biothechnological Processes. Advances in Applied Microbiology, Volume 36. Pages 67-85. 1991. Ed. Academic Press. USA.