



DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

Escuela de Estudios Superiores del Jicarero

Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de febrero de 2020

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
DE LA UAEM

PRESENTE.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Ciencias Ambientales: **C. VICTORIA DEL MAR MEDINA ACEVEDO**, con el título: **REMOCIÓN DE PLOMO Y CADMIO MEDIANTE FIBRAS DE *Agave angustifolia* Y UN CONSORCIO BACTERIANO COMO UNA ALTERNATIVA DE BIORREMEDIACIÓN.**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: _____

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

ATENTAMENTE

DRA. PATRICIA MUSSALI GALANTE



DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

Escuela de Estudios Superiores del Jicarero

Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de febrero de 2020.

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
DE LA UAEM

PRESENTE.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Ciencias Ambientales: **C. VICTORIA DEL MAR MEDINA ACEVEDO**, con el título: **REMOCIÓN DE PLOMO Y CADMIO MEDIANTE FIBRAS DE *Agave angustifolia* Y UN CONSORCIO BACTERIANO COMO UNA ALTERNATIVA DE BIORREMEDIACIÓN.**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: _____

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

ATENTAMENTE

DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ



DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

Escuela de Estudios Superiores del Jicarero

Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de febrero de 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
DE LA UAEM.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Ciencias Ambientales: **C. VICTORIA DEL MAR MEDINA ACEVEDO**, con el título del trabajo: **"REMOCIÓN DE PLOMO Y CADMIO MEDIANTE FIBRAS DE *Agave angustifolia* Y UN CONSORCIO BACTERIANO COMO UNA ALTERNATIVA DE BIORREMEDIACIÓN.**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: Si

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

ATENTAMENTE

DR. ALEXIS JOAVANY RODRÍGUEZ SOLÍS

Carretera Galeana-Tequesquitengo s/n Col. El Jicarero C.P. 62909 Jojutla, Morelos.
Tel. (734) 34 387 51, (777) 329 7000 Ext. 7066 y 3990 / eesjicarero@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

Escuela de Estudios Superiores del Jicarero

Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de febrero de 2020.

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
DE LA UAEM**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Ciencias Ambientales: **C. VICTORIA DEL MAR MEDINA ACEVEDO**, con el título del trabajo: **"REMOCIÓN DE PLOMO Y CADMIO MEDIANTE FIBRAS DE *Agave angustifolia* Y UN CONSORCIO BACTERIANO COMO UNA ALTERNATIVA DE BIORREMEDIACIÓN.**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: _____ ✓

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

ATENTAMENTE

M. en B. ANA KAREN IVANNA FLORES TRUJILLO

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de febrero de 2020

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
DE LA UAEM.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Ciencias Ambientales: **C. VICTORIA DEL MAR MEDINA ACEVEDO**, con el título del trabajo: **"REMOCIÓN DE PLOMO Y CADMIO MEDIANTE FIBRAS DE *Agave angustifolia* Y UN CONSORCIO BACTERIANO COMO UNA ALTERNATIVA DE BIORREMEDIACIÓN.**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: ✓

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

ATENTAMENTE



DRA. ISELA HERNÁNDEZ PLATA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

**REMOCIÓN DE PLOMO Y CADMIO MEDIANTE FIBRAS
DE *Agave angustifolia* Y UN CONSORCIO
BACTERIANO COMO UNA ALTERNATIVA DE
BIORREMEDIACIÓN**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

P R E S E N T A:

VICTORIA DEL MAR MEDINA ACEVEDO

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. PATRICIA MUSSALI GALANTE

CODIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARÍA LUISA CASTREJÓN GODÍNEZ

JOJUTLA, MORELOS

JUNIO, 2020

DEDICATORIA

A mi mamá Fabiola Acevedo y a mi papá Carlos Medina por todo su apoyo a lo largo del proceso, por cuidarme y creer en mí siempre, porque sin ellos no sería hoy quien soy y por brindarme la oportunidad de seguir estudiando. Por estar siempre pendientes de mí y mis avances, por estar predispuestos a ayudarme.

A mis hermanos Daniel, Suset y Cristina por tantas risas por comprenderme y brindarme su apoyo en todo momento.

A mi familia en general por su apoyo en momentos difíciles impulsándome a querer seguir adelante sin importar las circunstancias.

A Dios por guiarme en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Patricia Mussali y a la Dra. Luisa Castrejón directoras de este proyecto de investigación, por brindarme su tiempo, su excelente orientación dándome la oportunidad de realizar este proyecto y todos los consejos que me permitieron alcanzar los objetivos de este trabajo.

A la Dra. Laura Ortiz y al Dr. Enrique Sánchez por su disposición y colaboración en los diferentes requerimientos a lo largo de mis seminarios.

Al Dr. Alexis Rodríguez, la Dra. Isela Hernández, el Dr. Efraín Sánchez y M. en B. Karen Flores por su tiempo, predisposición y ayuda ante cualquier consulta, por toda la información y experiencias compartidas.

A mis compañeros de laboratorio Karen, Marcos, Cyntia, Janet, Jasiel, Damaris, Aaron y Sofi que en poco tiempo se convirtieron en amigos con los que se puede contar en cualquier momento, por apoyarme dentro y fuera del laboratorio.

A mis amigas Nataly y Miriam por soportarme cuando estaba estresada por las revisiones de la tesis o los seminarios, por hacerme reír y estar conmigo en momentos felices y difíciles de mi vida, por orientarme y brindarme esa amistad incondicional.

A mis amigos Alexis, Julissa, Karen, Omar, Arturo, Chit, Bazan, Brayan, Dani, Michelle, que siempre me preguntaban por mis avances o cuando me quedaba hasta la noche por terminar algún experimento y me brindaban su compañía, por compartir momentos inolvidables en la universidad que compartimos salón de clases, risas, momentos de estrés y más.

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE DE TABLAS | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| RESUMEN | v |
| ABSTRACT | vi |
| 1. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 4 |
| 2.1. Minería..... | 4 |
| 2.2. Minería en México..... | 4 |
| 2.3. Minería en el estado de Morelos..... | 5 |
| 2.4. Metales pesados (MP) | 5 |
| 2.4.1. Características fisicoquímicas del plomo..... | 6 |
| 2.4.2. Características fisicoquímicas del cadmio | 6 |
| 2.5. Efectos de los metales pesados en la salud humana | 7 |
| 2.5.1. Efectos del plomo en la salud humana | 8 |
| 2.5.2. Efectos del cadmio en la salud humana | 9 |
| 2.6. Efecto de los metales pesados en el ambiente..... | 9 |
| 2.7. Contaminación del agua por metales pesados | 11 |
| 2.7.1. Legislación en materia de contaminación del agua por metales pesados | 13 |
| 2.8. Alternativas para la remoción de metales pesados en el agua | 15 |
| 2.9. Biorremediación | 16 |
| 2.9.1. Biosorción | 18 |
| 2.9.2. Utilización de fibras naturales como biosorbentes para la biorremediación del agua por presencia de metales pesados..... | 19 |
| 2.9.3. Utilización de bacterias para la biorremediación del agua por presencia de metales pasados | 19 |
| 2.9.3.1. Consorcio bacteriano..... | 21 |
| 2.9.4. Inmovilización bacteriana | 21 |
| 3. ANTECEDENTES DIRECTOS..... | 23 |
| 4. JUSTIFICACIÓN | 24 |

| | |
|---|----|
| 5. HIPÓTESIS | 25 |
| 6. OBJETIVO GENERAL | 25 |
| 6.1. Objetivos particulares | 25 |
| 7. METODOLOGÍA | 26 |
| 7.1. <i>Agave angustifolia</i> | 26 |
| 7.2. Obtención de las fibras de <i>Agave angustifolia</i> | 27 |
| 7.3. Metales pesados utilizados | 27 |
| 7.4. Consorcio bacteriano | 28 |
| 7.5. Biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla utilizando las fibras de <i>Agave angustifolia</i> | 28 |
| 7.6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del consorcio bacteriano en presencia de plomo y cadmio..... | 30 |
| 7.7. Obtención del preinóculo del consorcio bacteriano..... | 31 |
| 7.8. Biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla utilizando el consorcio bacteriano..... | 31 |
| 7.9. Inmovilización del consorcio bacteriano sobre la fibra de <i>Agave angustifolia</i> como soporte | 32 |
| 7.9.1. Cinética del consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de <i>Agave angustifolia</i> | 33 |
| 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 35 |
| 8.1. Análisis de la biosorción de plomo y cadmio utilizando <i>Agave angustifolia</i> | 35 |
| 8.2. Caracterización microbiológica de consorcio bacteriano | 38 |
| 8.4. Cinética de crecimiento del consorcio bacteriano | 40 |
| 8.5. Biosorción de plomo y cadmio utilizando el consorcio bacteriano | 40 |
| 8.7. Biosorción de plomo y cadmio por el consorcio bacteriano y la fibra de <i>Agave angustifolia</i> | 45 |
| 8.8. Comparación de biosorción: Fibras de <i>Agave angustifolia</i> y el consorcio bacteriano | 47 |
| 9. CONCLUSIONES | 51 |
| 10. PERSPECTIVAS..... | 52 |
| 11. LITERATURA..... | 53 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Características químicas del Plomo (Pb) y Cadmio (Cd) | 7 |
| Tabla 2. Límites máximos permisibles de metales pesados en agua de acuerdo a las normas mexicanas. | 14 |
| Tabla 3. Ventajas y desventajas del tratamiento fisicoquímico y biológico (Mena y Campos, 2016)..... | 16 |
| Tabla 4. Biosorbentes con la capacidad de remoción de Plomo y Cadmio. | 22 |
| Tabla 5. Diseño experimental para el estudio de biosorción de metales pesados. | 29 |
| Tabla 6. Condiciones analíticas del espectrofotómetro de absorción atómica utilizado para la cuantificación de plomo y cadmio. | 30 |
| Tabla 7. Análisis estadísticos de adsorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla sobre la fibra de <i>A. angustifolia</i> | 37 |
| Tabla 8. Caracterización microbiológica del consorcio bacteriano. | 38 |
| Tabla 9. Análisis estadísticos del porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla del consorcio bacteriano. | 44 |
| Tabla 10. Porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla con el consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de <i>Agave angustifolia</i> | 47 |
| Tabla 11. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo plomo de manera individual. | 48 |
| Tabla 12. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo cadmio de manera individual..... | 49 |
| Tabla 13. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo plomo en mezcla con el cadmio. | 49 |
| Tabla 14. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo cadmio en mezcla con el plomo. | 50 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Proceso de biosorción (Viades, 2013)..... | 18 |
| Figura 2. Diagrama general de la metodología. | 26 |
| Figura 3. Porcentajes de adsorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla sobre la fibra de A. angustifolia..... | 37 |
| Figura 4. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de plomo y cadmio del consorcio bacteriano. | 39 |
| Figura 5. Cinética de crecimiento del consorcio bacteriano. | 40 |
| Figura 6. Porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla del consorcio bacteriano. | 43 |
| Figura 7. Porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla con el consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de Agave angustifolia. | 46 |

RESUMEN

La contaminación del agua por metales pesados es un problema ambiental vigente, por lo que contar con alternativas novedosas para su eliminación es de suma importancia. La biosorción es considerada una tecnología limpia, económica y versátil, debido a que puede adaptarse a las necesidades y condiciones de los sitios contaminados, puede ser utilizada como una herramienta biotecnológica para la restauración de estos sitios. El objetivo de la presente investigación es evaluar la capacidad de remoción de metales pesados como el Plomo (Pb) y el Cadmio (Cd) del agua, a través del uso de fibras de *Agave angustifolia* y un consorcio bacteriano. El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Investigaciones Ambientales del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. La estrategia metodológica consistió en preparar soluciones de los metales individuales (100 mg/L) y en mezcla, para evaluar su remoción mediante el empleo de las fibras de *Agave* a las 0 y 24 horas. Posteriormente, se realizaron cinéticas de crecimiento del consorcio bacteriano en presencia de las soluciones de Cd, Pb, y la mezcla de ellos, se llevaron a cabo muestreos a las 0, 24 y 48 horas para determinar el porcentaje de biosorción de metales por las células bacterianas. Los resultados mostraron que las fibras de *A. angustifolia* son capaces de adsorber el 80% del Pb, mientras que el consorcio bacteriano presentó mayor adsorción de Pb (49.4% en el tiempo 0) con respecto al Cd (3.8% en el tiempo 0). En cuanto a la inoculación del consorcio bacteriano sobre las fibras resultó tener una mayor biosorción de Pb (79.5%) en mezcla con Cd (34.9%) a las 48 horas. De acuerdo con los resultados obtenidos del estudio se concluye que la fibra presenta potencial como biosorbente para la remoción de Pb, sin embargo, su capacidad de remoción disminuye en presencia de mezclas de metales. Por otro lado, el consorcio bacteriano evaluado al igual que la fibra presenta mayor afinidad por el Pb, además es capaz de remover mezclas de metales pesados (Pb y Cd) con una eficiencia superior al 50%. Contrario a lo que se esperaba, el proceso de inmovilización bacteriana sobre la fibra no mejoró el proceso de biosorción por lo que se recomienda el uso de estos biosorbentes de forma individual.

Palabras clave: Biorremediación, consorcio bacteriano, fibras *Agave angustifolia*, metales pesados.

ABSTRACT

Water pollution by heavy metals is a current environmental problem. Hence, having novel alternatives for its elimination is of great importance. The biosorption is considered a clean, economic and versatile technology, because it can be adapted to the needs and conditions of the contaminated sites, it can be used as, a biotechnology tool for restoration of polluted sites. This research aimed to evaluate the ability to remove heavy metals such as cadmium (Cd) and lead (Pb) from water through the use of *Agave angustifolia* fibers and a bacterial consortium. This work was carried out in the Environmental Research Laboratory at the Biotechnology Research Center of the Autonomous University of the State of Morelos. The methodological strategy consisted in preparing solutions for individual metals (100 mg/L) and their mixture, in evaluating their removal by using *Agave* fibers at 0 and 24 hours. Subsequently, growth kinetics of the bacterial consortium was performed in the presence of Cd and Pb solutions and the mixture; sampling was carried out at 0, 24, and 48 hours to determine the metal biosorption percentage by the bacterial cells. The results showed that the fibers of *A. angustifolia* were able to adsorb 80% of Pb, while the bacterial consortium showed higher adsorption of Pb compared to Cd. The *A. angustifolia* fibers, as well as the bacterial consortium, can be used as biotechnological tools for the removal of heavy metals from water, specifically Pb and Cd. Regarding the inoculation of the bacterial consortium on the fibers, it was found to have a greater biodiffusion of Pb when mixed with Cd at 48 hours (79.5%). According to the study results, it is concluded that the fiber has potential as biosorbent for removing Pb. However, its removal capacity decreases in the presence of metal mixtures. On the other hand, the bacterial consortium evaluated as well as the fiber has a higher affinity for Pb, but is also capable of removing heavy metal mixtures (Pb and Cd) with an efficiency higher than 50%. Contrary to what was expected, the process of bacterial immobilization on the fiber did not improve the biosorption process, so it is recommended to use these biosorbents separately.

Keywords: Bioremediation, bacterial consortium, *Agave angustifolia* fibers, heavy metals.

1. INTRODUCCIÓN

La minería es una de las principales actividades económicas en México (Monreal y Hernández, 2015). Sin embargo, la industria minera genera residuos llamados jales. Los cuales contienen altas concentraciones de metales pesados (MP) y elementos tóxicos (Cartaya *et al.*, 2008). Los MP tienen un impacto negativo en el ambiente y en la salud humana, ya que se incorporan al cuerpo humano a través de la inhalación, el consumo de agua o alimentos contaminados, causando enfermedades he incluso la muerte (Tejada-Tovar *et al.*, 2015). Asimismo, los MP tienden a persistir indefinidamente en el ambiente, comprometiendo el bienestar y equilibrio de la fauna y la flora existente, mediante su acumulación e ingreso a la cadena trófica (Akar *et al.*, 2009; Tejada-Tovar *et al.*, 2015). Además de ello es importante mencionar la contaminación de los cuerpos de agua superficiales, subterráneos y agua potable por MP. Específicamente, en el agua potable, los MP rebasan los límites máximos permitidos establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-127-SSA1-1994; NOM-001-SEMARNAT-1996; NOM-002-SEMARNAT-1996). Los metales con mayor presencia en el agua destacan; cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercurio (Hg), níquel (Ni) y plomo (Pb) (Wang y Chen, 2009; García *et al.*, 2011). Generalmente la remoción de estos contaminantes requiere de tecnologías efectivas, por lo que se han desarrollado técnicas de limpieza que tratan esta problemática (Covarrubias *et al.*, 2015). Existen tratamientos de tipo fisicoquímico que utiliza las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado, y de tipo biológico en los cuales se utilizan plantas, hongos, bacterias, microalgas, algas, fibras de origen vegetal, cascaras de cereales o de frutas para remover los contaminantes (Caviedes-Rubio *et al.*, 2016). Esta estrategia biológica se llama biorremediación y utiliza diferentes sorbentes de origen biológico (vivo o muerto) o mediante una combinación de biosorbentes, las cuales no dañan ni alteran el medio ambiente. La biorremediación se considera una tecnología limpia, con bajos costos y versátil, porque lo que puede adaptarse a las necesidades de cada sitio. En el caso de la remoción de MP del agua se ha desarrollado los procesos de biosorción como en el 2018 Vera *et al.*,

donde utilizaron el bagazo de caña de azúcar como biosorbente donde se obtuvieron porcentajes de remoción 97.76 para el Pb^{+2} y 81.35 para el Cd^{+2} .

En estudios anteriores se ha comprobado que tanto las bacterias (Pina-González, s.f.) como las fibras naturales (Flores-Trujillo, 2016) tienen potencial para la biosorción de MP del agua, con un porcentaje alto de remoción para metales como el Pb y Cd, los cuales son comúnmente encontrados en los jales. Por tal motivo, y con el fin de plantear una alternativa para la remoción de MP utilizando la biorremediación, en el presente trabajo se realizó un estudio de biosorción de Pb y Cd mediante el uso de un consorcio entre bacterias y las fibras de *Agave angustifolia* para la extracción de dichos metales presentes en el agua. Cabe destacar que las bacterias fueron inmovilizadas sobre las fibras.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Minería

En la Tierra existe una amplia variedad de recursos minerales que se encuentran en forma sólida, líquida o gaseosa. Dichos recursos se acumulan en zonas denominadas yacimientos, los cuales pueden encontrarse en la superficie o ser subterráneos (Monreal y Hernández, 2015). En la minería se extraen diferentes minerales y es una actividad económica que se conoce como primaria, ya que los minerales se extraen directamente de la Tierra sin ser tratados previamente por el hombre (Monreal y Hernández, 2015). La minería se divide en metálica y no metálica. En la minería metálica se realiza la extracción del aluminio (Al), cobre (Cu), hierro (Fe), magnesio (Mg), manganeso (Mn), níquel (Ni), oro (Au), plata (Ag), platino (Pt), plomo (Pb), titanio (Ti), uranio (U) y zinc (Zn). Mientras que en la minería no metálica se extraen algunos elementos como el azufre (S), carbón (C) y algunos compuestos como cloruros (Cl^-), nitratos (NO_3^-), óxidos (O^-) y sulfuros (S^-), entre otros (Martínez, 2008).

El desarrollo de la tecnología en la industria minera de procesos metalúrgicos ha permitido explotar considerables cantidades de minerales con valor comercial, sin embargo, como resultado de la minería se producen residuos denominados jales, los cuales se generan en el proceso de concentración de minerales, estos residuos son de granulometría fina, que generalmente contiene concentraciones de sulfuros metálicos de Ag, Cu, Pb, y Zn que son la fuente de elementos potencialmente tóxicos como los MP tales como Pb y Cd (Romero *et al.*, 2007; Romero y Gutiérrez, 2010; Mussali-Galante, 2013).

2.2. Minería en México

La minería es una de las principales actividades económicas de México, la cual contribuye con el cuatro por ciento del Producto Interno Bruto. A nivel mundial,

México se encuentra entre los 10 principales productores de diferentes minerales: barita (BaSO_4), bismuto (Bi), cadmio (Cd), celestita (SrSO_4), cobre (Cu), cloruro de sodio o comúnmente conocida como sal (NaCl), fluorita (CaF_2), grafito (C), molibdeno (Mo), oro (Au), plata (Ag), plomo (Pb), yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), wollastonita (CaSiO_3) y zinc (Zn) (Monreal y Hernández, 2015; Secretaria de Economía, 2020). En México la industria minera se dedica principalmente a la producción de Ag, Cu, Pb y Zn concentrándose en los Estados de Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora y Zacatecas (Martínez, 2008).

2.3. Minería en el estado de Morelos

El estado de Morelos es primordialmente un productor de minerales no metálicos, ya que éstos se encuentran ampliamente distribuidos en su territorio. En el estado de Morelos la obtención de minerales metálicos se realizó únicamente en la localidad de Huautla del municipio de Tlaquiltenango; este yacimiento empezó a explotarse por los españoles a finales del Siglo XVII. Sin embargo, las actividades mineras terminaron en los años 80's, dónde se extraía Ag y Pb, actualmente este sitio se encuentra inactivo, por otra parte, en las cercanías de Tilzapotla se tienen manifestaciones de oro (SGM, 2018). Durante el proceso de extracción se generaron grandes cantidades de residuos y de material no procesado que se encuentra a la intemperie. Dichos residuos se encuentran al borde de arroyos y son ricos en Pb, Cd y Mn (Martínez, 2008).

2.4. Metales pesados (MP)

Los MP se definen como aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos. Algunos de los MP son el Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb y Zn (Navarro *et al.*, 2007). El Pb y el Cd son

dos de los metales comúnmente encontrados en los jales de Huautla Morelos (Solís-Miranda, 2016), por lo que en este estudio son de gran interés.

La contaminación por MP ocasionada por vía antrópica y natural, representa un riesgo para la salud humana y el equilibrio ambiental, ya que los metales suelen persistir indefinidamente en el ambiente. La toxicidad de los MP depende de la especiación química, persistencia, tendencia de acumulación o bioacumulación y de su movilidad en el medio. Este último se refiere a que los MP pueden encontrarse en el suelo, aire y agua (Caviedes-Rubio *et al.*, 2016; Covarrubias y Peña-Cabriales, 2017).

La peligrosidad de los MP es aún mayor al no ser ni química ni biológicamente degradables. Los efectos adversos que causan estos elementos tanto en la salud humana (toxicología), como en los animales y plantas (ecotoxicología) han sido ampliamente estudiados (Montes, 2016).

2.4.1. Características fisicoquímicas del plomo

El Plomo (Pb) es un elemento natural con un peso atómico de 207.2 g/mol se encuentra en el grupo 14 (IVA) de la tabla periódica, es de color gris-azulado, usualmente se encuentra combinado con dos o más elementos para formar componentes de plomo (ATSDR, 2007). Por su alta maleabilidad y ductilidad resulta adecuado para diferentes aplicaciones, es resistente a la corrosión y se adapta perfectamente al ser combinado con otros elementos que mejoran sus propiedades químicas, físicas y mecánicas (Amábilis-Sosa, 2015) (Tabla 1).

2.4.2. Características fisicoquímicas del cadmio

El Cadmio (Cd) fue descubierto por Fredrich Stromeyer en 1817. Este metal forma parte del grupo 12 (IIB) de la tabla periódica, con un peso atómico de 112.41 g/mol; la forma iónica del cadmio (Cd^{2+}) está usualmente combinada con formas iónicas

del oxígeno (óxido de cadmio, CdO), cloruro (cloruro de cadmio, CdCl₂) o sulfuros (sulfato de cadmio, CdSO₄); se ha estimado que 300,000 toneladas de Cd son liberadas al ambiente cada año, de las cuales de 4,000 a 13,000 toneladas son derivadas de las actividades humanas (ATSDR, 2008) (Tabla 1).

Tabla 1. Características químicas del Plomo (Pb) y Cadmio (Cd)

| PROPIEDADES QUÍMICAS | METAL | |
|-------------------------------------|---|--------------------------------------|
| | Pb | Cd |
| Número atómico | 82 | 48 |
| Valencia | 2,4 | 2 |
| Estado de oxidación | +2 | +2 |
| Electronegatividad | 1,9 | 1,7 |
| Radio covalente (Å) | 1,47 | 1,48 |
| Radio iónico (Å) | 1,20 | 0,97 |
| Radio atómico (Å) | 1,75 | 1,54 |
| Configuración electrónica | [Xe]4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ² | [Kr]4d ¹⁰ 5s ² |
| Primer potencial de ionización (eV) | 7,46 | 9,03 |
| Masa atómica (g/mol) | 207,2 | 112,40 |
| Densidad (g/ml) | 11,4 | 8,65 |
| Punto de ebullición (°C) | 1725 | 765 |
| Punto de fusión (°C) | 327,4 | 320,9 |

2.5. Efectos de los metales pesados en la salud humana

Los metales pesados pueden incorporarse al cuerpo humano a través de la inhalación de partículas, la ingestión de polvo, agua o alimentos contaminados o por absorción dérmica. Los efectos tóxicos dependen del tipo de metal, de la concentración, tiempo de exposición, salud del individuo, estado nutricional, vías de exposición y en algunos casos de la edad del individuo expuesto. No existe un nivel

de exposición de metales que pueda considerarse seguro (Ferré-Huguet *et al.*, 2007; OMS, 2018).

2.5.1. Efectos del plomo en la salud humana

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018) menciona que el Pb al ingresar al cuerpo se distribuye por el organismo hasta alcanzar el cerebro, el hígado y los riñones, depositándose principalmente en dientes y huesos donde se acumula. En mujeres embarazadas el Pb acumulado en los huesos es liberado hacia la sangre siendo una fuente de exposición para el feto. El Pb suele aprovechar el metabolismo del Ca para sustituirlo, generando daños a nivel celular (Navarro *et al.*, 2007).

Para evaluar el grado de exposición humana, se suele medir la concentración de Pb en sangre, como lo indica la NOM-199-SSA1-2000. La cual establece los niveles de Pb en sangre y los criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente, por ejemplo:

- El valor criterio para la concentración de Pb en sangre en niños, mujeres embarazadas y en periodo de lactancia es de 10 mg/dl.
- El valor criterio para la concentración de Pb en sangre para el resto de la población expuesta no ocupacionalmente es de 25 mg/dl.

Kakkar y Jaffery (2005) indican que los niveles de Pb en la sangre representan una exposición reciente, mientras que los niveles de Pb en hueso indican una exposición crónica. De acuerdo con el Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) han señalado que el Pb es posiblemente carcinogénico en seres humanos. Sin embargo, la IARC especifica que el Pb inorgánico es probablemente carcinogénico para el humano. Por otra parte, no hay suficiente información para determinar si los compuestos orgánicos del Pb pueden producir cáncer en seres humanos (ATSDR, 2012).

2.5.2. Efectos del cadmio en la salud humana

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013) menciona que el efecto del Cd en el organismo humano se relaciona con las cantidades, el tiempo de exposición y con la vía de entrada del metal.

- En **exposición aguda** se observa neumonitis y edema pulmonar, gastroenteritis, náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea y fallo renal. También puede causar aberraciones cromosómicas, efectos teratogénicos y congénitos. Cabe mencionar que el Cd en el riñón (túbulos renales) se puede acumular hasta por 30 años (Londoño-Franco et al., 2016).
- En **exposición crónica** se presenta anemia, disfunción renal, cálculos renales, osteoporosis, osteomalacia, trastornos respiratorios, hipertensión, trastornos nerviosos, pérdida de peso y apetito, cáncer de próstata y pulmón (Londoño-Franco *et al.*, 2016).

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC por sus siglas en inglés), la DHHS, y la EPA han determinado que el Cd y los compuestos de Cd son reconocidos como carcinogénicos para los seres humanos (ATSDR, 2012).

2.6. Efecto de los metales pesados en el ambiente

La actividad minera ha tenido grandes repercusiones en el ambiente, debido a la generación de residuos conocidos como jales (Montes, 2016). Un ejemplo claro de estos residuos son los de tipo inorgánico disueltos como los metales pesados (MP), ya que alteran de manera significativa las condiciones naturales de un ecosistema (Amábilis-Sosa, 2015).

La rápida industrialización ha ocasionado el aumento de la disposición de los MP en los ecosistemas, su uso extensivo durante las últimas décadas, inevitablemente

origina un aumento en el flujo de sustancias metálicas hacia los ambientes acuáticos (Fu y Wang, 2011).

Las altas concentraciones de MP, tales como el As, Cd, Cu, Pb y Zn, en los cuerpos de agua y agua potable pueden atribuirse a la minería, causando un impacto en el ambiente. Estas sustancias tóxicas tienden a persistir indefinidamente en el ambiente, comprometiendo el bienestar y equilibrio de la fauna y la flora. Asimismo, los MP pueden ingresar y acumularse a las cadenas tróficas (Tejada-Tovar *et al.*, 2015).

El saturnismo (también conocido como plumbosis o plumbemia) es una enfermedad causada por la intoxicación por Pb y suele afectar a humanos y a los animales. Este metal puede producir anemia, debido a que la presencia de Pb bloquea la síntesis de hemoglobina y altera el transporte de oxígeno a la sangre y a los demás órganos del cuerpo (Azcona-Cruz *et al.*, 2015; Onteniente *et al.*, 2017). Los signos clínicos más significativos se presentan en el sistema digestivo y en el nervioso. Algunos organismos, como los crustáceos y otros invertebrados, son muy sensibles al Pb (en vertebrados el exceso de Pb cuando se deposita en los huesos y mientras que, en estos organismos al no poseerlos, el Pb se distribuye por el organismo), y en muy pequeñas concentraciones les causan graves mutaciones. Por ejemplo, en crías de crustáceos se ha detectado saturnismo crónico. Los cuales presentaban extremidades más largas, deformidades en otras y un comportamiento agresivo y poco coordinado llegando a producirse automutilaciones y auto laceraciones múltiples. Lo que fue atribuido a alteraciones genéticas generadas por la contaminación por Pb (Muñoz, 2012). Por otra parte, Carneiro *et al.* (2015) indican que las poblaciones silvestres de buitres leonados de la Península Ibérica, por su posición en la cadena trófica y sus hábitos alimenticios, se encuentran expuestas a la acumulación de MP en sus tejidos, presentando una alta presencia de Pb, que afecta a su sistema inmunológico y su función reproductora.

Con respecto al Cd, este es considerado uno de los elementos más peligrosos particularmente por su carácter acumulativo. En el ambiente, las plantas y algunos animales, absorben el Cd eficazmente y lo concentran en sus tejidos. Entre los efectos de envenenamiento por Cd mejor conocidos y documentados, se encuentra el daño severo en el ADN y el estrés oxidante producido en los lípidos (Navarro *et al.*, 2007).

2.7. Contaminación del agua por metales pesados

La calidad del agua promueve la salud humana y un equilibrio ambiental, el agua apta para uso y consumo de todas las especies debe cumplir con parámetros mínimos que se establecen para reducir el riesgo de alguna enfermedad. La calidad del agua se ve comprometida a consecuencia de diversas actividades ya sean naturales o antropogénicas que tienden a alterar su estructura, composición y funciones (Hernández-Vázquez, 2014; Caviedes-Rubio *et al.*, 2016).

La calidad del agua es afectada como consecuencia de actividades antropogénicas como la minería, que produce consecuencias adversas sobre el agua, cambiando su valor para el hombre y la biota. La minería produce residuos que contienen MP y éstos terminan transfiriéndose al ambiente debido a su incorrecto tratamiento o disposición final. Entre los MP más susceptibles de presentarse en el agua se destacan el Cd, Cu, Cr, Hg, Ni y Pb. Los cuales pueden ser acumulados en los distintos eslabones de la cadena trófica, e incluso trasladados a sitios muy alejados del punto de origen de la contaminación, usualmente a través del agua. Estos procesos traen consecuencias ambientales graves para el ecosistema y para la salud humana (Wang y Chen, 2009).

Además, los metales pueden abandonar un suelo por volatilización, disolución, erosión o lixiviado, y acumularse en los organismos. Dicha acumulación ocurre cuando los MP pueden ser asimilables, es decir cuando se encuentran en forma soluble (Galán y Romero, 2008). El Cd existe en forma de ion libre o como complejo

iónico asociado a otras sustancias inorgánicas u orgánicas. Los compuestos de Cd solubles se movilizan en el agua, mientras que los insolubles se depositan en el sedimento (ATSDR, 2012).

El aumento de concentración de MP en los cuerpos de agua se debe principalmente a la contaminación directa y de origen industrial o minero. Además de ello, los lixiviados de vertederos o vertidos de aguas residuales también pueden ser una fuente de contaminación. Además, en algunos casos el agua puede sufrir un proceso de enriquecimiento natural en MP al atravesar acuíferos formados por rocas que los contienen (Bonilla *et al.*, 2014).

Las actividades mineras de metales no ferrosos son la principal fuente de liberación de Cd (por ejemplo; el Cd es el subproducto de la obtención de Zn) al medio acuático. La contaminación de agua con Cd también puede deberse al drenado de las minas, aguas residuales del procesamiento de los minerales, derrames de los depósitos de desechos, entre otros.

El caso de contaminación por Pb más significativo en México fue registrado en 1999, en la población infantil de Torreón, Coahuila. Se reportaron casos de envenenamiento por Pb proveniente de actividades industriales, cuyos residuos incorporan este metal a la cadena alimenticia y al agua. Esto provocó la afectación de docenas de niños y niñas, ya que habían presentado niveles sumamente altos de Pb en sangre (más de 70 µg/dL). En algunos casos se encontraron concentraciones de Pb de 90 y hasta de más de 100 µg/dL (Valdés y Cabrera, 1999).

2.7.1. Legislación en materia de contaminación del agua por metales pesados

Una de las principales causas de la contaminación de los ecosistemas acuáticos se deriva de las descargas de aguas domésticas e industriales, en su mayoría sin tratamiento alguno o muy deficiente. Lo que ha provocado que una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos entre ellos los MP se encuentren presentes en el agua. En México, se ha desarrollado legislación para regular las actividades desempeñadas por los sectores tanto privado como público. La regulación a causa de la contaminación por MP en recursos hídricos, es importante ya que compromete severamente la salud, seguridad alimentaria y ambiente a nivel global y local.

Dentro de la legislación, las concentraciones de MP en el agua están reguladas de acuerdo a la NOM-127-SSA1-1994 (modificación en DOF junio del 2000). La cual tiene como objetivo la salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Por otro lado, la NOM-001-SEMARNAT-1996 (modificación en DOF enero del 2018) también establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Finalmente, la NOM-002-SEMARNAT-1996 (modificación en DOF abril de 1998) establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal (Tabla 2).

Tabla 2. Límites máximos permisibles de metales pesados en agua de acuerdo a las normas mexicanas.

| NOM-127-SSA1-1994 (mg/L) | | NOM-001-SEMARNAT-1996 (mg/L) | | | | | | | | NOM-002-SEMARNAT-1996 (mg/L) |
|-----------------------------|--------------|---------------------------------|--------------------|-----------------------------|--|--------------------|--|----------------------|-----------|---------------------------------|
| | | RÍOS (P.D) | | | EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES (P.D) | | | AGUAS COSTERAS (P.D) | | |
| Metales | Agua potable | Uso en riego agrícola | Uso público urbano | Protección de vida acuática | Uso en riego agrícola | Uso público urbano | Explotación pesquera navegación y otros usos | Recreación | Estuarios | Alcantarillado |
| Arsénico | 0.20 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.2 | 0.75 |
| Cadmio | 0.005 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.2 | 0.75 |
| Cobre | 2.00 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.1 | 6.0 | 6.0 | 15 |
| Cromo | 0.05 | 1.5 | 1.0 | 1.0 | 1.5 | 1.0 | 1.0 | 1.5 | 1 | 0.75 |
| Mercurio | 0.001 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.015 |
| Níquel | | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 6 |
| Plomo | 0.025 | 1 | 0.4 | 0.4 | 1 | 0.4 | 0.4 | 1 | 0.4 | 1.5 |
| Zinc | 5 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 9 |

Promedio Diario (P.D): Es el valor que resulta del análisis de una muestra compuesta, tomada en un día representativo del proceso generador de la descarga.

2.8. Alternativas para la remoción de metales pesados en el agua

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los MP presentan desafíos, debido a que no es posible degradarlos, por lo que generalmente la remoción de estos contaminantes requiere de tecnologías efectivas, por lo que se han desarrollado técnicas de limpieza que tratan esta problemática (Covarrubias *et al.*, 2015).

Existen diversos procedimientos tanto físicos, químicos y biológicos para la remoción de MP en agua. Las técnicas que habitualmente se emplean en un tratamiento fisicoquímico para la remoción de estos contaminantes se encuentran: la filtración por membrana, osmosis inversa, nanofiltración, intercambio iónico o la precipitación química. Las cuales, aunque son efectivas, presentan desventajas para el ambiente, ya que suelen tener efectos negativos para él, tales como son la utilización de sustancias tóxicas que generan lodos. Sin embargo, remoción de MP a través de tratamientos biológicos, como la biorremediación, se ha convertido en una de las alternativas de tratamiento para las aguas contaminadas con MP. Estas técnicas presentan un enorme interés debido a la variedad de métodos de eliminación de metales de sitios contaminados. Entre ellos destaca la fitorremediación que es una técnica que aprovecha la capacidad de algunas plantas para acumular compuestos xenobióticos. Otros microorganismos utilizados en la biorremediación son hongos, bacterias, microalgas, algas, fibras de origen vegetal, cáscaras de cereales o de frutas como biosorbentes (Caviedes-Rubio *et al.*, 2016). En la Tabla 3 se muestran las ventajas y desventajas de un tratamiento biológico en comparación a un método fisicoquímico.

Tabla 3. Ventajas y desventajas del tratamiento fisicoquímico y biológico (Mena y Campos, 2016).

| MÉTODOS | VENTAJAS | DESVENTAJAS |
|-------------------------------------|--|---|
| Fisicoquímicos | a) Operación simple. b) Alta selectividad. c) Algunos emplean un espacio pequeño. | 1) En ocasiones, la remoción de metales es incompleta y son ineficaces cuando los metales se encuentran en bajas concentraciones en la solución tratada. 2) Altos requerimientos de energía y reactivos. 3) En algunos casos utilizan sustancias que no son deseables para el ambiente. 4) Casi siempre son específicos para un ion. 5) El producto final es un lodo con alta concentración de metales. |
| Biológicos (Biorremediación) | a) Más amigables con el ambiente. b) Bajo costo de manera general. c) Se minimizan los lodos químicos. d) Recuperación del metal. e) Alta especificidad. | 1) Se generan lodos. 2) Requieren mayores tiempos de tratamiento. 3) Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos. |

2.9. Biorremediación

La biorremediación es un proceso biotecnológico donde se utilizan materiales de tipo biológico, ya sea vivos o inertes, como plantas, hongos, bacterias, microalgas, algas, fibras de origen vegetal, cascara de cereales o de frutas, para remover y

recuperar sustancias contaminantes del ambiente. Estos procesos consisten en retener los metales tóxicos, que van a las estructuras externas e internas de la célula o del material biológico a usar por procesos de intercambio iónico independiente del metabolismo celular (Mena y Campos, 2016; Garzón *et al.*, 2017).

De acuerdo con Alba *et al.* (2011) existen cinco factores críticos que deben ser considerados cuando se evalúa el uso de las técnicas de biorremediación como método de limpieza para un residuo determinado, los cuales se describen a continuación:

- **La magnitud, la toxicidad, y la movilidad de contaminantes.** Es necesario que el lugar sea investigado y caracterizado para determinar:
 - La extensión horizontal y vertical de contaminación.
 - Las clases y las concentraciones de contaminantes en el sitio.
 - La movilidad de los contaminantes, que en parte depende de las características geológicas del sitio.

- **La proximidad de receptores humanos y ambientales.** En cualquier caso, el uso de las diferentes técnicas de biorremediación no debe implicar el aumento de riesgos tanto para los receptores ambientales como para los receptores humanos.

- **Degradabilidad de los contaminantes.** La biodegradabilidad de un compuesto es generalmente alto si el compuesto ocurre de forma natural en el ambiente. La tasa y la extensión para la cual el compuesto es metabolizado en el ambiente está a menudo determinado por la disponibilidad de aceptadores de electrones y otros nutrientes.

- **Usos futuros del lugar.** Un factor crítico en decidirse si la biorremediación es la tecnología apropiada es saber si se van a reducir los riesgos hasta niveles aceptables de la tasa y la extensión de degradación.
- **Monitorear el procedimiento.** A partir de muestreos por intervalos de tiempo de conveniencia para el tipo de tratamiento. Es importante reconocer que los procesos biológicos son dinámicos y el dado conocimiento actual.

2.9.1. Biosorción

La biosorción es un proceso físico-químico que se utiliza para remover sustancias o compuestos de algún medio líquido, tales como la remoción de MP del agua. En particular, en la biosorción se usa como sorbente diferentes materiales de origen biológico (vivo o inerte), tales como: algas, hongos, bacterias, cáscaras de frutas, productos agrícolas y algunos tipos de biopolímeros. El material biológico utilizado para estos fines se denomina biosorbente. Estos materiales son de bajo costo y se encuentran en gran abundancia en la naturaleza, además, su transformación a biosorbente no es un proceso costoso (Tejada-Tovar *et al.*, 2015). La biosorción es un proceso que incluye los fenómenos de adsorción, donde las partículas se adhieren a la superficie, y absorción, donde las partículas se encuentran en el interior del material, como se muestra en la figura 1.

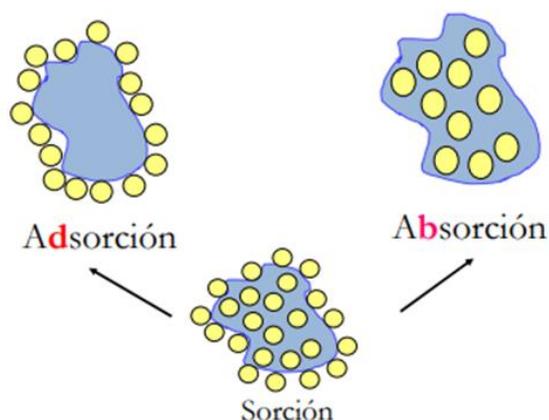


Figura 1. Proceso de biosorción (Viades, 2013).

2.9.2. Utilización de fibras naturales como biosorbentes para la biorremediación del agua por presencia de metales pesados

Existen dos tipos de fibras naturales: las animales y las vegetales. En particular, las fibras de origen vegetal son estructuras de celulosa, el cual es el polímero de azúcar más común en las estructuras de soporte de las plantas, por lo que las fibras tienen su base en este material (Baldeón, 2013). Existen diferentes fibras naturales, que no dañan al ambiente ni a la salud humana; además de ser un procedimiento de bajo costo económico.

La biosorción a través de fibras consiste en la captación de metales por mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico. Dichas fibras están constituidas principalmente por celulosa, lignina y hemicelulosa. Las cuales tienen un alto contenido de grupos hidroxilo, permitiendo una buena habilidad del adsorbente para unir metales. Además, presentan otros grupos funcionales como carboxilo, amino, amido, alcoholes y éster que interactúan con los metales (Hidalgo-Reyes *et al.*, 2015; Flores-Trujillo, 2016).

Un compuesto importante que caracteriza a la mayoría de las fibras es la lignina, el cual es un polímero natural con una estructura tridimensional muy compleja, y que presenta varias ramificaciones de grupos hidroxilo (Baldeón, 2013). El estudio de Lee y Rowell (2004) mostró que la lignina de las fibras tiene un papel importante en el proceso de adsorción de cationes metálicos.

2.9.3. Utilización de bacterias para la biorremediación del agua por presencia de metales pasados

Adicionalmente las bacterias pueden presentar características para la remoción de metales e interactuar con altas concentraciones de estos. La interacción inicial entre los microorganismos y los metales ocurre por atracción electrostática entre los iones cargados en la solución y los grupos funcionales de la superficie celular bacteriana.

Aunque las bacterias Gram positivas y Gram negativas difieren en la estructura de la pared celular, el potencial para la biorremoción es similar, debido a la composición de la superficie celular que intervienen en este proceso. La pared celular son polímeros estructurales y extracelulares, con un alto contenido de aniones como los carboxilos, hidroxilo, fosfato y sulfhidrilo. Los cuales constituyen grupos funcionales que interactúan con los metales, atrapándolos en su estructura, entre estos mecanismos resaltan la bioadsorción y la bioacumulación. La bioadsorción consiste en la captación de metales que lleva a cabo una biomasa completa (viva o inerte), a través de mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico (Salgado *et al.*, 2015). Mientras que la bioacumulación se refiere al aumento de la concentración de cualquier sustancia en el organismo como consecuencia de la exposición prolongada y continua (La Colla, 2016).

Las bacterias aisladas de jales tienen la capacidad de llevar a cabo la adsorción de MP en el agua, lo cual representa una alternativa para utilizarlas como una tecnología para la biorremediación (Baldeón, 2013). Un ejemplo es el estudio realizado por De la Cruz *et al.* (2015), cuyo objetivo fue evaluar la capacidad de bioadsorción de Cd y Pb por *Serratia marcescens* M8A-2T. Esta cepa alcanzó valores de resistencia con Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de hasta 16,000 mg/L y de 800 mg/L para Pb y Cd, respectivamente. Mientras que en la eficiencia de bioadsorción se determinó que la cepa es capaz de remover el 99.9% para Cd y 61.3% para Pb. Posteriormente en el estudio de Wu *et al.* (2016) se identificó a la cepa *Bacillus cereus* S5, la cual tuvo una alta resistencia al Cd, superior al 80% para la remoción de este metal. En la Tabla 4 se muestran algunos biosorbentes reportados con la capacidad de remoción de MP.

2.9.3.1. Consorcio bacteriano

El consorcio bacteriano se refiere a las comunidades de bacterias que interactúan en conjunto. Los consorcios mantienen compatibilidad metabólica y ecológica. Cuando los factores ambientales permiten la coexistencia cercana entre estos, las bacterias que viven en asociaciones pueden resistir a cambios ambientales y lograr estabilidad. La formación de consorcios bacterianos se debe a que este tipo de bacterias presentan un estilo de vida que permite el flujo cíclico de nutrientes de forma más efectiva y eficiente que en poblaciones individuales. Por lo tanto, los microorganismos se desarrollan de forma diferente en forma individual y en consorcio (Arias *et al.*, 2016).

2.9.4 Inmovilización bacteriana

La inmovilización celular puede ser definida como la ubicación física de células en un espacio o región específica, de forma natural o inducida. En la cual son capaces de mantener una actividad catalítica deseada, gracias a procesos de adherencia a superficies o a otros microorganismos, debido a estructuras celulares o a sustancias que estos mismos segregan. La inmovilización de las bacterias de forma artificial o inducida, puede deberse al quedar atrapadas en los espacios o poros de fibras y geles. La estabilidad catalítica puede ser mayor para células inmovilizadas que para células libres y algunos microorganismos inmovilizados toleran concentraciones más altas de compuestos tóxicos que su contraparte no inmovilizada. La inmovilización de microorganismos es utilizada como una estrategia para mejorar los sistemas de tratamiento de aguas contaminadas (Garzón-Jiménez y Barragán-Huerta, 2008). En el año 2017, Fernández-López *et al.*, encontró un aumento en la degradación del Metil paratión mediante la inmovilización de *Burkholderia* sp. (Esta bacteria fue aislada de suelos agrícolas) en fibras de *Opuntia* sp. y *Agave* sp. Los resultados indicaron un aumento significativo en la hidrólisis de Metil Paratión y degradación de *p*-nitrofenol con células inmovilizadas en comparación con cultivos de células libres.

Tabla 4. Biosorbentes con la capacidad de remoción de Plomo y Cadmio.

| METAL | BIOSORBENTE | PORCENTAJE DE REMOCIÓN RESPECTO A LA CONCENTRACIÓN ADICIONADA (%) | REFERENCIA |
|-------|-----------------------------------|---|----------------------------------|
| Pb | Bacterias | | |
| | <i>Serratia marcescens</i> M8A-2T | 61.3 | De la Cruz <i>et al.</i> , 2015 |
| | <i>Bacillus</i> sp. | 95 | Pérez-Cordero <i>et al.</i> 2015 |
| | Plantas | | |
| | <i>Furcraea andina</i> | 94 | Baldeón, 2013 |
| | Algas | | |
| | <i>Ascophyllum nodosum</i> | 90 | Borja <i>et al.</i> , 2015 |
| Cd | Bacterias | | |
| | <i>Serratia marcescens</i> M8A-2T | 99.9 | De la Cruz <i>et al.</i> , 2015 |
| | <i>Bacillus cereus</i> S5 | 80 | Wu <i>et al.</i> , 2016 |
| | Plantas | | |
| | <i>Furcraea andina</i> | 75-85 | Baldeón, 2013 |
| | Algas | | |
| | <i>Sargassum muticum</i> | 95 | Lodeiro <i>et al.</i> , 2004 |

3. ANTECEDENTES DIRECTOS

Solís-Miranda (2016) aisló 24 cepas de jales ubicados en Huautla, Morelos, a cuyas cepas se les realizó tinción de Gram y CMI de Cd, Mn, Pb y Zn. Los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) mostraron que las cepas J1M4 y la J2B2 presentaron una alta capacidad de resistencia a MP. La cepa J1M4 mostró una CMI en Pb: 30,000 mg/L, Cd: 2,560 mg/L, Mn: 24,320 mg/L y Zn: 1,800 mg/L. Mientras que la cepa J2B2 mostró una CMI en Pb: 30,000 mg/L, Cd: 5,120 mg/L, Mn: 35,000 mg/L y Zn: 450 mg/L. Estos metales suelen ser muy tóxicos a bajas concentraciones, pero estas cepas presentaron la capacidad de resistencia a estos MP, por lo cual estas cepas resultan de gran interés por el potencial para remover MP de sitios contaminados.

Flores-Trujillo (2016) evaluó la eficacia de remoción de Cd, Pb y Zn por las fibras de *Agave sp.*, *Luffa sp.*, *Opuntia sp.*, y *Saccharum sp.* Las cuales fueron utilizadas como biosorbente en una solución acuosa con los MP antes mencionados. Los resultados, mostraron que las mejores fibras para adsorber el Pb fueron el *Agave sp.*, y la *Opuntia sp.*, mostrando un porcentaje de adsorción por arriba de 80%. Para el caso de Cd la fibra de *Agave sp.*, presentó la capacidad de adsorción entre el 79 al 85%. También se observa que *Opuntia sp.*, adsorbe Zn, con valores entre 97-99%, seguido del *Agave sp.* (32-78% Zn). Por lo cual concluyó que las fibras presentan la capacidad de absorber MP.

4. JUSTIFICACIÓN

La minería es una de las actividades económicas que contribuye, en gran medida, al desarrollo económico a nivel mundial. Sin embargo, el impacto que provoca en la salud humana y en el ambiente se debe a la liberación de elementos potencialmente tóxicos, durante y al final del proceso de extracción de los minerales, ya que como resultado de la minería se producen jales mineros. Tales residuos contienen metales pesados (MP) como el Pb y el Cd, que son sustancias tóxicas. Estos tienen impactos negativos para la salud humana y el ambiente, ya que contaminan los cuerpos de agua subterráneos y superficiales, y en ocasiones rebasan los límites permisibles establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas. Por lo anterior, es necesario contar con técnicas eficientes de remoción de metales del agua, como la biorremediación. La utilización de bacterias y fibras naturales previamente estudiadas por su capacidad de remoción de MP del agua, ofrece una alternativa, poco costosa, eficiente y reproducible en distintos cuerpos de agua contaminados por Pb y Cd para su posible eliminación. Por ello, en el presente trabajo se evalúa la capacidad de remoción de Pb y Cd en el agua, a través de un consorcio bacteriano inmovilizado sobre fibras de *Agave angustifolia*. La realización del presente trabajo fue importante porque generó información sobre nuevas estrategias para la remediación de aguas contaminadas. Lo que permitirá reducir el impacto de los MP sobre el ambiente y la salud de los organismos.

5. HIPÓTESIS

Si bacterias aisladas de los jales mineros de Huautla, Morelos presentan tolerancia a altas concentraciones de Pb y Cd, es posible que algún proceso de biosorción esté involucrado, mientras que la fibra de *Agave angustifolia* es capaz de adsorber estos metales en el medio acuoso, entonces la utilización de bacterias inmovilizadas sobre la fibra aumentará la remoción de tales metales.

6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de remoción de Pb y Cd en el medio acuoso, a través de un consorcio bacteriano inmovilizado sobre fibras de *Agave angustifolia*.

6.1. Objetivos particulares

1. Determinar la capacidad de adsorción de los metales contenidos en medio acuoso por las fibras de *Agave angustifolia*, de manera individual y en mezcla.
2. Determinar la capacidad de remoción de los metales Pb y Cd por el consorcio bacteriano aislado de jales mineros, de manera individual y en mezcla.
3. Evaluar la remoción de Pb y Cd por el consorcio bacteriano inmovilizado sobre las fibras de *Agave angustifolia*, de manera individual y en mezcla.

7. METODOLOGÍA

En la figura 2 se muestra el diseño experimental depara cumplir los objetivos del presente trabajo.

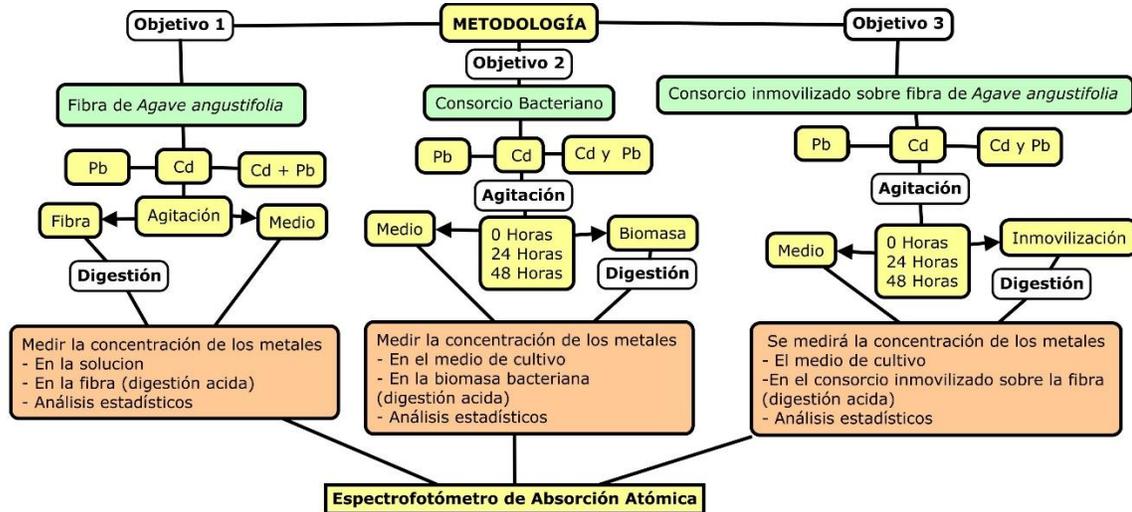


Figura 2. Diagrama general de la metodología.

7.1. *Agave angustifolia*

La determinación taxonómica de *Agave angustifolia* fue a través del apoyo del M. en C. Alejandro Flores Morales de la Facultad de Ciencias Biológicas (FCB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), por medio de claves taxonómicas.

Agave angustifolia es una planta ampliamente utilizada en México para la producción de tequila y mezcal. Durante su producción se generan grandes cantidades de desechos de fibras (Fernández-López, 2016). Este residuo produce problemas ecológicos dado a que se considera una fuente de contaminación atmosférica, debido a la quema y molienda de las piñas de las cabezas de agave (Flores-Trujillo, 2016). Las pencas de *A. angustifolia* constituyen unos de los

materiales de desechos durante la producción de tequila y mezcal. Si tenemos en cuenta que las pencas constituyen el 50% de la planta entonces podríamos decir que cada año se generan grandes cantidades de residuos que pueden ser usados para la inmovilización celular (Fernández-López, 2016). Por otro lado, Flores-Trujillo (2016) ha reportado que las fibras de *A. angustifolia* pueden ser utilizadas como biosorbentes para la remoción de MP.

7.2. Obtención de las fibras de *Agave angustifolia*

Para obtener la fibra se realizó la colecta de las hojas de *A. angustifolia* en las instalaciones de la UAEM, una vez colectadas fueron trasladadas al Laboratorio de Investigaciones Ambientales del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), donde fueron retiradas las espinas y cortadas en secciones de aproximadamente en 30 cm. Posteriormente, se esterilizaron durante 20 minutos, una vez finalizado este proceso, se maceraron dejando al descubierto la fibra y retirando la pulpa. Finalmente, la fibra fue lavada con agua destilada para su posterior secado aproximadamente 72 horas a 28°C.

7.3. Metales pesados utilizados

Las soluciones de MP fueron preparadas utilizando Sulfato de Cadmio tri-hidratado ($\text{CdSO}_4 \cdot 8/3\text{H}_2\text{O}$, J.T. Baker) y Nitrato de Plomo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ Baker Analyzed), añadiendo al medio de cultivo 0.020 mg de Cd y 0.025 mg de Pb para alcanzar una concentración final de 100 mg/L en agua destilada. Este procedimiento se realizó con la finalidad de observar el comportamiento del biosorbente frente a estos dos metales de manera individual y en mezcla.

7.4. Consorcio bacteriano

Pina-González (s.f.), utilizó una de las bacterias denominada J1M4, la cual fue identificada como *Bacillus pumilus*, al realizar la determinación de concentraciones mínimas inhibitorias se observó que presenta resistencia a Pb y Cd a una concentración de 30,000 y 100 mg/L, respectivamente. Dicha cepa fue utilizada para evaluar su comportamiento al estar en contacto con Pb y Cd. Sin embargo, la cepa se encontró en presencia de otra cepa bacteriana, la cual no fue determinada. De manera que se decidió realizar los experimentos con el consorcio bacteriano.

7.5. Biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla utilizando las fibras de *Agave angustifolia*

Para la biosorción de Pb y Cd de manera individual y en mezcla utilizando las fibras de *Agave angustifolia* se planteó el diseño experimental mostrado en la Tabla 5. Para ello, se utilizaron matraces Erlenmeyer con una capacidad de 125 mL, se colocaron 75 mL de las soluciones utilizadas como fuentes de MP mencionadas anteriormente, de manera individual y en mezcla, a una concentración de 100 mg/L en agua destilada (Flores-Trujillo, 2016) (Tabla 6). Se midió el pH de las soluciones con la finalidad de verificar el pH ácido con un rango de 5 a 5.5 para que los metales no se precipiten. También se tomó una alícuota de 5 mL de cada matraz para medir la concentración inicial de MP a las 0 horas. Posteriormente, a estos matraces se les agregaron 0.5 g de la fibra de *A. angustifolia* y se colocaron a una temperatura de 30°C en agitación continua a 100 rpm. Después, a las 24 horas cada matraz se filtró con el fin de separar la solución con metales del biosorbente para medir la concentración de los metales (Flores-Trujillo, 2016). Posteriormente, se realizó la digestión de las muestras de la siguiente manera: el biosorbente se dejó secar en un horno a una temperatura de 30°C por 48 horas y se sometió a una digestión ácida, donde se pesó 0.25 g de la fibra en peso seco, se colocó en el matraz Kjeldahl agregándole 10 mL de ácido nítrico (HNO₃) y se sometió a una temperatura de 85°C en una parrilla de calentamiento dentro de la campana de extracción. Después del

proceso de digestión, las muestras fueron filtradas y aforadas a 50 mL con agua destilada para finalmente determinar la concentración de MP retenidos en la fibra mediante un espectrofotómetro de absorción atómica (GBC-908-AA, Scientific Equipment, (Tabla 6)). Cabe señalar que todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Finalmente, con el propósito de determinar la capacidad de adsorción de los metales Pb y Cd por las fibras de *Agave angustifolia* contenidas en medio acuoso, de manera individual y en mezcla al inicio y al final del experimento, se realizaron los análisis estadísticos con el resultado del porcentaje promedio de tres réplicas y cada una muestra el valor de la desviación estándar. Se aplicó una prueba paramétrica “ANOVA” para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos. Los análisis estadísticos se realizaron en el software JMP. En los análisis se consideraron un valor significativo de $p < 0.05$.

Tabla 5. Diseño experimental para el estudio de biosorción de metales pesados.

| BIOSORBENTE | Tratamientos | TIEMPO DE MUESTREO |
|------------------------------------|--------------|--------------------|
| Fibra de <i>Agave angustifolia</i> | Pb | 0 y 24 horas |
| | Cd | |
| | Pb y Cd | |

Tabla 6. Condiciones analíticas del espectrofotómetro de absorción atómica utilizado para la cuantificación de plomo y cadmio (Manual de uso del espectrofotómetro de absorción atómica, GBC Scientific Equipment).

| Metal | L.D. (mg/L) | Longitud de onda (nm) | Rango de trabajo optimo (µg/mL) | Sensibilidad (µg/mL) |
|---------------|------------------------|----------------------------------|--|---------------------------------|
| Cadmio | 0.0004 | 228.8 | 0.2-1.8 | 0.009 |
| Plomo | 0.01 | 217.0 | 2.5-20 | 0.06 |

L.D.= Límite de detección.

7.6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del consorcio bacteriano en presencia de plomo y cadmio

Al consorcio bacteriano se le realizó la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Dicha prueba permite determinar la concentración mínima a la cual se inhibe el crecimiento bacteriano después de un tiempo de incubación. Para llevar a cabo dicha prueba, se utilizó la metodología descrita por Solís-Miranda (2016). Brevemente, el consorcio bacteriano fue resembrado en cajas de Petri con medio de Luria Bertani (LB), incubándolas por 24 horas a 30°C. Posteriormente, se resembró en 50 mL de caldo LB y se incubó a 30°C en agitación constante a 100 rpm por 12 horas hasta obtener una absorbancia de 0.5 a una longitud de onda de 600 nm. Previamente se prepararon cajas Petri con 10 mL de agar LB. Posteriormente, se mezcló 1 mL del cultivo con 9 mL de agar LB en tubos de ensayo de 15 mL y se vertió a la caja de Petri. Una vez gelificado el agar con la cepa se agregaron 5 µL de H₂O destilada utilizado como control negativo. Después se agregaron 5 µL de las soluciones del metal (Pb y Cd) a concentraciones de 100, 250, 500, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500, 5,000, 10,000, 15,000, 20,000, 25,000 y 30,000 mg/L en dirección de derecha a izquierda comenzando con el agua destilada. Las concentraciones se definieron de acuerdo a Solís-Miranda (2016).

Finalmente, las cajas Petri fueron incubadas por 24 horas a 30°C. Una vez transcurridas las 24 horas, se observó presencia o ausencia de los halos de inhibición en cada una de las concentraciones, ya que si se encuentran presentes los halos de inhibición esto significa que las bacterias no son tolerantes a dicha concentración.

7.7. Obtención del preinóculo del consorcio bacteriano

Para obtener el preinóculo que fue utilizado para las pruebas de biosorción, se tomó el consorcio bacteriano y se creció en 100 mL de caldo LB en matraces Erlenmeyer con una capacidad de 250 mL. Posteriormente, los matraces fueron incubados a una temperatura de 30°C por 24 horas a 150 rpm y se vertieron en tubos Falcon de 50 mL para ser centrifugados a 4,000 rpm durante 20 minutos. Después se retiró el sobrenadante y al pellet se le agregaron 3 mL de medio LB, se homogenizó durante 1 minuto. Finalmente, obtenido el preinóculo fue utilizado para inocular los matraces para biosorción de MP (Pina, s.f).

7.8. Biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla utilizando el consorcio bacteriano

Las pruebas de remoción de Pb y Cd con el consorcio bacteriano fueron de acuerdo a Pina-González (s.f.). Brevemente, se utilizaron un total de 27 matraces de 250 mL, 9 matraces para Cd, 9 matraces para Pb y 9 matraces para la mezcla de ambos metales, en los cuales se vertieron 100 mL de medio líquido LB a cada uno en presencia de Cd y Pb. Estos tenían una concentración de 100 mg/L de manera individual y en mezcla. Una muestra de cada matraz de 5 mL fue tomada para medir la concentración inicial (0 horas) de cada metal. Posteriormente, se agregó el preinóculo del consorcio bacteriano, inoculando cada matraz a una densidad óptica inicial de 0.1. Los matraces fueron incubados a una temperatura de 30°C por 48 horas a 150 rpm. Se midieron 3 matraces en diferentes intervalos de tiempo: 0, 24 y 48 horas. Posteriormente, el cultivo fue centrifugado a 4,000 rpm por 15 minutos,

recuperando el medio LB y el pellet. Éste último fue lavado con 10 mL de CaCl_2 para remover de la superficie del consorcio bacteriano los MP que pudieran estar adsorbidos. Subsecuentemente, para determinar la capacidad de absorción del consorcio el pellet fue sometido a una digestión ácida como se describió en el apartado 7.5 y se midió la concentración de metales en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica tanto del medio LB, como en el CaCl_2 y en la digestión ácida del consorcio bacteriano. La evaluación de estas tres fracciones se realizó con el fin de evaluar la concentración de metales en el medio de cultivo, la concentración de los metales adsorbida y absorbida por el consorcio bacteriano, respectivamente.

Posteriormente, se realizaron los análisis estadísticos con el resultado del porcentaje promedio de tres réplicas y cada una muestra el valor de la desviación estándar. Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para análisis no paramétricos o pruebas de ANOVA para los análisis paramétricos. Posteriormente para comparar las diferencias entre las muestras se aplicó una prueba U Mann Whitney. Los análisis estadísticos se realizaron en el software JMP. En los análisis se consideró un valor significativo de $p < 0.05$.

7.9. Inmovilización del consorcio bacteriano sobre la fibra de *Agave angustifolia* como soporte

Para realizar la inmovilización del consorcio bacteriano sobre la fibra de *A. angustifolia* se utilizó la metodología de Fernández-López (2016). Brevemente, se adicionó al medio LB la fibra al 2% (p/v) y se esterilizó dos veces con un reposo intermedio de 24 horas. Se utilizó el pellet del consorcio bacteriano previamente cultivado como se describió en el punto 7.7. El cual fue lavado dos veces con una solución estéril de NaCl 0.8% (p/v) y fue ajustado a una densidad óptica aproximada de 0.5 a 600 nm para posteriormente ser agregado a cada uno de los matraces. Después de inocular los soportes (fibras), estos se incubaron durante 24 horas a 30°C y 100 rpm para permitir la colonización de las bacterias sobre el soporte. Una

vez transcurridas las 24 horas se retiraron los soportes del medio LB y se lavaron dos veces con solución de NaCl 0.8% para eliminar las células mediante centrifugación a 1,000 rpm durante 5 minutos. Finalmente, los consorcios bacterianos inmovilizados sobre los soportes (fibras) fueron utilizados en la cinética de biosorción de metales.

7.9.1. Cinética del consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de *Agave angustifolia*

Se realizaron cinéticas de remoción de MP con las células del consorcio bacteriano inmovilizado en la fibra de *A. angustifolia*, las cuales se llevaron a cabo en matraces Erlenmeyer en un volumen de 50 mL de medio LB, en presencia de Pb y Cd de manera individual y en mezcla a una concentración de 100 mg/L. En cada matraz se tomó una muestra de 5 mL para medir la concentración inicial de metales, después se incorporaron los soportes (fibras) con las células inmovilizadas y los matraces se colocaron en agitación a 100 rpm a una temperatura de 30°C por un periodo de 48 horas. Se tomaron muestras a diferentes intervalos de tiempo: 0, 24 y 48 horas, sacrificando 3 matraces por cada tiempo. Al final de cada tiempo, la fibra se colocó a una temperatura de 50°C en la estufa para secarla durante 24 horas aproximadamente y posteriormente someterla a una digestión ácida, con el propósito de determinar la capacidad de biosorción de los metales Pb y Cd. Para el proceso de digestión se pesó 0.25 g de la fibra en peso seco, se colocó en el matraz Kjeldahl agregándole 10 mL de ácido nítrico (HNO₃) y se sometió a una temperatura de 85°C en una parrilla de calentamiento dentro de la campana de extracción. Después del proceso de digestión las muestras fueron filtradas y aforadas a 50 mL con agua destilada para finalmente determinar la concentración de MP retenidos en la fibra mediante un espectrofotómetro de absorción atómica (GBC-908-AA, Scientific Equipment).

Finalmente, la concentración de MP se midió en el medio LB y en el consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de *Agave angustifolia* través de

Espectrofotometría de Absorción Atómica, donde se tomaron tres lecturas de cada muestra para obtener un promedio (Fernández-López, 2016). Posteriormente se realizaron los análisis estadísticos con el resultado del porcentaje promedio de tres réplicas y cada una muestra el valor de la desviación estándar. Para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba paramétricos "ANOVA". Los análisis estadísticos se realizaron en el software JMP. En los análisis se consideró un valor significativo de $p < 0.05$.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Análisis de la biosorción de plomo y cadmio utilizando *Agave angustifolia*

Los resultados de la capacidad de adsorción de la fibra de *A. angustifolia* en presencia de metales (Pb y Cd), mostraron que el Pb fue adsorbido 80.1%. Mientras que la fibra adsorbe 71.3% del total del Cd añadido (Tabla 7, Figura 3). Estos resultados coinciden con lo reportado por Flores-Trujillo (2016), donde evaluó la capacidad de adsorción de la fibra de *A. angustifolia* para diferentes metales en solución, incluidos Pb y el Cd. La fibra absorbió cerca de 80 y 79% de Pb y Cd, respectivamente. Por otra parte, la capacidad de adsorción y remoción de metales pesados ha sido evaluada en otras plantas de la familia Agavaceae, un ejemplo fue el estudio realizado por Baldeón (2013). En el cual se utilizaron fibras de *Furcraea andina*, mismas que presentaron porcentajes adsorción de entre 75-85% para Cd y del 94.0% para Pb, similares a los observados en este trabajo con las fibras de *A. angustifolia*. Lo que indica que ambas fibras son eficaces para la adsorción de ambos metales.

En los reportes descritos anteriormente, los ensayos de adsorción se realizaron suplementando los metales de forma individual. Sin embargo, en los ambientes contaminados por las actividades de la industria minera, es común que se presenten combinaciones de metales pesados en diferentes proporciones. Por tal motivo, en el presente trabajo se evaluó la capacidad de remoción de la fibra en soluciones con la presencia de los dos metales en conjunto (Pb y Cd), con el objetivo de determinar el efecto de la competencia de los iones metálicos por los sitios de interacción distribuidos en la superficie de las fibras.

Los resultados obtenidos de los MP en mezcla mostraron que las fibras de *A. angustifolia* redujeron sus porcentajes de adsorción respecto a los observados en los ensayos con los metales de forma individual, ya que las fibras removieron solo

el 22.9% del Cd presente en la mezcla, mientras que para el caso de Pb removieron 51.89% (Tabla 7, Figura 3). La disminución de los porcentajes de adsorción observados en los ensayos con la mezcla de metales, sugiere que existe una competencia de los iones metálicos por los sitios de interacción presentes en la fibra, siendo el Pb el metal que presenta una mayor afinidad (Flores-Trujillo, 2016).

En la tabla 7 se muestran los resultados del porcentaje de adsorción de la fibra en contacto con cada uno de los metales utilizados y la mezcla (Cd y/o Pb). Los resultados de adsorción obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza. Los resultados de la prueba de ANOVA muestran que no existen diferencias significativas (Tukey, $p > 0.05$) entre los porcentajes de adsorción de la fibra para los metales individuales. Sin embargo, en los experimentos realizados con la mezcla de metales, los porcentajes de adsorción se redujeron significativamente (Tukey, $p < 0.0001$). Estos resultados sugieren que existe una competencia de los iones metálicos por diferentes grupos funcionales como hidroxilo, carboxilo, amino, amido, alcoholes y éster presentes en la fibra, siendo el Pb el que presenta la mayor afinidad por dichos grupos. Lo cual le permite tener una alta capacidad para ser adsorbido por la fibra (Velazquez-Jimenez; Rangel-Méndez, 2014; Flores-Trujillo, 2016).

Tabla 7. Análisis estadísticos de adsorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla sobre la fibra de *Agave angustifolia*.

| Metal | Adsorción (%) | Remanente (%) |
|-----------|---------------------------|---------------|
| Pb | 80.11 ± 2.76 ^a | 11.17 ± 3.17 |
| Cd | 71.33 ± 2.16 ^a | 20.69 ± 0.73 |
| (Pb) + Cd | 51.89 ± 5.05 ^b | 43.60 ± 2.40 |
| Pb + (Cd) | 22.86 ± 6.71 ^c | 71.00 ± 5.25 |

n=3; ANOVA F=81.1471; gl=3.11; p<0.0001*

Resultado del promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se realizó la prueba de ANOVA para los análisis paramétricos. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los metales. Dentro del paréntesis se encuentra el metal correspondiente a los análisis.

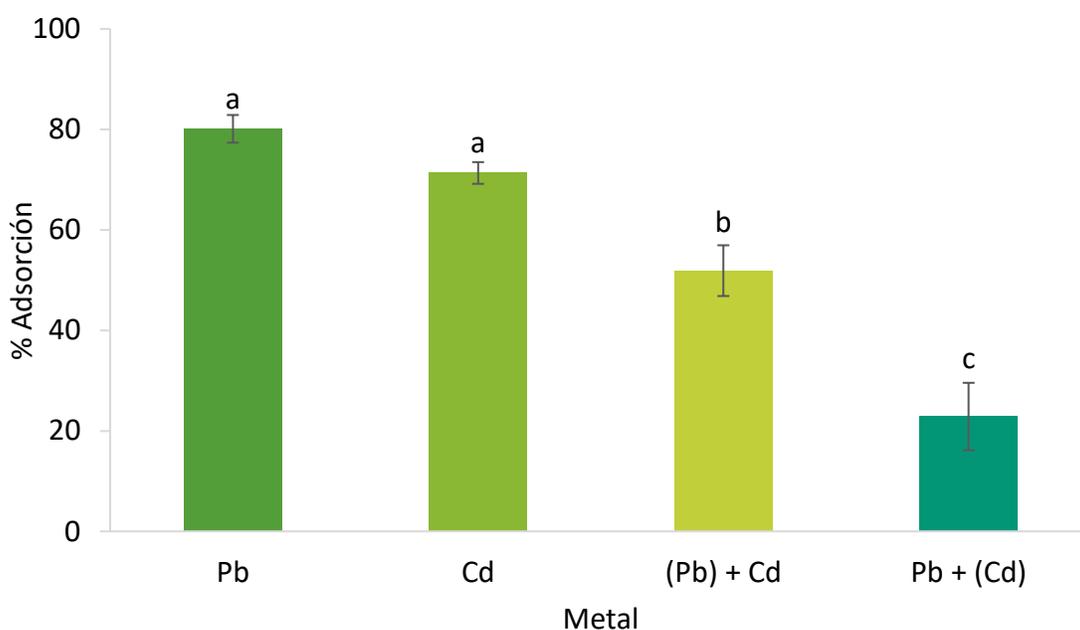


Figura 3. Porcentajes de adsorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla sobre la fibra de *Agave angustifolia*. La altura de las barras corresponde al porcentaje promedio de tres réplicas y cada una muestra el valor de la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los metales. Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se realizó la prueba de ANOVA (Tukey, p<0.0001*). Dentro del paréntesis se encuentra el metal correspondiente a los análisis.

8.2. Caracterización microbiológica de consorcio bacteriano

Se realizó la caracterización microbiológica del consorcio bacteriano. El consorcio se conforma por dos cepas, ambas Gram positivas, una con morfología de bacilo y la otra con morfología de coco (Tabla 8).

Tabla 8. Caracterización microbiológica del consorcio bacteriano.

| Bioquímica | | Morfológica | | | | | |
|------------|---------|--------------|--------|----------|--------------|----------|-----------|
| Gram | Forma | Color | Tamaño | Forma | Consistencia | Borde | Elevación |
| + | Bacilos | Transparente | 2 mm | Circular | Seca | Lobulado | Plana |
| + | Cocos | Blanca | 2 mm | Circular | Seca | Lobulado | Convexa |

8.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del consorcio bacteriano

Posteriormente se evaluó la resistencia bacteriana a la presencia de diferentes concentraciones de los metales pesados (Pb y Cd), mediante la determinación de la CMI de las bacterias para cada concentración de metal, la presencia de halos de inhibición del crecimiento del consorcio bacteriano indica efectos bactericidas (Figura 4).

Para el caso de Pb, el consorcio es capaz de crecer en todas las concentraciones evaluadas, indicando que las células son resistentes a la presencia de concentraciones iguales o inferiores de este metal. Por otro lado, para el caso de Cd, el consorcio es capaz de crecer hasta una concentración de 1,000 mg/L. Puesto que a las concentraciones mayores de 1,500 mg/L se generaron halos de inhibición, observándose un efecto bacteriostático. Estos resultados muestran que, en algunas concentraciones de Cd, este metal es altamente tóxico para las células bacterianas que conforman el consorcio.

Los resultados anteriores confirman que la resistencia para Pb coincide con los resultados de Solís-Miranda (2016) respecto a la cepa de origen J1M4 y que al estar asociada con otra cepa no afecta su resistencia. En cambio, la interacción en consorcio, disminuyó la concentración de tolerancia para el Cd de 2,560 mg/L a 1,000 mg/L.

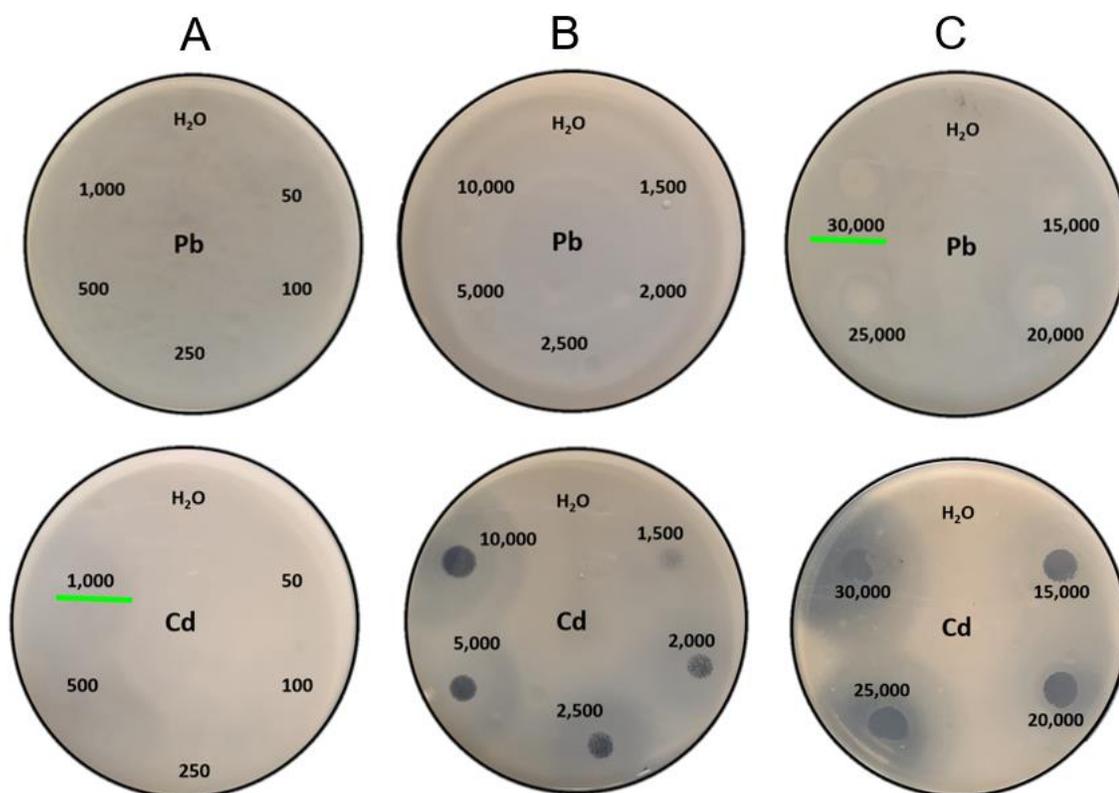


Figura 4. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de plomo y cadmio del consorcio bacteriano indicando en color verde la placa donde se observa la CMI de cada metal. En la columna A) se muestran concentraciones desde 50 a 1000 ppm de Pb o Cd. En B) se muestran concentraciones desde 1,500 a 10,000 ppm de Pb o Cd. Mientras que en C) se muestran concentraciones desde 15,000 a 30,000 ppm de Pb o Cd.

8.4. Cinética de crecimiento del consorcio bacteriano

Se realizó una cinética de crecimiento del consorcio bacteriano (Figura 5), donde se puede observar, de acuerdo con la densidad óptica, que su fase exponencial se encuentra entre las 0 horas y las 24 horas. Mientras que por medio del conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ml), la fase exponencial inicia cerca de las 24 horas y termina cerca de las 48 horas. Debido a estos resultados se seleccionaron ambos intervalos de tiempo para las pruebas de biosorción.

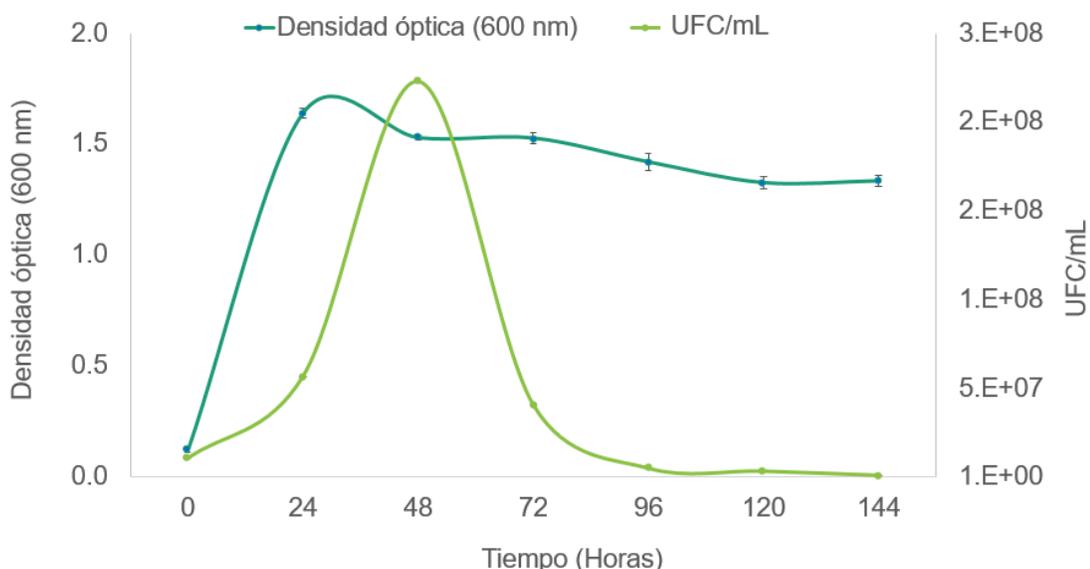


Figura 5. Cinética de crecimiento del consorcio bacteriano. Resultado del promedio de tres réplicas \pm desviación estándar. Unidades Formadoras de Colonias= UFC/mL

8.5. Biosorción de plomo y cadmio utilizando el consorcio bacteriano

Los resultados de la capacidad de remoción de Pb por el consorcio bacteriano, mostraron que las células pueden remover alrededor del 46.5% de la concentración del metal suministrado, a través de mecanismos de adsorción y absorción, en un periodo de 24 horas (Figura 6). Para obtener el resultado de adsorción el consorcio fue lavado con CaCl_2 para remover los MP que pudieran estar adheridos a la superficie del consorcio bacteriano, tal y como se describe en el apartado 7.8. Al

estar en contacto con Pb, el porcentaje de absorción fue de 16.5% a las 0 horas, un 27.1% para las 24 horas y un 17.9% para las 48 horas. Mientras que el metal se adsorbió en un 32.9% a las 0 horas, 19.4% a las 24 horas y 23.4% a las 48 horas (Figura 6, Tabla 9).

Para el caso de Cd, los resultados obtenidos mostraron que el consorcio no es capaz de absorberlo, debido a que en ninguno de los tiempos evaluados se presentaron porcentajes de adsorción, mientras que, para el caso de la absorción de este metal, el consorcio presentó valores muy bajos, de alrededor de 3% en los tres tiempos evaluados (Figura 6, Tabla 9).

Los resultados obtenidos para la biosorción del Pb, pueden relacionarse con el resultado de las cinéticas del consorcio bacteriano, en el cual se muestra una fase exponencial del consorcio bacteriano hasta las 48 horas, asimismo, el consorcio muestra una biosorción similar en los tres tiempos de muestreo.

Los resultados obtenidos de la capacidad de remoción del consorcio bacteriano en contacto con los metales (Pb y Cd) de manera conjunta, muestran que el consorcio adsorbe 66.9% a las 0 horas, 64.2% a las 24 horas y 66.2% a las 48 horas del total del Pb añadido y absorbe un 11.2% a las 0 horas, un 14.7% para las 24 horas y un 15.8% a las 48 horas. Mientras que para el caso de Cd se observó una adsorción del 2.1% a las 0 horas, 5.1% a las 24 horas y 5.2% a las 48 horas, mientras que en la absorción se observó un 46.9% a las 0 horas, un 47.5% a las 24 horas y un 46.6% para las 48 horas (Figura 6, Tabla 9).

De acuerdo con los resultados obtenidos, el consorcio bacteriano en contacto con Cd de manera individual presenta baja biosorción. Sin embargo, en la mezcla de metales se presenta una mayor remoción del metal. Considerando así una competencia entre metales por los grupos funcionales como se había mencionado anteriormente, la mayoría de los grupos funcionales del consorcio bacteriano son positivos como Amino (+), imino (+) y sulfónico (+), pero algunos de ellos son

negativos como Carboxilo (-) e Hidroxilo (-), tomando en cuenta que las bacterias Gram positivas presentan en su membrana celular ácido teicoico y ácido lipoteicoico, la carga negativa que aportan estas características de las Gram positivas permite a la bacteria interactuar con cationes como el Pb o Cd, explicando los procesos de bioadsorción (Solís-Málaga, 2018). Sin embargo, se tiene mayor afinidad por el Pb de manera individual y en mezcla debido a que este metal por ser anfótero se une a los enlaces negativos y positivos, en comparación con el Cd que solo se puede unir a aquellos que tienen carga negativa.

Por otra parte, el consorcio bacteriano muestra mayor afinidad para la biosorción de Pb que para Cd. Esto podría deberse a la unión entre los iones metálicos y los grupos funcionales como Carboxilo (-), Hidroxilo (-), Amino (+), imino (+) y sulfónico (+), que se encuentran en la pared celular (Tur-Naranjo *et al.*, 2013). De acuerdo con Pérez-Bou *et al.* (2018) aunque cada célula puede llegar a saturarse, el sistema se auto-restablece debido al crecimiento, el potencial de biosorción de las bacterias Gram positivas se relaciona con la composición de la pared celular, que presenta diferentes grupos funcionales que interactúan con los iones metálicos. Es por eso que el proceso de biosorción es continuo, hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato biosorbido por la biomasa. El tipo y la calidad del biosorbente (biomasa viva o muerta) se determinan en función de la cantidad de sorbato que puede atraer y retener en un instante determinado (Mejía-Sandoval, 2006).

Los resultados de la capacidad de biosorción del consorcio bacteriano en contacto con cada uno de los metales (Pb y Cd), mostraron que existen diferencias significativas entre los diferentes metales, pero no entre los tiempos, como es el caso del Cd individual y en mezcla y Pb en conjunto con Cd (Figura 6).

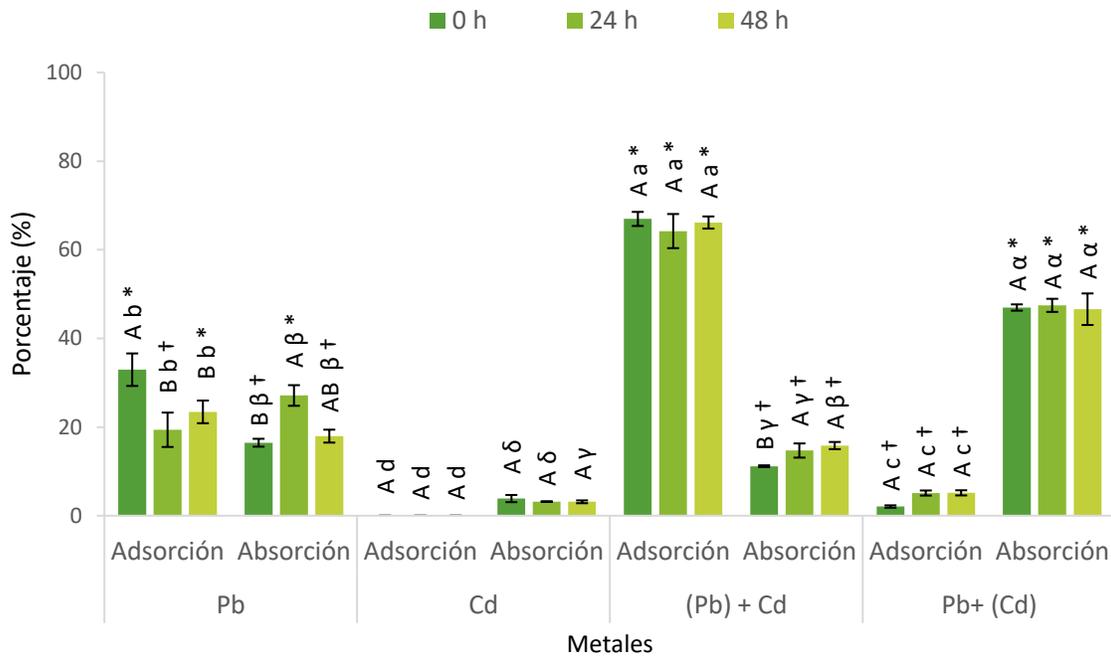


Figura 6. Porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla del consorcio bacteriano. Se muestra el promedio \pm desviación estándar. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas con respecto al tiempo. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre la absorción de los metales. Letras griegas diferentes indican diferencias significativas entre la adsorción de los metales. Signos "*" y "†" diferentes indican diferencias significativas entre la absorción y adsorción de cada metal (Tukey, $p < 0.0001^*$). Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para análisis no paramétricos, posteriormente se realizó una de U Mann Whitney para compararlas diferencias entre las muestras, y finalmente ANOVA para los análisis paramétricos. Dentro del paréntesis se encuentra el metal correspondiente a los análisis.

Tabla 9. Análisis estadísticos del porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla del consorcio bacteriano.

| Metal | Muestra | Tiempo (Horas) | | | Análisis estadístico | Comparación por pares (0 Horas) | Comparación por pares (24 Horas) | Comparación por pares (48 Horas) |
|--------------|-----------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---|---|--|---|
| | | 0 | 24 | 48 | | | | |
| Pb | Adsorción | 32.95 ± 3.67 ^{Ab*} | 19.39 ± 3.88 ^{Bb†} | 23.43 ± 2.56 ^{Bb} | ANOVA F= 11.4183 gl= 2,8 p=0.0090* | t-Student t=-8.0431 gl=4 p=0.0013* | t-Student t=2.8619 gl=4 p=0.045 g* | t-Student t=-3.2443 gl=4 p=0.0315* |
| | Absorción | 16.47 ± 0.89 ^{Bβ†} | 27.13 ± 2.33 ^{AB*} | 17.96 ± 1.46 ^{AB β} | Kruskal-Wallis X ² = 6.3051 gl= 2 p=0.0427 | | | |
| Cd | Adsorción | 0.00 ± 0.00 ^{A d} | 0.00 ± 0.00 ^{A d} | 0.00 ± 0.00 ^{A d} | Kruskal-Wallis X ² =2.4512 gl= 2 p=0.2936 | | | |
| | Absorción | 3.87 ± 0.81 ^{Aδ} | 3.19 ± 0.08 ^{Aδ} | 3.14 ± 0.32 ^{Aγ} | | | | |
| (Pb) + Cd | Adsorción | 66.97 ± 1.59 ^{Aα*} | 64.23 ± 3.85 ^{Aα*} | 66.16 ± 1.37 ^{Aα*} | ANOVA F=0.8028 gl= 2,8 p= 0.4910 | U Mann-Whitney U=0.00, p=0.0495 | U Mann-Whitney U=0.00, p=0.0496 | U Mann-Whitney U=0.00, p=0.0497 |
| | Absorción | 11.17 ± 0.2 ^{Bγ†} | 14.71 ± 1.6 ^{Aγ†} | 15.83 ± 0.81 ^{Aβ†} | ANOVA F= 17.3478 gl= 2,8 p=0.0032* | | | |
| PB + (Cd) | Adsorción | 2.07 ± 0.27 ^{Ac†} | 5.12 ± 0.57 ^{Ac†} | 5.16 ± 0.58 ^{Ac†} | Kruskal-Wallis X ² =5.5862 gl= 2 p=0.0612 | U Mann-Whitney U=0.00, p=0.0495 | U Mann-Whitney U=0.00, p=0.0496 | U Mann-Whitney U=0.00, p=0.0497 |
| | Absorción | 46.98 ± 0.71 ^{Aα*} | 47.47 ± 1.48 ^{Aα*} | 46.60 ± 3.56 ^{Aα*} | Kruskal-Wallis X ² =0.2222 gl= 2 p=0.8948 | | | |
| | | Kruskal-Wallis X ² = 10.5694 GL=3 p=0.0143* | ANOVA F=415.2798 GL=3,11 p<0.0001* | ANOVA F=1347.104 gl=3,11 p<0.0001* | | | | |
| | | Kruskal-Wallis X ² =10.4577 GL=3 p=0.0151* | ANOVA F=519.7063 GL=3,11 p<0.0001* | ANOVA F=356.3810 gl=3,11 p<0.0001* | | | | |

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas con respecto al tiempo (comparación horizontal). Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre la absorción de los metales (comparación vertical). Letras griegas diferentes indican diferencias significativas entre la adsorción de los metales (comparación vertical). Signos "*" y "†" indican diferencias significativas entre la absorción y adsorción de cada metal (comparación por pares vertical), en la columna de los metales el paréntesis señala el metal a medir. Se muestra el porcentaje promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Para determinar diferencias entre los tratamientos se realizó la prueba de Kruskal-Wallis y U Mann-Whitney para análisis no paramétricos y ANOVA y t-Student para los análisis paramétricos. Dentro del paréntesis se encuentra el metal correspondiente a los análisis.

8.7. Biosorción de plomo y cadmio por el consorcio bacteriano y la fibra de *Agave angustifolia*

El análisis de la capacidad de biosorción de metales por el consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de *A. angustifolia* mostró que la biosorción de Pb de manera individual fue de 27.1% a las 0 horas, 61.1% a las 24 horas y 61.3% a las 48 horas. Mientras que la biosorción de Cd fue de 18.7% a las 0 horas, 20.9% a las 24 horas y el 29.9% a las 48 horas (Figura 7, Tabla 10).

Los resultados de la capacidad de remoción del consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra en contacto con los metales (Pb y Cd) de manera conjunta, tienen una biosorción del 44.9% a las 0 horas, 51.9% a las 24 horas y 79.5% a las 48 horas del total del Pb añadido (Figura 7). Mientras que para el caso de Cd se obtuvo una biosorción del 14.3% a las 0 horas, 24.9% a las 24 horas y 34.9% a las 48 horas. Estos resultados no tienen diferencias respecto con la remoción de metales con el consorcio bacteriano y la fibra de manera individual. De acuerdo con los análisis estadísticos, los resultados de la capacidad de biosorción del consorcio bacteriano inmovilizado en las fibras en contacto con el Pb de manera conjunta y el Cd de manera individual, mostraron que existen diferencias significativas entre los diferentes metales, pero no entre los tiempos de contacto, debido a que desde el tiempo cero se presenta saturación por parte de la inmovilización (Tabla 10).

Los datos obtenidos muestran que no existen diferencias con respecto a la remoción de los metales Pb y Cd tanto de manera individual como en conjunto al inmovilizar el consorcio bacteriano sobre la fibra de *A. angustifolia*, este resultado es debido a que, al inmovilizar el consorcio a la fibra, las bacterias para poder ser inmovilizadas ocupan grupos funcionales de las fibras, que antes eran ocupados por tales metales.

De acuerdo con Garzón-Jiménez y Barragán-Huerta (2008) mencionan que la inmovilización de microorganismos en un soporte puede ocasionar una interferencia entre los sitios de unión del metal y el biosorbente. Lo cual puede explicar la

disminución en la biosorción del metal, seguido frecuentemente por la saturación de los sitios de enlace del biosorbente.

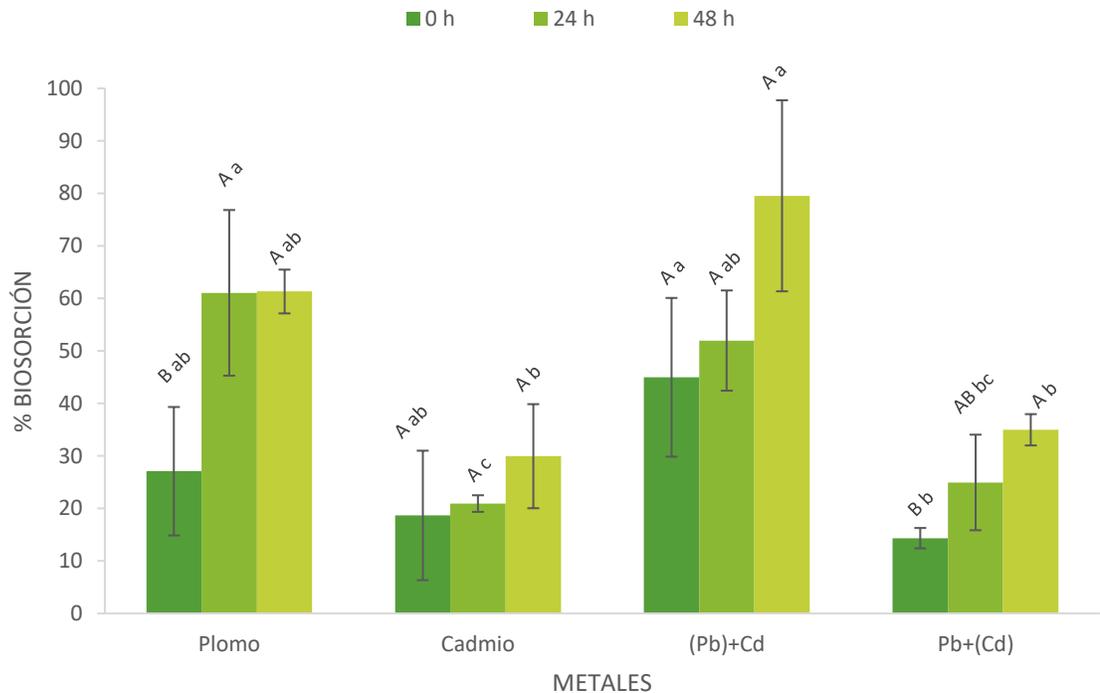


Figura 7. Porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla con el consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de *Agave angustifolia*. Se muestra el porcentaje promedio de tres réplicas \pm desviación estándar. Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los metales y las letras mayúsculas denotan diferencias significativas entre tiempos (Tukey, $p < 0.0001^*$). Dentro del paréntesis se encuentra el metal correspondiente a los análisis.

Tabla 10. Porcentaje de biosorción de plomo y cadmio de manera individual y en mezcla con el consorcio bacteriano inmovilizado sobre la fibra de *Agave angustifolia*.

| Metal | Tiempo (Horas) | | | Análisis estadístico |
|---|--|--|---|---|
| | 0 | 24 | 48 | |
| Pb | 27.09 ± 12.23 ^{B ab} | 61.06 ± 15.77 ^{A a} | 61.31 ± 4.17 ^{A ab} | ANOVA $F=7.9472$ gl= 2,8 $p=0.0206^*$ |
| Cd | 18.67 ± 12.33 ^{A ab} | 20.93 ± 1.58 ^{A c} | 29.95 ± 9.91 ^{A b} | ANOVA $F=1.3856$ gl= 2,8 $p=0.3201$ |
| (Pb) + Cd | 44.97 ± 15.12 ^{A a} | 51.97 ± 9.54 ^{A ab} | 79.54 ± 18.19 ^{A a} | ANOVA $F= 4.3693$ gl= 2,8 $p=0.0675$ |
| Pb + (Cd) | 14.34 ± 1.94 ^{B b} | 24.95 ± 9.1 ^{AB bc} | 34.98 ± 2.98 ^{A b} | ANOVA $F=10.8316$ gl= 2,8 $p=0.0102^*$ |
| | ANOVA $F= 4.2589$ gl= 2,8 $p= 0.0450^*$ | ANOVA $F= 10.8156$ gl= 2,8 $p=0.0035^*$ | ANOVA $F=10.2511$ gl= 2,8 $p=0.0041^*$ | |
| Promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de ANOVA para los análisis paramétricos. Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los metales y las letras mayúsculas denotan diferencias significativas entre tiempos (Tukey, $p<0.0001^*$). Dentro del paréntesis se encuentra el metal correspondiente a los análisis. | | | | |

8.8. Comparación de biosorción: Fibras de *Agave angustifolia* y el consorcio bacteriano

En términos prácticos en comparación con todos los experimentos, el proceso que resultó ser mejor removiendo Pb de manera individual, es la fibra de *Agave angustifolia* como se muestra en la tabla 11. De igual forma, la fibra removió mayor porcentaje de Cd (Tabla 12). Las fibras de *Agave* son una buena alternativa para remover metales, principalmente Pb y Cd. Además, como se mencionó anteriormente las fibras de *A. angustifolia* son un producto que se desecha después de que se retiran totalmente de la penca. Por lo que además de ser una estrategia para remover metales, también sería una estrategia para reutilizar los residuos agroindustriales que contaminan el ambiente.

Por otra parte, el consorcio bacteriano obtuvo la mayor remoción de Pb y el Cd en mezcla (Tabla 13 y 14). El consorcio utilizado retiene los metales al entrar en contacto con las soluciones de metales, ya que se mostró que el tiempo no influye en el porcentaje de remoción. Lo cual minimiza los costos en un proceso de remediación.

Contrario a nuestra hipótesis, bajo nuestras condiciones experimentales el presente estudio mostró que la inmovilización del consorcio bacteriano sobre las fibras no aumenta la remoción de metales. Como se mencionó anteriormente el consorcio al inmovilizarse sobre la fibra utiliza los grupos funcionales que anteriormente eran ocupados por metales para su biosorción, es así como se muestra que la inmovilización interfiere entre los sitios de unión del metal. Hasta el momento no hay informes recientes sobre la inmovilización de algún consorcio sobre fibras naturales para la remoción de Pb y Cd por lo que este estudio es de gran importancia, ya que nuevas estrategias experimentales podrían utilizarse para favorecer el proceso de biosorción de metales. Por ejemplo, utilizar una cepa pura y no en consorcio o modificar el soporte para la inmovilización.

Tabla 11. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo plomo de manera individual.

| Plomo (individual) | | | |
|--------------------|--------------|-------|----------------|
| Tiempo (Horas) | % Biosorción | | |
| | Fibra | CB | Inmovilización |
| 0 | - | 49.42 | 27.09 |
| 24 | 80.11 | 46.52 | 61.06 |
| 48 | - | 41.39 | 61.31 |

CB= Consorcio bacteriano. Señalando en rojo el proceso que resultó ser mejor removiendo el metal.

Tabla 12. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo cadmio de manera individual.

| Cadmio (individual) | | | |
|---------------------|--------------|------|----------------|
| Tiempo (Horas) | % Biosorción | | |
| | Fibra | CB | Inmovilización |
| 0 | - | 3.87 | 18.67 |
| 24 | 71.33 | 3.19 | 20.93 |
| 48 | - | 3.14 | 29.95 |

CB= Consorcio bacteriano. Señalando en rojo el proceso que resultó ser mejor removiendo el metal.

Tabla 13. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo plomo en mezcla con el cadmio.

| Plomo (mezcla) | | | |
|----------------|--------------|-------|----------------|
| Tiempo (Horas) | % Biosorción | | |
| | Fibra | CB | Inmovilización |
| 0 | - | 78.14 | 44.97 |
| 24 | 51.89 | 78.94 | 51.97 |
| 48 | - | 81.99 | 79.54 |

CB= Consorcio bacteriano. Señalando en rojo el proceso que resultó ser mejor removiendo el metal.

Tabla 14. Comparación de los porcentajes en los diferentes procesos removiendo cadmio en mezcla con el plomo.

| Cadmio (mezcla) | | | |
|------------------------|---------------------|-----------|-----------------------|
| Tiempo (Horas) | % Biosorción | | |
| | Fibra | CB | Inmovilización |
| 0 | - | 49.05 | 14.34 |
| 24 | 22.86 | 52.59 | 24.95 |
| 48 | - | 51.76 | 34.98 |

CB= Consorcio bacteriano. Señalando en rojo el proceso que resultó ser mejor removiendo el metal.

9. CONCLUSIONES

- La fibra de *Agave angustifolia* presenta potencial como biosorbente para la remoción de metales como el Pb y Cd del agua, teniendo mayor afinidad por el Pb. Por lo tanto, se recomienda su aplicación para la remoción de este metal.
- La capacidad de remoción de las fibras de *Agave angustifolia* es mayor cuando los metales se presentan de manera individual que en mezcla. Debido a que se observaron mayores porcentajes de remoción para ambos metales, Pb de 80% y Cd de 71%. Mientras que en mezcla los porcentajes de remoción fueron del 52 y 23% para Pb y Cd, respectivamente.
- El consorcio bacteriano presenta mayor afinidad por el Pb (remoción 46% vs 3% para Cd). Sin embargo, a diferencia de las fibras de *A. angustifolia* la remoción de los metales es mayor cuando los metales se presentan en mezcla (Pb 79.7% y Cd 51.1%).
- La inmovilización de las células bacterianas sobre la fibra de *A. angustifolia* no aumentó el proceso de remoción de los metales pesados. Se recomienda la utilización de la fibra y el consorcio de forma individual para la remoción de metales y no utilizar el consorcio inmovilizado sobre la fibra.
- Con respecto al tiempo, para la adsorción de metales en las fibras se recomienda un mínimo de 24 horas. En cambio, en el consorcio el factor tiempo no es importante ya que la remoción de metales fue igual en los tres tiempos evaluados (0, 24 y 48 horas).

10. PERSPECTIVAS

- Realizar la identificación molecular de las especies bacterianas que integran el consorcio, utilizado para la remoción de Pb y Cd.
- Evaluar la capacidad del consorcio bacteriano para la remoción de metales pesados y otros elementos potencialmente tóxicos de mezclas complejas que incluyan otros metales.
- Realizar pruebas de biosorción de metales pesados con muestras de agua contaminada con metales pesados.

11. LITERATURA

- Arias, A., Gabriel, C., & Castañeda González, E. A. (2016). Identificación molecular de consorcios bacterianos resistentes a metales pesados provenientes de aguas residuales de una industria hidrocarburífera en la provincia de Esmeraldas-Ecuador (Bachelor's thesis). Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Quito, pp. 76.
- Akar, T., Tosun, İ., Kaynak, Z., Kavas, E., Incirkus, G., & Akar, S. T. (2009). Assessment of the biosorption characteristics of a macro-fungus for the decolorization of Acid Red 44 (AR44) dye. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1-3), 865-871.
- Alba, F., Ordieres, J., Vergara, E., Martínez de Pisón, F., González A., Ortiz I. M. (2011). Tratamiento de aguas contaminadas con Metales Pesados empleando compost usados de champiñón como agente biorregenerador. España, pp. 1-16.
- Amábilis-Sosa, L. E. (2015). Remoción de metales pesados en humedales Artificiales inoculados con cepas tolerantes. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. pp. 137.
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2007). Toxicological Profile for Lead (Update). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 7439, (92).
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008). Toxicological Profile for Cadmium (Draft for Public Comment). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 7440, (43).
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2012). Public Health Statement for Cadmium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 7440, (43)
- Azcona-Cruz, M. I., Ramírez, A. R., & Vicente-Flores, G. (2015). Efectos tóxicos del plomo. *Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 20 (1), pp. 72-77.
- Baldeón, J. E. (2013). Estudio de retención de metales pesados en agua sintéticas (Preparadas en el Laboratorio) Utilizando como lecho Filtrante la Fibra de

- Cabuya *Furcraea* Andina como Alternativa de Biorremediación. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. pp. 116.
- Bonilla, M. N., Gómez, S. E. S., Tlamani, J. S. T., & Juárez, J. D. S. (2014). Concentraciones de metales pesados totales en aguas residuales vertidas a ecosistemas acuáticos por dos parques industriales en Puebla, México. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*, 1(2).
- Borja, N., García, V., Yipmantin, A., Guzmán, E., & Maldonado, H. (2015). Estudio de la cinética de biosorción en plomo (II) en Alga *Ascophyllum nodosum*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 81(3).
- Carneiro, M., Colaço, B., Brandão, R., Azorín, B., Nicolas, O., Colaço, J., Pires M. J., Agustí S., Casas-Díaz E., Lavin S., & Oliveira, P. A. (2015). Assessment of the exposure to heavy metals in Griffon vultures (*Gyps fulvus*) from the Iberian Peninsula. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 295-301.
- Cartaya, O., Reynaldo, I., & Peniche, C. (2008). Cinética de adsorción de iones cobre (II) por una mezcla de oligogalacturónidos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 9(5), 473-479.
- Caviedes-Rubio, D. I., Delgado, D. R. & Olaya, A. A. (2016). Remoción de metales pesados comúnmente generados por la actividad industrial, empleando macrófitas neotropicales. *Producción + Limpia*, 11(2), 126-149.
- Covarrubias, S. A. & Peña-Cabriales, J. J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7-21.
- Covarrubias, S. A., Berumen, J. A. G., & Cabriales, J. J. P. (2015). El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Acta Universitaria*, 25(3), 40-45.
- De la Cruz, C. E. B., Rafael, F. A. M., & Moreno, S. M. G. (2015). Evaluación de la capacidad de bioadsorción de Cadmio (II) y Plomo (II) mediante el uso de biomasa bacteriana muerta en soluciones acuosas. *Theorēma (Lima, Segunda época, En línea)*, 2(2), 95-106.

- Fernández-López M. G. (2016). Degradación de plaguicidas organofosforados por bacterias inmovilizadas en diferentes soportes: aspectos bioquímicos, toxicológicos y moleculares. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Morelos, pp. 97.
- Fernández-López, M. G., Popoca-Ursino, C., Sánchez-Salinas, E., Tinoco-Valencia, R., Folch-Mallol, J. L., Dantán-González, E., & Ortiz-Hernández, M. L. (2017). Enhancing methyl parathion degradation by the immobilization of *Burkholderia* sp. isolated from agricultural soils. *MicrobiologyOpen*, 6(5), 1-12.
- Ferré-Huguet, N., Schuhmacher, M., Llobet, J.M., & Domingo, J.L. (2007). *Metales pesados y salud. Mapfre Seguridad*, 108(4), 50-58.
- Flores-Trujillo, A. K. (2016). Remoción de metales pesados del agua a través de procesos de biosorción. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Morelos, pp. 90.
- Fu, F., & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 407-418.
- Galán, H. E., & Romero, B. A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Revista de la Sociedad Española de Mineralogía* (10), 48-60.
- García, V. V. R., Yipmantin, O. A. G., Guzmán, L. E. G., Pumachagua, H. R., & Maldonado G. H. J. (2011). Estudio de la cinética de biosorción de iones plomo en pectina reticulada proveniente de cáscaras de cítricos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 77(3), 173-181.
- Garzón, J. M., Rodríguez-Miranda, J. P., & Hernández-Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309-318.
- Garzón-Jiménez, C. y Barragán-Huerta, B. E. (2008). Inmovilización microbiana: técnicas y usos en el tratamiento de residuos tóxicos. *Revista Sistemas Ambientales*. 2, (1), 23-34
- Hernández-Vázquez, I. (2014). Calidad del agua. La calidad del agua en los ríos de México. *Periódico Digital de Divulgación de la Red del Agua UNAM*, 3, 7-13.

- Hidalgo-Reyes, M., Caballero-Caballero, M., Hernández-Gómez, L. H., & Urriolagoitia-Calderón, G. (2015). Caracterización química y morfológica de las fibras de bagazo de *Agave angustifolia*. *Botanical Sciences*, 93(4), 807-817.
- Kakkar, P., & Jaffery, F. N. (2005). Biological markers for metal toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(2), 335-349.
- La Colla, N. S. (2016). Bioacumulación de metales en peces marinos y su distribución en columna de agua, bajo diferentes gradientes en el estuario de Bahía Blanca. Tesis de Doctor en Biología. Universidad Nacional del Sur (Argentina). 240 pp
- Lee, B. G., & Rowell, R. M. (2004). Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using lignocellulosic fibers. *Journal of Natural Fibers*, 1(1), 97-108.
- Lodeiro, P., Cordero, B., Grille, Z., Herrero, R., & Sastre de Vicente, M. E. (2004). Physicochemical studies of cadmium (II) biosorption by the invasive alga in Europe, *Sargassum muticum*. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(2), 237-247.
- Londoño-Franco, L. F., Londoño-Muñoz, P. T., & Muñoz-García, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145-153.
- Martínez, P. M. L. (2008). Evaluación de los efectos genotóxicos de metales presentes en el agua de bebida de la población de Huautla, Morelos. Tesis De Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 90.
- Mejía-Sandoval, G. (2006). Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1(1), 77-99
- Mena, A. M. P., & Campos, R. A. H. (2016). Biorremediación de metales pesados con aislados microbianos procedentes de pasivos ambientales mineros y aguas del río Hualgayoc-Cajamarca. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque-Perú, pp. 67.

- Monreal, R. & Hernández, P. Y. (2015). Mi México es Minero. *Asociación de Ingenieros de Minas, Metalurgistas y Geólogos de México, A.C.*, pp. 102.
- Montes, J. A. (2016). Efecto de los metales pesados en suelo de Jales Mineros de San Luis Potosí. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, pp.160.
- Muñoz, H. (2012). Riesgos ambientales. Impacto ambiental del Plomo y Mercurio. Consultado el 12 de abril 2018. Recuperado de: [¿http://riesgosambientalespm.blogspot.com/2012/10/plomo_7259.html](http://riesgosambientalespm.blogspot.com/2012/10/plomo_7259.html)
- Mussali-Galante, P. (2013). Análisis de las poblaciones de *Peromyscus* sp. (Rodentia: Muridae), asociadas a jales dentro de la reserve de la biosfera Sierra de Huautla, Morelos, México: un enfoque ecotoxicogenómico. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 193.
- Navarro, A. J. P., Aguilar A. I., & López-Moya, J. R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16(2), 1-17.
- NOM-001-SEMARNAT-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1997.
- NOM-002-SEMARNAT-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el 9 de enero de 1997.
- NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, se publicó la modificación de la norma en el Diario Oficial de la Federación el 20 de junio del 2000.
- NOM-199-SSA1-2000, Salud ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no

ocupacionalmente, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el 30 de mayo del 2000.

- OMS. Organización Mundial de la Salud. (2013). Cadmio. Consultado el 25 de marzo 2018. Recuperado de: https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/es/
- OMS. Organización Mundial de la Salud. (2018). Intoxicación por plomo y salud. Consultado el 25 de marzo 2018. Recuperado de: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
- Onteniente, G. A., Vázquez, S. R., Sánchez-Rubio J., & Molina, G. (2017). Saturnismo por tratamiento con medicina ayurvédica. *Farmacia Hospitalaria*, 41(3), 448-451.
- Pérez-Bou, L., Salgado, B. I., Larrea, D. C., Martínez-Sardiñas, A., Cruz-Arias, M. E. y Carballo-Valdés, M.E. (2018). Biosorción microbiana de metales pesados: características del proceso. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 6(1), 1-12.
- Pérez-Cordero, A., Barraza-Roman, Z., & Martínez-Pacheco, D. (2015). Identificación de bacterias endófitas resistentes a plomo, aisladas de plantas de arroz. *Agronomía Mesoamericana*, 26(2), 267-276.
- Pina-González, M. (s.f.). Caracterización de cepas bacterianas aisladas de jales mineros y su potencial para la remoción de metales pesados del agua. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos. En proceso.
- Romero, F. M., & Gutiérrez Ruíz, M. (2010). Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 62(1), 43-53.
- Romero, F. M., Armienta, M. A., & González-Hernández, G. (2007). The solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Applied Geochemistry*, 22, 101-127.

- Salgado, B. I., Pérez, O. E. P, Carballo, V. M. E., Martínez, S. A., & Cruz, A. M. (2015). Aplicación de rizobacterias en la biorremediación del cromo hexavalente presente en aguas residuales. *Journal of Biological Sciences/Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 4(2), 20-34.
- Secretaría de Economía. (2018). Minería. Gobierno de México. Consultado el 20 de marzo 2018. Recuperado de: <https://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/mineria>
- SGM. Servicio Geológico Mexicano. (2018). Panorama Minero del Estado de Morelos. Consultado el 2 enero 2019. Recuperado de: <http://www.sgm.gob.mx/pdfs/MORELOS.pdf>
- Solís-Mágala, C. L. S. (2018). Estudio del papel de los Ácidos Lipoteicoicos en la captación de mercurio en *Lactobacillus plantarum*. Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. España, pp. 21
- Solís-Miranda, B. M. (2016). Aislamiento de bacterias de jales mineros y análisis de su potencial para la remediación de sitios contaminados con metales pesados. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos, pp. 147.
- Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, Á., & Garcés-Jaraba, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *TecnoLógicas*, 18(34), 109-123.
- Tur-Naranjo, E., Orberá-Ratón IT., Romagosa-Álvarez L, Y. Y Pérez-Silvall R. M. (2013). Bioadsorción de plomo (II) por biomasa microbiana. *Revista Cubana de Química*, 25(1), 75-81.
- Valdés, P. F., & Cabrera, M. V. M. (1999). La contaminación por metales pesados en Torreón, Coahuila, México. *Texas Center for Policy Studies*, Primera edición, p. 50.
- Velazquez-Jimenez, L. H., & Rangel-Mendez, J. R. (2014). Chemical and thermogravimetric analyses of raw and saturated agave bagasse main fractions with Cd (II), Pb (II), and Zn (II) Ions: adsorption mechanisms. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(20), 8332-8338.

- Vera, L., García, N., Uguña, M. F., Flores, M., González, E. & Brazales, D. (2018). Tecnologías de biosorción y membranas en la eliminación de metales pesados. *Tecnología y Ciencia del Agua*, 9(5), 91-102.
- Viades, J. (2013). Fisicoquímica de alimentos. Fenómenos de superficie. Adsorción. Consultado el 28 de marzo 2018. Recuperado de: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Unidad3.Fenomenossuperficiales.Adsorcion_23226.pdf
- Wang, J. & Chen, C. (2009) Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195-226.
- Wu, H., Wu, Q., Wu, G., Gu, Q., & Wei, L. (2016). Cd-resistant strains of *B. cereus* S5 with endurance capacity and their capacities for cadmium removal from cadmium-polluted water. *PloS One*, 11(4), 1-25.