



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA  
INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**TOXICIDAD DEL AGUA CONTAMINADA POR  
COLORANTES TEXTILES Y PENTACLOROFENOL AL  
SER TRATADOS CON ENTEROBACTERIAS**

**T E S I S**

PARA OBTENER GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

QFB. OMAR ENRIQUE AHUATZIN FLORES

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. EDITH CHÁVEZ BRAVO

CODIRECTORA DE TESIS:

Dra. FABIOLA AVELINO FLORES



Noviembre 2019

---

## Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y al posgrado en ciencias ambientales por darme la oportunidad de formarme profesionalmente de la mejor manera, a su excelente planta docente, los cuales dieron un aporte fantástico para mi formación académica la cual se verá reflejada en este proyecto de investigación.

Así mismo quiero agradecer a CONACYT, VIEP y CONCYTEP que me apoyaron para poder difundir el conocimiento adquirido en los diferentes congresos en los cuales se presentó este proyecto de investigación y hacer posible este proyecto de investigación.

De la misma forma quiero agradecer de forma especial a los doctores que intervinieron directamente con su conocimiento y enseñanzas a la elaboración y mejoramiento de este proyecto, Dra. Handal quien dedico su tiempo y esfuerzo durante algunos meses para realizar experimentos cruciales para este proyecto y al Dr. Alonso quien aportó no solo una gran cantidad de ideas para fortalecer el proyecto sino también dedico su tiempo a capacitarme en diferentes experimentos, al doctor Valera, doctora Zayas y a la doctora Elsa quienes dedicaron su tiempo y esfuerzos al mejoramiento del proyecto con sus ideas y opiniones.

Por último pero no menos importante quiero agradecer a las dos personas que hicieron este trabajo posible, la doctora Fabiola Avelino quien no solo apporto ideas y correcciones al proyecto, sino, también dedico mucho de su tiempo y estuvo al pendiente en cada paso dado en este proyecto para su correcta realización y la doctora Edith Chávez quien me dio la oportunidad de poder desenvolverme profesionalmente enseñándome cada técnica y resolviendo cada duda sin importar la hora o lugar, gracias a ella este proyecto pudo ver luz y ser realizado de forma íntegra, su dedicación, apoyo y confianza fueron piezas fundamentales para la elaboración de este proyecto y para la obtención de este gran logro.

**SOLO ME QUEDA DECIR “GRACIAS POR AYUDARME A CONSEGUIR ESTE LOGRO, SIN SU APOYO ESTO NO SERIA POSIBLE”**

---

## **DEDICATORIA**

**ESTE PROYECTO SE LOS DEDICO A MI FAMILIA Y AMIGOS LOS CUALES ESTUVIERON CONMIGO A CADA PASO QUE DI EN ESTA ETAPA DE MI VIDA. PERO EN ESPECIAL ESTE LOGRO ES DEDICADO A 3 PERSONAS LAS CUALES SON PILARES EN MI VIDA**

**A MI MADRE, QUIEN CON SU AMOR Y APOYO INCONDICIONALES ME HAN PERMITIDO LLEGAR TAN LEJOS COMO HE QUERIDO.**

**A MI ESPOSA, QUIEN HA ESTADO CONMIGO EN ESTE PROCESO, APOYANDOME DE TODAS LAS FORMAS POSIBLES Y BRINDANDOME TODO SU CARIÑO Y AMOR, SIN ELLA A MI LADO ESTE PROCESO HUBIESE SIDO MAS DIFICIL**

**A MI AMADA HIJA, QUIEN DESDE SU LLEGADA ME HA MOTIVADO A SER CADA DIA MEJOR Y A DAR LO MEJOR DE MI.**



## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b>	2
<b>III. MARCO DE REFERENCIA</b>	3
<b>3.1 Marco teórico</b>	3
3.1.1 El agua y la contaminación producida por la industria textil	3
3.1.2 Colorantes como contaminantes	5
3.1.3 Contaminantes fenólicos de la industria textil	10
3.1.4 Tratamiento del agua contaminada con bacterias	13
3.1.5 Toxicología: ensayos sobre Genotoxicidad	17
<b>3.2 Marco legal</b>	22
<b>IV. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	23
<b>4.3 Pregunta de investigación</b>	23
<b>V. HIPÓTESIS</b>	24
<b>5.1 Hipótesis general</b>	24
<b>VI. OBJETIVOS</b>	24
<b>6.1 Objetivo general</b>	24
<b>6.2 Objetivos específicos</b>	24
<b>VII. METODOLOGÍA</b>	24
<b>7.1. Localización</b>	24
<b>7.2. Fase de campo</b>	25
7.2.1. Toma de muestra de agua residual.	25
<b>7.3. Desarrollo experimental</b>	25
7.3.1. Análisis de la calidad microbiológica del agua residual textil	25
7.3.2. Determinación de la presencia de bacterias entéricas en el agua residual.	25
7.3.3. Identificación de bacterias entéricas con el sistema API E20.	27
7.3.4. Ensayos de interacción microbiana	28
7.3.5. Ensayo de interacción microbiana con Pentaclorofenol (PCF)	29
7.3.6. Análisis del efecto genotóxico en las raíces de <i>Allium sativum</i>	29
7.3.7. Tinción Aceto-orceina	31
<b>VIII. RESULTADOS</b>	31
<b>8.1 Análisis microbiológico del agua residual textil</b>	31
<b>8.2 Aislamiento e identificación de microorganismos en el agua residual textil</b>	32

---

8.3	Confirmación de especies bacterianas por sistema API 20E	33
8.4	Obtención de viales para resguardo de cepas microbianas	34
8.5	Interacción de enterobacterias con colorante azoico azul solofenil	34
8.6	Interacción de bacterias con colorante de naturaleza antraquinona	37
8.7	Ensayo genotóxico de colorantes textiles	41
8.8	Interacción de bacterias con Pentaclorofenol	45
8.9	Ensayo genotóxico de pentaclorofenol	48
<b>IX.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	50
9.1	Interacción bacteriana con los colorantes textiles	50
9.2	Ensayo genotóxico de los colorantes textiles	52
9.3	Ensayos de interacción bacteriana con PCF y ensayo genotóxico.	53
<b>X.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	54
<b>XI.</b>	<b>LITERATURA CITADA</b>	55



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química del colorante azul solofenil.....	9
<b>Figura 2.</b> Estructura química del colorante azul erionyl .....	10
<b>Figura 3.</b> Estructura química del pentaclorofenol.....	11
<b>Figura 4.</b> Esquema del género Enterobacteriaceae. Obtenida de (61).....	16
<b>Figura 5.</b> Esquema de las fases del ciclo celular .....	19
<b>Figura 6.</b> Células en diferentes estadios dentro de la etapa de mitosis(imágenes propias) .....	20
<b>Figura 7.</b> Medios con crecimiento bacteriano .....	26
<b>Figura 8.</b> Pruebas bioquímicas .....	26
<b>Figura 9.</b> Método alternativo para aislamiento e identificación de bacterias .....	27
<b>Figura 10.</b> Sistema API 20e inoculado con bacterias .....	27
<b>Figura 11.</b> Bioensayos de la interacción las bacterias ( <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. typhi</i> , <i>E. coli</i> <i>inactiva</i> y <i>E. tarda</i> ) con los colorantes (Azo y antraquinona) a diferentes concentraciones (100 y 200 ppm) con el bioindicador ajo ( <i>Allium sativum</i> ) (elaboración: Omar Enrique Ahuatzin Flores).....	30
<b>Figura 12.</b> Tubos con medio específico para determinar la presencia de coliformes totales y coliformes fecales. imagen propia.....	32
<b>Figura 13.</b> Tubos con caldo lactosado para determinar la presencia de coliformes. Imagen propia .....	32
<b>Figura 14.</b> Identificación bioquímica bacteriana mediante galería API 20E. Imagen propia .....	33
<b>Figura 15.</b> Elaboración de viales microbiológicos. Imagen propia.....	34
<b>Figura 16.</b> Comparación de los porcentajes de remoción del colorante azoico azul solofenil a 100 ppm por cada una de las bacterias entéricas.....	36
<b>Figura 17.</b> Comparación de los porcentajes de remoción del colorante azoico azul solofenil a 200 ppm por cada una de las bacterias entéricas.....	37
<b>Figura 18.</b> Comparación de los porcentajes de remoción del colorante antraquinona azul erionyl a 100 ppm por cada una de las bacterias entéricas. ....	39
<b>Figura 19.</b> Comparación de los porcentajes de remoción del colorante antraquinona azul erionyl a 200 ppm por cada una de las bacterias entéricas. ....	40
<b>Figura 20.</b> Remoción de colorante antraquinona por <i>S.typhi</i> .....	40
<b>Figura 21.</b> Remoción de colorante azoico por <i>S. typhi</i> .....	40

---

**Figura 22.** *Allium sativum* con grupo control agua. Se observan raíces después de 5 días de interacción.....41

**Figura 23.** *Allium sativum* con *S. typhi* a 100 ppm. Se observan brotes y no raíces después de 5 días de interacción .....41

**Figura 24.** Fase profase del grupo experimental *S. typhi* 200 ppm azul erionyl, tinción aceto orceína 40x (microscopio standard 25ZEISS).....44

**Figura 25.** Fase telofase del grupo experimental *S. typhi* 200 ppm azul erionyl, tinción aceto orceína 100x (microscopio standard 25ZEISS).....44

**Figura 26.** Interacción con PCF por *S. typhi*. Imagen propia.....45

**Figura 27.** Comparación de las absorbancias de los diferentes tratamientos de PCF con bacterias entéricas a una concentración de 25 ppm. ....46

**Figura 28.** Comparación de las absorbancias de los diferentes tratamientos de PCF con bacterias entéricas a una concentración de 50 ppm. ....47

**Figura 29.** Comparación de las absorbancias de los diferentes tratamientos de PCF con bacterias entéricas a una concentración de 100 ppm. ....48

**Figura 30.** Siembra de *Allium sativum* con pentaclorofenol.....49

**Figura 31.** Día 5 de ensayo toxicológico de pentaclorofenol a 50 y 100 ppm tratado con *E.coli*.....49



---

## ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Tipos de tratamiento de aguas residuales.....	4
Tabla 2. Clases de colorantes sintéticos de acuerdo con el índice de color (21). .....	7
Tabla 3. Enterobacterias importantes desde el punto de vista clínico (58,61).....	15
Tabla 4. Comparación de datos obtenidos en la prueba de número más probable expresados en NMP/100/ml con la NOM-250.....	32
Tabla 5. Bacterias aisladas de muestras de agua textil.....	33
Tabla 6. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul solofenII a una concentración de 100 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil .....	34
Tabla 7. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul solofenII a una concentración de 200 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil .....	35
Tabla 8. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul erionyl a una concentración de 100 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil .....	38
Tabla 9. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul erionyl a una concentración de 200 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil .....	38
Tabla 10. Frecuencias de células en división celular en los grupos controles y experimentales.....	43



## I. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia, los seres humanos han empleado colorantes ya sea naturales o artificiales para teñir diferentes productos, sin embargo, esto ha generado la creación de colorantes sintéticos los cuales han generado un gran problema de contaminación en cuerpos acuáticos, debido a la gran complejidad que conlleva removerlos de los sistemas acuáticos. La industria textil consume grandes cantidades de agua para sus procesos de preparación, teñido y acabado. La mayor parte de su carga contaminante consta de colorante de tipo azo empleado en el proceso de tintura (teñimiento) y por compuestos químicos de tipo aromático empleado en el proceso de ablandamiento y tratamiento de telas. Estos contaminantes en la mayoría de los casos no son eliminados de las aguas residuales de la industria y van directamente al desagüe común donde llegan a ríos y/o lagos generando problemas al ecosistema acuático, sin mencionar el desagradable efecto visual que genera, ya que, esos contaminantes persistentes son muy difíciles de remover por los métodos de tratamiento comunes debido a su estructura compleja (1)

Para la remoción de contaminantes en las aguas residuales existen diversos tipos de tratamiento. En el país los procesos de tratamiento de aguas residuales municipales incluyen lodos activados, lagunas de estabilización, primario avanzado, lagunas aireadas, filtros biológicos, dual y otros. A través de los sistemas de tratamiento, cada año se remueven cerca de 0.65 millones de toneladas de  $\text{DBO}_5$  de los 2 millones de toneladas que se generan (2), sin embargo, estos métodos no son eficaces para tratar aguas con químicos o colorantes provenientes de la industria textil y con ello disminuir el daño ambiental (3).

Han surgido nuevos métodos para la remoción de contaminantes persistentes, pero algunos de ellos son caros y con bajos rendimientos. Los tratamientos biológicos son una alternativa debido a que las bacterias y otros organismos tienen la capacidad de degradar o remover este tipo de contaminantes. Es por ello que en el presente trabajo se aislara y utilizaran bacterias entéricas autóctonas para la remoción de colorantes y contaminantes persistentes, al mismo

---

tiempo se determinará la toxicidad del agua residual después de ser tratada con las bacterias.

## II. JUSTIFICACIÓN

La contaminación del agua en México ha alcanzado elevadas dimensiones que explican el deterioro de la calidad de los cuerpos de agua del país. Esto se debe a la poca importancia que se le da a este recurso, lo cual se refleja en sus leyes permisivas, las cuales tienen una mínima regulación y un amplio incumplimiento, lo que ha permitido a los agentes contaminadores del agua maximicen sus emisiones de desechos, bajo el supuesto de que la capacidad de asimilación o desintegración de estos es infinita (4).

En México, la industria textil representa una fuente laboral y económica. Sin embargo, es la que mayor consumo de agua realiza y las aguas residuales que se generan contienen un gran número de contaminantes de diferente naturaleza. Entre los contaminantes se destacan los colorantes (1) y compuestos aromáticos empleados en el proceso textil. Estos contaminantes al entrar en contacto directo o indirecto con el ser humano causan diferentes enfermedades, las cuales pueden ir desde un simple dolor de cabeza o náuseas hasta enfermedades más delicadas como el cáncer (5,6), sin mencionar que estos compuestos dañan la vida acuática de los ecosistemas marinos donde son descargados (7). Estos compuestos son de difícil eliminación del agua por tratamientos convencionales, debido a la complejidad de su estructura química (4), por ello se propone identificar bacterias entéricas autóctonas capaces de remover colorantes y/o contaminantes aromáticos, sin que generen toxicidad al ambiente. Esto con la finalidad de disminuir el daño ecológico, social y posibles daños a la salud causados por estos contaminantes.

---

### III. MARCO DE REFERENCIA

#### 3.1 Marco teórico

##### 3.1.1 El agua y la contaminación producida por la industria textil

El agua es uno de los recursos más importantes. Los seres humanos emplean este recurso para hidratarse, uso doméstico, así como funcionamiento y continuidad de actividades agrícolas e industriales. Aun cuando se le da una gran importancia a su uso relacionado con actividades humanas, el agua es importante para el correcto mantenimiento de ecosistemas y su biodiversidad. Sin el agua que garantice su funcionamiento y su mantenimiento, los sistemas naturales se degradarían, pierden biodiversidad de flora y fauna y con ello dejan de proveer o reducen la calidad de bienes y servicios ambientales que sostienen a las sociedades humanas (8,9).

Se ha estimado que alrededor del mundo existen 1 400 millones de Km<sup>3</sup> de agua, de los cuales sólo el 2.5% corresponden a agua dulce (35 millones de Km<sup>3</sup>), este pequeño porcentaje se distribuye en ríos, lagos, glaciares, mantos de hielo y mantos acuíferos (8,10).

Las principales fuentes de contaminación son los residuos humanos, cada día son vertidas 2 millones de toneladas de residuos a los ríos que contienen residuos industriales y los productos químicos, plaguicidas y los abonos agrícolas (9). La industria textil es uno de los sectores que más contamina el medio ambiente debido a la gran cantidad de agua empleada en sus procesos y la enorme cantidad de sustancias nocivas (colorantes y los compuestos químicos) que contienen sus aguas residuales que en su mayoría son residuos persistentes, los cuales pueden causar efectos nocivos en la salud y en los ecosistemas en los cuales son arrojados (11).

En el caso particular de México la industria textil es una de las más importantes debido a la gran cantidad de empleos que genera en todo el país, los cuales alcanzaron cifras superiores a los 400 mil empleos en 2011, además de esto, la industria textil generó ganancias en 2010 mayores a 6 mil millones de dólares (12), sin embargo, es de igual manera uno de los sectores económicos que más

contaminan, prueba de ello es el río Atoyac, el cual es uno de los ríos más contaminados en México debido en gran medida de los corredores industriales que se encuentran aledaños a este cuerpo de agua, las cuales vierten sus aguas residuales con un tratamiento primario o incluso sin tratamiento al alcantarillado municipal el cual desemboca en el dicho cuerpo de agua(13).

Los principales contaminantes de la industria textil que se pueden encontrar en los efluentes son: almidón, peróxidos, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), tensoactivos, enzimas, colorantes, metales y otros compuestos orgánicos de variada estructura química, que provienen de las distintas etapas del proceso de producción textil, de los cuales, los más dañinos son los colorantes de tipo azo y los compuestos aromáticos, ya que estos son considerados como contaminantes persistentes en el agua debido a su estructura compleja y no pueden ser eliminados con tratamientos primarios o convencionales (14), por lo cual contaminan la flora, la fauna circundantes al cuerpo acuático (rio o lago) e incluso son un riesgo para las civilizaciones humanas aledañas debido a los problemas de salud que generan.

**Tabla 1. Tipos de tratamiento de aguas residuales.**

Tipo de tratamiento	Propósito
Primario	Ajustar el pH y remover materiales orgánicos y/o inorgánicos en suspensión en tamaño igual o mayor a 0.1mm.
Secundario	Remover materiales orgánicos coloidales y disueltos
Terciario	Remover materiales disueltos, no incluyen gases, sustancias orgánicas naturales y sintéticas, iones, bacterias, virus

Tipo de tratamiento y su propósito. Obtenida de (15)

En México los parámetros más comúnmente empleados para cuantificar la calidad del agua son: DQO (demanda química de oxígeno), DBO (demanda bioquímica de oxígeno) y SST (solidos suspendidos totales) (16,17), los cuales son estudiados en agua residuales y dependiendo de sus valores se determina el grado de contaminación en un cuerpo acuático, sin embargo, estos parámetros no abarcan nuevos tipos de contaminantes o incluso ciertos tipos de microorganismos los cuales también son nocivos para el ambiente en general.

---

El problema de contaminación de agua en México es crítico debido a los daños que causa en los ecosistemas, como el envenenamiento de plantas y animales, además, es importante en las sociedades humanas debido a que el 3.1% de muertes a nivel mundial son causadas por aguas contaminadas, ya que las comunidades aledañas están expuestas a la contaminación de alimentos y los efluentes que generan problemas a la salud (10). La contaminación en México ha alcanzado niveles muy altos a causa de la poca importancia, la mínima regulación y el amplio incumplimiento de las normas, lo que ha permitido a los agentes contaminadores del agua maximizar el vertido sus desechos o aguas residuales sin la necesidad de sancionarlos. En la actualidad, cualquier esfuerzo de revertir este proceso de contaminación demanda una gran cantidad de recursos económicos, tecnológicos y humanos para regenerar presas, ríos y lagos las cuales sus aguas han dejado de ser útiles debido sus peligros índices de contaminación (10,18, 19).

La implementación de nuevas tecnologías, la creación de nuevos procesos, la implementación de ecoparques industriales o el mejoramiento de procesos de saneamiento del agua son alternativas que se están estudiando para lograr el adecuado saneamiento o disminución de la contaminación en los ríos y lagos nacionales (19) con la finalidad de revertir su deterioro y puedan tener un mejor manejo, para lo cual es necesario conocer que contaminantes están presentes en estos cuerpos acuáticos y como interaccionan con su ambiente.

### 3.1.2 Colorantes como contaminantes

Los colorantes se pueden definir como “sustancias que, cuando se aplican a un sustrato proporcionan color mediante un proceso que altera, al menos temporalmente, cualquier estructura cristalina de las sustancias coloreadas” (20) y son sustancias que han sido empleadas desde la antigüedad, no solo para colorear prendas textiles, sino, también para teñir alimentos, alfarería, pinturas, etc.

La industria textil ha existido desde hace siglos y ha acompañado al hombre durante su evolución, uno de los primeros registros existentes sobre el teñido de telas data de hace más de 5500 años, cuando los Egipcios teñían sus vestimentas con tintes naturales extraídos de plantas y animales, dando inicio a la industria textil,

---

estos tintes naturales siguieron empleándose hasta mediados del siglo XIX, cuando el inglés William Perkin en 1856 logró sintetizar el primer colorante artificial conocido como mauveína (púrpura de anilina). Sin embargo, con la revolución industrial, la industria textil fue creciendo desmesuradamente debido a la gran cantidad de demanda de prendas con colores nuevos, colores más duraderos al sol, al uso y a los lavados, brillantes y de mejor calidad (21), dando inicio a la investigación de nuevos colorantes sintéticos cada vez más complejos para satisfacer a las demandas, en la actualidad los colorantes más empleados son los colorantes sintéticos, sin embargo, aún se siguen empleando colorantes naturales pero en menos medida.

Uno de los principales contaminantes de industria textil son los colorantes empleados para teñir sus productos. En nuestros días los colorantes sintéticos son lo más empleados y son la base de en la industria debido a la versatilidad de sus colores, facilidad de preparar y bajos costos (22), sin embargo, estos colorantes son una de las principales fuentes de contaminación de la industria textil debido a sus características químicas.

Los colorantes textiles pueden clasificarse dependiendo de su procedencia como naturales y sintéticos, por el índice de color (véase tabla 2) o por su uso en la industria. Los colorantes naturales son como su nombre lo indica los que se obtienen de elementos de la naturaleza como naturaleza plantas, minerales y animales(23), los colorantes sintéticos son los que se obtienen de forma artificial sintetizados en un laboratorio, estos presentan características de solubilidad excelentes, presentan una gran gama de colores, resistencia a los tratamientos propios de la fabricación y son significativamente más baratos que los colorantes naturales (24).

**Tabla 2. Clases de colorantes sintéticos de acuerdo con el índice de color (21).**

Código	Clase Química	Código	Clase Química
10,000	Nitroso	49,000	Triazol
10,300	Nitro	49,400	Indamina/Indofenol
11,000	Monoazo	50,000	Azina
20,000	Diazo	51,000	Oxazina
30,000	Triazo	52,000	Tiazina
35,000	Poliazo	53,000	Sulfuro
37,000	Azoico	55,000	Lactona
40,000	Stibeno	56,000	Aminocetona
40,800	Carotenoide	57,000	Hidroxicetona
41,000	Difenilmetano	58,000	Antraquinona
42,000	Triarilmetano	73,000	Indigoide
45,000	Xanteno	74,000	Ftalocianina
46,000	Acridina	75,000	Natural
47,000	Quinoína	76,000	Base de Oxidación
48,000	Metina	77,000	Inorgánico

La segunda clasificación se da de acuerdo con su uso dentro de la industria por lo cual los colorantes pueden clasificarse en (25):

**Ácidos:** Cuyo cromóforo hace parte de un ion negativo, utilizados para teñir fibras proteicas (lana y seda) o poliamidas y fibras sintéticas. Aplicados en las industrias de alimentos, imprenta, cuero, madera y nylon. Solubles en agua

**Básicos:** Los cuales poseen un cromóforo que forma parte de un ión positivo (generalmente una sal de amina o un grupo amino ionizado), utilizados para teñir fibras acrílicas, en la síntesis de nylon modificado, poliéster modificado y muchos medicamentos. Solubles en agua.

**Dispersos:** Tintes insolubles que se aplican formando una dispersión muy fina en el agua. Se usan para teñir acetato de celulosa y otras fibras sintéticas (poliéster y fibras de acrílico)

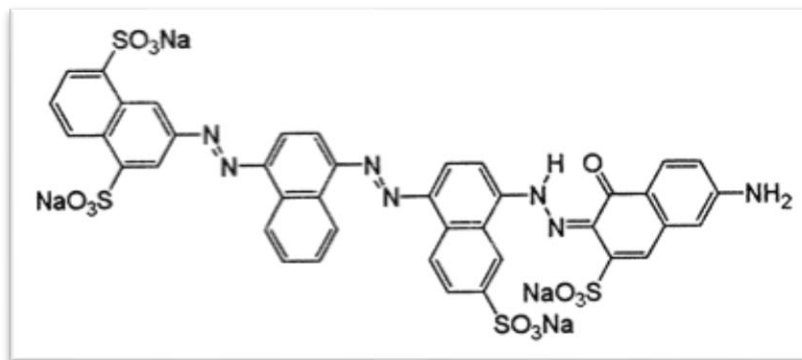
**Directos:** Presentan una gran afinidad por materiales de algodón, rayón y otras fibras de celulosa, generalmente son sales de ácidos sulfónicos. Solubles en agua.

---

Reactivos Presentan grupos de compuestos capaces de reaccionar con el sustrato formando enlaces covalentes, usados para teñir fibras de celulosa y algodón, en general.

De la gran gama de colorantes empleados en la industria, los colorantes azoicos y los antraquinónicos son los que más destacan, los colorantes azoicos constituyen la mitad de todos los colorantes sintetizados alrededor del mundo y son los que se utilizan predominantemente en la industria textil, de alimentos, de papel, industrias de impresión, cuero y cosméticos (26). Se estima que a nivel mundial se producen una cantidad de 700 000 toneladas de tintes y colorantes (27), de los cuales se estima que un 10- 15 % se pierde en el proceso de teñido y se encuentra libremente en el ambiente (28, 29), lo que se traduce a unas 50 000 toneladas descargadas anualmente al ambiente de los procesos de teñido a nivel mundial (26), este grupo de colorantes son considerados persistentes ya que no se pueden remover con tratamientos primarios debido a sus características químicas y causan un gran deterioro al ambiente y a la sociedad (15).

Los colorantes azoicos se caracterizan por tener en su estructura química uno o más grupos azo (-N=N-) (figura 1) denominado grupo cromóforo unida a un aromático o núcleo heterocíclico en un extremo y la segunda característica es que va a estar unida a una molécula insaturada de tipo carbocíclico, heterocíclico o alifático en el otro extremo. Otro grupo funcional que contiene esta molécula es el grupo auxocromo (-OH, -NH<sub>2</sub>, -NR), el cual es el que le da la afinidad a la tela e intensifica el color y por último encontramos el grupo solubilizador, el cual y está dado por iones unidos a la molécula como: -SO<sub>3</sub>, Na<sup>+</sup>, -NH<sub>3</sub>, <sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>, -SO<sub>2</sub><sup>-</sup> NH<sub>2</sub>, -O<sup>+</sup> Na<sup>+</sup> (5, 30, 31).



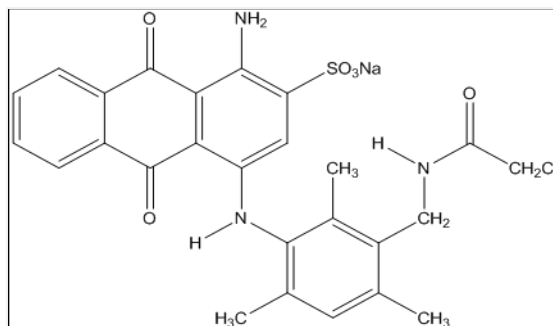
**Figura 1.** Estructura química del colorante azul solofenil

Los compuestos azo que se encuentran en el ambiente han sido ampliamente estudiados debido a los efectos que causan en la salud, estos efectos se pueden presentar por contacto directo con el agente o con los derivados de la arilamina generados durante la biotransformación reductiva del enlace azo. Los colorantes azoicos al ser ingeridos pueden ser metabolizados a aminas aromáticas por la actividad de la enzima azoreductasa de microorganismos intestinales. Sin embargo, también se les ha asociado a enfermedades como dermatitis, irritación de la piel, formación de tumores o incluso causar alergias. Se ha reportado que la LD<sub>50</sub> de los colorantes azoicos esta entre 100 – 200 mg/kg de peso (32, 33).

Además de los problemas de salud, causan efectos en ecosistemas acuáticos, como una coloración desagradable a la vista en el agua, además, provocan una disminución en la penetración de luz solar, que a su vez disminuye la actividad fotosintética de las plantas acuáticas, concentración de oxígeno disuelto y calidad del agua, además, tiene efectos tóxicos agudos en la flora y fauna acuática causando grandes problemas a nivel mundial (34, 35)

Por otro lado, los colorantes de tipo antraquinona son el segundo en importancia y utilidad en la industria textil, sin embargo, su implementación está decayendo debido a su baja relación costo beneficio (36) ya que es más barato usar los colorantes sintéticos. Las antraquinonas constituyen el grupo más número de las quinonas naturales y son compuestos polihidroxilados metilados (Figura 2). Las antraquinonas naturales se encuentran libres, pueden hallarse en la corteza y en la

raíz de diferentes plantas pertenecientes a las familias: *-Rubiáceas, Rhamnáceas, Polygonáceas, Leguminosas, Escrofulariáceas, Liliáceas, y Verbanáceas*; en los líquenes, hongos y en los insectos tintóreos de la familia de los *Cóccidos* (37).



**Figura 2.** Estructura química del colorante azul erionyl

Para el presente estudio se emplearon los colorantes azul erionyl el cual es de naturaleza antraquinona y el colorante azul solofenil de naturaleza azo, los cuales son los más empleados en la industria del nylon y de mezclilla respectivamente.

### 3.1.3 Contaminantes fenólicos de la industria textil

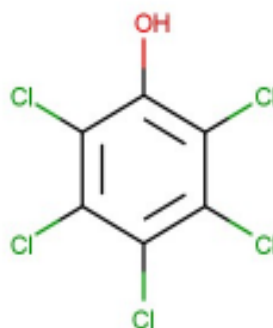
Otro de los grandes contaminantes provenientes de la industria textil son las sustancias derivadas del fenol, empleadas en el proceso de fabricación de diferentes productos textiles y resultado en aguas residuales que contienen dichas sustancias (38), estas sustancias son de las más empleadas en la industria textil como auxiliares en los procesos de teñido y acabado, los cuales mejoran la adsorción del colorante empleado para el teñido de la prenda. Los fenoles son una familia de compuestos aromáticos que se emplean en diferentes procesos industriales como intermediarios para síntesis de plásticos, la petroquímica, hasta su utilización como insecticidas, desinfectantes, etc. Tanto fenol como componentes fenólicos son comúnmente encontrados en efluentes de procesos industriales como los farmacéuticos, petroquímicos, procesos textiles, plantas generadoras de fungicidas y pesticidas, refinerías, etc, causando serios daños al ambiente y a la salud (39,40), de este grupo fenólico, el grupo más comúnmente empleado es el

clorofenol, el cual es altamente tóxico y persistente en el medio ambiente al ser desechado (41).

Uno de los derivados del fenol más usados es el pentaclorofenol el cual es empleado en diferentes industrias, tales como la maderera, curtiduría, papelera, pegamentos y textiles, sus principales usos radican en la conservación de textiles, también se utilizó como conservante de pinturas de aceite, pegamentos, adhesivos y como intermediario en la síntesis de fármacos, como producto intermediario en sustancias colorantes, en granjas de champiñones, para el control de limo en la producción de pulpa y papel, además de como producto químico agrícola en el control de las malas hierbas (42).

En el caso de la industria textil, la composición de su agua residual va a depender de las sustancias químicas empleadas en sus procesos, algunas de estas sustancias químicas son: NaCl, agentes surfactantes como fenoles, metales pesados, presentes en colorantes, compuestos orgánicos como solventes clorados, biocidas como el pentaclorofenol (procedente de fibra de lana contaminada y en algunos en preservador de telas) y aniones tóxicos como sulfuro (1).

El pentaclorofenol es una sustancia cristalina, insoluble en agua y soluble en solventes orgánicos como alcohol, éter, benceno; se descompone a altas temperaturas y se prepara clorinando el fenol en presencia de catalizadores, su toxicidad es mayor que la del fenol, debiéndose su reactividad química a los átomos de cloro que posee (fig.3) (43).



**Figura 3.** Estructura química del pentaclorofenol

---

El pentaclorofenol puede ser liberado al ambiente por procesos de combustión como los procesos de incineración de residuos municipales, químicos y médicos, así como la combustión del carbón, aceites petróleo y gas, lo que genera gases como dioxinas y furanos, esto aunado al mal tratamiento de desechos de las industrias que emplean esta sustancia para sus procesos. En México, las fuentes de ingreso de residuos de pentaclorofenol al ambiente son el manejo inadecuado de los desechos, la incineración de los residuos de pentaclorofenol y de la madera tratada con esta sustancia que provoca, además de su volatilización a la atmósfera, la formación de PCDD y PCDF. El ingreso de estos residuos al ambiente es difuso por provenir de numerosas fuentes en cantidades pequeñas, lo que hace imposible su tratamiento y es el origen de la exposición de la población general (44,45). En nuestro país, la NOM-052-SEMARNAT-2005, establece que el límite máximo permisible de pentaclorofenol es 100 mg/l (46).

El pentaclorofenol es uno de los clorofenoles de más difícil degradación y de mayor toxicidad, tiene una capacidad de penetración alta y difunde por todas las vías administradas piel, mucosas, tracto respiratorio, aparato digestivo y sangre, distribuyéndose por todo el organismo y tendiendo a acumularse en hígado, cerebro, riñones y grasa corporal. Su vía principal de eliminación es el riñón, eliminándose prácticamente el 96% y un 4% por el tracto digestivo (43,47) tiene graves efectos a largo plazo: es mutágeno, causa alteraciones en los sistemas inmunológico y endocrino, aumenta la susceptibilidad a infecciones y altera las funciones reproductivas. Existen numerosos estudios sobre los efectos adversos de estas sustancias en la salud humana y de los ecosistemas causados por su toxicidad, persistencia, capacidad de bioacumulación y por la toxicidad de sus impurezas (48,49,50).

Aunque la mayoría de la población no está expuesta directamente al pentaclorofenol, puede haber exposiciones a bajas concentraciones de este compuesto en el ambiente, por ejemplo, en el aire, dentro y fuera de las casas; a través del agua potable (0.02 mg/día) y de los alimentos (0.1-6 mg/día). Se han encontrado residuos de pentaclorofenol en el 79 % de las muestras de orina de

---

grupos de población sin exposición específica; estos residuos provienen de los alimentos y el agua, ya que el PCP es un contaminante frecuente en granos, frutas, papas, leche y otros productos animales (44,49). Es por ello la importancia del estudio de reservorios y así como la remoción de este contaminante para evitar los daños que ocasiona al ambiente y a los seres vivos.

#### 3.1.4 Tratamiento del agua contaminada con bacterias

En la actualidad uno de los mayores desafíos para los investigadores ambientalistas es dar tratamientos efectivos, con buenos rendimientos y con costos bajos a los efluentes de la industria textil, el cual, se caracteriza por contener sustancias altamente contaminantes y algunas de ellas son persistentes, las cuales son descargadas directamente al ambiente (51,52, 53)

Existen diferentes métodos de tratamientos de aguas residuales provenientes de la industria textil, los cuales generalmente son métodos físicos y químicos y producen efluentes de buena calidad, sin embargo, la mayoría de las ocasiones tienen problemas operacionales, generan grandes cantidades de lodo, y poseen altos costos además de generar subproductos que pueden llegar a ser más tóxicos que el contaminante inicial (54, 55).

En los últimos años ha crecido la importancia del método biológico para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil, el cual ha demostrado ser efectivo en el proceso de decoloración y degradación de colorantes y compuestos orgánicos en aguas industriales altamente contaminadas. Este método tiene la característica de ser inocuo con el medio ambiente, de baja producción de lodos y competitivo con los costos requeridos, además disminuir la producción de sustancias tóxicas o incluso de no producirlas (30, 54)

El método biológico o biorremediación se fundamenta en la transformación enzimática por microorganismos, generalmente bacterias de una sustancia tóxica en sustancias menos dañinas para el medio ambiente. Se han reportado la biodegradación de sustancias orgánicas complejas por mecanismos enzimáticos

---

asociados a lacasa, lignina, NADH-DCIP reductasa, tirosinasa, hexano oxidasa y aminopirina N-desmetilasa (30, 34).

Existe una gran cantidad de estudios que demuestran la eficacia de bacterias al realizar una biorremediación, ejemplo de estos estudios son los realizados por Salgado y colaboradores (56) demostró que con bacterias aisladas de la rizosfera de una planta pudo disminuir la DQO de aguas residuales, otro ejemplo de estudio empleando bacterias para la remediación de contaminantes es el llevado a cabo por Phugare y colaboradores (57), quienes utilizaron un consorcio bacteriano conformado por *Pseudomonas aeruginosa* cepa BCH y *Providencia sp.* Ambas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, donde demostraron que hubo una disminución de la coloración del efluente textil al emplear este consorcio bacteriano.

Como se ha demostrado en diversos estudios las bacterias son una solución factible a la remoción de colorantes, dentro de las bacterias existe una familia denominada enterobacterias, las cuales son el grupo de bacterias más empleado para biorremediación de efluentes contaminados, su basta implementación se debe a sus características y gran diversidad de especies, en este grupo se encuentran más de 20 géneros y más de 100 especies, de las cuales pocas de importancia clínica debido a sus efectos causantes en el ser humano (véase tabla 3), las formas de clasificación de las bacterias se da por dos métodos, por sus propiedades bioquímicas dando así los géneros y especies previamente dichas y por su capacidad de fermentar lactosa, dando lugar a la siguiente clasificación (58):

- Entero bacterias fermentadoras rápidas de lactosa (coliformes): incluye los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*
- Enterobacterias fermentadoras lentas de lactosa (coliformes): incluye los géneros *Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Yersinia*, *Shigella sonnei*.
- Enterobacterias no fermentadoras de lactosa (no coliformes): incluye los géneros *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* y *Edwarsiella*.

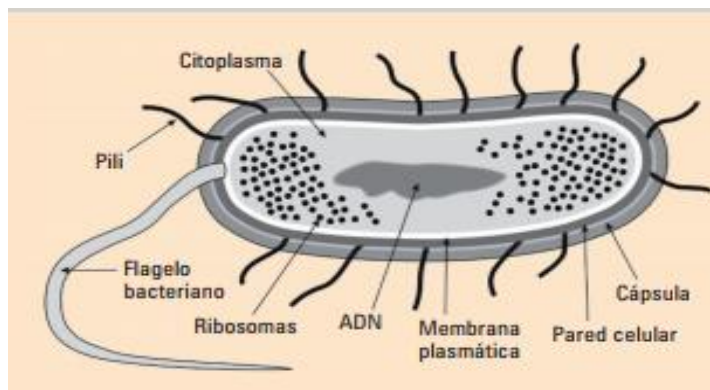
Cabe destacar que esta clasificación no se emplea desde el punto de vista taxonómico, su implantación radica para identificar más rápido a las bacterias

patógenas de las no patógenas ya que estas últimas no suelen fermentar la lactosa.(58)

**Tabla 3. Enterobacterias importantes desde el punto de vista clínico (58,61)**

Genero	Especie
<i>Escherichia</i>	<i>coli, alberti, alvei</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae, oxytoca, granulomatis</i>
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>aerogenes, cloacae, agglomerans, gergoviae, sakazakii</i>
<i>Serratia</i>	<i>marcencens</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Alves</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii, amalonaticus, diversus</i>
<i>Yersinia</i>	<i>pestis, enterocolitica, pseudotuberculosis</i>
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis, vulgaris</i>
<i>Providencia</i>	<i>rettgeri, stuartii</i>
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
<i>Shigella</i>	<i>dysenterii, flexneri, sonnei, boydei</i>
<i>Plesiomonas</i>	<i>shigelloides</i>
<i>Edwarsiella</i>	<i>tarda</i>
<i>Ewingella</i>	<i>american</i>

Desde el punto de vista microbiológico, las enterobacterias se caracterizan por no formar esporas, crecen tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, fermentan la glucosa, no producen oxidasa, y tienen una movilidad variable. Son gran negativos que poseen una membrana citoplasmática, una cubierta de peptidoglicano y una compleja pared celular que comprende la cápsula, la cual contiene lipopolisacáridos (LPS) y canales para la penetración de antibióticos y nutrientes (59) (véase figura 4). Están distribuidas en plantas, tierra, agua e intestino de hombres y animales. Algunos géneros son enteropatógenos humanos importantes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*), mientras otros son colonizantes habituales del tracto gastrointestinal (*Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, etc.) (60).



**Figura 4.** Esquema del género Enterobacteriaceae. Obtenida de (61)

Se han realizado una gran cantidad de investigaciones donde muestran los beneficios de emplear microorganismos como bacterias, hongos o levaduras como bioremediadores de contaminantes en diferentes áreas industriales. Se han reportado algunas bacterias que pueden romper el enlace azo de algunos colorantes bajo condiciones anaerobias, dando lugar a la decoloración y formación de aminas aromáticas (62), esto se debe a que ciertas bacterias presentan una enzima llamada azoreductasa.

Las enzimas azoreductasa representan un grupo de enzimas conformadas por 180-200 aminoácidos con una masa molecular promedio de 19-23 kDa. Estas enzimas, están agrupadas en la familia de las NADPH:FMN oxidoreductasas se encuentran presentes en distintas bacterias que habitan en el suelo y el tracto gastrointestinal humano, tienen la capacidad de reducir el enlace "AZO" de los colorantes azoicos(63). Existe un pequeño grupo de bacterias que han sido reportadas que presentan esta enzima, los cuales son: as *Bacillus* sp. OY1-2 . *Pseudomonas*, *Xenophilusazovorans* , and *Sphingomonas* sp.(64).

A pesar de que existen todos estos estudios demostrando los beneficios generados al emplear diferentes tipos de microorganismos para remediar problemas ambientales relacionados con la contaminación, existen otras investigaciones que sugieren lo contrario, ejemplo de ello es la realizada por Morales Y Melgosa donde emplearon un colorante azoico rojo directo 23 en reactores con lodos activados (donde hay presencia de microorganismos) y lograron

---

determinar presencia de aminas aromáticas, las cuales por sí solas son aún más tóxicas que el colorante en sí y fueron asociadas a la actividad microbiana, sin embargo, emplearon un tratamiento aerobio complementario para poder eliminarlas (65). Estos estudios se basan en la posibilidad de la formación de aminas aromáticas o compuestos de degradación que suelen ser más tóxicos que el colorante a eliminar (64,66), por lo cual es importante conocer la ruta metabólica de las bacterias al ser implementadas en las biorremediaciones, con la finalidad de generar un positivo en el ambiente y no empeorar dicho problema ambiental.

### 3.1.5 Toxicología: ensayos sobre Genotoxicidad

En la actualidad, decir que los colorantes textiles y el pentaclorofenol encontrados libres en el ambiente causan daños a la salud sin tener una justificación real puede ser totalmente perjudicial tanto para las empresas como para las sociedades, esto debido a que puede generarse problemas sociales y económicos. Es por ello que la mejor forma de sustentar estas afirmaciones es por medio de investigaciones relacionadas con la toxicología, la cual brinda información acerca del comportamiento de una sustancia con su medio, la cual podría o no causar en efecto dañino en una población o en un sistema natural.

En los últimos años, las investigaciones relacionadas con sustancias tóxicas y su efecto tanto en el hombre como en el ambiente ha cobrado gran impacto y relevancia, apoyándose en ciencias como la toxicología se ha logrado conocer los efectos nocivos de diversas sustancias que se creían inocuas, así como el efecto negativo de nuevas sustancias arrojadas al ambiente sobre la salud de los seres vivos. La toxicología “es la ciencia que estudia los efectos adversos que los agentes físicos y químicos pueden producir en el hombre y los animales” (67). Dentro de la amplia gama de estudios relacionados con la toxicología destacan los estudios genotóxicos, los cuales son resultado de la toxicología genética, la cual es la disciplina que estudia los agentes genotóxicos físicos, químicos y biológicos que pueden dañar el material genético de las células, directa e indirectamente, por ende,

---

el término genotóxico se aplica a aquellos agentes que causan daño en el material genético a dosis tóxicas (68).

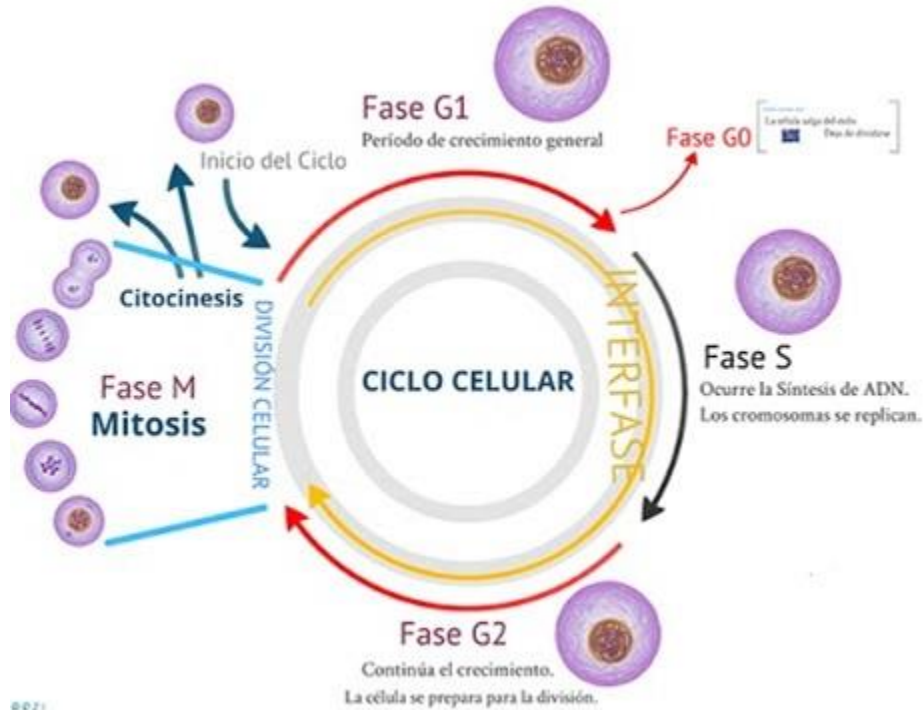
Para poder tener información certera sobre una sustancia química y los posibles efectos que puede generar en la célula, la genotoxicología se apoya en ciencias como la biología celular, la cual brinda todo tipo de información sobre la célula, su estructura, su ciclo y su correcto funcionamiento, así como las posibles alteraciones que puede presentar. El ciclo celular es crucial para este tipo de estudios ya que es la base para la reproducción de los organismos. Su función no es solamente originar nuevas células sino asegurar que el proceso se realice en forma debida y con la regulación adecuada (69).

El ciclo celular es una serie de eventos moleculares secuenciales y unidireccionales cuya función es la duplicación del ácido desoxirribonucleico (ADN) para generar dos células hijas, cada una con una copia idéntica de material genético. El ciclo celular está constituido por dos fases principales: la interfase y la división celular (véase figura 5), que puede ser mitosis o meiosis. La mitosis es el proceso nuclear por el cual los cromosomas replicados se segregan en dos núcleos hijos, generalmente va acompañada de la citocinesis, que es la división del citoplasma y separación física de las dos células hijas. (70)

Los pasos secuenciales que comprende el ciclo celular son cuatro (véase figura 5):

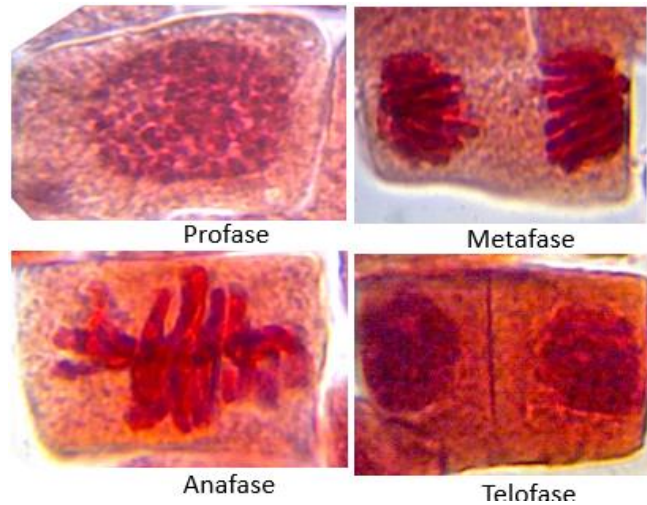
- Gap1 (G1): fase en la que la célula se asegura de que existen las condiciones idóneas para poder dividirse
- Fase S (S): fase de replicación de ADN nuclear,
- Gap2 (G2): fase donde se verifica que la duplicación de ADN se realizó de manera completa y sin errores





**Figura 5.** Esquema de las fases del ciclo celular

Estas etapas corresponden a la fase interfase, una vez concretadas estas etapas se presenta la Fase M o mitosis la cual realiza segregación de las cromátidas. La mitosis, a su vez, se lleva a cabo en cuatro fases: profase, metafase, anafase y telofase (véase imagen 6). Durante la profase ocurre la ruptura de la membrana nuclear y la condensación de cromatina para formar los cromosomas (cromátidas hermanas unidas por el centrómero). En la metafase, los cromosomas se localizan en el plano ecuatorial de la célula mediante el huso mitótico. En la anafase las cromátidas hermanas se separan y migran hacia los polos opuestos de la célula. Finalmente, en la telofase, las dos nuevas envolturas nucleares rodean a cada juego de los cromosomas separados, éstos se descondensan y expanden en el nuevo núcleo generando dos células hijas mediante un proceso denominado citocinesis (70, 71, 72,73,74).



**Figura 6.** Células en diferentes estadios dentro de la etapa de mitosis(imágenes propias)

Tomando en cuenta el efecto que causan los agentes tóxicos los podemos clasificar en tres tipos(75):

- Los mutagénicos: Sustancias que producen mutaciones en el material genético y alteran la actividad celular, desde la producción de energía hasta su reproducción. Lo que conduce a un funcionamiento inadecuado de la célula. Las alteraciones del material genético se pueden dar de tres formas, la primera es el cambio de la composición química del ADN, lo que se traduce en un cambio de las bases químicas que componen los genes. La segunda forma en la que se presentan estas alteraciones corresponde a la alteración del ajuste físico del ADN, lo que se traduce a la inducción de rupturas cromosómicas. Por último, la mutación que genera adición o supresión de cromosomas lo que significa que la célula contiene un número anormal de cromosomas
- Los teratogénicos: Estos agentes que dañan directamente al feto en dosis que no afectan a la madre, son un tipo de sustancias tóxicas del desarrollo. Entre los efectos teratogénicos se pueden mencionar: órganos o estructuras tisulares anormales, funcionamiento metabólico o químico deficiente y retardo mental

- Los carcinogénicos: Son sustancias químicas que inducen cáncer, también llamado neoplasia o tumor (crecimiento anormal e incontrolado de células). Todos los tipos de cáncer están relacionados con factores ambientales que pueden estar asociados con el estilo de vida, la exposición industrial y ocupacional. Como resultado de la mutación, los genes expresan proteínas alteradas que modifican la división celular y ocasionan una proliferación excesiva o reducción en la muerte celular programada (apoptosis) como ocurre en la mutación del gen supresor que sintetiza la proteína p53

La toxicología genética se encarga del estudio a nivel genético de los daños causados por sustancias tóxicas en los diferentes organismos vivos, para lo cual emplean bioindicadores, que son “organismos o comunidades de estos que a través de su presencia indican el nivel de preservación o el estado de un hábitat” y tienen la función de estimar las condiciones ambientales que resulten complicadas y costosas de medir debido a sus características como sensibilidad a contaminantes, dispersión, éxito reproductivo, distribución (76).

Diversos estudios realizados con contaminantes de la industria textil han empleado diferentes bioindicadores para poder demostrar el daño que generan estas sustancias a un ser vivo, uno de estos bioindicadores es el ajo (*Allium sativum*) la cual tiene características similares a la célula humana ya que presentan sufren el proceso de mitosis y meiosis y es posible estudiar efectos en células germinales pudiendo observar si existe o no una alteración en los procesos de división celular al estar en contacto con un agente tóxico (77, 78). Al realizar bioensayos con el producto de la interacción de las enterobacterias con el colorante textil y empleando el bioindicador *Allium sativum*, se podrá tener evidencia física si en esta interacción hubo formación de compuestos secundarios no deseados como las aminas aromáticas y que daño pueden causar estos compuestos a la célula a nivel genético.

En la presente investigación se utilizó como biomodelo a *Allium sativum* que es una especie de propagación aramida (los clones cultivados no producen



---

semillas) por consiguiente el sistema radical es totalmente adventicio a partir del bulbo o diente ya que no existen semillas, posee (2n) igual 16 cromosomas.

Es importante mencionar que para tener una mayor comprensión de los procesos por los que pasan las células al estar en contacto con un agente tóxico, se debe tener en conocer los diferentes estadios que presenta en sus procesos de mitosis y meiosis. Es conocido que algunas sustancias químicas pueden afectar a los organismos a nivel de ADN, generando una alteración en sus ciclos celulares generando mutaciones, tumoraciones o su propia reproducción. En esta investigación se emplearon células eucariotas y autosómicas debido a que se estudió la genotoxicidad de los colorantes azul erionyl y azul solofenil, mismos que se emplean ampliamente en la industria textil de la mezclilla y del nylon. En presente estudio se analizó la toxicidad de la interacción de los colorantes textiles con las bacterias autóctonas encontradas en los equipos de la industria textil, tomando como referencia el índice mitótico del bioindicador *Allium sativum*, el cual información si es toxico o no.

### **3.2 Marco legal**

Para la realización de este proyecto de investigación y como punto de referencia nos guiaremos por las normas oficiales mexicanas que rigen la cantidad de contaminantes que se pueden verter al ambiente.

NOM 001 SEMARNAT (79), establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, es aplicable a empresas y sistemas de alcantarillado municipales. Los contaminantes para los que la norma citada establece límites máximos se dividen en 3 grupos: 1.- básicos, 2.- patógenos y parásitos, 3.- metales pesados y cianuros.

El primer grupo comprende grasas aceites, material flotante, solidos sedimentables, solidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno (DBO) a cinco días, nitrógeno total, fosforo total, temperatura y pH. El segundo grupo se encuentran:

---

coliformes fecales y huevos de helminto. En el tercer grupo se encuentran arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc y cianuros.

NOM 002 SEMARNAT 1996 (80) establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado, es aplicable a empresas y sistemas de alcantarillado municipales, para no exceder los límites máximos se recomienda procesar el agua en una planta de tratamiento, cuenta con los mismos parámetros que la NOM 001 SEMARNAT 1996.

NOM 003 SEMARNAT 1997 (81) Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. Las aguas que ha sido tratadas no deberán exceder los límites estipulados por la NOM 001 SEMARNAT 1996 en ninguno de sus parámetros o no podrán ser reutilizadas debido a que se consideraría un agua contaminada

NOM-052-SEMARNAT-2005 (82), Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

NMX-AA-042-SCFI-2015 (83), establece la metodología a seguir para encontrar coliformes fecales y *E. coli* en una muestra, así como los límites máximos permitidos dependiendo el tipo de muestra.

#### **IV. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

##### **4.3 Pregunta de investigación**

¿Qué enterobacterias existen en el agua residual de la industria textil y cuál de ellas tiene la capacidad de remover los colorantes textiles y compuestos aromáticos que generan toxicidad?



---

## V. HIPÓTESIS

### 5.1 Hipótesis general

Las bacterias entéricas presentes en el agua residual de la industria textil tienen la capacidad de remover los colorantes y los compuestos aromáticos utilizados en la industria textil, la cual genera toxicidad en el ambiente.

## VI. OBJETIVOS

### 6.1 Objetivo general

Evaluar la interacción de las bacterias entéricas para remover colorantes textiles y compuestos aromáticos presentes en el agua residual de la industria textil, así como sus efectos tóxicos.

### 6.2 Objetivos específicos

- 6.2.1. Identificar enterobacterias en el agua residual textil.
- 6.2.2. Determinar el porcentaje de remoción de los colorantes (azul erionyl y azul solofenil) y del pentaclorofenol por las bacterias entéricas.
- 6.2.3. Seleccionar las cepas bacterianas con mejor eficiencia de remoción de colorantes y del pentaclorofenol.
- 6.2.4. Analizar la toxicidad del agua resultante de la interacción de las bacterias con los contaminantes (colorantes y pentaclorofenol).

## VII. METODOLOGÍA

### 7.1. Localización

En el presente trabajo se obtuvo la muestra de agua residual proveniente de la zona industrial del municipio de Teziutlán perteneciente al Estado de Puebla, debido a la gran presencia de lavanderías textiles y a los diferentes ríos aledaños a la población.

## 7.2. Fase de campo

### 7.2.1. Toma de muestra de agua residual.

Se obtendrán diferentes muestras de agua residual de la industria textil, para la determinación de la calidad microbiológica y el aislamiento y recuperación de bacterias entéricas.

Para ello se tomó la muestra de agua directamente de los contenedores donde se realizó el lavado de la tela, se tomó aproximadamente un litro de agua en un frasco estéril color ámbar. Una vez obtenida la muestra se conservó en refrigeración con la finalidad de mantener las propiedades del agua por un tiempo no mayor a 24 h.

## 7.3. Desarrollo experimental

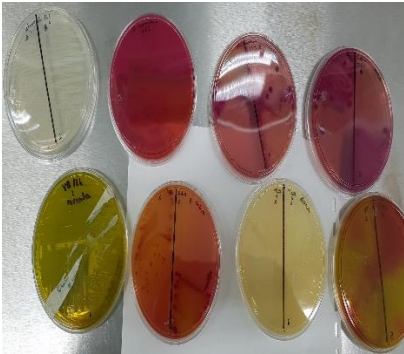
### 7.3.1. Análisis de la calidad microbiológica del agua residual textil

De acuerdo a la NOM-250-SSA1-2014 que establece los límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia; se determinó la calidad microbiológica del agua residual de la industria textil, aplicando la técnica del Número Más Probable (NMP) para identificar coliformes totales, coliformes fecales y *E.coli*, dicha metodología se realizó conforme a la norma mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015.

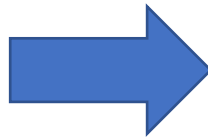
### 7.3.2. Determinación de la presencia de bacterias entéricas en el agua residual.

Para el crecimiento e identificación de bacterias, se realizó la concentración de la materia orgánica de la muestra de agua textil, el cual consistió en homogenizar durante 5min constantes la muestra de agua residual textil, se colocó 120 ml de la muestra de agua textil en 3 tubos cónicos de 50 ml y posteriormente, las muestras se centrifugaron a 11 000 rpm durante 15 minutos después del centrifugarse se recuperó el sobrenadante de cada tubo y se colocó en nuevos tubos estériles. Nuevamente se centrifugó a 11,000 rpm durante 20 minutos y el pellet se recuperó en un tubo cónico de 15 ml y el sobrenadante se descartó. Se agregó en cada

tubo 10 ml de caldo de nutrientes y se dejó incubar a 37°C por 12 horas en agitación constante a 120 rpm. A las 3 y 12 horas de incubación se realizó una siembra en estría cruzada en los medios de cultivo: cetrimida, TSA, McConkey, Salmonella/Shigela, verde brillante dejándolas incubar a 37°C por 24 horas (véase figura 7). Una vez obtenido el crecimiento bacteriano se seleccionaron colonias diferentes para su aislamiento, purificación e identificación mediante pruebas bioquímicas (véase figura 8).



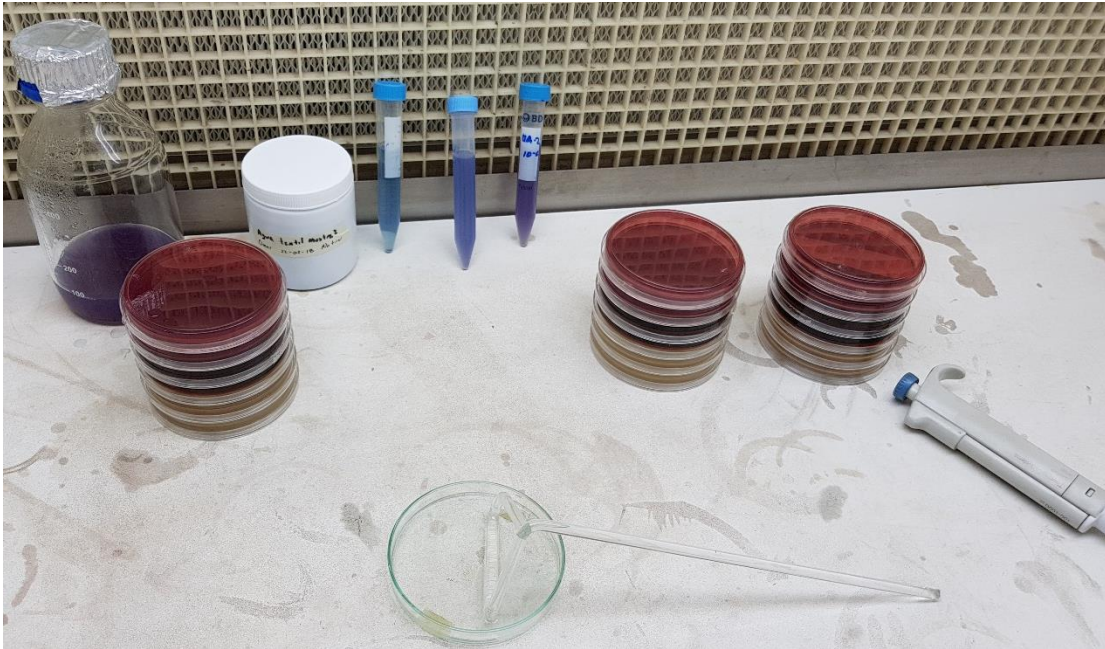
**Figura 8.** Medios con crecimiento bacteriano



**Figura 7.** Pruebas bioquímicas

Método alternativo para aislamiento e identificación de cepas bacterianas (figura 9)

Se realizaron diferentes diluciones del agua textil con caldo neutralizante los cuales son: 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000 y sin diluir, cada dilución se sembró en placas Mc Conkey, LB, y EMB, con la técnica de extendido en placa posteriormente se incubaron a 37°C por 24 horas, transcurrido este tiempo se seleccionaron las colonias y se resembraron en medios de cultivo nuevo del mismo tipo de la cual provienen hasta su purificación por último se realizaron pruebas bioquímicas para identificar a las bacterias obtenidas (prueba de oxidasa, prueba de catalasa, prueba de coagulasa, prueba MIO, prueba TSI, prueba LIA, citrato, indol, rojo de metilo)



**Figura 9.** Método alternativo para aislamiento e identificación de bacterias

7.3.3. Identificación de bacterias entéricas con el sistema API E20.

Se realizó la identificación de 4 bacterias de interés mediante el sistema API E20, el cual consiste en 21 pruebas bioquímicas que se realizaron con el kit comercial API E20, este sistema consiste en galerías individuales las cuales contienen microtubos o pocillos con sustratos deshidratados, estos sustratos son inoculados con una suspensión bacteriana (véase figura 10), dicha solución está constituida por 1 colonia de la bacteria suspendida en 5 ml de solución salina al 0.85%. Esta metodología siguió de acuerdo con el manual proporcionado con el kit.



**Figura 10.** Sistema API 20e inoculado con bacterias

#### 7.3.4. Ensayos de interacción microbiana

Se realizó la interacción microbiana con aguas artificialmente contaminadas con dos tipos de colorantes, el primero fue con el colorante azul solofenil FGL directo, el cual es de naturaleza azo y el segundo fue el colorante azul erionyl el cual es de naturaleza antraquinona.

Una vez obtenidos los viales, se realizó un crecimiento bacteriano en medio LB por goteo y en medio McConkey (para verificar pureza de la bacteria), con el crecimiento bacteriano de 24 h se realizó una suspensión bacteriana a una concentración de  $1.5 \times 10^9$  UFC/ml, para alcanzar esta concentración se suspendió la bacteria en 10 ml de solución salina al 0.89% y se igualó a la turbidez del tubo número 5 de la escala de Mc Farland, se tomó del concentrado una alícuota de 3 ml para ser agregado en los tubos de ensayo donde se llevó acabo la interacción.

Se realizaron dos ensayos diferentes para cada bacteria, el primer ensayo fue a una concentración de 100 ppm de colorante textil y el segundo ensayo a una concentración de 200 ppm, ambos ensayos se les agrego 3 ml de suspensión bacteriana y se completó el volumen a 30 ml con caldo de nutrientes. Los tubos con la interacción se incubaron a  $37^\circ\text{C} \pm 0.5$ , cada 24 horas durante 10 días se tomó una alícuota de 3 ml, se sembró en agar McConkey y se centrifugó a 8,000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se vertió en dos tubos cónico de 1.5 ml y se centrifugó a 12 000 rpm durante 10 minutos con la finalidad de remover las interferencias bacterianas, se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/vis a una longitud de onda de 630 nm. La remoción se expresó en términos de porcentaje empleando la siguiente formula (44):

$$\text{Remoción (\%)} = \frac{A_i - A_t}{A_i} \times 100$$

Donde  $A_i$  es la absorbancia inicial,  $A_t$  es la absorbancia de incubación en un tiempo  $t$

### 7.3.5. Ensayo de interacción microbiana con Pentaclorofenol (PCF)

Se realizó un ensayo piloto de interacción microbiana a diferentes concentraciones de PCF (3 ppm, 6 ppm, 12.5 ppm, 25 ppm y 50 ppm), con la finalidad de conocer hasta que concentración el crecimiento bacteriano se inhibía debido al PCF.

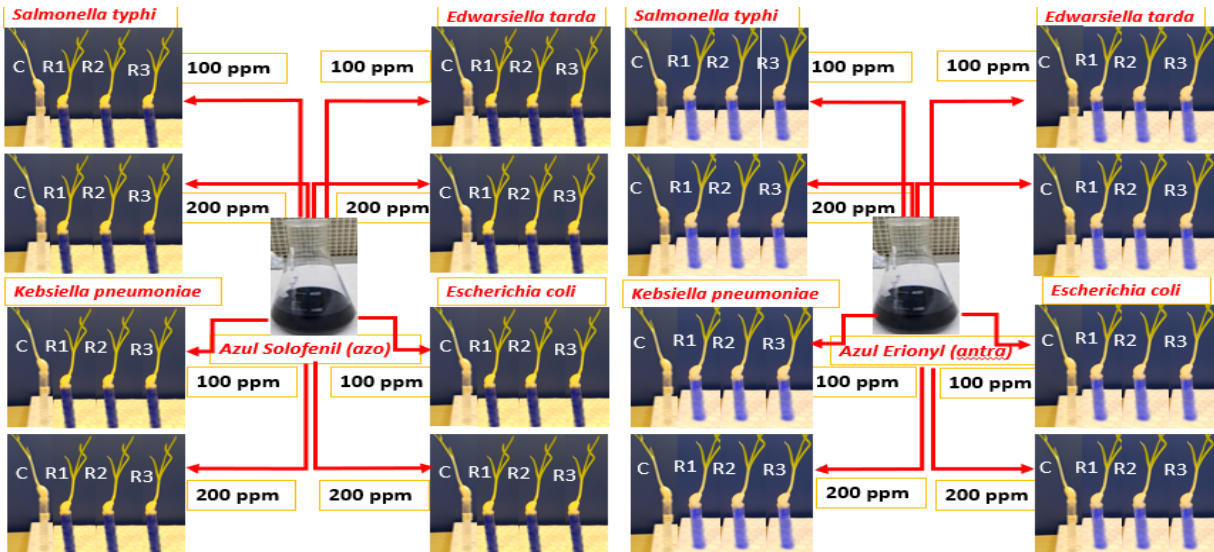
Se colocó en un tubo de vidrio de 3 ml caldo de nutrientes (la cantidad varía de acuerdo a la concentración final del PCF), pentaclorofenol y 100 µl de bacteria para obtener un volumen final de 1 ml. Las muestras se hicieron por duplicado y se realizó un control PCF- caldo de nutrientes para cada concentración y un control bacteria-caldo de nutrientes general. Se comparó la turbidez de cada tubo con su respectivo estándar para saber si la bacteria crecía adecuadamente. Cabe destacar que el ensayo tuvo una duración de 6 días, cada 24 horas se verificaba si la turbidez aumentaba o disminuía.

### 7.3.6. Análisis del efecto genotóxico en las raíces de *Allium sativum*

Se utilizó al ajo como un bioindicador y se determinó el efecto genotóxico de los productos de la interacción de los colorantes textiles (azoico y antraquinona) con las bacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Edwardsiella tarda*, *Escherichia coli inactiva*) a través de la determinación del índice mitótico y de la inducción de micronúcleos (MNs). Se utilizó ajo (*Allium sativum*). Se trataron bajo condiciones específicas para su germinación (humedad, sin luz y protegidos del polvo)

Los bulbos se sumergieron en el agua destilada, se secaron con papel toalla y se colocaron directamente en los diferentes tubos de ensayo llenos con los productos de la interacción de los colorantes textiles con las bacterias entéricas. El periodo de exposición de los bulbos en las diferentes concentraciones será en un tratamiento agudo (96 horas= 4 días), al término de los 4 días se montaron los siguientes bioensayos, cada bioensayo constó de un lote control (agua de garrafón marca Esu-BUAP) 3 lotes problema. Bioensayo 1, constó de un grupo control y 3 lotes problema que constó del resultado de la interacción del colorante azoico azul solofenil a 100 ppm con la bacteria *K. pneumoniae*. Este procedimiento se llevó a

cabo con cada una de las bacterias con cada colorante, se midieron en cada tubo de ensayo las raíces se contabilizaron y se obtuvo el índice mitótico. (véase figura 11)



**Figura 11.** Bioensayos de la interacción las bacterias (*K. pneumoniae*, *S. typhi*, *E. coli* inactiva y *E. tarda*) con los colorantes (Azo y antraquinona) a diferentes concentraciones (100 y 200 ppm) con el bioindicador ajo (*Allium sativum*) (elaboración: Omar Enrique Ahuatzin Flores)

Se realizó la misma prueba para las muestras con pentaclorofenol a 25 ppm y de 100 ppm, ambas fueron tratadas con las bacterias *K. pneumoniae*, *S. typhi*, *E. coli* inactiva y *E. tarda*.

Los bulbos se sumergieron en la sustancia a estudiar, se secaron con papel toalla y se colocaron directamente en los diferentes tubos de ensayo llenos con los productos de la interacción de los colorantes textiles con las bacterias entéricas. El periodo de exposición de los bulbos en las diferentes concentraciones fue un tratamiento agudo (96 horas= 4 días), se midieron en cada concentración de cada bioensayo el tamaño y numero de raíces y se llevó a cabo el índice mitótico.

### 7.3.7. Tinción Aceto-orceína

Antes de realizar la tinción se cuentan el número de raíces y se mide su longitud, se cortaron 2 mm el meristemo apical y se fijaron en una solución alcohol-ácido acético (3:1) durante 24 horas, pasadas las 24 horas se retiraron de la solución de alcohol-ácido acético, los meristemos apicales se colocaron en etanol al 70% por 15 minutos, se coloca en HCl 5M durante 30 minutos, se eliminó el exceso de HCl decantándolo y se realizaron 3 lavados con agua destilada. Se agregó el colorante aceto-orceína por 40 minutos, pasado este tiempo se agregó el ácido acético al 45% para eliminar el excedente de colorante y se realizó proceso de aplastamiento en monocapa, posteriormente se observó al microscopio.

## VIII. RESULTADOS

### 8.1 Análisis microbiológico del agua residual textil

La primera prueba realizada al agua residual textil fue el análisis de la calidad microbiológica del agua, para ello se empleó la técnica de número más probable, el cual indica presencia de coliformes totales, fecales y *E.coli* en una muestra, para determinar positiva la muestra, se observa la presencia de gas en la campana Durham (figura 12). De acuerdo con la NMX-AA-042-SCFI-2015 se utiliza caldo lactosado para determinar la presencia de coliformes presuntivos, en el caso particular de muestra textil 1 y 2 ambas muestras fueron positivas, por lo cual se empleó el paso 2, el cual consiste en prueba de coliformes totales y *E. coli*, para ello se emplearon los caldos verde brillante bilis al 2% y el caldo *E.coli* respectivamente (figura 13). En la prueba de *E. coli* no presentó ninguna muestra positiva. En la prueba de coliformes totales se encontraron 3 tubos positivos. Los datos obtenidos en estas pruebas (véase tabla 4) fueron comparados con la NOM-250-SSA1-2014, la cual determina los límites permisibles de microorganismos para el uso y consumo de agua, con estos resultados se observó que el agua residual de industria textil no cumple con los estándares microbiológicos impuestos por la norma, ya que la cantidad de coliformes sobrepasa esos valores.



**Figura 12.** Tubos con caldo lactosado para determinar la presencia de coliformes. Imagen propia



**Figura 13.** Tubos con medio específico para determinar la presencia de coliformes totales y coliformes fecales. imagen propia

**Tabla 4. Comparación de datos obtenidos en la prueba de número más probable expresados en NMP/100/ml con la NOM-250.**

Prueba	Maestra 1	Muestra 2	NOM 250
Presencia de coliformes	>16 presuntivas	>16 presuntivas	
Coliformes totales	9 NMP	2 NMP	Ausencia
Coliformes fecales	<2 NMP	<2 NMP	Ausencia
<i>Escherichia coli</i>	<2 NMP	<2 NMP	Ausencia

. Tabla de elaboración propia

## 8.2 Aislamiento e identificación de microorganismos en el agua residual textil

En la muestra textil 1 se realizaron varias resiembras hasta purificar las cepas de interés y para su correcta identificación se emplearon pruebas bioquímicas tradicionales, la lectura se realizó con tablas de porcentaje, sin embargo, la muestra 2 fue tratada con el método alternativo. Al realizar esa metodología con la muestra textil 2, se logró obtener crecimiento de bacterias entéricas en medios como Mc Conkey, Cetrimida, LB, MB Y SS, permitiéndonos así su aislamiento y su correcta identificación con pruebas bioquímicas, la tabla 4 contiene el nombre de las bacterias que fueron aisladas e identificadas de cada muestra, como se observa, el tipo de enterobacterias encontradas en ambas muestras son muy similares ya que presenta poca variación, se podría decir que se encontraron el mismo tipo de bacterias en ambas muestras a pesar de ser obtenidas por diferentes metodologías. Este resultado podría ser debido a que las muestras fueron obtenidas de la misma industria, del mismo contenedor, donde emplearon los mismos procesos y materias

primas, por lo cual los microorganismos presentes serán similares debido a que no hay una variación en condiciones ambientales donde se desarrollan.

**Tabla 5. Bacterias aisladas de muestras de agua textil**

MUESTRA 1	MUESTRA 2
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Samonella gallinarum</i>
<i>Samonella gallinarum</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli inactiva</i>
<i>Edwardsiela tarda</i>	

### 8.3 Confirmación de especies bacterianas por sistema API 20E

Para confirmar la especie de las cepas bacterianas aisladas en este proyecto de investigación, se utilizó el sistema API 20E, el cual es consta de 20 pruebas bioquímicas (véase figura 14), fue determinado por colorimetría y con base a un criterio estandarizado por la empresa se forma un código, el cual se introdujo en un software y conforme a su base de datos muestra el nombre de la bacteria a la cual pertenece dicho código, corroborando así la identificación de las bacterias por métodos tradicionales.



**Figura 14.** Identificación bioquímica bacteriana mediante galería API 20E. Imagen propia

### 8.4 Obtención de viales para resguardo de cepas microbianas

Una vez obtenidas las cepas puras se procedió a la realización de los viales para su resguardo, para que las bacterias sean empleadas en el futuro en las pruebas de interacción, para ello se trabajó en la campana de flujo laminar con todos los materiales estériles, para asegurar que no sean contaminados, el crecimiento bacteriano en el medio LB, fue retirado cuidadosamente y se colocó en un vial con caldo LB glicerol 30%, se homogenizó y colocó a -20 °C para su preservación (figura 15).



**Figura 15.** Elaboración de viales microbiológicos. Imagen propia

### 8.5 Interacción de enterobacterias con colorante azoico azul solofenil

La interacción de las diferentes bacterias con el colorante azoico se llevó a cabo durante 10 días, se realizó un ensayo a concentraciones de 100 ppm y otro a 200 ppm. En la tabla 6 se resumen los resultados de la medición de la densidad óptica de cada interacción bacteriana con el colorante azul solofenil a 100 ppm.

**Tabla 6. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul solofenil a una concentración de 100 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil**

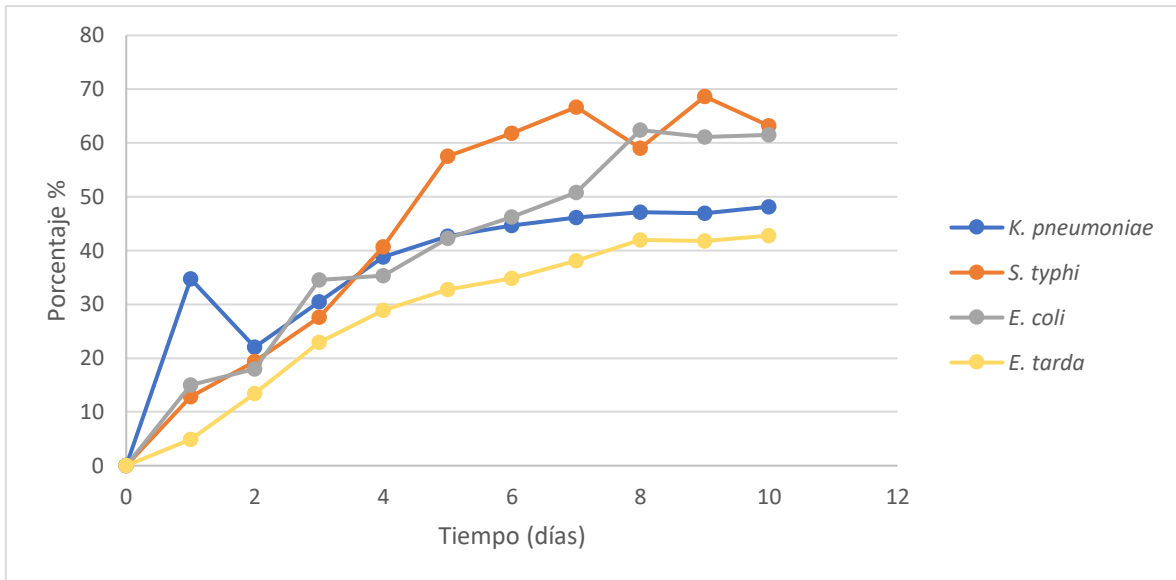
Día	Concentración: 100 ppm      Colorante: azul solofenil			
	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.typhi</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.tarda</i>
Control	0.632	0.660	0.616	0.590
1	0.412	0.575	0.523	0.561
2	0.493	0.532	0.505	0.511
3	0.439	0.478	0.403	0.455
4	0.386	0.391	0.398	0.419
5	0.362	0.280	0.355	0.396
6	0.350	0.252	0.331	0.384
7	0.340	0.220	0.303	0.365
8	0.334	0.270	0.231	0.342
9	0.335	0.207	0.239	0.343
10	0.327	0.243	0.237	0.337

En la tabla 7 se resumen los resultados de la medición de la densidad óptica de cada interacción bacteriana con el colorante azul solofenil a 200 ppm.

**Tabla 7. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul solofenil a una concentración de 200 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil**

	Concentración: 200 ppm Colorante: azul solofenil			
Día	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.typhi</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.tarda</i>
Control	1.242	1.280	1.251	1.199
1	1.145	1.087	1.032	1.001
2	1.088	1.044	1.036	0.960
3	0.994	0.943	0.942	0.872
4	0.980	0.890	0.927	0.771
5	0.923	0.883	0.888	0.806
6	0.910	0.842	0.869	0.793
7	0.956	0.799	0.852	0.773
8	0.898	0.784	0.815	0.711
9	0.933	0.791	0.813	0.617
10	0.945	0.779	0.828	0.602

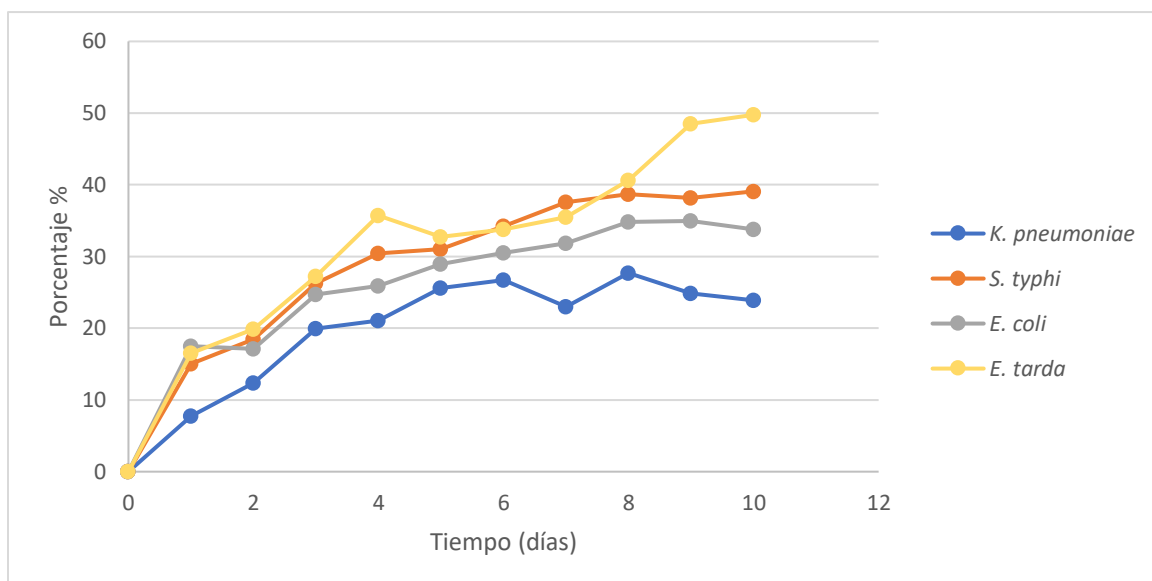
Las figura 16 muestra gráficamente los valores de remoción en porcentaje, demostrando lo ya descrito, en la gráfica 10 se observa como los porcentajes de remoción de todas las bacterias empleadas en los diferentes ensayos a 100 ppm de colorante azoico presentaron diferencias no muy grandes en sus porcentajes de remoción al final del ensayo, siendo *S. typhi* la bacteria que presentó un mayor porcentaje de remoción el cual es de 63%, seguida por *E. tarda* con un valor de 61%, *K. pneumoniae* con un valor de 48% y por ultimo *E. tarda* presentó un valor de remoción del 41% del colorante azoico.



**Figura 16.** Comparación de los porcentajes de remoción del colorante azoico azul solofenil a 100 ppm por cada una de las bacterias entéricas.

La figura 17 nos muestra los valores porcentuales de remoción de las bacterias empleadas en ensayos a 200 ppm del colorante azoico, donde se observa como todas las bacterias siguen una patrón de comportamiento similar, lo cual se ve reflejado en la tabla 5, sin embargo, hacia los últimos días del ensayo las bacterias comienzan a presentar diferencias en sus rendimientos, tal es el caso de *E. tarda*, la cual presentó un porcentaje final de 49%, seguida por *S. typhi* con un valor de remoción de 39%, *E. coli* con un valor porcentual de remoción 33% y por ultimo *K. pneumoniae* con un valor de 23% de remoción del colorante azoico.





**Figura 17.** Comparación de los porcentajes de remoción del colorante azoico azul solofenil a 200 ppm por cada una de las bacterias entéricas.

### 8.6 Interacción de bacterias con colorante de naturaleza antraquinona

De la misma forma se realizó la interacción de las diferentes bacterias entéricas aisladas de la muestra de industria textil con el colorante de naturaleza antraquinona azul erionyl A-R, el ensayo se llevó a cabo durante 10 días y se emplearon concentraciones de 100 ppm y 200 ppm. En la tabla 8 se resumen los resultados de la medición de la densidad óptica de cada interacción bacteriana con el colorante azul erionyl a 100 ppm, donde, se observa que aunque existe una gran homogeneidad en los resultados y hay muy poca variación, cabe destacar que esta interacción tuvo un comportamiento totalmente diferente con el colorante azoico azul solofenil, ya que mientras que con el colorante azoico se presentaba una disminución paulatina, en este ensayo con el colorante antraquinona sucedió lo contrario, se observa que en el día 1 (24 horas desde el inicio de la prueba) hubo una disminución abrupta de la absorbancia del colorante lo cual se puede ver con todas las bacterias y va aumentando conforme pasan los días, ya que como se puede observar existió una remoción casi total comparado los datos de la tabla 6, sin embargo, de la misma forma, se observa que los grupos tratados con las bacterias *E. tarda* y *E. coli* presentaron un aumento considerable en la medición de a densidad óptica.

**Tabla 8. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul erionyl a una concentración de 100 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil**

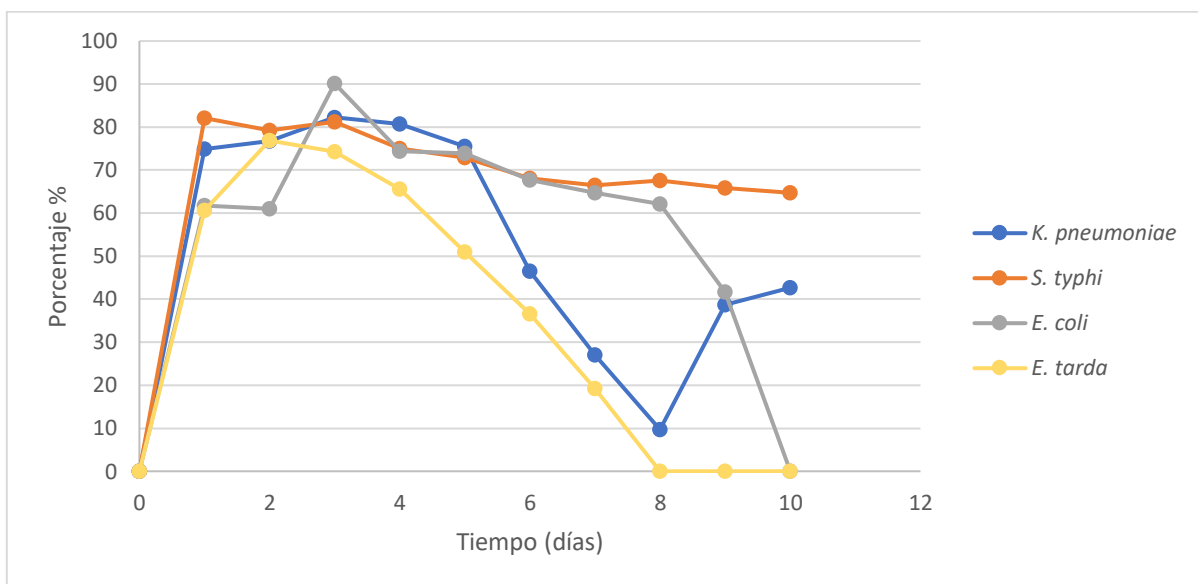
Concentración: 100 ppm		Colorante: azul erionyl		
Día	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.typhi</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.tarda</i>
Control	0.359	0.441	0.223	0.219
1	0.090	0.079	0.085	0.086
2	0.083	0.091	0.087	0.050
3	0.063	0.083	0.022	0.056
4	0.069	0.110	0.057	0.075
5	0.088	0.119	0.058	0.107
6	0.192	0.140	0.072	0.139
7	0.262	0.147	0.078	0.177
8	0.324	0.143	0.084	0.269
9	0.220	0.150	0.130	0.277
10	0.206	0.155	0.298	0.276

La remoción del colorante antraquinona azul eryonil a 200 ppm por cada una de las bacterias recuperadas del agua residual textil, fueron distintas a diferencia de la concentración a 100 ppm, esto es debido a que los valores de absorbancia de cada bacteria disminuyen paulatinamente conforme pasa el tiempo y no disminuyen tan repentinamente como sucede en el grupo antraquinona a 100 ppm, esto podría ser causado por la concentración del mismo (Tabla 9).

**Tabla 9. Densidad óptica ( $DO_{\lambda=630}$ ) registrada del colorante azul erionyl a una concentración de 200 ppm durante los días de interacción con cada una de las bacterias aisladas del agua textil**

Concentración: 200 ppm		Colorante: Azul eryonil		
Día	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.typhi</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.tarda</i>
Control	0.718	0.718	0.762	1.199
1	0.515	0.589	0.328	1.001
2	0.455	0.548	0.202	0.960
3	0.420	0.469	0.136	0.872
4	0.384	0.429	0.185	0.771
5	0.356	0.416	0.199	0.806
6	0.383	0.402	0.206	0.793
7	0.373	0.407	0.218	0.773
8	0.358	0.384	0.205	0.711
9	0.351	0.374	0.240	0.617
10	0.372	0.370	0.400	0.602

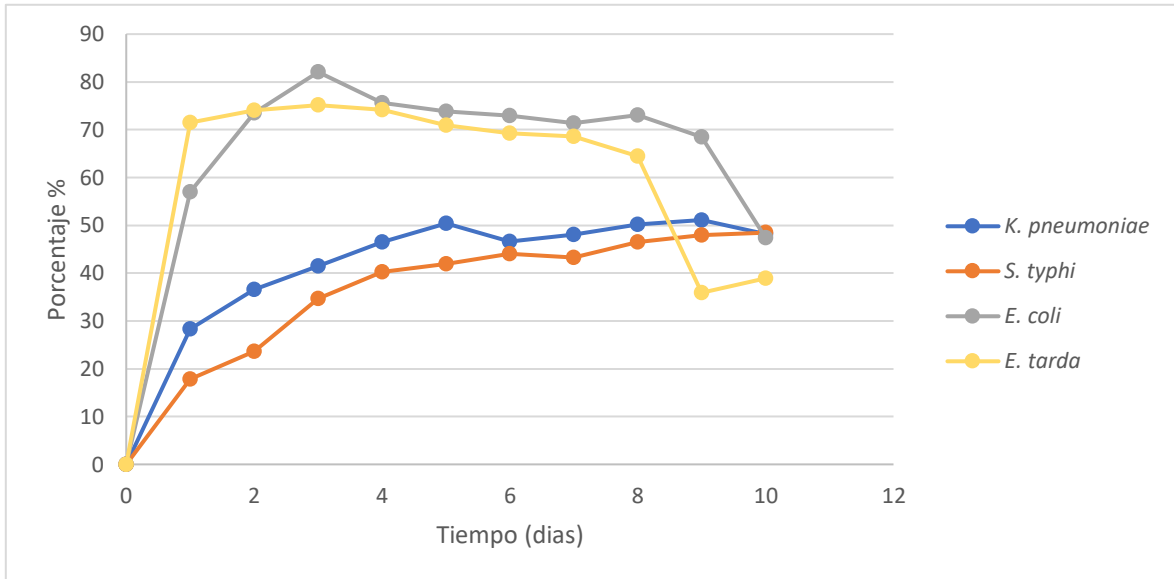
La comparación de los porcentajes de remoción del colorante antraquinona revelan que *S. typhi* presentó el mayor porcentaje de remoción llegando a un 80% seguido de *E. tarda* con 60% y *E. coli* con 61% , muy parecidos en cada bacteria, sin embargo, el comportamiento de la remoción fue en declive, teniendo a *E. tarda* y *E. coli* con un porcentaje semejante al porcentaje inicial (Fig. 18).



**Figura 18.** Comparación de los porcentajes de remoción del colorante antraquinona azul erionyl a 100 ppm por cada una de las bacterias entéricas.

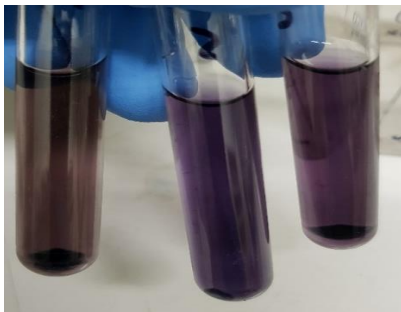
En la figura 19 se muestra el grafico de porcentaje de remoción que tuvo cada bacteria con el colorante antraquinona Azul Eryonil, es de destacarse que no se observó el mismo comportamiento que las concentración de 100 ppm, ya que, las bacterias *K. pneumoniae* y *S. typhi* no presentaron el comportamiento ya visto en concentración a 100 ppm donde, existe un elevado porcentaje de remoción en los primero días del ensayo, estas bacterias presentaron una remoción paulatina y moderada teniendo una remoción máxima de 48% en ambos casos, sin embargo, *E. tarda* y *E. coli* se observó que si siguieron el patrón previamente descrito, a las 72 horas de haber iniciado el ensayo, presentaron sus picos máximos de porcentaje de remoción siendo de 75% y 82% respectivamente, el cual fue disminuyendo

paulatinamente hasta el fin del ensayo, teniendo una remoción final de 38 % y 47%, estos valores fueron por debajo de *K.pneumoniae* y *S.typhi* las cuales tuvieron un porcentaje de remoción al fin del ensayo de 48% ambas.

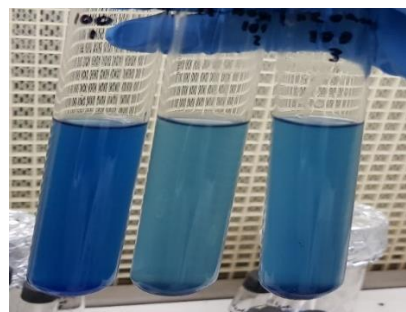


**Figura 19.** Comparación de los porcentajes de remoción del colorante antraquinona Azul Erionyl a 200 ppm por cada una de las bacterias entéricas.

Las figuras 20 y 21 son de la bacteria *S. typhi* al interactuar con los diferentes colorantes textiles, tanto el azoico como el antraquinona, se observa claramente como si se genera un cambio a nivel visual (coloración) por el efecto de la bacteria.



**Figura 21.** Remoción de colorante azoico por *S. typhi*



**Figura 20.** Remoción de colorante antraquinona por *S. typhi*

### 8.7 Ensayo genotóxico de colorantes textiles

En la realización de los ensayos toxicológicos con el agente tóxico (sustancia resultante de la interacción de la bacteria con el colorante textil) en contacto con el bioindicador *Allium sativum*, se observó que en los 64 grupos experimentales no hubo un crecimiento óptimo de la raíz, por lo cual se podía observar solo un pequeño brote (figura 22), sin embargo, el grupo control agua si presentó un crecimiento de su raíz (véase figura 23). Lo que demuestra la inhibición del crecimiento de las raíces como resultado de posible efecto tóxico de los colorantes textiles aun después del tratamiento bacteriano al que fue sometido, estos resultados pueden explicarse tomando en cuenta la forma en la que las bacterias obtenidas de la industria textil interactuaron con los colorantes, de la misma forma estos resultados macroscópicos sugieren que la bacteria no fue capaz de remover el colorante de forma efectiva.



**Figura 22.** *Allium sativum* con *S. typhi* a 100 ppm. Se observan brotes y no raíces después de 5 días de interacción



**Figura 23.** *Allium sativum* con grupo control agua. Se observan raíces después de 5 días de interacción

El estudio de índice mitótico, el cual arrojó resultados sobre el estadio celular que presento el modelo biológico después de estar en contacto con resultado de la interacción (sobrenadante) de los colorantes textiles tanto antraquinona como azoico.

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos del análisis de 64 mil células obtenidas de los diferentes brotes y raíces de los modelos biológicos empleados. Como se puede observar se realizó un análisis de 64 mil células

---

procedentes de los brotes y raíces de los grupos experimentales, se contabilizaron un total de 10 mil células procedentes de diferentes grupos experimentales y con ello se calculó el índice mitótico, al hacer una comparativa del grupo control agua con el grupo control colorante (el cual no estuvo en interacción con bacterias entéricas) y con los grupos experimentales se observa claramente como la distribución del conteo celular en el grupo control agua se inclinan hacia la fase mitótica, teniendo como predominante a la profase, su índice mitótico (célula en proceso de mitosis ) es de 64.9%, mientras que el grupo control colorante a 100 ppm tuvo una distribución normal. Llegando a un 70% de células en fase mitótica, sin embargo a 200 ppm tuvo un descenso considerable en el porcentaje de índice mitótico el cual fue de 22.7%, mientras que los grupos experimentales presentaron porcentajes menores al 60% en el mejor de los casos, en los casos normales varían de entre 1.2% a 22.7%, todo esto indica dos cosas, la primera que el porcentaje del índice mitótico si se ve afectado al estar en interacción con colorantes y con colorantes en interacción con bacterias, segundo, las bacterias no causaron un efecto en el porcentaje de Índice Mitótico. Los grupos presentes en la tabla que solo fueron analizados, pero no contabilizados se les colocó una marca (-) ya que en su gran mayoría de células analizadas se encontraban en estadio profase y no se podía calcular su índice mitótico debido a la falta de células en mitosis.

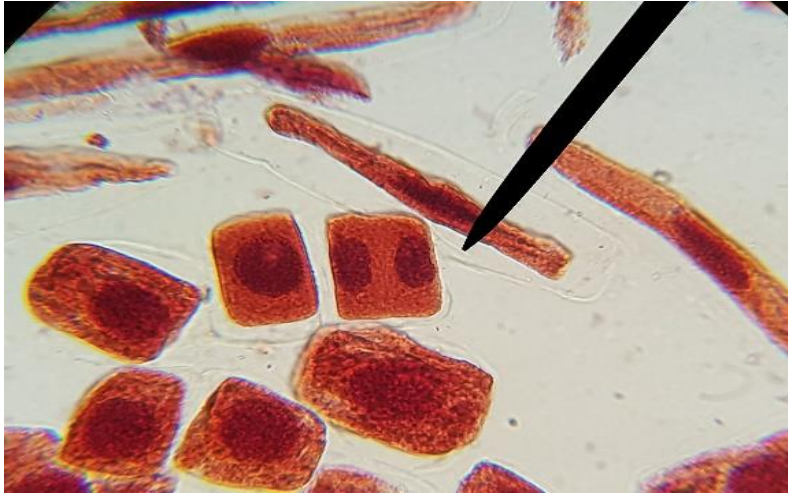


**Tabla 10. Frecuencias de células en división celular en los grupos controles y experimentales**

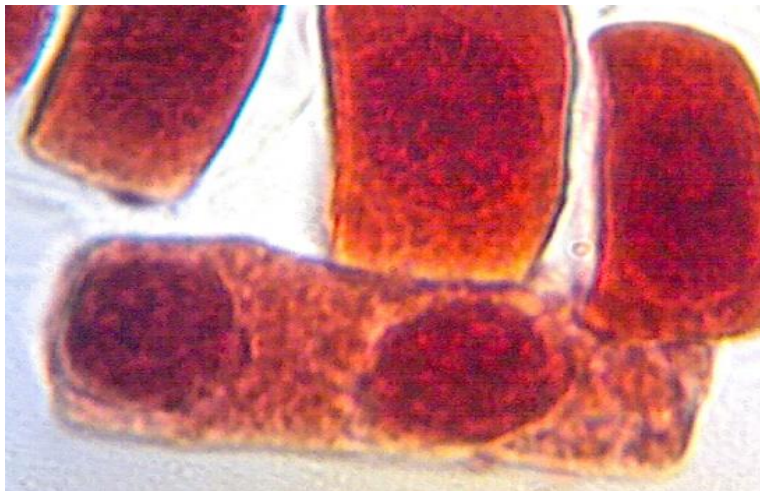
Bioensayos  Bacteria + colorante	Células en división por etapa del ciclo celular					Frecuencia de células en división	IM
	I	P	M	A	T		
Control agua	351	463	51	81	54	(649/1000)*100	64.9%
Control solofenil 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
Control solofenil 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-
Control erionyl 100 ppm	295	545	44	78	38	(705/1000)*100	70.5%
Control erionyl 200 ppm	773	160	27	22	18	(227/1000)*100	22.7%
<i>S. typhi</i> + solofenil 100 ppm	239	48	-	4	-	(52/1000)*100	5.2%
<i>S.typhi</i> + solofenil 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.typhi</i> + erionyl 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.typhi</i> + erionyl 200 ppm	978	-	2	-	10	(12/1000)*100	1.2%
Control agua	381	473	44	66	36	(619/1000)*100	61.9%
<i>K. pneumoniae</i> + solofenil 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> + solofenil 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> + erionyl 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> + erionyl 200 ppm	955	-	1	9	35	(45/1000)*100	4.5%
Control	512	411	12	38	27	(488/1000)*100	48.8%
<i>E. coli</i> + solofenil 100 ppm	481	322	43	75	79	(519/1000)*100	51.9%
<i>E. coli</i> + solofenil 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> + erionyl 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> + erionyl 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-
Control	311	507	52	82	48	689/1000)*100	68.9%
<i>E. tarda</i> +solofenil 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. tarda</i> +solofenil 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. tarda</i> + erionyl 100 ppm	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. tarda</i> + erionyl 200 ppm	-	-	-	-	-	-	-

Los resultados del análisis del Índice Mitótico demostraron lo siguiente: en la laminilla azul erionyl a 200 ppm tratada con *S. typhi* se obtuvieron resultados que demostraron que al analizar por el microscopio Leica a 40x (figura 24) y 100x (figura 25) se observó que, al contabilizar en 1000 células, el 100% de la población celular se encontraban en el estadio profase (Fig. 24) y en menor proporción en telofase (Fig.25) lo cual coincide con el escaso crecimiento de las raíces y en algunos casos no se observó crecimiento alguno. Por lo cual el resultado de la interacción con el

colorante altera la división celular y por ende inhibe el crecimiento de las raíz del ajo (*Allium sativum*)



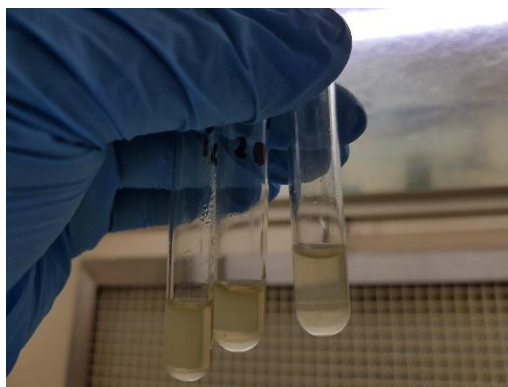
**Figura 24.** Fase profase del grupo experimental *S. typhi* 200 ppm azul erionyl, tinción aceto orceína 40x (microscopio standard 25ZEISS)



**Figura 25.** Fase telofase del grupo experimental *S. typhi* 200 ppm azul erionyl, tinción aceto orceína 100x (microscopio standard 25ZEISS)

### 8.8 Interacción de bacterias con Pentaclorofenol

Se realizó la interacción del pentaclorofenol (PCF) con las diferentes bacterias aisladas, después de los 5 días de interacción (véase imagen 26), se guardó el sobrenadante resultante para un estudio espectrofotométrico y toxicológico, con la finalidad de conocer si el pentaclorofenol ha sido removido por las bacterias entéricas y el ensayo toxicológico es para conocer el grado de toxicidad de esta sustancia después del tratamiento y si existe una remoción total o parcial de pentaclorofenol.



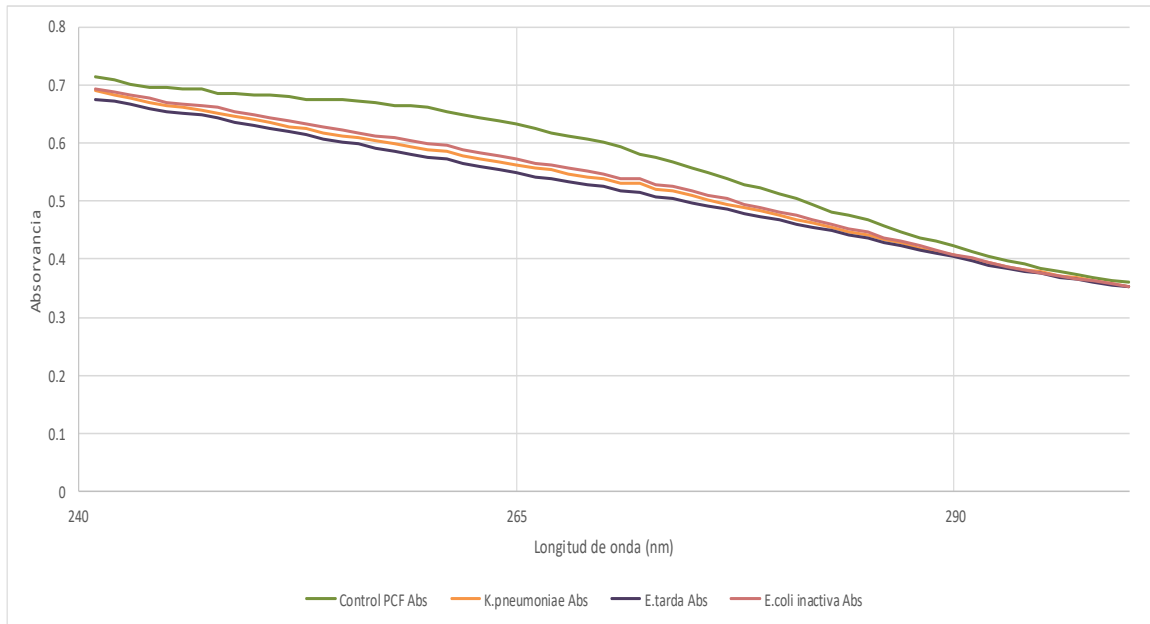
**Figura 26.** Interacción con PCF por *S. typhi*. Imagen propia

### 8.8 Ensayo espectrofotométrico de pentaclorofenol

Al concluir la interacción del pentaclorofenol con las diferentes bacterias obtenidas de la industria textil, se procedió a realizar un análisis espectrofotométrico, el cual brindó información de la presencia de pentaclorofenol en el sobrenadante de la interacción previamente mencionada. Se emplearon 3 concentraciones las cuales fueron, 25 ppm, 50 ppm y 100 ppm.

La absorbancia vs la longitud de onda de la muestra a 25 ppm se observa en el grupo control la muestra de color verde por el grupo control pentaclorofenol, de color naranja el grupo *K. pneumoniae*, de color gris el grupo tratado con *E. tarda* y por último el grupo de *E. coli inactiva*. El pentaclorofenol se absorbe a una longitud de onda aproximada de 268 nm (47) y como se observa en la figura 27 aproximadamente a esa longitud de onda se observa una pequeña banda de

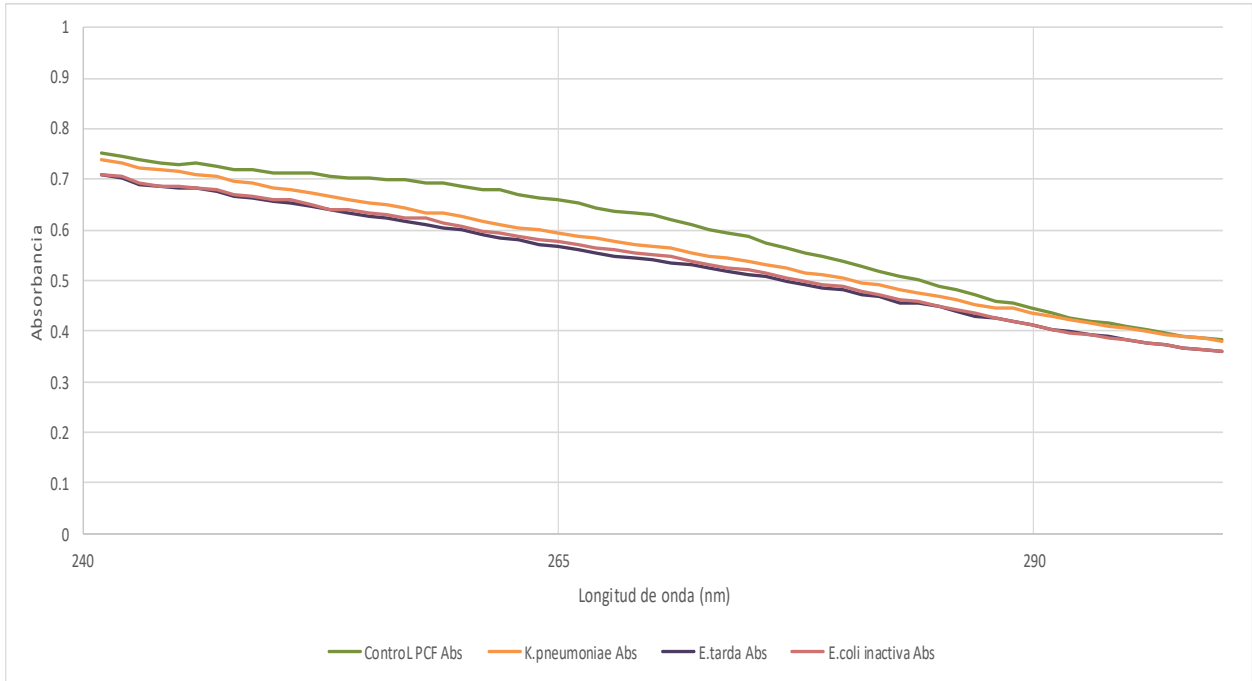
absorción característica de PCF, como se observa el grupo control está por encima de los otros tres grupos, por lo cual al comparar los grupos bacterianos se puede observar una pequeña disminución en la absorbancia, lo que podría sugerir que la interacción de dicha sustancia con las bacterias generó una remoción o un cambio en la estructura del PCF lo que se traduce un cambio en el gráfico.



**Figura 27.** Comparación de las absorbancias de los diferentes tratamientos de PCF con bacterias entéricas a una concentración de 25 ppm.

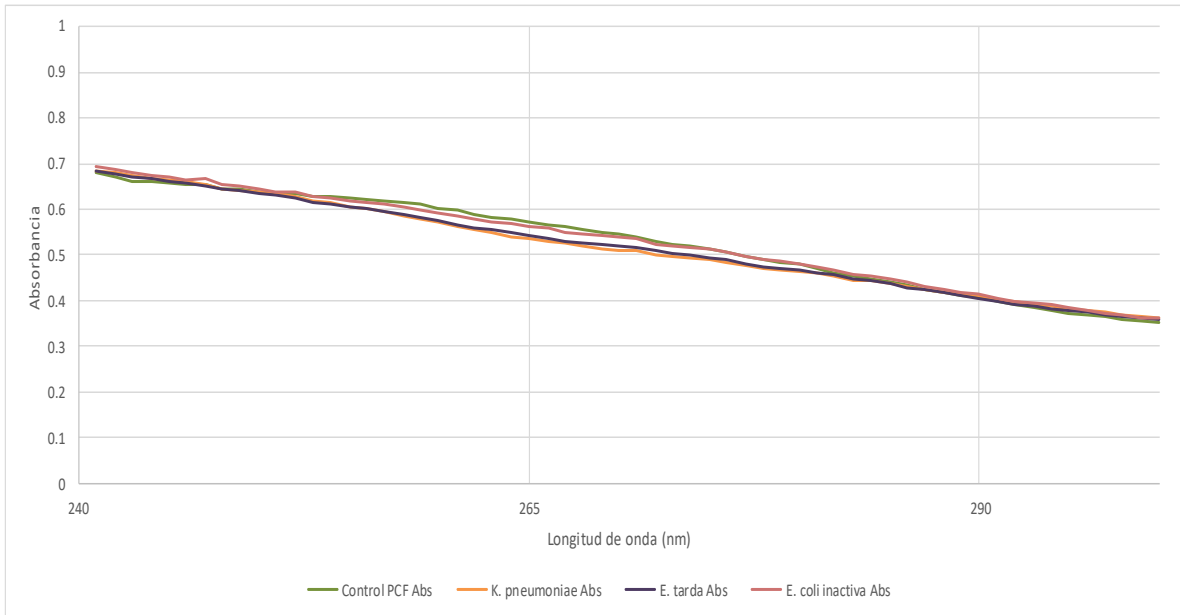
Caso similar sucede con las muestras de PCF a 50 ppm tratadas por los tipos de bacterias, lo cual se muestra en la figura 28, donde se observa el mismo comportamiento de los grupos experimentales bacterianos con relación al grupo control. En el grafico se observa de color verde el grupo control, el cual muestra la banda donde se absorbe normalmente el pentaclorofenol, de color amarillo se observa el comportamiento que tiene el sobrenadante resultante obtenido después de la interacción de la bacteria *K. pneumoniae* con PCF, de color morado resultado del sobrenadante de interacción de *E. tarda* con PCF y por último de color naranja el comportamiento que presentó la interacción de *E. coli* con PCF, se aprecia que en los grupos experimentales hubo una ligera disminución en la banda característica

de PCF, lo que es indicio de una disminución en la concentración de dicha sustancia.



**Figura 28.** Comparación de las absorbancias de los diferentes tratamientos de PCF con bacterias entéricas a una concentración de 50 ppm.

Por último, se presenta la figura 29 donde se muestra el comportamiento de los grupos experimentales expuestos a una concentración de 100 ppm de PFC. En este ensayo se observa claramente que el tratamiento no ha surtido efecto debido a que las líneas de tendencia de cada uno de los grupos experimentales están encima de la línea de tendencia del grupo control, lo que indica que los valores de pentaclorofenol siguen siendo los mismos y aún hay presencia de esta sustancia en el medio, lo cual es completamente diferente a los grupos experimentales de 25 ppm y de 50 ppm en los cuales se logró observar una disminución en la en el área donde se localiza el PCF (268 nm) en la zona donde se presenta el pentaclorofenol.



**Figura 29.** Comparación de las absorbancias de los diferentes tratamientos de PCF con bacterias entéricas a una concentración de 100 ppm.

### 8.9 Ensayo genotóxico de pentaclorofenol

La realización del ensayo toxicológico del pentaclorofenol se llevó a cabo solo a dos concentraciones, las cuales fueron a 50 ppm y 100 ppm, los resultados de estos estudios se logran observar en las figuras 30 y 31, en la figura 30 se observa la siembra del biomodelo *Allium sativum*, con el resultado de la interacción de las bacterias entéricas empleadas en el experimento anterior, cada grupo experimental constaba de 2 repeticiones, un grupo control agua, un grupo control PCF y un grupo control caldo de nutrientes. En la imagen 31, se observa el día 5 de ensayo toxicológico, sin embargo, en cada uno de los grupos experimentales sin importar la concentración ni la bacteria no presentaron el crecimiento de la raíz ni de un brote, caso contrario de lo que se observó en los grupos control agua y control caldo



**Figura 30.** Siembra de *Allium sativum* con pentaclorofenol.



**Figura 31.** Día 5 de ensayo toxicológico de pentaclorofenol a 50 y 100 ppm tratado con *E.coli*



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 9.1 Interacción bacteriana con los colorantes textiles

De acuerdo con los primeros resultados obtenidos, se aislaron diferentes cepas bacterianas de la industria textil, las cuales son pertenecientes a los géneros *Proteus*, *Salmonella*, *Klebsiella* y *Escherichia*, al comparar los resultados de análisis espectrofotométrico de las diferentes interacciones con los diferentes colorantes textiles al ser tratados con las bacterias encontradas en la industria textil se demostró que lograron disminuir la cantidad de colorante azoico y antraquinona a sus diferentes concentraciones, teniendo excelentes resultados a una concentración de 100 ppm, sin embargo, en los grupos azoicos se observó un menor rendimiento comparado con el grupo antraquinona a 100 ppm, donde en el rango de remoción era entre un 40 a un 70 % para el grupo azoico, mientras que el grupo antraquinona tienen valores que van de 40 a 90% de remoción, caso contrario al que se presentó a 200 ppm donde se observó una disminución importante comparados con los grupos de 100 ppm, en el grupo de azul solofenil hubo una remoción entre 25 a 50% mientras que en el grupo de azul erylónil se presentó una remoción de 50- 80%, estos resultados son muy similares a los reportados por diferentes investigadores que implementaron microorganismos ya sea bacterias u hongos para lograr una remoción efectiva de un colorante textil, como la presentada por González (84) donde logró decolorar un colorante azoico por medio de un consorcio bacteriano o los presentados por Tony y cols.(85) en el cual emplearon diferentes consorcios bacterianos en un reactor para poder degradar colorantes azoicos, logrando excelentes resultados. Sin embargo, no solo se han empleado bacterias en consorcios para lograr esta remoción, un ejemplo más es el estudio presentado por Jadhav (51) donde emplearon un consorcio bacteriano y no solo lograron remover el colorante sino también lograron disminuir la toxicidad generada por este colorante en un 30%. Como se observó en los resultados obtenidos en esta investigación si se presentó una decoloración sin embargo aún no se sabe con certeza si fue a causa de enzima azoreductasa como en las investigaciones presentadas anteriormente o si esta decoloración fue causada por una ruta diferente como la absorción (62) o si esta decoloración se dio por algún efecto ambiental o

---

químico presente en la prueba como podría ser el efecto de la luz, efecto de la temperatura, pH, etc. Sin embargo, para poder corroborar y apoyar estos resultados se realizó un estudio genotóxico.

Cabe destacar el comportamiento que presento la gráfica de cada una de las concentraciones del colorante, el cual ayuda a formar una idea de cómo la bacteria esta interactuando con el colorante, en el grupo experimental azul solofenil a 100 y 200 ppm tiene una tendencia de menor a mayor remoción y de forma paulatina llegado a su máxima remoción al día 10, mientras que en el azul erylónil a 100 ppm tuvo un comportamiento totalmente diferente, teniendo una remoción máxima a los 48-72 horas de iniciado el experimento con una tendencia de disminuir esta coloración de forma paulatina avanzado el experimento, sin embargo, el caso más curioso se presentó a 200 ppm con el colorante azul erylónil, el cual las bacterias *E. coli* y *E. tarda* obtuvieron una tendencia de comportamiento de mayor a menor decoloración conforme avanza el tiempo, pero las bacterias *S. typhi* y *K. pneumoniae* presentaron el comportamiento contrario teniendo comportamiento de menor a mayor remoción conforme pasa el tiempo, este comportamiento podría explicarse con la presencia de la enzima azoreductasa, la cual podría ir degradando el colorante poco a poco, lo que se traduce en el comportamiento grafico donde la degradación se realiza de forma gradual y paulatina de menor a mayor, y en el caso de los grupos antraquinonicos este comportamiento de degradación paulatina de mayor a menor se daría por un mecanismo o ruta diferente empleada por la bacteria, la cual podría absorber o adsorber el colorante generando así la remoción tan alta a las primeras 72 horas para posteriormente expulsar el colorante paulatinamente ya que la bacteria no lo puede asimilar (62,64). Sin embargo, en la literatura este comportamiento no ha sido descrito por ningún investigador así que es complicado dar una explicación a este tipo de comportamiento ya que, no ha sido investigado con estas bacterias o similares y generalmente se emplean bacterias en consorcio y no de forma individual como en el presente proyecto.

Por último, cabe destacar que todos los datos de remoción del color no tendrían tanta relevancia si el examen toxicológico sale alterado, ya que, el punto

---

de este proyecto es poder remover los colorantes textiles sin la generación de subproductos de degradación como las aminas aromáticas, lo cual ha sido ampliamente reportado cuando las bacterias contienen la enzima azoreductasa y son más tóxicas que el colorante en sí (62,64,66).

## 9.2 Ensayo genotóxico de los colorantes textiles

Los datos obtenidos del ensayo genotóxico con el biomodelo *Allium sativum* demostraron en el análisis macroscópico una disminución del desarrollo de las raíces del biomodelo al interactuar con los colorantes textiles, de los 64 grupos experimentales, los grupos control (colorante+ caldo de nutrientes) y con los grupos experimentales (colorante textil+ caldo de nutrientes+ bacteria) presentaron un bajo desarrollo, lo que dio como resultado la presencia de brotes de raíz y no hubo presencia de tallo, sin embargo, los grupos control agua presentaron un desarrollo normal de las raíces y algunos casos hubo la presencia de tallo en la parte superior del biomodelo con las cuales se realizó la comparativa. Para corroborar los datos se analizaron 1000 células de cada grupo experimental, teniendo un total de 64 mil células analizadas, con la finalidad de conocer los efectos a nivel celular de los colorantes y si el tratamiento con bacterias generó algún cambio notorio disminuyendo los efectos tóxicos del colorante, sin embargo, de las 64 mil células analizadas solo se contabilizaron un total de 10 mil pertenecientes tanto a grupos experimentales (4 mil), grupos control colorante (2 mil) y grupos control agua (4 mil), debido a que en los demás grupos la cantidad de células en el estadio de interfase era predominante, en valores porcentuales superaban el 95 % de células en esta fase y las células en un estadio mitótico (profase, metafase, anafase, telofase) era escasas o muchas veces inexistentes.

En los resultados del índice mitótico realizado en estos mostraron valores interesantes, en los grupos control agua se observó un rango de entre 48-64% de células en mitosis y un crecimiento normal de la raíz en el biomodelo, en los grupos control colorante a 100 ppm se observa un valor cercano al 70 % de células en mitosis, sin embargo, el tallo no era muy grande, el grupo control colorante a 200

---

ppm tuvo un porcentaje de 22% de células en mitosis y los grupos experimentales estuvieron en rango de 1.2 a 51 % de células en mitosis. Exceptuando al grupo tratado con *E. coli* a 100 ppm que parece estar en un estándar normal aunque también presento brote y no raíz, se podría decir que el colorante textil tanto azoico como antraquinona son tóxicos ya que están causando una disminución de células en mitosis, el cual es el proceso por el cual se generan células nuevas y en si es por qué se desarrolla este biomodelo, al inhibir la mitosis está inhibiendo el correcto desarrollo y por ende le está causando daño (86,87,88), en los grupos que fueron tratados con estas bacterias entéricas no presentaron una diferencia significativa comparadas con los grupos control, y que el índice mitótico presenta muchas células en estadios de interfase, además se observa de forma macroscópica que no hubo un desarrollo de raíz, esto se podría deber a dos razones primordiales; la primera es que el colorante textil no fue totalmente removido por las bacterias generando así el efecto toxico ya descrito o el segundo caso, las bacterias lograron biotransformar a los colorantes azoicos y se generaron las aminas aromáticas como subproducto de degradación y por ende se generó la inhibición de la mitosis y alteración del ciclo celular (89,90,91).

Estos datos son similares a los encontrados por varios investigadores, los cuales determinaron que los colorantes textiles encontrados en efluentes contaminados generan daños a las células, generando aberraciones cromosómicas, formación de micronúcleos, inhibición de la mitosis y alteraciones al ciclo celular, además de forma macroscópica se observa alteraciones en el tamaño y forma de las raíces del biomodelo empleado, ya sea ajo, cebollín o lechuga, además de la gran dificultad de tratar estos colorantes sin que exista la presencia de aminas aromáticas las cuales generan mayor toxicidad que el colorante en sí.(92,93,94)

### 9.3 Ensayos de interacción bacteriana con PCF y ensayo genotóxico.

Por último los datos obtenidos del pentaclorofenol al interaccionar con las bacterias, después de realizar el análisis espectrofotométrico, se observó una

---

disminución en los grupos de 25 y 50 ppm tratados con bacterias en la banda de absorción donde se encuentra reportado la presencia de pentclorofenol (268 nm), sin embargo en la concentración de 100 ppm se nota sin modificación alguna, esto podría ser un indicio de que el pentaclorofenol está siendo afectado por los tratamientos dados con las diferentes bacterias entéricas empleadas, sin embargo, al realizar el estudio toxicológico, se observó que no hubo presencia de brotes ni raíz, el pentaclorofenol inhibió el crecimiento de raíces en comparación con el grupo control (Figura 25 y 26).

Por consiguiente, las bacterias posiblemente estén removiendo cierta cantidad de pentaclorofenol, pero aun así los subproductos son tóxicos, por ende, el tratamiento no está funcionando de la manera adecuada.

## X. CONCLUSIONES

- Del agua residual textil se lograron aislar 4 cepas bacterianas autóctonas, pertenecientes al género: *Proteus*, *Salmonella*, *Klebsiella* y *Escherichia*, cada microorganismo fue capaz de remover los colorantes textiles.
- Las bacterias removieron el colorante azul Solofenil (azo) de un 25% a un 70% y el colorante azul erylil (antraquinona) de un 40% a un 90%.
- Los colorantes textiles utilizados en el estudio generaron una inhibición en el ciclo celular, lo cual se puede ver reflejado en los distintos ensayos, donde, los grupos control obtuvieron un crecimiento óptimo, mientras que los grupos experimentales los cuales están expuestos con el colorante no presentaron crecimiento de raíces. Solo los grupos tratados con agua tuvieron un correcto desarrollo a nivel de raíz.
- El análisis en el microscopio corrobora los datos macroscópicos ya que se observa una proliferación anormal de células en fase interfase en los grupos experimentales, mientras que en los controles se observan células en los diferentes estados mitóticos lo cual coincide con el crecimiento de las raíces

## XI. LITERATURA CITADA

1. Martínez, A. C., Olivares, C. C., Lozada, A. E., & Ramírez, C. G. (2014). Contaminación generada por colorantes de la industria textil. *Vida Científica Boletín de la Escuela Preparatoria No. 4*, 2(3).
2. SEMARNAT (2014). El medio ambiente en México. Consulta:16 de octubre de 2017 Disponible en: [http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe\\_resumen14/06\\_agua/6\\_2\\_3.html](http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_3.html)
3. Vilaseca Vallvé, M. M. (2015). Eliminación del color de las aguas residuales procedentes de la tintura con colorantes reactivos (Tesis doctoral). Barcelona, España p 42
4. Garcés Giraldo, L. F., Hernández Ángel, M. L., Peñuela Mesa, G. A., Rodríguez Restrepo, A., & Salazar Palacio, J. A. (2005). Degradación de aguas residuales de la industria textil por medio de fotocatalisis. *Revista Lasallista de Investigación*, 2(1).
5. Ghaly, A. E., Ananthashankar, R., Alhattab, M. V. V. R., & Ramakrishnan, V. V. (2014). Production, characterization and treatment of textile effluents: a critical review. *J Chem Eng Process Technol*, 5(1), 1-18 Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/7596/0e29362054da2e596da43372ff830de73958.pdf>  
a. Doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7048.1000182>
6. Kant, R. (2012). Textile dyeing industry an environmental hazard. *Natural science*, 4(1), 22-26
7. Colotta, G. S. (2003). Tratamiento fisicoquímico de aguas residuales de la industria textil. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 6(2), 64-71
8. SEMARNAT. (2013). Capítulo 06 Agua. En SEMARNAT (Ed.), Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental (pp. 257-316). Recuperado de [http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe\\_12/pdf/Cap6\\_agua.pdf](http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/pdf/Cap6_agua.pdf)
9. UNESCO. (2007). Agua para todos, agua para la vida. Recuperado de <http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001494/149406s.pdf>
10. GREENPEACE. (2012). Ríos tóxicos. Obtenida 16 de noviembre de 2017, de [http://www.greenpeace.org/mexico/global/mexico/report/2012/rios\\_toxicos.pdf](http://www.greenpeace.org/mexico/global/mexico/report/2012/rios_toxicos.pdf)
11. Guerrero Porras, L., Serna, E., Cardona Gallo, S., Cadavid-Restrepo, G., Suárez, C., & Quintero-Rendón, L. (2014). Microbial consortium native catalytically active for removal of indigo and surfactants in textile industry wastewater through an immobilization matrix. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(1), 177-187. Recuperado de: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752014000100022&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752014000100022&script=sci_arttext&tlng=en)
12. SEECO. (n.d.) Textil y vestido. Obtenida 16 de noviembre de 2017, de <http://www.2006-2012.economia.gob.mx/economia-para-todos/abc-de-economia/mercado-interno/365-textil-y-vestido>
13. Bonilla y Fernández, M. N., Silva Gómez, S. E., Cabrera Maldonado, C., & Sánchez Torres, R. C. (2013). Calidad del agua residual no entubada vertida por dos parques industriales en la ciudad de Puebla, México. *RIDE Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*, 4(7). Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/4981/498150315001/>
14. Salinas Juárez M.G. (2011). Evaluación de un sistema de biofiltración y humedal para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil. Universidad Autónoma de México. Recuperado de: <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/4561/Tesis.pdf?sequence=1>
15. SEDEMA (2013). Reportes de platas de tratamiento de aguas residuales. México. Distrito Federal. Obtenido el 28 de noviembre de 2017, <http://www.cms.sedema.cdmx.gob.mx/storage/app/media/Reporte%20PTAR%202013.pdf>
16. SEMARNAT (2014). 6.2.1 Calidad el agua. México. Obtenido 26 de noviembre de 2017, recuperado de [http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe\\_resumen14/06\\_agua/6\\_2\\_1.html](http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_1.html)
17. CONAGUA, (2017). Monitoreo de la calidad del agua. Obtenido 26 de noviembre de 2017, recuperado de <http://files.conagua.gob.mx/transparencia/CalidaddelAgua.pdf>

18. Rodríguez- Tapia, L., Morales- Novelo, J.A. (2011). Contaminación e internalización de costos de la industria textil, SOCIOTAM. Revista Internacional de Ciencias Sociales y Humanidades. 21(1). 143-169. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/654/65421407008.pdf>
19. De la Peña, M. E., Ducci, J., & Zamora Plascencia, V. (2013). *Tratamiento de aguas residuales en México*. Inter-American Development Bank. Recuperado de <https://publications.iadb.org/bitstream/handle/11319/5931/Tratamiento%20de%20aguas%20residuales%20en%20M%C3%A9xico.pdf?sequence=4>
20. Zanoni, M. V. B., & de Oliveira, D. P. (2013). Textile dyes: dyeing process and environmental impact. In *Eco-friendly textile dyeing and finishing*. InTech. Obtenido de: <https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/41411.pdf> doi: <http://dx.doi.org/10.5772/53659>
21. Salcedo Martínez, S. M. (2009). *Caracterización de la actividad decolorante de cepas de basidiomicetos nativas sobre colorantes sintéticos* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León). Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2022/1/1080179426.pdf>
22. Rawat, D., Mishra, V., & Sharma, R. S. (2016). Detoxification of azo dyes in the context of environmental processes. *Chemosphere*, 155, 591-605. Obtenido de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516305422>
23. Arroyo Figueroa G. (2011). Caracterización fisicoquímica de una fibra de algodón teñida con grama carmín (*Dactylopus coccus* Costa) y tratabilidad biológica de las aguas residuales generadas en el proceso. (Tesis doctoral). Centro de Investigación en materiales avanzados S.A. Chihuahua. Obtenido de: <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/359/1/Tesis%20Gabriela%20Arroyo%20Figueroa%20.pdf>
24. Parra Ortega V.P. (2004). Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde un punto de vista funcional y toxicológico (Tesis de pregrado). Universidad Austral. Chile
25. Barrios-Ziolo, L. F., Gaviria-Restrepo, L. F., Agudelo, E. A., & Cardona-Gallo, S. A. (2015). Technologies for the removal of dyes and pigments present in wastewater. A review. *Dyna*, 82(191), 118-126.
26. Chequer, F. M. D., de Oliveira, G. A. R., Ferraz, E. R. A., Cardoso, J. C.,
27. Singh, R. L., Singh, P. K., & Singh, R. P. (2015). Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes—A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104, 21-31. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830515001572>
28. Garcés Giraldo, L. F., Hernández Ángel, M. L., Peñuela Mesa, G. A., Rodríguez Restrepo, A., & Salazar Palacio, J. A. (2005). Degradación de aguas residuales de la industria textil por medio de fotocatalisis. *Revista Lasallista de Investigación*, 2(1). Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/695/69520103/>
29. Song, L., Shao, Y., Ning, S., & Tan, L. (2017). Performance of a newly isolated salt-tolerant yeast strain *Pichia occidentalis* G1 for degrading and detoxifying azo dyes. *Bioresource Technology*, 233, 21-29. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417301888> doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.065>
30. Govindwar, S. P., Kurade, M. B., Tamboli, D. P., Kabra, A. N., Kim, P. J., & Waghmode, T. R. (2014). Decolorization and degradation of xenobiotic azo dye Reactive Yellow-84A and textile effluent by *Galactomyces geotrichum*. *Chemosphere*, 109, 234-238. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.009>
31. Garzón Jiménez, R.C. (2009). Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibra de Agave Tequilana Wabber var. Azul. Instituto Politécnico Nacional (México). Recuperado de: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis217.pdf>
32. Chequer, F. M. D., de Oliveira, G. A. R., Ferraz, E. R. A., Cardoso, J. C., Zanoni, M. V. B., & de Oliveira, D. P. (2013). Textile dyes: dyeing process and environmental impact. In *Eco-*

- friendly textile dyeing and finishing*. InTech. Disponible en: <https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/41411.pdf>
33. Zaharia, C., & Suteu, D. (2012). Textile organic dyes—characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents—a critical overview. In *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention-Environmental and Analytical Update*. InTech. Disponible en: <https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/29369.pdf>
34. Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., & Govindwar, S. P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42(1), 138-157. doi:10.1016/j.jtice.2010.06.006
35. López Martínez, N. A. (2011). Mineralización del colorante Azo amarillo ácido 36 usando el proceso fotoelectro-fenton en una planta piloto solar. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León. Recuperada de: <http://eprints.uanl.mx/2532/1/1080223864.pdf>
36. Sol Narvarte M.(2014). Procesos avanzados de oxidación química y biológica combinados, aplicados a la degradación del colorante auramina o y a la reducción de la contaminación acuática.(Tesis docotral).
37. Segundo G.(1998). Pigmentos Naturales. San Marcos, Perú. UNMSM. Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?id=dYmFO6lpsmsC&pg=PA71&dq=las+antraquinonas+constituyen+el+grupo+mas+numeroso+de+las+quinonas+naturales&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjxw6CRpPnjAhUIqK0KHa1BBmEQ6AEIKTAA#v=onepage&q&f=false>
38. Narváez-Ortíz, W. A., Benavides-Mendoza, A., Vázquez-Badillo, M. E., & Cabrera-De la Fuente, M. (2014). Efecto de la aplicación de lodos crudos de la industria textil en la productividad y en la composición química de lechuga (*Lactuca sativa*). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(4), 379-391. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992014000400006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000400006)
39. Montenegro Puga, J.P., (2010). Evaluación de la disminución de concentración de fenol en agua sintética por medio de dos consorcios bacterianos nativos, aerobio y anaerobio facultativo, a nivel de laboratorio, para su aplicación futura en la biorremediación de efluentes textiles. Escuela politécnica del ejército. Salgoquí, Ecuador. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2629/1/T-ESPE-030040.pdf>
40. Huachi, L., Macas, Á., & Méndez, G. (2014). Biodegradación de los fenoles presentes en el extracto de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y en los colorantes índigo carmín, naranja ii y rojo fenol a través de *Trametes versicolor* Y *Aspergillus niger*. *La Granja*, 20(2), 29-35.
41. Huerta Aguilar, C.A. (2011). Degradación de compuestos aromáticos por medio de dióxido de cloro y sus análisis comparativos. Universidad Autónoma de México. México. Disponible en: <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/4558/tesis.pdf?sequence=1>
42. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008). Toxicological Profile for Phenol. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Unites States. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp115.pdf>
43. Almendares Bonilla, J.A. (1966). Estudio metabólico comparativo del pentaclorofenol y la tiroxina. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Honduras. Disponible en : <http://www.bvs.hn/TMH/pdf/TMH9/pdf/TMH9.pdf>
44. Morales, I. C., & Pazos, C. B. (1998). Pentaclorofenol: toxicología y riesgos para el ambiente. *Madera y Bosques*, 4(2), 21-37.
45. Atenodoro Alonso J.(2018). Generación de capacidades para la adopción de alternativas más seguras al uso de pentaclorofenol. Instituto Nacional de Ecología Y Cambio Climático (INECC). Ciudad de México. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/435262/PCP\\_Reporte\\_final\\_Contrato\\_INECC-RPAD-005-2018\\_2.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/435262/PCP_Reporte_final_Contrato_INECC-RPAD-005-2018_2.pdf)
46. Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-1997. Diario oficial de la federación. Disponible en <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/1055/SEMARNA/SEMARNA.htm>

47. Silva, P., & Manganiello, L., & Mendoza, N., & Vega, C. (2013). Método rápido para la determinación de fenol y pentaclorofenol en agua potable mediante HPLC con detección UV. *Revista INGENIERIA UC*, 20 (3), 79-86.
48. Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública (CSDR), Servicio de Sanidad Ambiental. (2007). Riesgo químico - accidentes graves Fenol. Región de Murcia: Europa. Disponible en: <https://escalante.files.wordpress.com/2010/02/toxicologia-fenol1.pdf>
49. United States Environmental Protection Agency (EPA) (2016). U.S. Environmental Protection Agency Washington D. C., Estados Unidos. Recuperado de: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/pentachlorophenol.pdf>
50. United States Environmental Protection Agency (EPA) (2010). U.S. Environmental Protection Agency Washington D. C., Estados Unidos. Recuperado de: [https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris\\_documents/documents/toxreviews/0086tr.pdf](https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0086tr.pdf)
51. Jadhav, J. P., Kalyani, D. C., Telke, A. A., Phugare, S. S., & Govindwar, S. P. (2010). Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals, and toxicity from textile dye effluent. *Bioresource Technology*, 101(1), 165-173. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409010554>
52. Álvarez, M. S., Moscoso, F., Rodríguez, A., Sanromán, M. A., & Deive, F. J. (2013). Novel physico-biological treatment for the remediation of textile dyes-containing industrial effluents. *Bioresource technology*, 146, 689-695. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413012054>
53. Joshi, S. M., Inamdar, S. A., Telke, A. A., Tamboli, D. P., & Govindwar, S. P. (2010). Exploring the potential of natural bacterial consortium to degrade mixture of dyes and textile effluent. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(7), 622-628. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096483051000137X>
54. Guerrero Porras, L., Serna, E., Cardona Gallo, S., Cadavid-Restrepo, G., Suárez, C., & Quintero-Rendón, L. (2014). Microbial consortium native catalytically active for removal of indigo and surfactants in textile industry wastewater through an immobilization matrix. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(1), 177-187. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752014000100022&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752014000100022&script=sci_arttext&tlng=en)
55. Jin, R., Yang, H., Zhang, A., Wang, J., & Liu, G. (2009). Bioaugmentation on decolorization of CI Direct Blue 71 by using genetically engineered strain *Escherichia coli* JM109 (pGEX-AZR). *Journal of hazardous materials*, 163(2), 1123-1128. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389408011060>
56. Salgado-Bernal, I., Durán-Domínguez, C., Cruz-Arias, M., Carballo-Valdés, M. E., & Martínez-Sardiñas, A. (2012). Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(1), 17-26. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992012000100002&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992012000100002&script=sci_arttext&tlng=pt)
57. Phugare, S. S., Kalyani, D. C., Surwase, S. N., & Jadhav, J. P. (2011). Ecofriendly degradation, decolorization and detoxification of textile effluent by a developed bacterial consortium. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(5), 1288-1296. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651311000698>
58. Granados Pérez, R. Villaverde-Peris, M.C.(1997). Madrid, España. Paraninfo. pp 102-103
59. Medina, A. (2010). Efecto de las enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 22(1), 27-35. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-65852010000100004](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852010000100004)
60. Ocaña Carrizo, A. V., Rocchi, M., Gasparotto, A., Conrero, I., Navarro, M., Factorovich, S., ... & Monterisi, A. (2007). Bacteriemia por enterobacterias en adultos en un hospital universitario: análisis de cinco años. *Revista argentina de microbiología*, 39(1), 38-43. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412007000100010&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412007000100010&script=sci_arttext&tlng=en)
61. Puerta-García, A., & Mateos-Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(51), 3426-3431. Disponible en: [http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias\\_Medicine2010.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf)

62. Cortazar-Martínez, A, González-Ramírez, CA, Coronel-Olivares, C, Escalante-Lozada, JA, Castro-Rosas, J, & Villagómez-Ibarra, JR. (2012). Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y ciencia*, 28(2), 187-199. Recuperado en 02 de diciembre de 2018, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-29792012000200009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792012000200009&lng=es&tlng=es).
63. González, L. Á. H., Ramírez, N. R., & Reyes, M. P. (2017). SOBREEXPRESIÓN HOMÓLOGA DE UNA AZOREDUCTASA RECOMBINANTE DE *Bacillus subtilis*. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 3(2), 835-839.
64. Elfarash, A., Mawad, A. M., Yousef, N. M., & Shoreit, A. A. (2017). Azoreductase kinetics and gene expression in the synthetic dyes-degrading *Pseudomonas*. *Egyptian journal of basic and applied sciences*, 4(4), 315-322. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eibas.2017.07.007>
65. Morales-Guzmán, Fernanda, & Melgoza-Alemán, Rosa M. (2009). Tratamiento del Colorante Azo Rojo Directo 23 mediante Reactores Discontinuos Secuenciados Anaerobios/Aerobios. *Información tecnológica*, 20(1), 73-82. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642009000100009>
66. Misal, S. A., & Gawai, K. R. (2018). Azoreductase: a key player of xenobiotic metabolism. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 17.
67. Roque Cl. Rev. cienc. forenses Honduras. 2016; 2(1): 63-7. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RCFH/pdf/2016/pdf/RCFH2-1-2016-11.pdf>
68. Arranz Gutierrez P., Arrieta Sáez M.I. (2016). EVALUACIÓN DE LA POSIBLE CAPACIDAD GENOTÓXICA DE FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS: LOSARTÁN E IRBESARTÁN (Tesis de pregrado). Universidad del país Vasco. España. Disponible en: <https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/18025/TFG.PaulaArranz.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
69. Díaz, L. D. L., Cala, Ó. L. O., Pinto, C. O. B., Lizcano, Á. I. G., & Cornejo, V. M. M. (2003). El ciclo celular. *MedUNAB*, 6(16), 21-29.
70. Garza Aguilar, S. M., Sánchez Camargo, V. A., Godínez Palma, S. K., & Lara Núñez, A. (2014). Avances recientes en el estudio del ciclo celular en plantas. *Revista de Educación Bioquímica*, 33(2), 39-47.
71. de Jesús Rodríguez-Gómez, A., & Frias-Vázquez, S. (2014). La mitosis y su regulación. *Acta Pediátrica de México*, 35(1), 55-68
72. Lomanto Díaz, L. D., Ortiz Cala, Ó. L., Bretón Pinto, C. O., Gómez Lizcano, Á. I., & Mesa Cornejo, V. M. (2003). El ciclo celular. *MedUNAB*, 6(16), 21-29.
73. Araujo, A. R., Gelens, L., Sheriff, R. S., & Santos, S. D. (2016). Positive feedback keeps duration of mitosis temporally insulated from upstream cell-cycle events. *Molecular cell*, 64(2), 362-375.
74. McIntosh, J. R. (2016). Mitosis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(9), a023218.
75. Zuluaga Quintero, M., & Valencia Ruiz, A., & Ortiz Trujillo, I. (2009). Efecto genotóxico y mutagénico de contaminantes atmosféricos. *Medicina U.P.B.*, 28 (1), 33-41.
76. MORAIS PIMENTA, S., PALAU PEÑA, A., SILVA GÓMEZ, P..(2009). Aplicação de métodos físicos, químicos e biológicos na avaliação da qualidade das águas em áreas de aproveitamento hidrelétrico da bacia do rio São Tomás, município de Rio Verde Goiás. En: Sociedade & Natureza, Uberlândia. Vol.; 21. No 3.; p. 392-412.
77. ISASI-CATALÁ, Emiliana. Los conceptos de especie indicadoras, paraguas, banderas y claves: su uso y abuso en ecología de la conservación. En: Interciencia. Vol.; 36. No 1 (enero 2011) p. 31-38.
78. VALENCIA QUINTANA, Rafael et al. GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS EN SISTEMAS VEGETALES. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, [S.l.], v. 29, p. 133-157, oct. 2013. ISSN 01884999. Disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/41611/38395>. Fecha de acceso: 22 jan. 2019

79. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996. Diario oficial de la federación. 6 de enero de 1997. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAA-15-13.pdf>
80. Norma Oficial Mexicana NOM-002-SEMARNAT-1996. Diario oficial de la federación. 3 de junio de 1998. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAA-15-13.pdf>
81. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1998. Diario oficial de la federación. 21 de septiembre de 1998. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAA-15-13.pdf>
82. Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005. Diario oficial de la federación. 23 de junio de 2003. Disponible en: <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/1055/SEMARNA/SEMARNA.htm>
83. Norma Mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015. 18 de abril de 2016. Diario oficial de la federación. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166147/nmx-aa-042-scfi-2015.pdf>
84. González, L., & Escamilla, E. (2008). Biodegradación Anaerobia de Colorantes Azoicos Textiles usando Carbón Activado. *Biotecnología*, 12 (3).
85. Tony, B. D., Goyal, D., & Khanna, S. (2009). Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(4), 462-469.
86. Hassan, G. M., & Yassein, A. A. M. (2016). Cytogenotoxicity evaluation of water contaminated with some textile azo dyes using rapid markers and chromosomal aberrations of onion (*Allium cepa*) root cells. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*, 43(1).
87. Almeida, E. J. R., & Corso, C. R. (2014). Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. *Chemosphere*, 112, 317-322.
88. Ventura-Camargo, Bruna & Pasquali Parise Maltempi, Patrícia & Marin-Morales, Maria & Morales, Marin. (2011). The use of the Cytogenetic to Identify Mechanisms of Action of an Azo Dye in *Allium Cepa* Meristematic Cells. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*. 01. 10.4172/2161-0525.1000109.
89. Dwivedi, K., & Kumar, G. (2015). Genetic damage induced by a food coloring dye (sunset yellow) on meristematic cells of *Brassica campestris* L. *Journal of environmental and public health*, 2015.
90. de Campos Ventura-Camargo, B., de Angelis, D. D. F., & Marin-Morales, M. A. (2016). Assessment of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of the commercial black dye in *Allium cepa* cells before and after bacterial biodegradation treatment. *Chemosphere*, 161, 325-332.
91. Giorgetti, L., Talouizte, H., Merzouki, M., Caltavuturo, L., Geri, C., & Frassinetti, S. (2011). Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region Fez-Boulmane, Morocco: a case study. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(8), 2275-2283.
92. Khanna, N., & Sharma, S. (2013). *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a review. *Indian J. Pharm*, 1(3).
93. Hemachandra, C. K., & Pathiratne, A. (2016). Combination of physico-chemical analysis, *Allium cepa* test system and *Oreochromis niloticus* erythrocyte based comet assay/nuclear abnormalities tests for cyto-genotoxicity assessments of treated effluents discharged from textile industries. *Ecotoxicology and environmental safety*, 131, 54-64.
94. Sudhakar, R., KN, N. G., & Venu, G. (2001). Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. *Cytologia*, 66(3), 235-239.