

## 12. TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO) EN LEVADURAS PRESENTES EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

*González-Paniagua, Yutzil<sup>1</sup>✉\*; Cervantes-Avilés, Pabel-A.<sup>1</sup>; Concha-Guerrero, Sandra-I.<sup>2</sup>; Luna-Velazco, Antonia<sup>2</sup>, Souza-Brito, Elcia-Margareth<sup>1</sup>✉\*\**

<sup>1</sup>Depto. De Ingeniería Civil y Ambiental, D.I., Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, México. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV), Chihuahua, México

e-mail: <sup>1</sup>✉\* [yutzil10ug@gmail.com](mailto:yutzil10ug@gmail.com), <sup>1</sup>✉\*\* [emsbrito@gmail.com](mailto:emsbrito@gmail.com)

### ABSTRACT

*A nanoparticle by definition is a material with at least two of its dimensions between 1 and 100 nm [6]. The ZnO in nanoscale is currently being used for their potential applications in nanotechnology. In this study the toxicity of nanoparticles of zinc oxide (ZnO NPs) on a yeast strain isolated from the plant wastewater treatment was assessed. The ZnO NPs were characterized by transmission electron microscopy (TEM) analysis and X-ray diffraction (XRD). The resulting average size was  $63.47 \pm 6.3$  nm and form agglomerates XRD showed high cristalinity material. The NPs-yeast interaction was performed using different concentrations ( $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Toxicity was evaluated using scanning electron microscopy (SEM) and observing morphology changes, cell reproduction and direct damage to the microorganism. Furthermore, an X-ray energy dispersive spectroscopy (EDX) was performed to detect the presence of Zn in the cell. The micrographs showed that in a concentration of  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  there is complete inhibition of cell growth, however in  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  is shown a growth which is favoring by the Zn and an increase of what is inferred an secretion of exopolysaccharides compared to control. The EDX showed the presence of Zn in the cell wall of yeast. The results suggest that high concentrations of ZnO NPs are acting as fungicides but at a concentration of  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  play a role as a stimulating growth in addition, yeast is behaving like a bioadsorbent when the NPs are trapped in the cell wall. This makes us conclude that the release of these on the environment might be slightly toxic to eukaryotic organisms.*

**Keywords:** *Wastewater, yeast, toxicity, ZnO nanoparticle, SEM, TEM.*

### RESUMEN

Una nanopartícula por definición es un material con al menos dos de sus dimensiones de entre 1 y 100 nm [6]. El ZnO a una nanoescala actualmente es usado por su potencial de aplicaciones en la nanotecnología. En este trabajo se evaluó la toxicidad de las Nanopartículas de Óxido de Zinc (ZnO NPs) sobre una cepa de levadura aislada de la planta de tratamiento de aguas residuales. Las ZnO NPs fueron caracterizadas mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM) y Análisis de Difracción de Rayos X (XRD). El tamaño promedio resultante fue de  $63.47 \pm 6.3$  nm formando aglomerados y

el XRD mostró una alta cristalinidad el material. La interacción NPs-levadura se realizó usando diferentes concentraciones ( $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $3,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). La toxicidad fue evaluada usando microscopia electrónica de barrido (SEM) y observando cambios de morfología, reproducción celular y daño directo al microorganismo, además se realizó una espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDX) para detectar la presencia del ZnO en la célula. Las micrografías mostraron que a  $1,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $3,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  hay una completa inhibición del crecimiento celular, sin embargo a  $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  se presenta un favorecimiento en el crecimiento y un aumento en lo que se infiere una secreción de exopolisacáridos en comparación con el control. El EDX mostró la presencia de ZnO en la pared celular de la levadura. Los resultados sugieren que las ZnONPs a concentraciones altas están actuando como fungicidas y a una concentración de  $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  desempeñan un papel de estimulador de crecimiento además de comportarse como un bioadsorbente al quedar atrapadas las NPs en la pared celular. Esto nos hace concluir que la liberación de estas en el medio ambiente podría resultar poco tóxica para organismos eucariotes.

**Palabras clave:** *Agua residual, Levadura, Toxicidad, Nanopartícula de ZnO, TEM, SEM.*

## INTRODUCCIÓN

Una nanopartícula es un material con al menos dos de sus dimensiones de entre 1 y 100 nm [6]. El hombre y el medio ambiente siempre han estado expuestos a NP, ya que éstas se producen de forma natural durante las erupciones volcánicas, incendios forestales, etc. Sin embargo, en la actualidad la exposición a NPs ha aumentado significativamente debido a fuentes antropogénicas, y seguirá aumentando con el incremento de su implementación en productos de uso común ya que poseen un gran número de aplicaciones industriales, incluyendo electrónica, óptica, textil, así como también en dispositivos médicos, biosensores y en remediación medioambiental [4].

Los materiales con rango de tamaño nanométrico poseen propiedades físico-químicas que difieren substancialmente del mismo material en escala macrométrica, y a su vez, les permite mejorar su conductividad, aumentar su sensibilidad y reactividad óptica, por mencionar solo algunas características

[5]. Además a menor tamaño de las NPs aumenta la relación área-volumen y al interactuar con los sistemas biológicos y los micro ambientes puede producir toxicidad.

Las nanopartículas de Óxido de Zinc (ZnONP) son unas de las más utilizadas a nivel industrial. Se utilizan en muchos productos cosméticos, médicos y en artículos de tocador, gracias a sus propiedades antibacterianas y desodorantes. Además tiene la propiedad de absorber la luz ultravioleta (UV) y por esto es apto para su uso en lociones de protección solar [5].

Como consecuencia de la utilización de productos que contienen NPs, parte de estas tienen un destino final en las aguas residuales que son llevadas a las plantas de tratamiento. Estos nanomateriales tienen una afección directa en el tren de operaciones a lo largo del proceso ya que los microorganismos presentes son claves en la limpieza del agua residual. De los pocos estudios acerca de estas interacciones algunos muestran que el efecto en el proceso de limpieza es nocivo para las comunidades microbianas presentes

en el agua residual. Otros por el contrario como Cañizares-Villanueva (2000), demostraron que algunos microorganismos presentes en las aguas residuales actúan como adsorbentes de metales pesados así que son utilizados en biorremediación de aguas [3]. Debido a la escasa información existente es necesario realizar mayores estudios sobre la biodiversidad presente en las plantas de tratamiento antes y después de la interacción con nanopartículas para poder establecer normas de regulación de desecho de NPs en el medio ambiente, además de evaluar el daño producido sobre las comunidades microbianas.

## METODOLOGÍA

### Origen de la muestra

Para la realización de este trabajo se utilizó una muestra tomada de un reactor piloto estabilizado, el cual es utilizado para pruebas de tratamiento de agua residual siendo alimentado con un medio de agua residual sintética (ARS) y un preinóculo añadido de biomasa extraída de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de la ciudad de Guanajuato. Este se encuentra ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Guanajuato. Se decidió tomar la muestra en el reactor piloto porque los microorganismos presentes en este son representativos de una PTAR, además de que este reactor cuenta con el medio que se trabajó en el experimento que es el ARS.

### Aislamiento de microorganismos

El aislamiento se llevó a cabo mediante técnicas dependientes de cultivo usan-

do dilución seriada en medio ARS (1.9 g/L Dextrosa, 0.344 g/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.0715 g/L  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.0705 g/L  $\text{NaCl}$ , 0.0449 g/L  $\text{MgSO}_4$ , 1 ml/L Vitaminas, 1 ml/L MT, 1 ml/L Selenito y 0.5 ml/L Extracto de levadura), pasando 1 mL de cada dilución a placa petri con ARS agar (20 gr/L agar bacteriológico) y seleccionando las colonias que presentaron morfología y coloración distinta mediante el método tradicional de aislado en placa de Petri (por estriación). Después de esto pasamos a medio líquido ARS para comprobar el aislamiento con una observación en microscopio óptico. Para eliminar las levaduras de las cepas bacterianas se hizo un choque térmico donde la temperatura mínima fue de  $-80^\circ\text{C}$  y la máxima de  $80^\circ\text{C}$ . El ARS se utilizó para aislamiento general y bacteriano, y para un aislamiento específico utilizamos YPD suplementado con ampicilina (1g/L) para la obtención de las levaduras. El incubación de cada resiembra fue llevada a cabo a temperatura ambiente, en presencia de luz y con una duración de 24 hrs.

### Caracterización de ZnOPs

Las NPs empleadas para este estudio se adquirieron en la empresa ID-nano. Se realizó una suspensión de ZnO NPs en etanol, sonicadas por 15 minutos y puestas sobre una gradilla metálica para determinar el tamaño y la morfología. Este análisis se realizó mediante Microscopía Electrónica de Transmisión JEM-2200FS. La cristalinidad de las nanopartículas se analizó mediante un XRD y el difractograma fue analizado usando el software Match.

## Evaluación de citotoxicidad

Cada una de las cepas se inoculó en medio líquido para obtener un precul-tivo con un volumen total de 6 mL (4 mL ARS, 1 mL LB y 1 mL de biomasa) por 12 hrs. Se preparó una dispersión stock de  $20,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ZnO NPs. La dispersión de NPs se realizó en agua tridestilada estéril y sonicadas por 15 min antes de su uso. La exposición se hizo en medio líquido teniendo un volumen total de 6 mL (nARS, 1 mL LB, 1 mL preinóculo) con diferentes concentra-ciones de NPs ( $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $3,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). La interacción se llevo a cabo durante 24 hrs a  $37^\circ\text{C}$  y con una agitación de 200 rpm. Se utilizaron como controles las cepas sin exposición a NPs.

## Preparación de muestras biológicas para análisis por SEM

La toxicidad de la cepa de levadura iden-tificada como Y16B fue analizada usando Microscopia Electrónica de Barrido. De cada una las muestras expuestas a NPs se obtuvo una submuestra la cual fue fijada usando glutaraldehído (3%) en buffer de fosfatos Milloning (pH 7.3) por 4 hrs y lavadas 2X en el mismo buffer. Después fueron filtradas en membranas de policar-bonato con un diámetro de poro  $0.22\mu\text{m}$ , fijadas y deshidratadas incrementando sucesivamente la concentración de etanol (30-100%). Todas las muestras fueron colocadas en soportes de metal y se reali-zó un baño de oro (Denton Vacuum Desk II). Finalmente se utilizó el microscopio Jeol JSM 7401F para generar las micro-grafías. El detector EDX (Oxford Inca PentaFETX3) acoplado al microscopio electrónico de barrido fue utilizado para realizar el análisis elemental de detección

del Zn en la célula.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Utilizando los 2 medios específicos ARS para bacterias y YPD suplementado con ampicilina para levadura se trató de ais-lar el mayor numero de microorganismos posibles. Hasta el momento se obtuvo del choque térmico y en agar ARS 20 cepas bacterianas y en agar YPD con ampicilina 4 levaduras con morfología macroscópica diferente. De las cuáles ninguna a sido identificada por métodos moleculares. Para la evaluación de la citotoxicidad a ZnO NPs se usó sola-mente la cepa de levadura identificada con nomenclatura propia como Y16B, siendo la única que fue comprobado su aislamiento. Además, se tuvo una pre- via desición de probar la eficiencia del proceso de evaluación de toxicidad uti-lizando solo una cepa.

La levadura presente en las aguas resid- uales se adjudica a procesos antropo- genicos que durante los procesos donde es utilizada se convierte en un residuo que termina en las aguas del drenaje te- niendo como destino final la planta de tratamiento de aguas residuales. No obs- tante las levaduras cumplen una función dentro del proceso de limpia de las aguas como lo menciona Canizares-Villanueva que estas atrapan metales pesados en su membrana celular cuando estos se encuentran en concentraciones bajas [3]. También se espera bacterias como Zooglea, Pseudomonas y Bacillus en los lodos activados ya que su papel es funda- mental en los procesos ayudando a for- mar flóculos, a la clarificación del agua, a la eliminación de patógenos y también son usados como indicadores tóxicos y de

DBO (Demanda Biológica de Oxígeno), entre otras funciones [6].

En la caracterización de ZnO NPs las micrografías obtenidas por TEM mostraron que las NPs utilizadas no tienen un tamaño ni una forma uniforme. El tamaño se encontró que está entre un rango de 30 a 100 nm formando aglomerados (Figura 12.1 A y B). Está descrito por Amelia, C. H. (2014) [2] que la formación de aglomerados es común

cuando se trata de experimentación utilizando medios líquidos. El uso de ZnO NPs a nivel comercial se tiene que varía en un rango de 15 a 70 nm [5]. La composición de la fase cristalina de las NPs se confirmó por el análisis XRD y este mostró una difracción que tuvo una gran similitud con una difracción patrón con la que fue comparada, ya que solo se encontró la presencia de Zn y O en el espectro (Figura 12.2).

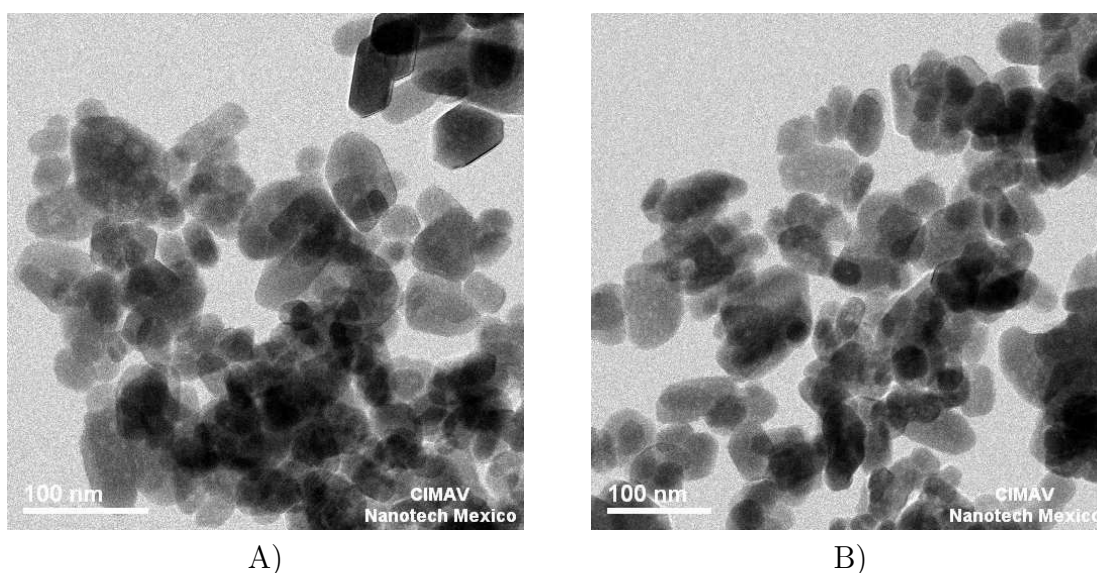


Figura 12.1: Micrografía del control de la cepa Y16B (TEM).

Durante la evaluación citotóxica pudimos apreciar que hubo una precipitación de las nanopartículas en el medio acuoso dado que las ZnO NPs tienden a aglomerar y precipitar en medios líquidos [2], lo que disminuyó el contacto NP-microorganismos. La confirmación de la citotoxicidad generada por las ZnO NPs se hizo utilizando solamente la cepa de levadura nombrada Y16B con estudios de SEM y EDX, detectando una posi-

ble interacción del Zn con los componentes de la membrana celular. El daño se evaluó con diferentes concentraciones de NPs obteniéndose que a 1,000 y 3,000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  hay una inhibición del crecimiento, que se adjudica a que como lo menciona Cañizares-Villanueva (2000) que las levaduras actúan como un bioadsorbente por medio de la membrana celu-

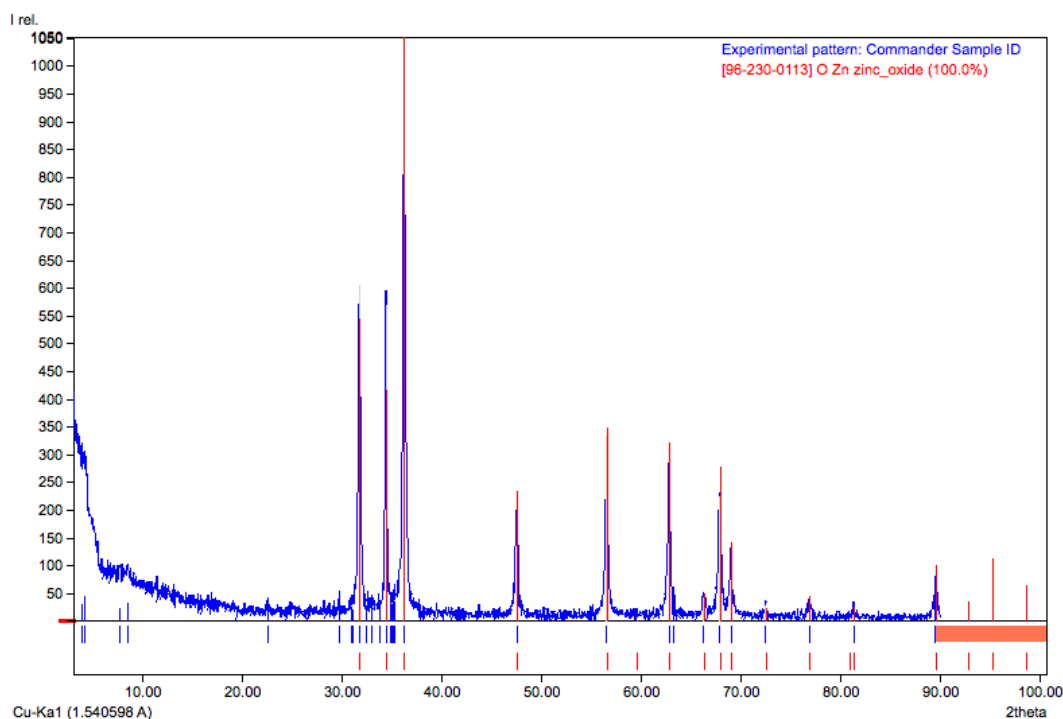


Figura 12.2: Análisis de difracción de Rayos X.

lar, en este caso puede que haya ocurrido una saturación del metal en esta capa de la levadura. Sin embargo, a  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , de acuerdo a las micrografías obtenidas por el estudio de SEM se observa que aun hay reproducción celular y una excretación mayor de lo que se infiere una capa de exopolisacáridos, que es producida de manera normal como se observa en el control debido a la presencia de dextrosa, pero el aumento de esta secreción se debe también a un mecanismo de protección o a una respuesta al estrés, condiciones de cultivo, edad y a modificaciones genéticas. La variación de la composición de los exopolisacáridos depende de la situación en que se encuentre la cepa y además esta variación se ve envuelta en la resistencia de la célula a

la ruptura mecánica o enzimática y a la acción de los antibióticos [1].

De la no inhibición del crecimiento y el aumento de éste en comparación con el control se puede decir que hay una relación directa con el Zn donde esta actuando como un cofactor de crecimiento [3]. El resultado arrojado por el EDX nos mostró que en la pared celular de la levadura si existe una presencia de Zn, por lo que se puede decir que hay una relación donde las NPs están quedando atrapadas en ésta como es descrito por Aguilar Uscanga, B. (2005) que la pared celular tiene una función de protección para la célula de los ataques enzimáticos, proporcionando principalmente estructura y forma a la célula teniendo un comportamiento igual al de un filtro [1].

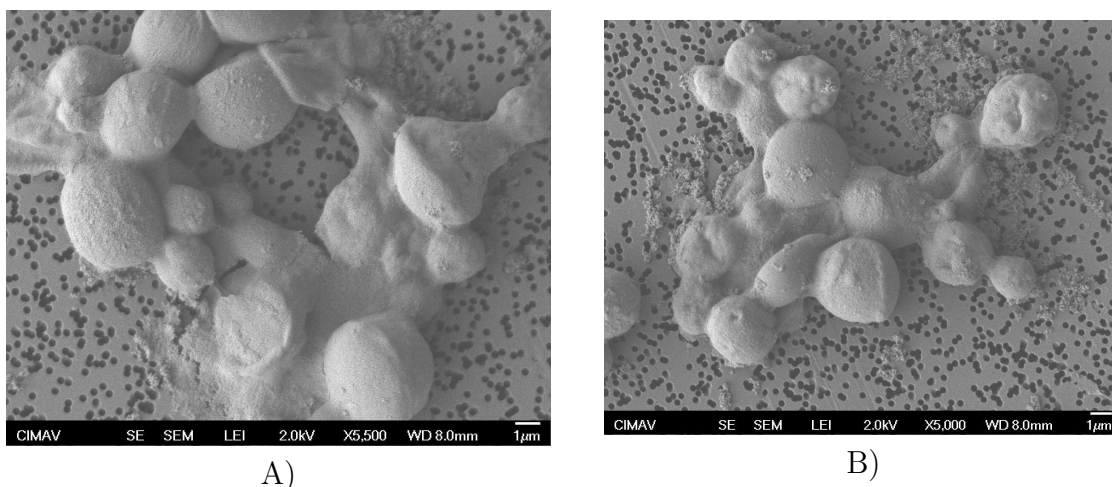


Figura 12.3: Micrografía de ZnONPs en TEM.

En la Figura 12.3 A y B se observa el control de la cepa de la levadura identificada como Y16B sin exposición a ZnO NPs. La Figura 12.4 A y B muestra el daño ocasionado por una concentración de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ZnO NPs. En la micrografía 12.4 A también se observa un incremento en la secreción de lo que se

inferire un exopolisacarido. No se observaron cambios morfológicos significativos. Además de unos cristales de gran tamaño que pueden deberse a residuos del ARS o a alguna reacción que se esté llevando a cabo entre el medio y las ZnO NPs.

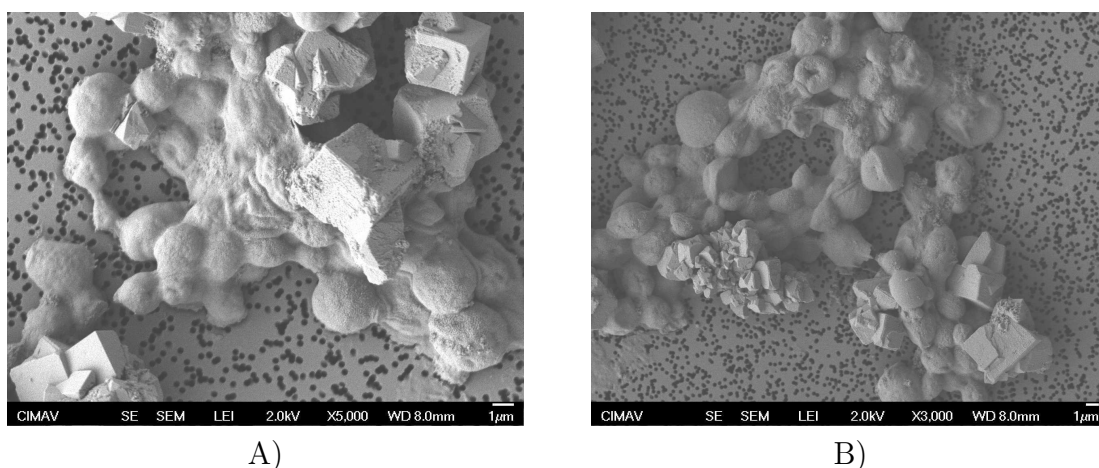


Figura 12.4: Micrografía de la cepa Y16B expuesta a una concentración de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ZnO NPs.

En la Figura 12.5 se muestra el espectro correspondiente al análisis elemental

de EDX donde se observa la presencia de Zn y O asociada a la pared celular.

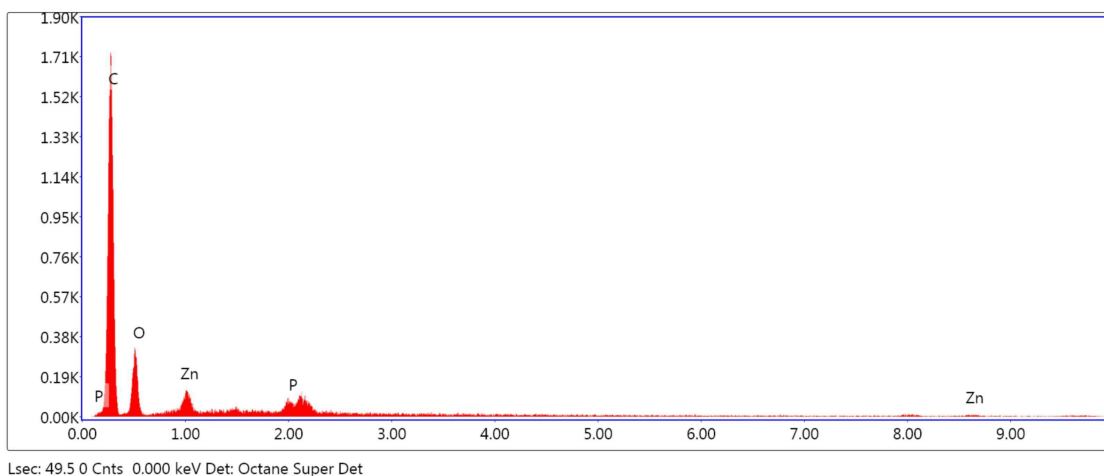


Figura 12.5: EDX de Ceba Y16B expuesta a una concentración de  $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ZnO NPs.

## CONCLUSIONES

Como resultado de la caracterización de las ZnO NPs el XRD arrojó un resultado de una alta cristalinidad y cuando se comparó con un difractograma patron del ZnO se observó que nuestro material si estaba compuesto unicamente de O y Zn. Por otro lado se obtuvo que las NPs no era uniformes y que su tamaño variaba de entre un rango de 30 a 100 nm.

De la evaluación de la toxicidad de las ZnO NPs a diferentes concentraciones ( $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1,000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $3,000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) sobre la cepa de levadura, se obtuvo que a  $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  hubo un potencionamiento del crecimiento celular, notificando eso con la presencia de un número mayor de células a esta concentración en comparación con las que se encontraban en el control, también fue observada una secreción mayor de lo que se infiere una capa de exopolisacáridos, que es producida de manera natural por las células de levadura. Por otro lado, el EDX detectó la presencia de Zn en la pared celular del microorganismo, lo

que nos dice que si hay una interacción directa con el microorganismo y que las células están actuando como un biadsorbente como ya ha sido reportado en otras investigaciones.

A concentraciones mayores como lo es  $1,000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $3,000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  existe una inhibición del crecimiento por lo que podemos decir que hubo un efecto fungicida y que posiblemente se deba a una saturación de Zn en las paredes de la levadura.

## AGRADECIMIENTOS

A CIMAV, Chihuahua por el apoyo para el uso de sus instalaciones y las micrografías de SEM y TEM, a la Dirección de apoyo a la Investigación y al Posgrado (DIAP, UGTO) por la beca otorgada (proyecto “Impacto de NPs metálicas sobre la biodiversidad bacteriana”) a CONACyT por el apoyo financiero al proyecto C0010 2011 010 CNPQ 175089 y a la Universidad de Guanajuato por el impulso a la investigación.



## REFERENCIAS

- [1] Aguilar Uscanga, B. et al (2005) Estudio de la variación de la composición de los polisacáridos contenidos en la pared celular de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*. e-Genesis, Revista Digital Científica y Tecnológica. 1-8.
- [2] Amelia, C. H., et al. (2014) An approach to the mechanism of the cytotoxic effect of Silver and Zinc Oxide Nanoparticles. En revisión. 1-20.
- [3] Cañizares-Villanueva, R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Revista Latinoamericana De Microbiología 42(3), 131-143.
- [4] Gutierrez-Praena, D. et al (2009). Nuevos riesgos tóxicos por exposición a nanopartículas. Revista de Toxicología, 26(2-3), 87-92.
- [5] Hernández, J. M. G. (2013) Aplicaciones médicas y efectos tóxicos de nanopartículas de ZnO, TiO<sub>2</sub>, Ag y nanotubos de carbono, Tesis doctoral. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 9-127.
- [6] Stephen J. Klaine et al. (2008) Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability and effects. Environment Toxicology and Chemistry, Vol. 27, N 9, 1-23.
- [7] Vilaseca, M. M. (2001). Observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica. Boletín Intertex (UPC), 67-72.



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

Campus Guanajuato  
División de Ingenierías



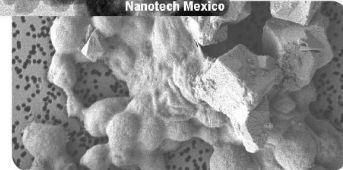
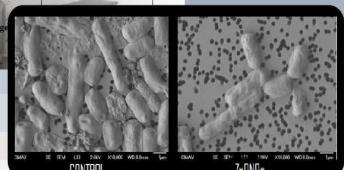
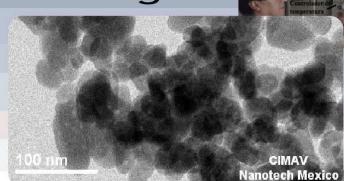
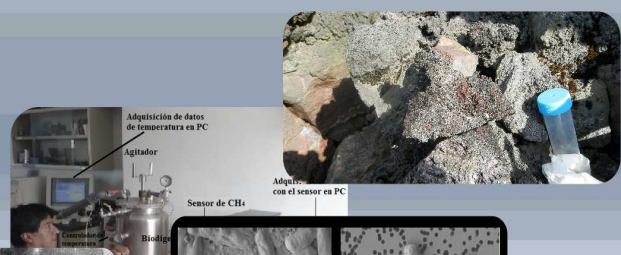
# 3er. Simposio Internacional de Tecnología y Biotecnología aplicada a la resolución de problemas ambientales

31 de Agosto a 2 de Septiembre de 2015

SIBA, el ambiente de discusión y de intercambio de conocimiento entre expertos, profesores y estudiantes, en el área de procesos aplicados en la Ingeniería Ambiental.



- Metodologías Innovadoras aplicadas a Bioprocesos
- Tratamiento de Residuos
- Tecnologías Aerobias y Anarobias
- Energía
- Bioprocesos
- Biorremediación
- Biotecnología
- Nanotecnología
- Tratamiento de Agua



### Organización:



Cuerpo Académico de Biingeniería, Biotecnología y Gestión Ambiental

Departamento de Ingeniería Civil  
División de Ingenierías  
Campus Guanajuato

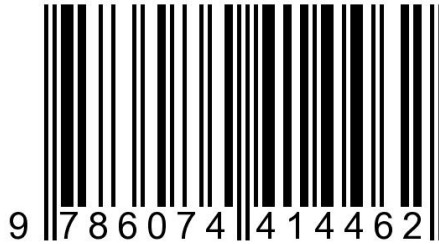
[www.ugto.mx](http://www.ugto.mx)

<http://www.di.ugto.mx/SIBA>



# “TECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS AMBIENTALES”

ISBN: 978-607-441-446-2



D.R. © 2016 Universidad de Guanajuato

Memorias del Tercer Simposio Internacional de Bioingeniería Ambiental,  
organizado por el “Grupo de investigación de Bioingeniería, Biotecnología y  
Gestión Ambiental”

Guanajuato, Guanajuato. México  
31 de Agosto a 2 de Septiembre de 2015

**“TECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA  
RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS AMBIENTALES”**

Primera edición 2016

D.R. © 2016 Universidad de Guanajuato  
Lascuráin de Retana 5, Zona Centro.  
Guanajuato, Gto. CP. 3600

Edición: Grupo de Investigación “Bioingeniería, Biotecnología y Gestión Ambiental”  
Julio César Valerdi Negreros  
Arodi Bernal Martínez  
Gemma Cervantes  
Germán Cuevas Rodríguez  
Sergio Antonio Silva Muñoz  
Elcia Margareth Souza Brito

ISBN: 978-607-441-446-2

## Índice

- 1** | CAPÍTULO 1  
PREFACIO
- 3** | CAPÍTULO 2  
LA BIOINFORMÁTICA Y SUS APLICACIONES EN LA ECOLOGÍA MICROBIANA  
Bertin, P.
- 9** | CAPÍTULO 3  
EFFECT OF CuONPs OVER BACTERIAL COMMUNITIES OF AGRICULTURAL SOIL  
Concha-Guerrero, Sandra-I.; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Gassie, C.; Bertin, P.; Caretta, César-A.; Durán, Robert; Orrantia-Borunda, Erasmo
- 19** | CAPÍTULO 4  
MODELAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIODIGESTOR ANAEROBIO PARA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE RESIDUOS DE CABRA Y DE CONEJO  
M.-García, Martín-T.; G.-García, Jessica-J.; M.-Ramírez, Jose-L.
- 27** | CAPÍTULO 5  
DEGRADACIÓN DE LIGNINA MEDIANTE EL PROCESO FENTON  
Olivo-Toledo, Jenifer; Martínez-Herrera, Gabriel
- 33** | CAPÍTULO 6  
PHYSIOLOGIC CHARACTERIZATION OF ANAEROBIC STRAINS ISOLATED FROM EXTREME SITES  
Pérez-Bernal, María-Fernanda; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Cuevas-Rodríguez, Germán; Hirschler-Réa, Agnès; Guyoneaud, Rémy
- 41** | CAPÍTULO 7  
AISLMIENTO DE BACTERIAS ANAÉROBICAS DE FUMAROLAS DEL VOLCÁN PARICUTÍN  
Romero Nuñez, Victor-Manuel; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Caretta, César-Augusto

- 47** | CAPÍTULO 8  
ESTUDIO FILOGENÉTICO DE CEPAS AISLADAS DEL LAGO-CRÁTER  
"RINCÓN DE PARANGUEO"  
Rivera-Martínez, Laura-Guadalupe; Bertin, Pierre; Caretta, César-Augusto;  
Guyoneaud, Rémy; Goni, Marisol; Malm, Olaf; Valerdi-Negreros, Julio-  
César; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 55** | CAPÍTULO 9  
ESTUDIO DE BACTERIAS MAGNETOTÁCTICAS EN LAGOS-CRÁTER:  
CÍNTORA Y LA JOYA  
Zatarain-P., Eva-Cecilia; Pérez-Vázquez, Miriam-Evelia; Valerdi-Negreros,  
Julio-César; Brito-S., Elcia-Margareth
- 63** | CAPÍTULO 10  
STUDY OF MAGNETOTACTIC BACTERIA IN ALKALINE ENVIRO-  
MENTS OF VOLCANIC CRATER LAKES FROM *LAS SIETE LUMI-  
NARIAS*  
Pérez-Vázquez, Miriam-Evelia; Zatarain-P., Eva-Cecilia; Valerdi-Negreros,  
Julio-César; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 69** | CAPÍTULO 11  
TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC EN AISLA-  
DOS DE SUELOS AGRÍCOLAS  
Rico-Herrera, Mauricio-I.; Concha-Guerrero, Sandra-I.; Orrantia, E.; Luna-  
Velazco, Antonia; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 77** | CAPÍTULO 12  
TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO)  
EN LEVADURAS PRESENTES EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO  
DE AGUAS RESIDUALES  
González-Paniagua, Yutzil; Cervantes-Avilés, Pabel-A.; Concha-Guerrero,  
Sandra-I.; Luna-Velazco, Antonia, Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 87** | CAPÍTULO 13  
CONCRETO HIDRÁULICO CON PET DE BOTELLAS  
Chávez-Valencia, L.-E.; Ruiz-Jaime, C.-L.; Sánchez-Cadena, L.-E.

- 91** | CAPÍTULO 14  
PAPERCRATE  
Chávez-Valencia, L.-E.; Saucedo-Estrada, C.-A.; Mendoza-Puga, L.-E.
- 95** | CAPÍTULO 15  
MICROORGANISMOS NATIVOS EN UN PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN  
PARA RECUPERACIÓN DE PLATA A PARTIR DE RELAVES MINEROS  
CON ALTO CONTENIDO DE MANGANESO  
Huerta-Rosas, Brenda; Cano-Rodríguez, I.; Gamiño-Arroyo, Z.; Gómez-  
Castro, F.-I.; Carrillo-Pedroza, F.-R.; Romo-Rodríguez, P.; Gutiérrez-  
Corona, F.; Santiago-Sernas, P.-I.
- 103** | CAPÍTULO 16  
PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE SECRETABLE  
GOX ENZYME FROM Ed8 STRAIN OF *A. TUBINGENSIS*  
Flores-Amaro, Oscar-Abraham; Romo-Rodríguez, Pamela; Corrales-  
Escobosa, Alma-Rosa; Wrobel, Kazimierz; Wrobe, Katarzyna; Villagómez-  
Castro, Julio-Cesar; Gutiérrez-Corona, Félix