

2ej
191



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estudio de la Sobrevivencia de Bacterias Coliformes Presentes
en Aguas Negras Tratadas con Radiación Ionizante**

T E S I S
Que para obtener el título de
B i ó l o g o
p r e s e n t a
Magdalena Soto Bandini

México, D. F.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

INTRODUCCION

CAPITULO I. INTRODUCCION A LA RADIACION Y DOSIMETRIA

- 1.1 Introducción.
- 1.2 Radiación Ionizante.
- 1.3 Acelerador Van de Graff.
- 1.4 Características de la Radiación de Haces de Electrones.
- 1.5 Dosimetría.
 - 1.5.1 Dosis Absorbida
 - 1.5.2 Dosímetros
 - 1.5.3 Dosimetría Absoluta
 - 1.5.4 Dosimetro Secundario
 - 1.5.5 Tasa de Dosis

CAPITULO II. MICROBIOLOGIA DEL AGUA

- 2.1 Introducción.
- 2.2 Microbiología de las Aguas Negras.
- 2.3 Grupo Coliforme.
 - 2.3.1 Enterobacterias
 - 2.3.2 Coliformes
- 2.4 Determinación de la Calidad Sanitaria.
- 2.5 Características Químicas y Microbiológicas de las Aguas Negras.

- 2.6 Procesos de Tratamiento de Aguas Negras.
- 2.7 Procedimientos Municipales Convencionales.
- 2.8 Tratamiento de Desechos Municipales por Radiación Ionizante.

CAPITULO III. CONTROL DEL DESARROLLO MICROBIANO

- 3.1 Rapidez de Muerte Bacteriana.
- 3.2 Mecanismos de Acción de las Radiaciones Ionizantes.
 - 3.2.1 Etapas Temporales de la Acción de la Radiación
 - 3.2.2 Efectos Directos e Indirectos
 - 3.2.3 La acción de la Radiación

CAPITULO IV. METODOLOGIA

- 4.1 Metodología General.
- 4.2 Técnica de Muestreo.
- 4.3 Pruebas de Penetración del Haz de Electrones en Agua.
- 4.4 Pruebas de Tiempo de Irradiación.
- 4.5 Técnica de Multitubos de Fermentación
 - 4.5.1 Prueba Presuntiva
 - 4.5.2 Prueba Confirmativa
 - 4.5.3 Prueba Completa
- 4.6 Estimación de la Densidad de Coliformes

CAPITULO V. TABLAS DE RESULTADOS

DISCUSION Y CONCLUSIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

INTRODUCCION

El agua de desecho de industrias y ciudades puede provocar un desequilibrio ecológico en sus zonas vecinas por el nivel de contaminación de ésta. Para evitar este problema, se están empleando cada vez mas sistemas de tratamiento de aguas negras para que éstas puedan ser reusadas en la conservación de la flora, fauna, usos industriales, agrícolas, recreación de contacto primario e incluso para sistemas de agua potable.

De estos sistemas, los más usados y conocidos son : los tanques de oxidación, de incineración del cieno, el uso de separadores de arenas, lodos activados, el sistema de biodisco y el filtro rociador. Todos éstos complementados por sedimentaciones y el tratamiento químico.

Un tratamiento más reciente es el de la radiación ionizante que ya se ha experimentado en algunos países como en la República Federal de Alemania en la planta piloto de Geiselbulach (con una capacidad de 150 m^3 diarios), que desde 1973 utiliza ^{60}Co como fuente de radiación al igual que la planta piloto de Melo Park, California, E.U.A. que lo utiliza desde 1968. Desde 1976 la planta de Deer Island, Boston, E.U.A. utiliza un acelerador de electrones, diseñada para tratar 375 m^3 de agua al día (High Energy Electron Treatment of Wastewater Liquid Residuals, 1980).

A medida que las ciudades van creciendo, la contaminación de las aguas negras aumenta proporcionalmente al tamaño de la población. Un factor importante en la contaminación del agua es el -

elemento o componente bacteriológico.

Los tipos comunes de bacterias del drenaje derivadas de la tierra y del intestino son enterobacterias, éstas se localizan en ciertos grupos naturales en base a sus características fisiológicas, inmunológicas y patógenas. El grupo Coliforme comprende todas las bacterias aeróbicas, facultativas, Gram-negativas, no formadoras de esporas, de forma de bastoncillo que fermentan lactosa con la formación de gas en 48 horas a 35° Centígrados.

El grupo de bacterias Coliformes es el indicador principal de la conveniencia del uso del agua para fines domésticos, dietéticos, etc. De aquí que el presente trabajo esté enfocado a la sobrevivencia del grupo Coliforme bajo la acción de la radiación, ya que las normas sanitarias han establecido la densidad de este grupo como un criterio del grado de contaminación y por lo tanto de la calidad sanitaria de la muestra.

El objetivo de este trabajo consiste en determinar la sobrevivencia del grupo Coliforme presente en aguas negras al ser sometido a diferentes dosis de irradiación con electrones.

El trabajo está dividido en cinco capítulos. En el primero se tratan los conceptos principales y básicos de la radiación y su medida. Así mismo se hace una breve descripción del acelerador Van de Graff utilizado para la irradiación de las muestras de aguas negras; en el segundo se expone de manera general los aspectos principales de la microbiología del agua en cuanto a las característi-

cas bacteriológicas, los procesos de tratamiento de aguas negras -- tanto convencionales como por radiación ionizante; el tercer capítulo incluye la importancia del control microbiano, las curvas de sobrevivencia y los efectos directos e indirectos de la radiación sobre los microorganismos para poder entender los mecanismos de acción de las radiaciones ionizantes; en el cuarto capítulo se da una descripción general del método empleado y material empleado; y, por último en el capítulo cinco se presentan las tablas de resultados y las curvas de sobrevivencia para poder establecer la efectividad del tratamiento de aguas negras por radiación ionizante.

Con lo anterior se pretende contribuir al estudio del tratamiento de aguas negras con radiaciones ionizantes proporcionadas éstas por un acelerador electrostático.

CAPITULO I

INTRODUCCION A LA RADIACION Y DOSIMETRIA

1.1.- Introducción

Tres descubrimientos en los años que cerraron el siglo XIX, tuvieron no sólo un efecto profundo sobre el progreso y el pensamiento científico en la primera mitad del siglo XX, sino que crearon, así mismo, una nueva norma para el poder político internacional e incluso, posiblemente, para la vida misma. Estos descubrimientos fueron el de los rayos X, por Röntgen en 1895; el de la radiactividad, por Becquerel, en 1896, y el descubrimiento o postulación de la naturaleza corpuscular de los rayos catódicos por J.J. Thomson en 1897 (Mann y Garfinkel, 1968).

A Becquerel y los esposos Curie se debe el mérito del descubrimiento de la radiactividad y de los elementos polonio y radio, aunque en las cuatro décadas siguientes este campo estuvo dominado por Rutherford y sus colaboradores (Mann, et. al. 1968).

El término radiactividad fue inventado por María Curie para describir las manifestaciones externas de las transformaciones atómicas.

El desarrollo de las investigaciones en radiactividad tuvo en sus orígenes su máxima expresión. En 1899, Geisel y Meyer descubrieron un tipo de radiación con carga eléctrica y además muy penetrante que denominaron beta (β). Un año más tarde, Becquerel, Marie Curie y Villard encontraron otra mucho más penetrante aunque neutra, denominada gamma (γ) y Rutherford estudió una tercera radiación de poca penetración, pesada y doblemente cargada a la cual llamó alfa (α). Al identificar la radiación alfa como una

partícula, Rutherford llegó a la conclusión de que la radiactividad es señal de la desintegración del núcleo (Gouirán, R. 1967).

En el curso de las últimas décadas, se ha incrementado el uso de fuentes de radiación ionizante tanto para su aplicación a escala industrial como para investigaciones científicas.

Las fuentes de emisión gamma han alcanzado un alto grado de comercialización en diversas áreas de la industria, así como los aceleradores de partículas han experimentado gran desarrollo en los últimos años.

El desarrollo de aceleradores de electrones de alta potencia, así como las fuentes de emisión de radiación gamma han tenido gran desarrollo en las últimas décadas y los procesos que los involucran se han vuelto tanto o más económicos que los convencionales.

1.2.- Radiación Ionizante

Las radiaciones son fenómenos físicos en donde la energía viaja a través del espacio sin la ayuda de un medio material.

Se llama radiación ionizante a todo tipo de radiación que es capaz de ionizar, entendiendo por ionizar arrancar uno o más electrones de un átomo.

El término radiación incluye todo tipo de energía, ya sea corpuscular o electromagnética.

a.- Las radiaciones corpusculares están formadas de haces de partículas moviéndose a muy altas velocidades. Estas partículas ---

pueden ser electrones, protones, neutrones o iones en general.

b.- Las radiaciones electromagnéticas incluyen ondas de radio, -- rayos infrarojos, luz visible, rayos X y gamma, aunque sólo las -- dos últimas son radiaciones ionizantes. Las radiaciones electro-- magnéticas se llaman rayos X si son producidos por máquinas o rayos gamma si son emitidos por elementos radiactivos, pero de no ser por su origen, no hay una diferencia esencial entre ambos.

Estas radiaciones electromagnéticas consisten en campos e--- lectromagnéticos oscilantes que viajan a través del espacio con -- una frecuencia (ν), y longitud de onda (λ) y una velocidad de propagación (v) (en el vacío (c) a la velocidad de la luz). Aunque estas radiaciones consisten de ondas distribuidas continua-- mente, cuando se involucran en intercambios de energía con la ma-- teria, se encuentra con que se componen de "paquetes " discretos de energía llamados cuantos o fotones (Lawrence, C. 1971).

En la figura I se presenta la longitud de onda y la energía del fotón, correspondiente al intervalo de 10^{-12} a 10^{+2} mm.

Las radiaciones ionizantes incluyen una variedad de radiacio-- nes altamente energéticas que tienen la habilidad de arrancar e--- lectrones de los átomos de la materia que atraviesan ionizándolos. Esto lleva a la producción de iones cargados positivamente o nega-- tivamente.

En cuanto las radiaciones ionizantes pasan a través de la ma-- teria, ceden parte o toda su energía a las moléculas y/o átomos próximos a su trayectoria. Cuando son partículas cargadas las --

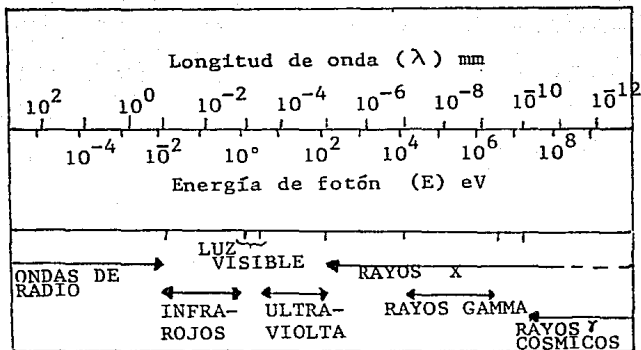


Figura I.- Longitud de onda y energías de fotón de radiaciones electromagnéticas (lawrence, C. 1971).

que atraviesan la materia, sufren desviaciones de la dirección original debido a la interacción con fuerzas Coulombianas entre su carga y los átomos de la materia que atraviesan, dando lugar a trayectorias que no son rectas.

Cuando las partículas rápidas y energéticas características de las radiaciones ionizantes atraviesan la materia, los átomos en su camino no tienen tiempo de volver a acomodarse en su posición original quedándose oscilando. Como consecuencia de estas "colisiones inelásticas", algunos electrones de estos átomos pueden brincar de su órbita a otra más lejana de su núcleo o fuera del átomo mismo y entonces se dice que los átomos están "excitados".

La mayoría de las partículas son suficientemente energéticas para ser únicamente expulsadas del átomo y entonces éste adquiere una gran velocidad y energía cinética, con lo que es capaz a su vez de interaccionar con otros átomos ionizándolos, formando así un "racimo de iones".

Al viajar la partícula incidente en la materia, ocasionará más colisiones que le harán perder energía, desacelerándose hasta no poder producir más ionizaciones y su energía restante se disipará como calor.

Entonces ya se habrán formado varios "racimos de iones" y la distancia entre ellos dependerá de la velocidad y carga de la partícula incidente. Las diferencias entre radiaciones, dependiendo del espacio entre los racimos de iones usualmente se expresa en términos de "energía lineal transferida" (LET) definida como la

energía promedio localmente impartida al medio () por una partícula cargada de energía especificada, al atravesar una distancia dada Δx , $[LET = \frac{\Delta E}{\Delta x}]$.

A diferencia de las partículas cargadas, los fotones pueden - atravesar la materia sin dejar rastro, pero ocasionalmente el fotón interactúa con un electrón orbital cediéndole toda o parte de su energía, arrancándolo de su órbita. Este electrón puede alcanzar casi la energía del fotón incidente y desde ese momento es el electrón el responsable de la transferencia de energía al medio, - en la misma forma que lo hubiera hecho un electrón incidente de la misma energía, producido en una fuente de radiación de electrones.

1.3.- Acelerador Van de Graff

La irradiación de las muestras de agua fue llevada a cabo en un acelerador electrostático del tipo Van de Graff, que utiliza la fuerza que actúa sobre una partícula cargada en presencia de un -- campo eléctrico, como medio directo de aceleración de partículas.

En la figura II se presenta un esquema de un acelerador de -- electrones tipo Van de Graff cuya descripción se hace a continuación:

El acelerador Van de Graff consta de una banda de material aislante (1) movida por una polea(2), cuya energía es suministrada -- por un motor (3). La polea inferior está conectada a una fuente de alto voltaje (4). Un peine de puntas afiladas (5) va colocado frente a la banda. Bajo estas condiciones las cargas negativas -

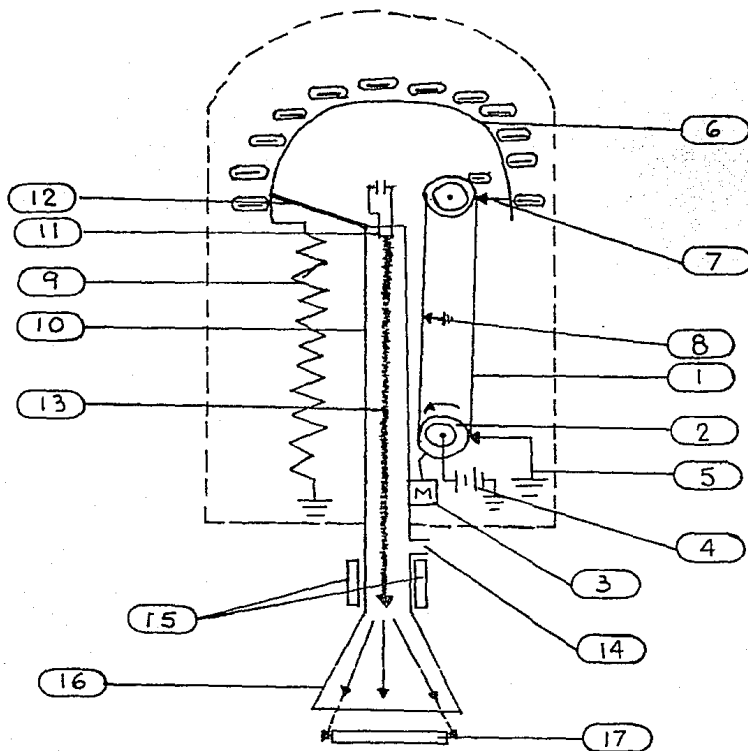


Figura II.-Esquema del Funcionamiento de un acelerador Van de Graff de electrones.

Banda transportadora de carga (1), poleas que mueven la banda (2), motor (3), fuente de alto voltaje (4), peine (5), terminal de alto voltaje (6), segundo peine (7), tercer peine (8), red de resistencia (9), tubo acelerador evacuado (10), filamento de tungsteno (11), haz (12), conexión al vacío (14), bobinas generadoras ca campo magnético (15), scan (16), posición de la caja con la muestra de agua (17).

tienden a desplazarse a la polea (2), siendo interceptadas por la banda en movimiento (1) y transportadas hasta la terminal de alto voltaje (6), donde un segundo peine (7) las recoge acumulándolas - en la terminal (6). El voltaje en la terminal va aumentando nega-
 tivamente con respecto a sus alrededores. Los electrones no re-
 cogidos en la banda son totalmente quitados por un tercer peine --
 (8) y mandados a tierra. El máximo voltaje que pueda alcanzar de-
 pende de la resistencia del dieléctrico que rodea la terminal, es
 por esto que se le inyecta gas a presión para evitar su descarga
 y aumentar su potencial, en este caso se le inyecta bióxido de car-
 bono y nitrógeno en relación 1 a 4 respectivamente. El alto po-
 tencial alcanzado en la terminal de alto voltaje (6) se utiliza pa-
 ra acelerar los electrones de la siguiente manera:

Los electrones se generan en el extremo del tubo evacuado por medio de un filamento de tungsteno (11) colocado dentro del tubo y al mis-
 mo vacío. Un electrodo (12) repele los electrones del filamento en dirección al centro del tubo, donde el haz (13) es acelerado por diferencia de potencial entre la terminal y tierra hasta alcanzar el circuito barredor y de allí pasar a la zona de irradiación.

El circuito barredor consiste en un dispositivo formado por -
 cuatro bobinas que alimentadas por corriente alterna producen un campo magnético perpendicular al haz de electrones y que de acuer-
 do con la ecuación de Lorents:

$$\vec{F} = (-e) \vec{V} \times \vec{B}$$

[donde F es la Fuerza de Lorents, V la velocidad de los electrones, e la carga de los electrones -1.6×10^{-19} Coulombs y B el campo magnético] desplazando al haz ("barrido") hacia uno y otro lado (sobre un plano) con la frecuencia de la fuente de alimentación.

1.4.- Características de la radiación de haces de electrones

Como ya se mencionó anteriormente, los electrones o partículas no tienen una penetración bien definida debido a que al interactuar con los electrones de un material y dado que tanto los electrones incidentes como los del material tienen igual masa, existe gran probabilidad que ocurran colisiones que hagan perder al electrón incidente gran parte de su energía y que lo hagan desviarse un ángulo grande respecto a su trayectoria original. En la figura III se presenta una curva típica del número de electrones contra la penetración en el material.

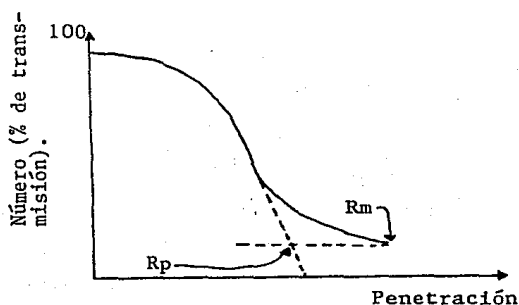


Figura III.- Curva típica del número de electrones monoenergéticos contra la penetración en el material (P. Marmier et. al. 1969).

A Rp se le llama el alcance o la penetración extrapolada y se obtiene extrapolando la parte de la curva que es más o menos lineal hasta intersectar la línea de radiación de fondo que corresponde al alcance máximo Rm.

Existen varias fórmulas empíricas para relacionar la penetración (Rp) de los electrones monoenergéticos en un material con la energía de los electrones. Por ejemplo, Katz y Penfold (1952), - encontraron que para el aluminio la penetración Rp es :

$$R_p \text{ (mg/cm}^2\text{)} = 412 E^n$$

para 0.01 E 2.5 Mev

donde E es la energía de los electrones en MeV y $n = 1.265 - 0.0954 \ln(E)$.

Aunque esta fórmula fue obtenida de los datos del aluminio, - también se puede aplicar razonablemente bien para otros materiales especialmente para materiales ligeros dado que la penetración -- (en mg/cm²) varía muy poco con el número atómico.

1.5.- Dosimetría

Siempre que tratamos con procesos en los que la radiación incidente sobre el material produce cambios en él, necesitamos conocer la cantidad de energía radiante que produce ese cambio, con el objeto de hacerlo reproducible o de usar la mínima cantidad de energía para reproducirlo. Esto se logra por medio de la dosimetría.

El principal objetivo de la dosimetría es la determinación de la cantidad de energía absorbida por un material expuesto a irradiación.

Existen ciertos parámetros importantes para determinar la cantidad de energía absorbida por un material, entre los más importantes podemos destacar los siguientes:

1.5.1.- Dosis Absorbida

La dosis absorbida o dosis (D) de cualquier radiación ionizante, es la energía impartida a la materia por partículas ionizantes por unidad de masa del material irradiado en la región de interés. O sea, es la energía media $d\bar{E}$ absorbida por un elemento de volumen del material irradiado dividido por la masa dm en ese elemento de volumen, es decir:

$$D = \frac{d\bar{E}}{dm}$$

La unidad de la dosis absorbida es el "rad", que se define como la absorción de 100 ergs de energía por gramo. Desde 1971 se acordó usar como unidad de dosis absorbida al gray (Gy) que se define como la absorción de un Joule de energía por kilogramo:

$$1 \text{ Gy} = 1 \frac{\text{Joule}}{\text{Kg}} = \frac{10^7 \text{ erg}}{10^3 \text{ g}} = 100 \text{ rad}$$

1.5.2.- Dosímetros

En principio, cualquier sistema en el cual pueda medirse al-

gún cambio en sus propiedades físicas o químicas como consecuencia de la irradiación, se considera como dosímetro, correlacionando ta les cambios con la dosis absorbida por el mismo.

Todos los dosímetros conocidos se pueden clasificar en dos -- grupos, los llamados dosímetros absolutos y dosímetros secundarios.

1.5.3.- La DOSIMETRIA ABSOLUTA o primaria, involucra la determinación directa de la energía absorbida por una sustancia expuesta a radiación, a partir de mediciones físicas conocidas como la capacidad calorífica, el valor G de una reacción, la energía necesaria para formar un par ión, etc. Generalmente, debido a su complejidad, los sistemas absolutos no son prácticos para ser usados en forma rutinaria, pero son indispensables para la calibración de dosímetros secundarios.

1.5.4.- Un DOSIMETRO SECUNDARIO puede ser cualquier sustancia capaz de sufrir un cambio medible al ser expuesta a la radiación y que pueda ser calibrado con un dosímetro primario. Los dosímetros secundarios a pesar del requisito de calibración, son de gran utilidad pues una de las principales reglas de la dosimetría pide que el material del dosímetro sea equivalente al material que se va a someter a irradiación.

En los experimentos descritos en este trabajo se usó como dosímetro secundario película de tinte radiocrómico FWT-60 por ser equivalente al agua. La curva de calibración de dosis-respuesta de ésta película se presenta en la figura (IV) (Buenfil, 1982).

El parámetro a medir en la película FWT-60 es su densidad --

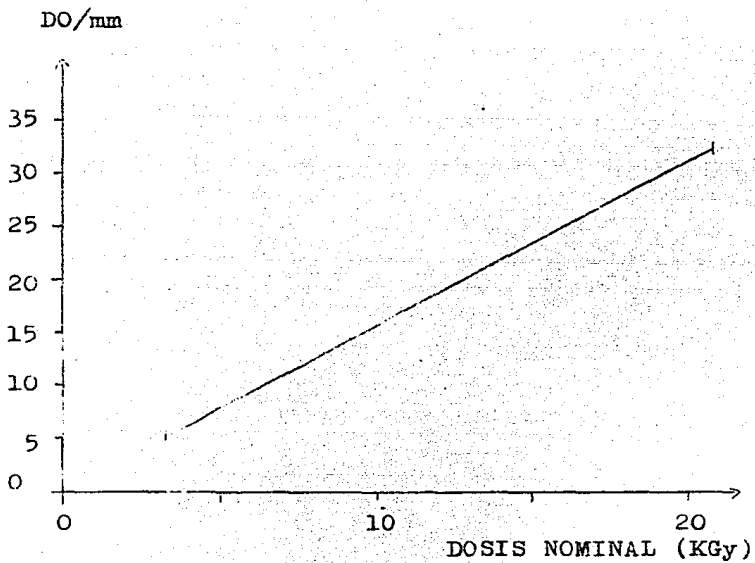


FIGURA IV.- Curva de Calibración Dosis-Respuesta.
(Buenfil, Burgos, A.E. 1982).

óptica (DO) que va aumentando con la dosis absorbida. El intervalo de dosis medible en la película y en la que la respuesta es lineal llega hasta 20 kGy.

En el laboratorio se trabaja con luz amarilla para eliminar el componente de radiación de la luz.

Estos dosímetros son películas de 1 x 1 cm y de un espesor -- promedio de 0.05 mm. El cambio en la densidad óptica se leyó en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Coleman 111.

1.5.5.- Tasa de Dosis

La tasa de Dosis (\dot{D}) se refiere a la dosis absorbida por unidad de tiempo

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt}$$

y se expresa en Gray por unidad de tiempo.

CAPITULO II
MICROBIOLOGIA DEL AGUA

2.1.- Introducción

La microbiología acuática se ocupa del estudio de virus, bacterias, algas, protozoos y hongos que habitan en cuerpos de aguas como estuarios, mares, lagos, ríos y manantiales (aguas naturales).

Existe una flora bacteriana normal y característica de estas aguas naturales, pero también hay una gran diversidad de bacterias que la pueden contaminar desde medios externos como el aire o tierra, o como resultado de procesos industriales y domésticos. Así mismo, sobre estas aguas influyen ciertas características físicas y químicas que prevalecen en un depósito de agua.

Gran parte de los estudios de bacteriología se han enfocado hacia las bacterias del drenaje y del papel tan importante que juegan los suministros de agua en las poblaciones humanas.

A la microbiología acuática se la ha dado un nuevo significado por el crecimiento de la población y la demanda de agua, por lo que la preocupación sanitaria se ha volcado a las aguas naturales que pueden ser usadas como fuente principal de abasto y al reuso de las aguas negras.

Las infecciones transmitidas por las aguas de abasto se han limitado casi limitadas al grupo de las llamadas entéricas, empezando la infección en el tubo digestivo y eliminando a los microorganismos por las heces y orina de la persona infectada.

2.2.-Microbiología de las Aguas Negras

Las aguas negras, son aquellas que han sido usadas en el abas-

tecimiento de una población y es una dilución de materia fecal y otros desperdicios pues proceden de : los desechos domésticos que salen con el agua como excrementos o agua de lavado, de los desechos industriales como ácidos y grasas, así como grasas animales o vegetales; de las aguas profundas, superficiales y atmosféricas y todas aquellas que corren por el sistema de drenaje de la ciudad.

El agua que beben los miembros de las poblaciones humanas se obtiene de fuentes superficiales que pueden ser contaminadas con filtraciones de aguas negras. De la necesidad de controlar las enfermedades de origen hídrico, la bacteriología se ha orientado hacia aspectos sanitarios.

La mejor manera de juzgar la calidad sanitaria del agua es por la clase y el número de bacterias que contiene. Es válido su poner que cuando el agua se ha contaminado con materia fecal humana, es posible que existan bacterias que causen enfermedades intes tinales, así, se han buscado indicadores de contaminación fecal -- que nunca se encuentren en aguas naturales pero que se pudieran -- encontrar siempre en aguas contaminadas con materia fecal humana.

La contaminación por excreta humana contribuye a la contamina ción de las aguas con grandes cantidades de bacilos coliformes y en menor grado por Clostridium welchii, estreptococos fecales o en terococos, bacilos disentéricos, etc.

Es muy difícil diferenciar los estreptococos ya que mueren -- más rápidamente que las bacterias coliformes. C. welchii tiene esporas que son viables por mucho tiempo aunque muera rápidamente,

esto impide reconocer una concentración reciente de una que no lo sea. Es por esto, en gran parte, que se usa como indicador de -- contaminación fecal a los bacilos coliformes casi exclusivamente.

En general, las aguas negras contienen millones de microorganismos y su composición varía, pudiendo existir en diversas proporciones hongos, virus, bacterias, protozoos y algas.

Las cantidades de bacterias por mililitro fluctúan enormemente conteniendo coliformes, estreptococos, bacilos esporulados anaerobios y otros que proceden del aparato digestivo de una población de un día a otro y de una época del año a otra, en esto también influyen los diversos tratamientos a que son sometidas las aguas negras ya que dependiendo de ellos surge un predominio de los diferentes tipos de microorganismos (Clifton, C. 1950).

En las aguas negras hay grandes cantidades de organismos potencialmente patógenos causantes de fiebre tifoidea, disentería y cólera, así como virus eliminados en las heces de seres infectados con hepatitis infecciosa, poliomielitis o que eliminen los virus del cosakie.

2.3.- Grupo Coliforme

2.3.1.- Enterobacterias

El término enterobacterias significa etimológicamente "bacterias del intestino", pero no todas las bacterias que tienen su habitat natural en el intestino quedan incluidas en las enterobacterias ni todas las incluidas en esta familia se encuentran en el --

intestino (Bryan, et. al. 1974).

En la parte distal del intestino se encuentra una enorme cantidad y variedad de microorganismos. Cuando se cultivan las heces, encontramos un predominio de determinadas bacterias según sean las condiciones en que se hace el cultivo. En medio simple y en condiciones aeróbicas predominan los bacilos Gram-negativos; en anaerobiosis y en medios simples se desarrollan los clostridia; en medios enriquecidos y en anaerobiosis aparecen lactobacilos, bacteroides y otros (Bryan, et.al.1974).

La familia Enterobacteriaceae se puede definir como "un grupo de bacilos no esporulados, Gram-negativos ampliamente distribuidos en la naturaleza, muchos de los cuales son parásitos de plantas y animales. Algunos son móviles por medio de flagelos peritricos y otros inmóviles. La mayoría de sus especies crecen bien en medios artificiales y todas fermentan carbohidratos con la producción de ácido o de ácido y gas. La mayoría de los miembros de la familia reducen nitratos a nitritos y muchas especies licúan gelatina" (Clifton, C. 1950).

Stanier, et. al. (1979) presenta un esquema de la subdivisión del grupo entérico (ver figura V) donde se incluyen los siguientes géneros: Escherichia, Serratia, Erwinia, Proteus y Yersinia.

2.3.2.- Coliformes

El grupo comprende todos los bacilos aeróbicos y los anaerobios facultativos, Gram-negativos, no formadores de esporas que fermentan lactosa con formación de gas en 48 horas, a una tempera-

SUBDIVISION TAXONOMICA DE LAS BACTERIAS ENTERICAS FLAGELADAS Y
FORMAS INMOVILES RELACIONADAS (TODOS SON BACILOS)

SUBGRUPO MAYOR	COMPOSICION DE BASES DEL ADN % MOLAR G+C	MOVILIDAD	PRODUCCION DE			GENEROS CONSTITUYENTES
			BUTANEDIOL	H ₂ +CO ₂	UREASA	
I	50-53	V	-	V	-	<u>Escherichia,</u> <u>Salmonella,</u> <u>Shigella</u>
II	50-59	V	+	V	-	<u>Enterobacter,</u> <u>Serratia,</u> <u>Erwinia</u>
III	37-50	+	-	+	+	<u>Proteus</u>
IV	46-47	V	-	-	+	<u>Yersinia</u>

* V significa que es variable dentro del grupo.

Figura V.- Esquema de la Subdivisión del Grupo Entérico (Stanier, R.Y. et.al. 1979).

tura de 35°C (American Public Health Association, 1980).

Los miembros del Grupo Coliforme en el cual se incluyen los géneros Escherichia, Aerobacter, Shigella y Salmonella de la familia Enterobacteriaceae han estimulado la investigación en métodos determinativos que cualquier otro grupo de bacterias debido a su similitud biológica y morfológica que hace con frecuencia muy difícil su diferenciación e identificación. Los medios de cultivo especiales, reacciones de fermentación y pruebas de aglutinación específicas son los medios de más valor en su identificación. Algunas especies de coliformes están ampliamente distribuidas en la naturaleza y son sólo saprófitas, otras son específicamente patógenas y algunas son patógenas ocasionales (Bryan, et.al. 1974).

Los bacilos coliformes se integran a un grupo de formas estrechamente relacionadas, muchas de las cuales interfieren en sus propiedades lo que dificulta su clasificación precisa. Comprenden no sólo las cepas típicas de Aerobacter aerogenes Y E. coli, sino muchas variantes de estas especies (Burdon, K. et.al. 1982).

En el grupo Coliforme están comprendidos todos los bacilos fermentadores de lactosa que se usan como índice de contaminación en el análisis bacteriológico del agua.

2.4.- Determinación de la Calidad Sanitaria

La determinación de la Calidad Sanitaria del agua sirve para determinar si un suministro de agua es o no apto para el consumo.

La calidad sanitaria se determina por una serie de procesos llamados investigaciones sanitarias. Se investiga la fuente sin

tratar y las condiciones ambientales que puedan influir en su calidad, las operaciones de la planta purificadora y el mecanismo de distribución y almacenaje del líquido para los consumidores.

Estas investigaciones sanitarias deben ser periódicas para prevenir complicaciones y dificultades. Para esto se recurre a cuatro tipos de análisis (Burdon K. et.al. 1982):

1. El análisis químico que determina los sólidos totales, la dureza, etc. y que descubre los ingredientes potencialmente tóxicos como asbestos, plomo y zinc que son nocivos.
2. El examen físico determina la turbidez del agua, color, sabor y olor inconvenientes.
3. El análisis biológico descubre algas, hongos, protozoos, crustáceos y larvas de insectos acuáticos.
4. El análisis bacteriológico que es de vital importancia y de más valor en la prevención de epidemias resultantes de la contaminación del agua.

De los microorganismos que llegan a los depósitos de agua, existen bacterias que son habitantes normales del intestino grueso de los hombres y animales, y por lo tanto siempre están en la materia fecal. Estas bacterias son generalmente Escherichia coli, y varios microorganismos similares llamados COLIFORMES, estreptococos fecales y Clostridium perfringens, por esto, se considera como evidencia de contaminación fecal la presencia de cualquiera de estos microorganismos y cabe la posibilidad de que junto con ellos existan los patógenos (Burdon, K. 1982; Burrows, W. 1969; Bryan et.

al. 1974).

En los análisis rutinarios del agua, no se debe intentar la identificación de un determinado bacilo u otros microorganismos patógenos del agua, pues es difícil aislarlos, y para fines prácticos no es necesario identificarlos, ya que la presencia de grandes cantidades de coliformes (fácilmente cultivables) son prueba suficiente de que el agua no es segura para su consumo (Clifton, C.E. 1950).

Para Bryan et.al. (1974), el examen bacteriológico del agua supone dos pasos importantes, la determinación del número de bacterias por la cuenta en placa y el descubrimiento de la presencia o ausencia de miembros del grupo Coliforme considerando a este último paso el de mayor significado. Si se encuentran coliformes en el agua de consumo, se considera una contaminación fecal y muy posiblemente se encuentren organismos patógenos causantes de cólera, fiebre tifoidea, las fiebres paratíficas y la disentería.

En las aguas negras, el nivel de la calidad sanitaria depende de buenos sistemas de drenaje ya que gran cantidad de enfermedades son transmitidas por las evacuaciones del conducto gastrointestinal. De allí en adelante la calidad sanitaria depende de las plantas municipales de tratamiento (American Public Health Association, 1965).

2.5.- Características Químicas y Microbiológicas de las Aguas Negras

Dentro de las características QUÍMICAS, las aguas negras contienen ciertas sustancias inorgánicas presentes originalmente en el abastecimiento, además de los compuestos orgánicos aportados a

lo largo de la red de alcantarillado como son las heces humanas y desechos domésticos, muchas veces también existe un aporte de mate ria inorgánica industrial.

Una clasificación general de las aguas negras es la que las divide por contener compuestos orgánicos nitrogenados y no nitro--genados. La urea, proteínas, aminas y aminoácidos son los com---puestos nitrogenados principales. El contenido de compuestos de nitrógeno en el agua es más indicativo de su pasado histórico ya que refleja el ciclo del nitrógeno. En los análisis se determina el contenido de amonio combinado, libre de nitritos y nitratos. El amonio combinado liberado de la materia orgánica generalmente indica que la cantidad de materia nitrogenada es capaz de sufrir descomposición. El amonio libre es indicador de contaminación reciente con aguas negras. La urea que en el drenaje se descompo--ne rápidamente en amonio y éste en nitritos y nitratos, una concen--tración alta de nitritos es indicador de una contaminación recien--te con materia orgánica, mientras que una alta concentración de --nitratos sugiere una contaminación más remota. Valores bajos de amonio y altos de nitritos o nitratos indica que muchas formas pa--tógenas que pudieron entrar en el drenaje probablemente se han re--movido o destruido (Mc. Gauhey. P.H. 1968).

Las sustancias no nitrogenadas incluyen jabones, grasas y --carbohidratos.

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO)

La demanda bioquímica de Oxígeno (DBO) es la cantidad de oxi--

geno usado en el proceso respiratorio de los organismos en el tratamiento de aguas negras, además de que el oxígeno también es usado en el metabolismo de los componentes celulares sintetizados en los desechos (Pelczar, M.J. 1982).

La cantidad de DBO está en relación directa con la cantidad de materia orgánica en las aguas negras; o sea, a mayor cantidad de materia oxidable, el DBO es más grande, así la concentración de estas aguas se expresa en términos de "cantidad de DBO".

DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

El concepto de demanda química de Oxígeno (DQO) es que todos los compuestos orgánicos, con pocas excepciones, se pueden oxidar a CO_2 y agua. Así en contraste con la prueba DBO, que solo mide la fracción biodegradable, la DQO puede medir tanto compuestos orgánicos como biodegradables ya que con una prueba estándar de DQO puede llegarse a conocer el grado de oxidación que se lleva a cabo por un agente altamente oxidante y entonces poder medir el potencial contaminante del drenaje y de los desechos industriales.

La prueba DQO se debe aplicar a las aguas negras provenientes de industrias, siendo un examen rápido y con validez estadística que no depende del tiempo como la DBO.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

La composición microbiológica de las aguas negras varía día con día. Estas aguas contienen una gran variedad de hongos, algas, protozoos, bacterias y virus en una proporción de millones - por mililitro. Potencialmente estos organismos pueden ser alta-

mente patógenos.

Uno de los principales componentes peligrosos o nocivos en -- las aguas negras es la excreta humana y orina, contribuyendo con grandes cantidades de bacterias coliformes en grado menor con estreptococos fecales, los agentes etiológicos de la tifoidea, disentería y cólera; los virus de la hepatitis infecciosa, de cosakie y de la poliomielititis.

Es difícil separar e identificar todos los organismos presentes en las aguas negras, pero Escherichia coli está presente prácticamente siempre en la materia fecal y en grandes cantidades.

2.6.- Procesos de Tratamiento de Aguas Negras

A las aguas negras que corren por el sistema de alcantarillados es conveniente tratarlas antes de que sean desechadas. Los mecanismos para eliminar las aguas negras tienen dos objetivos -- principales como es el liberar a una población de un volúmen de desperdicio constante y el disponer de ellas en tal forma que no perjudiquen a otras poblaciones.

Los procesos de tratamiento de aguas negras son mecanismos que simplemente aceleran las transformaciones que se llevan a cabo en la naturaleza (Burrows. W. 1969). Los compuestos orgánicos de las aguas negras experimentan los mismos procesos de des--composición que degradan la materia orgánica formando parte de los ciclos del carbono, nitrógeno o fósforo por ejemplo. Estos com-

puestos orgánicos primero son transformados en aminoácidos y monosacáridos que oxidándose completamente llegan hasta bióxido de carbono y agua en el caso de los carbohidratos, y hasta nitritos y nitratos en el caso del nitrógeno. Los microorganismos son los agentes activos de esta degradación y oxidación, así el tratamiento de aguas negras es básicamente un proceso microbiológico (Clifton, C.E. 1950).

Los procesos de tratamiento de aguas negras son muy variados, pero básicamente son : a) la dilución, que consiste en vertir -- la aguas negras a cuerpos de agua receptores, allí la concentración de contaminantes quedará dispersa por todo el cuerpo receptor. Actualmente no es aconsejable, ya que el cuerpo receptor sirve muchas veces de fuente de abastecimiento para otras poblaciones antes de que la oxidación completa de la materia orgánica haya culminado, b) el tratamiento parcial, donde el proceso de descomposición ocurre en gran parte en tanques y otros retenedores que permiten tratar el agua antes de que ocurra en receptores naturales de agua y, c) el tratamiento completo, que consta de procesos preparatorios seguidos de un tratamiento de digestión aerobia, filtración y un tratamiento químico (Burrows, W. 1969).

2.7.- Procedimientos Municipales Convencionales

Los procedimientos municipales convencionales (Pelczar, M.J. 1982) para el tratamiento de las aguas negras o de desecho que se llevan a cabo en las plantas procesadoras mas eficientes son:

- a. Tratamiento primario-separador
- b. Tratamiento secundario-biológico
- c. Tratamiento final-purificador

a. Tratamiento primario

El agua procedente de varios lugares de la población es recibida en colectores que poseen unas rejillas que sirven para separar el material flotante, o sólidos fácilmente separables. El agua pasa entonces al cárcamo de aguas crudas y de allí al separador de arenas. Después son tratadas para quitarles los sólidos que se sedimentan en tanques, cámaras o dispositivos especiales.

b. Tratamiento secundario

Esta etapa se caracteriza por la oxidación de compuestos orgánicos de las aguas negras, así como por la reducción de la DBO y la DQO.

Los métodos más comunes de oxidación llevados a cabo por la acción microbiana son (Bond, R. y Straub, C. 1974):

1. Filtración por contacto y por escurrimiento
2. Aireación por tanques y bombas
3. Tanques de oxidación

Los lodos resultantes pueden activarse y entrar en un digestor de sedimentos. El proceso de activación del sedimento o LODOS ACTIVADOS se logra por medio de una vigorosa aireación de las aguas negras, así se cultivan los microorganismos aeróbicos que degradarán la materia orgánica oxidándola.

Los lodos activados llegan a contener miles de microorganismos activos, de esta manera y con un buen mantenimiento, el resultado

de este tratamiento secundario llega a ser efectivo pues se obtiene una reducción de sólidos en suspensión y en las DBO y DQO.

c. Tratamiento final

Aquí el agua se desinfecta y se desechan los líquidos efluentes y los residuos sólidos. La desinfección se lleva a cabo con cloro. Se recomienda un mínimo de quince minutos de contacto con el cloro para lograr una buena desinfección.

El reglamento para la "Prevención y Control de la Contaminación de Aguas" (1973), no establece ninguna cantidad específica del cloro. Algunas plantas de tratamiento de aguas negras como la localizada en Ciudad Universitaria de la U.N.A.M., recomiendan 7 mg de cloro por litro de agua tratada.

2.8.- Tratamiento de Desechos Municipales por Radiación Ionizante

La conveniencia de radiación de alta energía en el tratamiento del agua y del agua de alcantarillado es obvia sólo para unos cuantos, esos cuantos han explorado profundamente las prácticas aceptadas en el mundo del agua y del tratamiento de aguas negras.

La necesidad de obtener agua para su uso confiable, la necesidad de esterilización, de modificar las largas cadenas moleculares, de reducir la cantidad de químicos activos desechados al medio, y la creciente demanda de grandes volúmenes de agua tratada han generado un gran interés en este renglón (Nielson, N.E. 1975).

Como señala D.S. Ballantine (1975), el único factor y el más importante para considerar la radiación como método de tratamiento

es tener en mente que está diseñada para completar el tratamiento, y que sólo una integración cuidadosa de todas las técnicas y procedimientos produce un resultado satisfactorio.

Por ejemplo, la sedimentación primaria elimina los grandes materiales suspendidos, el tratamiento biológico reduce la DBO y la DQO, los agente absorbentes reducen los volúmenes de lodo y aceleran su asentamiento y la cloración elimina gran parte de los microorganismos (Lemke, H.S. y Sinskey, A.J. 1975).

No se puede esperar que la radiación realice todo esto. Por lo que el uso de las radiaciones en las fases terciarias del tratamiento de aguas negras, ofrece un efecto bactericida, viricida, de modificación de largas moléculas orgánicas y la capacidad de precipitación del amplio espectro de contaminantes conocidos y desconocidos y llegar a eliminarlos o a reducirlos con tal confiabilidad como para ser único comparado con otras técnicas de tratamiento.

Además del uso de las radiaciones gamma o el uso de electrones de alta energía, Nielson, N.E. (1975), asegura que no existen otros procesos tecnológicos para tratar aguas negras en procesos terciarios que simultáneamente obtenga tantas reducciones de contaminantes con tan bajo costo efectivo, con gran aprovechamiento de energía y con tan alta confiabilidad.

Las fuentes de radiaciones pueden ser básicamente, ^{60}Co , ^{137}Cs o aceleradores de electrones.

En cuanto al uso de ^{60}Co y de ^{137}Cs para el tratamiento de aguas negras, presentan una característica muy importante que es

la alta penetración que logran estas fuentes, y pueden llegar a lograr exposiciones homogéneas de materiales de 50-60 centímetros de espesor. Estos materiales radiactivos son inestables por naturaleza, sufren desintegración por lo que deben ser reemplazados o suplementados para tener el nivel de radiación deseado (Ballantine, D.S. 1975).

La otra alternativa es el uso de aceleradores de electrones, capaces de producir haces intensos de electrones de muy alta energía. A diferencia de los rayos gamma altamente penetrantes, los electrones tienen una penetración limitada variando según el medio que atraviesan, pero son mas dirigibles y con energías bien definidas para cada voltaje.

El acelerador, por ser una máquina estable, no necesita de la renovación de radioisótopos que es necesaria en toda fuente de gammas sino solo de su mantenimiento. El intervalo de tratamiento es controlado, el sistema se puede apagar o prender como cualquier otro aparato eléctrico, no hay radiactividad envuelta en el proceso. Actualmente ya existen gran variedad de máquinas comerciales.

El Laboratorio de Investigación de Alto Voltaje (High Energy Electron Treatment of Wastewater Liquid Residuals, 1980), afirma que, a diferencia de la desinfección química, la desinfección por electrones de alta energía esencialmente no es afectada por sólidos contenidos en los lodos. A pesar de la "digestión" biológica, la desinfección por electrones no se ve afectada por cambios en el pH, nutrientes disponibles, sustancias tóxicas de las bacterias o

la temperatura de los lodos a los niveles normales. Los efectos de desinfección y todos los otros efectos se completan en una pequeña fracción de segundo mientras que las aguas fluyen por la región de irradiación.

La mayoría de los estudios de control bacteriológico hechos con radiación ionizante se han realizado en plantas de tratamiento que generalmente usan fuentes de ^{60}Co (y algunas ^{137}Cs) dirigiendo los estudios en gran parte a la desinfección de los lodos resultantes del drenaje.

Unos cuantos datos de reducción de bacterias se han reportado de una planta de tratamiento de aguas negras con electrones de alta energía en la Isla del Venado, Boston. Estos datos se presentan graficados en la figura VI.

Sin embargo, muchos estudios microbiológicos se han llevado a cabo con cultivos puros o en determinadas suspensiones y en laboratorio. Son pocos los datos reportados de la reducción microbológica de las aguas tratadas con radiación insitu.

En la figura VII se muestra la barra guía de los efectos de la radiación contra la dosis en rads desde las dosis mínimas que obscurecen películas fotográficas hasta las que polimerizan hidrocarburos, pasando por las utilizadas en la bacteriología.

Se han hecho varios estudios como los de Lemke y Sinskey --- (1975) y los de Epp, C. (1975) y varios más, los cuales reportan que la aplicación de cloro no reduce siempre los niveles de microorganismos en las aguas del drenaje, aunque si se aumenta la can-

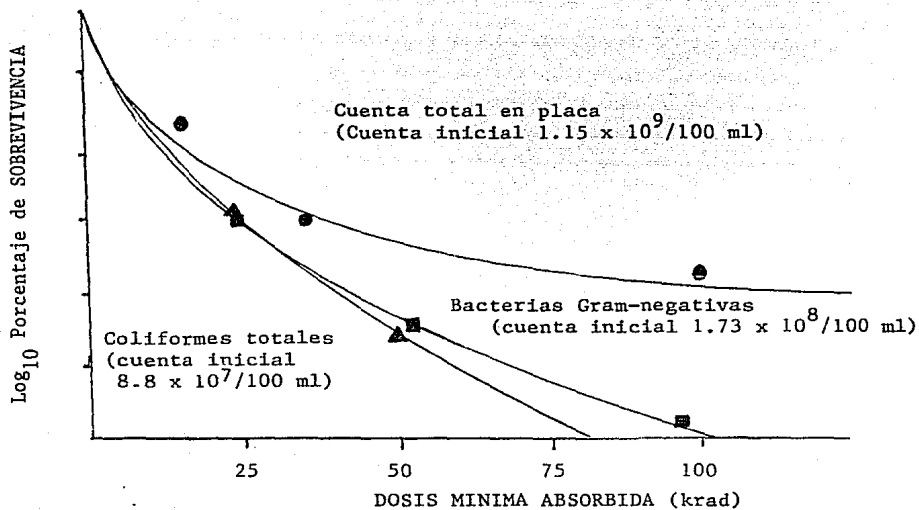


Figura VI.- Desinfección Bacteriana del Influyente de las Aguas Negras de Deer Island, Junio, 1978.
(High Energy Electron Treatment of Wastewater Liquid Residuals, 1980).

EFFECTOS INDUSTRIALES

EFFECTOS EN LAS IMPUREZAS DEL AGUA

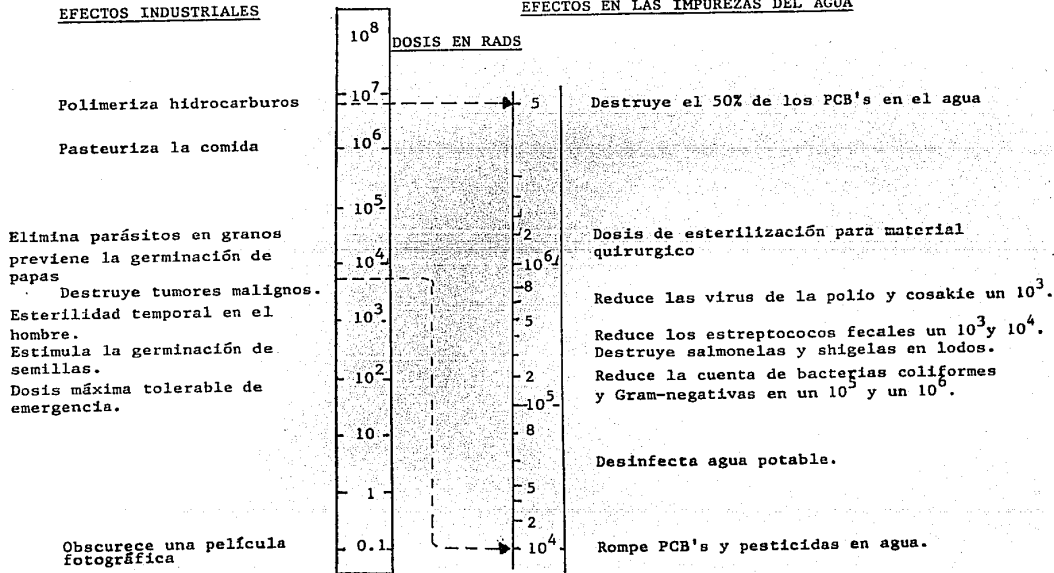


Figura VII.- Barra Guía de los Efectos de la Radiación contra la Dosis en Rads.
(High Energy Electron Treatment of Wastewater Liquid Residuals, 1980).

tividad de cloro, las concentraciones microbianas pueden reducirse. Sin embargo, tal cantidad de cloro no siempre es aceptada económicamente y puede matar peces y otras formas acuáticas al ser liberadas estas aguas tratadas en otros cuerpos de agua receptores.

Además señalan que el cloro es un agente activo superficialmente, por lo que no es recomendable para la desinfección de los lodos resultantes de las aguas negras, y que generalmente se usarán como fertilizantes en la agricultura.

Además de reducir la población microbiana, el Laboratorio de Investigación de Alto Voltaje (1980), reporta que se han observado otros efectos en el tratamiento con electrones:

- La destrucción de trazas químicas en agua incluyendo PCB's (compuestos bifenilpoliclorados) insecticidas y pesticidas;
- la reducción de las fracciones solubles en agua de metales pesados;
- el mejoramiento en las propiedades físicas del agua en decadencia.

Kakareka (1980), propone el bombardeo con electrones en lugar de la cloración de las aguas tratadas y evitar la posible producción de hidrocarburos clorados y poder reducir así los compuestos orgánicos como los PCB's que pueden estar presentes.

En cuanto a los metales pesados, el mismo autor reporta que de alguna manera, cuando se encuentran asociados con sustancias coloidales presentes en las aguas, se degradan o se desestabilizan con la acción de la radiación.

CAPITULO III

CONTROL DEL DESARROLLO MICROBIANO

3.1.- Rapidez de Muerte Bacteriana

Para una célula microbiana, "muerte" significa la pérdida irreversible de la capacidad de reproducirse (Pelczar, M. 1982 y Jawetz, E. 1975). En una célula irradiada, la capacidad de proliferación puede perderse por varios caminos; algunas porque sus propias enzimas se desintegran o "lizan", mientras que otras siguen creciendo sin poder llegar a dividirse y llegan a formar células gigantes o filamentos muy largos como en algunas bacterias, en este caso se consideran muertas en sentido reproductivo o genético. En general, puede decirse que una sola célula se considera muerta si no es capaz de producir una colonia en el medio adecuado (Lawrence, C. 1971).

Al trabajar con microorganismos, generalmente se mide la muerte de una población y no la muerte de una sola célula. Para conocer la capacidad antimicrobiana se selecciona una prueba que ponga en evidencia a los sobrevivientes que pueden reproducirse (Jawetz, E. 1975).

El decaimiento de una colonia o número de células que mueren en cada intervalo de tiempo, es una función del número de sobrevivientes presentes, en esencia morirán en un periodo de proporción exponencial constante que es inverso a su patrón exponencial de desarrollo (Pelczar, M. 1982; Burrows, W. 1969; Jawetz, E. 1975) de acuerdo con la fórmula general:

$$N = N_0 e^{-kt}$$

en donde N_0 es el número de sobrevivientes al inicio y N es el número de sobrevivientes en cualquier tiempo posterior t .

La tasa de mortalidad exponencial se representa por $-k$ cuando se grafica la fracción $\ln[N/N_0]$ contra el tiempo, la k se afecta por las condiciones en las que se encuentre la colonia.

Desde la década de los cuarentas se desarrollaron las teorías de los "tiros" y "blancos" para explicar las formas de las curvas de sobrevivencia. Estas teorías han explicado satisfactoriamente los modelos de los blancos y tiros que se disparan al azar. Estas teorías establecen que la probabilidad de darle a un blanco es proporcional al número de microorganismos y, conforme transcurre el tiempo el número de blancos no atinados disminuirá constantemente. Al final resulta cada vez más difícil atinarle a los últimos microorganismos que queden (Pelczar, M. 1982).

También se considera que la probabilidad de acertarle a un blanco es proporcional al número de tiros disparados, esto es, la intensidad del agente o la concentración del químico usado.

Se han hecho varios intentos por identificar las moléculas, estructuras o "blancos" donde el daño es responsable de la pérdida de la capacidad reproductiva. Estudios posteriores llevaron a la conclusión de que la pérdida de la capacidad proliferativa es generalmente causada por el daño al ADN (ácido desoxiribonucleico) que es el "cerebro" para la construcción y mantenimiento de la célula. Así que un daño irreparable al ADN, errores en la duplicación o el no poder transmitirse a las células hijas puede acarrear

la muerte de la célula o de las hijas. Además probablemente sólo exista una copia por célula de cada molécula de ADN y su daño trae rá graves consecuencias.

Cuando una célula es irradiada, las macromoléculas únicas son los componentes que potencialmente tienen más riesgo de ser dañadas, y de éstas, las largas cadenas de ADN son las más importantes. Pero no se puede decir que todas las células mueren por su daño al ADN, ya que algunas mueren por el daño causado a otras macromoléculas (Lawrence, C. 1971).

Las curvas dosis-respuesta son los diagramas más importantes en la biología de la radiación. En la mayoría de los casos se grafica la fracción sobreviviente contra la dosis. Se tratará de una "curva de sobrevivencia" cuando se hace referencia más amplia a la curva dosis-respuesta o dosis-efecto (Derting, H. 1970).

Las curvas dosis-efecto de las radiaciones aumentan gradualmente con la dosis y muestran alguna respuesta aún a dosis muy bajas (Derting, H. 1970). Estas curvas son muy útiles para la investigación de la radiosensitividad de poblaciones de células.

Las curvas de sobrevivencia generalmente adquieren dos formas básicas como se muestra en la figura VIII. La curva (a) de la figura VIII es característica de bacterias y de algunas células haploides. También se encuentra cuando células haploides y diploides son expuestas a radiaciones de altas LET (Energía Lineal Transferida) y es típica de la inactivación de virus y enzimas. La -- curva (b) se encuentra comúnmente en células diploides (Lawrence, C.

1971, Stegman, H. 1977).

La teoría de los "tiros" explica que la absorción de energía en las células (no en grandes tejidos) es cuantizada, involucrando unidades de energía discretas. Estas unidades son la cantidad de energía necesaria para ionizar o excitar un átomo, etc., y su existencia significa que cuando una población celular se expone a radiación, los blancos que contiene absorberán energía de una forma discreta. Si el evento particular de absorción que inactiva el blanco se llama "tiro", los blancos individuales recibirán números enteros de tiros (Lawrence, C. 1971). Se necesita un solo tiro para inactivar el blanco o célula, aquellos con más de un tiro no cuentan, ya que una célula solo puede morir una vez.

Si se necesitan dos tiros o más, se puede decir que se trata de una curva de "multitiros" o "multigozne", que tiene la misma forma general que la curva (b) de la figura VIII. También se puede obtener este tipo de curvas si las células contienen varios blancos que deben ser inactivados independientemente para matar a la célula (Lawrence, C. 1971; Jawetz, E. 1975).

Cuando el agente inactivante solo daña una estructura de la célula que no contiene copias múltiples, la curva de "mortalidad" se observará como una recta desde la dosis cero, de tal modo que si se daña el cromosoma de una bacteria, toda la célula será inactivada.

La curva de la figura IX es una curva exponencial de sobrevivencia, y es muy común en los organismos más sensibles a la radiación.

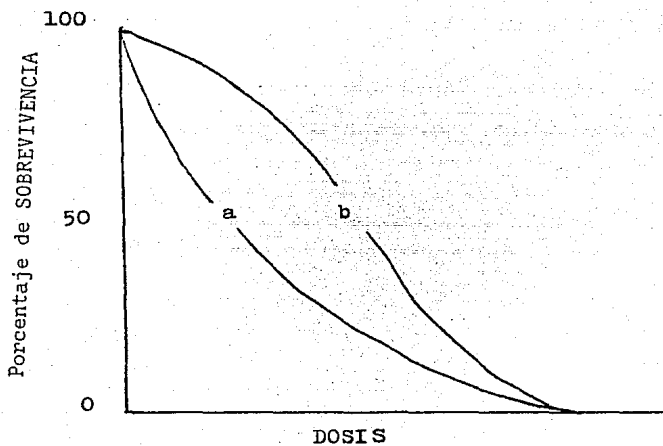


Figura VIII. Curvas características dosis-respuesta de la pérdida de la capacidad proliferativa.

- a Curva característica de bacterias y algunas células haploides.
- b Curva que se encuentra comúnmente en células diploides.

(Lawrence, C. 1971, & Stegman, H. 1977)

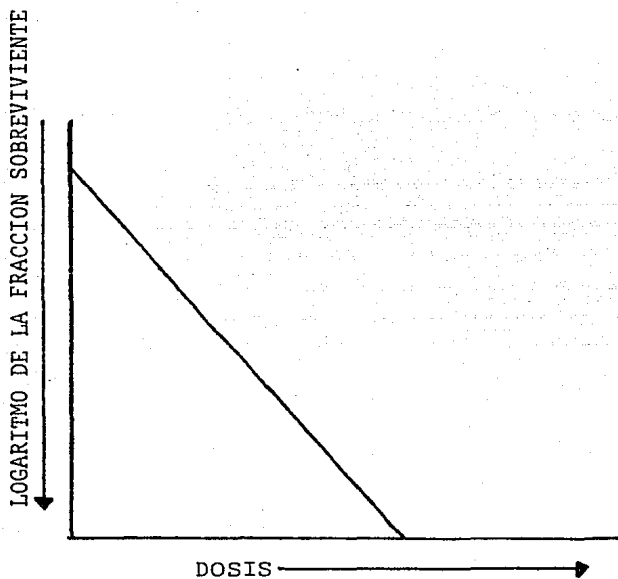


Figura IX.- Curva de sobrevivencia graficada en una escala semilogarítmica.

ción.

Pero si por el contrario, el agente inactivante tiene como blanco una enzima u otro constituyente celular que se halle en copias múltiples, la curva de mortalidad presentará un hombro inicial y la extrapolación de la línea recta a la ordenada dará el cálculo del número de blancos (Jawetz, E. 1975) figura X. Este tipo de curvas caracterizado por un hombro inicial, indica que incrementos iguales de radiación son más efectivos a altas dosis que a bajas dosis. El hombro en la curva puede explicarse porque a dosis bajas la célula puede reponerse del daño sufrido (Lawrence, C. 1971).

Existe una tercera curva (Stegman, H. 1977) que se caracteriza por ser cóncava con colaresistente (figura XI).

La respuesta de los microorganismos a la radiación se puede expresar por la dosis decimo-reductora, el llamado valor D_{10}^- . Esta es la dosis expresada en krad o Mrad (Gy o kGy), requerida para reducir la población por un factor 10 o un ciclo log. Cuando la curva de sobrevivencia-dosis es una línea recta como en la figura IX es posible leer el valor D_{10}^- de la gráfica como en la figura XII. Cuando la curva de sobrevivencia-dosis muestra un hombro inicial (figura X), el valor se puede obtener de la porción de la recta de la línea (parte exponencial de la gráfica). D_{10}^- es el recíproco de la pendiente de la línea (Stegman, H. 1977).

El valor D_{10}^- también se puede obtener de la ecuación:

$$\text{valor } D_{10}^- = \frac{\text{dosis de radiación}}{\log N_0 - \log N}$$

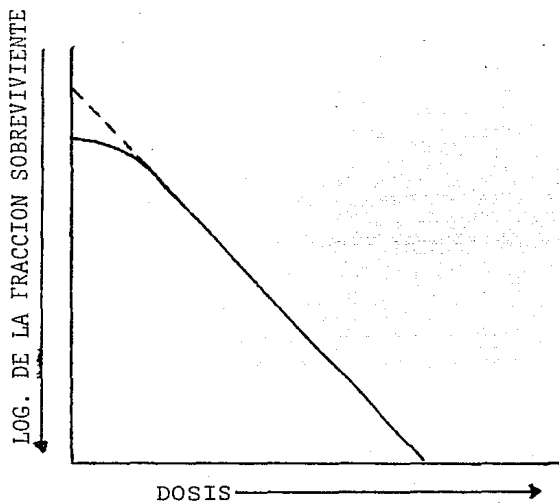
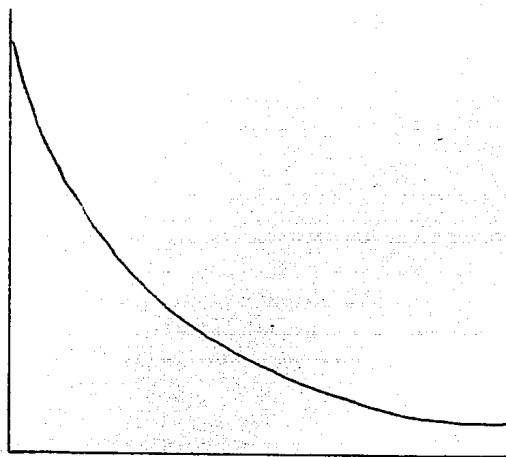


FIGURA x.- Curva de sobrevivencia graficada
en una escala semilogarítmica.

(Jawetz, E. 1975).

LOG. FRACCIÓN SOBREVIVIENTE (N/No)



DOSIS

FIGURA XI.- Representación esquemática de una curva de sobrevivencia.

N = Sobrevivientes a la dosis de radiación

No = Número original de microorganismos

(Stegman, H. 1977).

donde N_0 es el número inicial de organismos, y N es el número de organismos sobrevivientes a una dosis de radiación (Stegman, H. 1977).

Sin embargo, el comportamiento para la inactivación de microorganismos no siempre presenta una parte recta como en la figura XII, en estos casos, Stegman (1977) y Mossel (1977), reportan que resulta más conveniente el marcar una dosis de inactivación, por ejemplo la dosis para inactivar el 90 o 99% de la población celular inicialmente viable.

3.2.- Mecanismos de Acción de las Radiaciones Ionizantes

3.2.1.- Etapas Temporales de la Acción de la Radiación

Al tratar de seguir los pasos en el daño que la radiación produce en sistemas biológicos, a los eventos se les dividió en etapas temporales. Un dato importante encontrado por los radiobiólogos es que las radiaciones ionizantes ceden energía en forma discreta y en cantidades relativamente grandes, pero solamente a unos cuantos átomos del material irradiado. Esta localización de la energía, es suficiente para activar la molécula de tal manera que tome parte en reacciones químicas seleccionando al azar moléculas orgánicas de la célula llegando con ello a sufrir un grave daño químico permanente (Derting, H. 1970; Lawrence, C. 1971).

Como la mayoría de las moléculas de una célula se están duplicando continuamente, del daño en alguna de ellas y la pérdida de su función puede acarrear graves daños a su metabolismo. Estos elementos críticos o "blancos" generalmente son moléculas muy lar-

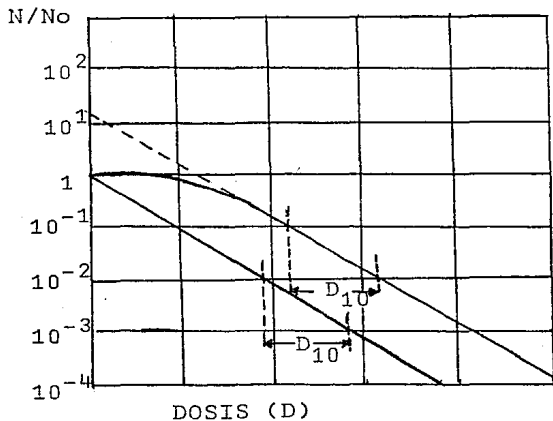


FIGURA XII.- Relación entre la dosis de radiación
y la fracción sobreviviente de microorganismos

(Stegman, H. 1977).

gas como el ácido desoxirribonucléico (ADN) o material genético, que es tal vez el blanco más importante excepto cuando las dosis son - muy altas (Lawrence, C. 1971).

Las principales etapas temporales de la acción de la radiación se mencionan a continuación:

Durante la primera o ETAPA FISICA de la acción de la radiación, la energía es transferida de la radiación a la materia (proceso de absorción de energía); en este proceso temporal se producen ionizaciones no uniformes y excitaciones moleculares. Estos productos primarios e inestables generalmente reaccionan secundariamente de forma espontánea o por colisiones con moléculas vecinas, esto ocurre rápidamente.

Etapas secundaria o FISICOQUIMICA puede consistir en una sucesión de reacciones o de una sola.

Tercera etapa o ETAPA QUIMICA empieza cuando se reestablece el equilibrio térmico, además las especies reactivas continúan -- reaccionando con otras y con su medio.

Sin importar el modo de la formación de los cambios moleculares (por acción directa o indirecta de la radiación) que ocurrieron en un organismo, pueden producirse cambios en el sistema, que al pasar por la etapa BIOLOGICA finalmente llevan al desarrollo de un efecto biológico observable. Es, en esta última etapa, en la que el daño de la radiación al organismo afectado es de gran importancia. Los problemas importantes de esta etapa son la traducción del daño bioquímico a alteraciones metabólicas que dependen

de la capacidad de la célula para reparar el daño o evitarlo.

En la figura XIII se presenta un resumen de las etapas temporales de la radiación y las reacciones que ocurren en cada una de ellas.

3.2.2.- Efectos Directos e Indirectos

La radiación ionizante es capaz de causar una amplia variedad de cambios químicos en los organismos. Los radicales libres que se han formado por la radiación son muy reactivos y rápidamente se ven involucrados en reacciones.

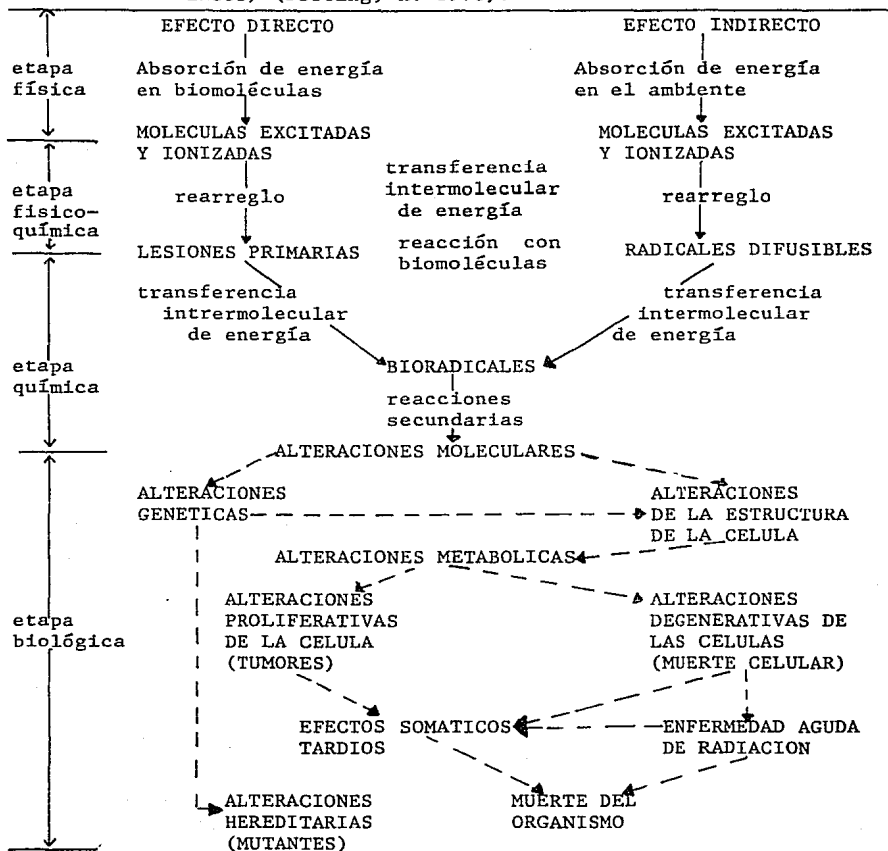
La mayoría de las células contienen agua a través de la cual pequeños radicales libres se difunden, y siendo tan reactivos raramente se difunden más allá de unos nanómetros del sitio original de la ionización (Lawrence, C. 1971).

Como el agua constituye cerca de un setenta y cinco por ciento o más del peso de la mayoría de las células, aproximadamente tres cuartos de las ionizaciones producidas en las células ocurren en las moléculas de agua y los radicales libres altamente móviles que se crean pueden atacar eventualmente macromoléculas vitales tales como el ADN (Lawrence, C. 1971).

Ya que el daño al ADN es responsable de la pérdida de la capacidad reproductiva en las células irradiadas, o de las mutaciones o aberraciones genéticas, es importante examinar las alteraciones que la radiación puede producir en macromoléculas y las reacciones que pueden dar origen.

La radiación puede afectar a las macromoléculas de dos formas:

Figura XIII.- ETAPAS TEMPORALES DE LA ACCION DE LA RADIACION (los pasos de reacción representados por líneas intermitentes son afectados por procesos metabólicos) (Derting, H. 1970).



- a) directamente por el haz ionizante y
- b) indirectamente por los radicales primarios del agua 'H, 'OH y e⁻ aq.

La acción directa produce efectos observables (Stegman, H. 1977) de la siguiente forma:

- (1) la energía ionizante interactúa directamente con las moléculas en una célula;
- (2) estas moléculas dañadas forman productos "inestables";
- (3) por medio de mecanismos de transferencia de energía inter e intramolecular, los estados metaestables se convierten en un estado estable final del "daño"; y
- (4) tal daño a ciertas moléculas trae efectos biológicos observables.

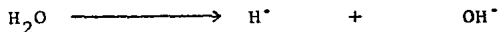
Ya que la absorción de la radiación en la materia puede ocurrir en varios procesos primarios como la excitación, ionización, colisiones elásticas nucleares, etc., la acción directa es el resultado de este proceso primario.

Por razones históricas, se ha hecho una separación de efecto indirecto, en soluciones y en un medio seco. Se creía que solo podía haber efectos indirectos en presencia de agua, pero a través de los años se ha probado que esta aseveración es incorrecta. Ahora se sabe que el efecto indirecto en soluciones y en medios secos es debido básicamente a la acción de pequeños radicales libres difusibles que han sido liberados por la acción de la radiación -- (Derting, H. 1970).

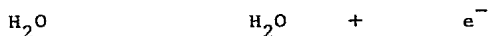
Al irradiar un material se produce una radiolisis del agua y

de las reacciones primarias de los productos.

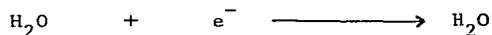
Los principales radicales producidos por la acción de la radiación son el Hidrógeno y el Hidroxilo:



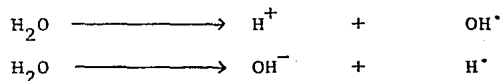
El punto como ocurre en H^\bullet indica un electrón impar en estos radicales que pueden formarse directamente por disociación de moléculas de agua excitadas o por su ionización:



Cuando el electrón expulsado (e^-) se ha desacelerado suficientemente, puede ser capturado por una molécula de agua para formar un ión cargado negativamente (Lawrence, C. 1971).



Son inestables tanto los iones libres positivos como negativos, -- por lo que cada uno se disocia para formar un ión estable y un radical libre:



El electrón puede ser capturado lentamente por una molécula de agua e hidratarse. Un electrón hidratado ($\text{e}^- \text{aq}$) así como el H^\bullet son poderosos agentes reductores y el tipo de daños que pueden causar son muy semejantes (Lawrence, C. 1971)'

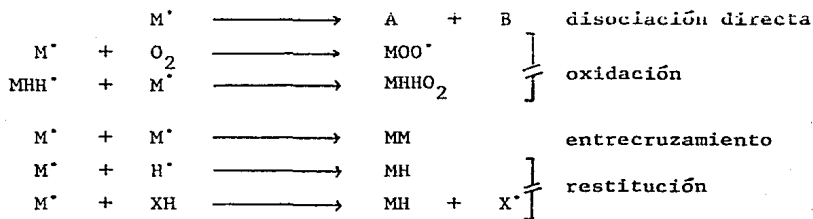
H^\bullet , OH^\bullet y $\text{e}^- \text{aq}$ son muy reactivos, durante el curso de su difusión distribuyen la energía absorbida a las moléculas del soluto con una alta eficiencia. Así los agentes H^\bullet y OH^\bullet pueden ac-

tuar como agentes oxidantes o reductores en moléculas biológicas M H.

Las reacciones primarias típicas son: la adición de radicales o la resta de hidrógeno, esto ocurre al atacar proteínas, ácidos nucleicos, etc. por los radicales libres. Los radicales M^{\bullet} , MH_2^{\bullet} y $MHOH^{\bullet}$ (producidos en las reacciones) pueden llegar a sufrir cambios intramoleculares, llegando a un daño irreversible por varios caminos.

Se ha llegado a establecer que la acción indirecta de la radiación es predominante cuando se trata de soluciones acuosas diluidas. De la acción directa o indirecta de la radiación resultan radicales macromoleculares y que reaccionan con varios solutos o con ellos mismos de tal manera que frecuentemente se destruye la función biológica de las moléculas.

Se ha encontrado que las reacciones típicas son:



(Lawrence, C. 1971)

Tanto la disociación, oxidación, entrecruzamiento y restitución son funciones biológicas que se imprimen o se pierden en la molécula.

Los radicales formados en la oxidación generalmente son muy inestables y se disocian. En la restitución la molécula original MH, el XH representa gran variedad de substancias como puede ser el grupo sulfhidrilo (SH).

En resumen, si la absorción de energía ocurre en la molécula donde aparece la lesión por la radiación, entonces ésta es la acción directa, pero si en la absorción de energía de la radiación la respuesta a esta energía ocurre en diferentes moléculas se trata de la acción indirecta. En general, el efecto indirecto se atribuye al ataque de radicales libres producidos por la radiación alrededor de la molécula considerada. Sin embargo, Derting, H. (1970) considera que la transferencia de energía intermolecular es, sin duda, alguna forma de acción directa.

Derting, H. 1970, menciona que la contribución del efecto indirecto en células húmedas es comparable con el producido por un efecto directo.

Se cree que los radicales 'OH formados en la capa hidratada alrededor de la molécula de ADN son 90% responsables del daño causado al ADN. Así en las células vivientes el daño por la radiación indirecta es predominante (Stegman, H. 1977).

La radiación ionizante es capaz de causar una amplia variedad de cambios químicos en microorganismos. Generalmente se afirma que la muerte de microorganismos por radiación ionizante es el resultado del daño hecho al ADN, que lleva la información genética de la célula. En los microorganismos el ADN consiste en dos ca-

denas de polinucleótidos que se encuentran enrollados uno alrededor del otro en una doble hélice, la secuencia de las bases es específica para cada tipo de ADN.

Entre las bases individuales apareadas hay dos o tres puentes de hidrógeno uniendo las dos bases. Las lesiones principales inducidas por radiación ionizante en el ADN dentro de las células es el daño químico a las bases purinas y pirimidinas y al azúcar desoxiribosa así como daños fisicoquímicos resultantes del rompimiento del esqueleto fosfodiéster en una hebra de la molécula (rompimiento de una cadena) o de ambas hebras en el mismo lugar (rompimiento doble). Tanto los procariontes como los eucariontes son capaces de restaurar muchas lesiones diferentes. La mayoría de los microorganismos son capaces de reparar rompimientos de una cadena. El daño a una cadena no necesita ser en principio letal, ya que la información correcta está presente aún en la cadena complementaria (Stegman, H. 1977).

En la figura XIV (a) y (b) se muestra una cadena de ADN con sus azúcares y bases purinas así como pirimidinas.

Los rompimientos dobles producidos por radiación ionizante son del 5 al 10% de la tasa de los rompimientos de una cadena. Se cree que organismos como Escherichia coli (que son más sensibles), no pueden reparar rompimientos dobles y que muchas otras especies con mayor resistencia que E. coli tengan mayor capacidad para reparar rompimientos dobles (Stegman, H. 1977).

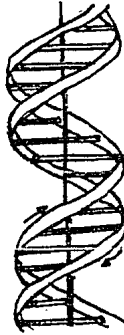


Figura XIV (a).- Diagrama de la estructura del ADN. Esta estructura tiene dos listones que simbolizan dos cadenas de azúcar-fosfatos, los travesaños horizontales simbolizan los pares de bases uniendo ambas cadenas. La línea vertical marca el eje. (J.D. Watson y F.H.C. Crick, 1953).

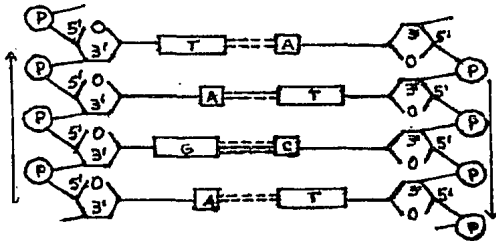


Figura XIV (b).- Configuración molecular del ADN

- | | | | |
|---|---------|-----|----------------------|
| Ⓟ | fosfato | G | guanina |
| ⬡ | azúcar | C | citosina |
| A | adenina | === | puentes de Hidrógeno |
| T | timina | | |

3.2.3.- La acción de la Radiación

Las bacterias son organismos procariontes, que no contienen un núcleo bien definido, y el mecanismo de división del material genético antes de una división celular normal tiene unas cuantas similitudes con el mecanismo de duplicación de cromosomas de organismos superiores. El hecho de que las bacterias no solo se dividen por mitosis, sino que presentan ciertas características sexuales es de gran importancia en la biología de la radiación ya que en el proceso de transferencia de genes (en particular del entrecruzamiento de células Hfr o alta frecuencia de recombinación), se pueden usar para obtener mutantes que difieren en la sensibilidad a la radiación (Derting, H. 1970).

Para fines prácticos, se considera el ADN como el blanco principal, y Derting, H. (1970) menciona la posible existencia de correlaciones entre la sensibilidad a la radiación y la composición básica del ADN en varias especies, llevándolo a varios estudios de contenido de ADENINA-TIMINA (A-T).

Sin embargo aún no está clara la influencia de la composición de las bases del ADN y su dependencia observada de la radiación ionizante (Augenstein, et. al. 1964).

CAPITULO IV

METODOLOGIA

4.1.- Metodología General

Los objetivos del exámen de aguas no potables son generalmente la estimación bacteriana, determinar la fuente de contaminación, hacer cumplir los estándares de calidad del agua y registrar la so brevivencia de microorganismos después del tratamiento de las a--guas como es, en este caso, que describimos a continuación.

Para la toma de las muestras del agua de la cisterna, se usaron frascos de vidrio resistente, de boca ancha y tapón esmerilado previamente esterilizados. En el caso del muestreo del agua tratada con cloro, se les añadió a los frascos muestreadores tiosulfato de sodio como agente declorador.

Posteriormente en el Instituto de Física de la U.N.A.M. se virtieron 55 ml. de las aguas negras muestreadas a cajas de aluminio estériles (irradiadas con 48,42 kGy) de 30 x 3.3 x 1.7 cm y forradas con envoltura plástica "Egapack". Cada caja fue irradiada en el acelerador Van de Graff a diferentes dosis dejando parte de la muestra original sin irradiar como testigo.

Ya irradiadas las muestras se llevaron al Laboratorio Central de Control de Aguas del D.F. donde se les aplicó la Técnica de -- Multitubos de Fermentación que pone en evidencia las bacterias colififormes. Al hacer el exámen de tubos y diluciones múltiples, los resultados se expresan en términos del "número más probable" (NMP) de bacterias coliformes en 100 ml.

Así, con los datos de las dosis recibidas y el número de bacterias coliformes sobrevivientes, se estimó la efectividad del --tratamiento.

4.2.- Técnica de Muestreo

Las muestras para exámenes bacteriológicos se colocaron en botellas de vidrio de tamaño adecuado, con un volúmen suficiente para todas las muestras requeridas. Los frascos que se usaron fueron de boca ancha con tapón esmerilado y de vidrio resistente, esterilizados en el autoclave a 120° C por 15 minutos. Se añadió un agente decolorador como el tiosulfato de sodio a las botellas destinadas a la recolección de aguas que contenían cloro residual. Su presencia en el instante de la recolección neutraliza cualquier cloro residual y previene de una acción bactericida continua durante el tiempo que la muestra está en tránsito al laboratorio. Los frascos se etiquetaron y se tomaron los siguientes datos:

- 1) Número de registro
- 2) Sistema
- 3) Tipo de fuente
- 4) Estado
- 5) Población
- 6) Fecha
- 7) Hora de muestreo
- 8) Temperatura
- 9) Muestreador

Al tomar las muestras se dejó un volúmen adecuado de aire en la botella (por lo menos 2.5 cm³) para facilitar la agitación de la muestra antes de su exámen.

La preservación y almacenamiento de las muestras se llevó a cabo según el manual de "Métodos Estándar para el Exámen de Aguas y Aguas de Desecho" (1980), donde se recomienda empezar el exámen de las aguas colectadas de inmediato para evitar cambios impredecibles. Si las muestras no pueden procesarse en la hora siguien-

te de la toma, deben refrigerarse. Debe mantenerse la temperatura de las muestras abajo de los 10° C durante un transporte máximo de seis horas para aguas impuras y de doce horas para aguas relativamente puras; en ningún caso, el almacenamiento deberá prolongarse más allá de 24 horas. En el registro se anotó el tiempo y la temperatura de almacenamiento de todas las muestras considerando esta información en la interpretación de los datos.

En el exámen bacteriológico de las muestras del presente trabajo, se omitió la prueba Completa de la Técnica de Multitubos de Fermentación. Esto se debió a que se siguieron los dos exámenes rutinarios establecidos en el Laboratorio Central de Control de Aguas, D.D.F. donde solamente aplican la Prueba Presuntiva y la -- Confirmativa para Coliformes Totales.

4.3.- Pruebas de Penetración del Haz de Electrones en Agua

Cleland, M.R. (1975) presenta una curva del intervalo práctico de dosis absorbida en agua para electrones de 1.5 MeV. Esta curva está reproducida en la figura XV y la dosis viene dada en unidades de $\text{MeV}\cdot\text{cm}^2/\text{g}$ y la penetración en g/cm^2 de agua.

De acuerdo con esta curva (figura XV) la penetración de los electrones de 1.5 MeV en agua, para una dosis uniforme sería de 0.5 cm aproximadamente. Con el objeto de conocer experimentalmente y bajo las condiciones del presente trabajo la penetración de los electrones en agua, se llevaron a cabo los siguientes tres experimentos en cajas de aluminio de 30 cm de largo, 3.3 cm de ancho y 1.7 cm de altura. El haz de electrones fue de 1.4 MeV y 20 A.

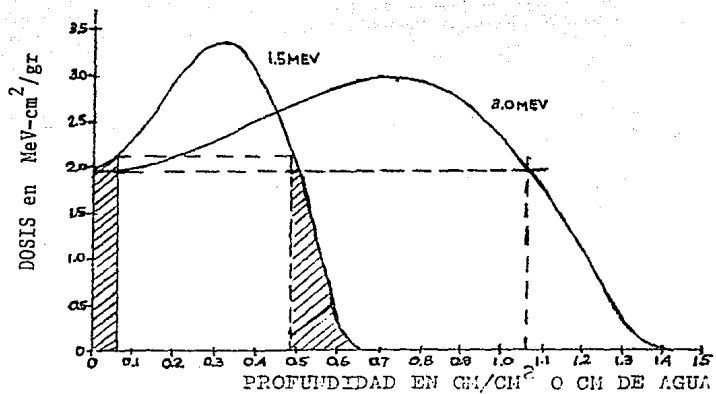


Figura XV.- Distribuciones de dosis de haces de electrones a diferentes profundidades para 1.5 y 3.0 MeV. (Cleland, et. al. 1975).

de corriente.

En el caso del presente trabajo, la frecuencia de "barrido" del haz de electrones, fue de 60 ciclos/segundo, el diámetro del haz de electrones en el área de irradiación fue de 6 cm y la longitud de barrido a 20 cm de la salida del haz fue de 50 cm lo que -- nos da una superficie de radiación efectiva de 300 cm².

Prueba 1.

Se colocaron en el fondo de la caja de aluminio un par de dosímetros de película, forrados con plástico negro para protegerlos de la radiación de la luz y del agua. A continuación se pusieron en la caja 45 ml de agua, lo que dió un espesor de 0.45 mm de agua. En la superficie del agua se colocaron otros dos dosímetros idénticos a los anteriores y se sometieron a radiación. En la figura XVI-(a), se presenta un esquema donde se señala con (1) la zona de irradiación del haz barrido, (2) la caja a irradiar y su posición. En la figura XVI-(b) se presenta esquematizada la caja y las posiciones de sus cuatro dosímetros. Más tarde estos dosímetros se metieron a un espectrofotómetro Perkin Elmer y se obtuvieron las dosis recibidas.

Los dosímetros tuvieron la siguiente lectura:

DOSIMETRO	LOCALIZACION	DOSIS RECIBIDA
1	fondo	10.7 kGy
2	fondo	9.9 kGy
3	superficie	7.5 kGy
4	superficie	7.2 kGy

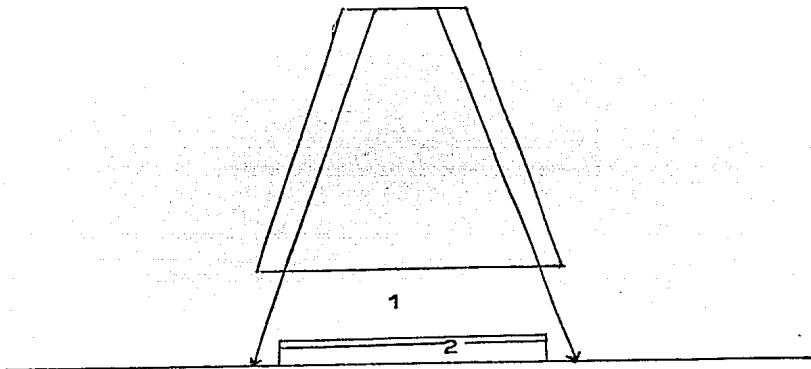


FIGURA XVI (a).- Esquematzación de la posición de la caja de aluminio (2) con respecto al haz barrido (1) o zona irradiada.

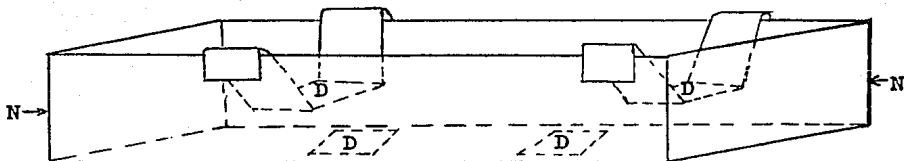


FIGURA XVI(b) Esquema de la caja de aluminio donde se muestra la posición de los dosímetros (D) en el fondo y en la superficie del agua marcado con (N) el nivel de ésta.

De la dosis recibida en los dosímetros, los dos del fondo tuvieron dosis más altas que los de la superficie, lo que permitió aumentar el espesor de agua para obtener una dosis uniforme.

Prueba 2.

Se puso en la caja de aluminio 50 ml de agua, lo que dió un espesor de agua de 0.5 mm. Se colocaron cuatro dosímetros en la misma forma que en el experimento anterior, dos de ellos en el fondo y los otros dos en la superficie. Las condiciones de irradiación se mantuvieron constantes.

Estos dosímetros tuvieron la siguiente lectura:

DOSIMETRO	LOCALIZACION	DOSIS RECIBIDA
5	fondo	9.6 kGy
6	fondo	9.0 kGy
7	superficie	8.3 kGy
8	superficie	7.3 kGy

De estos resultados de penetración se decidió agregarle otros 5 ml de agua a las cajas dado que los dosímetros del fondo seguían recibiendo una dosis más alta que los de la superficie. Se mantuvieron sin cambios todas las demás condiciones.

Prueba 3.

Se pusieron en la caja 55 ml de agua que equivalen a 0.55 mm de espesor, esta vez los dosímetros tuvieron la siguiente lectura:

DOSIMETRO	LOCALIZACION	DOSIS RECIBIDA
9	fondo	7.1 kGy
10	fondo	7.0 kGy
11	superficie	7.6 kGy
12	superficie	7.0 kGy

4.4.- Pruebas de Tiempo de Irradiación

Para conocer las dosis impartidas por segundo con una corriente fija del haz de electrones del acelerador Van de Graff, se procedió como sigue:

Se usó la curva experimental de calibración para el dosímetro (película FWT-60) (Buenfil, B. 1982) que se presenta en la figura IV. Como esta curva no da valores inferiores a 3 kGy y se necesitaba trabajar con dosis inferiores, se probó la linealidad del dosímetro frente al Van de Graff con la gráfica de tiempo contra respuesta que se presenta en la figura XVII. De esta gráfica se obtiene que la respuesta del dosímetro es lineal a muy bajas dosis, por lo que se procedió a obtener la curva de la figura XVIII en condiciones iguales a las de irradiación de las muestras de agua. Esta curva fue obtenida de los datos que se presentan en la figura XIX que se muestra a continuación:

t [seg]	D [kGy]
0	0
7	1.89 ± 0.05
10	2.7 ± 0.05
20	5.40 ± 0.05
30	8.09 ± 0.05
40	10.79 ± 0.05
50	13.49 ± 0.05
60	16.19 ± 0.05
80	21.58 ± 0.05

Figura XIX.- Datos experimentales usados para obtener la curva Dosis-tiempo usada en el presente trabajo.

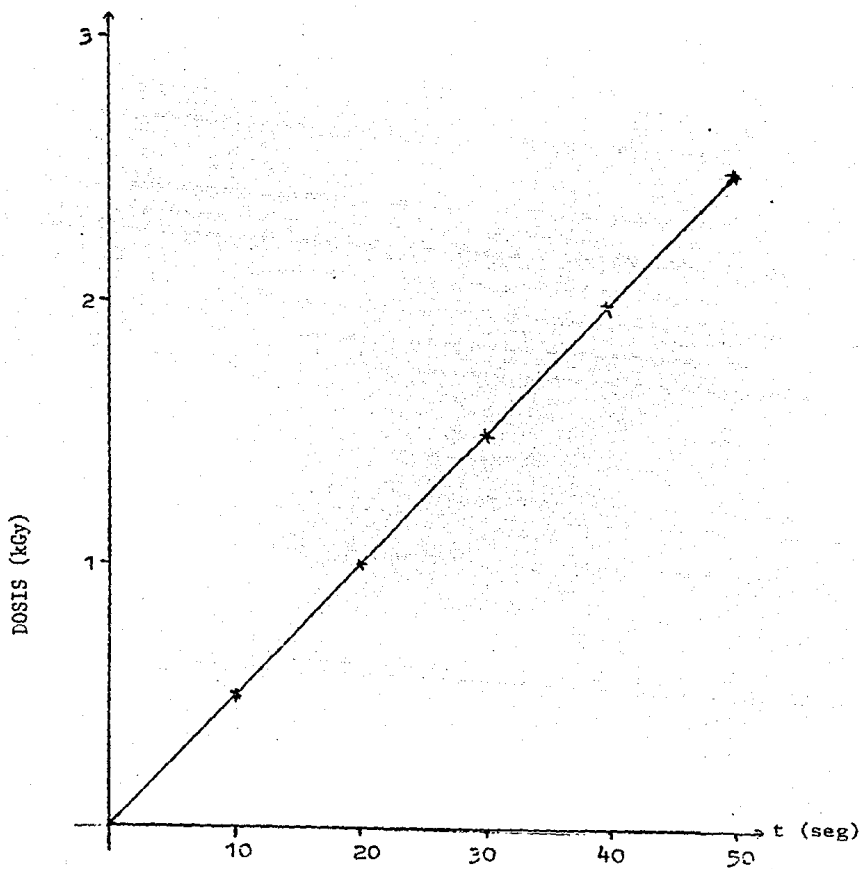


Figura XVII.- Gráfica de tiempo (t) contra respuesta (kGy) usada para probar la linealidad del dosímetro frente al Van de Graff.

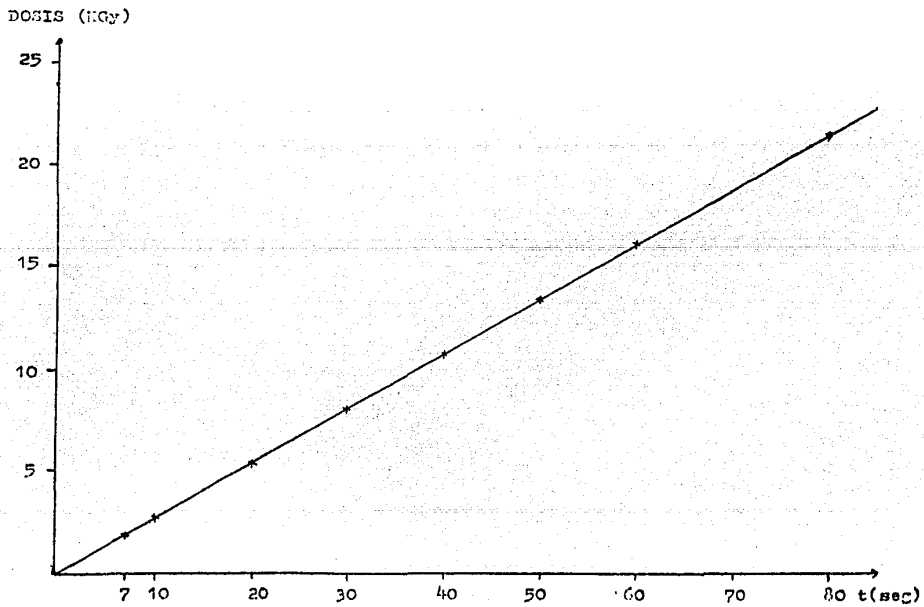


Figura XVIII.- Curva Dosis-tiempo usada para la irradiación de agua en el presente trabajo.

Con esta curva se obtuvo la dosis en cada uno de los experimentos en función del tiempo de irradiación.

Se siguieron colocando los dosímetros como en las pruebas de penetración para comparar que las lecturas del fondo y las de superficie no difieran demasiado.

El objetivo de la siguiente prueba fue el conocer el comportamiento de la curva DOSIS-SOBREVIVENCIA a bajas dosis de irradiación. De esta forma se realizó la siguiente modificación:

Se cambió la corriente a 5 microamperes y se mantuvo el voltaje para irradiar las cajas con agua.

Para diferentes tiempos se obtuvieron las siguientes dosis:

Para 10 segundos, dosis del orden de 0.5 kGy

20 segundos, dosis del orden de 1,0 kGy

30 segundos, dosis del orden de 1.5 kGy

40 segundos, dosis del orden de 2.0 kGy

50 segundos, dosis del orden de 2.5 kGy

como lo muestran las tablas de resultados.

4.5.- Técnica de Multitubos de Fermentación

En esta prueba se inoculan una serie de tubos conteniendo -- caldo lactosado o caldo con lauril triptosa, con cantidades decimales de agua.

4.5.1.- Prueba Presuntiva

Este exámen se denomina presuntivo puesto que las reacciones observadas pueden ser provocadas por otros organismos presentes -- en el agua sin ser coliformes. Así que debe confirmarse la pre-

sencia de organismos coliformes.

En la prueba presuntiva se siembran tres tubos que contienen 10 ml de caldo de lauril triposa lactosado y dos series de tres tubos cada uno con la muestra diluída. Con una pipeta estéril se siembra en la primera serie de tubos, 10 ml de la muestra en cada tubo. En las otras dos series de medio diluído se siembran 1 ml de la muestra en una y 0.1 ml de la muestra en la otra. En total se siembran nueve tubos de cultivo por cada muestra.

Esta prueba no debe usarse sin confirmación. Sin embargo, puede aplicarse al exámen de cualquier muestra de desecho, drenaje o agua altamente contaminada. No es una prueba adecuada para la aceptación de agua potable.

Esta prueba se aplica a efluentes de plantas de tratamiento de aguas antes de ser cloradas o de aguas que se encuentren tan contaminadas que no son de tomarse en consideración para usarse como potables.

Los tubos inoculados se incuban a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Después de 24 ± 2 horas se agita suavemente cada tubo, se examina, y si no se ha formado gas en el tubo Durham invertido, se reincuba y se reexamina al cabo de 48 ± 3 horas. En cada exámen se registra la presencia o ausencia de gas no importando la cantidad en esta prueba, pero pueden ser útiles para registros más detallados con valor para propósitos de investigación.

Interpretación

La formación de gas en cualquier cantidad en el tubo interior

Inocular tubos de fermentación con caldo de lauril
triptosa o caldo lactosado e incubar 24 ± 2 hr a
 $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

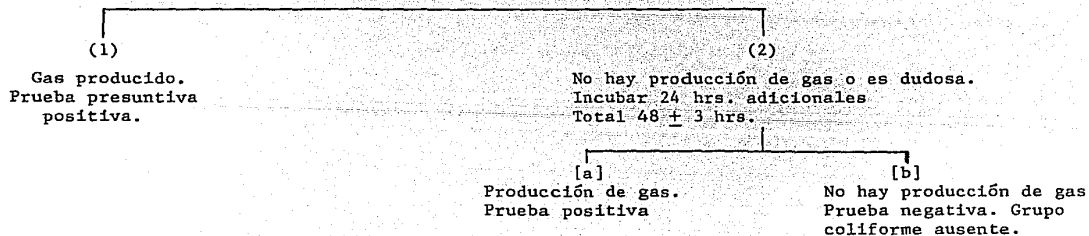


Figura XX.- Esquematización de la Prueba Presuntiva.

de fermentación dentro de las 48 + 3 horas constituye una prueba - positiva. Las lecturas se reportan en forma fraccionaria y el numerador indica el número de tubos con prueba positiva, el denominador el número de tubos sembrados. Así cuando se registran los siguientes datos: 3/3, 2/3, 1/3 son razones fraccionarias y significa que tres tubos son positivos en la dilución de 10 ml de muestra; dos tubos son positivos en la dilución de 1 ml y 1 tubo es positivo para la tercera serie de 0.1 ml de dilución. La serie es de tres tubos en este caso llevándose los positivos a una prueba confirmativa.

Pero si se encuentra el siguiente registro de 0/3,0/3,0/3 se considera resultado negativo ya que todos los numeradores presentan cero tubos positivos y se concluye el exámen.

En la figura XX se presenta una esquematización de la prueba presuntiva.

4.5.2.- Prueba Confirmativa

La prueba confirmativa se aplica a muestras de agua potable o de aguas en proceso de potabilización. También se aplica en muestras de efluentes clorados de las plantas de purificación de aguas negras, así como en muestras de balnearios.

Después de la prueba presuntiva se deben confirmar la presencia de organismos coliformes, en particular de Escherichia coli sometiendo a subcultivo todos los tubos de fermentación primaria que hayan presentado cualquier cantidad de gas al cabo de 24 horas o 48 de incubación.

Inocular tubos de fermentación con caldo de lauril
triptosa o caldo lactosado e incubar 24 ± 2 hrs a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

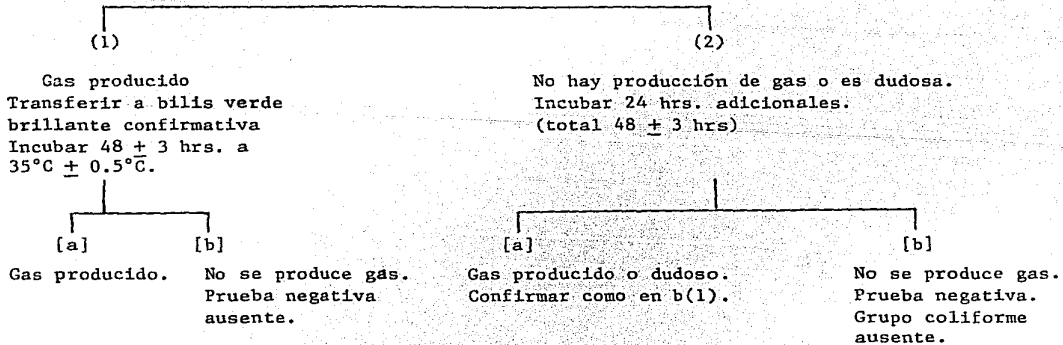


Figura XXI.- Esquemmatización de la Prueba Confirmativa.

Si aparece una fermentación activa en tubos de fermentación - primaria antes de las 24 horas, es preferible transferirla a medio confirmativo sin esperar las 24 horas completas. Si los otros tu bos restantes muestran producción de gas al final de las 48 horas de incubación, se someten éstos a la prueba confirmativa.

Resiembra

Para resembrar se agita o se rota suavemente el tubo de fermen tación primaria que muestre gas, se toma una asada de cultivo y se transfiere a un tubo con caldo de bilis verde brillante, agitando con cuidado el inóculo.

Se incuban los tubos con caldo de bilis verde brillante por 48 ± 3 horas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Las lecturas se efectúan a las 24 horas de incubación. La formación de gas en cualquier cantidad en el tubo invertido en cualquier momento dentro de 48 ± 3 horas cons tituye una prueba confirmativa positiva, puesto que aquí se inhi-- ben microorganismos no coliformes fermentadores de lactosa.

Al encontrar que la prueba confirmativa es positiva, se puede determinar el número más probable (NMP) de bacterias coliformes de la muestra.

En la figura XXI se presenta una esquematización de la Prueba Confirmativa.

4.5.3.- Prueba Completa

Se aplica en el exámen de aguas cuando los resultados se van a aplicar para el control de la calidad de agua cruda o potabili zada. Los resultados del exámen se expresan en términos de NMP.

El valor obtenido es un medio para la estimación de la densidad de coliformes y establecer su calidad sanitaria.

En esta prueba se usan los datos de la prueba confirmativa para establecer definitivamente la presencia de bacterias coliformes y obtener resultados del control de calidad.

Siembra

Se toma el tubo con caldo de bilis verde brillante con producción de gas, se inclina el tubo para evitar que el asa de siembra tome la nata o sobrenadante. Se toma una asada del caldo de bilis con producción de gas. La asada se siembra en estrías en el medio de cultivo de Eosina y Azul de Metileno (EAM) contenida en una caja de petri; se incuban las placas invertidas a 35 ± 0.5 °C por 24 ± 2 horas.

Interpretación

Las colonias que se desarrollan en la placa de agar con EAM se llaman típicas cuando son nucleadas con o sin lustre metálico; atípicas cuando son anucleadas, opacas, mucoides y rosas después de 24 horas de incubación; o negativas cuando son todas las restantes.

Resiembra

De cada una de estas placas se escogen una o más colonias de coliformes típicas. Con el asa de siembra previamente flameada se pescan y se inoculan en un tubo de fermentación con caldo lactosado y a un tubo con agar nutriente inclinado en las mismas condiciones de esterilidad que en la siembra.

Se incuban los tubos secundarios con caldo y con agar nutriente inclinado a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Si no se ha producido gas, se reincuban y se examinan a 48 ± 3 horas.

Interpretación

Cada uno de los tubos secundarios de caldo lactosado que ha--
yan producido gas se utilizan para hacer tinciones de Gram a par--
tir de sus correspondientes tubos de agar nutriente inclinado.

La formación de gas en el tubo de fermentación secundaria y
la demostración de bacterias Gram-negativas, no formadoras de espo--
ras, de forma de bastoncillo en el agar nutriente, constituye una
Prueba Completa satisfactoria demostrando la presencia de un miembro
del grupo coliforme.

4.6.- Estimación de la Densidad de Coliformes

Es costumbre reportar los resultados de las pruebas de coli--
formes por el índice del Número Más Probable (NMP), no se trata de
una enumeración de bacterias coliformes ya que es solamente un "ín
dice" de bacterias coliformes más probable que cualquier otro de
los resultados mostrados por el exámen de laboratorio (American
Public Health Association, 1980).

La precisión de un tubo de fermentación es más bien baja, aún
cuando se usen varios tubos de fermentación, por lo que la preci--
sión de los resultados obtenidos no es muy alta (American Public
Health Association, 1980).

Se registran el número de resultados positivos del grupo de

organismos coliformes (tanto presuntivos, confirmativos o completos) que resultan de la múltiple porción decimal de siembras y se registra en términos de "número más probable" (NMP). El NMP se da en tablas donde se incluye el 95% de confiabilidad a los límites de cada valor del NMP determinado.

El NMP para combinaciones que no aparecen en las tablas o para combinaciones de tubos o diluciones, se puede estimar por la fórmula de Thomas:

$$\text{NMP}/100\text{ml} = \frac{\text{Número de tubos positivos} \times 100}{\text{ml. de muestra en tubos negativos} \times \text{ml de muestra en todos los tubos}}$$

Este índice del NMP, es un elemento básico para determinar la calidad del agua de consumo o reuso, desde el punto de vista sanitario, en relación con su contenido de bacterias.

En cuanto a los porcentajes de sobrevivencia y efectividad reportados al final de este trabajo, se calcularon de la siguiente forma:

$$\text{E\%} = \frac{\text{No} - \text{N}}{\text{No}} \times 100\%$$

$$\text{S\%} = 100 - \text{E\%}$$

donde E es la efectividad, No es el número inicial de bacterias coliformes, N es el número de bacterias coliformes después de ser irradiadas y S es la sobrevivencia.

CAPITULO V
TABLAS DE RESULTADOS

TABLA (I)

FECHA 12 MARZO 1985 HORA 7:20 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 15°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C
 OBSERVACIONES.- Se muestreó con el nivel de agua en la cisterna BAJO.

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100ml	N/No	ln N/No	%S	%E
0.0	No= 1.1×10^6	1	0.0	100	0.0
1.886	4.6×10^3	4.18×10^3	-5.447	0.418	99.582
2.698	9.3×10^2	8.45×10^2	-7.076	0.084	99.915
5.396	2.3×10^2	2.09×10^2	-8.473	0.0209	99.979
8.094	93	8.45×10^1	-9.378	0.0084	99.991
10.792	46	4.18×10^1	-10.082	0.0041	99.995
13.49	240	2.18×10^2	-8.431	0.0218	99.978

* Estos valores se presentan graficados en la figura XXII.

TABLA (II)

FECHA 13 MARZO 1985 HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 18°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C
 OBSERVACIONES.- Nivel del agua en la cisterna muy alto (llena al límite).

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100ml	N/No	ln N/No	%S	%E
0.0	No= 0.0	0.0	-	0	100
1.886	0.0	0.0	-	0	100
2.698	0.0	0.0	-	0	100
5.396	0.0	0.0	-	0	100
8.094	0.0	0.0	-	0	100
10.792	0.0	0.0	-	0	100
13.49	0.0	0.0	-	0	100

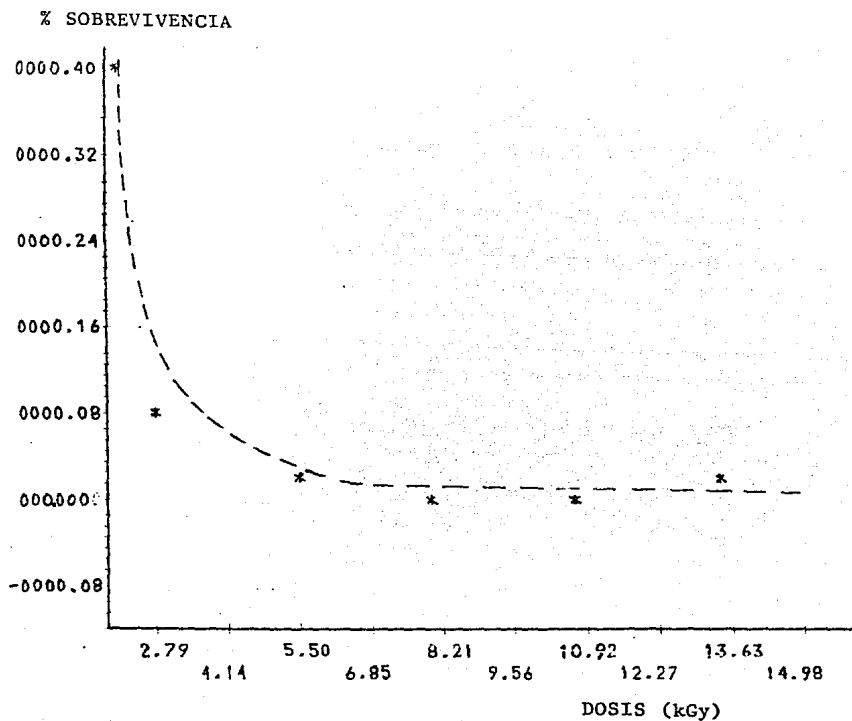


Figura XXII.- Curva de Sobrevivencia (dosis-respuesta) de coliformes en el efluente filtrado antes de la cloración.

12 MARZO 1985

TABLA (III)

FECHA 19 MARZO 1985 HORA 7:05 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 18.0°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C
 OBSERVACIONES.- Se muestreó con el nivel del agua en la cisterna BAJO.

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100ml	N/No	ln N/No	%S	%E
0.0	No= 4.6×10^5	1	0.0	100	0.0
1.886	1.5×10^3	3.26×10^{-3}	-5.72	0.326	99.674
2.696	1.5×10^3	3.26×10^{-3}	-5.72	0.326	99.674
5.396	2.4×10^4	5.21×10^{-2}	-2.954	5.21	94.79
8.094	1.1×10^3	2.39×10^{-3}	-6.036	0.239	99.761
10.792	460	1.00×10^{-3}	-6.907	0.1	99.9
13.49	460	1.00×10^{-3}	-6.907	0.1	99.9

* Estos valores se presentan graficados en la figura XXIII.

TABLA (IV)

FECHA 20 MARZO 1985 HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 17.5°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C
 OBSERVACIONES.- El nivel del agua en la cisterna BAJO.

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100ml	N/No	ln N/No	%S	%E
0.0	NO= 2.4×10^5	1	0.0	100	0.0
1.886	2.4×10^3	1.00×10^{-2}	-4.605	1.0	99.0
2.698	4.6×10^3	1.9×10^{-2}	-3.963	1.9	98.1
5.396	3.9×10^2	1.62×10^{-3}	-6.425	0.162	99.838
8.094	93	3.87×10^{-4}	-7.855	0.038	99.961
10.792	75	3.12×10^{-4}	-8.07	0.031	99.968
13.49	43	1.79×10^{-4}	-8.628	0.017	99.982

* Estos valores se representan graficados en la figura XXIV.

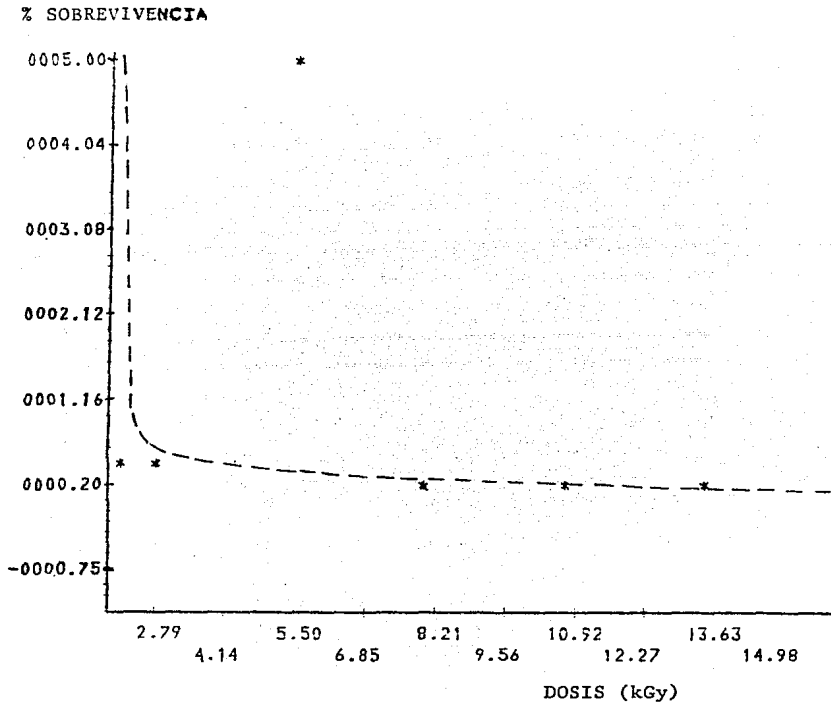


Figura XXIII.- Curva de Sobrevivencia (dosis-respuesta) de coliformes en el efluente filtrado antes de la cloración.

19 MARZO 1985

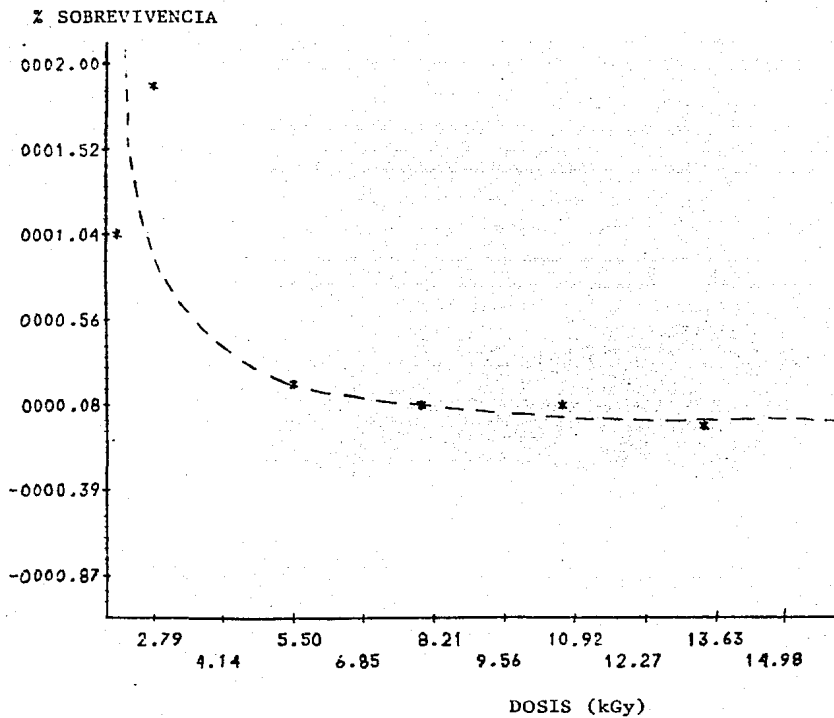


Figura XXIV.- Curva de Supervivencia (dosis-respuesta) de coliformes en el efluente filtrado antes de la cloración.

20 MARZO 1985

TABLA (V)

FECHA 27 MARZO 1985 HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C
 TEMPERATURA AMBIENTE 17.5°C

OBSERVACIONES.- Con objeto de determinar la dosis necesaria para aproximar los datos cada vez más a cero sobrevivientes, se incrementaron las dosis a 21.584 kGy.
 Nivel del agua en la cisterna bajo.

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100 ml	N/No	ln N/No	ZS	ZE
0.0	No= 1.1×10^6	1	0.0	100	0.0
5.396	2.3×10^2	2.09×10^{-4}	-8.473	0.0209	99.9791
8.094	4.6×10^3	4.18×10^{-3}	-5.477	0.418	99.582
10.792	2.3×10^2	2.09×10^{-4}	-8.473	0.0209	99.9791
13.49	2.4×10^3	2.18×10^{-3}	-8.431	0.0218	99.978
16.188	2.4×10^3	2.8×10^{-3}	-6.128	0.218	99.782
21.584	28	2.5×10^{-5}	-10.596	0.0025	99.9975

* Estos valores se presentan graficados en la figura XXV.

TABLA (VI)

FECHA 28 MARZO 1985. HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 17.5°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C

OBSERVACIONES.- Nivel del agua en la cisterna muy ALTO (cisterna llena).

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100 ml	N/No	ln N/No	ZS	ZE
0.0	No= 4.0×10^3	1	0	100	0.0
5.396	0.0	-	-	0.0	100
8.094	0.0	-	-	0.0	100
10.792	0.0	-	-	0.0	100
13.49	0.0	-	-	0.0	100
16.188	0.0	-	-	0.0	100
21.584	0.0	-	-	0.0	100

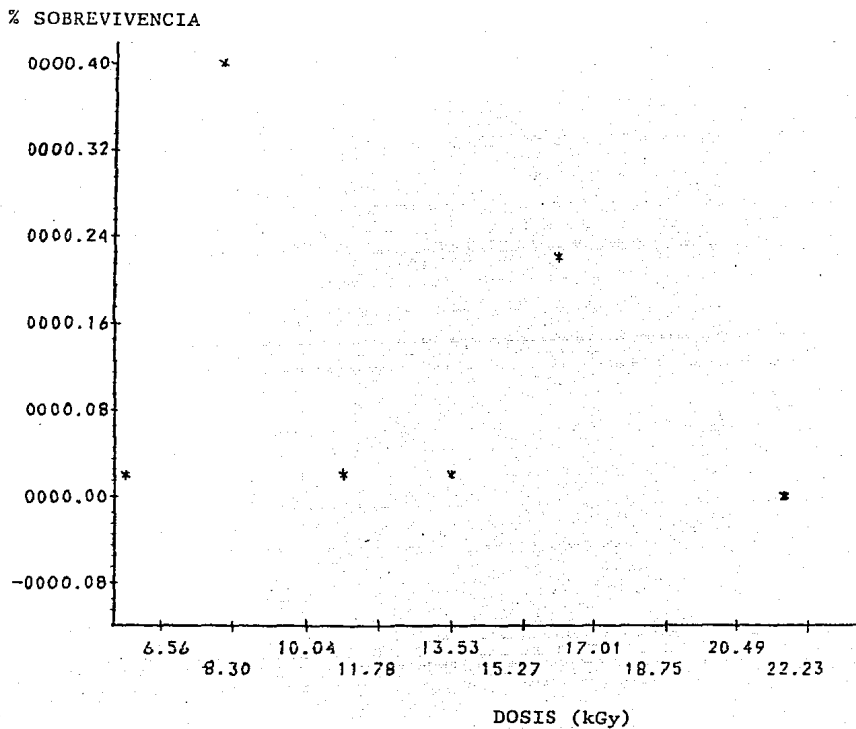


Figura XXV.- Curva de Supervivencia (dosis-respuesta) de coliformes en el efluente filtrado antes de la cloración.

27 MARZO 1985

TABLA (VII)

FECHA 23 ABRIL 1985 HORA 7:20 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 18.5°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 18.0°C

OBSERVACIONES.- Con objeto de determinar el comportamiento de las curvas de sobrevivencia a bajas dosis, se realizaron los siguientes experimentos y cuyos datos se presentan a continuación.

El nivel del agua en la cisterna BAJO. Se tomó otra muestra de agua del efluente clorado (500 ml).

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100 ml	N/No	ln N/No	ZS	ZE
0.0	No = 1.1×10^6	1	0.0	100	0.0
0.50	2.4×10^4	2.18×10^{-2}	-3.825	2.18	97.82
1.00	9.3×10^3	8.45×10^{-4}	-7.076	0.0845	99.915
1.50	$\geq 2.4 \times 10^3$	2.18×10^{-3}	-6.128	0.218	99.782
2.00	$\geq 2.4 \times 10^3$	2.18×10^{-3}	-6.128	0.218	99.782
2.50	1.1×10^3	1.0×10^{-3}	-6.907	0.1	99.900
CLORO	2.4×10^4	2.18×10^{-2}	-3.825	2.18	97.82

* Los resultados obtenidos se anotan en la figura XXVI.

TABLA (VIII)

FECHA 24 ABRIL 1985 HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 18.5°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 18.0°C

OBSERVACIONES.- El nivel del agua en la cisterna muy ALTO. Se tomó otra muestra del efluente clorado (500 ml).

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100 ml	N/No	ln N/No	ZS	ZE
0.0	No = 0.0	0	-	0	100
0.50	0.0	0	-	0	100
1.00	0.0	0	-	0	100
1.50	0.0	0	-	0	100
2.00	0.0	0	-	0	100
2.50	4.0	0	-	-	-
CLORO	0.0	0	-	0	100

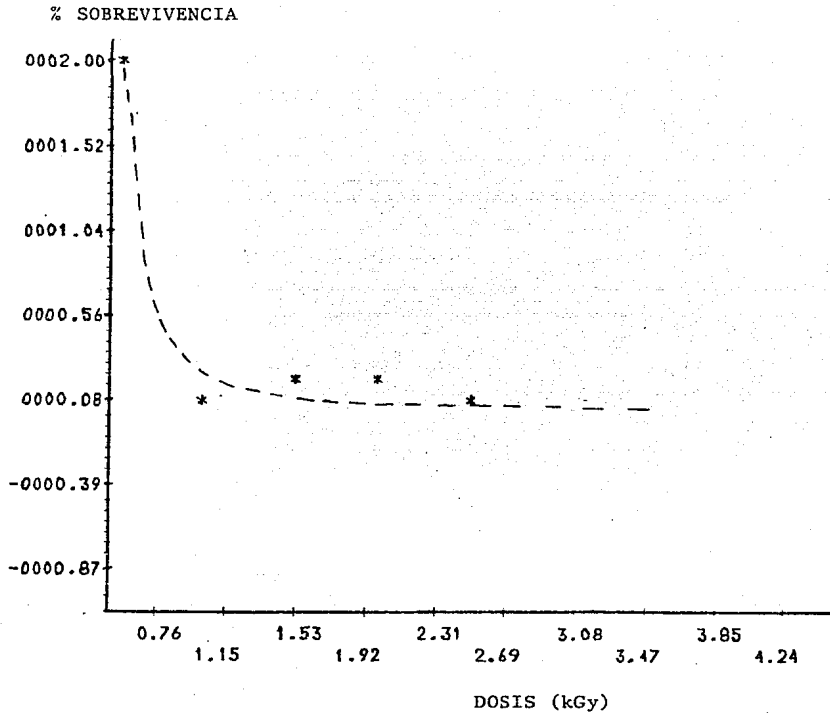


Figura XXVI.- Curva de Supervivencia (dosis-respuesta) de coliformes en el efluente filtrado antes de la cloración.

23 ABRIL 1985

TABLA (IX)

FECHA 2 MAYO 1985 HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 20.0°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 18.0°C

OBSERVACIONES.- Nivel del agua en la cisterna muy ALTO (llena). Se tomó otra muestra de agua del efluente clorado (500 ml).

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100 ml	N/No	ln N/No	%S	%E
0.0	No= 0.0	0	-	0.0	100
0.50	0.0	0	-	0.0	100
1.00	0.0	0	-	0.0	100
1.50	0.0	0	-	0.0	100
2.00	0.0	0	-	0.0	100
2.50	0.0	0	-	0.0	100
CLORO	0.0	0	-	0.0	100

TABLA (X)

FECHA 3 MAYO 1985 HORA 7:30 AM
 TEMPERATURA AMBIENTE 13.0°C
 TEMPERATURA DEL AGUA 17.5°C

OBSERVACIONES.- Nivel del agua en la cisterna muy ALTO (llena). Se tomó otra muestra de agua del efluente clorado 500 ml.

DOSIS (kGy)	NUMERO COLI/100 ml	N/No	ln N/No	%S	%E
0.0	No= 4	1	0.0	100	0
0.50	0.0	0	-	0	100
1.00	0.0	0	-	0	100
1.50	0.0	0	-	0	100
2.00	0.0	0	-	0	100
2.50	0.0	0	-	0	100
CLORO	4	1	0.0	100	0

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En las tablas de resultados (de la I a la X), se dan las cifras de la DOSIS, número de coliformes por cada 100 ml (NUMERO COLI /100 ml); la relación del número inicial de coliformes después de ser irradiadas con respecto al número inicial de ellas (N/No) para así obtener el logaritmo natural ($\ln N/No$) que es una forma de graficar los resultados.

Las gráficas de los resultados se presentan con el porcentaje de sobrevivencia (%S) para poder establecer una comparación con los resultados obtenidos por el High Voltage Research Laboratory, 1980 (figura VI). En cuanto al porcentaje de efectividad (%E) se da para poder establecer fácilmente una dosis de inactivación como lo proponen Stegman, H. (1977) y Mossel, D.A.A. (1977). La efectividad que se requiera, está en función del uso o destino del agua tratada.

Al analizar las tablas de resultados, se observan variaciones en el número más probable de coliformes. Estas variaciones pueden deberse a varios factores, como son la posible relación de la cantidad de agua en la cisterna con la dilución de las bacterias en el agua.

En cuanto a la efectividad (E) del tratamiento convencional -- con cloro, se puede apreciar en las tablas VII del 23 de Abril y X del 3 de Mayo de 1985.

Otro factor que puede influir en que el índice de bacterias en el agua después de ser irradiada no siempre disminuya con el aumen-

to de las dosis de radiación, es que se trabajó con unas eficiencias promedio del orden del 99%. A este nivel las fluctuaciones de la sobrevivencia (S) son de décimas del por ciento.

Si bien es cierto que la desinfección de aguas negras con radiación es efectiva en etapas terciarias, la adición posterior al agua irradiada de cierta cantidad de cloro es importante para evitar la multiplicación de organismos patógenos que puedan sobrevivir, así como para atacar ciertos organismos que pudieran infiltrarse en las tuberías durante la trayectoria del agua a su destino final.

La adición de cloro (al agua) posterior a la desinfección por electrones energizados, trae como consecuencia la necesidad de usar una menor cantidad de cloro en el agua.

En las gráficas II, III, y IV se observa que existe una relación entre la efectividad del tratamiento y el número inicial de bacterias coliformes. De las gráficas III y IV, con un número inicial de coliformes del orden de 10^5 , se obtiene una eficiencia del 99% con una dosis del orden de 3 kGy. Mientras que en la gráfica II donde el número inicial de coliformes es de un orden de magnitud mayor (10^6), la dosis requerida para obtener el mismo porcentaje de eficiencia es considerablemente menor (1.3 kGy).

Esto coincide con las observaciones hechas por el High Voltage Research Laboratory (1980), en las cuales con casi dos órdenes de magnitud más (que en el caso del presente trabajo), el número inicial de bacterias y la eficiencia es mucho mayor, por lo que parece ser que este procedimiento resulta ideal para aguas con grandes

concentraciones bacterianas, cosa que no sucede con otros métodos de tratamiento convencionales. (Ver figura XXVII).

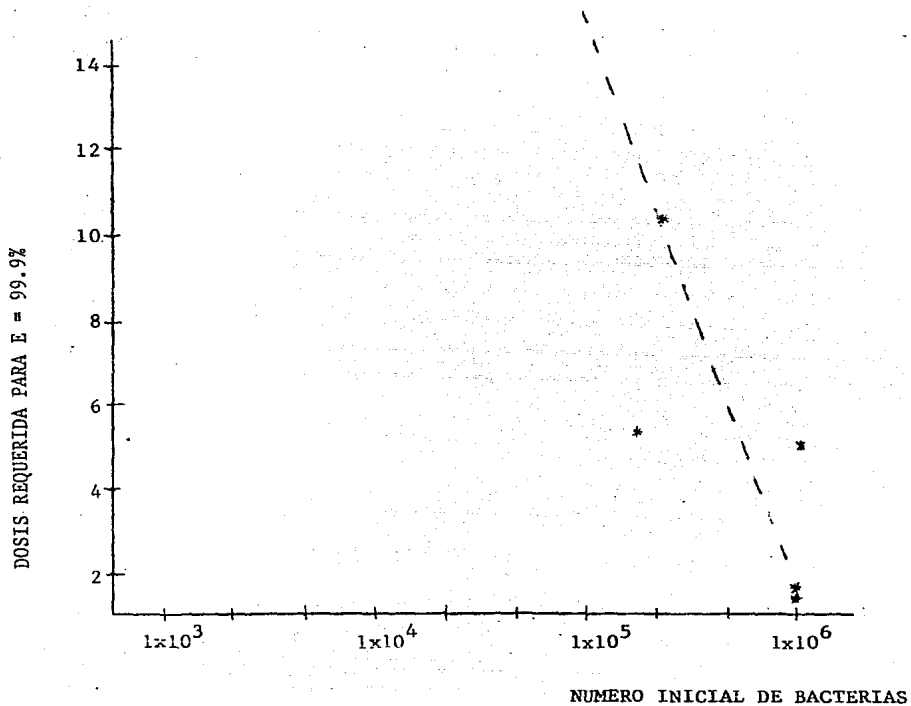


Figura XXVII.-Curva de la Dosis Requerida para obtener una eficiencia del orden del 99.9% contra el número inicial de bacterias.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSO-
CIATION (1980)

"Standard Methods for the Exami-
nation of Water and Wastewater"
15th Edition
U.S.A.

AUGENSTEIN/MASON/ROSEMBERG
(1964)

"Physical Processes in Radiation
Biology". Academic Press.
U.S.A.

BALLANTINE, D.S.
(1975)

"Alternative High-Level Radiation
Sources for Sewage and Waste Water"
IAEA-SM-194/501
Washington, D.C.

BOND, R.G. y STRAUB, C.P.
(1974)

"CRC Handbook of Environmental Con-
trol: Waste Water Treatment and Dis-
posal". Vol IV
CRC Press Inc.
U.S.A.

BRYAN, BRYAN y BRYAN
(1974)

"Bacteriología" Principios y Prác-
ticas". Cía. Editorial Continental.
CECSA
México.

BUENFIL BURGOS, A.E.
(1982)

"Uso de Películas de Tinte Radiocró-
mico como Dosímetros Secundarios".
Tesis Para Obtener el Título de
Físico. U.N.A.M.

BURDON, K.L. y WILLIAMS, R.P.
(1982)

"Microbiología"
Publicaciones Cultural, S.A.
6a Reimpresión. Ediciones Olimpia.
México.

BURROWS, W.
(1969)

"Tratado de Microbiología"
Nueva Editorial Interamericana. S.A.
de C.V. 19a Edición.
México.

CLELAND, M.R., FARREL, J.P.,
MALNATI, R.L. y MORGANSTERN, K.H.
(1975)

"The Use of High Power Electron Beam
Radiation for the Treatment of Muni-
cipal and Industrial Wastes".
RADIATION DYNAMICS, Inc.
IAEA-SM-194/502
U.S.A.

- CLIFTON, C. E.
(1950) "Introduction to the Bacteria"
Mc Graw-Hill Book Co. Inc.
1a Edición.
U.S.A.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION.
(1965) "Control of Communicable Diseases
in Man". 10a Edición.
U.S.A.
- DERTING, H.
(1970) "Molecular Radiation Biology"
Springer-Verlag.
Berlín, Alemania.
- EPP, C.
(1975) "Experience With A Pilot Plant for
the Irradiation of Sewage Sludge"
Experiments on the Irradiation of
Viruses in Sewage Sludge After Ra-
diation Treatment.
IAEA-SM-194/607
Munich, Alemania.
- GOUIRAN, R.
(1967) "Partículas y Aceleradores"
Biblioteca para el Hombre Actual.
Mc Graw-Hill Book Co.
Madrid, España.
- HIGH VOLTAGE RESEARCH LABORATORY
(Dec, 31, 1980) "High Energy Electron Treatment of
Wastewater Liquid Residuals".
National Science Foundation,
Massachusetts, U.S.A.
- JAWETZ, E". MELNICK, J.L. y
ADELBERG, E.A. (1975) "Manual de Microbiología Médica"
Ed. El Manual Moderno, S.A.
México, D.F.
- KATS, L. y PENFOLD, S.A.
(1952) "Range-Energy Relation for Electrons
and the Determination of Beta-Ray
End-Point Energies by Absorption"
Rev. Mod. Phys. 24, 28.
- KAKAREKA, J.P.
(1980) "Degradation of PCB's and Kepone in
Aqueous Solutions" Electron Desin-
fection of Municipal Sludge for
beneficial Disposal Seminar.
Boston, U.S.A
- LAWRENCE, C.
(1971) "Celular Radiobiology"
Studies in Biology Series #30
Edward, Arnold (Publishers) Ltd.
London.

- LEMKE, H.S. y SINSKEY, A.J.
(1975) "Viruses and Ionizing Radiation in Respect to Waste-water Treatment"
IAEA-SM-194/203
Massachusetts, U.S.A
- MANN, W.B. y GARFINKEL, S.A.
(1968) "Radiactividad y su Medida"
Editorial Reverté Mexicana, S.A.
Van Nostrand Momentum Books 10
México, D.F.
- MERMIER, P. y SHELDON, E.
(1969) "Physics of Nuclei and Particles"
Academic Press.
U.S.A.
- MASAAKI T. y AKIHISA, S.
(Sept-Oct 1981) "Radiation Treatment of Waste Water"
International Conference on Industrial
Application of Radioisotopes & Radia-
tion Technology.
IAEA-CN-40/105
- MC GAUHEY, P.H.
(1968) "Engineering Managment of Water Quality"
Mc Graw-Hill Series in Water Resources
& Environmental Engineering.
Mc Graw-Hill
U.S.A
- MOSSEL, D.A.A.
(1977) "Teh Elimination of Enteric Bacterial
Pathogens form Food and Feed of Animal
Origin by Gamma Irradiation with Parti-
cular Reference to Salmonella Irradia-
tion"
IFFIT-Trining Course, L-84
- NIELSON, N.E.
(1975) "The Need for the Use of High-Level
Radiation in Water Treatment"
Aqueonics, Inc.
IAEA-SM-001
- PELCZAR, M.J., REID, R.D. y
CHAN, E.C.S. (1982) "Microbiología"
ED. Mc Graw-Hill de México, S.A.
2a. Edición en Español
México.
- SARH, SSA.
(1973) "Reglamento Para la Prevención y
Control de la Contaminación de
Aguas"
Impreso en Talleres Gráficos de la
Nación.
México.

SALLE, A.J.
(1965)

"Bacteriología"
Editorial Gustavo Gil, S.A.
2a. Edición
Barcelona, España.

SPINKS, J. y WOODS, R.
(1964)

"An Introduction to Radiation
Chemistry"
John Wiley & Sons, Inc.
U.S.A.

STEGMAN, H.
(1977)

"Basic Effects of Radiation on
Microorganisms"
IFFIT-Training Course L 61a-1 y 2

STAINER, R.Y., ADELBERG, E.A.
INGRAHAM, J.L. y WHEELIS, M.L.
(1979)

"Introduction to the Microbial World"
Prentice-Hall, Inc. 07632
N.J., U.S.A.

WATSON, J.D. y CRICK, F.H.C.
(1953)

"Molecular Structure of Nucleic
Acids" A Structure for Desoxyribose
Nucleic Acid.
Study of the Molecular Structure of
Biological Systems.
Cavendish Lab. Cambridge'
Nature, April 25, 1953'