

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

"EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE APLICACIÓN DE AGUAS RESIDUALES
TRATADAS CON OZONO EN LA AGRICULTURA"

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

NAIR GARCÍA RAMÍREZ

MÉXICO, D.F. 2006





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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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



Jurado asignado:

AURORA IRMA ORTEGÓN ÁVILA Presidente

HILDA ELIZABETH CALDERÓN VILLAGÓMEZ Vocal

MARÍA TERESA ORTA LEDESMA Secretario

1er. Suplente ENRIQUE MARTÍNEZ MANRIQUE

2º. Suplente MARTHA GILES GÓMEZ

INSTITUTO DE INGENIERÍA, COORDINACIÓN DE INGENIERÍA AMBIENTAL, UNAM.

Asesor

Dra. Ma. TERESA ORTA LEDESMA Dra. Ma. NEFTALÍ ROJAS VALENCIA **Supervisor Técnico**

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por concederme la vida con todos sus momentos, dulces y amargos.

A mis hermanos que aunque ausentes y lejanos compartieron el mismo seno donde fui acogida.

A ti mi hermana fluidal con todo mi cariño, porque llevaste a cuestas el deber de cuidarme y protegerme, viviendo conmigo y lejos también, porque los lazos inmediatos son desplazados en ocasiones por los cotidianos gestos de amor compartidos y realmente valorados; lo que soy hoy día es mi logro pero se alimentó de ti, te quiero.

A mi familia entera que ha tenido que soportar mis desdenes impregnados de rebeldía y ha intentado quererme sin importar mi desapego a las reglas sociales que toman como propias.

A ti por atravesar conmigo tantas situaciones, por ser mi interlocutora en el silencio y mi más ferviente confidente y cómplice, por llevarme de la mano cuando el camino inhóspito me hacía flaquear las piernas, por tus sonrisas y tu llanto que de verdad saben a amistad.

A ti que me arrancas el corazón y la sonrisa, que sufres mis fracasos y alientas mis desvelos, que te acuerdas de mí cuando el mundo entero me olvida, que te mantienes en pie para evitar que yo me derrumbe, siempre tu, siempre el mismo, dulce y transparente como un niño y el más estoico de los hombres.

A mi hermandad de la facultad, mis grandes amigos, siempre dispuestos a consolarme y ayudarme pero por sobre todo a reír conmigo y brindarme un abrazo en tiempos de sequía. Los nombres quedan ocultos a la vista pero impresos en los recuerdos y las vivencias del día a día; gracias a todos ustedes por entregarse completamente y dejarme ocupar una parte de sus moradas.

A mi querida facultad, por todos los agobios y alegrías otorgadas en mi larga estancia en sus salones y el trepidante golpeteo de sus escalones y pasillos; madre de mi formación y espía de mis sueños, pilar de mis valores y cuna de mis esperanzas.

A mis profesores, a todos aquellos capaces de arriesgarse a salir del sistema en favor del conocimiento, a todos aquellos que creyeron en mí y más aun a aquellos que no lo hicieron porque me obligaron a mirar bajo los escombros del carácter para resarcir mis fuerzas .

A la danza que conocí en mi paso por la universidad y me hizo liberar el alma y conjuntarla con la mente, que fue además alimento de carne y espíritu, que me hizo conocer personas muy valiosas en aquel rincón bohemio de todas las tardes.

A mis amigos de andanzas, de innumerables encuentros y desencuentros, de estudio y de parrandas. Aunque breves los espacios largos los momentos.

A mi asesora técnica de tesis, Ma. Neftalí Rojas Valencia, cuyo apoyo fue crucial para llevar a cabo este proyecto de mi vida y que incondicionalmente me brindó su amistad.

Finalmente doy gracias al apoyo otorgado por el Instituto de Ingeniería Ambiental de la UNAM y a la Dra. Ma. Teresa Orta Ledesma para llevar a término mi proyecto de tesis.

INDICE

1.0	RESUMEN	I
2.0	INTRODUCCIÓN	1
3.0	OBJETIVOS	3
3.	1 Objetivo General	3
3.2	2 Objetivos Específicos	3
4.0	HIPÓTESIS	3
5.0	MARCO TEÓRICO	4
5.	1 Problemática de la reutilización de las aguas residuales	4
5.2	2 Uso del ozono en el tratamiento de aguas	9
5.3	3 Propiedades fisicoquímicas del ozono	- 10
5.4	4 Generación de Ozono	- 12
5.	5 Reactividad del ozono y capacidad desinfectante	- 13
6.0	ANTECEDENTES	- 16
6.	1 Uso de las aguas residuales en el riego agrícola	- 16
6.2	2 Uso del ozono en el tratamiento de aguas residuales	- 19
	3 Aplicación de las aguas residuales tratadas con ozono en el riego	
ag	ırícola	- 20
7.0	METODOLOGÍA	- 22
7.	1 Primera etapa: técnicas analíticas y adecuación del equipo	- 22
7.2	2 Segunda etapa: caracterización del agua residual cruda	- 26
7.3	3 Tercera etapa: evaluación del agua residual tratada con ozono en el	
cu	Itivo de la lechuga	- 29
8.0	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 30
8.	1 Caracterización del agua residual cruda y comparación de cloro y ozo	no
СО	mo desinfectantes	- 30
8.2	2 Comparación del tratamiento de aguas residuales con una dosis de	
oz	ono de 36.8 mg/L a valores de pH de 5 y 7	- 34
	8.2.1. Análisis microbiológico del agua tratada con ozono	- 34

8.2.2. Análisis fisicoquímico del agua tratada con ozono36
8.2.3. Seguimiento microbiológico a lo largo del tratamiento de ozonización
38
8.3 Evaluación del agua residual tratada con ozono en el cultivo de lechuga
38
8.3.1. Evaluación del crecimiento de hojas y raíces de las lechugas 39
8.3.2. Evaluación microbiológica de hojas y raíces de las lechugas41
9.0 CONCLUSIONES 45
10.0 BIBLIOGRAFÍA 47
11.0 ANEXOS 55
Anexo I. Muestreo en la planta de tratamiento de aguas residuales
municipales55
Anexo II. Construcción y acondicionamiento del vivero destinado al cultivo de
lechugas57
Anexo III. Etapas del crecimiento de las lechugas romanas (Lactuca sativa).
58

1.0 RESUMEN

El riego agrícola con aguas residuales genera serios problemas de salud a la población consumidora de productos como verduras y hortalizas regadas con esta agua por su elevado contenido de virus, bacterias, protozoarios y nemátodos intestinales. En México esta práctica es común entre los productores, llegando a ocupar el segundo lugar en el ámbito mundial en el uso de aguas residuales en riego agrícola.

En este trabajo se realizó la caracterización del agua residual municipal en términos de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. Posteriormente, esta agua residual fue tratada con ozono aplicando una dosis de 36.8 mg O₃/L a pH 5 y 7 por un tiempo de 1 hr. Los resultados después de 1 hr de ozonización, mostraron un claro decremento en las concentraciones de bacterias y huevos de helmintos, tal que se eliminó el 99.9% de las bacterias a los 15 min de aplicación de ozono y el 96% de los huevos de helminto a los 45 min, logrando con esto el cumplimiento de la NOM-001-ECOL-1996. En los resultados de los parámetros fisicoquímicos se observó una remoción del 91.05% para la DQO, la turbiedad disminuye un 98.37% y la DBO₅ se remueve en un 91.71% después de 1 hr de ozonización. En tanto que, los sólidos disueltos totales y el pH, se mantienen constantes durante todo el tratamiento.

Finalmente, se demostró que el agua residual cruda tiene graves implicaciones en la calidad microbiológica de lechugas de la variedad Romana (*Lactuca sativa*) al ser aplicada al riego sin tratamiento alguno debido a que las hojas presentan coliformes totales 3.95 x 10⁴ UFC/g y fecales 8.27 x 10² UFC/g, además de contener patógenos como *V. cholerae* 9.8 x 10² UFC/g y huevos de helmintos en concentraciones de 11 huevos en raíz y 23 en hojas.

El riego con agua residual tratada con ozono se traduce en un crecimiento del 6.12% en la longitud de las hojas y del 15.83% en la longitud de las raíces de las lechugas con respecto al grupo control cuyo riego fue con agua potable, obteniéndose el menor crecimiento para las lechugas regadas con agua residual cruda.

La calidad microbiológica de las lechugas regadas con agua tratada con ozono es comparable con la de las regadas con agua potable ya que se encontró en ambas >1 UFC de mesofílicos aerobios por gramo de hoja. Cabe mencionar que el cumplimiento de Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996 para el riego de cultivos restringidos no garantiza la inocuidad de dichos cultivos, ya que se presenta una acumulación considerable tanto de los microorganismos analizados como de huevos de helminto por efecto del riego continuo.

2.0 INTRODUCCIÓN

La importancia del agua dulce para el hombre se ha incrementado en las últimas décadas debido a que su abastecimiento se hace cada vez más difícil. Es por esta razón que además de implementar sistemas de alta tecnología para la potabilización del agua, es necesario desarrollar tecnologías que permitan el tratamiento de aguas residuales con fines de reutilización.

El interés por el aprovechamiento de las aguas residuales urbanas que han recibido tratamientos avanzados de depuración ha ido en aumento. Un ejemplo de ello es en actividades como el riego agrícola en donde se presentan aspectos benéficos tales como el incremento en los rendimientos de los productos (cereales y vegetales) debido al aporte de nutrientes, la disminución en el uso de fertilizantes químicos, el amortiguamiento de la salinización de ciertos tipos de suelo por el aporte de materia orgánica, la liberación de grandes volúmenes de agua de primer uso para fines de abastecimiento y una depuración del agua residual por efectos de su infiltración en el suelo (Cifuentes *et al.*, 1993).

No obstante su empleo representa riesgos en la salud pública en la mayor parte de los países en vías de desarrollo como el nuestro, por lo que el tratamiento de las aguas residuales tiene como enfoque principal la reducción considerable de los microorganismos patógenos de origen bacteriano, viral, de protozoos o helmintos; que a su vez se hacen presentes en los productos que son regados con éstas (Rojas-Valencia y Orta-de-Velásquez, 2002).

El cloro, debido a su capacidad para destruir microorganismos, es uno de los productos más usados para la desinfección de aguas. Sin embargo, es capaz de reaccionar con los compuestos orgánicos presentes en las aguas, produciendo sustancias que pueden causar daño a la salud humana por su efectos mutagénicos y carcinogénicos (Orta de Velásquez *et al.*, 1998). Además de lo

anterior se ha visto que algunas bacterias resisten las condiciones que comúnmente se emplean en el proceso de desinfección.

Una forma de garantizar la desinfección de las aguas y evitar la producción de estas sustancias tóxicas es el empleo del ozono como agente desinfectante. El ozono es ampliamente conocido y utilizado en la rápida y efectiva inactivación de microorganismos patógenos (Langlais *et al.*, 1991, Garay y Cohn, 1992, Rakness *et al.*, 1993), ya que es un potente oxidante y posee un demostrado efecto germicida de amplio espectro contra bacterias, hongos, virus y quistes de parásitos, que afectan tanto a los animales como al hombre.

La convicción de que las aguas residuales deben ser aprovechadas y no desperdiciadas, junto con la escasez creciente de aguas y los problemas de protección del medio ambiente, crean un entorno realista para considerar la reutilización de las aguas residuales en muchas áreas del mundo que se enfrentan a estos problemas. Aunado a esto, los antecedentes de estudios experimentales tanto a escala laboratorio como piloto y plantas de tratamiento (Killops, 1986., Langlais *et al.*, 1991., Garay y Cohn, 1992., Rakness *et al.*, 1993., Jekel, 1994., Orta *et al.*, 1998., Hoigné, 1998), demuestran que la ozonización es una alternativa viable y con perspectivas alentadoras a aplicar en el tratamiento de aguas residuales para riego agrícola.

Se espera que con el uso del ozono en la desinfección de aguas residuales destinadas al riego, se generen beneficios en la producción agrícola con una disminución considerable de la contaminación microbiológica. El presente trabajo busca evaluar elementos que nos permitan determinar las ventajas que podría representar el uso de aguas residuales tratadas con ozono en la agricultura.

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Sustentar los beneficios de aplicar agua residual desinfectada con ozono en el riego agrícola.

3.2 Objetivos Específicos

Determinar la calidad microbiológica del agua residual proveniente de una planta de tratamiento de aguas.

Analizar muestras de agua residual del mismo origen, una vez tratadas con ozono para determinar si existen cambios en la población bacteriana.

Analizar raíz y hojas de lechugas regadas con agua residual y comparar con lechugas regadas con agua tratada con ozono, usando como control lechugas regadas con agua potable.

4.0 HIPÓTESIS

La aplicación de agua tratada con ozono al riego agrícola de lechugas disminuirá la contaminación microbiológica de dichas hortalizas proporcionando mejor rendimiento por la eliminación de factores tóxicos al cultivo y por el aporte de materia orgánica al suelo.

5.0 MARCO TEÓRICO

5.1 Problemática de la reutilización de las aguas residuales

Entre los retos que enfrentan las grandes ciudades, está la escasez de agua para el uso doméstico e industrial, siendo quizá uno de los más urgentes por resolver; el otro es el volumen de riego agrícola que se requiere para cubrir las necesidades alimentarias. Una solución para este conflicto radica principalmente en el reúso del agua (Cifuentes *et al.*, 1993).

Sin embargo aún cuando se tienen aspectos benéficos la reutilización del agua residual tratada conlleva un riesgo sanitario, ya que la exposición a microorganismos patógenos y a sustancias tóxicas es muy elevada en estos casos (Stien y Schwartzbrod, 1990).

El incremento de riesgos para la salud relacionados con el agua residual, junto con el número creciente de plantas de tratamiento de aguas y la necesidad de buscar fuentes de abastecimiento de agua adicionales mediante el tratamiento y reutilización de aguas crudas, ha conducido al uso de herramientas de control biológico más precisas y sofisticadas. Sin embargo debe considerarse que por razones de costo y complejidad de análisis, se ha confiado durante muchos años en los microorganismos fecales indicadores tradicionales para predecir niveles potencialmente elevados de patógenos (Salgot *et al.*, 2000). En la tabla 1 se muestran los diferentes tipos de patógenos encontrados en aguas residuales así como los indicadores utilizados.

La calidad biológica de las aguas residuales (crudas y con tratamientos secundarios) concerniente a la determinación de patógenos se ha basado exclusivamente en la detección y conteo de grupos bacterianos indicadores, especialmente los relacionados con *Escherichia coli*, a pesar de que muchos otros organismos como virus, parásitos, hongos y toxinas producidas por algas están relacionados con riesgos para la salud (Salgot *et al.*, 2000).

Tabla 1. Tipos de patógenos en aguas residuales e indicadores utilizados (modificado de Salgot *et al.*, 2000).

Tipos de patógenos	Indicadores	Observaciones
Bacterias	E. coli, coliformes fecales (CF), coliformes totales (CT), Streptococcus faecalis, Staphylococcus, Salmonella, Clostridium.	La determinación de CF es la más usual.
Virus	Enterovirus Virus de la hepatitis Bacteriófagos	No existe aún un indicador aceptable
Helmintos-Nemátodos	Huevos de nemátodos (Ascaris sp., Trichuris sp., Ancylostoma sp., como se indica por la OMS)	Resultados no sustentables
Otros helmintos (p.ej. <i>Taenia</i>)	Desconocidos	En algunos casos es importante para determinar el riesgo referente a la salud animal
Protozoarios (incluyendo Giardia, Cryptosporidium, Ameba, etc.)	Desconocidos La presencia de alguno de ellos puede indicar la presencia de los ya mencionados	Estudios de viabilidad Enquistamiento <i>in vitro</i> Wickramanayake, 1985
Hongos, toxinas de algas	Desconocido	Muy pocos casos detectados

Según la OMS existen dos tipos de riesgos asociados con la reutilización del agua residual: (a) riesgo potencial que puede determinarse mediante criterios microbiológicos y (b) riesgo verdadero que puede ser medido por estudios epidemiológicos (Devaux *et al.*, 2001; OMS, 1989). Un riesgo potencial se define como la detección de microorganismos patógenos en aguas residuales o en cultivos, aun cuando no se hayan detectado casos de infección debidos a éstos. Es posible que un riesgo potencial se transforme en riesgo verdadero debido a factores como la supervivencia de los patógenos, la dosis mínima infectiva y la reacción inmunológica del hospedero (Blumenthal *et al.*, 1989).

Algunos estudios epidemiológicos han mostrado que cuando las aguas residuales son utilizadas para el riego agrícola, los nemátodos intestinales representan riesgos verdaderos para la salud, mientras que existe un menor riesgo debido a las bacterias y en mucho menor grado a los virus (Shuval *et al.,* 1986). En la tabla 2 se resumen los riesgos para la salud relativos al uso de aguas residuales y excretas no tratadas en la agricultura y acuacultura.

Tabla 2. Riesgos relativos para la salud derivados del uso de aguas residuales y excretas en agricultura y acuacultura (Shuval *et al.*, 1986).

Tipo de patógeno	Frecuencia de infecciones o enfermedades
Nemátodos intestinales	
-Ascaris	Alta
-Trichuris	Alla
-Ancylostoma	
Infecciones bacterianas	
-Diarreas bacterianas (cólera, fiebre	Media
tifoidea, etc.)	
Infecciones virales	
-Diarreas virales	Baja
-Hepatitis A	
Infecciones de tremátodos y céstodos	
-Esquistosomiasis	De alta a baja, dependiendo de la práctica del uso
-Clonorchiasis	particular de las excretas
-Taeniasis	

Con base en esta evidencia, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció nuevas recomendaciones sobre el uso de aguas residuales en estos campos, mismas que se muestran en la tabla 3. En comparación con las directrices anteriores (OMS, 1973), el contenido de coliformes en aguas para riego no restringido se hizo menos estricto, siendo recomendado un tratamiento diseñado para alcanzar un número geométrico significativo de ≤ 1000 coliformes fecales por 100 mL (Blumenthal *et al.*, 1996).

Dichas recomendaciones introducen también un nuevo acercamiento estricto referente a la necesidad de reducir el número de huevos de helminto (*Ascaris sp. y Trichuris sp.* principalmente) en efluentes a un nivel de uno o menos por litro (Stien y Schwartzbrod, 1990).

Después de un sinnúmero de estudios microbiológicos y epidemiológicos revisados en los años 80, estos cambios fueron realizados con el objetivo de brindar protección contra el riesgo de infecciones por nemátodos tanto a trabajadores en contacto con cultivos irrigados con aguas residuales como a los consumidores (Blumenthal *et al.*, 1996).

En el caso de los países en vías de desarrollo, los daños a la salud por la reutilización del agua residual en el riego agrícola son causados principalmente por los helmintos, con casos limitados de enfermedades transmitidas por bacterias y virus. Existe evidencia de que no hay transmisión de enfermedades cuando el riego se efectúa con efluentes tratados adecuadamente (Shuval *et al.*, 1986).

Tabla 3. Recomendaciones de calidad microbiológica y parasitológica para el uso de aguas residuales en la agricultura^a (OMS, 1989).

Categoría	Condiciones de reutilización	Grupo expuesto	Nemátodos intestinales ^b (No. aritmético promedio de huevos por litro ^c)	Coliformes fecales (No. geométrico promedio por 100 mL°)	Tratamiento de aguas residuales para alcanzar la calidad microbiológica requerida
A	Irrigación de cultivos consumidos crudos, campos de deporte y parques públicos	Campesinos, consumidores y público	≤1	≤ 1000 ^d	Lagunas de estabilización diseñadas para alcanzar la calidad microbiológica indicada, o un tratamiento equivalente
В	Irrigación de cereales, cultivos industriales, forraje, pastos y árboles ^e	Campesinos	≤1	No existen normas recomendadas	Retención en lagunas de estabilización durante 8 a 10 días, o eliminación equivalente de helmintos y coliformes fecales
С	Irrigación localizada de cultivos en la categoría B si no están expuestos los trabajadores y el público	Ninguno	No aplicable	No aplicable	Pretratamiento como lo requiere la tecnología de irrigación, pero por lo mínimo una sedimentación primaria

a : En casos específicos, deben tomarse en cuenta factores epidemiológicos, socioculturales y ambientales locales, asi como las recomendaciones modificadas por consiguiente.

b : Las especies Ascharis sp. y Trichuris sp., entre otras.

c : Durante el período de irrigación.

d : Una recomendación más estricta (≤ 200 coliformes fecales por 100 mL) es apropiada para céspedes con los que el público pueda entrar en contacto directo.

e : En el caso de árboles frutales, la irrigación debe cesar dos semanas antes de la recolección y no debe recolectarse ningún fruto del suelo. No debe utilizarse irrigación con regaderas.

El agua residual generalmente contiene un elevado número de huevos de nemátodos intestinales, encontrándose hasta 375 huevos de helmintos por litro (Maya *et al.*, 2000). Dichos huevos son muy resistentes a condiciones adversas de temperatura, humedad, cambio de suelos y fertilizantes empleados; sobreviviendo meses en aguas negras, lodos y tierras agrícolas que son regadas con aguas residuales (Rojas y Orta, 2000).

Los vegetales cultivados mediante el riego con aguas residuales a menudo son contaminados con estos huevos de nemátodo, representando un alto riesgo (verdadero o atribuible) de contraer infecciones helmínticas tanto para los trabajadores del campo como para los consumidores. El riesgo de contraer este tipo de infecciones es bajo para los consumidores cuando se trata de cultivos no restringidos; sin embargo, en lo referente a cultivos restringidos dicho riesgo aumenta (Ayres et al., 1992).

Cuando el riego se efectúa con efluentes tratados cuyo contenido de helmintos es ≤1 huevo por litro, nunca se ha demostrado la presencia de los mismos en los vegetales cultivados (Ayres *et al.*, 1992).

5.2 Uso del ozono en el tratamiento de aguas

Desde el punto de vista de la salud pública, la desinfección es la etapa más importante del tratamiento de las aguas residuales. Hoy en día existe un gran número de opciones para dicho proceso como la cloración, la ozonización y la radiación ultravioleta (Rojas y Orta, 2000).

En el continente europeo más de mil plantas de tratamiento de agua municipal usan ozono como parte de su tratamiento químico, como desinfectante ha sido utilizado en Francia desde principios de siglo. Su uso se ha extendido a varios países de Europa y tiende a ser aplicado a algunas plantas de Estados Unidos (Rojas y Orta, 2002).

El ozono destruye algunos compuestos orgánicos refractarios, tales como plaguicidas e hidrocarburos y las sustancias húmicas, además de aumentar la biodegradabilidad especialmente de cianuros, nitritos, sulfuros, fenoles e hidracinas que son precursores de trihalometanos (THMs). Por lo que una práctica que comienza a tener auge, es aplicar primero ozono y posteriormente cloro, para mantener un efecto residual y evitar la formación de THMs (Grebenyuk, 1993). Un beneficio adicional con el uso del ozono es que se eleva la concentración de oxígeno disuelto en el efluente, evitando la necesidad de airear para cumplir las restricciones señaladas en las normas de calidad de agua de descarga (Langlais et al., 1991).

La ozonización puede ser utilizada en el tratamiento de agua residual en los siguientes casos (Langlais *et al.*, 1991):

- a) cuando se aplican métodos para eliminar altas concentraciones de cloro residual;
- b) cuando el agua residual contiene componentes que tienden a formar sustancias más tóxicas que las originadas por el tratamiento con cloro, o bien aquellas que incrementan el color y olor del agua;
- c) cuando el agua residual contiene virus patógenos, esporas de bacterias y protozoarios;
- d) en caso de utilizar al ozono en forma combinada para desinfección y eliminación de sustancias tóxicas, procesos que no son posibles ni económicamente factibles por otros métodos.

5.3 Propiedades fisicoquímicas del ozono

El ozono (O₃) es una forma alotrópica del oxígeno que resulta del reordenamiento de átomos cuando las moléculas de oxígeno son sometidas a descargas eléctricas de alto voltaje. El producto es un gas azuloso con olor picante y propiedades oxidantes muy fuertes (Khadre *et al.*, 2001), cuyo potencial de oxidación es –2.07 V referido al electrodo de hidrógeno a 25°C y actividad del ion H de uno (White,

1978). A temperatura ambiente el ozono se descompone rápidamente, y por lo tanto no se acumula sin una fuente de generación continua (Guzel-Seydim *et al.*, 2004). El ozono en estado gaseoso tiene una vida media más larga que en solución acuosa (Rice, 1986). Las principales propiedades físicas del ozono se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Principales propiedades físicas del ozono puro (Guzel-Seydim et al., 2004).

Punto de ebullición	-111.9±0.3(°C)
Punto de fusión	-192.5±0.4(°C)
Temperatura crítica	-12.1(°C)
Presión crítica	54.6 (atm)

El ozono no reacciona apreciablemente con el agua, por lo que forma una solución verdadera (Khadre *et al.*, 2001). La solubilidad del ozono en agua es mayor que la solubilidad del oxígeno de 0 a 30°C, y como se observa en la tabla 5, es progresivamente mayor conforme baja la temperatura del agua (Rice, 1986). Además de lo anterior, la presencia de minerales en el agua puede catalizar la descomposición del ozono, por lo que la solubilidad del ozono se incrementa con la pureza del agua (Khadre *et al.*, 2001).

Tabla 5. Relación de temperatura y solubilidad del ozono en agua (Rice et al., 1981).

Temperatura (°C)	Solubilidad (L O ₃ /L H ₂ O)
0	0.640
15	0.456
27	0.270
40	0.112
60	0.000

El ozono es relativamente inestable en soluciones acuosas. Se descompone lentamente en oxígeno con una cinética de reacción de primer orden. La vida

media del ozono en agua destilada a 20°C es generalmente de 20 a 30 min. (Khadre *et al.*, 2001). Sin embargo, Wickramanayake (1985) reportó una vida media de 2 a 4 minutos en solución acuosa a pH 7.0 y 25°C. En solución acuosa se descompone como sigue:

$$O_3 + H_2O$$
 \longrightarrow $HO_3^+ + OH^-$
 $HO_3^+ + OH^ \longrightarrow$ $2HO_2$
 $O_3 + HO_2$ \longrightarrow $HO + 2O_2$
 $HO + 2O_2$ \longrightarrow $H_2O + O_2$

Los radicales libres (HO₂ y HO) que se forman cuando el ozono se descompone en solución acuosa tienen gran poder oxidante, y además de desaparecer rápidamente, pueden reaccionar con las impurezas; por ejemplo: sales metálicas, materia orgánica, iones hidrógeno e hidroxilo presentes en solución. Estos radicales libres formados por la descomposición del ozono en agua son aparentemente las principales especies reactivas (White, 1978).

5.4 Generación de Ozono

La generación de ozono depende de la división de una molécula diatómica de oxígeno. El radical libre oxígeno resultante es por tanto capaz de reaccionar con oxígeno diatómico para formar una molécula triatómica de oxígeno. Sin embargo, se requiere una gran cantidad de energía para romper el enlace O-O. Los métodos de radiación ultravioleta y de descarga de corona han sido usados para iniciar la formación de radicales oxígeno libres y por lo tanto para la generación de ozono. Con el propósito de generar niveles comerciales de ozono, generalmente se utiliza este último también conocido como método de descarga de Barrera Dieléctrica (ver fig.1), utilizando ya sea aire seco u oxígeno seco como gas de alimentación (Stanley, 2004).

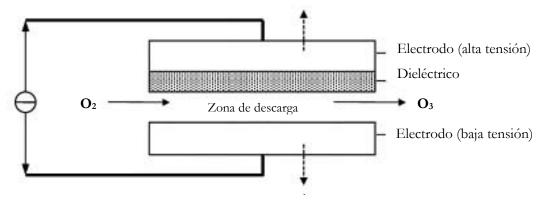


Figura. 1. Diagrama esquemático de la generación de ozono por el método de descarga de corona (Rice *et al.*, 1981).

En la descarga de corona hay dos electrodos, uno de los cuales es de alta tensión y el otro de baja tensión (tierra). Estos se encuentran separados por un medio cerámico dieléctrico, produciéndose una descarga pequeña. Cuando los electrones tienen suficiente energía cinética (alrededor de 6-7 eV) para disociar la molécula de oxígeno, una determinada fracción de estas colisiones ocurre y una molécula de ozono puede formarse a partir de cada átomo de oxígeno (Guzel-Seydim *et al.*, 2004).

5.5 Reactividad del ozono y capacidad desinfectante

La molécula de ozono actúa como un dipolo con propiedades nucleofílicas y electrofílicas. Los componentes orgánicos e inorgánicos en solución acuosa reaccionan con ozono siguiendo uno de dos mecanismos (Hoigné y Bader, 1985):

(a) Reacción directa de un compuesto orgánico (M) con ozono molecular.

$$O_3 + M \longrightarrow M_{Ox}$$

(b) Descomposición del ozono en agua en dos radicales (por ejemplo, OH) el cual reacciona con el compuesto (M).

$$OH \longrightarrow M$$
 $O_3 \longrightarrow OH \longrightarrow M_{Ox}$

Las reacciones con ozono molecular son selectivas y limitadas a compuestos aromáticos y alifáticos insaturados. El ozono destruye a los microorganismos mediante la oxidación progresiva de los componentes celulares. El principal blanco de la ozonización es la superficie de las células bacterianas. Se han identificado dos mecanismos principales de oxidación: el primero consiste en la oxidación de los grupos sulfhídrilo y amino de enzimas, péptidos y proteínas a péptidos más pequeños; el segundo mecanismo consiste en la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados a sus derivados peroxilos (Guzel-Seydim et al., 2004). La degradación de los lípidos insaturados de la membrana por causa del ozono da como resultado el rompimiento de esta barrera y la liberación del contenido celular. Los dobles enlaces de los lípidos insaturados son particularmente vulnerables al ataque del ozono. En bacterias Gram negativas, las capas de lipoproteínas y liposacáridos son los primeros sitios de destrucción con lo cual incrementa la permeabilidad de la célula y eventualmente se produce su lisis. La muerte celular puede deberse también a la oxidación y daño de los ácidos nucleicos. De igual manera, el ozono destruye el RNA viral y altera las cadenas polipeptídicas en las cubiertas proteicas de los virus (Kim et al., 1999).

El ozono reacciona lentamente con los polisacáridos conduciendo al rompimiento de enlaces glucosídicos y a la formación de ácidos alifáticos y aldehídos. La reacción del ozono con alcoholes alifáticos primarios y secundarios conduce a la formación de hidroxi-hidroperóxidos, precursores de radicales hidroxilo, mismos que reaccionan fuertemente con los carbohidratos. La acción del ozono sobre los aminoácidos es significativa a valores de pH neutro y básicos, atacando principalmente el átomo de nitrógeno o la cadena lateral (-R) o ambos. Asimismo

reacciona rápidamente con bases nucleicas, principalmente timina, guanina y uracilo (Khadre *et al.*, 2001).

Debido a que el ozono ataca numerosos componentes celulares incluyendo proteínas, lípidos insaturados, enzimas respiratorias en membranas celulares, peptidoglucanos en paredes celulares, enzimas y ácidos nucleicos citoplasmáticos, proteínas y peptidoglucanos en esporas y cápsides virales, ha sido considerado como el principal agente oxidante antimicrobiano (Khadre *et al.,* 2001). Se ha comprobado que el ozono remueve hasta el 99% de bacterias y virus en dosis de 10 mg/L con un tiempo de contacto de 10 minutos, actuando como oxidante 3,000 veces más rápido que el cloro (Rojas y Orta, 2000).

6.0 ANTECEDENTES

6.1 Uso de las aguas residuales en el riego agrícola

Dentro del sistema agrícola de riego en México existen datos que indican que en algunas zonas, como la del Valle del Mezquital en Hidalgo, el uso de las aguas residuales y/o contaminadas ha sido una práctica desde 1886, utilización que se ha vuelto común en muchos distritos de riego del país, en virtud del aumento de la demanda poblacional e industrial por agua limpia. En 1994, cerca de 150,000 hectáreas dependían de este tipo de riego (Cifuentes *et al.*, 1994). Nuestro país ocupa el segundo lugar en el ámbito mundial en el uso de las aguas residuales y/o contaminadas en el riego agrícola (Cisneros *et al.*, 1997).

Sin embargo, este uso se ha vuelto polémico en la última década, debido a que se presentan como ventajas el aporte orgánico a los suelos, el cultivo de tierras semiáridas e improductivas y sus cualidades como fertilizante (Cifuentes *et al.*, 1994); teniendo como desventaja la carga bacteriológica de tipo patógeno que contamina los cultivos regados, aumentando con ello el riesgo de salud pública por la ingesta de las verduras, principalmente las que se consumen crudas (Cisneros *et al.*, 1997).

Los microorganismos en el agua residual, suelo y bulbo, tales como bacterias coliformes (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*), cocos (*Estreptococcus faecalis* y *E. zymogenes*), pseudomonas (*Pseudomonas sp.*), salmonelas (*Salmonella typhi* y *S. paratyphi*), junto con los huevos de helmintos (*Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichuria*) y los virus (Hepatitis A y algunos otros que producen diarreas virales), generan infecciones gastrointestinales entre las que se encuentran diarreas, fiebre tifoidea y parasitismo por helmintos son transmitidas por la ingesta de verduras crudas regadas con aguas residuales no tratadas (Niedrum *et al.*, 1991).

Además del riesgo microbiológico, la composición química referente al contenido de elementos traza tóxicos en el agua residual es una fuerte limitante de su reúso, que junto con el factor biológico imponen restricciones de cultivo, ya que producen la contaminación en cadena de los alimentos vía agua residual-suelo-plantas-ser humano (Liberti *et al.*, 1999).

Shuval *et al.*, (1986) y Bartone (1988) resumieron parte de la historia del uso de las llamadas aguas residuales y prácticas relacionadas. La contribución de estos investigadores consistió, entre otros aspectos, en cuestionar los criterios que durante décadas se han manejado, para valorar la calidad microbiológica del agua con destino agrícola. Estos trabajos permitieron reunir evidencias sobre los riesgos epidemiológicos y aportaron información valiosa sobre los beneficios potenciales asociados al reúso del agua.

En los sesenta y setenta, los criterios de calidad microbiológicos y parasitológicos para el uso de las aguas residuales estaban dominados por un enfoque que se concentraba en los riesgos potenciales y no en los riesgos efectivos. Por consiguiente, se establecieron directrices muy severas para el uso de aguas residuales en el riego de cultivos comidos crudos. Estas directrices correspondían casi a normas de calidad para aguas potables que tenían su origen en un enfoque de cero riesgo. Con el transcurso de los años, estos niveles fueron considerados demasiado restrictivos, utilizando un margen de seguridad más alto de lo necesario (Ayres et al., 1992).

En 1989, un grupo científico de la OMS formuló nuevas directrices sobre el uso de aguas residuales en la agricultura. Dentro de estas, se prestó mayor consideración al hecho de que en muchos países en desarrollo, los riesgos más importantes para la salud son asociados con enfermedades helmínticas por lo que era necesario un alto grado de eliminación de estos parásitos. Con respecto a los cultivos consumidos crudos, se estableció un nivel que se podía alcanzar prácticamente con la cloración después de un tratamiento convencional, a saber,

100 coliformes/100 mL. En cuanto al uso agrícola, estas directrices introdujeron un enfoque nuevo y más severo referente a la necesidad de reducir el número de huevos de helmintos (géneros de *Ascaris, Trichuris* y anquilostoma) en efluentes a un nivel de ≤1 huevo/L (OMS, 1989).

Poco tiempo después, en virtud de que el uso del agua residual en la producción de alimentos es una realidad mundial, diversos grupos de científicos auspiciados por el Banco Mundial y la OMS, definieron áreas prioritarias de investigación aplicada dentro de las que destacan las de carácter epidemiológico que recomiendan la evaluación respecto a este parámetro en escenarios agrícolas (Cifuentes *et al.*, 1994).

En 1998 el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica notificó que las enfermedades ocasionadas por agentes infecciosos potencialmente hidrotransmisibles afectaron a 6,666,573 personas de enero a noviembre lo que representó el 6.9% de la población total del país (INEGI, 1991 a y b). Estudios epidemiológicos, junto con otros factores físicos y sociales que alteran la exposición de los individuos al riesgo dieron como resultado que la frecuencia de infección por el uso de agua residual era alta para nemátodos intestinales (*Ascaris sp., Trichuris sp.* y *Taenia sp.*), de alta a baja para tremátodos y céstodos (Schistomiasis, Chlonorquiasis, Taeniasis), media y baja para bacterias y virus respectivamente (Cifuentes *et al.*, 1994 y Ortiz, 1995).

En el año 2000 la población total en la República Mexicana era de 97.3 millones de habitantes, la tasa de mortalidad por diarreas ocasionadas por agentes infecciosos potencialmente hidrotransmisibles para niños menores de cinco años corresponde a 33.3 muertes por cada 100,000, lo que representa que diariamente mueren por este concepto 14 niños (Rojas-Valencia y Orta-de-Velásquez, 2002).

Por los riesgos mencionados anteriormente, se ha hecho necesario el buscar métodos de tratamiento eficientes y agentes desinfectantes efectivos que

proporcionen efluentes con calidad bacteriológica y helmintológica requerida para riego según la normatividad mexicana NOM-001-ECOL-1996- (SEMARNAP, 1997).

6.2 Uso del ozono en el tratamiento de aguas residuales

En el tratamiento de las aguas residuales, la desinfección es la etapa más importante desde el punto de vista de la salud pública, especialmente cuando la disposición del agua tratada está dirigida a la reutilización. La desinfección es la etapa final de un tren de tratamiento de agua durante la cual se elimina o disminuye la acción patógena de los microorganismos dañinos para el ser humano (Rojas-Valencia y Orta-de-Velásquez, 2002).

La ozonización es un proceso que ha sido utilizado por años en la desinfección de aguas para consumo humano en Europa y Estados Unidos de América. El ozono había comenzado a utilizarse en Francia desde principios de siglo, extendiéndose por varios países de Europa (Rojas-Valencia y Orta-de-Velásquez, 2002). Aunque históricamente, el ozono estaba ubicado en el campo de tratamiento del agua potable, actualmente se ha encontrado un gran número de otros usos comerciales incluyendo la desinfección de piscinas, la prevención de contaminación y saneamiento de torres de enfriamiento y el tratamiento de aguas residuales (Guzel-Seydim et al., 2004).

En lo referente a la aplicación de ozono a las aguas residuales, avances recientes han redundado en una importante reducción de los costos del proceso, por lo que hoy en día se presenta como un desinfectante competitivo en el tratamiento de dichas aguas (Rojas-Valencia y Orta-de-Velásquez, 2002).

Partiendo del conocimiento científico de los efectos del ozono relativos a su poder y eficacia en la descontaminación y tratamientos del agua, se inició en 1993 el estudio de sistemas para incorporar este elemento al agua empleada en el riego (Rice, 2002).

Se ha observado que el reúso de agua residual tratada con ozono en el riego agrícola se traduce en plantas más productivas, mejores condiciones de crecimiento y la erradicación de anteriores o presentes problemas bacteriológicos (Rojas-Valencia *et al.*, 2003).

Por otra parte, esta práctica contribuye a economizar abonos, insecticidas y otros productos químicos u orgánicos, ya que no es necesario incorporar al riego este tipo de aditivos. La experiencia ha ratificado que puede reducirse en un 50% el uso de abonos (Rojas-Valencia *et al.*, 2003).

6.3 Aplicación de las aguas residuales tratadas con ozono en el riego agrícola

El problema de reducción de los pesticidas y fungicidas químicos utilizados en la agricultura ha llegado a ocupar una posición importante en varios aspectos, no solo aquellos que conciernen al tratamiento de residuos en productos agrícolas, sino también a la contaminación ambiental. Existe la necesidad de desarrollar tratamientos prácticos y efectivos con otras sustancias menos tóxicas de fácil eliminación que contribuyan a la reducción de los químicos agrícolas (Fujiwara y Fujii, 2002).

Se ha demostrado que la desinfección con ozono tanto de efluentes municipales secundarios clarificados y clarificados / filtrados cumple con los requerimientos microbiológicos establecidos por la OMS (1,000 UFC/100 mL para coliformes fecales) para el riego agrícola no restringido (Liberti *et al.*, 1999).

A pesar de que el uso de agua tratada con ozono parece combinar características apropiadas (fácil manejo, fácil eliminación en plantas y suelo) como una alternativa a los funguicidas químicos agrícolas, existe una limitada cantidad de información del uso de agua ozonizada para estos efectos (Fujiwara y Fujii, 2002).

Debido a los riesgos que representa para la salud humana la práctica de riego agrícola con aguas residuales deficientemente tratadas, existe la posibilidad de reducir la contaminación bacteriana y helmíntica en hortalizas y frutos que se consumen crudos mediante la desinfección con ozono de estas aguas. Por lo cual el objetivo de este trabajo es evaluar los beneficios de la aplicación de aguas residuales tratadas con ozono en el riego agrícola en México, considerando la producción agrícola del cultivo en estudio así como la reducción de la carga microbiológica de este tipo de productos.

7.0 METODOLOGÍA

La metodología se dividió en tres etapas: 1) Revisión bibliográfica, instalación del equipo y montaje de las técnicas analíticas, 2) Caracterización del agua residual cruda y 3) Evaluación del agua residual tratada con ozono en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). El diagrama de flujo se muestra en la figura 2.

7.1 Primera etapa: técnicas analíticas y adecuación del equipo

Durante la primera etapa se realizó una revisión bibliográfica previa a la adquisición y montaje de las técnicas y equipos necesarios para la experimentación.

- Se revisaron y montaron las técnicas de análisis tanto fisicoquímicas como microbiológicas propias para aguas residuales. Se realizaron análisis independientes con el objeto de optimizar cada una de estas técnicas y adecuarlas a las muestras provenientes de la planta de tratamiento.
- Se calibraron todos los equipos en general y se observó su buen funcionamiento antes de iniciar la experimentación y en el transcurso de ésta.

PRIMERA ETAPA • Revisión bibliográfica • Instalación del equipo • Montaje de técnicas **SEGUNDA ETAPA** Desinfección de aguas residuales Caracterización de aguas crudas con ozono a pH 5 y 7 con residuales crudas dosis de 36.8 mg/L y 18.4 mg/L **TERCERA ETAPA** Análisis de aguas residuales Cultivo de lechugas (Lactuca sativa) crudas y tratadas con ozono utilizando agua potable para su riego por duplicado durante las primeras dos semanas Riego de los cultivos de lechuga con ambos tratamientos (agua cruda y ozonizada) y con agua potable como control Comparación microbiológica de aguas residuales crudas y Análisis bacteriológico y conteo de huevos tratadas con ozono y del agua de helmintos de hojas y raíz potable utilizadas para el riego de las lechugas Análisis de resultados y conclusiones

Figura 2. Diagrama de flujo de la metodología general.

- Se instaló el equipo generador de ozono para la desinfección de las aguas residuales crudas, mismo que se adaptó a un Generador EMERGY TRAILIGAZ LABO 76 con una concentración de ozono en fase gas a la entrada del reactor de 36.8 mg O₃/L. Un medidor de flujo permitió tener un control sobre la cantidad de ozono que se administró a la muestra (ver figura 3). Se probó el tratamiento del agua residual con ozono a pH 5 y pH 7, de modo que los parámetros a caracterizar se encontraran dentro del intervalo de sensibilidad de los métodos y equipos.
- Asimismo se realizó la instalación de un sistema de destrucción del ozono para evitar descargas directas a la atmósfera.

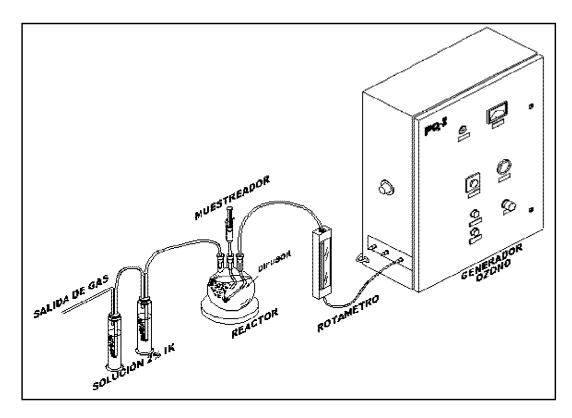


Figura 3. Sistema de tratamiento con ozono

7.2 Segunda etapa: caracterización del agua residual cruda

Con el fin de caracterizar el agua residual cruda, se llevaron a cabo seis muestreos en la planta de tratamiento de aguas residuales municipales ubicada en Av. San Lorenzo 312 Colonia San Juan Xalpa en la Delegación Iztapalapa, México D.F.

Las muestras para el análisis del agua residual cruda se tomaron del influente de la planta (ver Anexo I). El análisis de caracterización consistió en parámetros microbiológicos y fisicoquímicos. El tratamiento fue con una dosis de ozono de 36.8 mg/L durante 1h a pH de 5 y 7.

Para el aislamiento y cuantificación de los huevos de helmintos presentes en las aguas residuales crudas provenientes de una planta de tratamiento, se tomaron 5 litros de muestra y se procesaron tal cual se indica en la Norma Mexicana NMX-AA-113-SCFI-1999.

La caracterización bacteriológica de las muestras se hizo en referencia a dos grupos bacterianos indicadores que son coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF); conjuntamente con *Vibrio cholerae* y *Salmonella typhi*, ambos agentes patógenos encontrados en aguas residuales cuya transmisión puede ser por vía hídrica.

Para aislar y cuantificar a *V. cholerae* se aplicaron dos métodos: el Número Más Probable (NMP) utilizando Agua Peptonada Alcalina como medio de cultivo y recuento por filtro de membrana con agar selectivo Tiosulfato Citrato Sales Biliares Sacarosa (TCBS) y para *S. typh*i se utilizó la técnica de filtro de membrana con agar Sulfito Bismuto el mismo método citado para la cuantificación de (CT) en agar M-ENDO, las tres bacterias se incubaron durante 24 h a 35 ± 2 °C. Los coliformes fecales (CF) se cuantificaron en medio selectivo m-FC y se incubaron en baño de agua a 44.5 ± 2 °C por 24h.

Los huevos de helmintos y las bacterias fueron aislados a partir del influente de la planta de tratamiento ya mencionada.

Para el aislamiento de *S. typhi, V. cholerae*, coliformes totales y fecales se tomaron 1000 mL de muestra, en botellas ámbar de boca ancha previamente esterilizadas, se mantuvieron a temperatura ambiente y se transportaron inmediatamente al laboratorio para su análisis. Adicionalmente se tomaron 5 litros de muestra por duplicado para helmintos en garrafones de plástico de 8 litros de capacidad (ver tabla 6).

Tabla 6. Métodos microbiológicos para el análisis del agua residual cruda y tratada con ozono.

Microorganismos	Métodos y normas de referencia	Toma de muestra		
Coliformes totales y fecales	NMX-AA-102-1987	Tomar 1 litro de agua en un		
Vibrio cholerae	Método (Sandoval, 1991)	frasco color ambar de boca		
Salmonella typhi	Método (Clesceri, 1992)	ancha esterilizado, analizar		
Amebas	Método (Matuz, 2001)	a más tardar dos horas		
		después del muestreo.		
		Conservar a 4°C.		
Huevos de helmintos	NMX-113-SCFI-1999	Conservar a 4°C. Deben		
		procesarse a más tardar 48		
		hrs. Después del muestreo,		
		si no fijarse con 10 mL de		
		formaldehído al 4%.		
		Realizar su análisis antes		
		de 2 meses.		

A la par se realizaron las mismas determinaciones a las aguas residuales ya ozonadas con el fin de comprobar que en efecto la carga microbiológica y helmíntica del agua después del tratamiento con ozono fueron reducidas.

La caracterización de parámetros fisicoquímicos se hizo en base a los métodos que se describen a continuación.

Las pruebas de turbiedad (UTN) se midieron con un turbidímetro (equipo Hach, modelo 2100P turbidimeter) y las pruebas de conductividad y sólidos disueltos totales se determinaron por conductimetría (equipo Hach Conductivity/ TDS meter, modelo P/N 44600-00).

Las determinaciones de pH se realizaron por el método electrométrico (potenciómetro Cole-Palmer, Modelo 05669-20 Microcomputer pH-visión).

Las determinaciones de DQO por el método colorimétrico (equipo digestor para DQO HACH COD y espectrofotómetro HACH DR/2000 Direct reading spectrophotometer).

En la tabla 7 se resumen las normas de referencia de los métodos fisicoquímicos que se emplearon en este estudio.

Tabla 7. Métodos fisicoquímicos

Parámetro Fisicoquímico	Métodos y normas de referencia		
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	PROY-NMX-AA-028		
Demanda Química de Oxígeno (DBO ₅)	NMX-AA-030		
Turbiedad	Método Nefelométrico		
Sólidos disueltos totales (SDT)	Por conductimetría		
рН	Método electrométrico		
Alcalinidad	Norma Mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001		

7.3 Tercera etapa: evaluación del agua residual tratada con ozono en el cultivo de la lechuga

Una vez comprobada la efectividad germicida del ozono aplicado a las aguas residuales, la siguiente etapa fue el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) aplicando el riego tanto con las aguas residuales crudas, así como con aquellas desinfectadas con ozono.

Se construyó un invernadero en el edificio 5 del Instituto de Ingeniería perteneciente a la Coordinación de Ingeniería Ambiental, con el propósito de cultivar y mantener las lechugas durante toda la fase experimental (ver Anexo II). El invernadero fue planeado para albergar tres cajones de 3 m de longitud por 0.6 m de ancho y 0.9 m de profundidad cada uno. Estos tres cajones fueron destinados a los siguientes tipos de agua que se usaron en el riego: 1) agua residual cruda, 2) agua residual tratada con ozono y 3) agua potable que sirvió como control.

Las lechugas así cosechadas (regadas con aguas residuales tratadas y no tratadas) se sometieron a un análisis microbiológico de CT, CF, *V. cholerae* y *S. typhi.* Así como también se determinó la cantidad de huevos de helminto según en la Norma Mexicana NMX-AA-113-SCFI-1999. Dicho análisis se efectuó a un mes de haber comenzado los tratamientos de riego y posteriormente cada dos meses hasta el sexto mes de crecimiento. Se escogieron al azar dos lechugas de cada tratamiento y después de medir raíces y hojas, fueron cortadas para analizarlas por separado.

8.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Caracterización del agua residual cruda y comparación de cloro y ozono como desinfectantes

Se realizó el análisis de dos de las principales etapas del tratamiento de agua, influente y sedimentador secundario, así como al final del proceso de desinfección con cloro (efluente de la planta de tratamiento) y ozono a una dosis de 36.8 mg/L durante 1 h a pH 7, con el fin de seguir el comportamiento de la flora bacteriana y de los parámetros fisicoquímicos a lo largo del tratamiento de agua. En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 8. Caracterización microbiológica y fisicoquímica de tres diferentes etapas del tratamiento del agua residual incluyendo la desinfección con cloro y ozono.

Parámetros Microbiológicos						
	Influente	Sedimentador	Desinfección			
	lillidente	secundario	Cloración	Ozonización		
CT (UFC/100 mL)	7.41E+06	4.85E+03	3.00E+02	<1		
	4.06E+06	2.14E+03	Presencia no	<1		
CF (UFC/100 mL)	4.002+00	2.146+03	cuantificable			
Vibrio cholerae (UFC/100 mL)	1.18E+03	2.00E+02	<1	<1		
Salmonella typhi (UFC/100 mL)	3.09E+04	1.26E+03	2.00E+02	<1		
Huevos de helminto (HH/L)	16	12	9	1		
Parámetros fisicoquímicos						
	Influente	Sedimentador	Desin	fección		
		secundario	Cloración	Ozonización		
SDT (mg/L)	350.33	319.83	323.00	317.33		
Turbiedad (NTU)	70.60	1.81	3.25	1.15		
DQO (mg/L)	346.67	60.00	103.33	31.00		
	48.28	5.11	No se	4.00		
DBO₅ (mg O2/L)	40.20	5.11	determinó			
рН	7.24	7.15	7.04	7.83		
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	229.33	127.67	122.00	121.33		

Tomando como base el tratamiento tradicional de aguas residuales en México, cuyo último proceso utiliza el cloro como desinfectante, se observó que la población inicial sufrió un decremento de tres ordenes de magnitud con respecto al sedimentador secundario, siguiendo esta tendencia conforme avanzaba el grado de tratamiento, esto para cada indicador bacteriano monitoreado. Los resultados microbiológicos tanto para el sedimentador secundario como para el efluente se muestran en la figura 4.

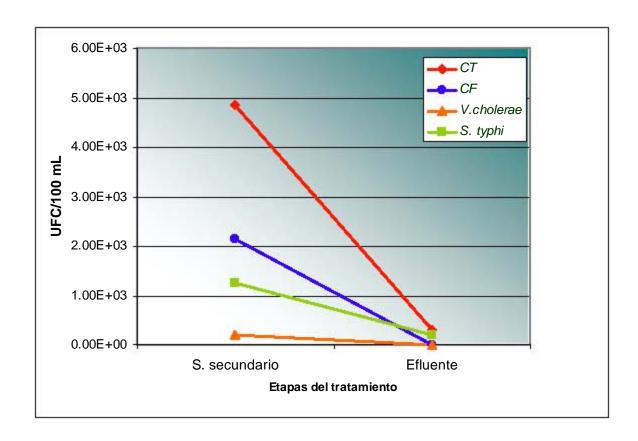


Figura 4. Resultados de la caracterización microbiológica de aguas residuales provenientes del sedimentador secundario y tratamiento terciario con cloro.

En el agua residual desinfectada con cloro se detectó la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y *S. typhi;* mientras que el tratamiento del agua residual cruda con ozono produjo la destrucción total de la flora bacteriana. Con ambos desinfectantes se logró la eliminación de *V. cholerae*.

Al igual que las bacterias, el número de huevos de helminto fue decreciendo con el avance del tratamiento llegando a un valor de 9 HH/L después de la cloración.

No obstante con la ozonización se reduce considerablemente hasta alcanzar el valor asentado para el riego de cultivos restringidos en la norma ya mencionada. En este caso el alto contenido de huevos de helmintos del agua desinfectada con cloro pudo deberse a que los filtros de la planta de tratamientos no estaban en funcionamiento, sin embargo, cabe mencionar que el cloro no destruye este tipo de microorganismos (Rojas y Orta, 2000), mismos que quedan retenidos en dichos filtros antes del proceso de cloración. Podemos observar en la figura 5 la variación de este parámetro microbiológico a lo largo del tren de tratamientos y utilizando ambos desinfectantes.

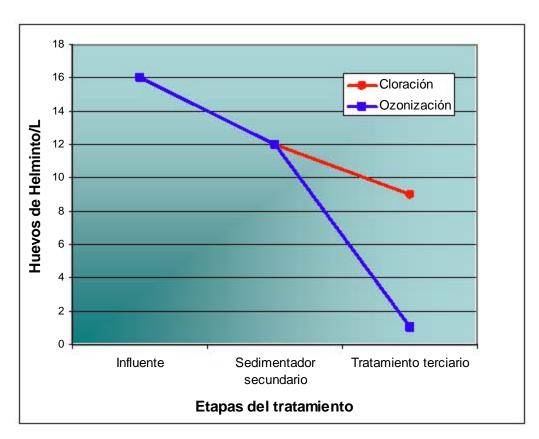
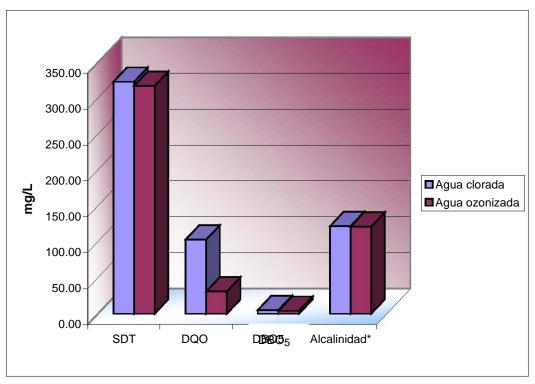


Figura 5. Conteo de huevos de helmintos durante el tren de tratamiento de aguas residuales utilizando cloro y ozono como desinfectantes.

El análisis fisicoquímico mostró que el tratamiento convencional produce una remoción del 95.4% de turbiedad, 70.2% de DQO y una reducción de la alcalinidad del 46.8%. Por otra parte, con el tratamiento de ozonización se lograron mejores remociones con valores de 98.37% de turbiedad, 91.05% de DQO, 91.71% de DBO₅ y una reducción de la alcalinidad del 47.1%. Tanto para la cloración como para la ozonización los SDT y el pH no variaron significativamente. Los resultados anteriores se muestran en la figura 6.



^{*} Alcalinidad (mg CaCO₃/L)

Figura 6. Resultados del análisis fisicoquímico del agua del sedimentador secundario tratada con cloro y con ozono (36.8 mg/L durante 1h).

8.2 Comparación del tratamiento de aguas residuales con una dosis de ozono de 36.8 mg/L a valores de pH de 5 y 7

Una vez que se comprobó la eficiencia del ozono como desinfectante en la tercera etapa del tratamiento de aguas residuales, se probó el tratamiento con ozono a valores de pH 5 y 7 con una dosis de ozono de 36.8mg/L durante 1h.

8.2.1. Análisis microbiológico del agua tratada con ozono

Se realizaron análisis microbiológicos y fisicoquímicos a cada una de las muestras antes y después de ser tratadas con la dosis de ozono ya establecida durante 1 h, tanto a pH 5 como a pH 7. En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos para la caracterización del agua residual cruda así como del agua residual ozonizada.

Tabla 9. Caracterización microbiológica del agua residual cruda y ozonizada con una dosis de 36.8 mg/L durante 1h.

Parámetros microbiológicos				
	Agua residual	Agua ozonizada	Agua ozonizada	
	cruda	a pH 7	a pH 5	
Coliformes totales (CT) (UFC/100 mL)	5.44E+06	<1	<1	
Coliformes fecales (CF) (UFC/100 mL)	4.04E+06	<1	<1	
V. cholerae (UFC/100 mL)	3.62E+06	<1	<1	
S. typhi (UFC/100 mL)	4.52E+06	<1	<1	
Huevos de Helminto (HH/L)	20-25	1	3	

Como podemos observar el contenido de microorganismos indicadores de contaminación como son CT y CF en el agua residual cruda es muy elevado. Asimismo se presentan bacterias patógenas como *V. cholerae* y *S. typhi* en concentraciones de la misma magnitud que los indicadores.

En lo que respecta al agua tratada con ozono a pH 5 y pH 7, la población bacteriana sufre un decremento importante de aproximadamente el 99.8% con respecto al contenido microbiológico del agua residual cruda. En la figura 7 se muestran los resultados microbiológicos tanto para el agua residual cruda como para el agua ozonizada a ambos valores de pH.

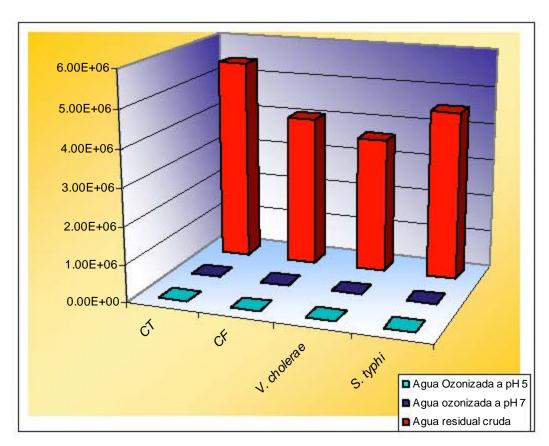


Figura 7. Resultados de la caracterización microbiológica del agua residual cruda y tratada con una dosis de ozono de 36.8 mg/L durante 1h.

Los huevos de helminto están presentes en el agua residual cruda en un intervalo de 20 a 25 HH/L, después de la aplicación del ozono a 36.8 mg/L durante una hora a pH 5, se observó una reducción del 88% en el contenido de huevos de helminto por cada litro de agua residual cruda tratada; mientras que a pH 7 se destruye cerca del 96% de éstos. Este parámetro es muy importante debido a que son microorganismos patógenos altamente resistentes de difícil control por lo que se encuentra regulado por la Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996, en donde se establece que el nivel de huevos de helminto en efluentes

para cultivo restringido debe ser de ≤1 huevo/L y de 5 huevos/L para cultivos no restringidos.

8.2.2. Análisis fisicoquímico del agua tratada con ozono

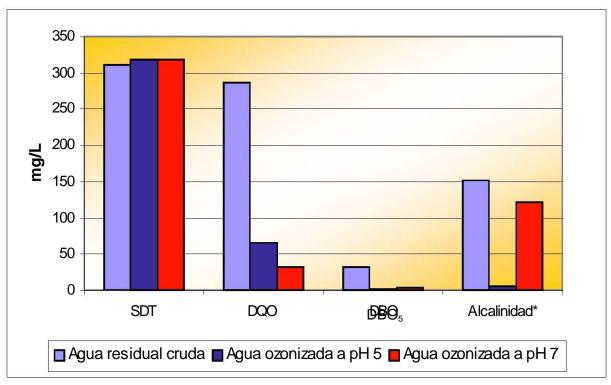
Los análisis fisicoquímicos de DQO, DBO y Turbiedad están directamente relacionados con la cantidad de materia orgánica presente en el agua residual, por lo que a valores altos de estos parámetros existe una mayor cantidad de materia orgánica presente en el agua.

La DBO₅ se define como la cantidad de oxígeno empleada por los microorganismos a lo largo de un periodo de cinco días para descomponer la materia orgánica de las aguas residuales a una temperatura de 20°C. De modo similar, la DQO es la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica en una solución ácida y convertirla en dióxido de carbono y agua. Aún cuando ambas pruebas miden cantidad de oxígeno consumido, se puede observar en la tabla 9 valores más altos en la DQO (286.67 mg/L) que en la DBO₅ (31.85 mg/L), esto debido a que no toda la materia orgánica presente en el agua es asimilada por los microorganismos, por lo que casi siempre son esperados valores más altos de DQO que de DBO₅.

En la tabla 10 podemos observar que al aplicar ozono al agua cruda a pH 5 se logró una remoción del 97% de turbiedad, 77.32% de DQO y del 91.2% de DBO₅. Los porcentajes obtenidos para el agua cruda a pH 7 después del tratamiento con ozono no difieren mucho teniendo valores de remoción del 98.32% de turbiedad, 89.2% de DQO y del 87.44% de DBO₅. En tanto que, los sólidos disueltos totales y el pH, se mantienen constantes durante todo el tratamiento.

Tabla 10. Caracterización fisicoquímica del agua residual cruda y ozonizada con una dosis de 36.8 mg/L durante 1h.

Parámetros fisicoquímicos				
	Agua residual Agua ozonizada		Agua ozonizada	
	cruda	a pH 7	a pH 5	
SDT (mg/L)	310	317.33	318.00	
Turbiedad (NTU)	68.57	1.15	2.08	
DQO (mg/L)	286.67	31.00	65.00	
DBO ₅ (mg/L)	31.85	4.00	2.80	
рН	7.0	7.0	5.0	
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	151.67	121.33	5.00	



^{*} Alcalinidad (mg CaCO₃/L)

Figura 8. Resultados del análisis fisicoquímico del agua residual cruda y tratada con una dosis de ozono de 36.8 mg/L durante 1h.

Por lo que respecta a la alcalinidad, varia muy poco entre el agua residual cruda y el agua ozonizada a pH 7; no así para el agua ozonizada a pH 5, debido a que con la modificación del pH de la muestra se produce una neutralización de las sales presentes (principalmente en forma de carbonatos). La variación de algunos de los parámetros se muestra en la figura 8.

8.2.3. Seguimiento microbiológico a lo largo del tratamiento de ozonización

Se realizaron tres corridas adicionales para cada uno de los valores de pH con la dosis de ozono ya establecida con el fin de realizar el seguimiento del proceso de desinfección. Para ello se adaptó un dispositivo que permitió la toma de muestras cada 15 min. durante un período de 1h.

Tanto a pH 5 como a pH 7 se observó la eliminación total de CT, CF, *V. cholerae* y *S. typhi* después de los 15 min. de la aplicación del ozono; esto a pesar de la alta carga bacteriana contenida en el agua residual antes del tratamiento.

El contenido de helmintos se determinó hasta concluir la corrida debido a la cantidad de muestra requerida.

8.3 Evaluación del agua residual tratada con ozono en el cultivo de lechuga

Simultáneamente a la caracterización microbiológica y fisicoquímica del agua residual cruda y del agua tratada con ozono a pH 5 y pH 7, se realizaron los experimentos concernientes al cultivo y riego de lechugas de la variedad Romana (*Lactuca sativa*).

8.3.1. Evaluación del crecimiento de hojas y raíces de las lechugas

En un inicio las lechugas fueron regadas con agua potable hasta la cuarta semana de crecimiento con el objetivo de no afectar la germinación de las semillas; posteriormente se inició el riego con los tres tipos de agua: 1) agua residual cruda, 2) agua residual tratada con una dosis de ozono de 36.8 mg/L durante 1h a pH 7 y 3) agua potable como grupo control.

Se evaluó el crecimiento de las lechugas mediante la medición de la longitud alcanzada tanto de raíces como de hojas. Comparando las mediciones realizadas entre el primero y segundo meses de crecimiento de las lechugas, podemos notar un aumento del 17% en la longitud de la raíz, mientras que la longitud de las hojas aumenta en 25.6%. Estos parámetros sirvieron como referencia para las mediciones posteriores a la aplicación de los tratamientos de riego debido a que representan una manera de expresar la tasa de crecimiento de cada lechuga a las condiciones dadas por el vivero y teniendo como única fuente de energía los nutrientes presentes en la tierra sin ningún tipo de fertilizante.

En la figura 9 se representa la longitud alcanzada por las raíces y hojas de las lechugas después de un mes de recibir riego. Podemos observar que tanto para las lechugas control como para las que recibieron tratamiento, la raíz de la hortaliza tiene un desarrollo más rápido con respecto a las hojas.

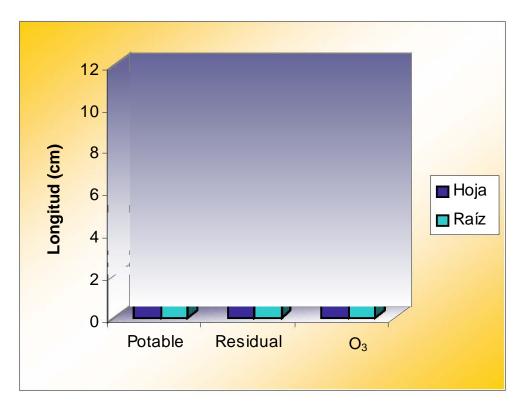


Figura 9. Longitud (cm) de raíz y hoja de las lechugas después del riego con agua potable, agua residual cruda y agua ozonizada.

Las lechugas tratadas con agua residual sufrieron un retraso en el crecimiento lo cual se hace evidente al comparar con las lechugas control (regadas con agua potable) y las lechugas regadas con agua tratada con ozono. Se esperaba que el crecimiento de las lechugas regadas con agua residual cruda fuera mucho mejor al crecimiento reportado para las lechugas regadas con ozono porque el contenido de materia orgánica varía significativamente entre éstas, sin embargo lo anterior puede tener una explicación por el contenido en el agua residual cruda de posibles factores tóxicos como el boro, además de una elevada salinidad que provoca una disminución en la absorción de agua. El ozono al parecer ayuda a controlar las sustancias tóxicas como los metales pesados oxidándolos para después formar sales de fácil eliminación (www.destitec.com).

En las etapas posteriores se notó que el crecimiento de las lechugas sigue la tendencia anterior hasta el final del experimento. El crecimiento de las lechugas regadas con agua residual cruda se retardó con respecto a las regadas con agua potable y agua residual tratada con ozono. Es factible pensar que dada la edad avanzada de las lechugas, las sustancias tóxicas presentes en el agua residual cruda para el riego al entrar en contacto con las raíces merman su crecimiento. En el Anexo III se muestran las fotografías de diferentes etapas del crecimiento de las lechugas a partir de las dos semanas de germinación de éstas, hasta el final de la fase experimental.

8.3.2. Evaluación microbiológica de hojas y raíces de las lechugas

Por lo que respecta a la calidad microbiológica, la primera evaluación de estos parámetros realizada después de un mes de la aplicación de los tratamientos evidenció que el riego con agua cruda presenta grandes problemas de contaminación para este tipo de hortalizas tal y como se muestra en la figura 10. El cultivo de control de lechugas regado con agua potable no presenta crecimiento bacteriano en raíz ni hojas, al igual que sucede con las lechugas regadas con agua ozonizada, mientras que las regadas con agua cruda tienen una elevada concentración de coliformes totales, coliformes fecales y *V. cholerae*.

La aplicación del agua tratada con ozono en el riego de lechugas de la variedad romana (*Lactuca sativa*) hasta esta etapa dio como resultado lechugas con 0% de microorganismos, teniendo una calidad microbiológica comparable con lechugas regadas con agua potable.

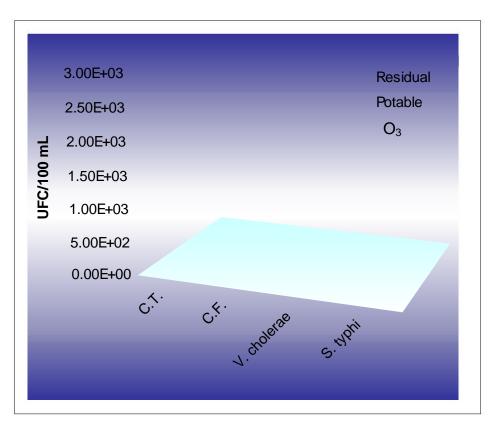


Figura 10. Crecimiento de microorganismos en hojas de lechuga después del riego con agua potable, agua residual cruda y agua ozonizada.

El análisis microbiológico de la segunda etapa fue realizado a los cuatro meses de crecimiento de las lechugas. Tanto en las lechugas regadas con agua potable como en las regadas con agua residual tratada con ozono se encontró la ausencia de CT, CF, *V. cholerae y S. typhi.* La población bacteriana de las lechugas regadas con agua residual cruda aumentó significativamente con respecto a la primera etapa del análisis microbiológico. En cuanto a la detección de *S. typhi*, se tuvo un problema de enmascaramiento por el crecimiento de la bacteria *Xanthomonas sp.* (Bautista, 2004); sin embargo, se pudo comprobar la presencia de *S. typhi* mediante el sistema API 20E utilizando como testigo muestras sintéticas preparadas a partir de una cepa certificada *S. typhi* ATCC-6539.

Los resultados de la tercera etapa del análisis de las lechugas a los seis meses de crecimiento mostraron total ausencia de CT, CF, *V. cholerae* y *S. typhi.* en las lechugas de control (regadas con agua potable) y en las regadas con agua residual tratada con ozono. En las lechugas regadas con agua residual cruda se presenta el mismo fenómeno de crecimiento observado en la segunda etapa de este análisis, que se traduce en el aumento de CT y CF en raíces y hojas. Esto se puede atribuir a la acumulación de la flora bacteriana por medio de los riegos consecutivos con agua residual. Dicha acumulación se da mayormente en raíces que en hojas, ya que están directamente en contacto con las aguas contaminadas. *V. cholerae* aumenta solo en las hojas de las lechugas, mostrando total ausencia en las raíces, mientras que se detectó el crecimiento de *S. typhi* pero no fue cuantificable. En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos en las tres etapas del análisis microbiológico para las lechugas regadas con agua residual cruda.

Tabla 11. Resultados de las tres etapas del análisis microbiológico de las lechugas regadas con agua residual cruda.

Etapa	Primera		Segunda		Tercera	
	UFC/g					
Parámetro microbiológico	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz
Coliformes Totales	0	0	7.66E+02	2.50E+04	3.95E+04	1.64E+05
Coliformes Fecales	0	0	4.63E+02	8.33E+04	8.27E+02	1.28E+05
Salmonella tiphy	0	0	Presencia no cuantificable			
Vibrio cholerae	0	0	1.25E+02	0	9.80E+02	0

Además del análisis bacteriológico fue necesario realizar el conteo de huevos de helminto para tener una caracterización microbiológica completa. Los huevos de helminto son un parámetro de suma importancia, ya que se ha comprobado que son transmitidos por vía hídrica además de ser transmitidos por la ingestión de alimentos contaminados, más aun si se trata de un alimento que se consume crudo como lo son las lechugas.

Dicho conteo mostró claramente el efecto de acumulación debido a los riegos consecutivos con agua residual cruda, llegando a un total de 11 huevos en raíz y 23 en hojas. Las lechugas regadas con agua residual tratada con ozono, mostraron una menor cantidad de huevos de helminto, presentando 2 huevos en hoja y 5 huevos en raíz. El tratamiento del agua se realizó con base al cumplimiento de la norma, por lo que no se eliminaron por completo los huevos de helminto, de aquí su presencia y acumulación. De esto se deduce que a pesar de que el agua utilizada en el riego de cultivos restringidos cumpla con la Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996, al cumplirse el período de crecimiento de éstos, existe una cantidad considerablemente importante de huevos de helminto por efecto del riego continuo.

El presente estudio se prolongó durante todo el período de crecimiento de las lechugas con monitoreo mensual del crecimiento y de los parámetros microbiológicos, incluyendo pruebas para la detección de amibas. Esto con fines de contar con los fundamentos necesarios que validen el uso del ozono como desinfectante en aguas residuales crudas destinadas al riego agrícola.

9.0 CONCLUSIONES

- El agua residual cruda tiene una elevada cantidad de microorganismos, encontrándose coliformes totales 5.4 x 10⁶ UFC/100 mL, coliformes fecales 4 x 10⁶ UFC/100 mL, *V. cholerae* 3.6 x 10⁶ UFC/100 mL y *S. typhi* 4.5 x 10⁶ UFC/ 100 mL.
- El tratamiento con cloro produce una remoción del 95.4% de turbiedad, 70.2% de DQO y una reducción de la alcalinidad del 46.8%; mientras que con el tratamiento de ozonización se lograron mejores remociones con valores de 98.37% de turbiedad, 91.05% de DQO, 91.71% de DBO₅ y una reducción de la alcalinidad del 47.1%. Para ambos tratamientos los SDT y el pH no varían significativamente.
- En el agua residual desinfectada con cloro se detectó la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y S. typhi.
- El tratamiento del agua residual cruda con ozono (flujo de 36.8 mg/L durante 1h) produce la eliminación del 99.9% de coliformes fecales, coliformes totales, S. typhi y V. cholerae desde los 15 minutos de su aplicación.
- El agua residual cruda tiene graves implicaciones en la calidad microbiológica de lechugas de la variedad Romana (*Lactuca sativa*) al ser aplicada al riego sin tratamiento alguno debido a que las hojas presentan coliformes totales 3.95 x 10⁴ UFC/g y fecales 8.27 x 10² UFC/g, además de contener patógenos como *V. cholerae* 9.8 x 10² UFC/g y huevos de helmintos en concentraciones de 11 huevos en raíz y 23 en hojas.

- El riego con agua residual tratada con ozono se traduce al final de la fase experimental en un crecimiento del 6.12% en la longitud de las hojas y del 15.83% en la longitud de las raíces de las lechugas con respecto al grupo control cuyo riego fue con agua potable, el menor crecimiento se obtuvo en las lechugas regadas con agua residual cruda.
- El crecimiento de las lechugas regadas con agua residual cruda se ve retardado con respecto a las regadas con agua potable y agua residual tratada con ozono.
- La calidad microbiológica de las lechugas regadas con agua tratada con ozono es comparable con la de las regadas con agua potable al encontrarse en ambas <1 UFC/g de hoja de coliformes totales, coliformes fecales, S. typhi y V. cholerae.
- El cumplimiento de Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996 para el riego de cultivos restringidos no garantiza la inocuidad de dichos cultivos, ya que se presenta una acumulación considerable tanto de los microorganismos analizados como de huevos de helminto por efecto del riego continuo.

10.0 BIBLIOGRAFÍA

Ayres, R.M., Stott, R., Lee, D.L., Mara D.D. and Silva, S.A., (1992). "Contamination of Lettuces with Nematode Eggs by Spray Irrigation with Treated and Untreated Wastewater". *Wat. Sci. Tech.* Vol. 26. No. 7-8: 1615-1623.

Bartone, R.C., Arlosoroff, S., Shuval, H.I., (1988). Implementing Water Reuse. Proceedings Water Reuse Symposium IV AWWA Research Foundation. Denver.

Bautista Salazar, Guadalupe (2004). Tesis Maestría en ingeniería Ambiental: "Aplicación de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales en la rehabilitación de suelos contaminados con hidrocarburos". México, D.F.

Blumenthal, U.J., Strauss, M., Mara, D.D. and Cairncross, S., (1989). "Generalised Model of the Effect of Different Control Measures in Reducing Health Risks from Waste Reuse". *Wat. Sci. Tech.* Vol. 21: 567-577.

Blumenthal, U.J., Mara, D. D., Ayres, R. M., Cifuentes, E., Peasey, A., Stott, R., Lee, D.L. and Ruiz-Palacios, G., (1996). "Evaluation of the WHO Nematode Egg Guidelines for Restricted and Unrestricted Irrigation". *Wat. Sci. Tech.* Vol. 33. No. 10-11: 277-283.

Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruiz-Palacios, G., Bennet, S., Quigley, M., Peasey, A., Romero-Álvarez, H. (1993). "Problemas de salud asociados al riego agrícola con agua residual en México". Rev. Salud Pública de México. Vol. 35, No. 6 : 614-619.

Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruiz-Palacios, G., Bennet, S., Peasey, A. (1994). "Escenario Epidemiológico del uso agrícola del agua residual: el Valle del Mezquital, México". Rev. Salud Pública de México. Vol. 36, No.1: 3-9.

Cisneros, X., Gontes, R., Nuño, R. (1997). "Contaminación de aguas superficiales y su efecto en el riego agrícola". Rev. Vector de la Ingeniería Civil, FECIC. No. 8 : 12-13.

Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., Trussell, R.R., (1992). "Métodos normalizados para el análisis de agues potables y residuales. APHA, AWWA; WPCF". Ediciones Díaz de Santos, S.A. pp. 50-61.

Devaux, I., Gerbaud, L., Planchon, C., Bontoux, J. and Glanddier, Ph. Y., (2001). "Infectious Risk Associated with Waste Water Reuse: An Epidemiological Approach Applied to the Case of Clermont-Ferrand, France". *Wat. Sci. Tech.* Vol. 43. No. 12: 53-60.

Eliminación de los metales pesados (2003), http://www.destitec.com/información/ozono.html

Fujiwara, K. and Fujii, T. (2002). "Effects of Spraying Ozonated Water on the Severity of Powdery Mildew Infection on Cucumber Leaves". *Ozone Sci. & Eng.* Vol. 24: 463-469.

Garay. P. N. y Cohn, F. M. (1992). "High-Quality Industrial Water Magnament". Manual: The Fairmont Press, Georgia. Pp. 305-324.

Grebenyuk, C.R., (1993). "Electrodialysis of Solutions Containing Products of Oxidizing Destruction of Fulvic Acids of Natural Waters". *Jour. Wtr. Chem. Technol.* Vol.15. No. 1: 61-64.

Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and A.C. Seydim. (2004). "Use of Ozone in the Food Industry". *Lebensmittel-Wissenchaft und-Tech.* Vol. 37. No. 4: 453-460.

Hoigné, J. y Bader, H., (1985). "Rate Constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic Compounds in Water. III: Inorganic compounds and radicals. *Wtr. Res.* Vol. 19: 993.

Hoigné, J. (1998). "Chemistry of Aqueous Ozone and Transformation of Pollutants by Ozonation and advanced oxidation Processes" The Handbook of Environmental Chemistry. Quality and Treatment of Drinking Water II, Part C. Edited by Springer Veriag Berlin. Pp. 85-141.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI, 1991a). Área Metropolitana de la Ciudad de México –Síntesis de Resultados- "X Censo General de Población y Vivienda 1990". México, D.F.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI, 1991b). Resultados Definitivos, XI Censo General de Población y Vivienda 1990". México, D.F.

Jekel, R., (1994). "Floculation Effects of Ozone". Ozone: Sci. Eng. Vol. 16: 55-56.

Khadre, M.A., Yousef, A.E. y Kim, J.G., (2001). "Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: a Review". *Journal of Food Sci.* Vol. 66. No. 9: 1242-1252.

Killops, S.D., (1986). "Volatile Ozonation Products of Aqueous Humic Material" *Wtr. Res.* Vol. 20. No.2 : 153.

Kim, J.G., Yousef, A.E. y Dave, S., (1999)."Application of Ozone for Enhancing the Microbiological Safety and Quality Foods: a Review. *Journal of Food Protection*, Vol.62, No. 9: 1071-1087.

Kim, J.G., Yousef, A.E. and Khadre, M.A., (2003). "Ozone and its Current and Future Application in the Food Industry". *Advances in Food & Nutrition Research*. Vol. 45: 167-218.

Langlais, B., Reckhow, D.A. and Brink, D.R., (1991). "Ozone in Water Treatment"; *Application and Engineering*. Chelsea, MI: Lewis Publisher Inc. USA. Pp. 1-569.

Liberti, L., Notarnicola, M. and Lopes, A., (1999). "Advanced Treatment for Municipal Wastewater Reuse in Agriculture. III Ozone disinfection". *Ozone Sci. & Eng.* Vol. 22: 151-166.

Matuz, M.D., (2001). "Amebas de vida libre aisladas de aguas subterráneas del Valle del Mezquital, Hidalgo, México". Tesis, biólogo. FES-IZTACALA, UNAM. Pp. 1-53.

Maya, R.C., Salgado, V.G. y Jiménez, C., (2000). "Frecuencia y variación estacional de los géneros de huevos de helmintos más comúnmente encontrados en aguas residuales de México". *XII Congreso Nacional Ciencia y Conciencia*, Marzo, No. 1 : 704-713.

Niedrum, S.B., Karioun, D.D. Mara, Mills, S.W., (1991). Appropriate Wastewater Treatment and reuse on Morocco-Boujad: a Case Study. *Wtr. Sci. Tech.* 9: 205-213.

Norma Mexicana. NMX-AA-030-1981. "Análisis de Agua.-Determinación de la Demanda Química de Oxígeno". Pp. 1-9.

Norma Mexicana. NMX-AA-102-1987. "Calidad del agua- Detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* presuntiva- Método de Filtración de Membrana". Diario Oficial de la Federación, 6 de noviembre de 1992.

Norma Mexicana. NMX-AA-036-SCFI-2001. "Análisis de agua – Determinación de Acidez y Alcalinidad en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas- Método de Prueba". Pp. 1-17.

Norma Mexicana. NMX-AA-113-SCFI-1999. "Análisis de agua – Determinación de Huevos de Helmintos- Método de Prueba". Pp. 1-12.

Norma Oficial Mexicana. NOM-001-ECOL-1996. Que establece los límites los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales. SEMARNAP, Diario Oficial de la Federación, 6 de enero de 1997.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS, 1973). Reuse of Effluents: Methods of Wastewater Treatment and Health Safeguards. Technical Report Series. No. 517, OMS, Geneva.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (1989). Health Guidelines for the Use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture. Technical Report Series. No. 778, OMS, Geneva.

Orta de Velásquez, M.T., Altamirano, J.M. and Monje, R.I. (1998). "Improvement of Wastewater Coagulation Using Ozone", *Ozone Sci. & Eng.* Vol.20. No. 2: 151-162.

Ortiz, A.D., (1995). "Tratamiento biológico de aguas residuales: Eficacia de las lagunas de estabilización e la remoción de huevos de helmintos". Tesis. Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM. Pp. 1-155.

Proyecto de Norma Mexicana. PROY-NMX-AA-028-SCFI-1999. "Análisis de Agua —Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales y residuales DBO₅". Pp. 1-18.

Rakness, K. L.; Corsaro, K. M; Hale, G. and Blank, B. D., (1993). "Wastewater Desifection with Ozone Process Control and Operation Results" *Ozone: Sci. Eng.* Vol.15. No. 6: 497-514.

Rice, R.G., Robson, C.M., Miller, G.W. y Hill, A.G., (1981). "Uses of Ozone in Drinking Water Treatment". *Journal of the American Water Works Association*. Vol. 73. No. 1: 44-57.

Rice, R.G., (1986). "Application of Ozone in Water and Waste Water Treatment". The Institute, Syracuse, NY, pp. 7-26.

Rice, G., (2002). "Ozono, ¿de qué se trata?". Conferencia Regional de Ozono, México. Pp. 1-37.

Rojas, V.N. y Orta, L.T., (2000). Resistencia de los huevos de helmintos a la desinfección con ozono y luz ultravioleta. *Rev. Tláloc AMH*, Abril-Junio, No. 18: 23-24.

Rojas-Valencia, M.N., Orta-de-Velásquez, M.T., (2002). "Avances en la desinfección de aguas residuales para eliminar huevos de helmintos y otros microorganismos". Rev. Ingeniería Sanitaria y Ambiental. AIDIS, Argentina. Pp. 67-73.

Rojas-Valencia, M.N., Orta-de-Velásquez, M.T., García-Ramírez, N., (2003). "Ventajas de la desinfección con ozono al final de la cadena de tratamiento de aguas residuales". IX CONGRESO INTERAMERICANO DEL MEDIO AMBIENTE. Jalisco, México. Pp. 1-10.

Salgot, M., Campos, C., Galofré, B. and Tapias, J.C., (2000). "Biological Control Tools for Waste Water Reclamation and Reuse., a Critical Review". 1^{rst} World Water Congress of the International Water Association (IWA). Pp. 80-87.

Sandoval, V. A. M., (1991). "Identificación y cuantificación de *Vibrio cholerae*, adiestramiento para la prevención y manejo de las enfermedades gastrointestinales en el sector agua". Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Comisión Nacional del Agua. Pp. 1-48.

Secretaría Del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (1997). Norma Oficial Mexicana NOM-001-Ecol-1996. "Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales." Diario Oficial de la Federación. Pp. 1-15.

Shuval, H.I., Adin, A., Fattal, B., Rawitz, E., Yekutiel, P., (1986). "Wastewater Irrigation in Developing Countries: Health Effects and Technical Solutions". Washington D.C. World Bank Technical Paper, No. 51.

Stanley, B., (2004). "Generación electrolítica de ozono y su aplicación en sistemas del agua pura". *Rev. Agua Latinoamérica*. Marzo-Abril, pp. 20-25.

Stien, J.L. and Schwartzbrod, J., (1990). "Experimental Contamination of Vegetables with Helminth Eggs". *Wtr. Sci, Tech.* Vol. 22. No. 9: 51-57.

White, Clifford (1978) "Disinfection of Wastewater and Water for Reuse " Van Nastrand Reinhold company. Pág 316-333.

Wickramanayake, G.B., (1991). "Disinfection and Sterilization by Ozone". In: Seymour, S.B., Editor, 1991. Disinfections, sterilization and preservation (4th ed.), Malvern, PA, pp. 182-190.

Wickramanayake, G.B., (1985). "Effects of Ozone and Storage Temperature on *Giardia* Cysts". *Jour. Amer. Wtr. Works Assoc.* Vol. 77. No. 8 : 74-77.

11.0 ANEXOS

Anexo I. Muestreo en la planta de tratamiento de aguas residuales municipales.



Fotografía 1



Fotografía 2

Fotografías 1 y 2. Influente de la planta de tratamiento de agua ubicada en Av. San Lorenzo 312 Colonia San Juan Xalpa en la Delegación Iztapalapa, México D.F.



Fotografía 3. Muestreo de aguas residuales crudas directamente del influente de la planta de tratamiento de agua.

Anexo II. Construcción y acondicionamiento del vivero destinado al cultivo de lechugas.



Fotografía 4



Fotografía 5

Fotografías 4 y 5. Construcción del vivero ubicado en el Edificio 5 del Instituto de Ingeniería de la UNAM.

Anexo III. Etapas del crecimiento de las lechugas romanas (Lactuca sativa).



Fotografía 6. Lechugas romanas a dos semanas de la germinación.



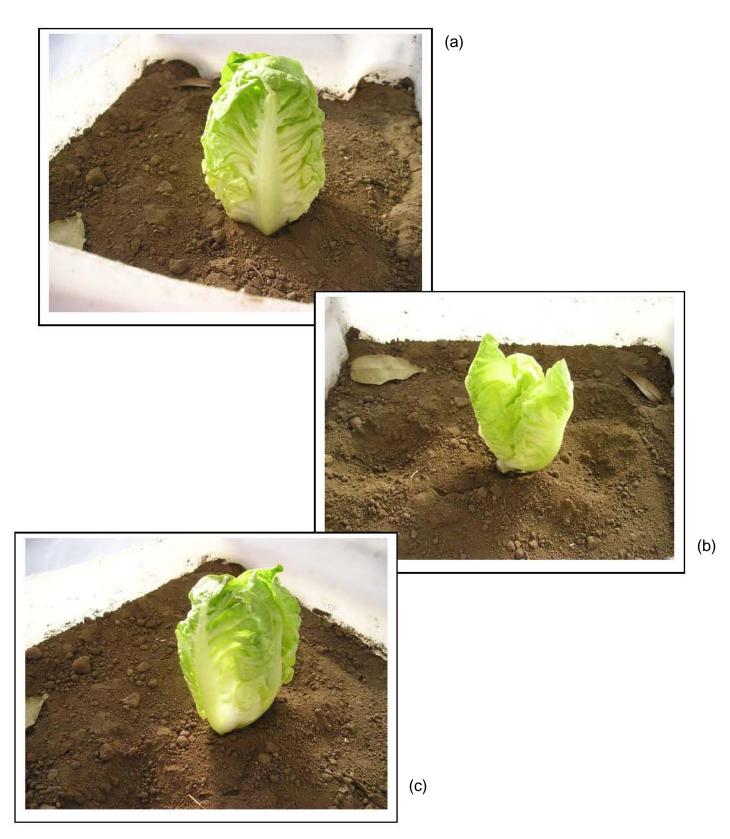
Fotografía 7. Lechuga romana regada con agua residual tratada con ozono a los tres meses de la germinación.



Fotografía 8. Lechuga romana regada con agua potable a los tres meses de la germinación.



Fotografía 9. Lechugas romanas regadas con agua potable a los seis meses de la germinación.



Fotografías 10. Lechugas romanas a los seis meses de la germinación, regadas: a) con agua potable, b) con agua residual cruda y c) con agua residual tratada con ozono.