

---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**



**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“IMPORTANCIA Y APLICACIÓN DE LA  
PRUEBA OECD 301-A PARA LA SELECCIÓN  
DE UN DETERGENTE LÍQUIDO  
BIODEGRADABLE”**

**T E S I N A**

que para obtener el Título de  
**Química Farmacéutica Bióloga**

**P R E S E N T A:**

**LUZ CAROLINA TAPIA URIBE**

México, D.F.

2007



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 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

PRESIDENTE	Prof. Carlos Mauricio Castro Acuña
VOCAL	Profa. Adriana Guadalupe Mejía Chávez
SECRETARIO	Prof. Víctor Manuel Luna Pabello
1 <sup>er</sup> . SUPLENTE	Prof. Norma Angélica Castellanos Chávez
2 <sup>o</sup> . SUPLENTE	Profa. Martha Giles Gómez

Sitio en donde se desarrolló el tema:

**UNAM, Facultad de Química, Laboratorio de Microbiología Experimental.**

**Asesor:**

Dr. Víctor Manuel Luna Pabello

\_\_\_\_\_  
Firma

**Sustentante:**

Luz Carolina Tapia Uribe

\_\_\_\_\_  
Firma

---

## **Reconocimientos**

*Se agradece el apoyo económico otorgado por el Proyecto PAPIIME, clave EN213104: Desarrollo, montaje y validación de prácticas de laboratorio para la enseñanza de la microbiología ambiental; Proyecto PAPIIT, clave IN215006-3: Determinación de la capacidad desinfectante de aguas residuales domésticas usando agregados minerales naturales y artificiales conteniendo plata y del Proyecto PAIP 6190-14 (VMLP) FQ-UNAM, para la compra de materiales y reactivos empleados para la realización de la presente tesina. Al laboratorio de Microbiología Experimental, de la Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el uso de las instalaciones que permitieron la realización del trabajo experimental de este trabajo.*

*Al Dr. Víctor Manuel Luna Pabello por la dirección de esta tesina.*

---

## *Agradecimientos*

*Agradezco a:*

*Dios por permitirme concluir una etapa importante de mi vida.*

*Mis padres Ángel (+) y Lupe por todo el apoyo, amor y confianza que siempre me brindaron.*

*Mi hijo Emiliano por su radiante sonrisa.*

*Mis hermanos por todo el apoyo, a mis sobrinos y amigos.*

*Al Doctor Víctor Manuel Luna Pabello por la dirección, asesoría y apoyo en este trabajo de titulación. Y también por su comprensión y ayuda para agilizar los trámites correspondientes.*

*Al Prof. Carlos Castro A y a la maestra Adriana Mejía C. por sus opiniones y contribuciones para la presentación de esta tesina.*

*Al M en C. Ernesto Reyes Alvarado, por el apoyo en la edición del presente ejemplar.*

---

## *Dedicatorias*

*No existen palabras suficientes para plasmar mi eterno agradecimiento a todas aquellas personas, tan importantes de mi vida, quienes siempre han estado conmigo en los buenos y malos momentos, gracias por todo su apoyo y motivación. Dedico este trabajo a:*

*A mis padres: Pedro (+) y Lupe por mostrarme la vida siempre de su mano, por educarme con amor y paciencia. Y hoy que tengo la dicha de tenerte conmigo Mami, quiero que vivas este logro como tuyo, por que gracias a la educación que me dieron tu y mi papa, soy lo que soy. Y sobre todo a tí, por apoyarme tanto, por creer en mí, por tantas desveladas que te ocasione y por todo el tiempo que cuidas a Emiliano con tanto amor.*

*Mil Gracias!!!!*

*A la personita más importante de mi vida, mi hijo Fco. Emiliano, por ser mi motor de cada día y la motivación para seguir adelante. Gracias por esa sonrisa interminable, por cada amanecer a tu lado y por todas las travesuras que haces (como borrarle archivos de la tesis).*

*A mis hermanos:*

*»Lupita: Por los consejos recibidos, por compartirme tus aventuras, etc.*

*»Tere: Por darme la oportunidad de estudiar en la O´Farrill sacrificando tu sueldo por tantos años, por todas las veces que supervisaste mis tareas y todavía ahora la tesis.*

*»Pepe: Por todo el apoyo que me has brindado cuando más lo he necesitado, por motivarme y echarme porras tantas veces.*

*»Mariana: Por tantos viajes y aventuras juntas.*

*“A todos ustedes por cree y confiar en mí”.*

*A mis sobrinos del alma Carlos, Rubén (por las veces que me ayudaste con la tesis), Miguel A., Karla, Bárbara y Lulú, por darle tanto sabor a mi vida. Y por permitirme ser un ejemplo para ustedes. A todos, muchas gracias por jugar y cuidar a Emiliano mientras trabajaba en la tesis.*

*Al Dr. Víctor Manuel Luna Pabello por la dirección, paciencia comprensión y apoyo que me brindo para realizar esta tesina así como la oportunidad de trabajar con usted.*

---

*A Ernesto y Benja por ser mis asesores particulares en la realización del experimento y la tesis; a Rene, Adriana y Paty por su apoyo y compañía durante mi estancia en el laboratorio.*

*A todos los profesores que formaron parte de mi crecimiento profesional durante mi estancia en esta hermosa facultad.*

*A mis compañeros y amigos, en especial a Sam, Violet, Gina Zenteno, Gina Mtz., Dan, Felipe, Miguel, Orlando y Ara, por todas aquellas maravillosas experiencias que compartimos juntos.*

*A mis compañeros y amigos del I.N.P.: Alex, Lili, Ceci, Ange, Iliria, José, Hugo, Gualo, Vicen, Bere, Fabi, etc.*

*A mis nuevos amigos de COFEPRIS que juntos somos "Los 4 Fantásticos": Lulú, Nazul y Gabo, gracias por su apoyo y consejos. Así como a Isa, Lore, Rafita, Ale, Yadira, Pedro, Lic. Chávez y otros más.*

*Y a todas aquellas personas que aunque no estén escritos sus nombres en este documento son parte de mi crecimiento profesional y humano.*

## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>i</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>ii</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 IMPORTANCIA DEL AGUA .....</b>	<b>3</b>
2.1.1 CONTAMINACIÓN .....	4
2.1.2 TIPOS DE CONTAMINACIÓN .....	6
<b>2.2 DETERGENTES .....</b>	<b>10</b>
2.2.1 TIPOS DE DETERGENTES .....	11
2.2.2 PROBLEMAS CAUSADOS POR LOS DETERGENTES.....	13
<b>2.3 BIODEGRADABILIDAD.....</b>	<b>18</b>
2.3.1 TIPOS DE BIODEGRADACIÓN .....	20
2.3.2 EVALUACIÓN DE BIODEGRADABILIDAD .....	21
2.3.2.1 OXÍGENO DISUELTO (OD) .....	23
2.3.2.2 DEMANDA BIQUÍMICA DE OXÍGENO EN 5 DÍAS (DBO5) .....	24
2.3.2.3 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO).....	25
2.3.3 BIODEGRADABILIDAD AEROBIA .....	27
2.3.4 PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD AEROBIA RÁPIDA (OECD 301-A) .....	27
<b>2.4 TOXICIDAD .....</b>	<b>29</b>
2.4.1 TOXICIDAD AGUDA.....	33
2.4.1.1 ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON SEMILLAS DE LECHUGA ( <i>Lactuca sativa</i> L). OECD 208.....	34
2.4.2 APLICACIÓN DE LAS PRUEBAS DE TOXICIDAD .....	36
<b>3 OBJETIVOS:.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1 GENERAL.....</b>	<b>39</b>
<b>3.2 PARTICULARES.....</b>	<b>39</b>
<b>4 HIPÓTESIS.....</b>	<b>39</b>
<b>5 METODOLOGÍA.....</b>	<b>40</b>
<b>5.1 PROYECTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>40</b>
5.1.1 MATERIAL .....	40
5.1.2 DIAGRAMA DE LA FASE EXPERIMENTAL.....	42
5.1.3 ESTRATEGIA GENERAL DE TRABAJO .....	42
<b>6 RESULTADOS .....</b>	<b>47</b>
<b>7 ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
<b>8 CONCLUSIONES .....</b>	<b>55</b>



<b>9</b>	<b>GLOSARIO</b> .....	<b>57</b>
<b>10</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>62</b>
<b>11</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>67</b>
	<b>ANEXO 1: Prueba de biodegradabilidad aerobia rápida (OECD 301-A)</b> .....	<b>67</b>
	<b>ANEXO 2: Prueba de Toxicidad aguda con Semillas de lechuga <i>Lactuca sativa</i> (OECD 208)</b> .....	<b>70</b>

## ABREVIATURAS

ABS	ALQUIL BENCEN SULFONATO
ANOVA	ANÁLISIS DE VARIANZA
APHA-1998	AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION
CONAGUA	COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA
COD	CARBONO ORGÁNICO DISUELTO
D <sub>1-5</sub>	DETERGENTE 1-5
DBO <sub>5</sub>	DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN 5 DÍAS
DQO	DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO
K	CONSTANTE DE VELOCIDAD
K <sub>M</sub>	CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN
KM <sup>3</sup>	KILÓMETRO CÚBICO
L	LITROS
ABS	ALQUIL BENCEN SULFONATO LINEAL
MOD	MATERIA ORGÁNICA DISUELTA
N	NORMALIDAD
NOEC	NO OBSERVABLE EFFECT CONCENTRATION
NOM	NORMA OFICIAL MEXICANA
OD	OXÍGENO DISUELTO
OE	ÓXIDO DE ETILENO
OECD	ORGANIZACIÓN PARA LA COOPERACIÓN ECONÓMICA Y DESARROLLO
SEMARNAT	SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES
S <sub>0</sub>	CONCENTRACIÓN INICIAL DE SUBSTRATO
UFC	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS
US EPA	AGENCIA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE ESTADOS UNIDOS DE NORTE AMÉRICA
UTL	UNIDAD TÓXICA LETAL
UTLS	UNIDAD TÓXICA SUB-LETAL

---

---

## RESUMEN

El uso desmedido de detergentes causa serios problemas de contaminación en cuerpos acuáticos naturales y artificiales, llegando inclusive a ocasionar la muerte de las especies nativas y la formación de focos de infección para la salud humana. Asimismo, este tipo de contaminación hace que se encarezca el tratamiento requerido para la obtención de agua de calidad adecuada para el abasto de agua potable y de uso en riego agrícola e industrial.

Esta tesina relaciona la importancia ambiental que tiene el uso de detergentes líquidos, así como los beneficios ambientales obtenidos al usar detergentes biodegradables. En este sentido, el presente trabajo se basó en la recopilación y análisis de información bibliográfica y la aplicación de una fase experimental corta, que permitió evidenciar la importancia de contar con metodologías que ayuden a seleccionar, de entre los múltiples detergentes líquidos existentes, aquellos que resulten menos agresivos para el ambiente. En este contexto, un criterio importante lo constituye el nivel de biodegradabilidad que presenta un determinado detergente. Cabe señalar que, en México, al no existir un procedimiento oficialmente aceptado para determinar la biodegradabilidad de detergentes, se hace necesaria la selección y aplicación de alguno de los procedimientos reconocidos de manera internacional. En el presente trabajo, se optó por aplicar el procedimiento OECD 301-A Biodegradabilidad aerobia rápida. Un aspecto adicional a considerar, es la evaluación de producto resultante de la biodegradación del detergente. Para ello, la aplicación de la prueba de toxicidad aguda OECD 208 (Germinación de semillas y elongación de raíz), empleando semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), constituye una opción adecuada para definir si dicho producto resulta ser o no tóxico. De acuerdo con los resultados de biodegradación obtenidos, a partir de la medición de la demanda bioquímica de oxígeno ( $DBO_5$ ), demanda química de oxígeno (DQO), oxígeno disuelto (OD) y de la prueba de toxicidad aguda, antes y después de someter el detergente a la prueba de biodegradación indican que el detergente líquido etiquetado como D1 no puede ser considerado como biodegradable, complementariamente, el líquido resultante de aplicar dicha prueba resultó igualmente tóxico que antes de la

---

aplicación de la misma. En consecuencia, los resultados de este trabajo refuerzan la idea de fomentar el uso de detergentes de cadena lineal (biodegradables), en lugar de detergentes de cadena ramificada (no biodegradables). Cabe señalar que estos últimos se encuentran fuera de circulación en países de primer mundo. La ventaja del uso de detergentes blandos o biodegradables, radica en que pueden ser removidos más fácilmente de las aguas residuales, mediante la acción microbiológica y, al degradar estos compuestos de las aguas residuales, se disminuye la probabilidad de tener efectos fitotóxicos, cuando estas aguas residuales, tratadas o no, sean empleadas en riego agrícola, práctica común en México y en general en países latinoamericanos.

---

# 1 INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo y uso de detergentes a nivel doméstico e industrial, así como su permanencia en el ambiente, constituyen un grave problema de contaminación a nivel mundial. El desarrollo y creciente uso de los detergentes sintéticos promueve su acumulación en las aguas naturales y residuales, debido a que los microorganismos no los pueden degradar fácilmente. Por lo anterior, es importante la aplicación de pruebas de degradación específicas, que permitan seleccionar aquellos compuestos de relativa fácil biodegradación a efecto de reducir, desde el origen, el problema que ocasionan y no trasladarlo a los sistemas de tratamiento y de estos a los cuerpos acuáticos naturales y artificiales o hacia los suelos de cultivo agrícola. Cabe señalar que, además de los estudios de biodegradabilidad, es necesario determinar si los subproductos de la misma resultan o no ser más tóxicos que antes de ser biodegradados. Para ello, es posible la aplicación de pruebas de toxicidad aguda, empleando semillas de plantas vasculares.

La Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (Organization for Economic Cooperation and Development, OECD) ha desarrollado diversos métodos aceptados internacionalmente para la evaluación de la biodegradabilidad y toxicidad de compuestos hidrosolubles. En este sentido, destacan los que a continuación se mencionan.

Prueba de biodegradabilidad aerobia rápida (OECD 301-A, 1992). Es una forma rápida de evaluar la permanencia de un compuesto en el ambiente. Esta prueba establece que si el 70% de la sustancia es biodegradada en 28 días, puede considerarse como fácilmente biodegradable. Aquellas sustancias que pueden permanecer en el ambiente son clasificadas como recalcitrantes dependiendo de su efecto en la flora y fauna así como del riesgo que pueden generar para la salud humana y los ecosistemas naturales, pueden ser clasificadas como tóxicas (Alvarez *et al.*, 2001).

Prueba de toxicidad aguda empleando semillas de plantas vasculares (OECD 208). Es una forma rápida para clasificar una sustancia como tóxica en comunidades o ecosistemas e identificar el riesgo biológico que representa. Con esta prueba se pueden

---

---

evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas, en el proceso de germinación de semillas, elongación de la raíz y del desarrollo de las plántulas durante los primeros días del crecimiento. Entre las semillas más empleadas se encuentran las de lechuga (*Lactuca sativa*). Este ensayo puede ser aplicado para la evaluación de aguas residuales domésticas e industriales (Castillo 2004).

En este contexto, se optó por realizar la presente tesina en la Facultad de Química de la UNAM, incorporándole una fase experimental corta, dividida en dos etapas, a un detergente líquido seleccionado previamente. La etapa 1, consistió en Pruebas de biodegradabilidad aerobia rápida basadas en la OECD 301 A y apoyada con las técnicas de DQO, DBO<sub>5</sub> y OD. En la etapa 2, se aplicó la prueba de toxicidad aguda, empleando semillas de una planta vascular, de acuerdo a lo indicado en la OECD 208. Los resultados obtenidos se compararon con el marco teórico elaborado exprofeso.

A continuación, se presentarán, de manera breve, algunos aspectos relevantes relacionados con el contenido de la tesina. Entre dichos aspectos sobresale el del agua, su contaminación y el uso de detergentes.

---

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 IMPORTANCIA DEL AGUA

El agua es fundamental para todas las formas de vida, lo que le convierte en uno de los recursos esenciales de la naturaleza. El agua es la necesidad más urgente para el ser humano; a pesar de ello, son muy pocas las poblaciones que disponen de este elemento en cantidad suficiente, ya que su distribución en el mundo es dispar. Existen personas que viven con escasez de agua y están constantemente al borde de la sequía, pero aun aquellos países favorecidos con recursos hídricos, enfrentan el problema de la escasez potencial.

El volumen del agua en el mundo se expresa mediante una cifra aproximada de 1,360 millones de km<sup>3</sup>, es decir 1,360 trillones de litros. Si se divide esta cifra por cada ser humano, le correspondería aproximadamente 250,000 millones de litros a cada uno. Bajo estas perspectivas, el agua aparece como un recurso prácticamente ilimitado. Sin embargo, de esa enorme masa líquida, sólo el 3% es dulce y la mitad de ella es potable (Imac, 2007).

Se entiende por agua potable, aquella que es apta para beber y que también es comúnmente destinada para usos domésticos. El agua potable debe ser, desde el punto de vista organoléptico, incolora, inodora e insípida. Si bien, debe contener algunos gases, especialmente aire y sales disueltas en pequeñas cantidades; no debe poseer materias orgánicas, ni microorganismos patógenos, ni sustancias químicas. Estrictamente para que un volumen se considere como potable, debe cumplir con lo establecido por la NOM-127-SSA1-1994 "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".

El control de la calidad del agua potable es la clave para reducir los riesgos de transmisión de enfermedades gastrointestinales a la población. Este control se ejerce evaluando los parámetros del agua y vigilando que se lleven a cabo los requisitos

---

sanitarios, que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua para uso y consumo humano, públicos y privados como se establece en la Norma Oficial Mexicana NOM 012-SSA1-1993.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que gran parte de las aguas dulces se encuentran en estado sólido o son subterráneas y de difícil acceso. En la actualidad, es alarmante la constante pérdida de agua susceptible de ser empleada para el basto de agua potable. Los problemas del agua se centran tanto en la calidad como en la cantidad. Los mayores volúmenes de agua se emplean en la agricultura, la cual consume alrededor del 70% del total.

De manera particular, en el caso de la Ciudad de México, más del 60 % del agua que se emplea para fines potables, se extrae del subsuelo, lo que hace que la tierra se hunda y ocasione ruptura en las tuberías de agua potable y drenajes de aguas residuales. Lo anterior además de aumentar el riesgo de contaminar el agua potable hace necesario que se importe más agua de cuencas hidrológicas adyacentes, tales como las de Lerma-Cutzamala (Imac, 2007).

### **2.1.1 CONTAMINACIÓN**

El agua es un compuesto indispensable para la vida, sin embargo, las diversas actividades humanas implican la generación de contaminantes, lo cual, aunado al uso indebido, provoca un problema de escasez y encarecimiento de este recurso.

La contaminación de los cuerpos de agua es producto de las descargas de aguas residuales sin tratamiento, ya sea de tipo doméstico, industrial, agrícola, pecuario o minero. A finales del año 2001, más del 70% de los cuerpos de agua del país presentaban algún indicio de contaminación (Conagua, 2003). Como ejemplo de estas descargas se tiene que en el 2004, los giros industriales con mayores descargas contaminantes sumaban un volumen total de 170.3 m<sup>3</sup>/s, como se muestra en la Tabla 1.



---

---

**Tabla 1. Volumen de descarga de agua de las diferentes actividades según Conagua, 2004**

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>VOLUMEN DE DESCARGA</b> <b>(M<sup>3</sup>/S)</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>Acuacultura</b>	<b>67.6</b>	<b>39.6</b>
<b>Industria azucarera</b>	<b>45.9</b>	<b>27</b>
<b>Petrolera</b>	<b>11.4</b>	<b>6.6</b>
<b>Servicios Públicos</b>	<b>10.3</b>	<b>6</b>
<b>Química</b>	<b>6.9</b>	<b>4</b>

A su vez, la industria azucarera es la que produce la mayor cantidad de materia orgánica contaminante, la petrolera y química las que producen los contaminantes de mayor impacto ambiental. El sector industrial compite por el uso del agua con otros sectores productivos, particularmente con el agrícola (Carabias y Landa, 2005).

El vertido industrial arrojado sin tratamiento posee un alto contenido orgánico, lo que provoca un aumento acelerado de algas, bacterias y limo, una disminución de oxígeno en el agua y una contaminación térmica. El vertido puede afectar a un volumen de agua relativamente elevado y puede tener numerosos impactos en la salud humana.

La mayor parte de materia orgánica que contamina el agua procede de desechos de alimentos, de aguas negras domésticas y de fábricas, esta materia orgánica es descompuesta por bacterias, protozoarios y diversos organismos mayores (Petersen *et al.*, 2003). El oxígeno disuelto en el agua puede ser consumido por la fauna acuática a una velocidad mayor a la que es reemplazado desde la atmósfera, lo que ocasiona que los organismos acuáticos compitan por el oxígeno y en consecuencia se vea afectada la distribución de la vida acuática.

En los servicios públicos urbanos se utiliza el agua nacional de centros de población o asentamientos humanos, la cual se destina para el uso y consumo humano, con previa potabilización.

Los vegetales acuáticos proliferan debido a la presencia de elementos como nitratos y fosfatos que actúan como nutrientes. Las principales fuentes de nutrientes son las aguas negras y los escurrimientos agrícolas que originan el crecimiento masivo de algas y lirios, los cuales generan grandes cantidades de masas vegetales sobre las aguas y su posterior acumulación sobre las riberas. Cuando las plantas mueren, para su descomposición consumen el oxígeno disuelto en el agua provocando condiciones anaerobias. Estas aguas contaminadas suelen terminar en el mar y gran cantidad de peces de consumo humano se convierten a su vez en agentes tóxicos (Imac, 2007; Krooneman *et al.*, 2000).

La calidad del agua es tan importante como su cantidad. Aunque una vez utilizada la mayoría del agua retorna a sus cauces originales, inevitablemente, su calidad se degrada. Como se ejemplifica en la siguiente tabla (Spiro y Stiglid, 2003).

**Tabla 2. Usos y efectos de la calidad del agua**

<b>USOS DEL AGUA</b>	<b>EFFECTOS SOBRE LA CALIDAD DEL AGUA</b>
<b>Doméstico/Industrial</b>	<b>Disminución del oxígeno disuelto.</b>
<b>Minería</b>	<b>Disminución del oxígeno disuelto; contaminación del agua con metales y compuestos orgánicos; drenaje ácido de minas.</b>
<b>Termoeléctrico</b>	<b>Incremento de la temperatura del agua.</b>
<b>Irrigación/residuos animales</b>	<b>Salinización del agua superficial y agua subterránea, disminución del oxígeno disuelto.</b>

## **2.1.2 TIPOS DE CONTAMINACIÓN**

### - Contaminación química del agua

---

La contaminación química del agua incluye compuestos orgánicos e inorgánicos que pueden estar disueltos o dispersos en el agua.

Los contaminantes orgánicos consumen el oxígeno disuelto en el agua y afectan a la vida acuática. Las concentraciones anormales de compuestos nitrogenados en el agua, tales como el amoníaco o los cloruros se utilizan como índice de la presencia de dichas impurezas contaminantes en el agua (Imac, 2007; Booki *et al.*, 2005).

**Tabla 3. Principales contaminantes químicos**

<b>INORGÁNICOS</b>	<b>ORGÁNICOS</b>
<b>Cloruros</b>	<b><u>Desechos:</u></b>
<b>Sulfatos</b>	<b>Humanos</b>
<b>Nitratos</b>	<b>Animales (De rastros o mataderos)</b>
<b>Carbonatos</b>	<b>De procesamiento de alimentos para humanos y animales</b>
<b>Desechos ácidos</b>	
<b>Desechos alcalinos</b>	<b><u>Diversos productos químicos industriales de origen natural como:</u></b>
<b><u>Gases tóxicos disueltos en el agua como:</u></b>	<b>Aceites</b>
<b>Óxidos de azufre</b>	<b>Grasas</b>
<b>Óxidos de nitrógeno</b>	<b>Breas y Tinturas</b>
<b>Amoníaco</b>	<b><u>Productos químicos sintéticos como :</u></b>
<b>Cloro</b>	<b>Pinturas</b>
<b>Acido sulfhídrico</b>	<b>Herbicidas</b>
	<b>Insecticidas</b>

Las aguas subterráneas y superficiales pueden contaminarse por migración de compuestos químicos desde vertederos mal gestionados, residuos industriales, vertidos

---

---

accidentales y fugas en tanques de almacenamiento, especialmente los que se encuentran bajo suelo. La regulación de las fugas de petróleo y gasolina en tanques de almacenamiento se ha convertido en una prioridad para los gobiernos del mundo. Las aguas del pozo y manantiales pueden contaminarse con trazas de derivados de petróleo, disolventes clorados, etc. Estos compuestos orgánicos solubles pueden escapar de los tanques y migran a través del suelo donde se acumula y penetran lentamente en las aguas subterráneas.

Para regular la contaminación de las aguas residuales arrojadas a los vertederos existen normas oficiales mexicanas que supervisan esta descarga, con el fin de reducir el costo generado en el tratamiento de estas aguas, esto a su vez promueve la disminución en el costo por litro del agua potable que se utiliza (Shih y Zacerkowny, 2005).

A continuación, se abundará sobre los contaminantes de mayor relevancia.

- Contaminación por petróleo:

Los hidrocarburos forman con el agua una película impermeable sobre el agua que obstruye el intercambio gaseoso y obstaculiza el paso de la luz solar que utiliza el fitoplancton para realizar el proceso de la fotosíntesis, en las zonas de derrame afecta rápida y directamente a las aves, a los mamíferos acuáticos y a los animales acuáticos provocándoles la muerte. Esta capa de petróleo destruye el aislamiento térmico natural de los animales y también afecta su capacidad para flotar, por lo cual mueren de frío o porque se hunden y ahogan.

- Contaminación por metales

Las aguas procedentes de las industrias como la minera, la de recubrimientos metálicos, las fundidoras y otras más contaminan el agua con diversos metales que son tóxicos para la flora y la fauna terrestres y acuáticas.

---

Para la determinación de estas sustancias presentes en las aguas, la Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994 establece mediante sus métodos de prueba la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio presentes en agua potable.

---

---

- Contaminación del agua por plaguicidas

La contaminación del agua por plaguicidas se produce al ser estos arrastrados por el agua de los campos de cultivo hasta los ríos y mares donde se introducen en las cadenas alimenticias provocando la muerte. Por tal motivo los plaguicidas son objeto de vigilancia por parte de diversas autoridades, dada su naturaleza tóxica, para prevenir los riesgos a la salud pública, a la salud animal y los efectos adversos al medio ambiente. Para dicha vigilancia existe la Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA1-1993, la cual establece los requisitos que deben cumplir los Plaguicidas para uso agrícola y forestal, pecuario, de jardinería, urbano e industrial, ya que estos productos tienen en su composición química Hidrocarburos clorados, Clorofenoxiácidos, Organofosfatos y Carbamatos.

En las zonas agrícolas la contaminación del agua se origina por el empleo de fertilizantes, herbicidas y pesticidas. Aunque la tendencia actual es el empleo de pesticidas y herbicidas que se degraden fácilmente y no persistan en el medio, algunos de ellos se acumulan en las aguas subterráneas, constituyendo una amenaza para los pozos de las granjas (Spiro y Stiglid, 2003). Los compuestos presentes en efluentes agro-industriales son relativamente difíciles de degradar por lo cual se requiere de un pretratamiento biológico o químico para remover estos compuestos (Constantinos, 2004).

- Contaminación del agua por coliformes

Las bacterias coliformes constituyen un indicio del grado de contaminación de las aguas negras. El agua contaminada puede estar sucia, mal oliente, ser corrosiva, de mal sabor o poco apta para beber. Sin embargo, para el hombre el efecto más perjudicial del agua contaminada ha sido la transmisión de enfermedades por microorganismos que pueden habitar en ella. Por ejemplo, bacterias, parásitos, algas, virus y protozoarios (Imac, 2007).

---

---

Las bacterias coliformes son un grupo heterogéneo compuesto por varios microorganismos (por ejemplo: *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Shigella sp.* y *Escherichia coli*). Existe poca evidencia que indique que estas bacterias coliformes pertenezcan a un solo género taxonómico. La falta de certeza en cuanto a su filiación taxonómica y la imprecisa correlación entre los métodos recomendados para la detección de coliformes han presentado problemas.

Existen dos normas que indican el procedimiento para la determinación de microorganismos presentes en agua. La Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994 que establece el método microbiológico para estimar el número de coliformes presentes en agua potable, agua purificada y hielo, por medio del cálculo del número más probable (NMP) después de la incubación a 35 °C de la muestra diluida en un medio líquido; y la norma NOM-113-SSA1-1994 que establece el Método para la Cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en Placa.

Dada la importancia que representan los detergentes para el presente trabajo, a continuación se describirá de manera más detallada su conformación, clasificación y efectos contaminantes

## **2.2 DETERGENTES**

Los detergentes, agentes tensoactivos, agentes surfactantes o agentes superficiales activos, son compuestos constituidos por moléculas orgánicas grandes, polares, solubles en agua y aceites, que tienen la propiedad de disminuir la tensión superficial de los líquidos en que se hallan disueltos.

Los fosfatos presentes en detergentes tienen un efecto ablandador del agua, flocculan y emulsionan a las partículas de materia orgánica, y algún otro componente que actúe como solubilizante, blanqueador, bactericida, perfume, abrillantador óptico (tinturas que dan a la ropa el aspecto de limpieza), entre otros. Estos fosfatos modifican la tensión superficial, al disminuir la fuerza de adhesión de las partículas a una superficie.

---

Tienen en su molécula un extremo iónico soluble en agua y otro extremo no polar que desplaza a los aceites. Los detergentes tienen la ventaja, sobre los jabones, de formar sulfatos de calcio y de magnesio solubles en agua, por lo que no forman coágulos al usarlos con aguas duras. Además, como el ácido contenido en los sulfatos ácidos de alquilo es fuerte, sus sales (detergentes) resultan de pH neutro en el agua.

Los detergentes sintéticos contienen sustancias surfactantes o tensoactivas que ayudan en la penetración, remojo, emulsificación, dispersión, solubilización y formación de espuma. La mayoría son contaminantes persistentes debido a que no se degradan fácilmente por la acción microbiana ni por procesos fisicoquímicos.

Un surfactante es la combinación de una molécula hidrofóbica con una hidrofílica. Estas moléculas tienden a localizarse entre un medio acuoso y otra fase como aire, aceite, líquidos y partículas las cuales imparten propiedades de espumación, emulsificación y suspensión de partículas. Los surfactantes hidrofóbicos generalmente tienen un hidrocarburo radical (R) formado entre 10 a 20 átomos de carbono. El grupo hidrofílico puede ser de dos tipos: 1) los que se ionizan en agua y 2) los que no se ionizan en agua.

El principal agente tensoactivo que se usa en los detergentes es un derivado del alquil bencen sulfonato (ABS) (Mantzavinos et al., 2001), el cual puede hacer que el detergente sea “duro” es decir no biodegradable, si la cadena que lo conforma es ramificada, o “blando”, biodegradable cuando forma cadenas lineales.

### **2.2.1 TIPOS DE DETERGENTES**

En el mercado se encuentran cuatro tipos de detergentes sintéticos:

- *Detergentes aniónicos*: Contienen comúnmente como grupos solubles, sulfatos y sulfonatos de sodio. Los detergentes aniónicos y especialmente los sulfonatos, son los que se utilizan más, cuestan poco y son estables en aguas duras. Se puede considerar que salvo en ciertas excepciones, todos los tensoactivos aniónicos hoy utilizados muestran muy elevada biodegradabilidad primaria, del orden del 93 al 96%.



---

*-Detergentes catiónicos:* Son principalmente compuestos cuaternarios de amonio empleadas generalmente como auxiliares de tintura o suavizantes, se puede decir que son altamente resistentes a la biodegradación, inhibiendo en muchos casos el poder oxidante de las bacterias, por lo tanto poseen propiedades bactericidas y bacteriostáticas, pero son bastante caros y sólo se usan en instituciones de salud para limpieza de utensilios.

Por otro lado, los ésteres de hidroxiaminas e hidroxiamidas cationizados presentan una buena velocidad de biodegradación.

- *Detergentes no iónicos:* Son de aplicación industrial más que doméstica, contienen disolventes miscibles en agua como el etilenglicol y que se emplean como limpiadores de superficies duras, lo cual contribuye al aumento de su consumo en el mercado (Harold, 1999).

- *Detergentes biológicos:* los cuales contienen enzimas para eliminar algunos tipos específicos de manchas de la ropa. Los detergentes biológicos, a los cuales se les llama así cuando además de contener uno de los surfactantes ABS, contienen enzimas con lo cual proporcionan mayores ventajas en el lavado de la ropa; se encuentran muy distribuidos en el mercado a precios accesibles.

En un principio se utilizaban detergentes con bases de fosfato los cuales favorecían el ablandamiento del agua, mejoraban la acción limpiadora del detergente y prevenían la formación de películas en la superficie del agua, pero tienen una desventaja, son de alto costo, debido a que se utiliza una gran cantidad de solventes para su fabricación; por esta razón se emplearon derivados del petróleo como el ácido poliacrílico, pero tiene como desventaja que es poco biodegradable pero al mezclarlos con ácido cítrico o con el sorbitol que son compuestos de origen natural y ampliamente degradables, se favorece la biodegradación de estos compuestos derivados del petróleo convirtiéndose así en productos más baratos (Suszkiw, 2007). Sin embargo, esta práctica fue discontinuada debido a que promovía la presencia de fosfatos en la superficie del agua, ocasionando problemas de eutrofización de cuerpos acuáticos naturales y artificiales

---

---

(crecimiento excesivo de algas) y con ello, un desequilibrio en la vida acuática (Inform, 2007).

### **2.2.2 PROBLEMAS CAUSADOS POR LOS DETERGENTES**

Los detergentes constituyen un grave problema de contaminación ambiental. Los sistemas de tratamiento convencional de aguas residuales, únicamente logran un bajo porcentaje de eliminación de estos, en México, los detergentes presentes en las aguas residuales son separados mediante procesos de espumación y decantación, siendo enviados a canaletas laterales que eventualmente confluyen con las aguas residuales que no son tratadas.

Los detergentes después de ser utilizados en la limpieza doméstica e industrial son arrojados a las alcantarillas de las aguas residuales y se convierten en fuente de contaminación del agua. El poder contaminante de los detergentes se manifiesta en los vegetales acuáticos inhibiendo el proceso de la fotosíntesis originando la muerte de la flora y la fauna acuáticas. A los peces les produce lesiones en las branquias, dificultándoles la respiración hasta provocarles la muerte.

Uno de los principales problemas de contaminación que causa el uso de detergentes, es que los de tipo comercial contienen ciertos aditivos que se pueden convertir en graves contaminantes del agua. El inconveniente empieza cuando ya se ha desechado el detergente fosfatado, los fosfatos son arrastrados por el drenaje y la mayoría de las plantas de tratamiento de aguas negras no están diseñadas para eliminar fosfatos y por lo tanto, éstos pasan al medio ambiente acuático a través del efluente de las aguas negras.

Se calcula que alrededor del 50% de los fosfatos de las aguas negras provienen de los detergentes, el porcentaje restante se deriva de fosfatos presentes en desechos de seres humanos, animales y fertilizantes. Dentro de los principales problemas ocasionados, por la descarga de detergentes, se mencionan los siguientes:

---

---

- Espuma

En las plantas de tratamiento de agua provoca problemas de operación, afecta la sedimentación primaria ya que engloba partículas haciendo que la sedimentación sea más lenta, dificulta la dilución de oxígeno atmosférico en agua y recubre las superficies de trabajo con sedimentos que contienen altas concentraciones de surfactantes, grasas, proteínas y lodos.

Existen tres tipos de surfactantes:

- a) Los surfactantes aniónicos producen abundante espuma,
- b) Los surfactantes catiónicos producen una cantidad muy limitada de espuma y
- c) Los surfactantes no iónicos casi no producen espuma,

Es importante recalcar que la producción de espuma de un detergente esta determinada por el tipo de surfactante que éste contenga.

Inhiben o paralizan los procesos de depuración tanto natural como artificial, concentran las impurezas y pueden diseminar las bacterias o los virus. Es suficiente una concentración de tensoactivos aniónicos de 0,3 mg/L para producir una espuma estable.

La gente tiende a relacionar la capacidad de producción de espuma con la capacidad limpiadora, aunque la producción de espuma no tiene nada que ver con la eficacia del detergente.

- Eutroficación

Es un proceso natural de envejecimiento de agua estancada o de corriente lenta con exceso de nutrientes y que acumula en el fondo materia vegetal en descomposición. La palabra proviene del griego "bien alimentado" (eú=bien y trophé=alimentación); constituye un proceso en el que el lago sobrealimentado acumula grandes cantidades de material vegetal en descomposición en su fondo. Esto tiende a llenar el lago y hacerlo menos profundo, más tibio y con gran acumulación de nutrientes. Las plantas se

---

---

apoderan del lecho del lago conforme se va llenando y se convierte poco a poco en un pantano hasta secarse.

Los problemas se inician cuando el hombre contamina lagos y ríos con exceso de nutrientes ocasionando el crecimiento acelerado de algas, la muerte de peces y demás flora y fauna acuática, al generarse condiciones anaerobias.

Al ingresar grandes cantidades de detergentes, aproximadamente los fosfatos representan el 50% en peso. Estos compuestos son excelentes nutrientes para las plantas y éstos sumados con los nutrientes ya existentes en un cuerpo de agua, aceleran el proceso de eutroficación. Si hay un excesivo crecimiento de las plantas acuáticas, éstas tienden a cubrir la superficie del cuerpo de agua, impidiendo el libre intercambio de oxígeno y bióxido de carbono. Al morir estas plantas, se descomponen en el lago consumiendo el oxígeno presente en éste. Al cabo de un tiempo, ya no hay oxígeno disponible y la descomposición tiene que hacerse de forma anaerobia, esto es, en ausencia de oxígeno, dando por consecuencia productos secundarios como metano, amoníaco, sulfuro de hidrógeno y otros compuestos que le confieren al cuerpo de agua un olor, color y sabor desagradable.

Por esta razón se ha reducido significativamente las cantidades de fósforo empleados en la fabricación de detergentes (Butler y Davies, 2000).

Otro factor que se debe tomar en cuenta, es que los peces presentes en el cuerpo de agua también necesitan oxígeno disuelto en el agua para poder respirar, y si éste se consumió con la degradación de las plantas muertas, entonces también los peces morirán. Todos estos procesos implican como consecuencia una degeneración de la calidad de las condiciones, tanto del agua como de la vida animal y vegetal del cuerpo de agua.

Si el exceso de nutrientes sigue fluyendo a los lagos, las bacterias anaerobias predominan en ellos y quedan putrefactos debido a la producción del ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) y metano ( $CH_4$ ), durante la descomposición de la materia orgánica (Imac, 2006).

---

---

**Tabla 4. Cambios que ocurren con la eutroficación**

<b>Cambios biológicos</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Aumento considerable del fitoplancton. Las algas verde azules se desarrollan mientras que las de otros tipos desaparecen.</b></li><li>• <b>Aumenta la actividad bacteriana.</b></li><li>• <b>Los animales acuáticos enferman y mueren.</b></li></ul>
<b>Cambios físicos</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Los restos de plantas y animales muertos se acumulan en los fondos, frenando la circulación del agua.</b></li><li>• <b>El agua se torna parda y maloliente. Cambia de color: rojo, verde, amarillo o pardo.</b></li></ul>
<b>Cambios químicos</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>El oxígeno disuelto baja de alrededor de 9 mg/L a 4 mg/L lo cual afecta negativamente y de inmediato a los organismos.</b></li><li>• <b>Cuando el nivel baja a 2 mg/L todos los animales han muerto.</b></li><li>• <b>Hay una significativa elevación de la DBO.</b></li><li>• <b>La concentración de compuestos nitrogenados, fosfatados se incrementa, así como la de otros elementos químicos.</b></li></ul>

*- Fosfatos*

Otra desventaja de usar grandes cantidades de fosfatos en los detergentes, es que el fósforo es uno de los principales elementos en los medios de cultivo nutritivos y que se utilizan comúnmente en fertilizantes.

El aumento del contenido de fosfatos que se utilizan en combinación con los tensoactivos: favorece la eutroficación y el desarrollo de plancton en los ríos.

---

Los aditivos de fosfato tienen tres funciones: 1) Actúan como bases haciendo que el agua del lavado sea alcalina, lo cual es necesario para la acción detergente; 2) los fosfatos reaccionan con los iones calcio y magnesio del agua dura de manera que no actúan con el detergente y 3) ayudan a mantener las grasas y el polvo en suspensión, lo que facilita que sean eliminados.

En los detergentes líquidos se utiliza el pirofosfato de sodio ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) o de potasio porque se hidroliza en el ion fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) a menor rapidez que el tripolifosfato de sodio (Imac, 2006). Además de los antes mencionados, el principal aditivo de los detergentes es un compuesto llamado tripolifosfato de sodio, al que se le denomina en forma genérica como fosfato.

- Efectos de enzimas activas

Como se mencionó anteriormente, algunos detergentes contienen enzimas, que son sustancias de naturaleza proteínica, que se encargan de catalizar las reacciones en los seres vivos las cuales atacan sustratos orgánicos específicos. Las más comunes en estos productos son las llamadas proteasas y lipasas que atacan restos de sustratos que comúnmente se adhieren a la ropa y a ellas se les adhieren el resto de la suciedad como polvo, restos de otros compuestos orgánicos etcétera. Los detergentes que contienen enzimas se llaman detergentes biológicos. El problema se presenta al usar exceso de estos detergentes, con lo cual se desechan enzimas activas al drenaje, estas al llegar a los cuerpos de agua provocarán daños en los seres vivos presentes en éstos, por acción directa sobre ellos o sobre los nutrientes que consumen.

Actualmente se encuentran en el mercado los llamados detergentes antibacteriales, los cuales contienen agentes bactericidas, esto en parte es bueno pero si se usa este detergente en exceso, entonces el agente bactericida llega a los cuerpos de agua y mata una buena proporción de los microorganismos presentes en éste, disminuyendo la capacidad de los microorganismos para degradar al detergente.

---

## 2.3 BIODEGRADABILIDAD

En esta sección se describirán los principales conceptos, la importancia de determinar la biodegradabilidad de un compuesto, así como una de las pruebas ampliamente reconocidas, de manera internacional, para determinar si un determinado producto hidrosoluble puede o no ser considerado como fácilmente biodegradable.

La material orgánica disuelta (MOD) juega un papel importante en la degradación microbiológica y más en la porción orgánica activa, tanto biológica como química. La MOD es altamente biodegradable bajo condiciones aerobias principalmente cuando se trata de compuestos hidrofílicos tales como: carbohidratos, aminoácidos y proteínas (Said-Pullicino y Gigliotti, 2005). Se ha observado que los carbohidratos son generalmente más biodegradables que otros recalcitrantes presentes en el efluente (Bijan y Mohseni, 2005).

La biodegradación es la ruptura molecular de un sustrato orgánico natural o sintético, resultante de la acción enzimática de microorganismos vivos, que usan este sustrato como alimento dando moléculas más simples. Dicha biotransformación implica un proceso mediante el cual el organismo modifica un compuesto que ha absorbido previamente, para dar posteriormente productos que puedan ser excretados o reabsorbidos. Las partes cristalinas de un compuesto son más difíciles de degradar por los microorganismos que las partes amorfas (Massardier, 2006; Timur *et al.*, 2004). Los procesos de biodegradación pueden ser agrupados en dos pasos:

### - Biodegradación primaria

Implica pequeñas alteraciones en la estructura química del compuesto, debida a la acción de los microorganismos, resultando en la pérdida de propiedades específicas de la sustancia. La biodegradación primaria implica un grado de biodegradación del sustrato suficiente como para que desaparezcan las propiedades características de la molécula intacta. En el caso de tensoactivos, esto ha sido medido como pérdida de su

---

capacidad como agente espumógeno o como reductor de la tensión superficial (Jian y Ayoub, 2003; Huang y Li, 2000).

- *Biodegradación última*

Cuando los compuestos originales son destruidos en productos más simples, resultando dióxido de carbono, agua, sales minerales y biomasa (OECD, 1992). La biodegradación final o última es la que se produce a través de una secuencia de ataques enzimáticos para reducir el sustrato a la estructura más simple posible.

Los ambientes contaminados muy rara vez presentan un sólo tipo de contaminante orgánico. Por consiguiente, la biodegradación de compuestos orgánicos puede ser lenta debido a que uno o más nutrientes inorgánicos indispensables para el crecimiento microbiano se encuentran solamente en bajas concentraciones ambientales (Dochain y Perrier, 2004).

Los factores que afectan la biodegradabilidad de las sustancias pueden ser divididos en tres grupos:

- i.* Parámetros fisicoquímicos: Temperatura, solubilidad, grado de dispersión del compuesto en el medio y oxígeno disuelto.
- ii.* Características químicas: Largo de la cadena, clase, número y posición de los sustituyentes en la molécula, pH, estereoquímica y tonicidad del medio.
- iii.* Características biológicas: Origen del cultivo microbiano, edad, tiempo y forma de adaptación, tolerancia a la toxicidad del compuesto de prueba y efecto de otros sustratos.



---

### 2.3.1 TIPOS DE BIODEGRADACIÓN

De acuerdo al tipo de atmósfera existente es posible distinguir dos procesos de biodegradación:

- Biodegradación aerobia
- Biodegradación anaerobia

#### - Biodegradación aerobia

Es la degradación biológica que se lleva a cabo en ambientes con suficiente aireación, en los cuales se busca mantener una concentración de oxígeno molecular libre disuelto de al menos 2 mg/L. Los principales productos de la biodegradación de materia orgánica son dióxido de carbono, agua (debido a la reducción de oxígeno molecular) y biomasa microbiana.

El aire presente en el agua ayuda a los microorganismos a degradar la materia orgánica. Este aire permite una mezcla continua del agua y la suspensión del material orgánico lo que facilita su degradación. La población microbiológica oxida la materia orgánica, resultando una pequeña producción de biomasa (Lesinsky, 2004).

Los procesos aerobios fundamentales son: lodos activados, lechos bacterianos, lagunas de oxidación, estanques aireados, estanques de oxidación rápida, lagunas aireadas y depósitos de oxidación (Seoanez, 2000).

#### - Biodegradación anaerobia:

Este tipo de biodegradación se lleva a cabo por microorganismos que no requieren oxígeno molecular libre en solución, por lo que la concentración de oxígeno es muy baja o inexistente. Los microorganismos emplean compuestos inorgánicos aceptores de electrones como nitratos, nitritos y sulfatos, entre otros. Se promueve el crecimiento de

---

---

bacterias anaerobias, especialmente metanógenas (que degradan la materia orgánica soluble originando metano y dióxido de carbono).

### **2.3.2 EVALUACIÓN DE BIODEGRADABILIDAD**

Las pruebas de evaluación de la biodegradabilidad tienen como objetivo simular, en un ambiente controlado de laboratorio, el proceso de biodegradación que ocurre en la naturaleza.

El método clásico para demostrar la biodegradabilidad de una sustancia consiste en incubar una solución o suspensión de la misma en un medio mineral con un inóculo microbiano, bajo condiciones ambientales controladas, durante un lapso determinado (usualmente 28 días).

El curso de la biodegradación es monitoreado mediante técnicas analíticas (APHA, 1998) que cuantifican:

- (a) La desaparición del compuesto de prueba medido como carbono orgánico disuelto (COD)
- (b) La actividad metabólica bacteriana medida como demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y
- (c) La producción de dióxido de carbono.

La biodegradación se evalúa como CO<sub>2</sub> producido y O<sub>2</sub> consumido (Dřímal y Družbík 2007).

Las determinaciones son realizadas a intervalos frecuentes de tiempo para permitir la identificación del principio y fin de la biodegradación. La realización de análisis químicos específicos permite determinar la concentración de compuestos o metabolitos intermediarios formados durante el proceso.

Todas las pruebas de biodegradabilidad se basan en técnicas de cultivo de enriquecimiento donde se favorece la multiplicación celular de un grupo microbiano con características metabólicas específicas. Este enriquecimiento celular se logra a

---

---

través del control de factores como temperatura, pH, aireación y fuente de inóculo, entre otros. La población inicial está compuesta por variedades de microorganismos (como protozoarios, bacterias, virus, etc.) tolerantes a un ambiente en particular, a efecto de disponer de varias rutas metabólicas para la biodegradación del compuesto de interés.

Las pruebas de biodegradabilidad diseñadas para agua dulce utilizan un inóculo microbiano normalmente derivado de lodos activados, aunque también puede derivarse de agua superficial y/o suelo (Ekama *et al.*, 2007).

La elección del método a seguir, implica la necesidad de conocer la solubilidad, presión de vapor y características de adsorción de la muestra. De igual manera, es deseable conocer la estructura química o fórmula de la sustancia ensayada, con objeto de contar con una base de cálculo para el porcentaje de biodegradación alcanzado a través del tiempo (Yoshiaki *et al.*, 2005).

La aplicación de este tipo de pruebas presenta como desventaja la obtención de resultados difíciles de extrapolar a pruebas de campo, debido a que las condiciones de ensayo pueden no ser similares a las del ambiente del que proviene la muestra.

Las principales causas que conducen a esta dificultad son:

- a) Condiciones ambientales específicas, esenciales para el inicio de la Biotransformación de contaminantes en su medio natural.
- b) Cometabolismo: Existen sustancias que por ellas mismas no pueden servir como única fuente de carbono pero pueden ser degradadas por una comunidad microbiana compleja en presencia de otros sustratos.
- c) Adaptación del inóculo: El microorganismo aislado en el medio elegido puede no ser el más activo en el medio nativo, por lo que se requieren inóculos representativos, como por ejemplo suelo biológicamente activo.

- 
- d) Desarrollo de métodos analíticos específicos para el seguimiento de la biodegradación debido a metabolitos intermediarios o sustancias desconocidas presentes en la muestra una vez iniciado el proceso.

Entre otros efectos secundarios producidos por los detergentes, que afectan procesos de tratamiento de las aguas residuales, se encuentran por ejemplo, los cambios en la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y en los sólidos suspendidos, efectos corrosivos en algunas partes mecánicas de las plantas, interferencias en el proceso de cloración y en la determinación de oxígeno disuelto (OD) y algunos aditivos en los detergentes pueden intervenir en la formación de flóculos (agrupaciones de partículas suspendidas).

Debido a la relevancia que representa, para la presente tesina, el OD, la DBO y la Demanda Química de Oxígeno (DQO) de un determinado volumen de agua, a continuación se describirá, de manera breve, el procedimiento para su determinación.

### **2.3.2.1 OXÍGENO DISUELTO (OD)**

El OD es un gas de baja solubilidad en el agua, requerido para la vida acuática aerobia. La baja disponibilidad de OD limita la capacidad auto purificadora de los cuerpos de agua y hace necesario el tratamiento de las aguas residuales para su disposición en ríos y embalses (Allen y Pitt, 2002).

La solubilidad del oxígeno que esta en equilibrio con la atmósfera a 25 °C es 8.7 mg/L. Las causas de la disminución del oxígeno incluyen la descomposición de la biomasa (como los auges de algas) y la presencia de sustancias oxidables (como lodos de residuo, escorrentías agrícolas, efluentes industriales, etc.) en el agua. La adición de contaminantes oxidables a los ríos produce un descenso típico en la concentración de oxígeno disuelto (Galluzzo *et al.*, 2001). El grado de consumo de oxígeno por oxidación microbiana de materia orgánica en agua, se denomina demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Otro índice muy utilizado es la demanda química de oxígeno (DQO), que se determina utilizando un agente oxidante de la materia orgánica, y seguidamente se realiza una valoración del exceso de dicromato, con hierro (Harrison, 2003).

---

---

La determinación de OD es el fundamento del cálculo de la DBO y de la valoración de las condiciones de aerobividad del agua. En general todo proceso aerobio requiere una concentración de OD mayor de 1.5 mg/L.

### **2.3.2.2 DEMANDA BIQUÍMICA DE OXÍGENO EN 5 DÍAS (DBO<sub>5</sub>)**

Una medida cuantitativa de la contaminación del agua por materia orgánica en un periodo de 5 días (que sirve como nutriente y requiere oxígeno para su descomposición), es la determinación de la rapidez con que la materia orgánica nutritiva consume oxígeno por la descomposición microbiana y se le denomina Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>). La DBO<sub>5</sub> es afectada por la temperatura del medio, por las clases de microorganismos presentes, por la cantidad y tipo de elementos nutritivos presentes. Si estos factores son constantes, la velocidad de oxidación de la materia orgánica se puede expresar en términos del tiempo de vida media (tiempo en que descompone la mitad de la cantidad inicial de materia orgánica) del elemento nutritivo.

La DBO<sub>5</sub> de una muestra de agua expresa la cantidad de miligramos de oxígeno disuelto por cada litro de agua, que se utiliza conforme se consumen los desechos orgánicos por la acción de las bacterias en el agua. La demanda bioquímica de oxígeno se expresa en partes por millón (ppm) de oxígeno y se determina midiendo el proceso de reducción del oxígeno disuelto en la muestra de agua manteniendo la temperatura a 20 °C en un periodo de 5 días. Una DBO<sub>5</sub> grande indica que se requiere una gran cantidad de oxígeno para descomponer la materia orgánica contenida en el agua.

La DBO<sub>5</sub> es el parámetro más usado para medir: la calidad de aguas residuales y superficiales, para determinar la cantidad de oxígeno requerido para estabilizar biológicamente la materia orgánica del agua, para diseño de unidades de tratamiento biológico, para evaluar la eficiencia de los procesos de tratamiento y para fijar las cargas orgánicas permisibles en fuentes receptoras (Rojas y Jairo, 2000).

---

---

El agua potable tiene una DBO<sub>5</sub> de 0.75 a 1.5 ppm de oxígeno y se considera que el agua está contaminada si la DBO<sub>5</sub> es mayor de 5 ppm. Las aguas negra municipales contienen entre 100 y 400 ppm pero los desechos industriales y los agrícolas contienen niveles de DBO<sub>5</sub> del orden de miles de ppm. La reducción de los niveles de DBO<sub>5</sub> se hace mediante tratamiento de aguas negras.

**Tabla 5. Valores típicos de Demanda Bioquímica de Oxígeno para aguas de diferente calidad.**

<b>Tipo de agua</b>	<b>DBO<sub>5</sub> mg/L</b>
<b>Agua potable</b>	<b>0.75 a 1.5</b>
<b>Agua poco contaminada</b>	<b>5 a 50</b>
<b>Agua potable negra municipal</b>	<b>100 a 400</b>
<b>Residuos industriales</b>	<b>5 00 a 10 000</b>

A la descomposición de la materia orgánica en presencia de oxígeno se le llama aerobiosis y es el proceso más eficiente para liberar la energía de la materia orgánica.

Cuando la materia orgánica que contamina al agua se ha agotado, la acción microbiana de la desoxigenación de las aguas contaminadas oxida al ion amonio, proceso denominado nitrificación (Arundel, 2000).

A los procesos de descomposición microbiana anaeróbica (en ausencia de oxígeno) de la materia orgánica se le llama anaerobiosis. Durante la degradación microbiológica de los compuestos orgánicos a CO<sub>2</sub> se consigue una disminución sustancial de la DBO del 90% (Spiro y Stiglid, 2003).

### **2.3.2.3 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)**

La demanda química de oxígeno (DQO) se usa para medir el oxígeno equivalente a la materia orgánica oxidable químicamente mediante un agente químico oxidante fuerte,

---

---

generalmente dicromato de potasio ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ), en un medio ácido y a alta temperatura. Para la oxidación de ciertos compuestos orgánicos resistentes se requiere la ayuda de un catalizador como el sulfato de plata. La DQO es una medida del equivalente de oxígeno de la fracción orgánica que es susceptible a la oxidación por permanganato o dicromato en una solución ácida. Este parámetro se utiliza para estimar el contenido orgánico de agua potable y aguas residuales (Ebru *et al.*, 2006).

Como el  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  oxida sustancias que no son oxidadas por el  $\text{O}_2$ , la DQO normalmente tiene un valor numérico mayor a la  $\text{DBO}_5$  y en cierto modo estima la cantidad de oxígeno que una sustancia consume al ser degradada (Bijan y Mohseni, 2005).

Existen factores que influyen para que no exista una correlación directa entre la DQO y la  $\text{DBO}_5$  como que:

- Muchos compuestos orgánicos que son oxidados por el permanganato o el dicromato, no son bioquímicamente oxidables.
- Ciertas sustancias inorgánicas como los sulfuros, sulfitos, tiosulfatos, nitritos y el hierro ferroso se oxidan por el dicromato creando una DQO inorgánica que falsea el valor final obtenido para el agua residual analizada.
- Los valores de la  $\text{DBO}_5$  pueden ser muy bajos por la posible presencia de compuestos tóxicos o por la falta de adaptación de la biocomunidad, mientras que la DQO es independiente de estos factores.
- Los cloruros pueden interferir con el análisis de la DQO, por lo que deben tomarse provisiones para evitar estas interferencias que provoca valores muchos más altos de la DQO al oxidarse los cloruros por el dicromato (Rojas y Jairo 2000).

De los diferentes procedimientos para determinar la biodegradabilidad de un compuesto, destaca el relacionado con la determinación de esa propiedad de manera rápida bajo condiciones aerobias, como se describe en la siguiente sección. Asimismo, se abordará lo relacionado con la prueba OECD 301<sup>a</sup>, la cual es específica para compuestos hidrosolubles, la cual se aplicará en una subsiguiente fase experimental.

---

### **2.3.3 BIODEGRADABILIDAD AEROBIA**

La BAR resulta adecuada cuando se tratan tensoactivos biodegradables. Debido a la incorporación mecánica de oxígeno (aire), se ve favorecida la formación de espumas, fenómeno que puede regularse por el empleo de antiespumantes (generalmente a base de siliconas) o incrementando la población de microorganismos en la cámara de aireación (baja relación alimento/microorganismos).

En general este tipo de tratamiento resulta adecuado hasta concentraciones máximas de tensoactivos de 25 a 30 mg/dm<sup>3</sup>. En los sistemas aerobios, se generan CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y sales minerales de otros elementos presentes.

La biodegradación aerobia se hace más lenta cuanto más ramificada se encuentre la cadena de los compuestos. Los alquil bencen sulfonatos (ABS) se comportan de manera diferente, según sea el grado de ramificación del radical alquilo. Los estudios realizados demuestran que los ABS lineales, se degradan en un 90%, mientras que los ABS ramificados, solo lo hacen en un 20%.

### **2.3.4 PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD AEROBIA RÁPIDA (OECD 301-A).**

La prueba de biodegradabilidad OECD 301 A, es un procedimiento reconocido internacionalmente para evaluar la biodegradación, bajo condiciones aerobias controladas, de compuestos hidrosolubles. El objetivo de esta prueba es evaluar la facilidad con que una sustancia de prueba, en un medio mineral es inoculada e incubada bajo condiciones aerobias en oscuridad o luz difusa (OECD 301-A, 1992). La cantidad de DQO en la solución de prueba, aportada por el inóculo debe mantenerse lo mas baja posible, en comparación con la cantidad de materia orgánica aportada por la sustancia de prueba. Para considerar la actividad endógena del inóculo, se corre un blanco en paralelo con inóculo, pero sin sustancia de prueba.

En general la degradación es seguida por la determinación de oxígeno disuelto. Un volumen conocido del medio mineral inoculado, conteniendo una concentración conocida de las aguas de prueba (10-40 mg de COD/L) como única fuente de carbono



---

---

orgánico, se airea constantemente en condiciones de luz difusa y a una temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Una sustancia es considerada como rápidamente biodegradable cuando alcanza ya sea un 70% de remoción de materia orgánica medida como carbono orgánico disuelto, o bien un 60% del correspondiente al valor de demanda teórica de oxígeno disuelto o producción de dióxido de carbono, en un lapso de 28 días de evaluación.

El nivel de aceptación es menor, cuando se emplea un método respirométrico, ya que una proporción del carbono de la sustancia de prueba es incorporada como biomasa; por lo que el porcentaje de dióxido de carbono producido es menor que el porcentaje de carbono utilizado. Estos niveles de aceptación tienen que ser alcanzados dentro de un periodo de 10 días dentro de los 28 días de la prueba, excepto cuando: el periodo de 10 días empieza cuando el grado de biodegradación alcanzado el 10% de COD, cantidad teórica de OD o de  $\text{CO}_2$  y debe terminar antes de los 28 días de la prueba. Los niveles de aceptación después de los 28 días de prueba, no son considerados como rápidamente biodegradables. En este tipo de ensayos la sustancia de prueba es la única fuente de carbono y energía disponible. Se utiliza un inóculo de baja concentración celular que no ha tenido contacto previo con la sustancia de prueba.

Las pruebas realizadas de esta manera, tienen oportunidad limitada de que ocurra la adaptación del inóculo. Un resultado positivo en estas pruebas, permite suponer que la sustancia evaluada podrá ser biodegradada rápida y completamente en el ambiente. Sin embargo, deben considerarse los factores fisicoquímicos y microbiológicos del sitio (por ejemplo temperatura, pH y potencial redox), así como el flujo de la sustancia en estudio, ya que pueden generarse subproductos de la biodegradación más tóxicos o bien, depósitos de sustancias peligrosas dentro del ecosistema. En esta prueba, la obtención de bajo porcentaje de biodegradación no necesariamente significa que la sustancia evaluada no sea biodegradable, sino que las condiciones experimentales en las que se realizó no fueron las adecuadas para ello.

---

---

Acorde con los objetivos de la presente tesina, es necesario describir con mayor detalle los aspectos relacionados con la toxicidad aguda y los procedimientos empleados para su determinación.

## **2.4 TOXICIDAD**

Para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas, se utilizan ensayos biológicos para diagnosticar los efectos que pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos.

La toxicidad es la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo o la biocenosis, y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico, y su relación con el ciclo de vida del organismo; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico, la toxicidad aparente evaluada en un ensayo biológico es el resultado de la interacción entre la sustancia y el sistema biológico (Muirhead, 2003).

Además, se debe considerar que el efecto tóxico sobre los sistemas biológicos es ejercido por la acción combinada de todas las sustancias nocivas presentes en el medio, incluso aquellas que no son tóxicas en sí, pero que afectan las propiedades químicas o físicas del sistema, y consecuentemente las condiciones de vida de los organismos. En los sistemas acuáticos es característico el caso de sustancias que agotan el oxígeno, que son coloreadas, o que simplemente impiden la propagación de la luz (como en el caso de material particulado). También se deben tener en cuenta aquellos efectos no directamente relacionados con sustancias, tales como el deterioro o daño producido por acción de cambios en la temperatura o por radiación (Freire *et al.*, 2001).

Inversamente, los ensayos biológicos también incluyen el efecto de los organismos sobre las sustancias, como la degradación microbiana o biodegradabilidad.

---

---

Los resultados de los bioensayos se refieren, en primer lugar, a los organismos usados en el ensayo y las condiciones estipuladas en el procedimiento de prueba. Un efecto nocivo evaluado por medio de ensayos biológicos normalizados puede indicar niveles de peligrosidad trasladable y asimilable a organismos que forman parte de los sistemas naturales y la biocenosis.

De manera general, los ensayos, también llamados pruebas de toxicidad, pueden ser definidos de acuerdo con:

- Duración: corto, mediano o largo plazo.
- Método utilizado para incorporar la muestra al sistema de ensayo: estático, con renovación o de flujo continuo.
- Propósito para el cual son utilizados: control de calidad de vertidos, evaluación de compuestos específicos, toxicidad relativa, sensibilidad relativa, etcétera

Existen diversos organismos de protección ambiental (*Environment Canada, Environmental Protection Agency, etc.*) y de estandarización (*ASTM-American Society for Testing Materials, OECD-Organization for Economic Co-operation and Development, AOAC, ISO-International Organization for Standardization, etc.*) que han concretado la elaboración e implementación de sistemas de diagnóstico, base para la generación de estrategias ecosistémicas de protección. Ello, orientado a la obtención de respuestas estandarizadas de laboratorio (bioensayos) que permiten asegurar, dentro de un cierto grado de confiabilidad, la medida obtenida (Castillo, 2004).

Uno de los aspectos importantes en toxicología y ecotoxicología es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo y el consecuente efecto nocivo que le produce. Esta relación, conocida como la relación dosis-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente (Angenent *et al.*, 2004).

---

Existen muchas formas de determinar la toxicidad, y aunque los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador comúnmente más utilizado es la muerte del organismo de prueba. La mayoría de las pruebas de toxicidad suministran una estimación de la dosis (o concentración en el alimento, aire o agua) que produce una respuesta tóxica a un nivel del 50%. Por ejemplo, la dosis letal media es la dosis o concentración que mata al 50% de la población ( $CL_{50}$ ). Otro indicador que ha ganado gran popularidad es la dosis o concentración más alta a la cual no se observa ningún efecto (NOEC).

Finalmente, es importante destacar que, en lo que respecta al análisis de las relaciones entre la concentración de un tóxico y la respuesta o efecto del mismo en la materia viva, existen otras aproximaciones al análisis de dichas relaciones en las que, básicamente, sólo se pretende determinar la concentración a la cual no se observa un efecto nocivo del tóxico sobre el organismo expuesto, o la concentración más baja a la cual se observa un efecto tóxico.

#### *- Pruebas de toxicidad*

Una prueba de toxicidad típica involucra un agente o estímulo (por ejemplo, un pesticida, un metal pesado o una muestra ambiental con contaminantes químicos), el cual se aplica a un organismo o grupo de organismos (por ejemplo, un cultivo bacterial, algas, animales o plantas) al que se denomina genéricamente sujeto y sobre el que se evalúa una cierta respuesta preseleccionada. La magnitud del estímulo o dosis puede medirse como un peso, un volumen o una concentración.

Basándose en que la magnitud o la frecuencia de la respuesta dependerán de la dosis aplicada, las pruebas de toxicidad suelen diseñarse utilizando distintas dosis. La información obtenida de este tipo de ensayos permite la cuantificación de la relación entre las dos variables (dosis y respuesta), caracterizando la toxicidad o ecotoxicidad del compuesto. Normalmente, estas pruebas se diseñan para comparar o estimar la potencia de un agente con relación a una preparación estándar o control.

---

---

- Pruebas de toxicidad y detergentes

Las pruebas de toxicidad conforman una herramienta eficaz para la predicción de niveles de concentración de compuestos tóxicos, extendiéndose estas evaluaciones al ámbito de poblaciones, comunidades o ecosistemas para la identificación de elementos biológicos en riesgo. Se considera que el factor más importante en la evaluación toxicológica de los distintos tensoactivos es la diferencia de biodegradabilidad entre ellos. En general se acepta que los productos de cadena lineal son suficientemente biodegradables, no así los ramificados (Castillo 2004).

En relación a la toxicidad de detergentes en agua, se tienen los siguientes conceptos generales:

- La biodegradabilidad y la solubilidad disminuyen cuando aumenta la hidrofobicidad de los tensoactivos.
- Los tensoactivos aniónicos son generalmente menos tóxicos que los no iónicos debido a su menor carácter hidrófobo.
- Pequeñas cantidades de tensoactivos en sistemas acuáticos pueden dañar la cadena alimenticia.
- Los tensoactivos no iónicos son menos tóxicos cuando se sulfatan pues disminuye su carácter hidrófobo.
- Los tensoactivos catiónicos y aniónicos pueden reaccionar entre ellos formando un complejo rápidamente biodegradable, y mucho menos tóxico que los tensoactivos por si solos.

Los tensoactivos de uso humano, no se consideran venenosos ni cancerígenos, las cantidades teóricas remanentes en el lavado de la vajilla así como el uso frecuente de pastas dentífricas no representan peligro alguno. En cuanto a las alergias e irritaciones de mucosas causadas por el uso de tensoactivos, es necesario definir cada caso en particular para evaluar la incidencia de la posible actividad toxicológica de estos productos.

---

El efecto tóxico de los tensoactivos en organismos acuáticos se debe a su propiedad de perturbar el transporte de oxígeno a través de la membrana de los mismos.

La utilización de aguas negras para irrigación que contengan detergentes, puede contaminar los suelos y por consiguiente los cultivos. Se ha observado que el alquil bencen sulfonato (ABS) inhibe en un 70% el crecimiento de las plantas, por ejemplo, se inhibe el crecimiento del girasol en concentración de 10 ppm y en un 100% a una concentración de 40 ppm.

Los bioensayos son procedimientos por los cuales la respuesta de un organismo acuático se usa para detectar o medir la presencia de efectos de una o mas sustancias, elementos, compuestos, desechos o factores ambientales solos o en combinación. Su aplicación más común se relaciona con la determinación de CL<sub>50</sub>. Esta última es la concentración de una sustancia, elemento o compuesto, solo o en combinación, que produce la muerte al 50% de los organismos sometidos a bioensayos en un periodo de 96 horas.

Por lo tanto, los bioensayos se usan para evaluar la toxicidad (propiedad que tiene una sustancia, elemento o compuesto, de causar daño en la salud humana o la muerte de un organismo vivo), de las aguas residuales a la vida biológica en las fuentes receptoras. El objeto específico es determinar la concentración de un residuo determinado que causaría una mortalidad del 50% en el organismo de prueba en 96 horas; para lo cual se introducen peces, semillas u otro organismo, en diferentes acuarios con concentraciones variables del residuo en estudio y se observa su supervivencia después de 24, 48 y 96 horas (Rojas y Jairo 2000).

#### **2.4.1 TOXICIDAD AGUDA**

Existen algunos bioensayos para determinar la toxicidad de diferentes compuestos, sustancias, etc. entre los que destacan los siguientes:

- 
- Bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia magna*.
  - Ensayo de toxicidad aguda con *Allium cepa L* mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla.
  - Bioensayo de toxicidad aguda (efectos letales y subletales) con *Hydra attenuata*.
  - Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa L*).
  - Ensayo de toxicidad crónica con *Selenastrum capricornutum* (*Pseudokirchneriella subcapitata*).

#### **2.4.1.1 ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON SEMILLAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa L*). OECD 208**

El bioensayo de toxicidad aguda OECD 208, indica la posibilidad de emplear semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) para efectuar una prueba de toxicidad aguda (120 h de exposición) en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición de la germinación y de la elongación de la radícula y del hipocótilo. Es importante destacar que durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos. Por otra parte, muchas de las reacciones y procesos involucrados son generales para la gran mayoría de las semillas, por lo que la respuesta de *L. sativa* y los datos obtenidos a partir de la aplicación de esta prueba son en gran medida representativos de los efectos en semillas o plántulas en general. El éxito o aptitud de una plántula para establecerse en un ambiente determinado es relevante para garantizar la supervivencia de la especie. La evaluación del desarrollo de la radícula y del hipocótilo constituye un indicador representativo para determinar la capacidad del establecimiento y desarrollo de la planta.



**Figura 1. Plántula de lechuga a las 120 hrs. de germinación.**

A diferencia de la prueba tradicional de germinación de semillas, la evaluación del efecto en la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sin embargo pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto. De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto en la germinación.

Este ensayo puede ser aplicado para la evaluación de la toxicidad de compuestos puros solubles, de aguas superficiales (lagos, ríos, etc.), aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas residuales domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos u otras matrices sólidas. A diferencia de otras pruebas en las que se consideran algas o plantas acuáticas sumergidas como organismo diagnóstico, el bioensayo con semillas permite evaluar la fototoxicidad de muestras coloreadas o con elevada turbiedad de manera directa y sin necesidad de filtración previa, reduciéndose así las interferencias debidas al pretratamiento, además de simplificar el procedimiento de prueba.



---

---

Si bien, *L. sativa* no es una especie representativa de ecosistemas acuáticos, la información generada a partir de esta prueba de toxicidad proporciona datos acerca del posible efecto de los contaminantes en las comunidades vegetales cercanas a los márgenes de cuerpos de agua contaminados, siendo también una especie interesante de considerar por su importancia desde el punto de vista hortícola. Por otra parte, es de fácil y rápida germinación, por lo que es posible desarrollar la prueba en pocos días.

Este bioensayo de toxicidad ha sido recomendado y aplicado por diferentes organismos de protección ambiental para la evaluación ecotoxicológica de muestras ambientales y compuestos puros, además de la evaluación del efecto fitotóxico de pesticidas sobre especies no blanco en el registro de pesticidas (OECD, 1993).

En la incorporación de esta prueba en una batería de bioensayos es importante considerar el compromiso entre la sensibilidad de la especie *L. sativa*, el tiempo reducido de exposición de la prueba con semillas, los bajos costos asociados y que no requiere equipamiento sofisticado, en particular en la aplicación a muestras ambientales o en el monitoreo de procesos de destoxificación, saneamiento, control de efluentes o reúso de biosólidos.

#### **2.4.2 APLICACIÓN DE LAS PRUEBAS DE TOXICIDAD**

Una de las aplicaciones del monitoreo de efectos biológicos con ensayos de toxicidad, es la evaluación de descargas líquidas o efluentes (aguas servidas de origen doméstico, municipal o industrial descargadas de manera puntual sobre cuerpos receptores), en el marco de programas de control ambiental. Los métodos utilizados se adaptan para cualquier tipo de fluidos (agua de poro o extractos de sedimentos y suelos u otros materiales sólidos). El monitoreo de efluentes se ha orientado hacia la evaluación del cumplimiento de las reglamentaciones de descarga, para la predicción del impacto de descargas sobre sitios específicos del cuerpo receptor, para evaluar el efecto combinado de mezclas complejas de compuestos tóxicos y mejoras en procesos tecnológicos de control de la contaminación. La US EPA (2001) ha desarrollado procedimientos específicos y detallados para limitar las descargas en función de objetivos de calidad

---

---

aceptables para el cuerpo receptor. Esto se basa en ensayos de toxicidad que evalúan efectos letales y sub-letales de sustancias específicas. Este organismo sugiere un criterio de aceptabilidad de descargas en el que el efluente no puede superar las 0.3 UTL (Unidad Tóxica Letal) durante un día, ni con una frecuencia mayor a una vez cada tres años. Otro de los criterios sugeridos son las UTSL (unidad tóxica sub-letal), las cuales no deben exceder de 1.0 en cuatro días, dentro de un periodo de tres años (US EPA, 1993; 1994).

Por otra parte, este organismo ha elaborado ecuaciones para la estimación de concentraciones permisibles de sustancias tóxicas, teniendo en cuenta balances de masas y la dinámica del cuerpo receptor. Existen criterios regionales para definir zonas de mezcla del efluente en el cuerpo receptor basadas en información toxicológica proveniente de ensayos de toxicidad. De esta manera, se logra implementar el monitoreo del efluente en el sitio de descarga, y proyectar su efecto sobre el cuerpo receptor.

- Toxicidad de aguas superficiales

La evaluación ecotoxicológica de calidad de agua con ensayos de toxicidad de laboratorio o experiencias de campo es un diagnóstico complementario a investigaciones en curso, en las que se presentan evidencias de posible contaminación. Constituyen una herramienta para el diagnóstico de efectos, complementario al estudio de las causas, determinado por el análisis químico. Las evaluaciones de toxicidad de aguas superficiales, por lo general se realizan en sitios en los que se sospecha la existencia de contaminación. No es de esperar encontrar importantes efectos letales sobre los organismos, o sólo de manera transitoria, excepto en el caso de cuerpos de agua altamente contaminados. Los ensayos de toxicidad suelen ser utilizados en combinación con otras técnicas; como se resumen a continuación:

- Relación de resultados provenientes de ensayos de toxicidad de laboratorio con aguas superficiales, o ensayos in situ, para estimar concentraciones de vertidos de efluentes o compuestos químicos específicos a lo largo de un curso. Resulta ser más directo y convincente que los métodos predictivos.

- 
- Verificar el comportamiento de un contaminante o mezcla en el cuerpo de agua teniendo en cuenta posibles procesos de destoxificación, como por ejemplo: formación de complejos con materia orgánica disuelta o particulada, influencia de la dureza del agua, contenido de oxígeno disuelto, pH, temperatura, potencial redox. Debe considerarse que existen publicaciones orientadas al estudio de estos factores, a través de relaciones basadas en cálculos teóricos o empíricos (ejemplo: toxicidad de metales con el cambio de dureza).
  - Relación de la toxicidad del agua del cuerpo receptor y los efectos observados en comunidades características del lugar.

Estas evaluaciones tienen en cuenta ensayos de laboratorio o *in situ* (aquellos que recurren a organismos vertebrados o invertebrados), colocados en jaulas o limnocorales. La discusión de estos últimos está fuera del alcance del presente trabajo. Díaz-Báez *et al.*, (2002) al aplicar una batería de bioensayos, dentro de la red *WaterTox*, indica buenos resultados (capacidad de detección de toxicidad) para el diagnóstico de aguas superficiales, subterráneas, aguas de descarga y agua de red con tratamiento. Asimismo, se destaca que la calidad del diagnóstico mejora cuando se trabaja con varios ensayos sobre una misma muestra, aumentando la confiabilidad del diagnóstico (para el nivel de detección de los ensayos considerados) por la posible aparición de falsos positivos o negativos (Ronco *et al.*, 2002), sin embargo el costo y tiempo del diagnóstico aumentan.

---

### **3 OBJETIVOS:**

#### **3.1 GENERAL**

- Aplicación de la prueba OECD 301-A para la selección de un detergente líquido biodegradable de amplio uso en la Cd. de México, en sistemas aerobios.

#### **3.2 PARTICULARES**

- Analizar la problemática causada por la contaminación de detergentes, al ser descargado a aguas residuales.
- Identificar la importancia de la prueba OECD 301-A sobre detergentes líquidos.
- Seleccionar de un detergente líquido biodegradable mediante la prueba OECD 301-A.
- Apoyar la prueba OECD 301-A con las técnicas de DQO, DBO<sub>5</sub> y OD.
- Evaluar la toxicidad del líquido resultante mediante la aplicación de pruebas de fitotoxicidad OECD 208 (Germinación de Semillas y Elongación de la raíz).

---

## 4 HIPÓTESIS

La aplicación de la prueba de biodegradabilidad aerobia rápida OECD 301-A, permite definir si un detergente líquido es o no fácilmente biodegradable. El producto obtenido será menos fitotóxico que antes de someterlo a la prueba de biodegradabilidad.

---

## 5 METODOLOGÍA

De cinco muestras de detergentes, se selecciono uno, con base en la relación DBO<sub>5</sub>/DQO de mayor valor numérico, así como el más empleado en la Ciudad de México, una vez seleccionado dicho detergente, se le realizó la prueba de biodegradabilidad aerobia rápida (OECD 301-A), se monitoreó esta biodegradación con las técnicas de DQO, DBO<sub>5</sub> y OD; una vez realizada la biodegradación se evaluó el efecto fitotóxico del detergente, empleando la prueba OECD 208 (Germinación de semillas y elongación de raíz).

### 5.1 PROYECTO EXPERIMENTAL

A continuación se presenta la fase experimental de un proyecto de corta duración.

#### 5.1.1 MATERIAL

- Muestras: Las muestras de los detergentes líquidos se seleccionaron en función de su uso y distribución en el mercado mexicano.

##### *Caracterización fisicoquímica de las muestras*

Una de las características principales de las muestras evaluadas es que son solubles en agua, lo cual es un requisito indispensable para que una sustancia pueda ser evaluada con las pruebas de OECD 301-A, lo que facilitaría su eventual metabolismo por medio de microorganismos presentes en el medio. El pH se encuentra dentro del intervalo aceptable para el crecimiento de los microorganismos degradadores.

Por cuestiones de confidencialidad, los detergentes a utilizar se manejarán como:

D1=Pino

D2=Shampoo para vidrios

D3=Aromatizante

---

D4= Multiusos

D5=Removedor

- **Material biológico:**

*Lodos activados:* Obtenidos de la planta de tratamiento de aguas de Ciudad Universitaria.

*Semillas:* de lechuga (*Lactuca sativa*). Las cuales deben ser semillas sin fungicidas o plaguicidas con buen poder germinativo y baja variabilidad en la elongación de la radícula e hipocótilo.

- **Material y Reactivos**

Agua dura reconstituida (APHA, 1992).

Cajas Petri de 100 mm de diámetro.

Papel de filtro Whatman núm. 3 (o equivalente), 90 mm de diámetro. El papel de filtro que se seleccione como sustrato de germinación debe tener características específicas (Anexo 2).

Matraces aforados de 50 mL.

Pipetas volumétricas de 1, 2, 5 y 10 mL.

Regla para medir.

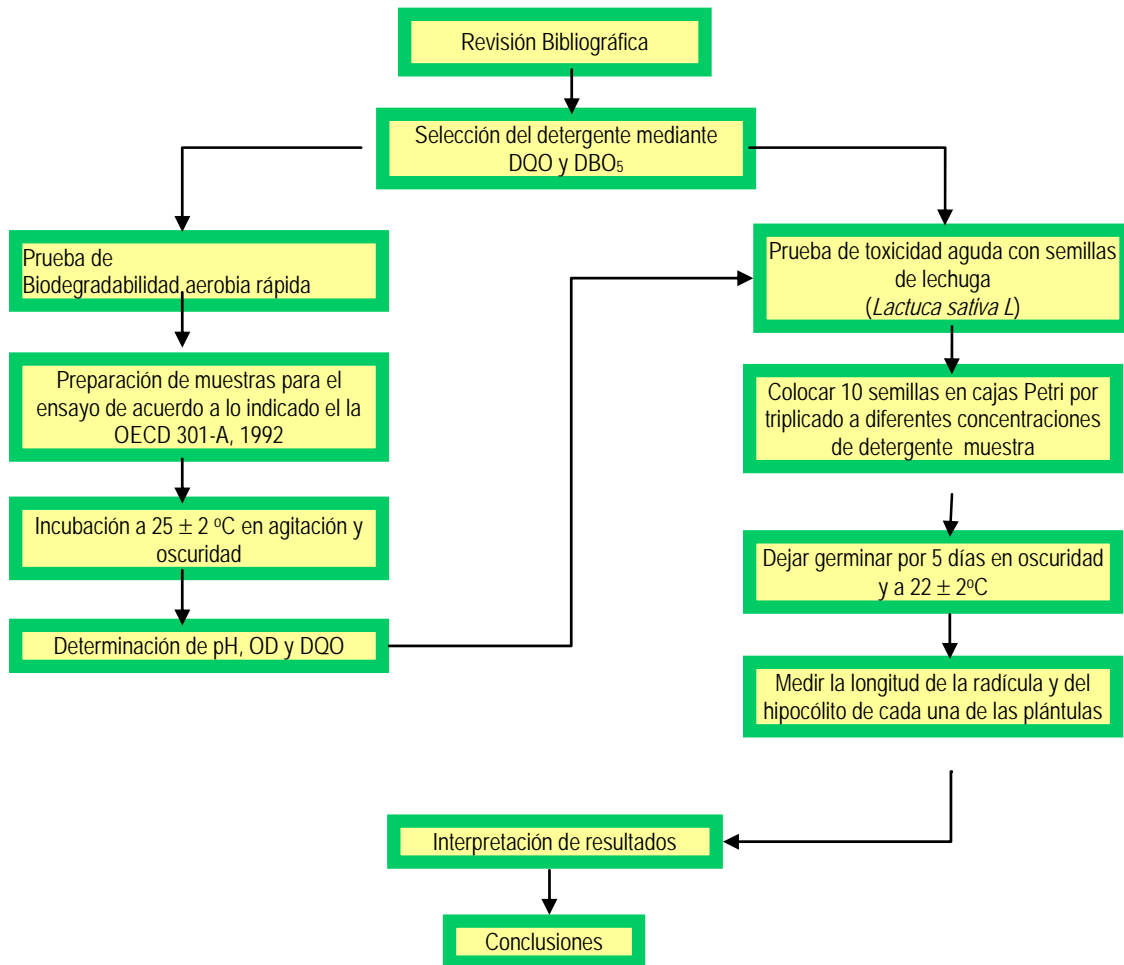
Pinzas.

Toallas de papel.

Bolsas plásticas.

Cámara oscura termostática ( $22 \pm 2$  °C).

### 5.1.2 DIAGRAMA DE LA FASE EXPERIMENTAL



### 5.1.3 ESTRATEGIA GENERAL DE TRABAJO

El primer paso a realizar fue la selección de un detergente fácilmente biodegradable del grupo de los 5 detergentes de prueba. Para la selección de dicho detergente se emplearon las pruebas preliminares de DQO Y DBO<sub>5</sub>, tales pruebas se encuentran indicadas en la siguiente tabla.



**Tabla 6. Relación de técnicas empleadas para ejecución de las pruebas experimentales.**

PARÁMETRO	TÉCNICA	REFERENCIA
Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO <sub>5</sub> )	Método de botella Winkler	APHA (1998)
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Método de reflujo cerrado	APHA (1998)
Unidades de toxicidad	Prueba de toxicidad aguda	APHA (1998)
pH	Método electroquímico	APHA (1998) y manual del equipo
Biodegradabilidad aerobia rápida (BAR)	Prueba de disminución de COD	OECD 301-A
Oxígeno disuelto (OD)	Método de electrodo de membrana	APHA (1998) y manual del equipo.
Toxicidad aguda	Inhibición de germinación de semillas de <i>Lactuca sativa</i>	Castillo (2004) y OECD 208 (1992)

La determinación de la DQO se realizó de acuerdo a lo establecido en APHA (1998). Para la caracterización del detergente se usó la solución digestora de alto rango mientras que para la prueba de BAR se usó la solución digestora de bajo rango y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a dos longitudes de onda diferentes: 420 nm y 600 nm posteriormente se calculó la DQO por medio de interpolación con la curva patrón.

Para la determinación de DBO<sub>5</sub>, por el método de botella de Winkler, se calculó una concentración de DQO equivalente a 5 mg O<sub>2</sub>/L a cada una de las muestras, a las cuales se les midió el OD al inicio y a los cinco días para obtener el valor de DBO<sub>5</sub> de acuerdo a la sig. Ecuación:

$$DBO = [(OD_i - OD_5) - \frac{C_1 (B_1 - B_2)(V_1)}{C_2 (V_m)}]$$

---

Donde:

$OD_i$  = Oxígeno disuelto inicial

$OD_5$  = Oxígeno disuelto final

$B_1$  = Oxígeno disuelto del inóculo antes de la incubación

$B_2$  = Oxígeno disuelto del inóculo después de la incubación

$C_1$  = Volumen del inóculo en la muestra.

$C_2$  = Volumen del inóculo en el inóculo control.

$V_1$  = Volumen total del frasco Winkler

$V_m$  = Volumen de muestra sembrada

La selección del detergente se realizó de acuerdo al mayor valor de  $DBO_5/DQO$  encontrado, a dicho detergente seleccionado se le realizaron las pruebas posteriores.

Una vez seleccionado el detergente se le realizó la prueba de Biodegradabilidad Aerobia Rápida, las muestras se prepararon de acuerdo a los lineamientos establecidos en OECD 301-A (Anexo 1), incubándose a  $22 \pm 2$  °C en oscuridad y agitación durante 28 días, durante este periodo se tomaron muestras de 5 mL, para su posterior evaluación de  $DQO$ , se trabajo con matraces de 250 mL a los cuales se le realizaron mediciones de pH y OD. Los reactivos empleados se enlistan y describen en el anexo 1. En esta prueba se trabajo con 6 muestras:

CP (control del proceso)

CT (control de toxicidad)

SP (sustancia de prueba)

BI (blanco del inóculo)

CA (control de adsorción)

DA (control de degradación abiótico estéril)

La prueba de toxicidad aguda se realizó con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L). Dicha prueba nos sirve para evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de

---

---

mezclas complejas en el proceso de germinación de semillas y del desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Este ensayo puede ser aplicado para la evaluación de aguas residuales domésticas e industriales.

En esta prueba se hizo germinar 20 semillas de lechuga\* sobre papel filtro dentro de una caja Petri con diferentes diluciones de detergente (100, 40,10, 5, 1 y 0.5 %), para preparar estas diluciones se tomo en cuenta las recomendaciones de uso del fabricante, cada muestra se realizó por triplicado y se incubaron en oscuridad a  $22 \pm 2$  °C por 5 días, después de este tiempo se midió la radícula y el hipocótilo de cada una de las plántulas para evaluar el efecto tóxico del detergente sobre la elongación de la radícula y el hipocótilo, también se contó el número de semillas germinadas para determinar la concentración de inhibición de la germinación por el método PROBIT.

\* Las semillas de *Lactuca sativa* fueron seleccionadas en base a su grado de germinación (85%) y pureza (99 %).

Con el fin de controlar la sensibilidad de las semillas, simultáneamente a la evaluación de la toxicidad de una muestra debe realizarse un control positivo, utilizando, una sal de Zn (II) como tóxico de referencia. La concentración de prueba de este control es la correspondiente a la  $CI_{50}$  para el lote de semillas en uso.

En la figura 3 se ilustra el procedimiento del ensayo de toxicidad aguda con semillas siguiendo los siguientes pasos:

- Colocar en cada caja Petri (previamente etiquetada) un disco de papel de filtro.
- Saturar el papel de filtro con 4 ó 5 mL de la dilución evitando que se formen bolsas de aire.
- Con la ayuda de una pinza, colocar cuidadosamente veinte semillas, dejando espacio suficiente entre ellas para permitir la elongación de las raíces.
- Tapar las cajas Petri y colocarlas en bolsas plásticas para evitar la pérdida de humedad. Dado que algunas variedades de semillas de lechuga requieren oscuridad para que se produzca la germinación (semillas fotoblásticas

negativas), las cajas de Petri deben cubrirse de la luz inmediatamente después de colocarlas en las cápsulas y durante el periodo de ensayo. Incubar durante 120 h (cinco días) a una temperatura de  $22 \pm 2$  °C. Realizar repeticiones para cada dilución ensayada.

Para la realización de este experimento se debe trabajar con material perfectamente limpio y seco.

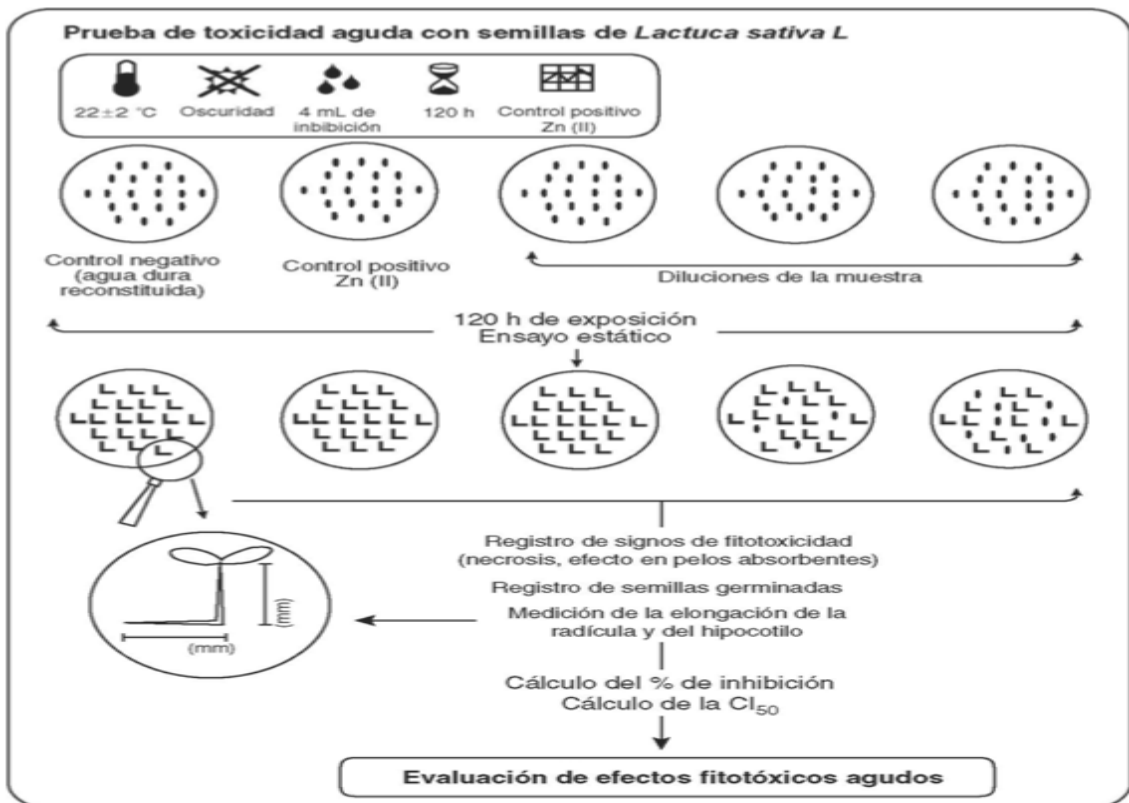


Figura 2. Prueba de toxicidad aguda con semillas de *Lactuca sativa* (OECD 208, 1992)

---

---

## 6 RESULTADOS

En las pruebas de DQO y DBO<sub>5</sub> realizadas a los detergentes se obtuvieron los siguientes resultados:

**Tabla 7. Relación de valores de DQO y DBO<sub>5</sub> para los diferentes detergentes bajo estudio.**

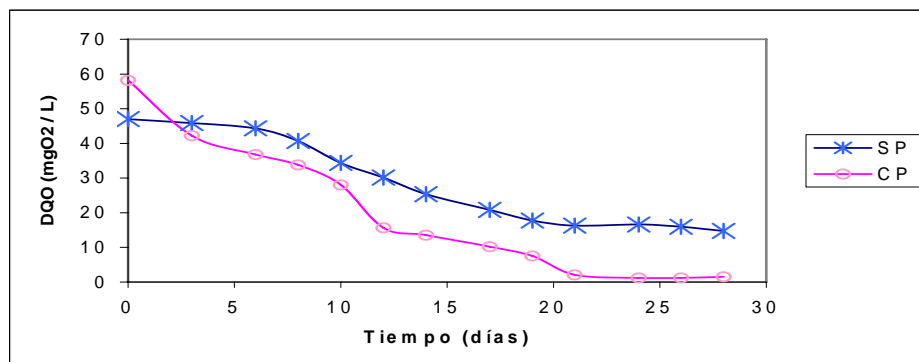
MUESTRA	DQO(mg/L)	DBO <sub>5</sub> (mg/L)	DBO <sub>5</sub> / DQO
D1	2775	806	0.2905
D2	1208	326	0.2700
D3	2736	848	0.3099
D4	2803	617	0.2201
D5	2643	67	0.0254

De acuerdo a los resultados de la Tabla 7, la muestra con un mayor valor de DBO<sub>5</sub>/DQO resultó ser D3 y D1, ésta relación indica que de las 5 muestras analizadas estas tiene mayor cantidad de materia biodegradable, pero se selecciono a D1 ya que es el que se vende mas que D3, según datos de la industria que los produce.

Los resultados de la prueba OECD 301-A realizada para D1 se muestran en la figura 3, donde se puede observar que en la primera etapa de la curva de SP (sustancia de prueba) el decremento de DQO es lento, posteriormente hay una degradación más rápida y al final la curva se vuelve asintótica, lo cual indica una etapa de adaptación, degradación de la materia orgánica biodegradable y cuando ésta se ha terminado. Esta degradación es realizada principalmente por la actividad microbiana ya que no hay degradación abiótica y la adsorción de la materia orgánica es <1%; con CT (control de toxicidad) se

---

puede verificar que a una concentración menor o igual a 40 mg/L de DQO el detergente no resulta tóxico para los microorganismos presentes.



Nota: SP = sustancia de prueba y CP=control del proceso

**Figura 3. Comportamiento de la prueba de OECD 301-A, realizada para D1.**

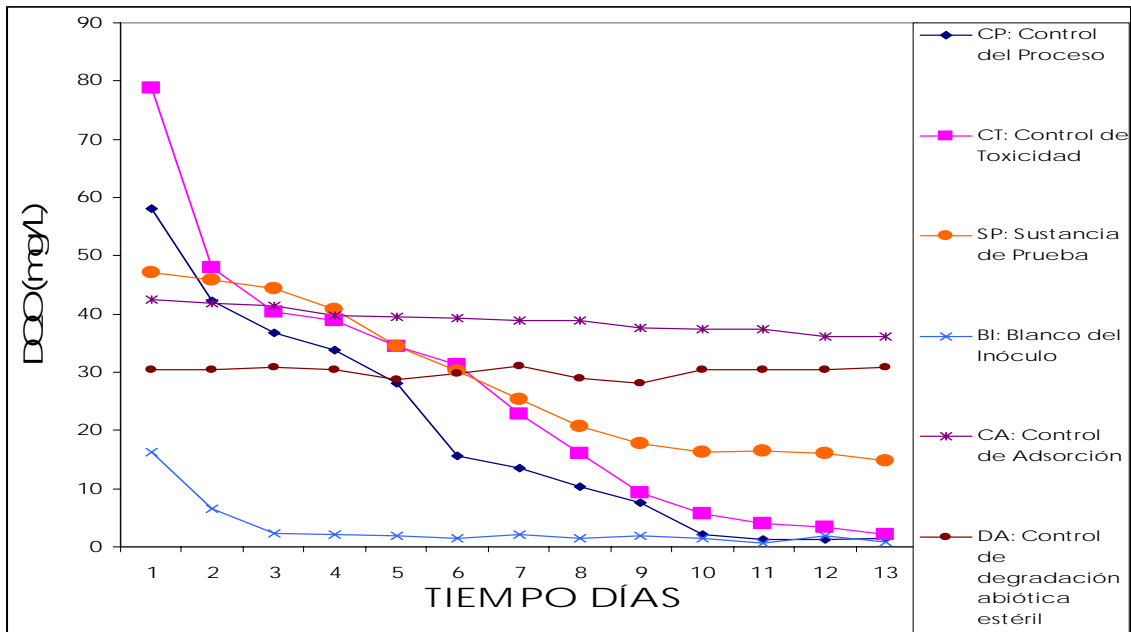
A partir de los resultados de la relación de  $DBO_5/DQO$  se seleccionó a D1 para aplicarle OECD 301-A, obteniendo los siguientes resultados en un periodo de 28 días.

**Tabla 8. Relación de valores de biodegradabilidad aerobia rápida medida como DQO.**

Tiempo (días)	CP	CT	SP	BI	CA	DA
0	58.194	78.699	47.036	16.278	42.513	30.451
3	42.219	47.941	45.83	6.628	41.91	30.451
6	36.783	40.402	44.322	2.406	41.307	30.752
8	33.768	38.894	40.704	2.105	39.799	30.451
10	28.038	34.371	34.371	1.803	39.497	28.641
12	15.675	31.355	30.149	1.502	39.196	29.848
14	13.564	22.912	25.324	2.105	38.894	31.054
17	10.247	15.976	20.801	1.502	38.894	28.943
19	7.533	9.342	17.786	1.803	37.688	28.038
21	2.105	5.723	16.278	1.502	37.387	30.451
24	1.2	3.914	16.579	0.597	37.387	30.451
26	1.2	3.311	15.976	1.803	36.18	30.451

Notta: CP (control del proceso), CT (control de toxicidad), SP (sustancia de prueba), BI (blanco del inoculo), CA (control de adsorción) y DA (control de degradación abiótico estéril).

La siguiente gráfica muestra el comportamiento del detergente D1 bajo diferentes condiciones.



**Figura 4. Cinética de degradación de la materia orgánica de D1 en la prueba de biodegradabilidad aerobia rápida**

En la figura 4 se observa que la curva correspondiente a SP (sustancia de prueba) de D1 en los primeros días no hay un decremento rápido de DQO, esto debido a una adaptación de los microorganismos al medio, ya que al no estar adaptados a usar el detergente como única fuente de carbono tienen que sintetizar nuevas enzimas que les permitan su uso como fuente de alimento, esta cinética de degradación se ajustó a una cinética de primer orden:

$$C = C_0 e^{-kt}$$





---

Donde:

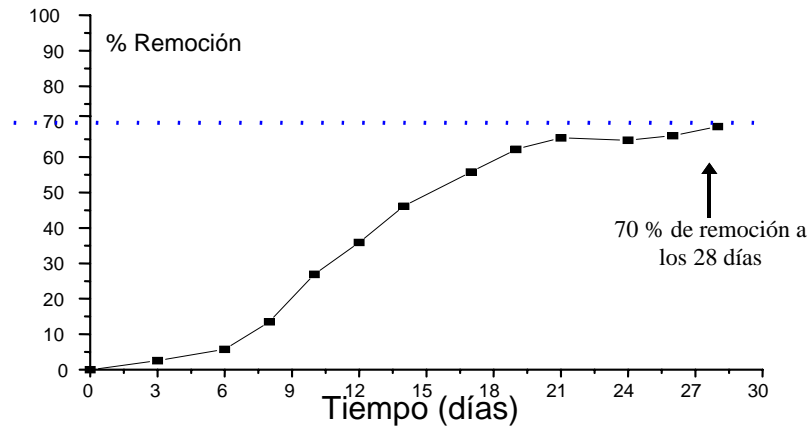
$C_0$  = Concentración al final

$k$  = cte. de velocidad [días<sup>-1</sup>]

$t$  = tiempo [días]

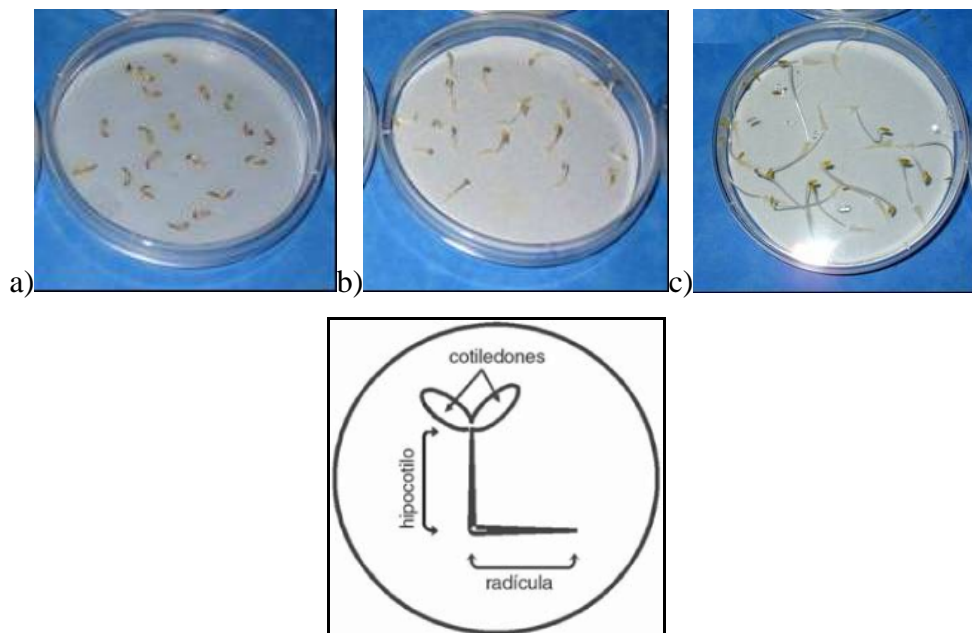
Estos valores se obtuvieron al procesar los datos en el programa Origin 7.0®, obteniendo una  $k = 0.0694 \pm 0.0077 \text{ d}^{-1}$  en comparación con la de CP (control del proceso), que tiene una  $k = 0.1005 \pm 0.0085 \text{ d}^{-1}$ , lo cual indica que sí hay biodegradación aerobia.

En el ensayo de CT (control de toxicidad) hay una biodegradación rápida y una más lenta, la primera corresponde a la sustancia de referencia (de fácil biodegradación) y la segunda a la del detergente, de lo cual se puede decir que el detergente no tiene un efecto tóxico o de inhibición del crecimiento microbiano ya que sí hay una biodegradación de ambos compuestos. El resultado del BI (blanco del inóculo), indica cuanta materia orgánica es aportada por el inóculo, si esta es biodegradable y que tan rápido la degradan. En cuanto al CA (control de adsorción) se observa que el detergente tiene una pequeña pendiente lo que indica un efecto de adsorción del detergente a los lodos activados y/o al matraz, sin embargo, esta cantidad corresponde al 1% del detergente, con el ensayo de DA (control de degradación abiótico estéril) se puede ver que la degradación del detergente es realizada principalmente por los microorganismos y no por efectos físicos, ya que al final del ensayo no hay un cambio significativo de la cantidad de DQO inicial, lo que también indica que la adsorción del detergente es principalmente a los lodos y no al vidrio del material empleado. En la figura 5, se observa que el detergente D1, logra la reducción suficiente de materia orgánica para poder ser considerado como fácilmente biodegradable. Es decir, logra alcanzar el 70% de remoción de materia orgánica dentro de los primeros 28 días de prueba.



**Figura 5. Grafica de % de remoción de materia orgánica de la muestra D1.**

En la tabla 9 se muestran los resultados de la prueba de toxicidad con *Lactuca sativa*, midiendo con una regla la elongación de la raíz y del hipocótilo de cada una de las plántulas correspondientes a cada dilución de muestra y a los controles de las semillas sembradas del detergente D1, después de ser sometido a biodegradabilidad aerobia rápida. La medida de elongación de la radícula se considero desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocótilo) hasta el ápice radicular. La medida de elongación del hipocótilo se considero desde el nudo hasta el sitio de inserción de los dos cotiledones (figura 6).



**Figura 6. Estadios de la semilla durante la prueba de germinación y elongación: a) 60 hrs., b) 90 hrs. y c) 120 hrs.**

Adicionalmente, al evaluar la respuesta de CT (control del proceso) se observó que a una concentración menor o igual a 40 mg/L de DQO, D1 no resulta tóxico para los microorganismos presentes. En cuanto a las pruebas de toxicidad aguda, la concentración en donde se inhibe la germinación del 50% de las semillas ( $CL_{50}$ ), es de  $0.3137 \pm 0.0204$  % tomando el 100% a la muestra concentrada.

Los valores que se proporcionan a continuación corresponden a los promedios de longitudes de raíces de semilla de lechuga resultantes de un ensayo de elongación de raíz con *Lactuca sativa* y del porcentaje de inhibición del crecimiento de la radícula y del hipocótilo del control negativo.

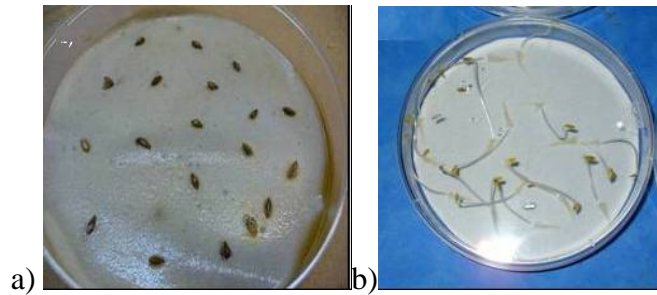
**Tabla 9. Promedios de la elongación de la raíz y el hipocótilo a cada una de las concentraciones en donde hubo germinación.**

<b>PORCIENTO DE DILUCION MUESTRA</b>	<b>PROMEDIO DE LA ELONGACIÓN DE LA RAÍZ (CM)</b>	<b>PROMEDIO DE LA ELONGACIÓN DEL HIPOCÓLITO (CM)</b>
<b>10.0</b>	<b><math>0.500 \pm 0.021</math></b>	<b><math>0.500 \pm 0.014</math></b>
<b>1.0</b>	<b><math>3.340 \pm 0.943</math></b>	<b><math>1.095 \pm 0.945</math></b>
<b>0.1</b>	<b><math>2.490 \pm 0.705</math></b>	<b><math>1.200 \pm 1.100</math></b>
<b>CONTROL (-)</b>	<b><math>5.110 \pm 0.621</math></b>	<b><math>1.950 \pm 1.900</math></b>
<b>CONTROL(+)</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

Antes de retirar las plántulas de las cajas de Petri para evaluar el efecto en los puntos finales anteriormente mencionados, es importante realizar una observación detallada del estado general de las mismas y del crecimiento de la radícula sobre el papel de filtro. Es importante detectar cualquier indicador de fitotoxicidad o de crecimiento anormal en las plántulas tratadas y en los controles como: ápices radiculares con necrosis, pelos absorbentes poco desarrollados, radículas con crecimiento ensortijado, necrosis en los cotiledones, etcétera. La necrosis (presencia de tejido muerto) se evidencia como

---

manchas localizadas de coloración parda, blanca o marrón. Al evaluar el efecto en la germinación, consignar además aquellas semillas con germinación anormal (emergencia de cotiledones o cotiledones e hipocótilo solamente, pero sin emergencia de la radícula) o con desarrollo de hongos.



**Figura 7. Plántula de *L. sativa* al finalizar el periodo de exposición (a) Sin crecimiento, (b) con crecimiento**

---

## 7 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como se observo en la fase experimental, la prueba OECD 301-A fue de gran utilidad para la selección de un detergente de una muestra de 5 detergentes, que por cuestión de confidencialidad no se dieron los nombres, pero que se trabajaron bajo la clasificación D1-D5; con un valor de 70% de remoción de materia orgánica en un lapso de 28 días, el resultado de esta prueba monitoreado con las técnicas DQO, DBO<sub>5</sub> y OD demostró que la cantidad de materia orgánica presente en D1 es fácilmente biodegradable en condiciones aerobias, de acuerdo a la relación de DBO<sub>5</sub>/DQO obtenida,

Además, mediante la prueba de toxicidad aguda se demostró que el producto obtenido de la biodegradación aerobia resulta ser no tóxico para el crecimiento de las semillas de lechuga *Lactuca sativa*, esto se demostró al no observar inhibición del crecimiento de la plántula y del hipocótilo de las semillas regadas con dicho producto. Pero este resultado solo aplica para plantas, ya que no es posible dar un valor límite de toxicidad general debido a que la sensibilidad de cada organismo varía con relación a la especie, tamaño, tipo de detergente y otros factores físicos del medio ambiente.

El resultado de la biodegradación aerobia de los detergentes presentes en aguas residuales, es facilitar el tratamiento de estas aguas para obtener agua para reúso, así como el proteger los mantos acuíferos donde se descargan estas aguas contaminadas. Esto se propone ya que a medida que crece la población, aumenta la necesidad de proveer sistemas de tratamiento o renovación, que permitan eliminar los riesgos para la salud y minimizar los daños al ambiente.

No obstante es cada vez más necesario que la autoridad ambiental exija a productores, intermediarios y prestadores de servicios de limpieza, certificados de biodegradabilidad de los productos de limpieza. Estratégicamente, el problema de detergentes ha sido abordado disminuyendo el consumo, cambiando las materias primas y tratándolas una vez que han sido incorporados a la corriente de agua. Actualmente la normatividad

existente prohíbe la descarga de aguas residuales fuera de los límites máximos permisibles de descarga establecidos (NOM-001-SEMARNAT-1997).

---

## 8 CONCLUSIONES

La aplicación de la prueba OECD 301-A, fue de gran utilidad en la selección del detergente empleado durante el experimento, esta prueba también es muy útil para degradar detergentes presentes en las aguas residuales mediante la acción de microorganismos.

La eliminación de detergentes de cadena lineal de las aguas residuales mediante el proceso de biodegradación favorece su tratamiento y disminuye su costo. Al no presentar efectos fitotóxicos sobre las semillas, esta agua se vuelve apta para la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas. Para este punto, la aplicación de procedimientos como el 208 establecido por la OECD, resulta de particular utilidad. El uso de agua residual tratada, contribuirá a la disminución en el consumo del agua potable o cercana a la misma, que actualmente se emplea para riego agrícola.

Es importante destacar que en la actualidad, en México no existen reglamentaciones en vigencia que soliciten ensayos de biodegradabilidad, sino que los ensayos realizados obedecen a pedidos específicos de productores y/o vendedores de tensoactivos que necesitan de estos resultados, ya que los mismos son requeridos por el usuario final.

Usar el agua de manera más eficiente reduciendo su uso indebido es, obviamente, el camino correcto para el ahorro de agua potable. De igual forma, el uso reducido de detergentes disminuirá la contaminación acelerada de lagos y mantos acuíferos, lo que a su vez redundará en la reducción de la muerte de la flora y fauna que ahí habitan.

Si la población toma conciencia de usar detergentes y productos biodegradables, será más fácil limpiar las aguas residuales mediante el empleo de tecnologías basadas en microorganismos, todo esto de manera más rápida y a menor costo. Dichos detergentes, al ser sometidos a un proceso de biodegradación aerobia rápida, tal como ocurriría en las plantas de tratamiento biológico existentes basadas en sistemas de lodos activados,



---

sería más fácilmente degradados por los microorganismos presentes en las aguas negras. Asimismo, esta agua tratada biológicamente disminuirá su toxicidad y podría ser apta para ser usada en agricultura, que actualmente en nuestro país es la actividad que, como se mencionó anteriormente, es la que consume la mayor cantidad de agua procedentes de fuentes para abasto de agua potable.

---

---

## 9 GLOSARIO

Para efectos de facilitar el entendimiento del presente trabajo, se incluyeron los términos abajo indicados, los cuales fueron tomados en su mayoría de la versión en español del libro Glosario de términos de la calidad del agua y complementado con términos extraídos de la versión original “WQA glossary of terms de Harrison J. F., del 2000.

- **Aguas residuales:** Son las aguas usadas y los sólidos que por uno u otro medio se introducen en las cloacas y son transportados mediante el sistema de alcantarillado.
- **Aguas residuales domesticas:** Son aquellos líquidos provenientes de las viviendas o residencias, edificios comerciales e institucionales.
- **Aguas residuales de los servicios:** Las que provienen de los servicios de reparación y mantenimiento automotriz, gasolineras, tintorerías, lavanderías, baños públicos, hospitales, hoteles, restaurantes, revelado de fotografía, etc.
- **Batería de ensayos:** Combinación de diversos ensayos de toxicidad con diferentes organismos.
- **Bioensayo:** Ensayo en el cual el poder o potencia de una sustancia es medido a través de la respuesta de organismos vivos o sistemas vivientes.
- **Carbohidratos:** Grupo de compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno, en los cuales el hidrógeno y el oxígeno están en la misma relación que en el agua.
- **Carga contaminante:** Cantidad de un contaminante expresado en unidades de masa por unidad de tiempo, aportada en una descarga de aguas residuales.
- **Carta control:** Es un gráfico utilizado para seguir cambios a través del tiempo del punto final medido para un compuesto tóxico de referencia. En el eje X se grafica la fecha del ensayo, y en el eje Y, la concentración tóxica efectiva. Se toman como límite de alerta dos desviaciones estándar de la media histórica de la concentración letal media.
- **CE<sub>50</sub>/CI<sub>50</sub>:** Concentración efectiva o de inhibición media. Concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima afecta al 50% de los

---

---

organismos de ensayo. La  $CE_{50}$  y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadístico.

- **$CL_{50}$ :** Concentración letal media, concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima letal para el 50% de los organismos de ensayo. La  $CL_{50}$  y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadístico. La  $CL_{50}$  es la concentración de una sustancia, elemento o compuesto, solo o en combinación, que produce la muerte al 50% de los organismos sometidos a bioensayos en un periodo de 96 horas.
- **Condiciones particulares de descarga:** El conjunto de parámetros físicos, químicos y biológicos y de sus niveles máximos permitidos en las descargas de agua residual, determinados por la Comisión Nacional del Agua para el responsable o grupo de responsables de la descarga o para un cuerpo receptor específico, con el fin de preservar y controlar la calidad de las aguas conforme a la Ley de Aguas Nacionales y su Reglamento.
- **Contaminante:** Sustancia ajena, presente en un sistema natural en una concentración más elevada de lo normal por causa de actividad antrópica directa o indirecta. En un sentido más amplio se le define como la presencia de cualquier agente físico, químico o biológico, o de combinaciones de los mismos en lugares, formas y concentraciones tales y con tal duración que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o bienestar de la población, o perjudiciales para la vida animal y vegetal, o que impidan el uso y goce de las propiedades y lugares de recreación.
- **Contaminantes básicos:** Son aquellos compuestos y parámetros que se presentan en las descargas de aguas residuales y que pueden ser removidos o estabilizados mediante tratamientos convencionales. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los siguientes: grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales,  $DBO_5$ , nitrógeno total, fósforo total, temperatura y pH.
- **Contaminantes patógenos y parasitarios:** Son aquellos microorganismos, quistes y huevos de parásitos que pueden estar presentes en las aguas residuales y que representan un riesgo a la salud humana, flora o fauna. En lo que

---

---

corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los coliformes fecales y los huevos de helminto.

- **Control:** Es un tratamiento en una investigación que duplica todos los factores que puedan afectar el resultado, excepto la condición que está siendo investigada (sinónimo de control negativo).
- **Cuerpo receptor:** Son las corrientes, depósitos naturales de agua, presas, cauces, zonas marinas o bienes nacionales donde se descargan aguas residuales, así como los terrenos.
- **Descarga:** Acción de verter, infiltrar, depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor en forma continua, intermitente o fortuita, cuando éste es un bien del dominio público de la Nación.
- **Ensayo de toxicidad:** Determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantal) o el grado de efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra.
- **Factor de emisión de toxicidad:** Proporción de emisión de toxicidad de un determinado efluente por unidad de producción (ejemplo: por tonelada de producto) de la operación que genera el efluente.
- **Fitoplancton:** Pequeñas planta microscópicas que habitan en lagos, reservas y otros cuerpos de agua (Joseph 2000).
- **Índices de toxicidad:** Expresan los resultados de diferentes ensayos de toxicidad como un único valor numérico que clasifica, según categorías, a la muestra. No existen reglas fijas para la designación de los índices.
- **Límite máximo permisible:** Valor o rango asignado a un parámetro, el cual no debe ser excedido en la descarga de aguas residuales.
- **Lipasas:** moléculas que pueden atacar restos de sustratos lipídicos
- **LOEC:** Concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC, por sus siglas en inglés *Lower Observable Effect Concentration*).
- **Metales pesados y cianuro:** Son aquéllos que, en concentraciones por encima de determinados límites, pueden producir efectos negativos en la salud humana, flora o fauna. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se

---

---

consideran los siguientes: arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc y cianuro.

- **Muestra simple:** La que se tome ininterrumpidamente durante el período necesario para completar un volumen proporcional al caudal, de manera que éste resulte representativo, medido en el sitio y en el momento del muestreo.
- **NOEC:** Concentración a la cual no se observa efecto (NOEC, por sus siglas en inglés *No Observable Effect Concentration*).
- **Parámetro:** Unidad de medición, que al tener un valor determinado, sirve para mostrar de una manera simple las características principales de un contaminante; Variable que se utiliza como referencia para determinar la calidad física, química y biológica del agua.
- **PMTC** (concentración mínima del tóxico esperada): Término elaborado por *Environment Canada* para su uso en el monitoreo ambiental de efectos de efluentes. Concentración de un efluente en el cuerpo receptor por debajo de la cual se esperaría que sólo un 5% de las muestras manifestaran efectos nocivos sub-letales, estimado con un nivel de confianza del 95% (PMTC, por siglas en inglés).
- **Proteasa:** molécula que degrada restos de proteínas.
- **Punto final:** Medida o valor que expresa el resultado de un ensayo ( $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$ ). También significa la respuesta del organismo para mostrar el efecto que se utiliza para indicar la finalización del ensayo, definido por un porcentaje de organismos y un tiempo de exposición.
- **Relación aguda-crónica (RAC):** ACR, por sus siglas en inglés, es el inverso del factor de aplicación. Se deriva de la relación medida entre un dato agudo de  $CL_{50}$  y un nivel sub-letal medido. Para la obtención de un valor más realista se puede combinar la información de varios ensayos. Se la utiliza ampliamente en la actualidad y tiene la ventaja de tener valores mayores a la unidad.
- **Replicado:** Es una cámara o recipiente de ensayo, conteniendo un número especificado de organismos en una concentración/dilución de muestra definida o de agua de dilución como control. En un ensayo de toxicidad con cinco concentraciones de ensayo y un control que usa tres replicados, se utilizan 18

---

---

cámaras de ensayo con tres cámaras por concentración. Un replicado debe ser una unidad separada o independiente de ensayo.

- **Riego no restringido:** La utilización del agua residual destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas en forma ilimitada como forrajes, granos, frutas, legumbres y verduras.
- **Riego restringido:** La utilización del agua residual destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas, excepto legumbres y verduras que se consumen crudas.
- **Sistema de alcantarillado:** Es el conjunto de dispositivos y tuberías instalados con el propósito de recolectar, conducir y depositar en un lugar determinado las aguas residuales que se generan o se captan en una superficie donde hay una zona industrial, población o comunidad en general.
- **TOEC:** Concentración umbral a la cual se observa efecto (media geométrica del NOEC y LOEC).
- **Toxicidad aguda:** Efecto adverso (letal o sub-letal) inducido sobre los organismos de ensayo en prueba durante un periodo de exposición del material de ensayo, usualmente de pocos días.
- **Toxicidad crónica:** Efectos tóxicos a largo plazo relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia.
- **UTL (unidad tóxica letal):** Es la concentración verdadera medida o prevalente de un tóxico o sustancia en particular dividida por el umbral  $CL_{50}$  de dicha sustancia (ejemplo: la concentración medida en un cuerpo de agua dividida entre la  $CL_{50}$ ). Para el caso de un efluente, esta relación se calcula con referencia a la concentración inicial del efluente (la concentración real equivale al 100% del mismo):  $UTL=100\%/CL_{50}$  (en %).
- **UTSL (unidad tóxica sub-letal):** Se calcula como la concentración verdadera o prevalente de un tóxico o sustancia en particular, dividida entre la  $CI_{25}$  o punto final similar que represente un umbral subletal. El valor de la UTL también indica la dilución necesaria para alcanzar un nivel tóxico. Relaciones menores a 1 indican niveles no letales y mayores a 1 muy letales.

---

---

## 10 BIBLIOGRAFÍA

- Allen G. Burton y Pitt Robert Jr. (2002). Storwater effects Handbook. *Lewis Publishers*. 710-734.
- Álvarez A., Diaper C. y Parsons S. (2001). Partial oxidation by ozone to remove recalcitrance from wastewaters a review. *Environ. Technol.* **22**. 409–427.
- Angenent L.T., Karim K., Al-Dahhan M.H., Wrenn B.A. y Domínguez-Espinosa R., (2004). Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends Biotechnol.* **22**. 477–485.
- APHA. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Washington. *American Public Health Association*. **20**.
- Arundel John. (2000). Tratamiento de aguas negras y efluentes industriales. *Acribia S.A. de C. V. España*. 87-118.
- Bijan Leila, Mohseni Madjid. (2005) Integrated ozonand biotreatment of pulp mill effluent and changes in biodegradability and molecular weight distribution of organic compounds. *Water Res. Cadana.* **39**. 3763-3772.
- Booki Min, JungRae Kim, SangEun Oh, John M. Regan y Bruce E. Logan. (2005). Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Res. USA.* **39**. 4961–4968.
- Butler David y Davies John W. (2000). Urban Drainage. *Spon Press*. New York. 50-65.
- Carabias J. y Landa R. (2005). Agua, Medio Ambiente y Sociedad, Hacia la Gestión Integral de los Recursos Hídricos en México. México. *UNA, COLMEX, FGRA*, 33.
- Castillo Morales G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. México. *IDCR-CRDI*. 71-79.
- CONAGUA. (2006). Estadísticas del agua. México. ISBN 968-817-769-5.
- CONAGUA. (2006). Estadísticas del agua en México Sistema Nacional de Información sobre cantidad, calidad, usos y conservación del agua. México. ISBN 968-817-758-X.
- Díaz Báez M.C., Sánchez W.A., B.J. Dutka, Ronco A., Castillo G., Pica-Granados, Castillo Y. L.E., Ridal J., Arkhipchuk V. y Srivastava R.C. (2002) Overview of

- 
- Results from the WaterTox Intercalibration and Environmental Testing Phase II Program: Part 2, Ecotoxicological Evaluation of Drinking Water Supplies. *Environ. Toxicol.* **17**(3). 241-249.
- Dochain D. y Perrier M. (2004). Special issue on dynamics, monitoring, control and optimization of biological systems. *J. Process Contrl.* **14**. 715–716.
- Dřimal P. y Druřbık H. (2007). Evaluating the aerobic biodegradability of plastics in soil environments through GC and IR analysis of gaseous phase. *Department of Environmental Protection Engineering* **72**. 267-275.
- Ebru Dulekgurgen, Serdar Dog ruel, O` zlem Karahan y Derin Orhon. (2006). Size distribution of wastewater COD fractions as an index for biodegradability. *Water Res.* **40**. Turkey. 273 – 282.
- Ekama G. A., Sötemann S. W. y Wentzel. (2007). Biodegradability of activated organics under anaerobic conditions. *Water Res. Group.* **41**. 244-252.
- Environment Canada. (1999). Guidance Document on Application and Interpretation of Single-Species Tests in Environmental Toxicology. *Method Develop. Appl. Sect.* Environmental Technology Centre. EPS 1/RM/34.
- Forget G., Gagnon P., Sánchez W.A. y Dutka, B.J. (2000). Overview of Methods and Results of the Eight Country International Research Development Centre (IDRC) WaterTox Project. *Environ. Toxicol.* **15**. 264-276.
- Freire R.S., Kubota L.T. y Duran N. (2001). Remediation and toxicity removal from kraft E1 paper mill effluent by ozonation. *Environ. Technol.* **22**. 897–904.
- Frigon D. R., Guthrie G. M., Bachman T., Royer J., Bailey B. y Raskin L. (2006). Long-term analysis of a full-scale activated sludge wastewater treatment system exhibiting seasonal biological foaming. *Water Res.* **40**. 990 – 1008.
- Galluzzo M., Ducato R., Bartolozzi V. y Picciotto A. (2001). Expert control of DO in the aerobic reactor of an activated sludge process. *Comp. Chem. Eng.* **25**. 619–625.
- Harrison Joseph F. (2000). WQA glossary of Terms. *Water Qual. Ass.* 20-142.
- Harrison Roy M. (2003). El medio ambiente. *ACRIBIA S.A.* España. 135-141.
- Henze M., Gujer W., Mino T. y Van Loosdrecht M.C.M. (2000). Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. Scientific and Technical Report.



- 
- IWA Task Group on Mathematical Modelling for Design and Operation of Biological Wastewater Treatment. *IWA Publishing*. **9**. London.
- Henze M., Poul Harremoes, Cour Cansen y Eric Harbin. (2002). Biological and chemical processes. *Springer*. Alemania. 65-89.
- <http://conagua.com.mx>. (2003). Consultada: Agosto 2007 18:00 hrs.
- <http://conagua.com.mx>. (2004). Consultada: Sept. 2007 10:00 hrs.
- Hu Z.R., Wentzel M.C.y Ekama G.A. (2003). Modelling biological nutrient removal activated sludge systems a review. *Water Res.* **37**. 3430–3444.
- Huang J., Li L. (2000). An innovative approach to maximize primary treatment performance. *Water Sci. Technol.* **42**. 209–222.
- Imac. (2007). <http://www.imacmexico.org>
- Inform. Research focuses on biodegradable additives for laundry, dishwashing detergents. *Academic Research Library*. **18**. 318.
- ISO 5667-16. (1998) "Water Quality, Sampling", Part 16: *Guidance on Biotesting of Samples*.
- Jeppsson U., Alex J., Pons M.N., Spanjers H.y Vanrolleghem P.A. (2002). Status and future trends of ICA in wastewater treatment an European perspective. *Water Sci. Technol.* **45**. 485–494.
- Jian L. y Ayoub G. (2003). High pH magnesium coagulation flocculation in wastewater treatment. *Adv. Environ. Res.* **7**. 389–403.
- Krooneman J., Sliemers A.O., Gomes T.M.P., Forney L.J. y Gottschal J.C. (2000). Characterization of 3-chlorobenzoate degrading aerobic bacteria isolated under various environmental conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.* **32**. 53–59.
- Lee T.T., Wang F.Y. y Newell R.B. (2006). Advances in distributed parameter approach to the dynamics and control of activated sludge processes for wastewater treatment. *Department of Chemical Engineering, The University of Queensland*. Australia.
- Lesinsky D., Fritz J y Braun R. (2004). Biological degradation of PVA/CH blends in terrestrial and aquatic conditions. *Biores. Technol.* **96**. 197-201.
- Mantzavinos D., Burrows D. M. P. , Willey R., Sheng F., G. Andrew y Ian S. (2001). Chemical treatment of an anionic surfactant wastewater: electrospray-ms

- 
- studies of intermediates and effect on aerobic biodegradability. *Water Res.* **35**. 3337-3345.
- Massardier –Nageotte V., Pestre C., Cruard-Pradet T., Bayard R. (2006). Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization. *Polymer degradation and stability*. **91**. 620-627.
- Muirhead W. (2003). Effect of variable loads on oxygen uptake part 2. *Water Environ. Technol.* **15**. 104-106.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-limite permisible de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilizacion". DOF, Nov 22 del 2000.
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). (1992) Report of the OECD Workshop on the Extrapolation of Laboratory Aquatic Toxicity Data to the Real Environment 208. *OECD Environment Monographs*. Paris. **59**.
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). (1993) Guidelines for the Testing of Chemicals. Ready biodegradability, 301-A. Die-away test". Paris. 1-18.
- Painter H.A., Reynolds P. y Comber S. (2003). Application of the Headspace CO<sub>2</sub> Method (ISO 14 593) to the Assessment of the Ultimate Biodegradability of Surfactants: Results of a Calibration Exercise, *Chemosphere* **50**. 29-38.
- Petersen B., Gernaey K., Devisscher M., Dochain D. y Vanrolleghem P. A. (2003). A simplified method to assess structurally identifiable parameters in Monod-based activated sludge models. *Water Res.* **37**. 2893–2904.
- Quiroga J. M., Perales J. A., Romero L. I. y Sales D. (1999). Biodegradation Kinetics of Surfactants in Seawater. *Chemosphere* **39**. 1957-1969.
- Rojas Romero, Jairo Alberto. (2000). Tratamiento de aguas residuales por lagunas de estabilización. México. **2**. 284pp.
- Ronco A., Gagnon P., Díaz-Báez M.C., Arkhipchuck V., Castillo G., Castillo L.E., Dutka B.J., Pica-Granados Y., Ridal J., Srivastava R.C. y Sánchez A. (2002). Overview of Results from the WaterTox Intercalibration and Environmental Testing Phase II Program: Part 1, Statistical Analysis of Blind Sample Testing. *Environ. Toxicol.* **17** (3). 232-240.

- 
- 
- Said-Pullicino D. y Gigliotti G. (2005). Oxidative biodegradation of dissolved organic matter during composting. *Department of Agricultural and Environmental Science*. Italia. 72:06121
- Seoanez Calvo M. (2000). Aguas residuales urbanas: tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento. *Ediciones Mundi-Prensa*. Madrid. 113-150.
- Shih J. y Zacerkowny O. (2005). Zero liquid discharge system maximizes recycling success. *Water Wastewater Inter.* **20**. 15-16, 40.
- Soldan P. G. (2006) Importancia del marco regulatorio en la prestación de los servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento. *CONAGUA*. 107-108.
- Spiro G. T. y Stiglid M. W. (2003). Chemistry of the Environment. *Pearson Prentice Hall*. Madrid. 339-352.
- Suszkiw Jan. (2007). Corn: A new ingredient for detergents?. *J. Surfact. Deterg.* **10**. A11.
- Timur Deniz, O' zer C- inar y C.P. Leslie Grady Jr. (2004). Effects of oxygen on biodegradation of benzoate and 3-chlorobenzoate in a denitrifying chemostat. *Water Res.* **38**. USA. 4524–4534.
- U.S. EPA. (2001). The Role of Screening-Level Risk Assessments and Refining Contaminants of Concern in Baseline Ecological Risk Assessments. EPA 540/F-01/014.
- U.S. EPA. (2002). Guidance for Comparing Background and Chemical Concentrations in Soil for CERCLA Sites. EPA 540/R-01/003.
- Vanderhasselt A. y Vanrolleghem P.A. (2000). Estimation of sludge sedimentation parameters from single batch settling curves. *Water Res.* 34. 395–406.
- Vassilakis C., Pantidou A., Psillakis E., Kalogerakis N. y Mantzavinos D. (2004). Sonolysis of natural phenolic compounds in aqueous solutions: degradation pathways and biodegradability. *Water Res.* **38**. 3110–3118.
- Yoshiaki Kiso, Yong-Jun Jung, Min-Soo Park, Wenhui Wang, Masahiro Shimase, Toshiro Yamada y Kyung-Sok Min. (2005). Coupling of sequencing batch reactor and mesh filtration: Operational parameters and wastewater treatment performance. *Water Res.* **39**. Korea. 4887–4898.

---

## 11 ANEXOS

### ANEXO 1: Prueba de biodegradabilidad aerobia rápida (OECD 301-A)

#### SOLUCIONES EMPLEADAS EN LA PRUEBA

**Agua preparada:** Se uso agua destilada, debe contener no más de 10% de carbono orgánico introducido por la sustancia de prueba (detergente). Se recomienda usar un solo lote de agua, analizando previamente el contenido de COD.

**Medio mineral:** Se prepara a partir de soluciones stock de concentraciones apropiadas de componentes minerales, especialmente fosfatos de sodio y potasio mas cloruro de amonio, cloruro de calcio, sulfatos de magnesio y cloruro férrico.

#### Solución stock para el medio mineral:

(a)	Fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	8.50 g
	Fosfato dibásico de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	21.75 g
	Fosfato dibásico de sodio heptahidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	33.40 g
	Cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	0.50 g
	Disolver en agua y aforar a 1L El pH de la solución debe ser 7.4	
(b)	Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) o cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	27.50 g 36.40 g
	Disolver en agua y aforar a 1L	
(c)	Sulfato de magnesio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	22.50 g
	Disolver en agua y aforar a 1L	
(d)	Cloruro férrico hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	0.25 g
	Disolver en agua y aforar a 1L	

**Nota:** para evitar tener que preparar esta solución inmediatamente antes de usarse, agregue una gota de HCl concentrado o 0.4 g de EDTA por litro.

---

Preparación del medio mineral: mezcle 10 mL de la solución (a) con 800 mL de agua, enseguida agregue 1 mL de las soluciones (b), (c) y (d) y afora a un litro con agua.

Inóculo: El inóculo se obtuvo de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales. Remover las partículas de carbón por filtración a través de un filtro, centrifugar a 1100 G por min., descartar el sobrenadante, lavar el lodo con medio mineral y disolverlo hasta una concentración de 3-5 g de sólidos suspendidos por litro, mantener en aireación.

### ***PREPARACION DE MATRACES***

*Solución de Prueba:* detergente e inóculo.

*Blanco del Inoculo:* solo contiene el inóculo.

*Control del Procedimiento:* compuesto de referencia e inóculo.

*Control Abiótico Estéril:* sustancia de prueba y agente esterilizante.

*Control de Adsorción:* sustancia de prueba, inóculo y agente esterilizante.

*Control de Toxicidad:* sustancia de prueba, compuesto de referencia e inóculo.

*Determinación de DQO:* determinar las concentraciones de DQO por duplicado para cada matraz.

### **PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE VIDRIO (ISO 5667-16, 1998)**

El lavado del material se lleva a cabo de la siguiente forma:

- Lavar con una solución jabonosa
- Enjuagar tres veces con agua de la red.
- Enjuagar tres veces con una solución de HCl o HNO<sub>3</sub> al 10%.
- Enjuagar dos veces con agua de la red.
- Enjuagar una vez con acetona (para la remoción de compuestos orgánicos).
- Enjuagar tres veces con agua desionizada.

---

Una vez lavado, dejar secar boca abajo sobre material absorbente; al término, cubrir con papel aluminio. Las pipetas volumétricas se deben lavar sin detergente, inmediatamente después de su uso. Los recipientes para ensayo deberán ser enjuagados con agua de dilución inmediatamente antes de su uso en pruebas de toxicidad.

---

---

## **ANEXO 2: Prueba de Toxicidad aguda con Semillas de lechuga *Lactuca sativa* (OECD 208)**

Los siguientes pasos para la selección de semillas de lechuga *Lactuca sativa* son fundamentales para tener resultados confiables, los cuales establecen:

### a) La verificación de la viabilidad de las semillas

Previo a la implementación de la prueba es recomendable verificar que cada lote nuevo de semillas que se utilice tenga un porcentaje de germinación superior al 90%, sincronización en la germinación y baja variabilidad de la elongación de la radícula e hipocótilo ( $CV < 30\%$ ). Es necesario, además, caracterizar las condiciones de germinación del lote de semillas evaluando la respuesta frente a la luz (fotoblastismo positivo o negativo: germinación en presencia o ausencia de luz, respectivamente) y la temperatura óptima de germinación.

Si no es posible obtener lotes de semillas con poder germinativo  $\geq$  al 90%, se debe aumentar el número de semillas por caja para obtener un número mínimo de 18 semillas germinadas. Por otra parte, si se desea aumentar la confiabilidad de los resultados, o en caso de contar con semillas que posean una alta variabilidad en la elongación de la radícula de los controles negativos, aún habiéndolas seleccionado de tamaño uniforme, se recomienda aumentar el número de réplicas por tratamiento.

### b) Control de calidad de pruebas con *Lactuca sativa*

Es importante establecer cuáles son los valores de elongación en el control negativo, así como la sensibilidad de las semillas frente al tóxico de referencia (control positivo), determinando para cada lote de semillas el valor de  $CE_{50}$ . Se realizan cartas control para evaluar el crecimiento en los controles negativos (promedio  $\pm 2\sigma$  de la elongación de la radícula) y de la sensibilidad frente al tóxico de referencia.

La reducción en el poder germinativo ( $< 90\%$ ) y el aumento en la variabilidad de las medidas de elongación de radícula e hipocótilo en el control negativo a lo largo del

tiempo, son indicadores de la reducción de la vitalidad y envejecimiento de las semillas. En este caso se recomienda utilizar un nuevo lote de semillas.

A 2: Ensayos de toxicidad seleccionados por la red WaterTox.

	<b>Bioensayo</b>	<b>Referencia</b>
1	Semillas de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L), inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo, inhibición en la germinación (120 h)	Dutka, 1989
2	Bulbos de cebolla ( <i>Allium cepa</i> L), inhibición del crecimiento de raíces (72 h)	Fiskesjö, 1993
3	<i>Daphnia magna</i> , porcentaje de mortalidad (48 h)	Dutka, 1989
4	<i>Hydra attenuata</i> , cambios morfológicos-efectos letales y subletales (96 h)	Trottier <i>et al.</i> , 1997
5	Nematodo ( <i>Panagrellus redivivus</i> bq1), prueba de 96 h de maduración	Samoiloff, 1990
6	Versión MutachromoPlate© de la prueba Ames, con TA 100 ( <i>Salmonella typhimurium</i> sin activación S-9 (96 h. 96 micro pozos)	Rao y Lifshitz, 1995

#### **Características del papel filtro:**

- Papel de poro grande que asegure un buen flujo del líquido.
- Fibra resistente para que las radículas crezcan por su superficie sin atravesarlo, situación que dificultaría la remoción de las plántulas sin dañarlas.
- Ausencia de residuos tóxicos (ej. blanqueadores).
- Que no promueva el desarrollo de hongos (no asociados a las semillas).