



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

**Selección de una prueba de biodegradabilidad
para la evaluación de aguas residuales.**

T E S I S

Que para obtener el título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

P r e s e n t a :

Abel Baltazar Hernández Calvo

Asesor: Mtra. Dora Alicia Pérez González



México D.F. 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

*A Él ser supremo que me otorgó
los dones de la vida, la salud,
la conciencia
y el entendimiento de la química.*

*A mis padres Romana y Leobardo:
Por su ejemplo y apoyo para la vida
y el estudio.*

*A mis hermanos: Con quienes compartí
una habitación y comparto una vida.*

*A mis hijas Azmín, Sofía y Lucía:
Como una lección de que siempre
hay que concluir lo que iniciamos.*

*A mi esposa Carmen Irina:
Por su motivación, apoyo, mis hijas
y estar siempre a mi lado.*

*A mis amigos que compartieron una etapa
de su vida conmigo, me ayudaron a ser lo
soy y compartimos recuerdos agradables.*

*A la maestra Dora Alicia Pérez:
Gracias por su ayuda en la elaboración
de este trabajo.*

*Al Ing. Francisco Martín: Mi
agradecimiento por su apoyo.
Sin el cual este proyecto no
se habría concretado.*

*A la mujer de mi vida:
Por su apoyo, ternura y comprensión.
Por preocuparse de mi bienestar.
Por compartir mis ideas, alegrías y tristezas.
Porque sé que siempre estará conmigo
y gracias a ella sé lo que es la vida.*

*A pesar de lo mucho que se ha perdido, queda mucho;
No tenemos ahora el vigor que antaño
movió la tierra y los cielos; lo que somos, eso somos:
Corazones heroicos de un gran temple,
debilitados por el tiempo y la fortuna,
más fuertes en voluntad
para esforzarnos, buscar, encontrar
y no rendirse.*

Alfred Lord Tennyson

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco teórico	3
3.1. Biodegradabilidad	3
3.1.1 Definición	3
3.1.2. Importancia	3
3.1.3. Factores que afectan la biodegradabilidad	5
3.1.4. Métodos para determinar la biodegradabilidad	16
3.2. Calidad del agua	30
3.2.1. Parámetros de Calidad del agua	30
3.2.2. Determinaciones relacionadas	36
3.2.3. Marco legal en México	43
4. Planteamiento del problema	52
5. Objetivos	53
6. Hipótesis	53
7. Materiales	54
7.1. Equipo	54
7.2. Instrumentos	54
7.3. Material	54
7.4. Reactivos y disoluciones	54
7.5. Material biológico	55
7.6. Servicios	55
7.7. Muestras	55
8. Métodos	56
8.1. Determinación de sólidos y sales disueltas	56
8.2. Determinación de pH	57
8.3. Determinación de la temperatura	60
8.4. Determinación del Oxígeno Disuelto	61
8.5. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno	62
8.6. Prueba de Biodegradación de Zahn-Wellens	65
9. Resultados.	71
9.1. Muestra 1	75
9.2. Muestra 2	79
9.3. Muestra 3	83
10. Análisis de resultados.	88
10.1. Muestra 1	89
10.2. Muestra 2	92
10.3. Muestra 3	94
11. Conclusiones	98
12. Propuestas y/o recomendaciones	98
Referencias.	99

Índice de tablas

Tabla I.	Medio Glucosa-sales para <i>Escherichia coli</i> .	9
Tabla II.	Pruebas propuestas por la OCDE para evaluar la biodegradabilidad.	19
Tabla III.	Condiciones experimentales de las pruebas de biodegradabilidad inmediata de la OCDE.	21
Tabla IV.	Condiciones experimentales de las pruebas de biodegradabilidad intrínseca.	23
Tabla V.	Límites Máximos permisibles para contaminantes básicos expresados en las NOM ecológicas.	35
Tabla VI	Composición de los Frascos de Prueba.	72
Tabla VII.	Cantidad de sólidos totales necesarios de acuerdo a la DQO.	72
Tabla VIII.	Resultados de muestra 1: RP Solución de prueba agua residual.	75
Tabla IX.	Resultados de muestra 1: RC Control de inóculo con Sacarosa.	76
Tabla X.	Resultados de muestra 1: RS Eliminación abiótica.	76
Tabla XI.	Resultados de muestra 1: RB Blanco.	77
Tabla XII.	Resultados de biodegradación de muestra 1: Solución de prueba.	78
Tabla XIII.	Resultados de biodegradación de muestra 1: Control de inóculo con Sacarosa.	78
Tabla XIV.	Resultados de biodegradación de muestra 1: Eliminación abiótica.	79
Tabla XV.	Resultados de muestra 2: RP Solución de prueba agua residual.	80
Tabla XVI.	Resultados de muestra 2: RC Control del inóculo con Sacarosa.	80
Tabla XVII.	Resultados de muestra 2: RS Eliminación abiótica.	81
Tabla XVIII.	Resultados de muestra 2: RB Blanco.	81
Tabla XIX.	Resultados de biodegradación de muestra 2: Solución de prueba.	82
Tabla XX.	Resultados de biodegradación de muestra 2: Control de inóculo con Sacarosa.	82
Tabla XXI.	Resultados de muestra 3: RP Solución de prueba agua residual.	83
Tabla XXII.	Resultados de muestra 3: RC Control del inóculo con Sacarosa.	84
Tabla XXIII.	Resultados de muestra 3: RS Eliminación abiótica.	84
Tabla XXIV.	Resultados de muestra 3: RB Blanco.	85
Tabla XXV.	Resultados de biodegradación de muestra 3: Solución de prueba.	85
Tabla XXVI.	Resultados de biodegradación de muestra 3: Control del inóculo con Sacarosa.	86
Tabla XXVII.	Resultados de biodegradación de muestra 3: Eliminación abiótica.	86
Tabla XXVIII.	Composición del medio de prueba en el método de Zhan-Wellens.	89

Índice de Figuras

Figura 1	Crecimiento diáuxico de <i>E. coli</i> .	12
Figura 2	Relación entre la velocidad de crecimiento μ y la concentración de la fuente de Carbono S.	13
Figura 3	Representación de un proceso de biodegradación.	20
Figura 4	Diagrama del equipo recomendado para la prueba 303 A.	29
Figura 5	Sistema empleado para evaluar la biodegradación.	73
Figura 6	Gráfica de biodegradación de la muestra 1: agua residual.	90
Figura 7	Gráfica integrada de evaluación de la biodegradación muestra 1.	91
Figura 8	Gráfica de biodegradación muestra 2: agua residual.	93
Figura 9	Gráfica integrada de valores de muestra 2.	94
Figura 10	Biodegradabilidad muestra 3: agua residual.	95
Figura 11	Gráfica integrada de valores de muestra 3.	96
Figura 12	Biodegradación de sacarosa en las tres muestras.	97

1. Resumen

La biodegradabilidad es el término empleado para definir la susceptibilidad de los compuestos xenobióticos de ser metabolizados por comunidades mixtas de microorganismos.

Diversas organizaciones internacionales han estandarizado métodos para la evaluación de esta propiedad, entre los que destacan, por su amplio uso a nivel internacional, las pruebas publicadas por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE).

Entre estas pruebas se encuentran las pruebas de biodegradabilidad intrínseca que comprenden la prueba semi-continua de lodos activados (OCDE 302 A), la prueba modificada de Zhan-Wellens (OCDE 302 B), la prueba del Ministry of International Trade and Industry (OCDE 302 C) y la prueba de la Conservation Clean Air and Water in Europa (OCDE 302 D).

En México la Ley de Aguas Nacionales, obliga a los usuarios de cuerpos receptores a tratar las aguas residuales previamente a su vertido a dichos cuerpos y las Normas ecológicas establecen una demanda bioquímica de oxígeno inferior a 75 mg O₂ /L, por lo que en algunos casos es necesario el implementar sistemas de tratamiento biológico para cumplir este requisito.

Para conservar y asegurar el funcionamiento adecuado de dichos sistemas es necesario contar con una prueba de biodegradabilidad que permita evaluar las aguas residuales de nuevos procesos.

En este trabajo se seleccionó la prueba de biodegradabilidad modificada de Zhan-Wellens y se aplicó para la evaluación de aguas residuales de origen industrial.

Los resultados obtenidos muestran las fases típicas de una curva de crecimiento bacteriano, el comportamiento de cultivos con dos fuentes de carbono (diauxia), la duración de la fase de adaptación del inóculo depende del origen del mismo y las aguas residuales que contienen compuestos orgánicos no biodegradables no cumplen con la condición de degradación del 70 % en un periodo de 28 días.

Se concluye que es posible aplicar la prueba de biodegradabilidad de Zhan-Wellens para evaluar la factibilidad de tratamiento aerobio de aguas residuales de origen industrial y que la degradación abiótica es un factor que debe evaluarse durante la prueba.

2. Introducción

La biodegradabilidad es una propiedad que tienen algunos materiales complejos de ser degradados por microorganismos para formar productos finales sencillos. Estos productos se dan de manera natural en el medio ambiente y también se producen de forma artificial. Por tanto, la biodegradabilidad es importante para determinar el comportamiento de estos compuestos químicos en el medio.

Dentro del ecosistema biológico, los microorganismos han acumulado un amplio espectro de enzimas para degradar productos naturales; estas enzimas se utilizan mucho en la industria y en el tratamiento y purificación de aguas residuales.

Debido al rápido crecimiento industrial en el curso de los últimos 30 años, la contaminación del medio ambiente se ha intensificado, pues los microorganismos no pueden descomponer algunos de los complejos productos residuales de la industria química. Una proporción considerable de la contaminación del agua se debe a la liberación regular de vertidos industriales en el agua de los ríos. Estos vertidos incluyen residuos agrícolas, domésticos e industriales, que contienen todos ellos una variedad considerable de compuestos biodegradables y no biodegradables. Por tanto, es cada vez más importante identificar los compuestos presentes en tales vertidos para lograr una biodegradación eficaz.

La sociedad debe ser consciente de la importancia a largo plazo de los materiales biodegradables. La investigación ha demostrado que los métodos rápidos de selección, introducidos por primera vez en la década de 1970, deberían aplicarse a mayor escala para determinar el potencial de degradación de los componentes de las aguas residuales y los compuestos orgánicos puros. Estas pruebas rápidas y sencillas han permitido identificar compuestos refractarios y potencialmente peligrosos en un amplio espectro de flujos de residuos.¹

Diversas organizaciones han estandarizado métodos para la evaluación de la biodegradabilidad, entre los que destacan, por su amplio uso a nivel internacional, las pruebas publicadas por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE).²

En este trabajo se presenta una descripción general de estas pruebas, se selecciona la más conveniente para las condiciones de un Laboratorio de Análisis Ambiental, adaptando los materiales necesarios para su realización y se discuten tres casos de aplicación práctica

3. Marco teórico

3.1. Biodegradabilidad

3.1.1. Definición

La biodegradabilidad ha sido definida como la capacidad intrínseca de una sustancia a ser transformada en una estructura química más simple por vía microbiana.

La biodegradación puede ser primaria o última. La primaria se refiere a la desaparición de la sustancia original, y por lo tanto a los estados iniciales de este proceso. La última o completa se refiere al proceso mediante el cual se lleva a cabo la transformación total de una sustancia orgánica compleja en CO₂, CH₄ y constituyentes del material celular (biomasa).³

Los beneficios ambientales de una biodegradación completa son: concentraciones ambientales más bajas del compuesto biodegradado, niveles más altos en los márgenes de seguridad para su manejo, y la ausencia de residuos o metabolitos intermedios persistentes, que pudieran acumularse en algún compartimiento del ambiente.³

3.1.2. Importancia

La biodegradación es tan vieja como la vida misma. Virtualmente todas las teorías de la evolución temprana postulan la existencia de un caldo prebiótico de moléculas orgánicas que sirvieron como precursores de las moléculas que constituyeron la primera forma de vida. Sin embargo estas moléculas también debieron haber servido como fuentes de energía para sustentar el primer proceso viviente. La autorreplicación requiere energía y esa energía debió ser liberada de las moléculas presentes en el caldo prebiótico. Vista de esta forma, la biodegradación es una de las funciones vitales más antigua y fue iniciada hace 3,6 billones de años.⁴

Actualmente se utilizan diferentes términos para mencionar las aplicaciones que tiene el empleo del metabolismo microbiano por el hombre.

El término biotransformación técnicamente significa metabolismo, frecuentemente es empleado para indicar transformaciones biológicas de compuestos xenobióticos, como fármacos o cancerígenos en mamíferos y contaminantes ambientales en procariontes.

El término biocatálisis se emplea similarmente como biotransformación, pero tiene la connotación adicional de metabolismo con el propósito de elaborar un compuesto útil. Así la síntesis de antibióticos y acrilamida por microorganismos es referida con frecuencia como biocatálisis.

El término biodegradación, por contraste es empleado con el enfoque de separar un compuesto: un proceso por el cual un compuesto potencialmente tóxico es transformado en uno no tóxico.

La biorremediación es un término reciente y se refiere a la aplicación de las reacciones de biodegradación a la limpieza práctica de un compuesto o compuestos del medio ambiente.⁴

La biodegradabilidad es un parámetro determinante en el comportamiento ambiental de las sustancias químicas y una propiedad deseable de los productos que se liberan en grandes cantidades al medio natural.³

Un área importante dentro de la gerencia ambiental de sustancias químicas a nivel mundial, es la del Análisis de Riesgo Ambiental (ARA), que determina la seguridad ambiental de sustancias químicas.

Hay dos tipos de información que es necesario recolectar para conducir un ARA. El primer tipo de información determina el efecto de la sustancia sobre organismos representativos del ecosistema. Para esto existen diversos bio-ensayos que predicen las concentraciones ambientales capaces de tener efectos letales y/o crónicos sobre especies indicadoras, por ejemplo LC₅₀ (Concentración Letal 50). Los datos obtenidos de estas pruebas son usados para predecir la concentración que no producirá ningún efecto letal en el medio ambiente, PNEC (Predicted Non-effective Concentration)

El segundo tipo de información requerida determina el destino final de la sustancia química de interés, y se refiere a la predicción o medición del uso, descarga y propiedades ambientales de la sustancia. Estas propiedades incluyen volatilización, absorción, solubilidad, degradación física o química y biodegradabilidad. La degradación tanto física o química como biológica es importante porque reduce la concentración ambiental de la sustancia original. La biodegradación, por otra parte, reduce tanto la masa como la concentración y por consiguiente es el proceso más eficiente de remoción de una sustancia del ambiente. También existen diversos ensayos estándar para determinar tanto la biodegradabilidad como otras propiedades relevantes al destino final de una sustancia química en el medio ambiente.³

Los datos obtenidos de estas pruebas son utilizados para predecir la concentración ambiental de la sustancia, PEC (Predicted Environmental Concentration). Finalmente dentro del ARA se hace una “caracterización del riesgo”, al calcular el cociente de riesgo: PEC/PNEC. Brevemente, si este cociente es menor que uno, la sustancia es considerada segura para el ambiente.³

Es por esto, que el desarrollo y entendimiento de los ensayos de biodegradabilidad son cruciales para los ARA, para las buenas prácticas de gerencia ambiental y para un mejor control de las sustancias que puedan vertirse al medio ambiente.³

3.1.3. Factores que afectan la biodegradabilidad

A un nivel fundamental la biodegradación de una sustancia está ligada a las reacciones de biotransformación y a las enzimas que las catalizan, es decir al metabolismo bacteriano. La consecuencia directa del metabolismo es el crecimiento bacteriano, ya sea de población o masa, y los factores que afectan tanto al metabolismo como al crecimiento bacteriano afectarán en el mismo sentido la capacidad de biodegradación.

3.1.3.1. Factores físicos

Iluminación. Los organismos pobres en clorofila no pueden utilizar la luz solar como fuente de energía. De hecho muchas especies de bacterias mueren en pocos minutos o en unas horas por acción de la luz solar directa. Los rayos ultravioleta (UV) de la luz solar, de una longitud de onda de aproximadamente 300 nm, son los componentes más bactericidas. Su efecto letal máximo se ejerce sobre el ácido desoxiribonucleico y las proteínas enzimáticas de la célula. La luz solar que ha atravesado un vidrio de ventana ordinario ha perdido la mayor parte de sus rayos UV; por lo tanto ha perdido casi todo su poder bactericida. Además de su contenido de rayos UV, algunos de los rayos visibles del sol en presencia de oxígeno originan foto oxidación destructora de enzimas y otros componentes celulares vitales.⁵

Temperatura. El metabolismo microbiano es el resultado de una compleja serie de reacciones químicas, como todas las reacciones químicas éste es afectado por la temperatura.⁶

El rango para el crecimiento microbiano aparentemente está limitado por la disponibilidad de agua líquida. El límite superior para el crecimiento será por lo tanto la temperatura a la cual el agua hierve y el límite inferior deberá

ser el punto de congelación de la misma. Dado que el punto de congelación del agua es disminuido por el incremento en la concentración de solutos, el límite inferior está probablemente determinado por la habilidad de las células por mantenerse en una alta concentración de solutos.⁷

Los microorganismos que viven en el suelo y en aguas superficiales crecen mejor a temperaturas de 20 a 30 °C. Las bacterias que se han adaptado al crecimiento en el cuerpo humano se desarrollan solamente a temperatura corporal o cerca de ella (37 °C). Estas temperaturas: 20 a 37 °C representan los límites medios y los microorganismos que crecen de preferencia en estos límites de temperatura se les llama mesófilos.⁵

Sin embargo, las temperaturas bajas raramente son mortales para la mayor parte de microorganismos. Muchas especies vivirán en estado latente congeladas y pueden crecer vigorosamente cuando se descongelan.⁵

La temperatura también afecta a los procesos controlados por la difusión.⁶

pH. El pH del medio es un parámetro muy importante que afecta el crecimiento, formación de productos y metabolismo de los microorganismos.

La mayoría de los microorganismos viven en un rango de 3 a 4 unidades de pH. La velocidad máxima de crecimiento cae en un rango de pH de 1 a 1,5 unidades.

Sin olvidar las excepciones, se pueden hacer varias generalizaciones concernientes a la dependencia del crecimiento sobre el pH: las bacterias usualmente crecen en el rango de 4-8; las levaduras prefieren 3-6; los hongos 3-7 y las células eucariontes superiores 6,5 a 7,5. Como una consecuencia el pH puede ser usado para seleccionar el tipo de microorganismo favorecido y como auxiliar para mantener un medio con mínima susceptibilidad de contaminación.⁶

El pH en la mayoría de los ambientes naturales no es afectado significativamente por el metabolismo de los microorganismos. Sin embargo este no es el caso de los cultivos en laboratorio, donde la acidez o alcalinidad resultantes de la actividad metabólica de los microbios frecuentemente cambia el pH del medio. Es por esto que se emplean buffers para prevenir los cambios extremos de pH. El fosfato de Potasio funciona como un buffer entre pH de 6 y 8, mientras que los aminoácidos son efectivos como buffer a pH ligeramente ácido.⁷

Oxígeno. Muchos microorganismos necesitan libre acceso al oxígeno de la atmósfera para la biooxidación; se limitan estrictamente al empleo de oxígeno no combinado como aceptor de electrones (hidrógeno) gracias a la naturaleza de su sistema enzimático, no pueden crecer sin oxígeno libre. Estos organismos se denominan aerobios estrictos.⁵

Algunos microorganismos que pueden utilizar oxígeno libre también pueden utilizar el oxígeno obtenido en condiciones anaerobias de compuestos fáciles de reducir que lo contienen, por ejemplo el nitrato de sodio. Como pueden utilizar como aceptor de electrones oxígeno libre o combinado, se les llama aerobios o anaerobios facultativos.⁵

El oxígeno es un gas ligeramente soluble en agua, y comúnmente el crecimiento está limitado por la velocidad de disolución del mismo, y como consecuencia es necesario el transferir continuamente el oxígeno mediante burbujas de aire o en la interfase aire-líquido al medio de cultivo.⁸

La dependencia de velocidad de crecimiento sobre la concentración de oxígeno sigue una saturación tipo Monod tal que por debajo del nivel crítico de oxígeno disuelto (OD) una disminución de OD resulta en una disminución en la velocidad específica de crecimiento. Para bacterias y levaduras, el nivel crítico de OD varía de 3-10 % de saturación del aire (0,18 a 0,6 mg de O₂/L). La demanda de oxígeno dependerá de la naturaleza de la fuente de carbono y la eficiencia de su utilización.⁶

3.1.3.2. Factores químicos

Nutrientes. Para que las bacterias se desarrollen se les debe proporcionar todas las sustancias esenciales para la síntesis y el mantenimiento de su protoplasma, con una fuente de energía y con condiciones ambientales adecuadas.

Como grupo, las bacterias son microorganismos en extremo versátiles, presentan una enorme capacidad para la utilización de materiales alimenticios muy variados, que oscilan desde substratos totalmente inorgánicos hasta compuestos orgánicos muy complejos.

Dos patrones básicos caracterizan las exigencias nutricionales de las bacterias y reflejan sus capacidades metabólicas.⁷

En uno de los extremos del espectro se encuentran las bacterias autotróficas (litótrofas), que solo requieren agua, sales inorgánicas y dióxido de carbono para su desarrollo. Estos organismos sintetizan una porción importante de

sus metabolitos orgánicos esenciales a partir del CO₂.

En el otro extremo del espectro se ubican las bacterias heterotróficas (organótrofas) que exigen una forma orgánica del carbono para su crecimiento. Entre las bacterias más versátiles se encuentran las *Pseudomonas*, algunas de las cuales pueden utilizar más de 100 compuestos orgánicos diferentes como única fuente de carbono y energía.⁷

El nitrógeno reducido (NH₃) es usado por las células para formar aminoácidos, purinas, pirimidinas y ciertas vitaminas.

Muchos microorganismos usan formas orgánicas del nitrógeno que son adicionadas al medio como aminoácidos, purinas o pirimidinas; otros pueden también usar nitrógeno inorgánico en la forma de amoníaco, y unos cuantos usan nitrato y/o nitrito como su fuente de nitrógeno. El nitrógeno molecular es la fuente de nitrógeno para un grupo limitado de procariontes llamados fijadores de nitrógeno.^{7, 8}

Se ha observado que la velocidad máxima de crecimiento (μ_{\max}) con amoníaco como fuente de nitrógeno, es substancialmente mayor que con nitrato. Esto es debido al hecho de que con el nitrógeno amoniacal μ_{\max} está determinada por la velocidad de producción de energía ó unidades de carbono estructurales, mientras que con la presencia de nitrógeno de nitrato μ_{\max} está determinada por la velocidad de producción de unidades de nitrógeno estructural dependiente de la velocidad de reducción de nitrato a amoníaco.^{8, 9}

Todas las bacterias requieren pequeñas cantidades de un cierto número de iones inorgánicos. Además del nitrógeno el potasio, el magnesio y el calcio aparecen en las bacterias asociados de forma funcional con ciertos polímeros aniónicos.⁵

El magnesio actúa como estabilizador de ribosomas, membranas celulares y ácidos nucleicos y es necesario para la actividad de muchas enzimas.¹¹

El potasio también es indispensable para la actividad de un cierto número de enzimas, para el funcionamiento de los ribosomas y en el caso de los microorganismos gram positivos el contenido de ácido teicoico de la pared celular influye en su concentración en la célula.^{8, 11}

También se ha demostrado para la mayor parte de los microorganismos la necesidad de hierro, manganeso, zinc y cobre, y para otros el molibdeno y el cobalto resultan esenciales.^{7, 10}

El hierro es un nutriente cuya necesidad es universal. Sin embargo, en medios aerobios y a pH neutro la concentración de hierro soluble es demasiado baja como para alcanzar la μ_{max} . En estas condiciones se encuentra presente en su forma férrica como hidróxidos, carbonatos y fosfatos muy insolubles. Los microorganismos han desarrollado múltiples sistemas para obtener una cantidad adecuada de éste elemento esencial. En la mayor parte de las bacterias existe un sistema de alta afinidad en su membrana, lo que permite que los microorganismos utilicen las formas poliméricas del hierro a pesar de la marcada insolubilidad del ión férrico. Para ésta vía son necesarias concentraciones de hierro relativamente altas para alcanzar la μ_{max} y no se requieren compuestos solubilizantes.⁷

El calcio es un componente importante de la pared de los organismos gram positivos y de sus esporas, y al parecer interviene también en los procesos de excreción de proteasas en dichos bacilos. Al parecer los organismos gram negativos no precisan de calcio.¹⁰

La concentración de calcio en el citoplasma es un importante elemento en la regulación de muchísimas actividades celulares.¹¹

Los medios bien delimitados químicamente se emplean en investigaciones especiales.¹⁰ El medio requerido para cultivar *Escherichia coli*, la bacteria con requerimientos nutricionales mínimos, se muestra a continuación:

Tabla I. Medio Glucosa-sales para *Escherichia coli*.

Ingrediente	Cantidad (g)
Glucosa	5,0
Fosfato dipotásico	7,0
Fosfato monopotásico	2,0
Sulfato de magnesio	0,008
Cloruro de amonio	1,0
Elementos traza	0,001
Agua destilada	999,0 mL

Fuente: Ketchum PA (1988)

La composición de este medio cumple con los requisitos mínimos de una bacteria heterótrofa, y si se desea evaluar la capacidad de degradación de un compuesto orgánico por bacterias, se emplean medios de composición semejante donde la fuente de carbono y energía (glucosa) es substituida por la sustancia a evaluar y los elementos traza son hierro y calcio, adicionados en solución acuosa.

3.1.3.3. Factores biológicos

Inóculo. El factor más importante al elegir la fuente del inóculo es una alta diversidad y actividad microbiana, para así aumentar la probabilidad de que existan suficientes microorganismos capaces de descomponer la sustancia a evaluar.¹²

Una baja diversidad y actividad en el inóculo, resulta en un periodo latente más largo y grandes variaciones en los resultados, incluyendo una alta probabilidad de obtener resultados falsos negativos.³

Arden y Lockett, los inventores del proceso de lodos activados, llamaron así a la suspensión formada durante la aireación de aguas residuales municipales debido a su actividad de remover sustratos contaminantes orgánicos.⁹

Los lodos activados son un cultivo mixto de microorganismos, cultivado bajo condiciones no estériles en sustancias orgánicas presentes en aguas residuales. El proceso de lodos activados, es de hecho, un cultivo continuo de una población microbiana heterogénea. Donde se pueden encontrar principalmente bacterias, levaduras y pequeñas cantidades de hongos, estos últimos por sus características de filamentos causan serios problemas en la sedimentación.⁹

Los organismos superiores presentes regularmente en los lodos activados incluyen protozoarios, rotíferos, ciliados, lombrices, etc. Los protozoarios frecuentemente sirven como organismos indicadores usados para estimar el estado de los lodos activados. Se ha demostrado que disminuyen significativamente el contenido de bacterias dispersas en el agua residual tratada, favoreciendo así su purificación.⁹

Fases del crecimiento bacteriano. Antes de la degradación de muchos compuestos orgánicos, se nota un período en el cual la destrucción del compuesto no es evidente. Este intervalo de tiempo es llamado período de aclimatación, fase de adaptación o fase lag. Puede ser definida como el tiempo transcurrido entre la adición o entrada de una sustancia química en un medio ambiente y la evidencia de su pérdida detectable.¹³

La fase de adaptación se debe a que cuando un cultivo microbiano es desplazado de un medio ambiente a otro, se hace necesario reorganizar sus constituyentes micro y macromoleculares. Esto puede involucrar la síntesis o represión de enzimas o componentes estructurales de la célula. Como consecuencia la fase de adaptación o fase lag puede ser muy corta o

bastante larga.⁶

Los factores que afectan la duración de la fase lag son:

- a. Composición física y química del medio ambiente en el cual los microorganismos han crecido y en el que ellos fueron transferidos.
- b. Disponibilidad de los componentes del medio para los microorganismos, particularmente con respecto a su permeación.
- c. Especies de microorganismos, edad, estado fisiológico, cantidad inicial y adaptabilidad.⁹

La fase lag no ocurre cuando un cultivo creciendo exponencialmente es transferido a un medio fresco cuya composición es idéntica a la original.^{6, 9}

A la fase de adaptación le sigue la fase de crecimiento exponencial o fase log que es caracterizada por una línea recta al graficar el $\ln x$ en función del tiempo ($x =$ número de células). La velocidad de crecimiento es máxima (μ_{\max}) y permanece constante hasta el tiempo en el cual la concentración de substrato disminuye a un valor limitante.⁹

Este es un periodo de crecimiento balanceado y continuo durante el cual la velocidad específica de crecimiento (μ) es constante. A lo largo del tiempo la composición química del medio está cambiando dado que los nutrientes se están consumiendo y están siendo producidos los productos metabólicos. Como una consecuencia el medioambiente no está en estado estático, los nutrientes son empleados, se producen productos tóxicos, el pH cambia y el oxígeno es consumido.^{6, 7}

En algún momento, la velocidad de crecimiento comienza a decrecer por el consumo de los nutrientes esenciales o por la lenta acumulación de productos tóxicos. Sin embargo los microorganismos pasan a través de esta transición hasta que la velocidad neta de crecimiento es cero.⁶

La fase estacionaria ocurre cuando todas las células han dejado de dividirse o cuando las células viables han alcanzado el equilibrio con las células muertas, ha sido consumido de la solución el substrato limitante y el crecimiento celular ha cesado.^{6, 7, 9}

Finalmente el número de células viables disminuye cuando el cultivo entra en la fase de muerte o fase de declinación, cuando la insuficiencia de nutrientes causa la muerte de los microorganismos.^{7, 9}

Diauxia. Los cultivos de bacterias creciendo en medios con dos fuentes de carbono frecuentemente no muestran una fase exponencial simple, que es

característica de los mismos organismos multiplicándose en un medio con una fuente de carbono simple, en su lugar estos tienen dos fases de crecimiento exponencial, las cuales están separadas por un intervalo con muy poco o sin crecimiento.^{4, 8, 10}

En 1942 Monod describió una forma parecida de interferencia entre fuentes de carbono mutuamente sustitutivas: *E. coli*, mantenida en un medio glucosado que contenga cualquier otra fuente de carbono consume en primer lugar toda la glucosa existente y pasa a continuación a utilizar la segunda fuente de carbono (Fig. 1).¹⁰

Durante este primer periodo exponencial solamente uno de los sustratos es metabolizado por los organismos para soportar el crecimiento y el segundo periodo exponencial corresponde a la degradación del segundo compuesto orgánico. Este crecimiento bifásico y utilización de dos sustratos en secuencia es conocido como diauxia.

Generalmente la fuente de carbono que permite el crecimiento más rápido es metabolizada primero. La diauxia se caracteriza por la represión o síntesis de las enzimas involucradas con los pasos iniciales en el metabolismo de la segunda fuente de carbono cuando las bacterias metabolizaron la primera.^{4, 8, 12}

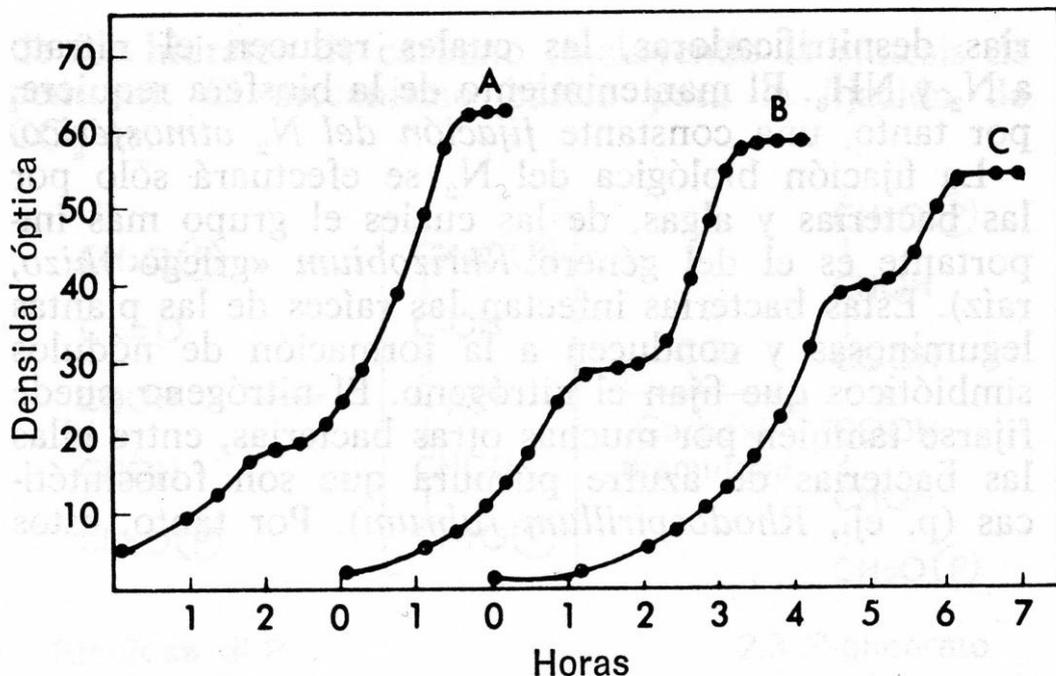


Figura 1. Crecimiento diáuxico de *E. coli*. En un medio conteniendo glucosa y sorbitol en proporción 1/3 (A), 1/1 (B) y de 3/1 (C). Medio mínimo inóculo cultivado en glucosa. [De Monod J. La croissance des cultures bactériennes. Hermann, París 1942, citado por Davis, Dulbecco (1980)]

Velocidad de crecimiento en función de la concentración de nutrientes.

En la mayoría de los cultivos en lote, la velocidad de crecimiento específico es constante e independiente de la concentración de nutrientes. Sin embargo la velocidad de crecimiento (y en consecuencia la velocidad de degradación) es una función de la concentración química.⁶

Considerando el caso de una población de una especie bacteriana que emplea un compuesto orgánico particular como su fuente de carbono y energía. Y asumiendo que la molécula orgánica es soluble en agua y no toxica, que el organismo está creciendo en un medio líquido bien aireado y que los nutrientes inorgánicos y factores de crecimiento necesarios para el microorganismo están presentes en exceso de las necesidades del mismo. A bajas concentraciones de la fuente de carbono y energía, la velocidad de metabolismo del organismo será lenta porque estará limitada por el bajo nivel del sustrato.^{9, 13}

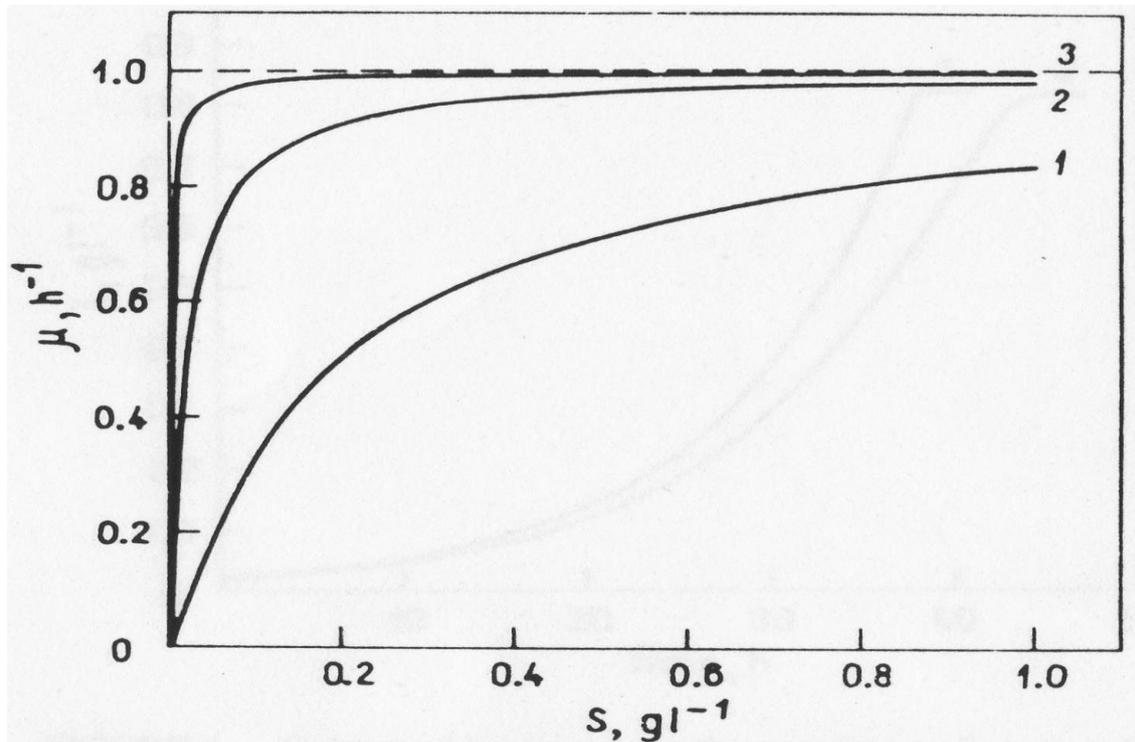


Figura 2. Relación entre la velocidad de crecimiento (μ) y la concentración de la fuente de Carbono (S). 1, K_S 0,2 g/L. 2, K_S 0,02 g/L. 3, K_S 0,002 g/L.

Fuente: Pitter P, Chudoba J (1990)

Si el organismo es inoculado en matraces conteniendo concentraciones incrementadas del compuesto orgánico, su velocidad de crecimiento se incrementara en proporción al incremento en concentración. Por arriba de algún nivel moderadamente alto de sustrato, la velocidad de crecimiento no aumentará tan marcadamente con los incrementos de concentración. Finalmente aun nivel completamente alto, la velocidad de crecimiento no se incrementará con aumentos sucesivos en concentración. (Fig.2)

La forma de la relación entre la velocidad de crecimiento y la concentración de sustrato fue observada por Monod en 1949 para la que formuló matemáticamente un modelo. Este modelo, el modelo de Monod, se expresa con la siguiente fórmula:^{7, 8, 9}

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_S + S)$$

Donde μ_{\max} es la velocidad máxima de crecimiento, S es la concentración de sustrato, y K_S es una constante igual a la concentración de sustrato cuando μ es igual a $0.5 \mu_{\max}$.

Los valores típicos de K_S son demasiados pequeños. Esto significa que μ es aproximadamente igual a μ_{\max} cuando S es mayor a $10 K_S$ y no es hasta que S es menor a $10 K_S$ que la velocidad específica de crecimiento se vuelve una fuerte función de la concentración del sustrato. Debido a que el valor de K_S es bajo, la velocidad específica de crecimiento durante la fase de crecimiento exponencial es constante. La transición de la fase log a la fase estacionaria es generalmente muy rápida, ya que en el punto cuando el sustrato residual S es bajo la alta concentración de células rápidamente utiliza el sustrato remanente. Por esta razón es muy difícil estimar el valor de K_S en cultivos por lote.^{6, 8, 9}

Compuestos xenobióticos. Los compuestos xenobióticos son aquellos que han sido producidos por la industria química y no se encuentran de manera natural en el medio ambiente, el término xenobiótico significa “ajeno a la biosfera”.¹⁴

El paso inicial para la absorción de nutrientes por los microorganismos requiere la presencia de exoenzimas, capaces de hidrolizar las macromoléculas a moléculas de bajo peso molecular para su transporte a través de la membrana celular.^{5, 7, 10}

Por lo tanto si ocurre la mineralización de un compuesto xenobiótico es porque el producto de transformación de la primera reacción deberá servir como sustrato de otra enzima transformadora, en una secuencia hasta que se forme un último producto biogénico útil en las rutas metabólicas.¹³

Las enzimas que catalizan las reacciones subsecuentes a las reacciones iniciales pueden o no estar presentes en el mismo microorganismo, como aquellas que producen el compuesto sobre el cual actúan, de tal forma que la mineralización de un compuesto xenobiótico puede requerir de la acción concertada de una comunidad más que de un solo tipo de microorganismo.¹³

El factor primario que determina la habilidad de los microorganismos para degradar un compuesto xenobiótico, así como la cinética de esta biodegradación, es su estructura molecular. El parecido de esta estructura a la estructura de un compuesto biogénico, facilitará que el compuesto xenobiótico sea biodegradable porque será más rápidamente incluido en las rutas metabólicas comunes.^{9, 10, 13}

3.1.3.4. Factores abióticos

La biodegradación no es siempre el único mecanismo que contribuye a la pérdida en el medio de un compuesto xenobiótico. Debido a las propiedades fisicoquímicas de algunos compuestos, pueden contribuir a su disminución mecanismos de remoción abiótica tales como volatilización a la atmósfera y la sorción en los sólidos presentes.¹⁴

La volatilización es un proceso de transferencia de masa en el cual un constituyente en la fase líquida es transferido a la fase gaseosa y puede contribuir a la pérdida de un compuesto xenobiótico durante la transferencia de oxígeno al sistema.^{13, 14}

La volatilización depende del tipo de sistema de transferencia de oxígeno empleado. Si se emplea agitación mecánica la velocidad de pérdida de masa puede ser considerada de primer orden con respecto a la concentración en la fase líquida del compuesto. Cuando el oxígeno es transferido por medio de un aireador la situación es más compleja ya que las burbujas de aire alcanzan la superficie del líquido desde el difusor y la concentración del compuesto continuamente se incrementa en esta fase.¹⁴

La sorción de un compuesto xenobiótico en la biomasa es un proceso complejo, que involucra ambos, adsorción a la superficie de los sólidos y absorción en los componentes celulares, particularmente los lípidos.¹⁴

La sorción en la biomasa es muy rápida, la gran mayoría de la adsorción ocurre en unos minutos, seguida de adsorción lenta de una pequeña cantidad adicional en un periodo de horas.

La desorción es la liberación del químico adsorbido del material sorbente, y como tal, es el opuesto a la sorción. En algunos casos la sorción es completamente reversible.¹⁴

3.1.4. Métodos para determinar la biodegradabilidad

Existe una cantidad de métodos usados para determinar la degradación biológica. Cada uno tiene sus ventajas y desventajas. Esto hace necesario el considerar el propósito de la prueba de biodegradabilidad. La mayoría de los métodos fueron originalmente diseñados para determinar la biodegradabilidad de surfactantes. Y después fueron modificados para probar otros compuestos orgánicos.⁹

La biodegradabilidad de compuestos orgánicos generalmente se expresa en tres formas:

A) Consumo específico de oxígeno requerido para oxidar un compuesto dado.

Se basa en diferentes métodos respirométricos, durante la degradación de una sustancia orgánica, una parte o el total es catabolizada. El catabolismo está acompañado de consumo de oxígeno. El oxígeno consumido por la oxidación de una sustancia dada es proporcional a la concentración de esta sustancia. Los métodos respirométricos usados para la determinación de la biodegradabilidad están basados en este principio y todos son hechos en sistemas cerrados. El consumo de oxígeno se puede medir mediante la prueba estándar de demanda bioquímica de oxígeno (DBO), o mediante el empleo de respirómetros.⁹

B) Velocidad de remoción de una sustancia específica del medio de cultivo. Determinando por medio de diferentes métodos las constantes biocinéticas de un cultivo: La velocidad de remoción máxima del sustrato (q_{max}), la constante de velocidad media (K_S) y el coeficiente de rendimiento de la biomasa (Y). Se pueden determinar en sistemas continuos o de lote.⁹

C) Cantidad removida de una sustancia del medio de cultivo.

Basado en la disminución de sustancia específica, carbono orgánico, o demanda química de oxígeno en la solución.¹²

La ventaja del primero es que el compuesto evaluado puede ser rastreado en una mezcla con otros compuestos orgánicos. Su desventaja es que solamente mide la biodegradabilidad primaria, la cual puede ser asociada con el cambio de estructura de un solo compuesto.^{9, 12}

La desventaja cuando se mide la remoción del sustrato por medio de la DQO o el consumo teórico de oxígeno (ThO) es que el compuesto probado deberá ser empleado como la única fuente de carbono orgánico y no puede ser rastreado en una mezcla con otros compuestos orgánicos biodegradables. Sin embargo su ventaja es que se mide la degradación

completa o mineralización, de un compuesto dado a CO₂, H₂O, y NH₃. Se ha observado que la remoción del ThO en una prueba de biodegradabilidad nunca es del 100%, es decir permanece en la solución del 1 al 10 % del ThO inicial, esto se debe a productos microbianos solubles que están presentes durante la prueba.⁹

Las técnicas empleadas para determinar la biodegradación de sustancias químicas bajo condiciones aeróbicas difieren en la concentración inicial del compuesto y biomasa inoculada, tipo de inóculo y forma de adaptación, composición del medio biológico y operación (experimentos por lote, semi-continuos o continuos).¹²

Como resultado de la extensa exportación e importación de compuestos individuales ha surgido la necesidad de la estandarización internacional, para garantizar que los resultados sean confiables y válidos independientemente del laboratorio en que sean obtenidos.

También los diseños legislativos (leyes conectadas con productos químicos) requieren métodos de un tipo más general.⁹

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) propone que las pruebas para la determinación de la biodegradabilidad aerobia sean divididas en tres grupos: ^{2, 12}

1. Pruebas de biodegradabilidad inmediata (de tamizado).

Son pruebas informativas que hacen la discriminación básica entre los compuestos fácilmente biodegradables de otros compuestos posiblemente biodegradables con medios analíticos simples. Estas pruebas generalmente desestiman el potencial de degradación del medio ambiente.

Las condiciones experimentales restringen al máximo las posibilidades de que la biodegradación suceda, razón por la cual se considera que un resultado positivo indica la biodegradabilidad de la sustancia en la mayoría de los medios naturales y de los sistemas de tratamiento.^{2, 9, 12}

2. Pruebas de biodegradabilidad intrínseca (potencial o inherente).

Si el resultado de la prueba de biodegradabilidad inmediata es negativo se procede a realizar una prueba intrínseca. Estas pruebas utilizan condiciones más favorables a la degradación. Las concentraciones del inóculo y el compuesto a evaluar son altas. La proporción de concentración del compuesto y biomasa es desplazada a favor de los microorganismos que son adaptables por largos periodos de prueba. Los experimentos se realizan en condiciones de lote o semi-continuas, algunas veces en presencia de otros sustratos fácilmente biodegradables, por lo que un resultado positivo implica que la sustancia es “intrínsecamente biodegradable” bajo las

condiciones empleadas, aunque no necesariamente en el medio natural. Por otra parte, un resultado negativo indica muy probablemente la persistencia ambiental de la sustancia.^{2,9,12}

3. Pruebas de simulación

Finalmente, se llevan a cabo pruebas de simulación, que confirman los resultados obtenidos de ensayos previos.

Estas pruebas tienen como objetivo estudiar su comportamiento en sistemas de tratamiento o medios naturales relevantes, para lo cual debe contar con cierto conocimiento de la distribución de la sustancia en los diferentes compartimientos ambientales. Si el resultado es negativo, se presume que la sustancia persiste en el ambiente y que puede considerársele sujeta a restricciones en cuanto a su comercialización o producción.^{2,12}

En la tabla II se muestran las pruebas que la OCDE ha propuesto para cada nivel de evaluación.¹²

3.1.4.1. Pruebas de biodegradabilidad inmediata

El principio general de estas pruebas es la incubación aerobia por lote de una cantidad reducida de biomasa en un medio mineral, a un pH neutro y a una temperatura entre 20 y 25 °C. La sustancia de estudio se añade como única fuente de carbono a una concentración definida. El inóculo consiste en una población microbiana natural, o de lodos activados, que no haya sido expuesta (aclimatada) al compuesto de prueba. Se evalúan parámetros directos y no específicos de la molécula que se estudia, como el carbono orgánico disuelto (COD), o parámetros indirectos relacionados con la mineralización de la molécula, como son la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) o la producción de dióxido de carbono, a intervalos regulares de tiempo y durante 28 días.^{2,9,12}

Simultáneamente se corren varios testigos para asegurar que los resultados no se deben a degradación abiótica, a la eliminación física de la molécula por absorción, a la toxicidad de la sustancia o a una actividad deficiente del inóculo; esta última se evalúa con los llamados controles de procedimiento que contienen moléculas de referencia fácilmente biodegradables, como la anilina o el acetato de sodio. Los resultados de ensayos respirométricos se corrigen con la respiración endógena del inóculo, la cual se mide en ausencia de la sustancia de prueba.^{2,12}

Se considera biodegradable a una sustancia cuando se obtiene una disminución del 70% de COD, y del 60% del ThO o de la producción teórica de CO₂ cuando se trata de pruebas respirométricas, en un periodo de

28 días.

Tabla II. Pruebas propuestas por la OCDE para evaluar la biodegradabilidad.

<i>DESCRIPCIÓN</i>	<i>OCDE</i>	<i>ISO</i>	<i>US-EPA</i>	<i>ECB</i>
Pruebas de biodegradabilidad inmediata				
Prueba de AFNOR modificada	301A	7827	835-3110	C4-A
Prueba de Sturm modificada	301B	9439	835-3110	C4-C
Prueba MITI I modificada	301C	-	835-3110	C4-F
Prueba en frasco cerrado	301D	10707	835-3110	C4-E
Prueba modificada de detección de la OCDE	301E	7827	835-3110	C4-B
Prueba de respirometría manométrica	301F	9408	835-3110	C4-D
Prueba de desprendimiento de CO ₂ en recipiente cerrado	310	14593	835-3120	-
Pruebas de biodegradabilidad intrínseca				
Prueba SCAS modificada	302A	9887	835-3210	C12
Prueba de Zahn-Wellens modificada	302B	9888	835-3200	C9
Prueba MITI II modificada	302C	-	-	-
Prueba CONCAWE	302D	-	-	-
Pruebas de simulación				
Prueba de simulación de tratamiento aerobio con unidades de lodos activados	303A	11733	-	70
Prueba de simulación de tratamiento aerobio con biomasa fija	303B	-	-	-
Prueba de biodegradabilidad intrínseca en suelos	304A	14239	835-3300	-
Prueba de biodegradabilidad en agua marina	306	-	835-3160	-
Prueba de transformación aerobia y anaerobia en suelos	307	-	-	C23
Prueba de transformación aerobia y anaerobia en sedimentos acuáticos	308	-	-	C24
Prueba de mineralización aerobia en agua superficial	309	14592	-	-
Prueba de producción de biogás a partir de lodo anaerobio diluido	311	11734	-	-

ISO: International Organization for Standardization

US EPA: Environmental Protection Agency

ECB: European Chemicals Bureau

Fuente: Vázquez-Rodríguez GA, Beltrán HRI (2004)

La biodegradabilidad se reporta graficando el porcentaje de degradación en función del tiempo, e indicando la duración de la fase de latencia, la cual se define arbitrariamente como el tiempo necesario para alcanzar una biodegradación de 10%, el tiempo de vida media, definido como el tiempo transcurrido para obtener una degradación del 50% y el porcentaje de degradación obtenido al término del periodo de prueba. (Figura 3).^{2, 12}

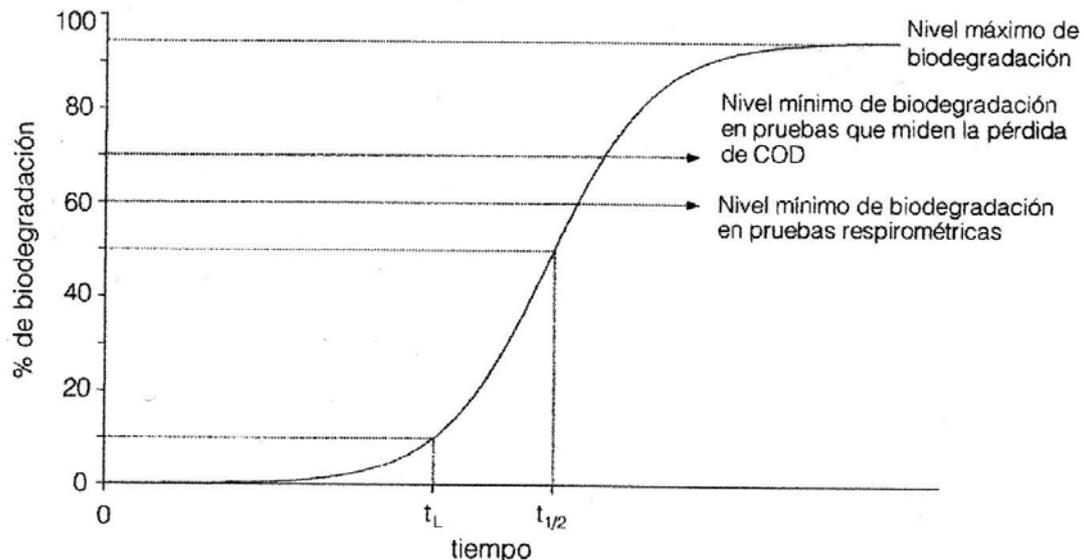


Figura 3. Grafica de un reporte de biodegradación.

Fuente: Vázquez-Rodríguez GA, Beltrán HRI. (2004).

En la tabla III se muestran las condiciones experimentales de las pruebas de biodegradabilidad inmediata de la OCDE. Sus características particulares se revisan a continuación:

301 A. Prueba de AFNOR modificada. Requiere del empleo de un analizador de carbono orgánico y se realiza en 28 días.²

301 B. Prueba de Sturm modificada. Evalúa la producción de dióxido de carbono atrapándolo en una solución alcalina de hidróxido de bario o hidróxido de sodio al 0,0125 M, en tres frascos lavadores y determinando la alcalinidad residual por titulación con ácido clorhídrico.²

301 C. Prueba respirométrica. Es el método propuesto por el MITI (Ministry of International Trade and Industry) en Japón. Se basa en la medida de la DBO y el análisis de compuestos residuales como COD durante la biodegradación. Requiere del empleo de un respirómetro automatizado que produce oxígeno electrolíticamente y mide su consumo de forma manométrica en ausencia de CO_2 . Requiere la determinación inicial y final del compuesto a evaluar para determinar la biodegradabilidad primaria.²

Tabla III. Condiciones experimentales de las pruebas de biodegradabilidad inmediata de la OCDE.

Prueba	Descripción	Fuente del inóculo	Inóculo (células/L)	Compuesto de prueba (mg/L)	Recomendable para compuestos		
					Poco solubles	Volátiles	Absorbibles
301 A	Prueba en matraz agitado seguimiento de la pérdida de COD	Efluente secundario, extracto de suelo, agua superficial o lodos activados.	$10^7 - 10^8$	10-40 (mg COD/L)	-	-	+/-
301 B	Prueba respirométrica en un dispositivo que captura el CO ₂ producido	Efluente secundario, extracto de suelo, agua superficial o lodos activados.	$10^7 - 10^8$	10-20 (mg COD/L)	+	-	+
301 C	Prueba respirométrica en un medidor de DBO y determinación de sustancia.	Lodos precultivados con peptona y glucosa, obtenidos de 10 muestras diferentes.	$10^7 - 10^8$	100	+	+/-	+
301 D	Prueba respirométrica en un medidor de DBO	Efluente secundario, agua superficial.	10^5	10-40 (mg COD/L)	+/-	+	+
301 E	Prueba en matraz agitado seguimiento de la pérdida de COD	Efluente secundario	$10^4 - 10^6$	2-10	-	-	+/-
301 F	Prueba de Respirometría manométrica. Consumo de O ₂ .	Efluente secundario, extracto de suelo, agua superficial o lodos activados	$10^7 - 10^8$	100	+	+/-	+
310	Prueba respirométrica con seguimiento del CO ₂ en fase líquida o gaseosa.	Efluente secundario, extracto de suelo, agua superficial o lodos activados	$10^7 - 10^8$	10-20 (mg COD/L)	+	+	+

+ Recomendable, - no recomendable.

Fuente: Vázquez-Rodríguez GA, Beltrán HRI. (2004).

301 D. Prueba en botella cerrada. Es el método de determinación de la DBO tradicional, pero con un tiempo final de 28 días para evaluar el consumo de oxígeno. Es necesaria la determinación del consumo teórico de oxígeno (ThO), en compuestos fácilmente biodegradables su disminución será mayor al 60%.²

El ThO se determina de acuerdo a las siguientes ecuaciones:^{2,9}

Considerando la fórmula empírica de nuestro compuesto como:



El consumo teórico de oxígeno si no hay nitrificación es calculado por:

$$ThO_{NH_3} = \frac{16 [2c + 1/2(h-cl+3n) + 3s + 5/2p + 1/2na - o] \text{ mg/mg}}{\text{Peso molecular}}$$

Si hay nitrificación como:

$$ThO_{NO_3} = \frac{16 [2c + 1/2 (h-cl) + 5/2n + 3s + 5/2p + 1/2na - o] \text{ mg/ mg}}{\text{Peso molecular}}$$

301 E. Prueba de detección de la OCDE. El compuesto es disuelto en un medio mineral fortificado con elementos traza y vitaminas. Se adiciona manganeso, boro, zinc, nitrógeno, hierro y extracto de levadura. Evaluando la disminución del COD en un periodo de 28 días.^{2,9}

301 F. Prueba de respirometría manométrica. La muestra es agitada en un frasco cerrado por 28 días. El consumo de oxígeno es determinado midiendo la cantidad de oxígeno, producido electrolíticamente, requerido para mantener constante el volumen de gas en el matraz del respirómetro donde es absorbido el CO₂ con hidróxido de potasio. Es necesario el cálculo del ThO.²

310. Desprendimiento de CO₂ en frasco cerrado. Se lleva a cabo en recipientes cerrados, en los que se deja un volumen determinado de aire (headspace). Durante y al final de la incubación, se emplean botellas de réplica para determinar el carbono inorgánico resultante de la mineralización, presente en el aire y en el líquido después de añadir un ácido o una base respectivamente.^{2,9}

3.1.4.2. Pruebas de biodegradabilidad intrínseca

Las pruebas de biodegradabilidad intrínseca se desarrollan bajo condiciones ambientales más favorables, sobre todo en lo que concierne a la duración del ensayo y al mantenimiento de la viabilidad del inóculo.^{2, 12}

La OCDE ha normalizado cuatro pruebas de biodegradabilidad intrínseca en medio aerobio: los ensayos SCAS, Zahn-Wellens, MITI II y Concawe, en la tabla IV se muestran las condiciones experimentales de estas pruebas.

Tabla IV. Condiciones experimentales de las pruebas de biodegradabilidad intrínseca.

Prueba	Descripción	Fuente del inóculo	Inóculo (g SST/L)*	Compuesto de prueba
302 A	Prueba semi continua con seguimiento del COD	Lodos activados y Aguas residuales urbanas	1-4	20 mg COD/L
302 B	Prueba discontinua con seguimiento del COD o DQO	Lodos activados lavados	0.2-1	50-100 mg COD/L
302 C	Prueba respirométrica en un medidor de DBO	Lodos precultivados con peptona y glucosa	0.1	30 mg/L
302 D	Prueba en recipientes cerrados con seguimiento del Carbono inorgánico producido.	Suelo y lodos activados	0.05	20 mg COD/L

* Contenido de Sólidos Suspendidos Totales en la mezcla resultante de inóculo y solución muestra.
Fuente: Vázquez-Rodríguez GA, Beltrán HRI. (2004).

A continuación una breve revisión de sus fundamentos.

302 A. Prueba SCAS modificada. El método semi continuo de lodos activados (Semi Continuos Activated Sludge, SCAS) es una adaptación del procedimiento de la Asociación de Jabones y Detergentes para evaluar la biodegradación primaria del alquil bencen sulfonato. El método involucra la exposición de la sustancia química a relativamente altas concentraciones de microorganismos durante un largo periodo de prueba (posiblemente varios meses). La viabilidad de los microorganismos se mantiene durante este periodo por adición diaria de un efluente doméstico sedimentado.^{2, 9, 12}

Son depositados lodos activados (sólidos totales, 2.5 g/L) en la unidad de aireación, el compuesto prueba (COD 50-400 mg/L) y un efluente doméstico sedimentado son adicionados y la mezcla es aireada por 23 horas. La aireación es entonces detenida, se permite la sedimentación de los lodos y el líquido sobrenadante es removido y analizado para COD. El efluente remanente en la cámara de aireación es entonces mezclado con otra

alícuota de compuesto prueba y efluente, y el ciclo se repite. La duración de este procedimiento de llenado y vaciado deberá ser de al menos 12 semanas, para compuestos que exhiban una baja biodegradación.²

La biodegradación se establece por la determinación del carbono orgánico disuelto (COD) en el licor sobrenadante. Este valor es comparado con el determinado para el licor obtenido de un control, dosificado solamente con efluente sedimentado.

El COD en el licor sobrenadante de las unidades de prueba y de las unidades de control es graficado contra el tiempo. Cuando es alcanzada la biodegradación el nivel encontrado en la prueba se aproximará al encontrado en el control. Una vez que la diferencia entre los dos niveles sea constante durante tres mediciones consecutivas, son hechas tres mediciones adicionales y el porcentaje de biodegradación se calcula por la fórmula:

$$\% \text{ Biodegradación} = \frac{100 [O_T - (O_t - O_c)]}{O_T}$$

Donde:

O_T : Concentración del compuesto a evaluar como carbón orgánico adicionado al efluente sedimentado al inicio del periodo de aireación.

O_t : Concentración de COD del licor sobrenadante en las unidades de prueba al final del periodo de aireación.

O_c : Concentración de COD en el licor sobrenadante en las unidades de control.

El nivel de biodegradación es por lo tanto el porcentaje de eliminación del carbono orgánico.

Los compuestos evaluados con un resultado mayor a 20% de pérdida de COD pueden ser reportados como inherentemente biodegradables, mientras que pérdidas mayores al 70% del COD son evidencia de biodegradabilidad última o mineralización.^{2, 12}

El procedimiento SCAS también puede ser empleado para producir inóculos aclimatados para ser usados en otras pruebas.

Este método es recomendable para diferenciar entre biodegradabilidad pobre y persistencia, pero no simula las condiciones presentes comúnmente durante el tratamiento de aguas residuales.

Debido a su prolongada duración (hasta 6 meses) y al contacto continuo con el efluente, que funge a la vez como inóculo y fuente alterna de carbono, esta es una prueba muy adecuada para la determinación de la biodegradabilidad intrínseca.⁹

302 B. Prueba modificada de Zhan-Wellens. La prueba original de Zahn-Wellens fue adoptada en 1981 como la Guía OECD 302 B para determinar la biodegradabilidad inherente. Las últimas propuestas fueron hechas por Suiza y Alemania para modificar este procedimiento uniendo elementos contenidos en una prueba desarrollada por EMPA (Laboratorios Suizos Federales para Investigación y Prueba de Materiales), provocando que esta cambiara de nombre.^{2, 9, 15}

La versión fusionada de la prueba fue después modificada con respecto al medio mineral. El medio retenido es idéntico al empleado en los métodos de reducción de COD, desprendimiento de CO₂ y respirometría manométrica reseñados en la guía 301 de la OECD para determinación de la biodegradabilidad inmediata (adoptado en 1992).^{2, 15}

El propósito de esta prueba es evaluar la biodegradabilidad potencial de sustancias orgánicas no volátiles y solubles en agua cuando son expuestas a concentraciones relativamente altas de microorganismos en una prueba estática. En este método, la medida de la concentración del COD o la DQO son usados para determinar la degradación final de la sustancia a evaluar.

La adsorción física en los sólidos suspendidos puede tener lugar y se considera en la interpretación de los resultados. La sustancia a ser estudiada es empleada en concentraciones correspondientes a valores de COD en el rango de 50 a 400 mg/L o valores de DQO en el rango de 100 a 1 000 mg/L.

Lodos activados, nutrientes minerales y el material a evaluar como la única fuente de carbono son cultivados en una solución acuosa contenida en un recipiente de uno a cuatro litros equipado con un agitador y un aireador.

Con la finalidad de asegurar la capacidad funcional de los lodos activados, deberá ser corrida en paralelo una prueba usando un compuesto de referencia con cada serie; para este propósito son recomendados etilenglicol, dietilenglicol, lauril sulfonato de sodio o anilina. La biodegradabilidad de estos compuestos deberá alcanzar al menos 70 % en 14 días.^{2, 15}

La mezcla es agitada y aireada a 20-25 °C bajo iluminación difusa o en un cuarto oscuro por más de 28 días. El proceso de degradación es monitoreado por la determinación de la DQO o el COD en la solución filtrada diariamente o a intervalos de tiempo apropiados.

La proporción de DQO o COD eliminada después de cada intervalo contra

el valor obtenido tres horas después del inicio es expresada como el porcentaje de biodegradación y sirve como la medida de la degradación en ese intervalo.

La cantidad de degradación resultante al final de la prueba es reportada como la “Biodegradabilidad en la prueba de Zahn-Wellens”:

$$D_t = 1 - \frac{(C_t - C_B)}{(C_A - C_{BA})}$$

Donde:

D_t : Biodegradación en el tiempo t.

C_t : El valor de la DQO en la mezcla de prueba al tiempo de muestreo t.

C_B : El valor de la DQO en el testigo al tiempo de muestreo t.

C_A : El valor de la DQO en la mezcla prueba medido tres horas después del inicio de la prueba.

C_{BA} : El valor de la DQO en el testigo medido tres horas después de iniciada la prueba.

El resultado es graficado contra el tiempo para obtener la curva de biodegradación. La adaptación puede ser claramente reconocida en esta curva. Si se desea un conocimiento mas detallado del comportamiento del lodo adaptado, el mismo lodo activado puede ser expuesto una vez más al compuesto de prueba.^{2, 9, 15}

302 C. MITI II modificada. El propósito es medir la DBO y analizar los residuos de la sustancia de prueba para evaluar la biodegradabilidad inherente de sustancias químicas que han resultado de baja biodegradabilidad por el método MITI I.^{2, 9}

Permite evaluar la biodegradabilidad de sustancias insolubles en agua por pulverización y de sustancias volátiles enfriando las paredes del frasco analizador.²

Sin embargo, al igual que la prueba inmediata MITI I, especifica un protocolo de preparación del inóculo muy complicado, que precisa la mezcla de 10 muestras de origen natural (suelo, agua superficial y lodos activados) de diferentes regiones geográficas y su posterior precultivo con peptona y glucosa en forma semi-continua durante al menos 30 días.

Es necesario el empleo de un equipo automatizado que mide el consumo de oxígeno en frascos cerrados (un respirómetro). Durante el periodo de prueba, 28 días, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es medida periódicamente por un DBO-metro.

El principio de funcionamiento del equipo es el siguiente:²

La solución contenida en la botella de cultivo es agitada por medio de un agitador magnético. Cuando la incubación progresa, el oxígeno disuelto en el líquido será consumido. El oxígeno contenido en el espacio en la botella de cultivo es disuelto en el líquido, resultando la generación de CO₂. Como este CO₂ es absorbido por hidróxido de sodio, la presión parcial del oxígeno y la presión total en la botella decrecen.

Esta caída de presión es detectada y convertida en una señal eléctrica por medio de un manómetro y es amplificada para operar un circuito eléctrico. Simultáneamente es generado electrolíticamente oxígeno, por corriente constante, de una solución de ácido sulfúrico y cobre contenida en una botella electrolítica.

Este oxígeno es administrado a la botella de cultivo y la restauración de la presión es detectada por el manómetro, apagando el circuito y deteniendo la electrólisis.

El espacio interno en la botella de cultivo siempre mantiene una presión constante de oxígeno y el oxígeno consumido es proporcional al oxígeno electrolítico producido lo que hace posible graficar su consumo en función del tiempo.

Se recomienda el empleo de una sustancia de referencia como lo es la anilina, acetato de sodio o benzoato de sodio, como control del inóculo.

Si la degradación calculada no excede el 40 % después de 7 días y 65 % después de 14 días de iniciada la prueba, esta se invalida.

La degradación se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Degradación} = \frac{\text{DBO} - \text{B}}{\text{ThO}} \times 100$$

DBO: demanda bioquímica de oxígeno.

B : Consumo de oxígeno experimental.

ThO : Consumo Teórico de oxígeno.

302 D. Prueba CONCAWE (Conservation Clean Air and Water in

Europe). Este método está basado en el método ISO 14593 “Prueba de biodegradación de dióxido de carbono en headspace” y es particularmente empleado para evaluar materiales insolubles en agua y/o volátiles.¹²

La sustancia prueba es incubada en un medio mineral que ha sido inoculado con una población mixta de microorganismos, para asegurar el potencial degradativo del inóculo, este es pre-expuesto a la sustancia prueba.

La prueba se realiza en frascos sellados con una cantidad de aire (headspace) que sirve como reservorio de oxígeno para la biodegradación aeróbica. El desprendimiento de CO₂ de la biodegradación última de la sustancia es determinado midiendo el carbono inorgánico producido en los frascos y comparado con el producido en blancos que contienen únicamente medio inoculado.¹²

3.1.4.3. Pruebas de simulación

Estas pruebas son recomendadas para la determinación de la biodegradabilidad última de compuestos bajo condiciones que simulan el tratamiento en una planta de lodos activados. El primer método recomendado fue originalmente aplicado para la determinación de biodegradabilidad de agentes de actividad superficial (detergentes).^{2,9}

El ensayo 303 A de la OECD que reproduce una planta de tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados, es la prueba de simulación más utilizada.

Dos unidades de lodos activados de operación continua a escala de laboratorio son operadas en paralelo (Fig. 4).

El paralelismo es conseguido mediante un proceso de trans-inoculación. El compuesto prueba es adicionado a una agua residual sintética a base de peptona en una unidad, mientras que la otra es solamente alimentada con el agua residual sintética.²

Los valores de COD o DQO son medidos en ambos efluentes. La diferencia entre estos valores es debida a la no degradación o degradación parcial del material prueba. Las condiciones experimentales empleadas son: concentración del compuesto prueba 20 mg COD/L, tiempo de retención hidráulico 3 a 6 horas y contenido de sólidos totales en el tanque de aireación de lodos activados de aproximadamente 2 500 mg/L.

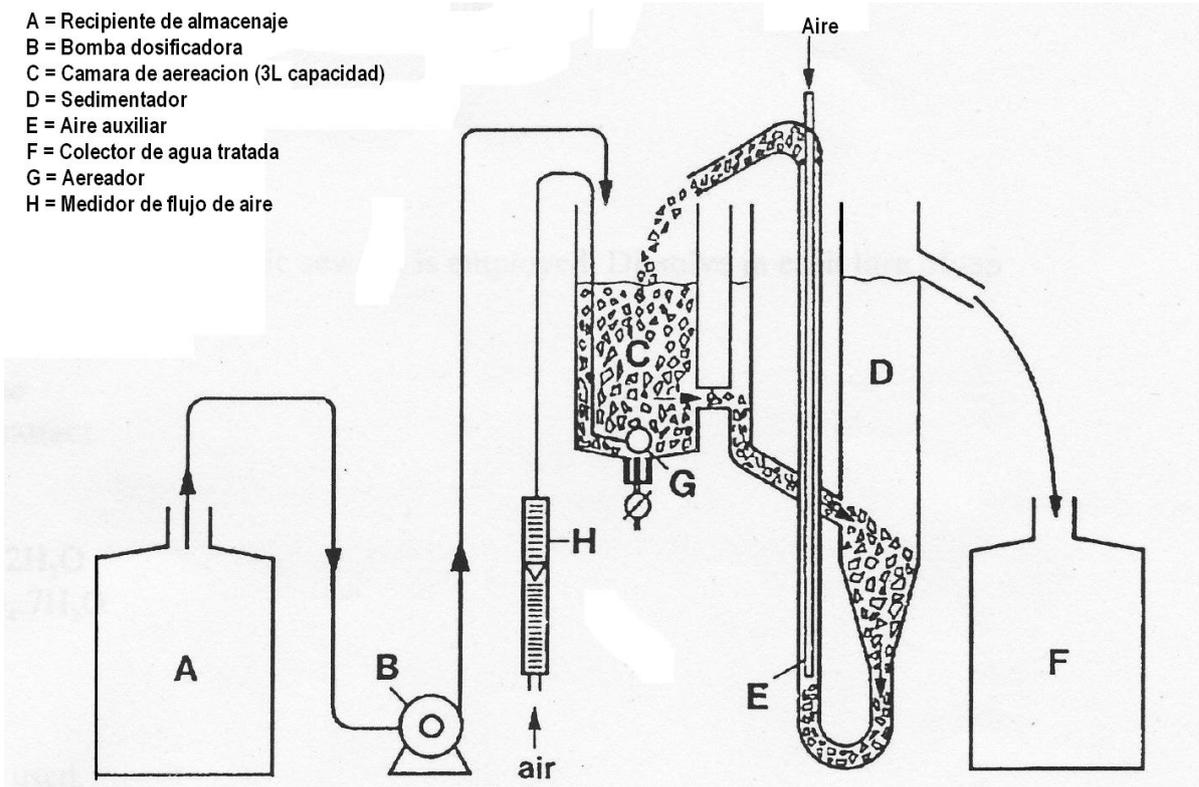


Figura 4. Diagrama del equipo recomendado para la prueba 303 A.

Fuente: Organización for Economic Cooperación and Development. Guideline for Testing of Chemicals. (1999).

La degradación es expresada como el porcentaje de COD o DQO removido dentro del tiempo de retención hidráulica con respecto al compuesto prueba.

Un inconveniente de la prueba es que utiliza concentraciones muy elevadas con respecto a las que suelen encontrarse en la mayoría de las plantas de tratamiento, lo que conduce a cinéticas y mecanismos de biodegradación diferentes a los que ocurren en el trabajo cotidiano.²

La OECD ha normalizado otras pruebas de simulación como:

La prueba 304 que está diseñada para evaluar la velocidad de mineralización de compuestos marcados con ¹⁴C en suelos. El método es aplicable a compuestos volátiles o no volátiles, solubles o insolubles que no sean inhibitorios a los microorganismos.²

La prueba 306 que determina la biodegradabilidad en agua marina. Esta prueba estática usa agua marina como medio e inóculo a la vez, y existe en dos variantes: ensayo en matraz agitado que mide el consumo de COD durante 60 días y la prueba de DBO en botella cerrada, con una duración de 28 días.²

3.2. Calidad del agua

El agua es el componente principal de la materia viva, y uno de los compuestos más abundantes en la tierra. Es por esto que su uso es muy variado tanto para sustentar la vida como en diversos procesos industriales.

La calidad del agua es un término relativo y está referido a su composición en la medida en que es afectada por la concentración de sustancias producidas por procesos naturales y actividades humanas. Como tal, es un término neutral que no puede ser clasificado como bueno o malo sin hacer referencia al uso para el cual el agua es destinada.

De acuerdo con lo anterior, tanto los criterios como los estándares y objetivos de calidad de agua variarán dependiendo de si se trata de agua para consumo humano o agua potable, para uso agrícola o industrial, para recreación, para mantener la calidad ambiental, etc.

Los límites tolerables de las diversas sustancias contenidas en el agua potable son normados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Panamericana de la Salud (OPS), y por los gobiernos nacionales, pudiendo variar ligeramente de uno a otro.¹⁶ En México existen las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) que establecen los límites máximos permitidos de acuerdo al destino del agua.^{17, 18, 19, 20, 21}

3.2.1. Parámetros de calidad del agua

Los parámetros de calidad del agua se pueden dividir en cuatro grupos: físicos y organolépticos, químicos, bacteriológicos y radiológicos.^{17, 20, 22}

3.2.1.1. Parámetros físicos y organolépticos

Los parámetros organolépticos son aquellos que se detectan sensorialmente. Para efectos de evaluación, el sabor y olor se ponderan por medio de los sentidos. El color, la turbiedad y los sólidos presentes se determinan por medio de métodos analíticos de laboratorio.²²

El sabor y olor. Son determinaciones subjetivas, para las cuales no existen instrumentos de observación, ni registro, ni unidades de medida. Tienen un interés evidente en las aguas destinadas al consumo humano. El agua adquiere un sabor salado a partir de los 300 mg/L (300 ppm) de cloruros, y un gusto salado y amargo con mas de 450 mg/L (ppm) de sulfatos. El CO₂ libre le da un gusto picante. Trazas de fenoles y otros compuestos orgánicos le confieren un color y sabor desagradables.^{20, 22}

El color. Es la capacidad de absorber ciertas radiaciones del espectro visible. No se puede atribuir a ningún constituyente en exclusiva. El agua pura solo es azulada en grandes espesores. El color afecta estéticamente la potabilidad del agua, puede representar un potencial colorante de ciertos productos cuando se utiliza como material de proceso, y un potencial de espuma para su uso en calderas.²²

Las medidas de color se hacen por comparación con un estándar arbitrario a base de cloruro de cobalto y cloroplatinato de potasio y se expresa en una escala de unidades de platino-cobalto o unidades Hazen.^{22, 23}

La turbiedad. Es la dificultad del agua para transmitir la luz debido a materiales insolubles muy finos en suspensión, que se presentan en aguas superficiales y son difíciles de decantar y filtrar y pueden dar lugar a la formación de depósitos en los ductos o equipos.

La medición se hace por medio de un nefelómetro que mide la intensidad de luz difractada al incidir un rayo luminoso sobre las partículas en suspensión y recogida sobre una celda fotoeléctrica.

Las aguas con valores de 1 unidad de turbidez nefelométrica (UTN), son muy transparentes y permiten ver a su través hasta profundidades de 4 ó 5 metros. Con 10 UTN, la transparencia se acerca al metro de profundidad, por encima de las 100 UTN la transparencia esta por debajo de los 10 cm.²²

Sólidos disueltos totales. O salinidad total, es una medida de la cantidad de materia disuelta en el agua, determinada por la evaporación de un volumen de agua previamente filtrada. Se expresa como unidades de concentración mg/L o ppm.²⁴

Sólidos suspendidos totales. Mide los sólidos no disueltos que pueden ser retenidos por un filtro. Se determinan pesando el residuo que queda en el filtro después de secarlo. Se expresan como mg/L.^{22, 24}

Sólidos totales. Es la suma de los sólidos disueltos y de los sólidos suspendidos.²⁶

3.2.1.2. Parámetros químicos

Son aquellos debidos a elementos o compuestos químicos, que como resultado de investigación científica se ha comprobado causan efectos nocivos a la salud humana. Entre estos se enlistan en las normas de calidad del agua potable:

pH. Es la medida de la concentración de los iones hidronio. Es una medida

de la naturaleza ácida o alcalina del agua.^{22, 25}

Dureza. Es debida a la presencia de sales disueltas de calcio y magnesio. Se expresa como mg/L de carbonato de calcio (CaCO_3). La dureza total o título hidrotimétrico, mide el contenido total de iones calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}).^{22, 24}

Alcalinidad. Es la medida de la capacidad para neutralizar ácidos. Se mide en las mismas unidades que la dureza.²²

Cloruros. El ión cloruro (Cl^-) forma sales muy solubles, suele ir asociado al ión sodio (Na^+) especialmente en aguas muy salinas. El contenido en cloruros afecta la potabilidad del agua y su potencial uso agrícola e industrial.²²

Sulfatos. El ión sulfato (SO_4^{2-}), corresponde a sales de moderadamente solubles a muy solubles, Las aguas dulces contienen de 2 a 150 mg/L y el agua de mar cerca de 3 000 mg/L. No afecta al agua en cantidades moderadas. Algunos cientos de mg/L perjudican la resistencia del hormigón. Industrialmente es importante porque, en presencia de iones calcio, se combina para formar incrustaciones.²²

Nitratos. El ión nitrato (NO_3^-) forma sales muy solubles y bastante estables, aunque en medio reductor puede pasar a nitrito, nitrógeno o aminas. Su presencia en las aguas superficiales, conjuntamente con fosfatos, determinan la eutrofización, que se caracteriza por un excesivo crecimiento de algas.²²

Fosfatos. El ión fosfato (PO_4^{3-}), en general forma sales muy poco solubles y precipita fácilmente como fosfato cálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).²²

Fluoruros. El ión fluoruro (F^-) corresponde a sales de solubilidad en general muy limitada. Tiene un efecto benéfico sobre la dentadura si se mantiene su contenido en alrededor de 1 mg/L, y por ese motivo se añade a veces al agua potable.²²

Fenoles. Los compuestos fenólicos afectan la potabilidad del agua, produciendo olores y gustos muy desagradables, especialmente después de su cloración.²²

Detergentes. Son ligeramente tóxicos pero presentan problemas de formación de espuma y pueden afectar la oxigenación del agua causando la eutrofización de esta. Se miden por medio de la prueba de sustancias

activas al azul de metileno (SAAM), pero únicamente los de carácter aniónico.²²

Sodio. El ión sodio (Na^+), corresponde a sales de solubilidades muy elevadas y difíciles de precipitar. Suele estar asociado al ión cloruro.²²

Calcio. El ión calcio (Ca^{2+}), forma sales desde moderadamente solubles a muy insolubles. Precipita fácilmente como carbonato de calcio (CaCO_3). Contribuye de forma muy especial a la dureza del agua y a la formación de incrustaciones.²²

Magnesio. El ión magnesio (Mg^{2+}), tiene propiedades similares a las del ión calcio. Cuando el contenido en agua alcanza varios centenares de mg/L le da un sabor amargo y propiedades laxantes, que pueden afectar su potabilidad. Contribuye con la dureza del agua y a pH alcalino puede formar incrustaciones.²²

Hierro. Puede presentarse como ión ferroso (Fe^{2+}) o en la forma mas oxidada de ión férrico (Fe^{3+}). Su presencia puede afectar la potabilidad y, en general, es un inconveniente en las aguas industriales por dar lugar a depósitos e incrustaciones.²²

Metales tóxicos. Los más comunes son arsénico, bario, cadmio, cromo, mercurio, plomo y selenio. Todos deben ser estrictamente controlados en el origen de la contaminación.^{22, 23}

3.2.1.3. Parámetros bacteriológicos

Son aquellos debidos a microorganismos nocivos a la salud humana. Para efectos de control sanitario se determina el contenido de indicadores generales de contaminación microbiológica, específicamente organismos coliformes totales y organismos coliformes fecales. La presencia de microorganismos no tiene importancia en muchos procesos industriales, pero la industria alimentaria requiere agua de calidad potable. Menos de 1 NMP (número más probable) por 100 mL.^{20, 22}

3.2.1.4. Parámetros radiológicos

Son aquellos resultantes de la presencia de elementos radiactivos. Al estar las fuentes de suministro sometidas a un creciente peligro de contaminación, las autoridades han establecido valores mínimos de aceptación. Suelen medirse las actividades alfa y beta mediante contadores de centelleo. Su importancia es sanitaria.²²

3.2.1.5. Parámetros indicativos de contaminación orgánica

Tanto la actividad natural como la humana contribuyen a la contaminación orgánica de las aguas naturales. La descomposición de la materia animal y vegetal da lugar a ácidos húmico y fúlvico y a materias colorantes. Los residuos domésticos contienen materias orgánicas en descomposición, detergentes y microorganismos. Los vertidos industriales contienen múltiples compuestos orgánicos, tales como grasas y aceites. De la actividad agrícola resultan residuos de herbicidas y plaguicidas.²²

La concentración de estos compuestos no es constante, y varía por múltiples causas. Es por esto que se emplean parámetros de medida menos específicos que permiten el control de las descargas, como son:^{22, 26}

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). Mide la cantidad de oxígeno consumido en la eliminación de la materia orgánica del agua, mediante procesos biológicos aerobios. En general se refiere al oxígeno consumido en 5 días (DBO_5) y se mide en ppm de O_2 . En las aguas superficiales su contenido es muy variable. En las aguas domésticas se sitúa entre 100 y 350 ppm. En las aguas residuales industriales su concentración es totalmente dependiente del proceso de fabricación, pudiendo alcanzar varios miles de ppm. Su eliminación se realiza por procesos fisicoquímicos y biológicos aerobios. Una DBO_5 de 50 ppm de O_2 es indicativa de un proceso microbiológico de tratamiento de aguas residuales eficiente.^{9, 22, 26, 27}

Demanda Química de Oxígeno (DQO). Mide la capacidad de consumo de un oxidante químico, por las materias oxidables contenidas en el agua, y también se expresa en ppm de O_2 . Indica el contenido de materias orgánicas oxidables y otras sustancias reductoras, tales como ión ferroso o amonio. Las aguas no contaminadas tienen valores de DQO de 1 a 5 ppm, o algo superiores. Las aguas residuales domésticas suelen contener entre 250 y 600 ppm. En las aguas residuales industriales la concentración depende del proceso de fabricación de que se trate. La relación entre los valores de la DBO y la DQO es un indicativo de la biodegradabilidad de la materia contaminante. En aguas residuales un valor de la relación DBO/DQO menor a 0,2 se interpreta como un vertido de tipo inorgánico y si es mayor que 0,6 como orgánico.^{9, 22, 26, 28}

Carbono Orgánico Total (COT). Es una medida del contenido de materia orgánica del agua, es aplicable especialmente a pequeñas concentraciones. La presencia de carbón orgánico no corresponde a los valores de DQO o DBO por eso el COT es una expresión más directa y conveniente del carbono orgánico presente y no provee el mismo tipo de información. Si

puede establecerse una relación empírica constante entre los valores de COT y DQO o DBO, entonces el valor de COT puede ser empleado para estimar su correspondiente valor de DQO o DBO, haciendo el análisis más rápido.

Para medirlo se emplean equipos analizadores de COT que oxidan el carbono orgánico a dióxido de carbono en presencia de un catalizador y este se mide en un analizador infrarrojo. El aumento de su uso se debe a la rapidez de la realización del análisis.^{22, 23, 26}

En la tabla V se enlistan los límites máximos permitidos de contaminantes en aguas residuales y los parámetros de calidad de agua reciclada para uso en riego.

Tabla V. Límites máximos permisibles para contaminantes básicos expresados en las Normas ecológicas mexicanas.

Parámetros (mg/L)	NOM-001-ECOL-1996	NOM-002-ECOL-1996	NOM-003-ECOL-1997
Temperatura °C	40	N. A.	N. A.
Grasas y aceites	15	75	15
Materia Flotante	Ausente	N. A.	N. A.
Sólidos sedimentables (mL/L)	1	N. A.	N. A.
Sólidos suspendidos totales	75	N. A.	20
DBO	75	75	20
Nitrógeno total	40	N. A.	N. A.
Fósforo total	20	N. A.	N. A.
Arsénico	0.2	0.75	N. A.
Cadmio	0.2	0.75	N. A.
Cianuro	2	1.5	N. A.
Cobre	4	15	N. A.
Cromo	1	0.75	N. A.
Mercurio	0.01	0.015	N. A.
Plomo	N. A.	1.5	N. A.
Zinc	N. A.	9	N. A.
Coliformes fecales (NMP/100 mL)	N. A.	N. A.	240
Huevos de Helminto (h/L)	N. A.	N. A.	1

N.A. No aplica

NOM-001-ECOL-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

NOM-002-ECOL-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.

NOM-003-ECOL-1997. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público.

3.2.2. Determinaciones relacionadas

Para el desarrollo de la prueba de biodegradabilidad intrínseca de Zhan-Wellens (OECD 302 B) es necesario el revisar los fundamentos de los métodos relacionados con ésta, como son las determinaciones de: sólidos y sales disueltas, pH, oxígeno disuelto, temperatura y demanda química de oxígeno.

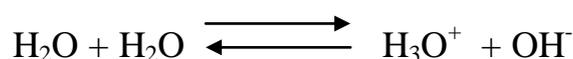
3.2.2.1 Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas residuales

Las aguas naturales o residuales con altos contenidos de sólidos suspendidos o sales disueltas no pueden ser utilizadas en forma directa por las industrias o por las plantas potabilizadoras. De ello se deriva el interés por determinar en forma cuantitativa estos parámetros.²⁴

El principio de este método se basa en la medición cuantitativa de los sólidos y sales disueltas así como la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales y residuales, mediante la evaporación y calcinación de la muestra filtrada o no, en su caso, a temperaturas específicas, en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.^{23, 24}

3.2.2.2. Determinación de pH

En el concepto de Bronsted-Lowry de ácidos y bases, un ácido es un donador de protón y una base un receptor de protón. En disolución acuosa el propio disolvente es un ácido y/o una base, sufriendo una auto ionización o autoprotólisis:



El agua es por tanto, un disolvente anfiprótico. El ión hidronio, H_3O^+ , es la representación más sencilla de un protón hidratado, por simplificación se suele escribir H^+ en lugar de H_3O^+ . La iónización del agua se representa de forma simplificada por:



Como consecuencia de su escasa iónización, el agua presenta una conductividad pequeña, aunque medible y ciertas propiedades características de sus iones. La constante de equilibrio (o de iónización) del agua tiene un valor, a 25 °C, de:

$$K_{\text{i3n}} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} = 1.82 \times 10^{-16}$$

En agua y en disoluciones acuosas diluidas $[\text{H}_2\text{O}]$, la concentraci3n de agua en moles/L, es constante y a 25 °C tiene un valor num3rico de:

$$997/18,0 = 55,3$$

Combinando esta constante con la constante de i3nizaci3n del agua, se obtiene:

$$K_{\text{H}_2\text{O}} = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 55,3 (1,82 \times 10^{-16}) = 1,01 \times 10^{-14}$$

$K_{\text{H}_2\text{O}}$ recibe el nombre de producto i3nico del agua y se emplea generalmente como $1,0 \times 10^{-14}$. Esta relaci3n indica que en agua pura, a 25 °C: $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = (K_{\text{H}_2\text{O}})^{1/2} = 1,0 \times 10^{-14}$, y que en disoluciones acuosas la concentraci3n de i3n hidr3geno es inversamente proporcional a la de i3n hidroxilo. Si la de uno de los iones aumenta, la del otro tiene que disminuir manteni3ndose $K_{\text{H}_2\text{O}}$ en su valor constante: $1,0 \times 10^{-14}$.

Los peque1os n3meros que representan las concentraciones que existen de iones hidr3geno e hidroxilo en el agua son inc3modos para escribir y expresar. En 1909 S3rensen introdujo el t3rmino pH, que se define como el logaritmo negativo de la concentraci3n del i3n hidronio:²⁵

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

De esta definici3n no puede inferirse directamente el procedimiento de medici3n de esta magnitud debido a que no es posible determinar de manera experimental la actividad de iones individuales.

El m3todo se fundamenta en la existencia de una diferencia de potencial entre las dos caras de una membrana de vidrio, expuestas a disoluciones acuosas que difieren en su valor de pH. En primera aproximaci3n, a temperatura constante, la magnitud de esta diferencia de potencial es directamente proporcional a la diferencia de pH entre dichas disoluciones.²⁵

En este m3todo, se efect3a la determinaci3n electrom3trica del pH con base en la definici3n operacional antes expuesta. Sin embargo, en lugar de utilizar el electrodo de hidr3geno, se utiliza el electrodo de membrana de vidrio y un electrodo comercial de referencia. Debido a que el electrodo de vidrio y los electrodos de referencia comerciales tienen un comportamiento imperfecto, es preciso calibrar el dispositivo de determinaci3n del pH con

dos disoluciones patrón. Para ello, se sumergen los electrodos sucesivamente en dos disoluciones patrón operacional de pH, P_1 y P_2 , a la misma temperatura que la disolución problema y seleccionadas de forma que el pH esperado para la disolución problema, $pH(X)$, satisfaga la relación:

$$pH(P_1) < pH(X) < pH(P_2)$$

La calibración consiste en efectuar los ajustes apropiados del medidor de pH para que las lecturas proporcionadas por dicho equipo, sean las mismas que los valores de pH asignados a los patrones operacionales utilizados. Este procedimiento de calibración permite compensar las deficiencias de respuesta del electrodo de vidrio.^{25, 29}

3.2.2.3. Determinación de la temperatura

La temperatura es una medida del valor medio de la energía cinética de las moléculas que posee un cuerpo, es una magnitud que determina el sentido en que tienen lugar los intercambios caloríficos entre los cuerpos; así cuando dos cuerpos se ponen en contacto la energía calorífica no pasa del que posee mas calor al que posee menos, sino del que tenga más temperatura al que tenga menos.^{30, 31}

Para cuantificar la temperatura son necesarias las escalas de temperatura. En una escala de temperatura, se definen dos puntos fijos, que corresponden a dos sucesos claramente observables, dependientes de la temperatura y fácilmente reproducibles. Por ejemplo son puntos fijos el punto de congelación y de ebullición del agua a 1 atmósfera de presión: 101,325 kPa, la diferencia de temperatura entre los dos puntos fijos se le llama intervalo fundamental. Las unidades de temperatura se definen dividiendo el intervalo fundamental en cierto número de partes iguales.

En 1742 el astrónomo sueco Anders Celsius ideó una escala de temperatura basada en los dos puntos fijos: A) la temperatura a presión normal, del hielo en equilibrio con agua, que se define como cero grados Celsius ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$). B) la temperatura a presión normal, del agua en equilibrio con su vapor, que se define como 100 grados Celsius ($100\text{ }^{\circ}\text{C}$). La escala Celsius se llamó hasta 1948 escala Centígrada: dividida en cien grados.³¹

Una de las primeras escalas de temperatura, todavía empleada en los países anglosajones, fue diseñada por el físico alemán Gabriel Daniel Fahrenheit en 1714, tomando como punto fijo de cero grados ($0\text{ }^{\circ}\text{F}$) la menor temperatura que pudo lograr en el laboratorio, por medio de una mezcla de hielo y sal. Estableció como punto fijo superior de la escala el de la

temperatura de su propio cuerpo y le atribuyó el de 12 grados. Más tarde el número de grados de esta escala fue multiplicado por ocho para que el tamaño del grado fuera más conveniente. En la escala Fahrenheit, la temperatura de fusión del hielo es de 32 °F y la de ebullición del agua de 212 °F.

En el siglo XIX el matemático y físico británico William Thomson, lord Kelvin, propuso una escala absoluta basada en razonamientos termodinámicos. En esta escala, se propone la existencia del cero absoluto de temperatura, es decir la temperatura teórica mínima alcanzable. A dicha temperatura la energía cinética de los átomos y moléculas es mínima, está situado en -273,15 °C, corresponde a 0 °K, y una diferencia de un grado Kelvin equivale a una diferencia de un grado en la escala Celsius.³¹

El método de prueba normado establece el procedimiento para realizar la medición en el sitio donde se encuentra el agua, y el resultado se expresa en grados Celsius (°C).³²

Las temperaturas elevadas en el agua son indicadores de actividad biológica, química y física, lo anterior tiene influencia en los tratamientos y abastecimientos para el agua, así como en la evaluación limnológica de un cuerpo de agua, por lo que es necesario medir la temperatura como un indicador de la presencia de compuestos contaminantes.^{22,26}

El valor de temperatura es un criterio de calidad del agua para la protección de la vida acuática y para las fuentes de abastecimiento de agua potable, es también un parámetro establecido como límite máximo permitido en las descargas de aguas residuales y una especificación de importancia en los cálculos de balance de energía y de calor de los procesos industriales.³²

El método se fundamenta en las propiedades de la materia de dilatarse o contraerse con los cambios de temperatura ó a propiedades eléctricas y físicas de los materiales con los que se realizará la medición; estas propiedades son siempre las mismas para una temperatura dada lo que permite graduar los instrumentos de medición. La temperatura se mide con un instrumento debidamente calibrado y debe efectuarse en el lugar de muestreo.

El termómetro es el instrumento que usualmente se pone en contacto con la sustancia cuya temperatura se desea conocer hasta que se alcance el equilibrio térmico. Dicho dispositivo, cuando está correctamente calibrado, permite obtener indirectamente el valor de temperatura, midiendo el cambio de alguna propiedad de un constituyente del mismo termómetro que varía

directamente con la temperatura.

Existe una gran variedad de termómetros lo que permite medir prácticamente cualquier temperatura en un amplio margen.

En el termómetro de líquido se introduce una gota de líquido cualquiera, en un recipiente de vidrio, de manera que el líquido pueda dilatarse dentro de un tubo capilar cuando la temperatura aumenta.

Uno de los más utilizados es el termómetro de mercurio, metal que es líquido entre $-38,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $357\text{ }^{\circ}\text{C}$. Suelen utilizarse, sin embargo, termómetros que llevan alcohol etílico, pentano u otros líquidos cuyo punto de congelación es más bajo que el del Mercurio.³⁰

El termómetro de inmersión completa, es un termómetro de líquido en vidrio, diseñado para indicar valores correctos de temperatura cuando el cuerpo completo del termómetro está sumergido en el líquido que se examina.

El termómetro de inmersión parcial. Es un termómetro de líquido en vidrio, diseñado para indicar valores correctos de temperatura cuando el bulbo y una porción definida del vástago están expuestos a la temperatura por medir. El nivel de inmersión que debe coincidir con la superficie libre del cuerpo líquido está indicado por una marca sobre el vástago del termómetro. La porción remanente del vástago se encuentra usualmente expuesta al aire.

3.2.2.4. Determinación del oxígeno disuelto

Los niveles de oxígeno disuelto (OD) en aguas naturales, residuales y residuales tratadas dependen de las actividades químicas, físicas y bioquímicas en los cuerpos de aguas. El análisis de OD es una prueba clave para detectar contaminación de agua y controlar los procesos de tratamiento de agua.^{23, 26, 33}

Existen dos métodos de prueba para la determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales y residuales: el método iodométrico y el método electrométrico con electrodos de membrana.

El método iodométrico es el procedimiento volumétrico más preciso y reproducible para determinar el OD. Se basa en la adición de una disolución de manganeso divalente seguida de una disolución fuertemente alcalina de ioduro-azida de sodio a una muestra de agua contenida en un

frasco de con tapón de vidrio que debe permanecer cerrado.³³

El oxígeno disuelto, OD, rápidamente oxida al hidróxido de manganeso disuelto, en cantidad equivalente, para producir un precipitado de manganeso con valencia más alta. Se acidifica la muestra y los iones ioduro reducen al manganeso a su estado divalente produciéndose yodo en cantidad equivalente al contenido de OD original. El yodo se titula con una disolución normalizada de tiosulfato de sodio. El punto final de la valoración se detecta visualmente con un indicador de almidón.^{25, 33}

En el método electrométrico se emplean los electrodos de membrana sensibles al oxígeno, ya sean galvánicos o polarizados y están constituidos por dos electrodos de metal en contacto con un electrolito soporte, separado de la disolución de muestra por medio de una membrana selectiva.^{23, 26}

La diferencia básica entre el sistema galvánico y el polarizado es que en el primero la reacción en el electrodo ocurre espontáneamente, mientras que en el segundo es necesario aplicar un potencial externo para polarizar el electrodo indicador.

En el cátodo, que usualmente es oro o platino, ocurre la reducción del oxígeno mientras que en el ánodo ocurre la oxidación del metal (plata o plomo).

Generalmente se utilizan membranas de polietileno y fluoro carbono que son permeables al oxígeno molecular y relativamente rugosas.²³

Los electrodos de membrana están disponibles comercialmente en una gran variedad. En todos, la corriente de difusión es directamente proporcional a la concentración de oxígeno molecular, y se puede convertir a unidades de concentración por un proceso de calibración.

Los electrodos de membrana son un excelente método para análisis de OD en aguas contaminadas, aguas altamente coloreadas y efluentes de desecho. Son recomendados para usarse especialmente bajo condiciones en las que no es favorable el uso del método iodométrico.^{23, 26}

3.2.2.5 Determinación de la demanda química de oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO), es usada como una medida del equivalente de oxígeno de la materia orgánica e inorgánica contenida en una muestra que es susceptible de ser oxidada por un oxidante fuerte.^{23, 26, 28}

El método que involucra el uso de dicromato es preferible sobre procedimientos que utilizan otros oxidantes debido a su superior capacidad

oxidante, su aplicabilidad a una gran variedad de muestras, y facilidad de manipulación.^{23, 26}

La oxidación de la mayoría de los compuestos es de 95% a 100% del valor teórico. La piridina y compuestos relacionados resisten la oxidación y los compuestos orgánicos volátiles son oxidados solo en la medida en que estos estén en contacto con el oxidante.

Para niveles mayores de 50 mg/L de DQO se recomienda emplear el método de reflujo abierto o método de titulación.²⁸

Una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos son oxidados con una mezcla de ácido crómico y sulfúrico a ebullición. La muestra se coloca a reflujo en una disolución de ácido fuerte con un exceso conocido de dicromato de potasio. Se calienta a ebullición por un periodo de dos horas. Después de la digestión, el dicromato remanente no reducido se mide por titulación con sulfato ferroso amoniacal para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia oxidable en términos de oxígeno equivalente. El tiempo estándar de 2 horas puede ser reducido si se ha demostrado que en periodos cortos de tiempo se obtiene el mismo resultado.^{23, 28}

3.2.2.6. Prueba de biodegradación de Zahn-Wellens

Una mezcla conteniendo la sustancia prueba, nutrientes minerales y una relativamente gran cantidad de lodos activados es incubada aeróbicamente en medio acuoso a 20-25 °C en la oscuridad o en luz difusa por más de 28 días. Controles en blanco, conteniendo lodos activados y nutrientes minerales pero sin sustancia prueba, son incubados en paralelo.^{2, 34}

El proceso de biodegradación es monitoreado mediante la determinación de carbono orgánico disuelto (COD) o la demanda química de oxígeno (DQO) en muestras filtradas tomadas diariamente o en otros intervalos de tiempo. La proporción de eliminación del COD o DQO corregida por el blanco, después de cada intervalo de tiempo, a el valor inicial de COD o DQO es expresada como el porcentaje de biodegradación en el tiempo de muestreo. El porcentaje de biodegradación es graficado contra el tiempo para mostrar la curva de biodegradación.^{2, 34}

Se pueden emplear análisis específicos de la sustancia prueba si se desea.

Es necesario conocer la solubilidad en agua, presión de vapor de la sustancia prueba y sus propiedades para formar espuma. La estructura

química deberá ser conocida si serán monitoreados los valores de COD. La información de toxicidad de la sustancia prueba a las bacterias es usada para seleccionar las concentraciones apropiadas de prueba y para interpretar resultados que muestren baja biodegradabilidad. La prueba es realizada solamente si la sustancia de prueba no pasa la prueba de biodegradabilidad inmediata. Así, las propiedades físicas e inhibitorias podrán ser conocidas.²

Los productos químicos que sean no-volátiles y solubles en agua al menos 50 mg COD/L podrán ser evaluados por este método, cuando no se adsorban significativamente, no presenten pérdidas por espuma y no inhiban a las bacterias en la concentración evaluada.^{2, 34}

Con la finalidad de asegurar la capacidad funcional de los lodos activados, se realiza una prueba usando un compuesto de referencia evaluado en paralelo con cada serie. Para este propósito son recomendados etilenglicol, dietilenglicol, lauril sulfonato de sodio o anilina. La Biodegradabilidad de estos compuestos deberá alcanzar al menos 70 % en 14 días.^{2, 34}

3.2.3. Marco legal en México

3.2.3.1. Ley de Aguas Nacionales

El empleo, aprovechamiento y uso de los recursos hídricos del país, está regulado por la Ley de Aguas Nacionales. En sus 124 artículos establece las reglas vigentes en la materia, quien administra los recursos, de qué forma, como se organizará y sancionará el uso de los mismos. A continuación un breve resumen de la ley considerando los artículos de interés en cuanto a aguas residuales.³⁵

La Ley de Aguas Nacionales es reglamentaria del Artículo 27 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos en materia de aguas nacionales; es de observancia general en todo el territorio nacional, sus disposiciones son de orden público e interés social y tiene por objeto regular la explotación, uso o aprovechamiento de dichas aguas, su distribución y control, así como la preservación de su cantidad y calidad para lograr su desarrollo integral sustentable.

La autoridad y administración en materia de aguas nacionales y de sus bienes públicos inherentes corresponde al Ejecutivo Federal, quien la ejercerá directamente o a través de la Comisión Nacional del Agua (Conagua).

Administración del agua

Son atribuciones del Secretario del Medio Ambiente y Recursos Naturales:

- I. Proponer al Ejecutivo Federal la política hídrica del país.
- II. Proponer al Ejecutivo Federal los proyectos de ley, reglamentos, decretos y acuerdos relativos al sector.
- III. Fungir como presidente del consejo técnico de la Conagua.
- IV. Suscribir los instrumentos internacionales, que de acuerdo con la Ley sean de su competencia, en coordinación con la Secretaría de Relaciones Exteriores, e instrumentar lineamientos y estrategias para el cumplimiento de los tratados internacionales en materia de aguas.
- V. Expedir las Normas Oficiales Mexicanas en materia hídrica en los términos de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, a propuesta de la Conagua.

Política hídrica nacional

Los principios que sustentan la política hídrica nacional son, entre otros:

- I. El agua es un bien de dominio público federal, vital, vulnerable y finito, con valor social, económico y ambiental, cuya preservación en cantidad, calidad y sustentabilidad es tarea fundamental del Estado y la sociedad, así como prioridad y asunto de seguridad nacional.
- II. La gestión integrada de los recursos hídricos por cuenca hidrológica es la base de la política hídrica nacional.
- III. La gestión de los recursos hídricos se llevará a cabo en forma descentralizada e integrada privilegiando la acción directa y las decisiones por parte de los actores locales y por cuenca hidrológica.
- IV. Los estados, Distrito Federal, municipios, consejos de cuenca, organizaciones de usuarios y de la sociedad, organismos de cuenca y la Conagua, son elementos básicos en la descentralización de la gestión de los recursos hídricos.
- V. La conservación, preservación, protección y restauración del agua en cantidad y calidad es asunto de seguridad nacional, por tanto, debe evitarse el aprovechamiento no sustentable y los efectos ecológicos adversos.
- VI. El agua proporciona servicios ambientales que deben reconocerse, cuantificarse y pagarse, en términos de Ley.
- VII. El aprovechamiento del agua debe realizarse con eficiencia y debe promoverse su reutilización y recirculación.
- VIII. Los usuarios del agua deben pagar por su explotación, uso o aprovechamiento bajo el principio de "usuario-pagador" de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Federal de Derechos.
- IX. Las personas físicas o morales que contaminen los recursos hídricos son

responsables de restaurar su calidad, y se aplicará el principio de que "quien contamina, paga", conforme a las leyes en la materia.

X. Las personas físicas o morales que hagan un uso eficiente y limpio del agua se harán acreedores a incentivos económicos, incluyendo los de carácter fiscal, que establezcan las leyes en la materia.

Prevención y control de la contaminación de las aguas y responsabilidad por daño ambiental

Artículo 86 bis 2. Se prohíbe arrojar o depositar en los cuerpos receptores y zonas federales, en contravención a las disposiciones legales y reglamentarias en materia ambiental, basura, materiales, lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales y demás desechos o residuos que por efecto de disolución o arrastre, contaminen las aguas de los cuerpos receptores, así como aquellos desechos o residuos considerados peligrosos en las Normas Oficiales Mexicanas respectivas. Se sancionará en términos de ley a quien incumpla esta disposición.

Artículo 87. La Conagua determinará los parámetros que deberán cumplir las descargas, la capacidad de asimilación y dilución de los cuerpos de aguas nacionales y las cargas de contaminantes que éstos pueden recibir, así como las metas de calidad y los plazos para alcanzarlas, mediante la expedición de Declaratorias de Clasificación de los Cuerpos de aguas Nacionales, las cuales se publicarán en el Diario Oficial de la Federación, lo mismo que sus modificaciones, para su observancia.

Las declaratorias contendrán:

- I. La delimitación del cuerpo de agua clasificado.
- II. Los parámetros que deberán cumplir las descargas según el cuerpo de agua clasificado conforme a los periodos previstos en el reglamento de esta Ley.
- III. La capacidad del cuerpo de agua clasificado para diluir y asimilar contaminantes.
- IV. Los límites máximos de descarga de los contaminantes analizados, base para fijar las condiciones particulares de descarga.

Artículo 88. Las personas físicas o morales requieren permiso de descarga expedido por la Conagua para verter en forma permanente o intermitente aguas residuales en cuerpos receptores que sean aguas nacionales o demás bienes nacionales, incluyendo aguas marinas, así como cuando se infiltren en terrenos que sean bienes nacionales.

El control de las descargas de aguas residuales a los sistemas de drenaje o alcantarillado de los centros de población, corresponde a los municipios, con el concurso de los estados cuando así fuere necesario y lo determinen

las leyes.

Artículo 88 bis. Las personas físicas o morales que efectúen descargas de aguas residuales a los cuerpos receptores a que se refiere la presente Ley, entre otras obligaciones, deberán:

I. Contar con el permiso de descarga de aguas residuales mencionado en el artículo anterior.

II. Tratar las aguas residuales previamente a su vertido a los cuerpos receptores, cuando sea necesario para cumplir con lo dispuesto en el permiso de descarga correspondiente y en las Normas Oficiales Mexicanas.

III. Hacer del conocimiento de "la Autoridad del agua" los contaminantes presentes en las aguas residuales que generen por causa del proceso industrial o del servicio que vienen operando, y que no estuvieran considerados en las condiciones particulares de descarga fijadas.

IV. Informar a "la Autoridad del agua" de cualquier cambio en sus procesos, cuando con ello se ocasionen modificaciones en las características o en los volúmenes de las aguas residuales contenidas en el permiso de descarga correspondiente.

V. Cumplir con las Normas Oficiales Mexicanas y en su caso con las condiciones particulares de descarga que se hubieren fijado, para la prevención y control de la contaminación extendida o dispersa que resulte del manejo y aplicación de sustancias que puedan contaminar la calidad de las aguas nacionales y los cuerpos receptores.

VI. Operar y mantener por sí o por terceros las obras e instalaciones necesarias para el manejo y, en su caso, el tratamiento de las aguas residuales, así como para asegurar el control de la calidad de dichas aguas antes de su descarga a cuerpos receptores.

Artículo 88 bis 1. Las descargas de aguas residuales de uso doméstico que no formen parte de un sistema municipal de alcantarillado, se podrán llevar a cabo con sujeción a las Normas Oficiales Mexicanas que al efecto se expidan y mediante un aviso por escrito a "la Autoridad del agua".

El control de las descargas de aguas residuales a los sistemas de drenaje o alcantarillado urbano o municipal de los centros de población, que se viertan a cuerpos receptores, corresponde a los municipios, a los estados y al Distrito Federal.

Artículo 92. "La Autoridad del agua" ordenará la suspensión de las actividades que den origen a las descargas de aguas residuales, cuando:

I. No se cuente con el Permiso de Descarga de aguas residuales en los términos de esta Ley.

II. La calidad de las descargas no se sujete a las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes, a las condiciones particulares de descarga o a lo dispuesto en esta Ley y sus reglamentos.

III. Se omita el pago del derecho por el uso o aprovechamiento de bienes nacionales como cuerpos receptores de descargas de aguas residuales durante más de un año fiscal.

Artículo 96 bis 1. Las personas físicas o morales que descarguen aguas residuales, en violación a las disposiciones legales aplicables, y que causen contaminación en un cuerpo receptor, asumirán la responsabilidad de reparar el daño ambiental causado, sin perjuicio de la aplicación de las sanciones administrativas, penales o civiles que procedan, mediante la remoción de los contaminantes del cuerpo receptor afectado y restituirlo al estado que guardaba antes de producirse el daño, o cuando no fuere posible, mediante el pago de una indemnización fijada en términos de ley por la autoridad competente.

La Conagua, con apoyo en el Organismo de Cuenca competente, intervendrá para que se instrumente la reparación del daño ambiental a cuerpos de agua de propiedad nacional causado por extracciones o descargas de agua, en los términos de esta Ley y sus reglamentos.

Infracciones, sanciones y recursos

Artículo 119. La Autoridad del agua sancionará conforme a lo previsto por esta Ley, las siguientes faltas:

I. Descargar en forma permanente, intermitente o fortuita aguas residuales en contravención a lo dispuesto en la presente Ley en cuerpos receptores que sean bienes nacionales, incluyendo aguas marinas, así como cuando se infiltren en terrenos que sean bienes nacionales o en otros terrenos cuando puedan contaminar el subsuelo o el acuífero.

XI. No entregar los datos requeridos por "la Autoridad del agua" o la Procuraduría de Defensa del Ambiente, según el caso, para verificar el cumplimiento de las disposiciones contenidas en esta Ley y en los títulos de concesión, asignación o permiso de descarga, así como en otros ordenamientos jurídicos.

XII. Usar volúmenes de agua mayores que los que generan las descargas de aguas residuales para diluir y así tratar de cumplir con las Normas Oficiales Mexicanas en materia ecológica o las condiciones particulares de descarga.

XVII. Ocasionar daños ambientales considerables o que generen

desequilibrios, en materia de recursos hídricos de conformidad con las disposiciones en la materia.

XVIII. Desperdiciar el agua en contravención a lo dispuesto en la Ley y sus reglamentos.

Artículo 120. Las faltas a que se refiere el artículo anterior serán sancionadas administrativamente por "la Autoridad del agua" con multas que serán equivalentes a los siguientes días del salario mínimo general vigente en el Distrito Federal en el momento en que se cometa la infracción, independientemente de las sanciones estipuladas en la Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, Ley de Bienes Nacionales y Ley Federal de Metrología y Normalización y sus reglamentos, las Normas Oficiales Mexicanas, el Código Penal Federal y demás disposiciones aplicables en la materia:

II. 1 501 a 5 000, en el caso de violación a la fracción XVIII y

III. 5 001 a 20 000, en el caso de violación a las fracciones I, XI, XII y XVIII.

Denuncia popular

Artículo 124 bis. Toda persona, grupos sociales, organizaciones ciudadanas o no gubernamentales, asociaciones y sociedades, podrán recurrir a la denuncia popular en los términos del Capítulo VII de la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, cuando se cometan actos que produzcan o puedan producir desequilibrios o daños a los recursos hídricos o sus bienes inherentes.³⁵

3.2.3.2. Normatividad mexicana

La normalización es el proceso mediante el cual se regulan las actividades desempeñadas por los sectores tanto privado como público, en materia de salud, medio ambiente en general, seguridad al usuario, información comercial, prácticas de comercio, industrial y laboral a través del cual se establecen la terminología, la clasificación, las directrices, las especificaciones, los atributos, las características, los métodos de prueba o las prescripciones aplicables a un producto, proceso o servicio.³⁶

Los principios básicos en el proceso de normalización son: representatividad, consenso, consulta pública, modificación y actualización. Este proceso se lleva a cabo mediante la elaboración, expedición y difusión a nivel nacional, de las normas que pueden ser de tres tipos principalmente:

A. Norma Oficial Mexicana (NOM) es la regulación técnica de observancia obligatoria expedida por las dependencias normalizadoras competentes a través de sus respectivos Comités Consultivos Nacionales de Normalización, de conformidad con las finalidades establecidas en el artículo 40 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización (LFMN), establece reglas, especificaciones, atributos, directrices, características o prescripciones aplicables a un producto, proceso, instalación, sistema, actividad, servicio o método de producción u operación, así como aquellas relativas a terminología, simbología, embalaje, marcado o etiquetado y las que se le refieran a su cumplimiento o aplicación.

B. Norma Mexicana (NMX) la que elabore un organismo nacional de normalización, o la Secretaría de Economía en ausencia de ellos, de conformidad con lo dispuesto por el artículo 54 de la LFMN , en los términos de la LFMN, que prevé para uso común y repetido reglas, especificaciones, atributos métodos de prueba, directrices, características o prescripciones aplicables a un producto, proceso, instalación, sistema, actividad, servicio o método de producción u operación, así como aquellas relativas a terminología, simbología, embalaje, marcado o etiquetado. No son de observancia obligatoria.

C. Las normas de referencia que elaboran las entidades de la administración pública de conformidad con lo dispuesto por el artículo 67 de la LFMN, para aplicarlas a los bienes o servicios que adquieren, arrienden o contratan cuando las normas mexicanas o internacionales no cubran los requerimientos de las mismas o sus especificaciones resulten obsoletas o inaplicables.

Dentro del proceso de normalización, para la elaboración de las normas nacionales se consultan las normas o lineamientos internacionales y normas extranjeras, las cuales se definen a continuación:

D.Norma o lineamiento internacional: la norma, lineamiento o documento normativo que emite un organismo internacional de normalización u otro organismo internacional relacionado con la materia, reconocido por el gobierno mexicano en los términos del derecho internacional.

E. Norma extranjera: la norma que emite un organismo o dependencia de normalización público o privado reconocido oficialmente por un país.³⁶

3.2.3.2.1. Normas Oficiales Mexicanas Ecológicas

El Instituto Nacional de Ecología y la Comisión Nacional del Agua han expedido en forma coordinada tres Normas Oficiales Mexicanas para la

prevención y control de la contaminación del agua.³⁷

NOM-001-ECOL-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Fue publicada en el Diario Oficial de la Federación el día 6 de enero de 1997 y entró en vigor el día 7 de enero de 1997. Esta norma se complementa con la aclaración publicada en el mismo medio de difusión del día 30 de abril de 1997.³⁷

NOM-002-ECOL-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Se publicó en el Diario Oficial de la Federación el día 3 de junio de 1998 y entró en vigor el día 4 de junio de 1998.³⁷

NOM-003-ECOL-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Se publicó en el Diario Oficial de la Federación el día 21 de septiembre de 1998 y entró en vigor el día 22 de septiembre de 1998.³⁷

La concentración de contaminantes básicos de aguas residuales indicados en estas normas son resumidos en la tabla V. (Pág. 35)

Como se observa se hace énfasis en los metales pesados: arsénico, cadmio, cianuro, cobre, cromo, mercurio, plomo, zinc, grasas y aceites, nitrógeno total, sólidos sedimentables y demanda bioquímica de oxígeno como prueba de contaminación por materia orgánica.²²

En la NOM-001-ECOL-1996 se establece una fecha límite de cumplimiento para no rebasar los límites permitidos, y se especifica un plazo no mayor a 180 días naturales para presentar un programa de acciones obligatorio para los responsables de las descargas cuyos parámetros rebasen cualquier parámetro básico por cinco veces.¹⁷

En contraparte se establece el beneficio de la exención de impuestos para aquellos que cumplan completamente con los parámetros de la Norma, en la Ley Federal de Derechos artículo 282.³⁸

3.2.3.2.2. Normas Oficiales Mexicanas de la Secretaría de Salud

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con calidad adecuada es fundamental para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales y otras, para lo cual se requiere establecer

límites permisibles en cuanto a sus características microbiológicas, físicas, organolépticas, químicas y radiactivas, con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor.³⁷

Por tales razones la Secretaría de Salud, elaboró las siguientes Normas, con la finalidad de establecer un eficaz control sanitario del agua que se somete a tratamientos de potabilización a efecto de hacerla apta para uso y consumo humano:

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.

NOM-041-SSA1-1993. Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias.

Dichas Normas toman como base las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS), acordadas en Génova, 1993.³⁷

4. Planteamiento del problema

Es una responsabilidad fundamental para las empresas químicas el contribuir a la conservación de los recursos naturales, garantizando la seguridad de la producción, reduciendo al mínimo el impacto ecológico de sus actividades y adoptando los principios del desarrollo sostenible en sus actividades.

Es por esto que la Ley de Aguas Nacionales, en el artículo 88 obliga a los usuarios de cuerpos receptores a tratar las aguas residuales previamente a su vertido a dichos cuerpos, para evitar el deterioro de los mismos, y las NOM ecológicas de descargas de agua residual incluyen como parámetro indicativo de contaminación orgánica una Demanda Bioquímica de Oxígeno inferior a 75 mg O₂ /L, por lo que en algunos casos es necesario el implementar sistemas de tratamiento biológico para cumplir este requisito.

Para evitar el deterioro o inestabilidad de los sistemas de tratamiento biológico es necesario el introducir materiales biodegradables que no los afecten.

El continuo desarrollo comercial y tecnológico de las empresas químicas las obliga a modificar sus procesos de manufactura, lo que acarrea variaciones en la composición de los efluentes de aguas residuales, las que pueden alterar el funcionamiento de sus sistemas de tratamiento.

Por lo anterior es importante el establecer una prueba de biodegradabilidad que cumpla con los requisitos para su aplicación práctica en un laboratorio de análisis ambiental, para poder caracterizar las aguas residuales producidas en los diferentes procesos industriales y así identificar aquellas susceptibles de ser tratadas en plantas de tratamiento biológico de aguas residuales para continuar cumpliendo con los requisitos y compromisos dictados por las autoridades ambientales mexicanas y asegurar la conservación del medio ambiente.

5. Objetivos

- ❖ Revisar las pruebas normalizadas de biodegradabilidad disponibles en las bases de datos.
- ❖ Seleccionar una prueba de biodegradabilidad, que cumpla con los requisitos necesarios (material, métodos de ensayo y duración) para su empleo en un laboratorio de análisis ambiental.
- ❖ Establecer las condiciones materiales para desarrollar experimentalmente la prueba de biodegradabilidad seleccionada.
- ❖ Aplicar la prueba seleccionada a los casos necesarios, para definir el destino final de las aguas residuales.

6. Hipótesis

Si la prueba de biodegradabilidad seleccionada es la adecuada para evaluar la biodegradabilidad de las aguas residuales de origen industrial y las condiciones experimentales son correctamente controladas durante el desarrollo de la determinación de biodegradabilidad de aguas residuales y un compuesto de control.

Entonces se obtendrán curvas características de biodegradabilidad al graficar los resultados, la biodegradación del compuesto de control será de 70% en un período menor a 14 días y se podrá evaluar la biodegradabilidad inherente de las muestras de agua residual.

7. Materiales

7.1. Equipo

Centrifuga Eppendorf 5810
Estufa eléctrica a 105 °C Fisher Scientific.
Parrilla de calentamiento Termoline
Condensador tipo Friedrich Blue Brand
Parrillas de agitación VWR

7.2. Instrumentos

Balanza analítica Sartorius BP210 D
Potenciómetro VWR 8015
Medidor de Oxígeno Disuelto WTW Oxi 320
Termómetro de mercurio de -10 a 150° C

7.3. Material

Cápsulas de evaporación de 50 mL
Desecador, provisto con un desecante que contenga un indicador colorido de humedad.
Matraces Erlenmeyer de 500 mL con tapón esmerilado $\$ 24/40$
Pipetas volumétricas de 25 y 50 mL
Matraces volumétricos de 1 L
Bureta de 50 mL
Frascos ámbar de vidrio de 2,5 L
Difusores
Varillas magnéticas
Probeta graduada de 2 L
Manguera de plástico
Frascos lavadores de gases
Válvulas reguladoras de tornillo
Condensador tipo Friedrich

7.4. Reactivos y disoluciones

Agua desionizada
Acido sulfúrico concentrado
Sulfato mercúrico
Sulfato de plata
Sacarosa
Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 0,25 N

Sulfato ferroso amoniacal $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2]$ 0,25 N
Solución estándar de pH 7
Solución estándar de pH 10
Solución de ácido sulfúrico/sulfato de plata 0,15 %
Solución indicadora de 1,10-fenantrolina
Solución buffer de fosfatos pH 7,4
Solución sulfato de magnesio (MgSO_4) 22,5 g/L
Solución cloruro de calcio (CaCl_2) 36,4 g/L
Solución cloruro férrico (FeCl_3) 0,25 g/L

7.5. Material biológico

Lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales de origen municipal, en este trabajo se emplearon lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria en la Ciudad de México.

7.6. Servicios

Aire comprimido
Corriente eléctrica a 127 Volt

7.7. Muestras

Se tomaron muestras de agua residual de diferentes procesos industriales, con una DQO superior a 75 mg O_2 /L.

8. Métodos

8.1. Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas residuales

De acuerdo al procedimiento descrito en la Norma NMX-AA-034-SCFI-2001. Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.²⁴

8.1.1. Preservación y almacenamiento de muestras

Debe preservarse la muestra a 4° C hasta su análisis.

El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 7 días. Sin embargo, se recomienda realizar el análisis dentro de las 24 h posteriores a su colecta. Las muestras deben estar a temperatura ambiente al momento del análisis.

8.1.2. Procedimiento

Introducir las cápsulas a la estufa a una temperatura de 103-105 °C aproximadamente 20 min.

Sacar y enfriar a temperatura ambiente dentro de un desecador. Pesar las cápsulas y registrar los datos.

Repetir el ciclo hasta alcanzar el peso constante, el cual se obtendrá hasta que no haya una variación en el peso mayor a 0.5 mg. Registrar como peso G en mg.

En función de la cantidad de sólidos probables tomar una cantidad de muestra que contenga como mínimo 25 mg/L de sólidos totales, generalmente 100 mL de muestra es un volumen adecuado.

Transferir la muestra a la cápsula de porcelana que previamente ha sido puesta a peso constante.

Llevar a sequedad la muestra en la estufa a 103-105 °C.

Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y determinar su peso hasta alcanzar peso constante. Registrar como peso G1 en mg.

8.1.3. Cálculos

Calcular el contenido de sólidos totales de las muestras en mg/L o ppm de

acuerdo a la siguiente fórmula:

$$ST = (G1-G) \times 1\,000/V$$

Donde V es el volumen de muestra en mL.

8.1.4. Observaciones

La heterogeneidad de la muestra que contiene una o más de dos fases puede provocar errores durante el muestreo en campo y en la toma de alícuotas de la misma para la determinación de sólidos. Se recomienda homogeneizar la muestra en lo posible antes de tomar la alícuota.

La temperatura a la cual el residuo se seca, tiene un efecto muy importante sobre los resultados, ya que pueden ocurrir pérdidas en el peso de la materia orgánica presente durante la etapa de secado y/o el desprendimiento de gases por descomposición química y/o por la oxidación del residuo, así como por la oclusión de agua.

8.2. Determinación de pH

Se realiza de acuerdo a la Norma NMX-AA-008-SCFI-2000. Análisis de Agua. Determinación del pH.²⁹

8.2.1. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

Cuando sea posible, se efectúa la determinación de pH directamente en el punto de muestreo sin extraer muestra, sumergiendo los electrodos en el cuerpo de agua. Cuando sea preciso extraer una muestra, se toma un volumen mínimo de 100 mL en un envase de polietileno o de vidrio limpio y se determina pH de inmediato.

Para determinaciones en el laboratorio, si la temperatura a la que se debe determinar el pH de la muestra problema difiere en más de 2 °C de la temperatura ambiente, es preciso llevar las disoluciones patrón de pH, la disolución problema, los electrodos y el agua para el enjuague de los mismos a dicha temperatura.

8.2.2. Calibración

Seleccionar dos disoluciones patrón de pH cuyos valores encierren el valor de pH esperado para la muestra problema y que estén a la misma temperatura (± 2 °C) que esta última. La diferencia de pH entre las

disoluciones patrón seleccionadas debe situarse aproximadamente entre 2 y 3 unidades. De cada disolución se transfiere una porción apropiada a un recipiente limpio.

Retirar los electrodos de su disolución de conservación. Enjuagarlos completa y cuidadosamente con agua destilada y secarlos con papel absorbente suave, sin tallar.

Con el dispositivo de determinación de pH listo para operar de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes de los electrodos y del medidor de pH, sumergir los electrodos en la primera porción de disolución patrón de pH, de ser posible, agitar suavemente la disolución con el agitador magnético y la barra magnética, esperar entre 1 y 2 minutos que se establezca la respuesta del dispositivo de determinación. Ajustar la lectura del aparato de medición con el botón de calibración hasta obtener el valor de pH asignado para la temperatura de la disolución.

Retirar los electrodos de la disolución anterior, enjuagarlos cuidadosamente con agua y secarlos.

Repetir el ajuste con la segunda disolución patrón de pH. Ajustar la lectura del aparato de medición con el botón de corrección de pendiente hasta obtener el valor de pH asignado.^{25, 29}

8.2.3. Procedimiento

El dispositivo de determinación del pH debe estar calibrado. De ser necesario, llevar la muestra problema a la temperatura requerida para efectuar la determinación. Dicha temperatura no debe diferir más de 2 °C de la de las disoluciones patrón de pH utilizadas para la calibración.

Enjuagar cuidadosamente los electrodos con agua desionizada. Transferir una porción de la disolución problema a un recipiente limpio de tamaño apropiado.

De acuerdo con las instrucciones del fabricante, sumergir los electrodos en una porción de la muestra problema durante 1 minuto para acondicionar el electrodo de vidrio; de ser posible, agitar suavemente con el agitador y la barra magnética. Retirar los electrodos de la disolución, secarlos con papel absorbente, sin enjuagarlos y sin tallar.

Sumergir los electrodos en una porción fresca de la muestra problema. De ser posible, agitar suavemente la disolución con el agitador magnético.

Esperar que la lectura de pH se estabilice (variación de lectura menor que 0,02 unidad de pH en un lapso no mayor de 1 minuto). Registrar los dos valores sucesivos de pH y la temperatura de la muestra. Si la temperatura de la muestra difiere en más de 2 °C, de la de la disolución amortiguadora, puede corregirse el pH determinado por ajuste con el compensador automático o manual del equipo de medición de conformidad con las instrucciones del fabricante del equipo medidor. No se recomienda efectuar correcciones cuando la diferencia de temperatura entre disoluciones patrón y disolución problema es mayor de 10 °C. En tal caso, debe procurarse equilibrar la temperatura de las disoluciones patrón de pH con la de la muestra problema.

Después de las determinaciones, si los electrodos se ensuciaron por inmersión en aguas residuales, éstos deben limpiarse de acuerdo a lo indicado anteriormente. Los electrodos limpios se regresan a su disolución respectiva de conservación. Las disoluciones patrón de pH utilizadas para la calibración se descartan.²⁹

8.2.4. Conservación de los electrodos

Cuando no se utilizan, los electrodos deben conservarse de acuerdo a las recomendaciones de los fabricantes, o, en su defecto, los electrodos de vidrio deben conservarse en una disolución diluida de ácido clorhídrico 0,000 1 M (pH cercano de 4) o en una disolución preparada por adición de 1 mL de la disolución amortiguadora de biftalato de potasio a 100 mL de agua.

Los electrodos de referencia deben conservarse en disoluciones de cloruro de potasio de la misma concentración que la de su disolución de relleno.

Los electrodos de vidrio combinados deben conservarse en una disolución de cloruro de potasio de concentración mayor o igual a 3,5 M y con un contenido de 5% de la disolución amortiguadora de biftalato de potasio.^{23, 29}

8.3. Determinación de la temperatura en aguas naturales y residuales

De acuerdo con lo establecido en la Norma NMX-AA-007-SCFI-2000. Análisis de agua. Determinación de la temperatura en aguas naturales y residuales.³²

8.3.1. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

Para esta determinación no se requiere preparación ni conservación de las muestras. Las determinaciones de temperatura deben efectuarse de inmediato en el lugar de muestreo.

Cuando sea posible, se efectúa la determinación de temperatura directamente, sin extraer muestra, sumergiendo el termómetro en el cuerpo de agua por examinar. Cuando sea preciso extraer una muestra, se toma un volumen mínimo de 1 L para inmersión parcial en un envase de polietileno o de vidrio limpio y 500 mL para termopar u otro instrumento, en un envase de polietileno o de vidrio limpio, se determina la temperatura de inmediato.

8.3.2. Procedimiento

Siempre que sea posible se debe realizar la medición directamente en el cuerpo de agua, se debe tomar un volumen suficiente de muestra tal que el instrumento quede debidamente inmerso, esperar el tiempo suficiente para obtener mediciones constantes. Considerar las características del termómetro, existen en el mercado los de inmersión parcial o total. El vástago debe estar separado al menos 2 cm de las paredes del recipiente.

Enjuagar con agua destilada el instrumento de medición. Las lecturas se obtienen directamente de la escala del aparato medidor de temperatura, y se informan en grados Celsius (°C), con aproximación a la décima de grado (0,1 °C).

8.3.3. Precauciones y recomendaciones relativas al uso de los termómetros de líquido en vidrio.

Error de paralaje: El error de paralaje puede eliminarse si se tiene cuidado que la escala graduada del termómetro pueda observarse por reflexión sobre la columna de mercurio dentro del capilar. Para ello, el observador ajusta el nivel de su ojo sobre una línea de lectura, de forma que la graduación más cercana del menisco se superponga exactamente a su propia imagen reflejada por el mercurio.

Durante el transporte de los termómetros, puede ocurrir una ruptura de la columna del líquido en el capilar o aún el paso del gas de relleno hacia el bulbo. Este tipo de problema debe detectarse y eliminarse antes de utilizar el termómetro. Para ello se verifica por inspección visual que no existen burbujas de gas encerradas en el bulbo y que no se detectan rupturas de la columna de líquido en el vástago del termómetro o gotas del líquido adheridas en la parte superior del capilar. Verificar también que el bulbo se encuentra en perfecto estado.

Cuando no se utilizan, los termómetros se conservan en un estuche apropiado en posición vertical y en lugares no sometidos a vibraciones o sacudidas como en los cajones que se abren y cierran con frecuencia.

8.4. Determinación del oxígeno disuelto

En el presente trabajo se empleó el método electrométrico de electrodo de membrana por su facilidad de uso, presencia de materiales desconocidos en las muestras, por su nula afectación a la cantidad de muestra y rapidez de obtención de resultados.

8.4.1. Reactivos y patrones

Disolución saturada de cloruro de cobalto. Pesar aproximadamente y con precisión 4,5 g de cloruro de cobalto y disolver en 10 mL de agua.

Disolución estándar de concentración nula de oxígeno disuelto (OD). Pesar 5,0 g de sulfito de sodio, aforar a 100 mL de agua y añadir 2 gotas de la disolución saturada de cloruro de cobalto.

8.4.2. Instrumento y equipo

Medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensitiva al oxígeno, de tipo galvánico o polarizado.

8.4.3. Recolección, preservación y almacenamiento

Se debe evitar que la muestra se agite o entre en contacto con el aire. El análisis de la muestra debe realizarse inmediatamente después de su recolección, por lo cual no es necesario adicionar ningún conservador. Si la muestra tiene que ser transportada, se debe mantener a 4 °C aproximadamente y no se debe almacenar por más de 8 h.

8.4.4. Calibración

El medidor de oxígeno disuelto empleado, modelo WTW Oxi 320, se calibra con una pequeña cámara de aire, suministrada por el fabricante. Solo es necesario instalarla en el extremo medidor del electrodo, seleccionar las opciones Calib y Run en el teclado del equipo, después de unos segundos la lectura en el panel de 5-6 ppm de O₂ nos indica que el equipo esta listo para su uso.

La estandarización cero de OD consiste en la inmersión del electrodo en la disolución estándar de concentración nula de oxígeno. La lectura debe estar en cero mg/L de OD, de no ser así, ajustar el instrumento a cero.

8.4.5. Procedimiento

Posterior a la calibración del instrumento proceder a hacer la medición de la(s) muestra(s) siguiendo el procedimiento descrito a continuación:

Introducir el electrodo previamente lavado con agua a la muestra, esperar la estabilización de la lectura y leer directamente del instrumento la concentración de oxígeno.

8.4.6. Interferencias

La entrada de aire atmosférico dentro de las muestras puede causar medidas erróneas del instrumento.

Las pruebas basadas en difusión están sujetas a errores negativos por la formación de capas como los óxidos de hierro, los cuales impiden la difusión del oxígeno.

La hidrazina, aminas, ácido sulfhídrico e hidrógeno, que pasen a través de la membrana causan errores negativos.

8.5. Determinación de la demanda química de oxígeno

Se realiza de acuerdo a las indicaciones de la Norma NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de agua. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas.²⁸

8.5.1. Disoluciones

Disolución estándar de dicromato de potasio 0,25 N. Pesar 12,259 g de

dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) previamente secado durante 2 horas a 105 ± 1 °C, disolver y aforar a 1 L con agua y homogeneizar.

Disolución de sulfato ferroso amoniacal 0,25 N: disolver en 800 mL de agua aproximadamente 98,0 g de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado [$Fe(NH_4)_2(SO_4) \cdot 6H_2O$], agregar cuidadosamente 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, enfriar, llevar a 1 L con agua y homogeneizar.

Normalización de la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0,25 N: Tomar una alícuota de 10 mL de la disolución estándar de dicromato de potasio 0,25 N. Diluir con agua hasta 100 mL, agregar cuidadosamente 30 mL de ácido sulfúrico concentrado y homogeneizar, enfriar y valorar con la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0,25 N, utilizando 3 gotas de 1,10-fenantrolina como indicador, hasta el cambio de color de azul verdoso a café rojizo. Esta disolución debe normalizarse cada vez que se utilice.

Disolución de ácido sulfúrico-sulfato de plata. Disolver cristales o polvo de sulfato de plata, en ácido sulfúrico concentrado en una relación 5,5 g Ag_2SO_4 /Kg H_2SO_4 . Se requieren de 1 a 2 días para que se disuelva completamente el sulfato de plata.

Disolución indicadora de 1,10-fenantrolina. Pesar aproximadamente y con precisión 1,485 g de 1,10-fenantrolina y aproximadamente 0,695 g de sulfato ferroso heptahidratado, diluir y aforar a 100 mL con agua y homogeneizar.

8.5.2. Preservación y almacenamiento de muestras

La muestra se debe analizar inmediatamente después de su toma, en caso contrario debe conservarse en refrigeración a 4 °C, además de la adición de ácido sulfúrico hasta $pH < 2$.

El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 28 días.

8.5.3. Procedimiento

Método de reflujo abierto / método de titulación para niveles mayores de 50 mg/L de demanda química de oxígeno.

Transferir una muestra de 50 mL (o dilución) a un matraz Erlenmeyer de 500 mL. Agregar una cantidad adecuada de sulfato mercúrico (aproximadamente 1 g, la relación de sulfato mercúrico/cloruros debe ser 10 a 1) y algunas perlas de vidrio. Adicionar una alícuota de 25.0 mL de la

disolución estándar de dicromato de potasio 0.25 N y mezclar mediante un movimiento circular. Se pueden utilizar cantidades menores de muestra conservando la proporción de los reactivos.

Conectar el matraz Erlenmeyer al condensador tipo Friedrich y hacer circular el agua de enfriamiento.

Por el extremo superior del condensador agregar lentamente 75 mL de la disolución de ácido sulfúrico-sulfato de plata y agitar con movimiento circular para homogeneizar.

Calentar el matraz que contiene la mezcla y mantener a reflujo durante 2 horas a partir del momento en que empieza la ebullición. Dejar enfriar y lavar el interior del condensador con 25 mL de agua.

Añadir agua por el extremo superior del condensador hasta completar un volumen aproximado de 300 mL, retirar el matraz del condensador y enfriar a temperatura ambiente.

Agregar 9 gotas de disolución indicadora de 1,10-fenantrolina como indicador y titular con la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0.25 N. Tomar como punto final el primer cambio de color de azul verdoso a café rojizo.

Llevar simultáneamente un testigo preparado con agua y todos los reactivos que se utilizan en el procedimiento.

Evalúe la técnica y calidad de los reactivos realizando la prueba a una disolución estándar de biftalato de potasio.

8.5.4. Cálculos

La DQO, expresada en mg O₂ /L, se calcula con la siguiente ecuación:

$$DQO = (V_1 - V_2) \times N \times 8000 / V_3$$

V1: volumen en mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal requerido para la valoración del testigo.

V2: volumen en mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal requerido para la valoración de la muestra.

V3: volumen en mL de la muestra.

N: Normalidad de la disolución de sulfato ferroso amoniacal utilizada en la determinación.

8 000: Peso equivalente del oxígeno, multiplicado por el factor de conversión 1000 mL/L.

8.6. Prueba de biodegradación de Zhan-Wellens

De acuerdo a las directivas descritas en la Guideline for Testing of Chemicals. 302 B Vol. II Paris 1999, de la Organization for Economic Cooperation and Development.²

8.6.1. Equipo y materiales

A) Recipientes de vidrio con un volumen de 1 a 5 L, equipados con un agitador de material inerte rotando aproximadamente 5 a 10 cm sobre el fondo del recipiente (un agitador magnético con una barra de 7-10 cm puede ser empleado) y un tubo de vidrio de 2-4 mm de diámetro interno para introducir aire a 1 cm aprox. del fondo del recipiente, o recipientes del mismo tamaño equipados con un “frit” de vidrio en el fondo permitiendo agitación y aireación.

B) Aire comprimido pasado a través de un filtro de lana de vidrio y una botella lavadora conteniendo agua, o de una compresora que suministre aire libre de polvo, aceite e impurezas orgánicas.

C) Equipo normal de laboratorio, especialmente una centrifuga (con capacidad de al menos 100 g), pHmetro, instrumentos para la medición de Oxígeno disuelto y filtros de membrana (tamaño de poro 0.2-0.45 μm).

D) Equipo y material analítico para determinación de COD o DQO.

8.6.2. Reactivos

Se emplea agua desionizada o destilada, libre de concentraciones inhibitorias de sustancias tóxicas (p.e. iones Cu). Esta deberá tener cantidades mínimas de carbono orgánico para que los valores del blanco sean eliminados. Puede resultar contaminación de impurezas inherentes y también de resinas de intercambio iónico y materiales de la lisis de bacterias y algas. Para cada serie de pruebas use solamente un lote de agua, previamente analizada para su contenido de COD.

Prepare las siguientes disoluciones stock:

Disolución A.

Ortofosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) 8,5 g .

Ortofosfato monoácido de potasio (K_2HPO_4) 21,75 g .
Ortofosfato monoácido de sodio dihidrato, ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 33,4 g .
Cloruro de amonio (NH_4Cl) 0,5 g.
Disuelva en agua y afore a 1 L. El pH de la solución deberá ser de 7,4.

Disolución B.

Cloruro de calcio anhidro ($CaCl_2$) 27,5 g o cloruro de calcio dihidratado ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) 36,4 g.
Disuelva en agua y lleve a 1 L.

Disolución C.

Sulfato de magnesio heptahidrato, ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 22,5 g.
Disuelva en agua y lleve a 1 L.

Disolución D.

Cloruro de hierro (III) hexahidrato ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) 0,25 g.
Disuelva en agua y lleve a 1 L.

Nota: para evitar preparar esta dilución inmediatamente antes de su uso, adicione una gota de HCl concentrado o 0.4 g de sal disódica de etilendiamino tetra acetato (EDTA) por litro.

Si se forma un precipitado en una disolución stock, reemplace con una disolución recién preparada.

Preparación del medio mineral. Mezcle 10 mL de disolución A con 800 mL de agua, adicione 1 mL de las disoluciones B, C, y D y lleve a 1 L.

8.6.3. Inóculo

Colecte una muestra fresca de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales (el DBO del efluente deberá ser < 25 mg/L) y lave dos veces con medio mineral o agua corriente.

Separe los lodos centrifugando por 3-5 minutos a 3 000 rpm o por sedimentación. Decante el licor sobrenadante y lave los lodos con otra porción de medio mineral o agua corriente. Repita esta operación dos veces.

En casos especiales, para tener tantas especies y cepas diferentes como sea posible, mezcle muestras de diferentes fuentes (e.g. otras plantas de tratamiento, extractos de tierra, agua de ríos, etc.) y trate la muestra como se indica.

Use los lodos después de 6 horas del muestreo, de lo contrario disperse en

medio mineral y mantenga con aireación hasta que sea requerido. Revise la actividad del lodo con el procedimiento de control usando un compuesto de referencia.

8.6.4. Procedimiento

Preparación de Recipientes. A un número apropiado de recipientes introduzca 500 mL de medio mineral y la cantidad necesaria de sustancia prueba e inóculo para alcanzar respectivamente entre 50 y 400 mg de COD/L (entre 100 y 1000 mg DQO/L) y 0,2-1,0 g materia seca/L en el volumen final.

El volumen final, entre 1 y 5 L depende del número de muestras a ser tomadas para las determinaciones de COD o DQO y el volumen necesario para el procedimiento analítico; normalmente un volumen de 2 L es satisfactorio.

Prepare uno o dos recipientes blanco en paralelo para contener solamente lodos activados y medio mineral con volúmenes idénticos a los empleados en las suspensiones de prueba.

Prepare un recipiente en paralelo con cada serie de pruebas como un control de procedimiento, usando uno de los compuestos de referencia en lugar de la sustancia de prueba.

Si se requiere información de degradación abiótica, puede ser preparada una solución estéril sin inóculo.

Los siguientes recipientes son empleados en una corrida típica:

- 1 o 2 conteniendo la sustancia prueba e inóculo (suspensión prueba).
- 1 o 2 conteniendo inóculo solamente (blanco de inóculo).
- y 1 conteniendo el compuesto de referencia (control de procedimiento).

Es necesario el monitorear el COD o la DQO en la suspensión prueba y el blanco de inóculo en paralelo durante la evaluación.

Por razones prácticas no inicie la prueba inmediatamente antes de un fin de semana. Corra las pruebas, normalmente por más de 28 días, en la oscuridad o en luz difusa a 20-25 °C.

Airee las suspensiones con aire humidificado, purificado y si es necesario, agite para asegurarse que los lodos no sedimenten y que la concentración de

oxígeno disuelto no sea menor de 1 mg/L.

Revise el valor de pH a intervalos regulares. (e.g. en cada día de muestreo) y ajuste a un pH de 6,5-8,0 con soluciones de NaOH (40 g/L) o H₂SO₄ (50 g/L) si es necesario.

Muestreo. Siga la biodegradación de la sustancia prueba determinando el COD o la DQO en muestras de suspensión tomadas:

-3 horas \pm 30 minutos después de la adición de la sustancia prueba con la finalidad de estimar cualquier adsorción de esta por el lodo activado.

-en al menos 4 ocasiones durante el intervalo entre el 1° y el 27° día.

-en el 27° y 28° días. Si la meseta es lograda en menos de 28 días, en los últimos dos días de la prueba.

El volumen de muestra tomada depende del tipo de analizador de carbono o del volumen requerido para la determinación de la DQO.

Puede ser necesario el muestreo adicional para describir cuando sea alcanzada la meseta o si será determinado el tiempo de adaptación.

Inmediatamente antes de cada muestreo reemplace las pérdidas de volumen debidas a la evaporación.

Adaptación. Si será seguida la adaptación, realice los análisis para COD o DQO a intervalos de tiempo relativamente cortos (por ejemplo diariamente). Prolongue la prueba por más de 28 días si la adaptación ocurre en los días finales del periodo de prueba.

Si es necesario un conocimiento mas detallado del comportamiento del lodo adaptado, reexponga el mismo lodo activado a la sustancia prueba. Para hacer esto pare la aireación y agitación y permita al lodo sedimentar. Drene el líquido sobrenadante, rellene el recipiente al volumen original con medio mineral, agite por 15 minutos y repita esta operación una vez más. Alternativamente, aísle el lodo por centrifugación. Repita la prueba usando el lodo recobrado, el cual puede ser aumentado con lodos frescos si el lodo recobrado es insuficiente para dar 0.2-1 g materia seca /L.

8.6.5. Métodos analíticos

Filtre las muestras tan pronto como sean tomadas, descartando los primeros 5 mL de filtrado. Use papel filtro o filtros de membrana cuidadosamente lavados, los cuales serán apropiados si no liberan o absorben compuestos orgánicos. Por otro lado lave las membranas tres veces con agua desionizada o destilada a aproximadamente 60 °C, y almacénelas en agua. Separe los lodos difíciles de filtrar por centrifugación o por otra técnica de

separación apropiada.

Determine el COD o la DQO por duplicado en las muestras filtradas o centrifugadas por cualquiera de los métodos disponibles. Si será evaluada la biodegradación primaria use un análisis específico adicionalmente al de COD o DQO.

Si los filtrados no pueden ser analizados el día del muestreo almacene a 2-4 °C por un máximo de 48 h o a -18 °C por periodos mayores. Sin embargo no es recomendable el almacenamiento por periodos largos de tiempo.

8.6.6. Tratamiento de resultados

Calcule el porcentaje de degradación al tiempo t con:

$$D_t = 1 - \left[\frac{C_t - C_B}{C_A - C_{BA}} \right] \times 100$$

Donde:

D_t = porcentaje de degradación al tiempo t.

C_A = concentración (mg/L) de COD o DQO en la suspensión prueba medida después 3 horas \pm 30 minutos de incubación.

C_t = concentración media (mg/L) de COD o DQO en la suspensión prueba al tiempo t.

C_{BA} = concentración media (mg/L) de COD o DQO en el blanco medido después de 3 horas \pm 30 minutos de incubación.

C_B = concentración media (mg/L) de COD o DQO en el blanco al tiempo t.

Realice los mismos cálculos para el compuesto de referencia.

Muestre el curso de la biodegradación gráficamente y registre todos los resultados en hojas de datos.

La prueba es considerada valida si el control de procedimiento muestra una remoción del compuesto de referencia de al menos 70% dentro de 14 días y si la remoción de COD o DQO en la suspensión prueba tiene lugar gradual y relativamente sobre días o semanas, ya que esto indica biodegradación.

Sin embargo, la adsorción físico-química puede, en algunos casos, jugar un papel relevante y esto es indicado cuando hay una reducción sustancial o total en las primeras 3 horas y la diferencia entre blanco y solución prueba permanece a un inesperado valor bajo. En tales casos la información adicional es obtenida de una comparación entre el valor de 3 horas, el valor inicial esperado calculado de la cantidad de sustancia adicionada y el valor

medido antes de la adición del inóculo.

Valores bajos y remoción cero de la sustancia prueba pueden ser debidos a la inhibición de bacterias; elimine esta posibilidad evaluando la inhibición microbiana a las concentraciones empleadas si esto no se hizo con anterioridad.

8.6.7. Reporte

El reporte de la prueba deberá incluir la siguiente información:

A) Sustancia evaluada:

Naturaleza física, propiedades físico-químicas y datos de identificación.

B) Inóculo:

Fuente, concentración, estado de adaptación.

C) Condiciones de la prueba:

Métodos analíticos empleados, control de procedimiento y compuesto empleado en el control.

D) Resultados:

Curva de biodegradación, evaluaciones de toxicidad.

El grado de biodegradación alcanzado al final de la prueba después de 28 días, o antes si la degradación completa es alcanzada en menos de 28 días, como “biodegradabilidad inherente en la prueba estática después de x días”.

Cualquier diferencia significativa de COD (o DQO) entre la primera muestra y 3 horas después de iniciada la prueba y el valor calculado para la cantidad de compuesto prueba adicionado como “adsorbido en el lodo activado”.

La duración de las fases de adaptación, de biodegradación y el punto final de biodegradación alcanzado después de x días como se identifica de la curva de biodegradación.

E) Análisis de los resultados.^{2, 15, 34}

9. Resultados

Como método de evaluación se seleccionó la prueba de biodegradabilidad de Zahn-Wellens modificada, OCDE 302 B, por ser la más adecuada a los materiales necesarios que posee el laboratorio para su desarrollo. Ya que presenta las siguientes ventajas:

A) Se realiza en base a la DQO que es un método de rutina en un laboratorio de análisis de aguas residuales.

B) Requiere un tiempo de evaluación relativamente corto en comparación con las pruebas de simulación (un mes), lo que permite decidir el destino de los efluentes que se evalúan en ese periodo (un mes).

D) No es necesario equipo adicional al disponible.

E) Es un método normado y de amplio uso en otros países.

De acuerdo a las directivas de la prueba OCDE 302 B se elaboró un procedimiento de análisis con las siguientes características:

- ◆ El desarrollo de la prueba con un volumen de 1.5 a 2 L de disolución.
- ◆ Muestreo diario de los parámetros controlados: pH, temperatura, oxígeno disuelto, DQO y volumen total.
- ◆ Empleo de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria.
- ◆ Como recipientes para realizar la incubación se emplearon frascos de vidrio ámbar de 2.5 L de capacidad, nuevos o que habían contenido solventes volátiles (acetona o alcohol isopropílico), lavados con detergente neutro y enjuagados con agua destilada. Conservando su tapa original.
- ◆ La preparación de 4 frascos de prueba identificados como RP solución de prueba, RB blanco, RC control de inóculo y RS eliminación abiótica, adicionando HgCl_2 o HgBr_2 cada 2 semanas al RS para asegurar la condición abiótica. De acuerdo a la Tabla VI.

Tabla VI. Composición de los Frascos de Prueba.

Pruebas	Medio mineral	Sustancia de prueba (agua residual)	Sacarosa	Inóculo
RP: Solución de prueba.	+	+	-	+
RB: Blanco	+	-	-	+
RC: Control de inóculo	+	-	+	+
RS: Eliminación abiótica	+	+	-	-

+ Debe incluirse; - no lo contiene.

- ◆ Se empleó como compuesto de referencia sacarosa, que es reconocida como una sustancia totalmente biodegradable, de alta pureza, estable, soluble en agua y no tóxica.³⁹
- ◆ La DQO inicial se adaptó a las características de DQO del agua a evaluar, para conservar la proporción de inóculo/DQO de la solución de prueba se procedió a preparar el inóculo de acuerdo a la tabla VII.

Tabla VII. Cantidad de sólidos totales necesarios de acuerdo a la DQO.

DQO de la solución de prueba mg O ₂ /L	Sólidos totales necesarios después de inocular. mg / L
100	0.20
200	0.28
300	0.378
400	0.467
500	0.556
600	0.645
700	0.734
800	0.823
900	0.912
1000	1000

Durante el desarrollo analítico de la prueba se observó que era necesario pasar el aire empleado por una botella lavadora de gases, con agua en su interior, para disminuir la evaporación de agua en los frascos de prueba, al emplear aire húmedo. El sistema empleado para desarrollar cada prueba se ilustra en la figura 5.

Se deben tener las siguientes precauciones:

- ♣ Dispersar completamente desde el inicio de la prueba los lodos inoculados, para obtener valores representativos de adsorción y evitar variaciones en las determinaciones siguientes de la DQO.
- ♣ Alimentar aire húmedo al sistema para evitar una evaporación excesiva del medio, y en un flujo que permita la aireación sin

formación de espuma, cuando sea posible.

- ♣ Mantener los lodos inoculados en contacto constante con el medio, evitando que se adhieran a las paredes de los frascos y fuera del medio de prueba, por medio de la revisión periódica y agitación adicional de forma manual al frasco.

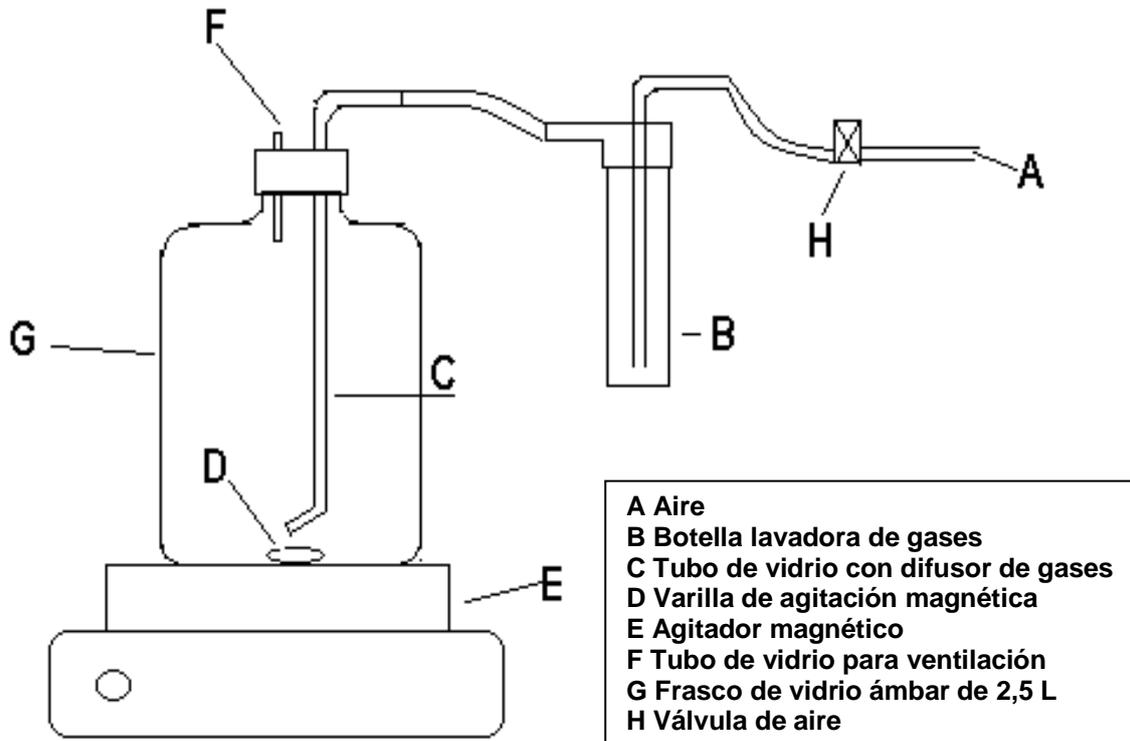


Figura 5. Sistema empleado para evaluar la biodegradación.

Durante el desarrollo de las pruebas se emplearon 50 mL de muestra para la determinación de la DQO y se elaboró un blanco de DQO para su cálculo. El resultado fue corregido por volumen y este fue recuperado con medio mineral a cada frasco.

Desde que se implementó en 2002 el método de biodegradabilidad de Zhan-Wellens en el laboratorio de análisis ambiental, se han realizado quince estudios de biodegradabilidad en muestras de diversa procedencia; entre los que se han seleccionado, por lo característico de los resultados obtenidos, tres muestras para su análisis en la presente tesis.

Los parámetros evaluados, obtenidos al determinar la biodegradabilidad de tres muestras seleccionadas de agua residual de diferentes orígenes, se muestran en las tablas VIII a XI, XV a XVIII y XXI a XXIV.

Con estos datos se calculó la biodegradabilidad de acuerdo a la fórmula:

$$D_t = 1 - \left[\frac{C_t - C_B}{C_A - C_{BA}} \right] \times 100$$

Donde:

D_t = porcentaje de degradación al tiempo t ;

C_A = concentración (mg/L) de DQO en la suspensión prueba medida después de $3 \text{ h} \pm 30 \text{ min.}$ de incubación;

C_t = concentración media (mg/L) de DQO en la suspensión prueba al tiempo t .

C_{BA} = concentración media (mg/L) de DQO en el blanco medidos después de $3 \text{ h} \pm 30 \text{ minutos}$ de incubación;

C_B = concentración media (mg/L) de DQO en el blanco al tiempo t .

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas XII a XIV, XIX a XX y XXV a XXVII.

9.1. Muestra 1

Sustancia evaluada: Muestra de agua residual con una DQO de 3664 mg O₂/L.

Inóculo: lodos activados de la planta de tratamiento de agua residual de Ciudad Universitaria UNAM, no adaptados.

Período de evaluación: del 12/06/2003 al 10/07/2003.

Los resultados de los parámetros evaluados para los cuatro ensayos relacionados con la muestra 1 se presentan en las tablas VIII a XI, y los valores calculados de biodegradación para cada uno se muestran en las tablas XII a XIV.

Tabla VIII. Resultados de muestra 1: RP Solución de prueba agua residual.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	° C		mg/L	mg/L	mL	mL	mL
12/06/2003	0	24	7,14	4,08	1145	2000	2000	0
12/06/2003	0,13*	25	7,18	4,34	703	2000	2000	0
13/06/2003	1	26	7,21	4,10	611	1890	2000	110
16/06/2003	4	24	7,09	4,32	667	1740	2000	260
18/06/2003	6	23	7,00	4,64	391	1825	2000	175
23/06/2003	11	24	7,03	4,38	448	1880	2000	120
25/06/2003	13	24	6,95	4,32	328	1925	2000	75
27/06/2003	15	24	7,12	4,21	256	1925	2000	75
02/07/2003	20	24	7,04	4,27	204	1949	2000	51
08/07/2003	26	24	7,00	4,35	190	1649	2000	351
10/07/2003	28	24	6,98	4,51	184	1836	2000	164

* 0,13 días corresponden a 3 horas.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Solución de prueba. Se observa un control de temperatura, pH y OD adecuados y dentro de los límites requeridos por el método: la temperatura se conserva a 25 ± 1 °C; el pH entre 6,95 y 7,21 y el oxígeno disuelto con valores superiores a 4 mg/L.

La muestra presentó problemas de formación de espuma y pérdida de volumen por esta causa, la mayor pérdida de volumen se presenta en el registro del día 26.

Se observa una disminución de la DQO de 38,6 % después de 3 horas de incubación, misma que se considera como adsorción por el inóculo, para los cálculos de degradación.

Tabla IX. Resultados de muestra 1: RC Control de inóculo con sacarosa.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	° C		mg/L	mg/L	mL	mL	mL
12/06/03	0	24	6,83	5,05	1551	1500	2000	0
12/06/03	0,13*	24	7,05	5,19	1506	2000	2000	0
13/06/03	1	26	6,27	4,09	1246	1910	2000	90
16/06/03	4	24	6,23	4,26	295	1700	2000	300
18/06/03	6	24	6,22	4,21	202	1925	2000	75
23/06/03	11	24	6,18	4,09	139	1980	2000	20
25/06/03	13	24	7,23	4,21	98	1990	2000	10
27/06/03	15	24	6,72	4,35	49	1925	2000	75
02/07/03	20	24	6,47	3,86	31	1925	2000	75
08/07/03	26	24	6,42	4,12	31	1925	2000	75
10/07/03	28	24	6,35	4,52	51	1915	2000	85

* 0,13 días corresponden a 3 horas.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Control de inóculo. La temperatura y el OD se mantienen dentro de los límites del método. Fue necesario ajustar el pH a valores próximos a 7,0 se corrigió al inicio y una sola ocasión en el día 13. Se observa una disminución constante de pH durante el transcurso de la evaluación.

Se presentan pérdidas de volumen por evaporación, principalmente después del primer fin de semana, día 4.

Se observa una disminución de la DQO de 2,9 % después de 3 horas de incubación.

Tabla X. Resultados de muestra 1: RS Eliminación abiótica.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	° C		mg/L	mg/L	mL	mL	mL
12/06/03	0	24	6,51	4,80	1175	1975	2000	0
12/06/03	0,13*	24	7,07	4,47	924	1950	2000	50
13/06/03	1	27	6,27	4,09	954	1910	2000	90
16/06/03	4	24	6,47	4,51	664	1825	2000	175
18/06/03	6	24	6,41	4,96	643	1920	2000	80
23/06/03	11	24	6,35	4,85	737	1930	2000	70
25/06/03	13	24	6,25	4,72	732	1925	2000	75
27/06/03	15	24	6,22	4,29	480	1960	2000	40
02/07/03	20	24	6,15	4,54	450	1460	2000	540
08/07/03	26	24	6,11	4,62	406	1760	2000	240
10/07/03	28	24	6,09	4,48	569	1935	2000	65

* 0,13 días corresponden a 3 horas. Vi Volumen inicial. Vf Volumen final. Ve Volumen evaporado.

Eliminación abiótica. Se realizó adicionando 200 mg de HgBr₂ cada semana, para asegurar su condición abiótica. La temperatura y el OD se mantienen dentro de los límites del método. El pH muestra una disminución constante durante el periodo de evaluación, y fue necesario ajustarlo cada día de muestreo, en la tabla se muestran los valores medidos antes del ajuste, omitiendo el pH ajustado en el intervalo requerido 6,5 a 7,5.

Se presentan pérdidas de volumen por evaporación, principalmente después del primer fin de semana y los días 20 y 26.

Se observa una disminución del 21,36 % en la DQO después de 3 horas de incubación, y una continua disminución de la misma durante el periodo de evaluación.

Tabla XI. Resultados de muestra 1: RB Blanco.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	° C		mg/L	mg/L	mL	mL	mL
12/06/03	0	25	6,95	5,30	5	1500	2000	0
12/06/03	0,13*	25	7,05	5,41	5	2000	2000	0
13/06/03	1	24	6,42	4,44	2	1940	2000	60
16/06/03	4	24	6,37	4,26	50	1820	2000	180
18/06/03	6	24	6,25	4,65	47	1910	2000	90
23/06/03	11	24	6,13	4,30	37	1920	2000	80
25/06/03	13	24	7,18	4,36	32	1940	2000	60
27/06/03	15	24	6,52	4,45	31	1940	2000	60
02/07/03	20	24	6,48	4,13	30	1830	2000	170
08/07/03	26	24	6,35	4,22	14	1850	2000	150
10/07/03	28	24	6,25	4,71	49	1825	2000	175

* 0,13 días corresponden a 3 horas.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Blanco. La temperatura y el OD se mantienen dentro de los límites del método. El pH muestra una disminución constante durante el periodo de evaluación y se ajustó el día 13 con NaOH al 50 %. Los valores de DQO obtenidos son menores a 50 ppm y están en el rango normal del método para un blanco.

Tabla XII. Resultados de biodegradación de muestra 1: Solución de prueba.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación D _t (%)
0	1145	5	No definida
0,13	703 (C _A)	5 (C _{BA})	No definida
1	611 (C _{t1})	2 (C _{B1})	12,75
4	667 (C _{t2})	50 (C _{B2})	11,60
6	391 (C _{t3})	47 (C _{B3})	50,72
11	448 (C _{t4})	37 (C _{B4})	41,12
13	328 (C _{t5})	32 (C _{B5})	57,59
15	256 (C _{t6})	31 (C _{B6})	67,77
20	204 (C _{t7})	30 (C _{B7})	75,07
26	190 (C _{t8})	14 (C _{B8})	74,79
28	184 (C _{t9})	49 (C _{B9})	80,66

Biodegradación de muestra 1: Solución de prueba. Se observa un aumento regular y sostenido de la degradación en función del tiempo transcurrido.

La fase de adaptación dura alrededor de 4 días.

Se obtiene una biodegradación de 75.07% en veinte días.

Al término del periodo de prueba (28 días) la muestra se ha degradado un 80,66 %.

Los valores de DQO del blanco presentan una ligera variación que no afecta los resultados.

Tabla XIII. Resultados de biodegradación de muestra 1: Control de inóculo con sacarosa.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación (%)
0	1551	5	No definida
0,13	1506	5	No definida
1	1246	2	17.122
4	295	50	83.678
6	202	47	89.674
11	139	37	93.205
13	98	32	95.603
15	49	31	98.801
20	31	30	99.933
26	31	14	98.867
28	51	49	99.867

Biodegradación de muestra 1: Control de inóculo con sacarosa. No se observa adsorción después de 3 horas de incubación.

No es posible apreciar fase de adaptación.

La biodegradación de 70%, requerida para aceptar el examen es rebasada a los 4 días de iniciada la prueba.

Se verifica que el inóculo y las condiciones experimentales fueron adecuadas para determinar la biodegradabilidad en la muestra 1.

Tabla XIV. Resultados de biodegradación de muestra 1: Eliminación abiótica.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación
0	1551	5	No definida
0,13	1506	5	No definida
1	1246	2	-3.59
4	295	50	33.19
6	202	47	35.15
11	139	37	23.83
13	98	32	23.83
15	49	31	51.14
20	31	30	54.30
26	31	14	57.34
28	51	49	43.42

Biodegradación de muestra 1: Eliminación abiótica. No se observa adsorción de la muestra ya que este ensayo no contiene inóculo al cual se adsorba.

Observamos una biodegradación negativa el primer día, como resultado de los valores tan próximos de DQO en ambos elementos de la ecuación.

Se obtiene una “biodegradación” variable con tendencias a aumentar y una disminución muy drástica de DQO a partir del 4° día (80%) debida a errores en el manejo de este ensayo ya que se derramó la muestra como espuma pues ese día se observa una disminución de volumen de 175 mL.

9.2. Muestra 2

Sustancia evaluada: Muestra de agua residual con una DQO de 622 mg O₂/L.

Inóculo: Lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Ciudad Universitaria UNAM, no adaptados.

Período de evaluación: del 23/03/2004 al 21/04/2004.

Los resultados obtenidos para los cuatro ensayos relacionados con la muestra 2 se presentan en las tablas XV a XVIII y los valores calculados de biodegradación para cada uno se muestran en las tablas XIX y XX.

Tabla XV. Resultados de muestra 2: RP Solución de prueba agua residual.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
23/03/04	0	21,0	7,39	7,35	427	360	394	1700	1700	0
23/03/04	0,15*	23,9	7,62	5,32	412	365	389	1690	1700	10
24/03/04	1	23,0	7,49	4,44	421	335	378	1690	1700	10
26/03/04	3	23,4	8,08	4,99	218	225	222	1690	1700	10
30/03/04	7	19,6	8,27	4,74	174	200	187	1690	1700	10
02/04/04	10	21,2	8,11	5,08	100	92	96	1690	1700	40
05/04/04	14	21,0	8,29	4,29	82	80	81	1680	1700	20
12/04/04	19	22,4	8,25	5,74	114	102	108	1460	1700	240
16/04/04	23	21,8	8,14	6,64	94	95	95	1530	1700	170
21/04/04	28	23,2	7,93	3,20	71	76	74	1370	1700	330

* 0,15 días corresponden a 3,5 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Solución de Prueba. El control de temperatura no fue posible ya que los ensayos se realizaron a temperatura ambiente y se obtienen registros de 19,6 a 23,9 °C, la temperatura fue medida con el termómetro contenido en el equipo medidor de oxígeno disuelto. El pH muestra una tendencia a aumentar ligeramente por lo que no fue necesario ajustarlo durante el periodo de evaluación.

Se observa un mejor control de pérdidas por evaporación de agua.

La disminución de la DQO después de 3,5 horas de incubación es de 1,26 %, que es menor a los límites de desviación del método.

Tabla XVI. Resultados de muestra 2: RC Control del inóculo con sacarosa.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
23/03/04	0	21,0	7,37	7,15	497	510	504	1700	1700	0
23/03/04	0,15*	24,0	7,52	5,34	525	535	530	1700	1700	0
24/03/04	1	23,2	7,45	4,78	466	465	466	1700	1700	0
26/03/04	3	23,9	7,50	4,88	100	101	101	1700	1700	0
30/03/04	7	19,5	7,58	4,20	78	91	85	1700	1700	0
02/04/04	10	21,6	7,74	5,53	78	68	73	1690	1700	10
05/04/04	14	21,2	7,42	4,61	53	69	61	1690	1700	10
12/04/04	19	22,5	7,07	5,52	78	82	80	1700	1700	0
16/04/04	23	22,8	6,98	5,76	46	27	37	1700	1700	0
21/04/04	28	23,3	7,05	2,91	57	48	53	1700	1700	0

* 0,15 días corresponden a 3,5 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Control del inóculo. Las variaciones de temperatura son idénticas a las registradas en la solución prueba. El pH se mantiene en un intervalo de 6,98 a 7,74 con una tendencia a aumentar los primeros 13 días, para después disminuir un poco, no fue necesario ajustarlo.

Las pérdidas de volumen por evaporación se controlaron adecuadamente.

Tabla XVII. Resultados de muestra 2: RS Eliminación abiótica.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
23/03/04	0	21,0	7,43	7,35	326	334	330	1700	1700	0
23/03/04	0,15*	24,1	7,66	5,28	228	236	232	1650	1700	50
24/03/04	1	23,3	7,95	6,85	193	208	201	1700	1700	0
26/03/04	3	24,4	8,29	5,17	263	216	240	1660	1700	40
30/03/04	7	19,6	8,15	4,66	171	180	176	1420	1700	280
02/04/04	10	21,6	8,09	4,34	121	116	119	1610	1700	90

* 0,15 días corresponden a 3,5 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Eliminación abiótica. Se realizó adicionando 200 mg de HgBr₂ cada semana, para asegurar su condición abiótica. Se monitoreo hasta el día 10, porque su evaluación se interrumpió después del segundo fin de semana ya que presentaba una gran pérdida de muestra por formación de espuma.

Tabla XVIII. Resultados de muestra 2: RB Blanco

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
23/03/04	0	21,0	7,40	7,40	18	49	34	1700	1700	0
23/03/04	0,15*	24,0	7,57	6,19	48	62	55	1700	1700	0
24/03/04	1	23,2	7,63	4,66	17	30	24	1680	1700	20
26/03/04	3	24,2	7,67	5,09	54	43	49	1660	1700	40
30/03/04	7	19,6	7,47	4,72	46	30	38	1550	1700	50
02/04/04	10	21,6	7,45	4,42	23	27	25	1610	1700	90
05/04/04	14	21,2	7,36	4,14	19	14	17	1660	1700	40
12/04/04	19	22,7	7,43	5,85	38	44	41	1630	1700	70
16/04/04	23	23,1	7,44	6,57	29	19	24	1690	1700	10
21/04/04	28	23,4	7,21	2,96	43	39	41	1660	1700	40

* 0,15 días corresponden a 3,5 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Blanco. La temperatura, el pH y el OD presentan un comportamiento similar al del control de inóculo y la DQO muestra una variación mínima y valores menores a 50 ppm, que es el límite recomendado para el método.

Tabla XIX. Resultados de biodegradación de muestra 2: Solución de prueba.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación (%)
0	394	34	No definida
0,15	389	55	No definida
1	378	24	1,67
3	222	49	51.90
7	187	38	58.60
10	96	25	80,30
14	81	17	82,20
19	108	41	81,40
23	95	24	80,30
28	74	41	90,80

Biodegradación de muestra 2: Solución de prueba. No es posible observar la duración de la fase de adaptación, entre 1 y 3 días.

No se observa adsorción de la muestra, por el inóculo después de 3,5 horas de incubación.

El límite de biodegradación de 70 % se rebasa el día 10 cuando se obtuvo un 80,3 % de degradación.

Tabla XX. Resultados de biodegradación de muestra 2: Control del inóculo con sacarosa.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación (%)
0	504	34	No definida
0,15	530	55	No definida
1	466	24	6.95
3	101	49	89.05
7	85	38	90.11
10	73	25	89.89
14	61	17	90.74
19	80	41	91.79
23	37	24	97.26
28	53	41	97.47

Biodegradación de muestra 2: Control del inóculo con sacarosa. No se observa fase de adaptación, por ser menor a 3 días.

La variación de DQO entre el t₀ y 3,5 h después de inocular esta dentro de las variaciones que se observan al determinar la DQO, y no hay adsorción.

La biodegradación de 70% se rebasa el 3er. día y se observa una fase de meseta estable.

Se cumplen las condiciones para aceptar el ensayo.

9.3. Muestra 3

Sustancia evaluada: Muestra de agua residual con una DQO de 16 003 mg O₂/L.

Inóculo: Lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales de origen industrial, adaptados al efluente de la planta a la que sirve. No adaptados a la muestra.

Periodo de evaluación: del 05/07/2006 al 19/07/2006.

Observaciones: Prueba confirmatoria de biodegradación negativa. Se evalúa 1 hora (0,04 días) y 3 horas después de inoculada.

Los resultados obtenidos para los cuatro ensayos relacionados con la muestra 3 se presentan en las tablas XXI a XXVI, y los valores calculados de biodegradación para cada uno se muestran en las tablas XXVII a XXIX.

Tabla XXI. Resultados de muestra 3: RP Solución de prueba agua residual.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
05/07/06	0	25	5,81	0,97	577	567	572	1390	2000	0
05/07/06	0,04	25	7,24	1,43	602	637	620	2000	2000	0
05/07/06	0,17*	25	7,21	4,63	583	586	585	1990	2000	10
06/07/06	1	25	7,25	5,39	501	471	486	1990	2000	10
07/07/06	2	25	7,22	1,97	545	513	529	2000	2000	0
10/07/06	5	25	7,23	4,30	342	342	342	1990	2000	10
11/07/06	6	25	7,17	3,33	433	428	431	1990	2000	10
12/07/06	7	25	7,35	5,02	564	530	547	1950	2000	50
14/07/06	9	25	5,70	7,64	489	476	483	1950	2000	50
19/07/06	14	25	6,59	1,74	652	642	647	1840	2000	160

* 0,17 días corresponden a 4 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Solución de prueba. La temperatura no presenta variaciones. El pH muestra una ligera tendencia a disminuir, el día 9 es necesario ajustarlo por tener un valor muy bajo: 5,70. Se observa mucha variación en los registros de OD. Los valores de DQO son reproducibles y no presentan variaciones apreciables entre sí. El control de evaporación de agua fue eficiente y no hay pérdidas apreciables. No se observa disminución de DQO a las 4 h de incubación, se observa un aumento de 2,27 %, que está dentro de los límites de desviación del método.

Tabla XXII. Resultados de muestra 3: RC Control del inóculo con sacarosa.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
05/07/06	0	25	7,73	2,30	676	672	674	1308	2000	0
05/07/06	0,04	25	7,39	1,51	663	661	662	2000	2000	0
05/07/06	0,17*	25	7,41	4,69	663	660	662	2000	2000	0
06/07/06	1	25	7,44	2,64	575	575	575	1990	2000	10
07/07/06	2	25	7,16	1,76	616	600	608	2000	2000	0
10/07/06	5	25	5,90	2,37	440	423	432	1990	2000	10
11/07/06	6	25	7,21	3,88	372	405	389	2000	2000	0
12/07/06	7	25	7,30	2,73	392	342	367	1990	2000	10
14/07/06	9	25	7,54	6,11	285	259	272	2000	2000	0
19/07/06	14	25	7,63	0,41	190	173	182	1980	2000	20

* 0,17 días corresponden a 4 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Control de inóculo. Los valores de temperatura se mantienen constantes. El pH presenta una tendencia a disminuir lentamente, siendo necesario ajustarlo el día 5 que es cuando tiene una disminución muy acentuada (5,9). Los valores de OD se observan muy variables pero son mayores 1 mg/L, la concentración mínima necesaria. Los valores de la DQO son reproducibles entre sí y presentan una tendencia a disminuir lentamente. La disminución después de 4 horas de inoculación es de 1,78 %. No hay pérdidas apreciables de volumen por evaporación de agua.

Tabla XXIII. Resultados de muestra 3: RS Eliminación abiótica.

Fecha	Tiempo	Temp.	pH	OD	DQO	DQO	DQO	Vi	Vf	Ve
	días	°C		mg/L	mg/L	mg/L	Prom.	mL	mL	mL
05/07/06	0	25	5,71	0,46	526	545	535.5	1380	2000	0
05/07/06	0,04	25	7,21	2,67	531	540	535.5	2000	2000	0
05/07/06	0,17*	25	7,21	1,53	520	553	536.5	2000	2000	0
06/07/06	1	25	7,13	2,67	412	455	433.5	1990	2000	10
07/07/06	2	25	7,17	2,18	514	503	508.5	1950	2000	50
10/07/06	5	25	7,16	2,41	430	348	389	1730	2000	270
11/07/06	6	25	7,19	3,80	367	376	371.5	2000	2000	0
12/07/06	7	25	7,19	2,29	416	420	418	2000	2000	0
14/07/06	9	25	7,26	6,00	334	290	312	2000	2000	0
19/07/06	14	25	7,23	1,00	431	414	422.5	1910	2000	90

* 0,17 días corresponden a 4 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Eliminación abiótica. Los valores de temperatura se mantienen constantes

a 25 °C. El pH se ajustó después de adicionar la muestra y se mantiene sin variaciones durante el periodo de evaluación. El OD se observa variable pero superior a 1 mg / L. Los valores de DQO se observan con variaciones a lo largo del periodo de prueba y la disminución más pronunciada, del 27,4% se registra después de un fin de semana coincidiendo con una gran pérdida de volumen

Tabla XXIV. Resultados de muestra 3: RB Blanco.

Fecha	Tiempo días	Temp. °C	pH	OD mg/L	DQO mg/L	DQO mg/L	DQO Prom.	Vi mL	Vf mL	Ve mL
05/07/06	0	25	7,81	1,31	0	0	0	1300	1700	0
05/07/06	0,04	25	7,37	1,35	16	9.6	12.8	2000	1700	0
05/07/06	0,17*	25	7,39	4,99	51	31	41	2000	1700	20
06/07/06	1	25	7,42	2,91	0	0	0	2000	1700	40
07/07/06	2	25	7,42	1,98	36	49	42.5	2000	1700	50
10/07/06	5	25	7,49	4,28	34	44	39	1990	1700	90
11/07/06	6	25	7,47	3,14	10	22	16	2000	1700	40
12/07/06	7	25	7,47	2,89	25	36	30.5	2000	1700	70
14/07/06	9	25	7,51	6,09	38	26	32	2000	1700	10
19/07/06	14	25	7,25	0,42	25	39	32	1900	1700	40

* 0,17 días corresponden a 4 horas.

DQO Prom. Demanda química de oxígeno promedio.

Vi Volumen inicial.

Vf Volumen final.

Ve Volumen evaporado.

Blanco. Los registros de temperatura y pH se observan con variaciones mínimas. El pH con una ligera tendencia a disminuir, sin ser necesario su ajuste. Los valores de OD con la variación presente en los otros ensayos relacionados. La DQO con valores reproducibles entre sí y con variaciones propias del método. Las pérdidas de volumen por evaporación fueron mínimas.

Tabla XXV. Resultados de biodegradación de muestra 3: Solución de prueba.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación (%)
0	572	0	No definida
0.04	620	13	No definida
0.17	585	41	No definida
1	486	0	10.58
2	529	43	10.58
5	342	39	44.25
6	431	16	23.74
7	547	31	5.06
9	483	32	17.11
14	647	32	-13.16

Biodegradación de muestra 3: Solución de prueba. No se observa adsorción inicial, pero el comportamiento de los valores de la DQO sugieren que la eliminación de DQO al 5° día y su recuperación al 7° día se debe a una adsorción lenta en los lodos y una desorción causada por la intoxicación del inóculo.

Durante los 14 días que duró la prueba no se logra identificar una tendencia a la degradación, lo que confirma la evaluación anterior por lo que se suspendió el ensayo. A los 14 días, tiempo en que el control presentó el 75,91 % de biodegradación.

Tabla XXVI. Resultados de biodegradación de muestra 3: Control del inóculo con sacarosa.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación (%)
0	674	0	No definida
0.04	662	13	No definida
0.17	662	41	No definida
1	575	0	7.33
2	608	43	8.94
5	432	39	36.74
6	389	16	39.97
7	367	31	45.85
9	272	32	61.32
14	182	32	75.91

Biodegradación de muestra 3: Control del inóculo con sacarosa. Se observa una fase de adaptación mayor a 2 días pero menor de 5 días. El límite de 70% de degradación es rebasado el día 14. Se cumplen las condiciones necesarias para aceptar el ensayo.

Tabla XXVII. Resultados de biodegradación de muestra 3: Eliminación abiótica.

Tiempo días	DQO Mta. mg O ₂ /L	DQO Bco. mg O ₂ /L	Biodegradación (%)
0	536	0	No definida
0.04	536	13	No definida
0.17	537	41	No definida
1	434	0	12.51
2	509	43	6.05
5	389	39	29.36
6	372	16	28.25
7	418	31	21.90
9	312	32	43.49
14	423	32	21.19

Biodegradación de muestra 3: Eliminación abiótica. Se observa una degradación en el día 5 del 29.4%, que se explica por pérdida de muestra por formación de espuma durante el fin de semana (tabla XXIII). El aumento de eliminación observado el día 9 se explica por error en la determinación de la DQO en ese día, ya que la siguiente determinación (día 14) muestra un valor cercano al del día anterior (día 7).

10. Análisis de resultados

En la Prueba de Zhan-Wellens se evalúa la biodegradabilidad de las sustancias en un medio mineral mínimo y empleando como única fuente de carbono a la sustancia evaluada. Para esto es necesario el control óptimo de los factores que afectan el metabolismo, y en consecuencia el crecimiento bacteriano.

Propiamente se realiza un cultivo bacteriano a escala de laboratorio, donde se emplean como reactores frascos de vidrio, controlando los factores abióticos que favorecen la biodegradabilidad.⁸

En el método se indica el empleo de condiciones de oscuridad o luz difusa porque es necesario el asegurar que no existen condiciones para que organismos fotosintéticos, que pudieran estar presentes en el inóculo, proliferen y afecten los resultados de COD y DQO medidos como evidencia de la degradación de las sustancias. Así mismo es necesario evitar las condiciones favorables para la presencia de foto oxidación que pudiera afectar los resultados.⁵

La incubación se realiza a una temperatura de 20 a 25 °C, para facilitar el metabolismo de los microorganismos empleados en el inóculo, que provienen de una planta de tratamiento de aguas residuales. Y así mantener la velocidad de degradación constante en el transcurso de la determinación.^{5, 7}

En el método de biodegradabilidad de Zahn-Wellens se ajusta el pH en un rango de 6,5 a 8,0 que favorece el metabolismo de bacterias y células eucariontes superiores presentes en el inóculo; para conservarlo se emplea un buffer de fosfato de potasio adicionado en el medio mineral y se monitorea regularmente, ajustándolo al rango de trabajo cuando es necesario.^{6, 7}

Los métodos de prueba normalizados por la OECD son principalmente de biodegradación aeróbica, o sea que se realizan en presencia de oxígeno y requieren de un inóculo aerobio. La concentración de oxígeno en el medio de cultivo se mantiene burbujeando aire comprimido, se homogeniza agitando el cultivo mecánicamente y manteniendo la temperatura controlada. Se monitorea periódicamente para asegurar la bio oxidación completa del sustrato, y su concentración deberá ser superior a 1 mg de O₂/L.^{5, 6}

La composición del medio de prueba empleado en el método de Zhan-Wellens se muestra en la tabla XXVIII.

Se tiene una fuente única de carbono y energía que son los compuestos orgánicos contenidos en el agua residual y los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento del inóculo empleado.¹⁰

Tabla XXVIII. Composición del medio de prueba en el método de Zhan-Wellens.

Ingrediente	Cantidad (mg/L)
Sustancia a evaluar	100-1 000 mg DQO /L
Fosfato dipotásico	0,085
Fosfato monopotásico	0,217
Fosfato disódico	0,334
Sulfato de magnesio	0, 023
Cloruro de amonio	0,005
Cloruro de calcio	0,027
Cloruro férrico	0,0003
Agua desionizada	1 L

El inóculo empleado en el método de Zhan-Wellens deberá provenir de una planta de tratamiento de aguas residuales de origen municipal, para favorecer la diversidad y actividad del inóculo.^{3,9}

10.1. Muestra 1

La figura 6, muestra el gráfico obtenido con los datos calculados para la muestra 1.

Esta gráfica corresponde a la biodegradación de una muestra de agua residual con una DQO de 3 664 mg de O₂/L que se diluyó 1:4 aproximadamente. La composición de la muestra es desconocida y por su comportamiento se puede inferir que se trata de una mezcla de productos fácilmente biodegradables con otros de degradación más retardada. A este comportamiento se le conoce como diauxia.^{9, 10, 13}

Debido a esto se aprecian cuatro fases de adaptación y cuatro fases de degradación consecutivas. La línea horizontal en el gráfico (fig. 6) señala el valor límite de 70 % de biodegradabilidad alcanzado en 20 días, para considerar finalmente a la muestra como 75 % biodegradable en 25 días.

La disminución en el valor de biodegradación observado en los días 4 y 12, se deben a un aumento en la DQO del medio de cultivo, causado por lisis de los microorganismos incapaces de adaptarse al nuevo medio, seguido de un segundo periodo de crecimiento, llamado crecimiento críptico.^{5, 7}

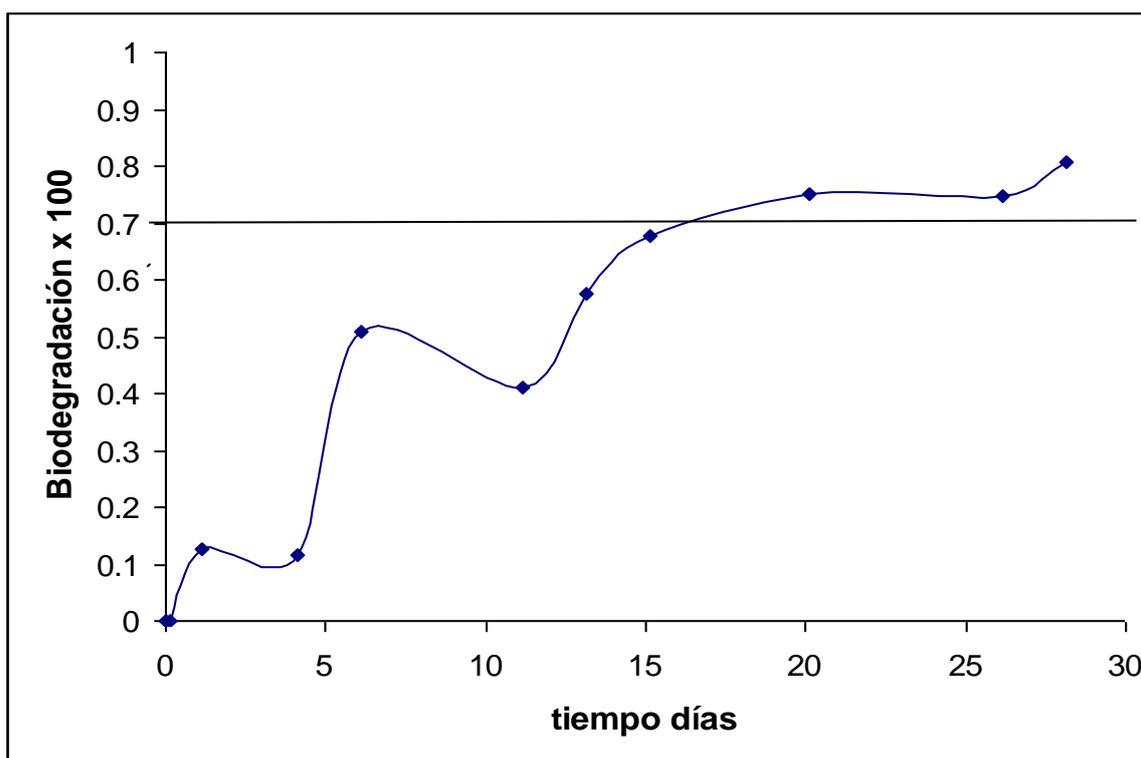


Figura 6. Gráfica de biodegradación de la muestra 1: Agua residual.

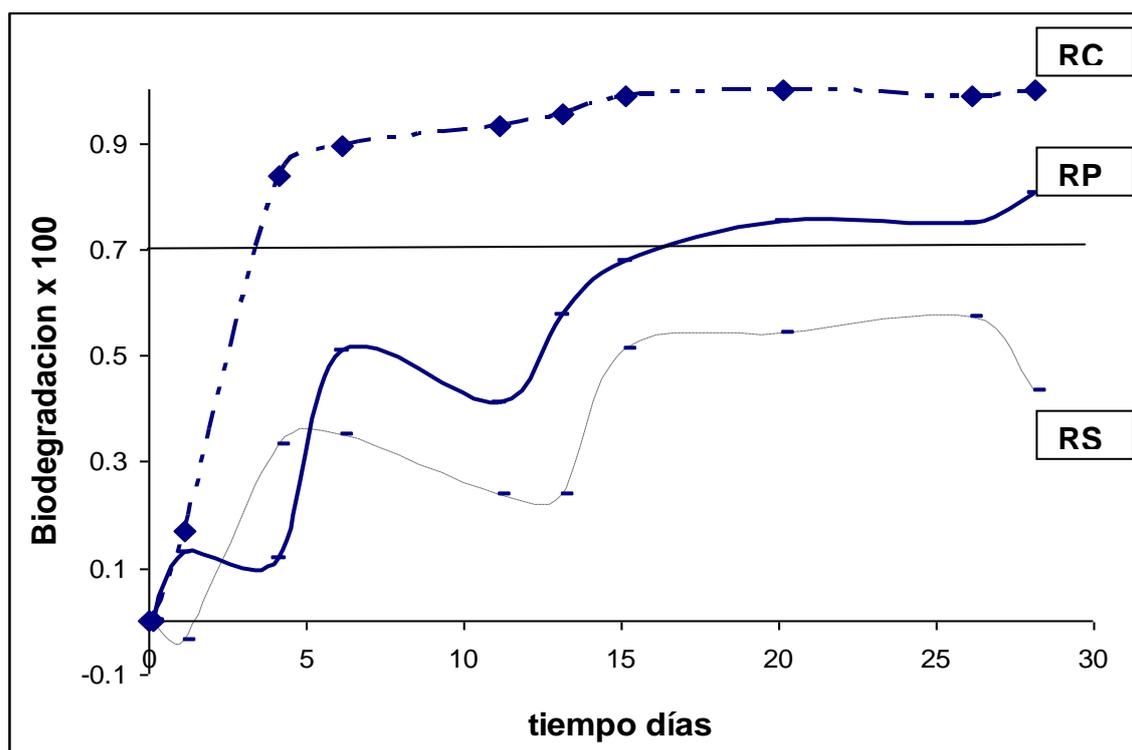
El comportamiento de degradación observado en la muestra 1 se explica considerando las adaptaciones metabólicas realizadas por los microorganismos presentes en el inóculo al ser expuestos a un medio orgánico diferente al de su desarrollo:

Inicialmente degradan los compuestos de fácil difusión a través de su membrana y para los cuales poseen el sistema enzimático necesario para su aprovechamiento. En una proporción apreciable muere una cantidad incapaz de adaptarse y competir por la fuente de carbono, cuya lisis aumenta ligeramente la DQO del medio. Las biomoléculas liberadas sirven como alimento a los microorganismos sobrevivientes y adaptados que siguen descomponiendo la fuente de carbono hasta agotarla, mientras mueren los incapaces de aprovechar la fuente de carbono más compleja presente en el medio, los más adaptados continúan la segunda etapa de crecimiento crítico presente en la gráfica, presentando una degradación del 80 % de alimento después de 28 días, que es el periodo mínimo de evaluación de acuerdo al método.^{7, 8, 9, 10, 11 y 12}

Finalmente se concluye que la muestra 1 presenta una biodegradación del 80,8 % en un periodo de 28 días.

En la figura 7 se muestra el gráfico de los tres ensayos asociados con esta evaluación: Degradación de muestra, control del inóculo con sacarosa y

eliminación abiótica.



RP Agua residual. RC Control del inóculo con sacarosa. RS Eliminación abiótica.

Figura 7. Gráfica integrada de evaluación de la biodegradación muestra 1.

En esta gráfica se observa que el comportamiento de la biodegradabilidad está relacionado con el de la eliminación abiótica que se presenta en la muestra, puesto que tienen un comportamiento similar y se puede deber a la presencia de productos volátiles en la muestra o hidrólisis de los componentes a productos volátiles que son “arrastrados” por el aire suministrado, mientras que las sustancias solubles en agua y no volátiles son degradadas por los microorganismos presentes en el inóculo.¹⁴

El ensayo de biodegradación abiótica fue realizado sin inóculo y se observa una disminución de la DQO de 21,36% después de 3 horas de incubación (Tabla X). Que se debe principalmente a la evaporación y arrastre por aire de los componentes volátiles (solventes) presentes en el agua residual evaluada. En el cálculo de la biodegradación este valor es considerado en el cociente de la fórmula y su efecto es constante en la grafica de resultados.

El comportamiento del control de inóculo con sacarosa es adecuado, ya que presenta un perfil característico de degradación de sustratos en un medio microbiano (fig. 3).

En la gráfica mostrada en la figura 7 no se observa fase lag en el control del inóculo y de la muestra porque el sistema enzimático de los microorganismos presentes en el inóculo, era el necesario para degradar el

sustrato presente. En el caso del control de inóculo el sustrato es sacarosa, un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una molécula de fructosa³⁹, para poder asimilarlas solo es necesaria la presencia de amilasa para hidrolizar el enlace glucosídico¹¹ que las une y su aprovechamiento por la célula es muy fácil, ya que ambas moléculas están presentes en las rutas metabólicas más comunes.⁴

En la gráfica de control de inóculo se observan las fases de crecimiento bacteriano, como consecuencia del consumo del sustrato adicionado, la ausencia o corta duración de la fase de adaptación es un indicador favorable del estado fisiológico del inóculo empleado, se distingue una fase de consumo de sacarosa tipo exponencial y en la etapa correspondiente a la fase estacionaria la sacarosa se ha agotado por lo tanto los valores de DQO son constantes y en consecuencia no hay aumento en la degradación.⁶

Es por esto que el método indica la necesidad de realizar la evaluación de control del inóculo, para confirmar que las condiciones abióticas para el desarrollo del inóculo fueron las adecuadas.

En este caso se desarrolló adecuadamente la evaluación y la muestra es biodegradable, aunque se debe considerar la adsorción al inóculo observada al inicio de la prueba (17,27%) ya que puede presentar acumulación en un sistema de tratamiento biológico y su subsiguiente intoxicación.

10.2. Muestra 2

Este ensayo se realizó en una muestra de agua residual con una DQO de 622 mg O₂/L y se diluyó 30%, hasta obtener una DQO de 400 mg O₂/L para poder adicionar el medio mineral y el inóculo, se empleó un volumen total de 1,7 L.

La figura 8 muestra el gráfico correspondiente a la biodegradación calculada para la muestra 2.

Se observan un comportamiento diáuxico¹⁰ con dos etapas de degradación y se alcanza el límite de 70 % a los 10 días, continuando la degradación hasta llegar al 90 % en 28 días.

La fase de adaptación inicial presenta una ligera disminución de la degradación, debida a la desviación del método para determinar la DQO y el efecto de estos valores en los elementos de la ecuación para el cálculo de la biodegradación. En la tabla XVII se observa una tendencia constante a la disminución de la DQO en el líquido filtrado, lo que descarta la lisis de los

microorganismos al introducirlos en un medio diferente.

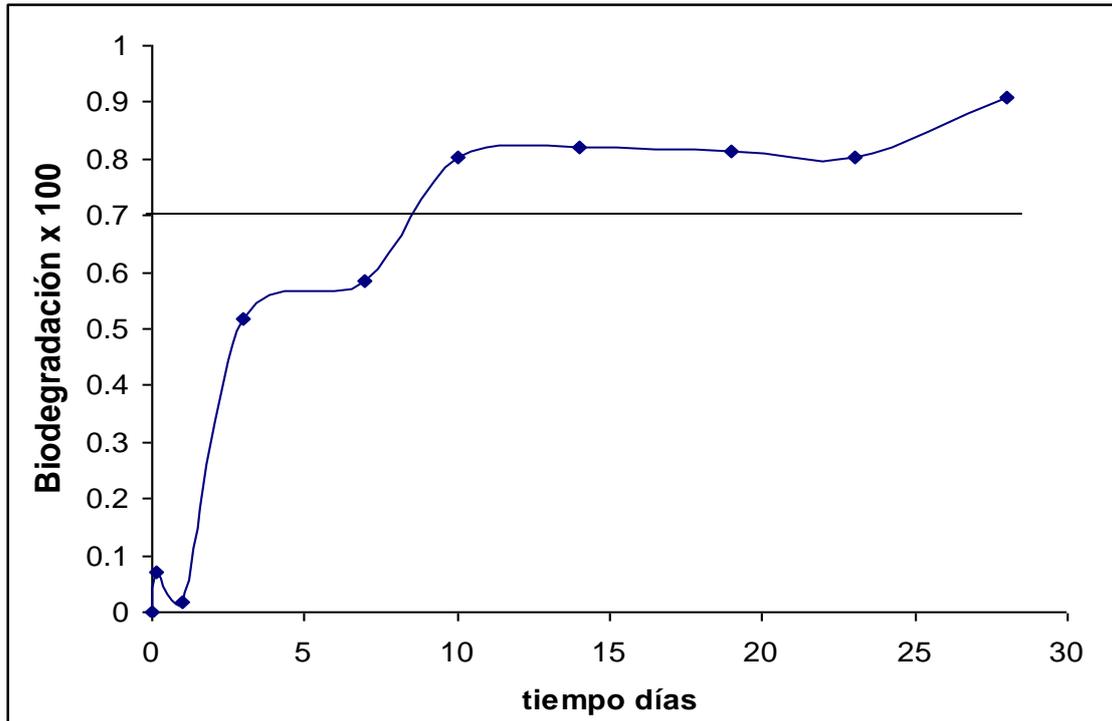


Figura 8. Gráfica de biodegradación muestra 2: Agua residual.

Mientras que en la tabla XX se aprecian valores de DQO del blanco con variaciones menores a 50 mg O₂/L, que es el límite de aplicación del método,²⁸ considerando que la degradación se calcula dividiendo la diferencia de valores de DQO de la muestra y del blanco, entre la diferencia de valores de DQO iniciales de los mismos ensayos, este elemento se convierte en una constante para cada valor de degradación:

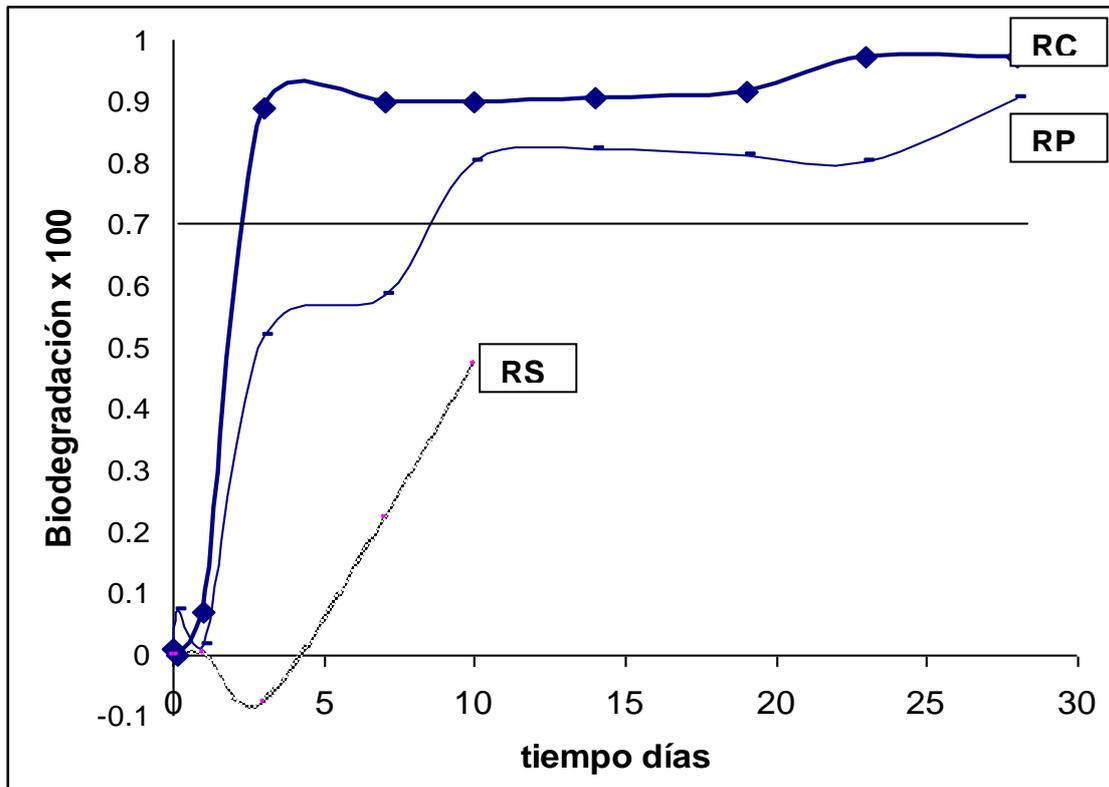
$$D_t = 1 - \left[\frac{C_t - C_B}{C_A - C_{BA}} \right] \times 100 = 1 - \frac{(\text{DQO mta } t_n - \text{DQO bco } t_n)}{(\text{DQO mta } t_0 - \text{DQO bco } t_0)}$$

Al t_{3h} en el ensayo de la muestra se obtiene una DQO de 389 y en el blanco una DQO de 55, lo que resulta en 389-55= 334, el valor del dividendo en la ecuación, en el ensayo de la muestra al t_{24h} una DQO de 378, y en el blanco una DQO de 24 resultando un valor de 354 para el dividendo de la ecuación. Y al realizar la división y resta obtenemos un valor mayor en el segundo juego de datos con respecto al primer juego.

Es por lo anterior que no se presenta muerte de una fracción del inóculo en la fase de adaptación y la disminución de la degradación es el resultado de las variaciones del método de análisis. (Tabla XXI)

La figura 9 comprende los tres ensayos realizados en esta determinación.

Se observa una curva de degradación característica para el control del inóculo (sacarosa) con una fase de adaptación corta, 1 día; y se degrada un 89,05 % en 3 días. Cumpliendo las condiciones indicadas por el método para acreditar la determinación: Se empleó un inóculo viable y las variables ambientales fueron controladas correctamente.



RP Agua residual. RC Control del inóculo con sacarosa. RS Eliminación abiótica.

Figura 9 Gráfica integrada de valores de muestra 2.

La eliminación abiótica fue suspendida por la formación excesiva de espuma y pérdida de muestra por esta causa. Debido a la presencia de componentes tensoactivos en la muestra, ésta se diluyó poco por lo que no fue posible controlar la espuma sin afectar la determinación.

En este caso la biodegradabilidad fue de 90,83 % en un período de 28 días y se puede considerar el tratamiento biológico como una opción para este tipo de agua residual.

10.3. Muestra 3

La muestra 3 es agua residual con una DQO de 16 000 mgO₂/L se diluyó para obtener una DQO de 572 mg O₂/L, en proporción de 1:32 con un volumen final de 2,0 L. En esta determinación se emplearon lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales de origen industrial como

inóculo.

En la figura 10 se muestra la gráfica obtenida con los valores calculados para el agua residual.

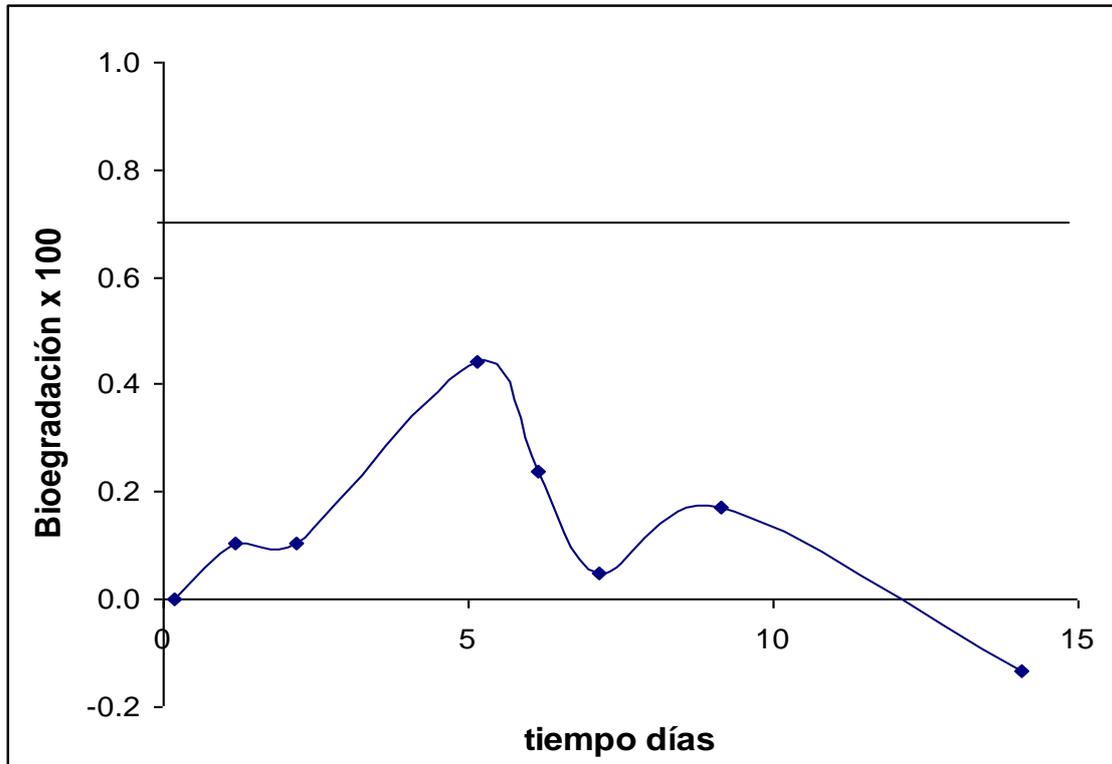


Figura 10. Biodegradabilidad muestra 3: agua residual.

La gráfica muestra una primera etapa de adaptación, seguida por una disminución en la DQO, lo que resulta en un aumento en la degradación hasta el día 5. Después de este día se observa una disminución en la degradación, o sea un aumento en la DQO con valores cercanos a la DQO inicial, un leve incremento en el día 9 y finalmente una caída por debajo de cero. No se llega al límite de 70 % y el ensayo se interrumpe a los 15 días de iniciado.

Este comportamiento se explica considerando que se tiene una población de microorganismos, que intenta adaptarse al nuevo medio en el que son introducidos; inicialmente degradan una pequeña fracción del sustrato y aparentemente degradan el 40 % del mismo los primeros cinco días de incubación.^{4,6}

Este aumento en la degradación puede ser consecuencia de los factores abióticos presentes en el sistema como son la volatilización y la sorción de los componentes de la muestra por el inóculo.¹⁴

Después del quinto día los microorganismos incapaces de utilizar el sustrato, o intoxicados por la absorción del mismo, mueren y liberan

materiales intracelulares al medio que incrementan su DQO, los más resistentes degradan una porción de estos materiales y después del noveno día de incubación mueren causando un aumento en la DQO del medio consecuencia de la lisis de los mismos.

El valor negativo de biodegradación al término de la evaluación se debe a un aumento en la DQO con respecto a la DQO inicial.

En la figura 11 se presenta la grafica de los ensayos relacionados con la evaluación de esta muestra.

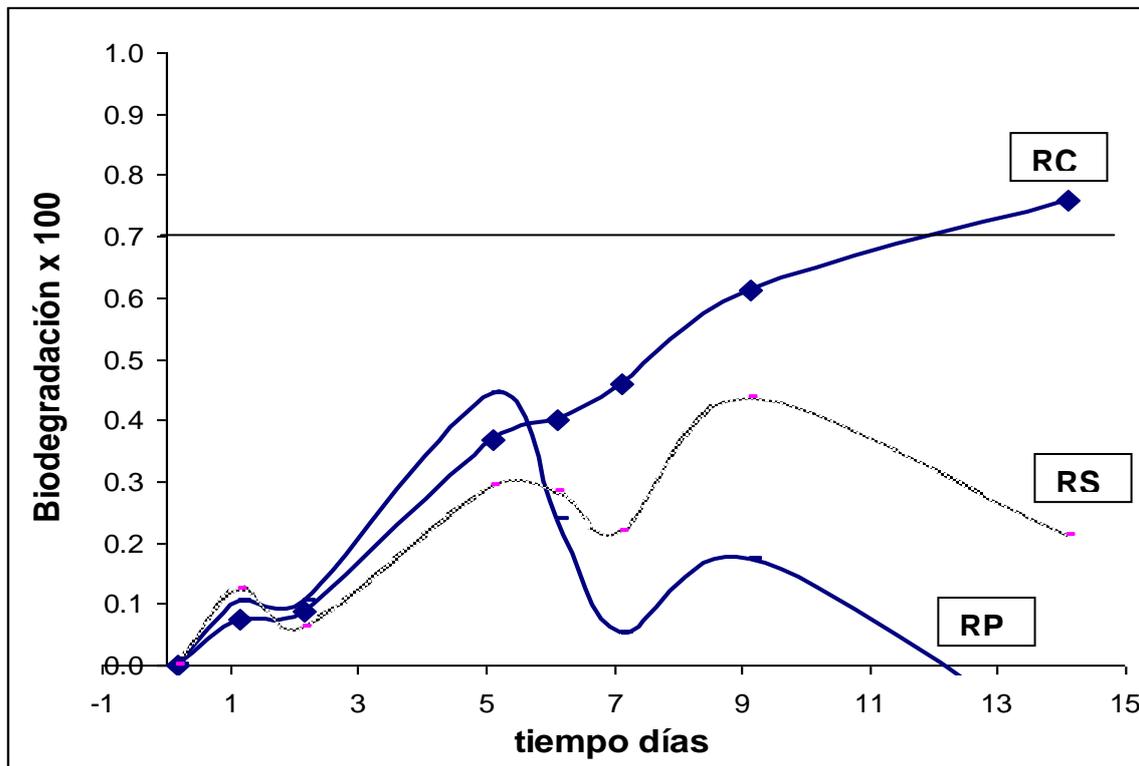


Figura 11. Gráfica integrada de valores de muestra 3.

Se aprecia que la eliminación abiótica (RS) es de hasta 43 % el noveno día, el aumento se explica por error en la determinación de la DQO en ese día, ya que la siguiente determinación (día 14) muestra un valor cercano al del día anterior (día 7), y no es posible que este control abiótico disminuya su DQO y después la incremente de forma tan marcada.

La degradación del 29.4% en el día 5, se explica por pérdida de muestra en forma de espuma durante el fin de semana. (Tabla XXV)

El control del inóculo con sacarosa (RC) muestra una fase lag propia de una población no adaptada al sustrato proporcionado, con un ligero

comportamiento diáuxico, ya que la sacarosa es un disacárido compuesto por dos azúcares diferentes (glucosa y fructosa) que son empleados como dos fuentes de carbono por el inóculo.

A pesar de la lenta respuesta del inóculo a una molécula de fácil degradación, se obtienen las condiciones indicadas por el método para aceptar el resultado: La prueba se considera valida si el control de inóculo muestra la remoción del compuesto de referencia de al menos 70% dentro de 14 días.

En la figura 12 se observa la diferencia en el comportamiento de los inóculos sobre el mismo sustrato.

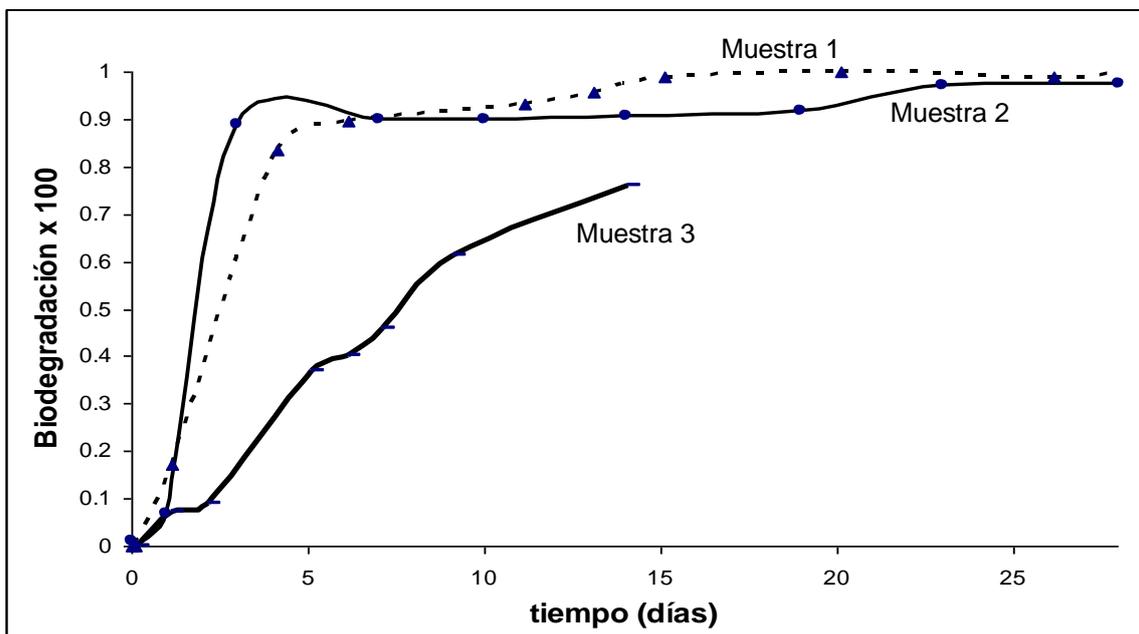


Figura 12. Biodegradación de sacarosa en las tres muestras.

En la muestra 3 se empleó como inóculo lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales de origen industrial, a diferencia de las muestras 1 y 2 donde se emplearon lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales de origen municipal cuya diversidad microbiana es amplia.²⁶

Se observa la importancia que tiene la fuente del inóculo en la velocidad de degradación del mismo sustrato en condiciones similares de incubación.

10. Conclusiones.

- Se establecieron las condiciones materiales para realizar la prueba de biodegradabilidad por el método de Zhan-Wellens modificado en un laboratorio de análisis ambiental.
- Es posible emplear el método de biodegradabilidad intrínseca de Zhan-Wellens para evaluar la biodegradabilidad aerobia de aguas residuales de origen industrial.
- Se cuenta con una prueba de biodegradabilidad para evaluar la factibilidad de tratamiento aerobio de aguas residuales.
- En las pruebas de biodegradabilidad la velocidad de la biodegradación es afectada directamente por la fuente del inóculo.
- Es necesario el realizar el estudio de degradación abiótica en las evaluaciones de biodegradabilidad, para tener una mejor interpretación de los resultados obtenidos.

11. Propuestas y/o recomendaciones.

- ❖ Se recomienda emplear los estándares propuestos por el método OECD 302B para el control del inóculo.
- ❖ Es necesario el realizar los ensayos de biodegradabilidad por duplicado para identificar las fuentes de error.
- ❖ Validar el método de Zhan-Wellens con diferentes estándares.
- ❖ Se recomienda establecer las condiciones necesarias para la realización de pruebas de simulación para la determinación de la biodegradabilidad.

Referencias.

- 1) Biodegradabilidad. Microsoft® Student 2006 [DVD]. Microsoft Corporation, 2005. Microsoft Encarta 2006. 1993-2005 Microsoft Corporation.
- 2) Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for Testing of Chemicals. Vol. II Paris 1999.
- 3) Cardinale PP, Bookland EA. El Significado Ambiental de las Pruebas de Biodegradabilidad, y un Ensayo Recomendado para América Latina. Procter and Gamble Latinoamérica. M 108.USA. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/repidisca.Id.85554>. Acceso 25 julio 2007.
- 4) Wackett LP. Biocatalysis and biodegradation. ASM Press. American Society of Microbiology. USA 2001.
- 5) Fuerst R. Microbiología de Frobisher y Fuerst. Editorial Interamericana. México 1981.
- 6) Wang DIC, Coney CL, Demian AL, Dunnill P, Humprey AE, Lilly MD Fermentation and enzyme technology. Jhon Wiley & Sons. USA 1979.
- 7) Ketchum PA. Microbiology. Concepts and applications. Jhon Wiley & Sons. USA 1988.
- 8) Demain AL, Julian ED. Editors. Manual of industrial microbiology and biotechnology. 2^a Edition. American Society of Microbiology. USA 1999
- 9) Pitter P, Chudoba J. Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment. CRC Press USA 1990 p. 87-147.
- 10) Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS, Wood WB, McCarty M. Tratado de microbiología. Salvat editores S.A. España 1980.
- 11) Lehninger AL. Bioquímica. Ediciones Omega. Barcelona, España 1980.
- 12) Vázquez-Rodríguez GA, Beltrán HRI. Pruebas normalizadas para la evaluación de la biodegradabilidad de sustancias químicas. Una revisión. *INCI*, oct. 2004, vol.29, no.10, p.568-573. ISSN0378-1844. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo>. Acceso 3 marzo 2007.

- 13) Martin A. Biodegradation and bioremediation. Academic Press 2^a Edition. USA 1999.
- 14) Grady L, Daigger GT, Lim HC. Biological wastewater treatment. Marcer Dekker Inc. 2^a Edition USA 1999
- 15) <http://ecb.jrc.it/documents/TestingMethods/ANNEXV/C09web1988.pdf>
Acceso 25 julio 2007.
- 16) World Health Organization. Guideline for drinking water. Consultada en: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/S02.pdf. Acceso 30 julio 2007.
- 17) Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Estados Unidos Mexicanos 1996.
- 18) Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Estados Unidos Mexicanos 1996.
- 19) Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Estados Unidos Mexicanos 1997.
- 20) Secretaría de Salud 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. Estados Unidos Mexicanos 1994.
- 21) Secretaría de Salud NOM-041-SSA1-1993. Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias. Estados Unidos Mexicanos 1993.
- 22) Regula La Peña M. Tratamiento de Aguas Residuales. Ed. Alfaomega. Colombia 1999.

- 23) Clesceri LS, Greenberg AE, Trussell RR. Editors. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association 17th Edition Washington D.C. USA 1989.
- 24) Secretaría de Economía. Dirección General de Normas. NMX-AA-034-SCFI-2001 Análisis de Agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. Estados Unidos Mexicanos 2001.
- 25) Ayres GH, Análisis químico cuantitativo. Ed. Harla S.A. de C.V. México 1970.
- 26) Winkler MA: Tratamiento biológico de aguas de desecho. Ed. Limusa México 1986.
- 27) Secretaría de Economía. Dirección General de Normas. NMX-AA-028-SCFI-2001 Análisis de Agua-Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba. Estados Unidos Mexicanos 2001.
- 28) Secretaria de Economía. Dirección General de Normas. NMX-AA-030-SCFI-2001 Análisis de Agua-Determinación de la Demanda Química de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas. Estados Unidos Mexicanos 2001.
- 29) Secretaría de Economía. Dirección General de Normas. NMX-AA-008-SCFI-2000 Análisis de Agua - Determinación del pH - Método de prueba. Estados Unidos Mexicanos 2000.
- 30) Enciclopedia Científica Larousse. Editorial Larousse. México 1996. Vol I, p.120.
- 31) Holum JR. Fundamentos de Química General, Organica y Bioquímica para Ciencias de la Salud. Ed. Limusa. México 2001.
- 32) Secretaría de Economía. Dirección General de Normas. NMX-AA-007-SCFI-2000 Análisis de Agua - Determinación de la temperatura en Aguas naturales y residuales - Método de prueba. Estados Unidos Mexicanos 2000.

33) Secretaría de Economía. Dirección General de Normas. NMX-AA-012-SCFI-2001 Análisis de Agua – Determinación de Oxígeno Disuelto en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas- Método de prueba. Estados Unidos Mexicanos 2001.

34) Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for Testing of Chemicals. OECD 302 B Paris1981 Disponible en : <http://ecb.jrc.it/documents/Testing-Methods/ANNEXV> Acceso 25 julio 2007.

35) Ley de Aguas Nacionales. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales México. Consultada en: <http://www.Conagua.gob.mx/eCONAGUA/Espaniol/Directorio/Default.aspx>. Acceso 16 octubre 2007.

36) Secretaría de Economía Dirección General de Normas. Consultada en: <http://www.economia.gob.mx/?P=204#Normalización>. Acceso 16 octubre 2007.

37) <http://www.Conagua.gob.mx/eCONAGUA/Espaniol/Directorio/Default.aspx>. Acceso 16 octubre 2007.

38) Ley Federal de Derechos. México. Consultada en: <http://www.Conagua.gob.mx/eCONAGUA/Espaniol/Directorio/Default.aspx>. Acceso 16 octubre 2007.

39) Windholz M. Editor. The Merck Index. Merck & Co. Inc. USA 1976.