



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

BIODEGRADACIÓN DEL HERBICIDA ATRAZINA POR UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE LOS  
CANALES DE XOCHIMILCO

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN INGENIERÍA

PRESENTA  
QFB CITLALY MARISOL HERNÁNDEZ ARRIAGA

TUTOR PRINCIPAL

DRA. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍGUEZ, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

COMITÉ TUTORAL

DRA. ANNE MARGRETHE HANSEN HANSEN, INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA, UNAM

DR. FEDERICO GARCÍA JIMÉNEZ, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

DRA. GEORGINA FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ, FACULTAD DE INGENIERÍA

M. C. ELSA LETICIA VALIENTE RIVEROS, PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA CD. MX, AGOSTO 2017



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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** DRA. HANSEN HANSEN ANNE

**SECRETARIO:** DRA. FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ GEORGINA

**VOCAL:** DR. GARCÍA JIMÉNEZ FEDERICO ALFREDO

**1 ER. SUPLENTE:** M. C. VALIENTE RIVEROS ELSA LETICIA

**2 DO. SUPLENTE:** DRA. DURAN DOMÍNGUEZ MARÍA DEL CARMEN

**LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:** LABORATORIOS 301, 302 Y 303 DEL EDIFICIO DE INGENIERÍA QUÍMICA AMBIENTAL Y QUÍMICA AMBIENTAL. CONJUNTO E. FACULTAD DE QUÍMICA. CIUDAD UNIVERSITARIA.

**TUTOR DE TESIS:** DRA. MARÍA DEL CARMEN DURAN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE:** QFB CITLALY MARISOL HERNÁNDEZ ARRIAGA

\_\_\_\_\_

## Declaratoria

“Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al alcance que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o con referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante los recursos editoriales convencionales”

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke extending to the right.

**Citlaly Marisol Hernández Arriaga**

## Reconocimientos

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca 417786 otorgada*

*Al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, PAIP, Clave 5000-9067*

*Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT, dentro del proyecto de Clave IN10-2214*

*A los Programas de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza, PAPIIME, con Claves PE10-0514, EN10-3704 y PE10-1709*

*A la Coordinación de Estudios de Posgrado y al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la UNAM por el apoyo económico brindado para la presentación parcial de este trabajo en el XII Simposio Latinoamericano de Química Analítica y Ambiental / XII LASEAC realizado en Manizales, Colombia*

*Al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD por sus siglas en alemán) por la donación del equipo de nitrógeno Kjeldahl Büchi, útil en la realización de esta investigación*

*A la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la UNAM y al Dr. Víctor Zaldívar Machorro por la disponibilidad para la realización del análisis de muestras de esta investigación*

*A la Asociación Restauración Ecológica y Desarrollo A.C, REDES, por el fundamental apoyo brindado para la realización del trabajo de campo en los Canales de Xochimilco, en especial a la M. en C. Elsa Valiente y a los C. José Luis Severiano Domínguez y Renato Flores González*

*Al Comité Tutoral por sus valiosas aportaciones a esta investigación y cuidadosa revisión que mejoró el documento final*

## Presentación en eventos

Hernández-Arriaga, Citlaly Marisol, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Biodegradación de la biodegradación del herbicida atrazina por un consorcio microbiano aislado de los Canales de Xochimilco. *Primer Congreso Internacional de Ingeniería Ambiental (CINAM)*. 21 al 23 de febrero de 2017. Villahermosa, Tabasco, México

Hernández-Arriaga, Citlaly Marisol, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Biodegradation of the herbicide atrazine by a microbial consortium isolated from the channels of Xochimilco. *XL Nacional de Microbiología*. 2 de 5 de abril de 2017. Guadalajara, Jalisco, México

Hernández-Arriaga, Citlaly Marisol, Borja-Urzola, Arany del Carmen, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Estudio mediante EFS-CG-DIF de la biodegradación del herbicida atrazina por un consorcio microbiano aislado de los canales de Xochimilco. *XII Simposio Latinoamericano de Química Analítica y Ambiental*. 25 al 27 de abril de 2017. Manizales, Colombia

Hernández-Arriaga, Citlaly Marisol. Biodegradación de herbicidas por un consorcio microbiano aislado de los canales de Xochimilco, Ciudad de México. Seminarios Académicos Mensuales de Ingeniería y Química Ambientales. Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental. Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, UNAM. Julio 28, 2017. Auditorio del Conjunto E. Ciudad Universitaria, Ciudad de México, México

## Contenido

Declaratoria.....	III
Reconocimientos.....	IV
Presentación en eventos.....	V
Contenido.....	VI
Índice de Figuras.....	X
Índice de Gráficas.....	X
Índice de Tablas.....	XI
Glosario.....	1
Abreviaturas.....	3
Resumen.....	4
Abstract.....	5
Capítulo 1. Problemática.....	6
1.1. Justificación.....	6
1.2. Introducción.....	7
1.3. Objetivos.....	8
1.3.1. Objetivo general.....	8
1.3.2. Objetivos particulares.....	8
1.4. Hipótesis.....	8
1.5. Alcances.....	8
Capítulo 2. Marco teórico.....	10
2.1. Plaguicidas.....	10
2.2. Atrazina.....	12
2.2.1. Generalidades sobre la atrazina.....	12
2.2.2 Biodegradación de la atrazina.....	15
2.2.3. Marco legal de la atrazina.....	17
2.4. Xochimilco, área de estudio.....	18
2.5. Estudios toxicológicos.....	19
Capítulo 3. Metodología.....	21
3.1. Tratamiento general.....	21
3.2.2. Toma de muestra de agua superficial en el sistema de canales de Xochimilco.....	23
3.2.3. Métodos de determinación de características fisicoquímicas de las muestras de agua.....	24

3.2.4. Método de aislamiento, cultivo e identificación de grupos bacterianos .....	25
3.2.5. Selección de pruebas bioquímicas para la identificación de las cepas aisladas .....	25
3.2.6. Conteos bacterianos por la técnica de Miles y Misra (1938) .....	26
3.2.7. Extracción en fase sólida EFS (SPE) seguida de cromatografía de gases con detector de ionización de flama CG-DIF (GC-FID) o cromatografía de líquidos de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos CLAR-DAD (HPLC-DAD) .....	26
3.2.8. Aislamiento y mantenimiento de una especie de microalga silvestre empleada para bioensayos de toxicidad.....	26
3.2.9. Bioensayos con atrazina y sus productos metabólicos empleando una especie de microalga silvestre.....	26
3.3 Análisis estadístico de los resultados experimentales .....	27
Capítulo 4. Resultados y discusión .....	28
4.1. Caracterización fisicoquímica del agua proveniente de Xochimilco por punto de muestreo .....	28
4.1.1. Determinación de materia orgánica medida como DQO (mg O <sub>2</sub> /L) y DBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /L).....	28
4.1.2. Determinación de fósforo total, P <sub>total</sub> (mg /L) .....	28
4.1.3. Determinación de especies de nitrógeno medidos como NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg /L), NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg /L), NTK (mg /L), N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg /L), N <sub>org</sub> (mg /L).....	30
4.1.4. Potencial de hidrógeno, pH (unidades) .....	30
4.1.5. Temperatura, °C .....	33
4.1.6. Oxígeno disuelto, OD (mg /L) .....	34
4.2. Composición del agua sintética de trabajo.....	34
4.3. Aislamiento y mantenimiento del consorcio bacteriano con posible capacidad para degradar atrazina .....	35
4.4 Adaptación de las cepas bacterianas aisladas de los canales de Xochimilco .....	36
4.5 Cinéticas de degradación de atrazina (conteos microbianos) .....	37
4.6 Cinéticas de degradación de atrazina (resultados analíticos) .....	39
4.7 Parámetros cinéticos y tiempo de vida media.....	41
4.8 Efecto tóxico de la atrazina y sus metabolitos en un alga silvestre .....	42
Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones .....	44
5.1 Conclusiones .....	44
5.2 Recomendaciones .....	45
ANEXOS .....	46
Anexo 1. Equipos empleados y análisis químicos realizados .....	47
A.1.1. Equipos empleados .....	47
A.1.2. Determinaciones fisicoquímicas en el laboratorio .....	48
A.1.2.1. Demanda química de oxígeno. NMX-AA-030-SCFI-2001. Método de reflujo cerrado-método espectrofotométrico .....	48



A.1.2.2. Demanda bioquímica de oxígeno. NMX-AA-028-SCFI-2001. Método electrométrico.....	50
A.1.2.3. Fósforo total. NMX-AA-029-SCFI-2001. Método ácido vanadomolibdofosfórico.....	50
A.1.2.4. Determinación de nitratos. NMX-AA-082-1986. Método espectrofotométrico ultravioleta.....	52
A.1.2.5. Determinación de nitritos. Sreekumar et al. (2003). Método de diazotización simple .....	53
A.1.2.6. Nitrógeno total, amoniacal y orgánico Kjeldahl. Método particular del equipo BÜCHI .....	54
A.1.3 Resultados particulares de la determinación fisicoquímica del agua de Xochimilco .....	56
A.1.3.1 Valores para la demanda química de oxígeno, DQO .....	56
A.1.3.2 Valores para la demanda bioquímica de oxígeno, DBO <sub>5</sub> .....	57
A.1.3.3 Valores para fósforo total, P <sub>tot</sub> .....	58
A.1.3.4 Valores para nitratos, N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .....	59
A.1.3.5 Valores para nitritos, N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> .....	60
A.1.3.6 Valores para nitrógeno total Kjeldahl, NTK .....	61
A.1.3.7 Valores para nitrógeno amoniacal, N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .....	62
A.1.3.8 Valores para nitrógeno orgánico, N-N <sub>org</sub> .....	63
A.1.3.9 Valores para el potencial de hidrógeno, pH .....	64
A.1.3.10 Valores para la temperatura, °C .....	65
A.1.3.11 Valores para el oxígeno disuelto, OD .....	66
Anexo 2. Formulación básica del agua sintética con base en la caracterización fisicoquímica de las muestras obtenidas de los canales de Xochimilco .....	67
Anexo 3. Tratamiento microbiológico de las muestras de agua .....	69
A.3.1 Medios de cultivo empleados en el aislamiento, mantenimiento y siembra de los microorganismos extraídos de las muestras de agua .....	69
A.3.2. Realización de la muestra compuesta y su siembra por dilución seriada.....	69
A.3.3. Técnica de tinción de Gram.....	69
A.3.4 Pruebas bioquímicas para la identificación de las cepas bacterianas aisladas .....	70
Anexo 4. Cinética de degradación de atrazina. Conteos microbianos .....	72
A.4.1 Preparación de los inóculos bacterianos para el proceso de adaptación y biodegradación .....	72
A.4.2 Conteo por la técnica de Miles y Misra (1938).....	72
A.4.3 Conteos en el proceso de adaptación al agua sintética.....	73
A.4.4 Conteos en el proceso de adaptación a la atrazina .....	73
A.4.5 Conteos en la biodegradación.....	73
Anexo 5. Cinética de degradación de atrazina. Parte analítica-instrumental .....	75
A.5.1 Preparación de biorreactores para la fase de biodegradación .....	75
A.5.2 Características de estándares y su preparación .....	75

A.5.3 Extracción en fase sólida y cromatografía de gases con detector de ionización de flama y cromatografía de líquidos de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos .....	76
A.5.3.1 Extracción en fase sólida (SPE) .....	76
A.5.3.1 Métodos cromatográficos.....	76
A.5.3.2 Curvas patrón de los compuestos de estudio .....	77
A.5.3.3 Cuantificación cromatográfica de la biodegradación de la atrazina y la aparición de los productos metabólicos.....	79
A.5.3.4 Balance de masa de la biodegradación de la atrazina.....	83
A.5.3.5 Cálculo de los parámetros cinéticos y analíticos en la biodegradación de la atrazina.....	83
A.5.3.5.1 Tiempo de generación (g) .....	84
A.5.3.5.2 Constante de crecimiento (k) .....	84
A.5.3.5.3 Velocidad de división ( $\mu$ ).....	84
A.5.3.5.4 Constante de degradación (k') .....	84
A.5.3.5.5 Tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ).....	85
Anexo 6. Prueba de toxicidad en una especie de alga silvestre.....	86
A.6.1. Aislamiento y mantenimiento del alga silvestre Chlorococcum sp .....	86
A.6.2 Bioensayo de toxicidad en el alga silvestre Chlorococcum sp .....	86
Anexo 7. Acervo fotográfico .....	87
A.7.1. Puntos de muestreo y su clasificación con base en el uso del suelo .....	87
A.7.2. Aislamiento de los diferentes microorganismos con potencial de degradar atrazina por el método de dilución seriada y extendido en placa .....	87
A.7.3. Pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias aisladas de los canales de Xochimilco.....	87
A.7.4. Reactores (matraces) usado en la fase de biodegradación de atrazina .....	87
A.7.5. Cromatogramas obtenidos en la fase analítica de la biodegradación de atrazina .....	87
A.7.6. Microalga empleadas para la fase de toxicidad .....	87
Anexo.8 Análisis estadístico de los resultados obtenidos .....	94
A.8.1 Análisis estadístico del desarrollo bacteriano con las diferentes concentraciones de atrazina .....	94
A.8.2 Análisis estadístico de la biodegradación de la atrazina a sus diferentes concentraciones .....	95
A.8.3 Análisis estadístico del desarrollo de la biomasa algal en comparación con los dos tratamientos ATZ a 5 mg/L y mezcla de metabolitos.....	95
Anexo 9. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación .....	97
Bibliografía .....	98

## Índice de Figuras

Figura 2-1. Estructura química de la atrazina .....	12
Figura 2-2. Ruta de mineralización de la atrazina y sus productos de degradación .....	15
Figura 2-3. Localización de la Delegación de Xochimilco del Valle de México .....	18
Figura 3-1. Resumen gráfico de las etapas del trabajo experimental .....	20, 21
Figura 3-2. Mapa de la distribución de los puntos de muestreo en la zona lacustre de Xochimilco.....	22
Figura A-0. Conteo microbiológico por la técnica de Miles y Misra (Sivams, 2016) .....	71
Figura A-1. Biorreactores a diferentes concentraciones de atrazina al día cinco del estudio.....	88
Figura A-2. Cromatograma de DIA, DEA y ATZ por <i>CG-FID</i> .....	89
Figura A-3. Cromatograma de DEA y ATZ día 6 concentración 15 ppm .....	89
Figura A-4. Determinación de AC y HA por <i>HPLC-DAD</i> .....	90
Figura A-5. Cromatograma AC y HA día 30 concentración 15 mg/L .....	90
Figura A-6. Microalga <i>Chlorococcum sp.</i> .....	90

## Índice de Gráficas

Gráfica 4-1. Comparación del comportamiento de la DBO <sub>5</sub> y la DQO en los diferentes muestreos con desviación estándar .....	28
Gráfica 4-2. Comparación de la DBO <sub>5</sub> y en la DQO en las diferentes zonas de muestreo con desviación estándar .....	28
Gráfica 4-3. Comparación de los nutrientes en los diferentes muestreos.....	30
Gráfica 4-4. Comparación de los nutrientes en los diferentes muestreos por zona de muestreo.....	31
Gráfica 4-5 Valores de pH en los diferentes meses por punto de muestreo .....	32
Gráfica 4-6. Comportamiento de la temperatura (°C) durante los diferentes meses de muestreo.....	32
Gráfica 4-7. Comportamiento del parámetro de oxígeno disuelto en los diferentes muestreos .....	33
Gráfica 4-8. Adaptación de las cepas aisladas al agua residual sintética. ....	36
Gráfica 4-9. Adaptación a la atrazina (datos promedio) .....	36
Gráfica 4-10. Biodegradación de atrazina (conteos bacterianos).....	37
Gráfica 4-11. Comparación del desarrollo del consorcio microbiano respecto a las diferentes concentraciones de atrazina .....	38
Gráfica 4-12. Comparación de la degradación de atrazina respecto a la concentración de prueba .....	39
Gráfica 4-13. Seguimiento de la biodegradación de la atrazina durante los 30 días de estudio .....	40
Gráfica 4-14. Concentración de los productos de biodegradación durante los 30 días de estudio .....	40

Gráfica 4-15. Comparación de la producción de biomasa algal obtenida por tratamiento.....	42
Gráfica A-1. Curva patrón para la demanda química de oxígeno, DQO.....	48
Gráfica A-2. Curva de calibración de fósforo total.....	50
Gráfica A-3. Curva patrón para nitratos (NO <sub>3</sub> ).....	51
Gráfica A-4. Curva patrón para nitritos (NO <sub>2</sub> ).....	53
Gráfica A-5. Curva patrón para DEA, DIA y ATZ.....	77
Gráfica A-6. Curva patrón AC y HA.....	77
Gráfica A-7. Fase exponencial de la curva de crecimiento para la concentración de 5 mg/L.....	83

## Índice de Tablas

Tabla 2-1. Clasificación de los plaguicidas según la plaga que controlan.....	9
Tabla 2-2. Propiedades fisicoquímicas y ecotoxicológicas de la atrazina (PPDB, 2015).....	13
Tabla 3-1. Zonas y coordenadas de los puntos de estudio dentro de los canales de Xochimilco.....	22
Tabla 3-2. Características de la toma de muestra para su análisis fisicoquímico.....	23
Tabla 4-1. Composición del agua sintética de trabajo.....	34
Tabla 4-2. Características las cepas aisladas e identificadas de los canales de Xochimilco.....	35
Tabla 4-3 Condiciones de trabajo para la etapa de biodegradación.....	37
Tabla 4-4. Porcentaje de biodegradación de atrazina y aparición de sus productos metabólicos.....	38
Tabla 4-5. Balance de materia para las tres diferentes concentraciones de atrazina para el día 30 de experimentación.....	40
Tabla 4-6. Porcentaje de biodegradación de atrazina y aparición de sus productos metabólicos.....	41
Tabla 4-7. Masa seca de la especie algal <i>Clorococcum</i> sp. en presencia de atrazina y sus productos de degradación.....	42
Tabla A-1. Equipos utilizados.....	46,47
Tabla A-2. Preparación de disoluciones estándar de la curva patrón.....	47,48
Tabla A-3. Alícuotas de siembra para DBO <sub>5</sub> .....	49
Tabla A-4. Curva patrón para fósforo total.....	50
Tabla A-5. Curva patrón para nitratos.....	51
Tabla A-6. Preparación de la curva patrón de NO <sub>2</sub> .....	52
Tabla A-7. Valores promedio de DQO en mg O <sub>2</sub> /L para los diferentes muestreos.....	55
Tabla A-8. Valores en mg/L de la DBO <sub>5</sub> en los diferentes muestreos.....	56
Tabla A-9. Valores de P <sub>total</sub> en mg/L en los diferentes muestreos.....	57

Tabla A-10. Valores de NO <sub>3</sub> en mg/L en los diferentes muestreos .....	58
Tabla A-11. Valores de NO <sub>2</sub> en mg/L en los diferentes muestreos .....	59
Tabla A-12. Valores de NTK en mg/L en los diferentes muestreos .....	60
Tabla A-13. Valores de N-NH <sub>4</sub> en mg/L en los diferentes muestreos .....	61
Tabla A-14. Valores de N <sub>org</sub> en mg/L en los diferentes muestreos .....	62
Tabla A-15. Valores de pH en los diferentes muestreos .....	63
Tabla A-16. Valores de temperatura en °C en los diferentes muestreos .....	64
Tabla A-17. Valores de OD en mg/L los diferentes muestreos .....	65
Tabla A-18. Medios de cultivo empleados.....	68
Tabla A-19. Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de las cepas aisladas de los canales de Xochimilco .....	69, 70
Tabla A-20. Conteos obtenidos al agua residual sintética. ....	72
Tabla A-21. Conteos microbianos de adaptación a la atrazina. ....	72
Tabla A-22. Conteos microbianos en la etapa de biodegradación de atrazina. ....	73
Tabla A-23. Identificación de los estándares y su preparación .....	74
Tabla A-24. Procedimiento para llevar a cabo la extracción en fase sólida de la atrazina y sus metabolitos de estudio. ....	75
Tabla A-25. Métodos cromatográficos empleados en la determinación de ATZ, DEA, DIA, AC y HA.....	75, 76
Tabla A-26. Curva patrón para DIA, DEA y ATZ .....	76
Tabla A-27. Curva patrón AC y HA .....	77
Tabla A-28. Datos cromatográficos para la determinación de la biodegradación de atrazina .....	79, 80, 81
Tabla A-29. Datos empleados en el cálculo de los parámetros cinéticos .....	82
Tabla A-30. Condiciones de mantenimiento del alga utilizada .....	84
Tabla A-31. Puntos de muestreo .....	86, 87
Tabla A-32. Aislamiento de colonias por extendido en placa de diluciones seriadas .....	87
Tabla A-32. Pruebas bioquímicas de mayor importancia para la identificación de las bacterias con capacidad de degradar atrazina .....	88
Tabla A-34. Desarrollo experimental del bioensayo de toxicidad .....	91

**Nota: Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)**

## Glosario

<b>CE<sub>50</sub> (48, mg/L)</b>	Concentración obtenida estadísticamente o estimada gráficamente, que causa algún efecto determinado en el 50% de un grupo de organismos de prueba (Evans <i>et al.</i> , 2003)
<b>Acuminado, a</b>	Que acaba en punta, disminuyendo gradualmente
<b>Chinampa</b>	Son pequeños islotes ya consolidados y fijos, donde se cultivan hortalizas o jardines pequeños. Etimología: de <i>chinámitl</i> , tejido de ramas o cañas, y <i>pan</i> , encima de (Cabrera, 2002)
<b>CI<sub>50</sub> (48 h,mg/L)</b>	Concentración obtenida estadísticamente o estimada gráficamente, que causa la inhibición de una característica estudiada en el 50% de un grupo de organismos de prueba (Evans <i>et al.</i> , 2003)
<b>CL<sub>50</sub> (96 h,mg/L)</b>	Concentración obtenida estadísticamente o estimada gráficamente, que causa la muerte en un 50% de un grupo de organismos de prueba (Evans <i>et al.</i> , 2003)
<b>Coefficiente de partición octanol-agua a pH 7 y 20°C (log P<sub>ow</sub>)</b>	Es la relación entre la concentración de un compuesto químico en la fase de n-octanol y en la fase acuosa a un pH de 7 con una temperatura de 20°C. Es una medida de la hidrofobicidad o la afinidad hacia compuestos grasos de una sustancia disuelta en agua (BVSDE, 2015)
<b>Constante de disociación ácida (pK<sub>a</sub>) a 25°C</b>	La constante de disociación $K_a$ se define como una relación entre las concentraciones de ácido disociado y sin disociar. El $pK_a$ , es el resultado de $-\log_{10} K_a$ . De esta manera, para los ácidos fuertes, con valor elevado de $K_a$ , el $pK_a$ es bajo, mientras que, en ácidos débiles, con $K_a$ de poco valor, el $pK_a$ es elevado (Hawley, 2008)
<b>Constante de la ley de Henry a 20°C</b>	Es la cantidad de gas disuelto en un líquido a una temperatura constante de 20°C, la cual es directamente proporcional a la presión parcial que ejerce ese gas sobre el líquido. Esta constante también es conocida como el coeficiente de partición aire/agua. Es un indicador de la solubilidad de la fracción gaseosa de una sustancia en un líquido, específicamente en agua. Un plaguicida con un valor elevado de la constante de la ley de Henry se volatilizará o evaporará fácilmente de los cuerpos de agua o del suelo húmedo y se dispersará a través de la atmósfera (INECC, 2015)
<b>Consumo diario aceptable (mg/kg.día)</b>	Es una dosis diaria que, ingerida durante todo el período vital, parece no entrañar riesgos apreciables para la salud del consumidor, sobre la base de todos los hechos conocidos en el momento de la evaluación de la sustancia química, por la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas. Se expresa en miligramos de sustancia química por kilogramo de masa corporal (CODEX, 2015)
<b>Cuerpo léntico</b>	Es un ambiente de agua dulce particularmente “quieta” como lagos, pantanos, estanques, charcos, cenotes, lagunas (Evans <i>et al.</i> , 2003)
<b>Cuerpo lótico</b>	Es un hábitat de agua dulce “corriente” como los ríos, manantiales y arroyos (Evans <i>et al.</i> , 2003)
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda bioquímica de oxígeno después de cinco días: Medición de la descomposición de los contaminantes biodegradables durante el tiempo que tardaba en llegar un agua residual contaminada desde la ciudad de Londres a través del río Támesis al Mar del Norte (nota de la tutora)
<b>DBO<sub>u</sub></b>	Demanda bioquímica de oxígeno última: Medición de la descomposición de los contaminantes biodegradables durante el tiempo que sea necesario para que se haya consumido toda la materia orgánica e inorgánica disuelta en el agua en estudio y que es biodegradable (nota de la tutora)
<b>DL<sub>50</sub> (mg/kg)</b>	Dosis obtenida estadísticamente o estimada gráficamente, que causa la muerte del 50% de un grupo de organismos de prueba (Evans <i>et al.</i> , 2003)
<b>Dosis de referencia aguda (mg/kg.día)</b>	Es una estimación de la cantidad de una sustancia en un alimento o en agua, normalmente expresada sobre la base de la masa corporal de un organismo, que se puede ingerir en un

	periodo de 24 h o menos sin que haya un riesgo apreciable para la salud del consumidor (CODEX, 2015)
<b>Factor de bioconcentración (BCF, en inglés)</b>	Se define como el cociente entre la concentración de un contaminante en un organismo o en un tejido, después de un largo periodo de exposición, dividido por la concentración del contaminante en el medio (BVSDE, 2015). Su valor se calcula como: BCF = Concentración en el organismo (mg/kg) / Concentración en el medio (mg/kg)
<b>Índice potencial de lixiviación (L)</b>	Índice que se basa en las propiedades fisicoquímicas de los contaminantes y las características del suelo, para indicar la capacidad de un compuesto a lixivarse. El potencial de lixiviación puede calcularse a partir de la ecuación: $L = \frac{S * t_{1/2}}{P_v} * \log K_{oc}$ donde: <i>S</i> es la solubilidad de las sustancias en agua, <i>t<sub>1/2</sub></i> es la vida media ambiental del contaminante, <i>P<sub>v</sub></i> es la presión de vapor del contaminante y <i>K<sub>oc</sub></i> es el coeficiente de absorción octanol-carbono orgánico (BVSDE, 2015)
<b>Masa molecular</b>	Es la suma de las masas atómicas en una molécula. Para calcularla, es necesario saber las masas atómicas de cada uno de los elementos que forman parte del compuesto (Hawley, 2008)
<b>Nombre IUPAC</b>	Es el nombre en latín que identifica inequívocamente a un compuesto o elemento químico basado en un conjunto de reglas fijadas por el sistema de nomenclatura estequiométrico o sistemático de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, en inglés) (Hawley, 2008)
<b>Número CAS</b>	Es un número de identificación permanente, inconfundible y único que otorga el Servicio de Resúmenes Químicos de la Sociedad Química Estadounidense ( <i>Chemical Abstract Service</i> o CAS) a cada sustancia descrita en la literatura, incluyendo a los plaguicidas. Alrededor del mundo se reconoce al número CAS como un estándar aceptado para definir y describir a las sustancias (INECC, 2015)
<b>Presión de vapor a 25°C (mPa)</b>	La presión de vapor es una medida de la volatilidad de una sustancia; es decir, de su capacidad para pasar de un estado líquido o sólido a uno gaseoso y, por lo tanto, de pasar de un medio como el suelo, las plantas o los cuerpos de agua a la atmósfera a una temperatura de 25°C. Un plaguicida con una presión de vapor mayor de 1.0 X 10 <sup>-6</sup> mm Hg pueden volatilizarse fácilmente y contaminar el aire (INECC, 2015)
<b>Punto de ebullición (°C)</b>	Temperatura a la cual se produce el cambio de estado de una materia que pasa de líquido a gaseoso (Hawley, 2008)
<b>Punto de fusión (°C)</b>	Temperatura a la cual una materia que se halla en estado sólido pasa a su estado líquido. Es una propiedad física intensiva de la materia -esto quiere decir que no está ligada a la cantidad de sustancia- (Hawley, 2008)
<b>Seguimiento (monitoreo)</b>	Es el proceso sistemático de recolectar, analizar y utilizar información para dar continuidad al progreso de un programa en pos de la consecución de sus objetivos y para guiar las decisiones de gestión (OMS, 1997)
<b>Solubilidad en agua 20°C (mg/L)</b>	Es la capacidad que posee una sustancia para poder disolverse en un litro de agua a una temperatura de 20°C (Hawley, 2008)
<b>Solubilidad en disolventes orgánicos a 20°C (mg/L)</b>	Es la capacidad que posee una sustancia para poder disolverse en volumen determinado de un disolvente de origen orgánico a una temperatura de 20°C (Hawley, 2008)
<b>Xochimilco</b>	Localidad al sur de la Ciudad de México, formada sobre el lago del mismo nombre por la agregación de chinampas. Etimología: lugar de la sementera de flores; de <i>xóchitl</i> , flor, <i>mili</i> , sementera y <i>co</i> , terminación locativa (Cabrera, 2002)

## Abreviaturas

<b>AC</b>	Ácido cianúrico
<b>ATZ</b>	Atrazina
<b>DBO</b>	Demanda bioquímica de oxígeno
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda bioquímica de oxígeno al día cinco
<b>DBO<sub>u</sub></b>	Demanda bioquímica de oxígeno última
<b>CG-FID</b>	Cromatografía de gases con detector de fotoionización de flama
<b>CLAR-DAD</b>	Cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de arreglo de diodos
<b>DEA</b>	Desetilatrazina
<b>DIA</b>	Deisopropilatrazina
<b>DIDEA</b>	Deisopropil-desetilatrazina
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>EFS</b>	Extracción en fase sólida
<b>EMB</b>	Siglas en inglés para el medio eosina-azul de metileno; <i>EMB</i> , en inglés, <i>eosin-methylene blue medium</i>
<b>g</b>	Tiempo de generación de microorganismos (Anexo A.5)
<b>GC-FID</b>	Siglas en inglés para cromatografía de gases con detector ionización de flama; <i>GC-DIF</i> , en inglés, <i>gas chromatography-detector ionization flame</i>
<b>HA</b>	Hidroxiatrazina
<b>HPLC-DAD</b>	Siglas en inglés para cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de arreglo de diodos; <i>HPLC-DAD</i> , en inglés, <i>high performance liquid chromatography diode array detector</i>
<b>k</b>	Constante de crecimiento o proliferación de microorganismos (Anexo A.5)
<b>k'</b>	Constante de degradación (Anexo A.5)
<b>LC</b>	Límite de cuantificación
<b>LD</b>	Límite de detección
<b>μ</b>	Velocidad o rapidez de división celular (Anexo A.5)
<b>MSA</b>	Siglas en inglés para agar sal-manitol, <i>MSA</i> , en inglés <i>mannitol-salt agar</i>
<b>NTK</b>	Siglas para nitrógeno total Kjeldahl
<b>P, P<sub>Total</sub></b>	Contenido de fósforo total
<b>PDA-C</b>	Siglas en inglés para agar papa-dextrosa con cloranfenicol; <i>PDA-C</i> , en inglés, <i>potato-dextrose agar with chloramphenicol</i>
<b>SPE</b>	Siglas en inglés para extracción en fase sólida, <i>SPE</i> , en inglés <i>solid phase extraction</i>
<b>SDT</b>	Sólidos disueltos totales
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Tiempo de vida media de los microorganismos (Anexo A.5)
<b>UFC/mL</b>	Unidades formadoras de colonias por mililitro



## Resumen

La atrazina (ATZ) es un herbicida ampliamente usado por su capacidad de afectar el Fotosistema II de la fotosíntesis, eliminando las malezas de hoja ancha que compiten por el espacio y nutrientes del suelo con los cultivos pese al grado de toxicidad que posee para anfibios y mamíferos. La vía de mayor importancia para la eliminación de este plaguicida es la degradación biológica ya que, durante la biodegradación, los microorganismos utilizan la atrazina como fuente de energía, dando paso a metabolitos de toxicidad variable como desetilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA), ácido cianúrico (AC) e hidroxiatrazina (HA). La zona lacustre de Xochimilco está formada por un conjunto de humedales, canales y chinampas. A nivel mundial se encuentra incluida en la Lista de Humedales de Importancia Internacional. Sin embargo, se ha encontrado una pérdida de la calidad ambiental la cual se atribuye principalmente a la mala calidad del agua, al cambio de uso de suelo agrícola a urbano sin un sistema de drenaje adecuado y al uso excesivo de agroquímicos. Para su estudio, el lago de Xochimilco se divide en cuatro zonas de acuerdo con el uso principal actual: chinampera, urbana, turística y mixta. De estas zonas se extrajeron muestras puntuales de agua superficial y fueron analizadas microbiológicamente para lograr el aislamiento de cepas bacterianas capaces de degradar el compuesto atrazina en condiciones de laboratorio. Las cepas aisladas se identificaron y adaptaron al plaguicida para finalmente realizar las cinéticas de degradación a 15, 10 y 5 mg/L de atrazina, a las cuales se les dio seguimiento mediante conteos microbianos y CG-FID (*GC-FID*) para la cuantificación de ATZ, DIA y DEA y CLARIDAD (*HPLC-DAD*), para AC y HA. La toxicidad de los productos de degradación resultantes de la etapa de biodegradación se evaluó con el desarrollo -medido en masa seca- de la especie de alga *Chlorococcum sp.* Las bacterias *Nocardia sp.*, *Bacillus megaterium*, *Morococcus sp.* y *Agrobacterium* resultaron ser cepas, que, en consorcio, lograron degradar la atrazina en un porcentaje que va desde el 33.73 hasta 51.30%. Con una constante de crecimiento ( $k$ ), un tiempo de generación ( $g$ ) y una velocidad de división ( $\mu$ ) para 15, 10 y 5 mg/L de: 16.52, 0.0419 d, 23.85 d<sup>-1</sup>; 16.62, 0.0417 d y 23.99 d<sup>-1</sup>; 16.67, 0.0416 d y 24.05 d<sup>-1</sup>, respectivamente. Esto da un tiempo de vida media para la atrazina en un intervalo de 29 hasta 51 días para las tres concentraciones, mientras que para el blanco sin microorganismos resultó teóricamente de 736 días. La ATZ a una concentración de 5 mg/L afecta significativamente el desarrollo algal, al igual que la mezcla de DEA, AC y HA, con respecto a un blanco.

Palabras clave: Biodegradación, atrazina, consorcio microbiano, canales de Xochimilco

## Abstract

*Atrazine (ATZ) is a widely-used herbicide due to its ability to affect the Photosystem II, eliminating broadleaf weeds that compete for space and soil nutrients with crops despite the degree of toxicity it has in amphibians and mammals. The most important pathway for the elimination of this pesticide is biological degradation since, during biodegradation, microorganisms use atrazine as a source of energy, giving rise to metabolites of variable toxicity such as desethylatrazine (DEA), deisopropylatrazine (DIA), hydroxytriazine (HA) and cyanuric acid (CA). The Xochimilco channels consists wetlands, channels and chinampas. Globally it is included in the List of Wetlands of International Importance. However, the loss of environmental quality is attributed mainly to poor water quality, to the change of use from agricultural to urban land without adequate sewage installations, and excessive use of agrochemicals. For its study, the lake of Xochimilco has been divided into four zones according to its main current use: chinampera, urban, touristic, and mixed. From these areas, individual samples were extracted from surface water and microbiologically analyzed to achieve the isolation of bacteria capable of degrading this compound under laboratory conditions. The isolated strains were identified and adapted to the pesticide to finally perform the degradation kinetics at 15, 10, and 5 mg/L of atrazine. Monitoring microbial counts and GC-FID for the quantification of ATZ, DIA, and DEA, and HPLC-DAD for CA and HA was carried out. The toxicity of the degradation products that resulted of the biodegradation step was evaluated by the development -measured as dry mass- of the algae species *Chlorococcum* sp. The bacteria *Nocardia* sp., *Bacillus megaterium*, *Morococcus* sp., and *Agrobacterium* sp. were strains that, in a consortium, were able to degrade atrazine in percentages ranging from 33.73 to 51.30%. The growth constants ( $k$ ), generation time ( $g$ ), and division rate ( $\mu$ ) were, for 15, 10, and 5 mg/L, 16.52, 0.0419 d, 23.85 d<sup>-1</sup>; 16.62, 0.0417 d, 23.99 d<sup>-1</sup>; 16.67, 0.0416 d and 24.05 d<sup>-1</sup>, respectively. With these consortia, the average life span for atrazine in the environment ranged from 29 to 51 days for the three concentrations studied, while for the blank samples without microorganisms it was theoretically 736 days. ATZ at a concentration of 5 mg/L significantly affect algal development, and the same phenomenon occur with mixture of DEA, AC, and HA.*

**Key Words:** *Biodegradation, atrazine, microbial consortia, Xochimilco channels*

## Capítulo 1. Problemática

### 1.1. Justificación

El rápido desarrollo humano, económico y tecnológico ha provocado el uso inadecuado del agua, recurso natural escaso e indispensable para la vida humana. La calidad del ambiente ha sufrido un alarmante deterioro debido al uso -durante décadas- de toneladas de sustancias biológicamente activas. Estas sustancias, sintetizadas para su uso en la agricultura, la industria y la medicina, entre otras, han sido vertidas al ambiente sin reparar en las posibles consecuencias (Barceló y López, 2008).

Dichas sustancias biológicamente activas son mejor conocidas como contaminantes emergentes. Son compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el ambiente no se considera significativa en términos de distribución y/o concentración. No obstante, tienen el potencial de acarrear un impacto ecológico, así como efectos adversos sobre la salud (Stuart *et al.*, 2012). Se ha establecido que estos compuestos entran al medio a través de fuentes como: el agua residual de tipo doméstico e industrial (Daughton, 2004; Fent *et al.*, 2006), los efluentes hospitalarios (Kummerer, 2001), las actividades agrícolas y ganaderas (Watanabe *et al.*, 2010) y los tanques sépticos (Swartz *et al.*, 2006), entre otros, los cuales contienen un gran número de componentes orgánicos específicos.

Los contaminantes emergentes comprenden una amplia gama de compuestos químicos, farmacéuticos, de cuidado personal, agentes tensoactivos, plastificantes, aditivos industriales y plaguicidas, que no están incluidos actualmente en los planes de seguimiento de la calidad del agua (Herrero *et al.*, 2012), de los cuales existe una limitada información disponible sobre el efecto que puede causar en la salud humana y la ecología. Debido a que los contaminantes emergentes se encuentran a diferentes concentraciones en el agua superficial, los criterios de calidad ambiental aún no se han podido especificar (Eggen *et al.*, 2010) y las plantas de tratamiento convencionales de aguas residuales no están diseñadas para eliminarlos (García *et al.*, 2011), por lo que son motivo de preocupación para la comunidad científica y las entidades ambientales reguladoras. Por estas razones, la mayoría de las nuevas investigaciones han centrado sus estudios en la aparición de estos contaminantes orgánicos en aguas superficiales, ya que estas son más susceptibles de contener concentraciones mayores de estos contaminantes que las aguas subterráneas (Lapworth *et al.*, 2012).

Un grupo de contaminantes emergentes de alta importancia e impacto a corto y largo plazos son los plaguicidas, los cuales son sustancias o sus mezclas destinadas a prevenir, destruir, repeler o mitigar las plagas (Gil *et al.*, 2012). Debido a la regulación de la cual han sido objeto, se han estudiado durante décadas y se tiene un razonable conocimiento sobre su presencia y destino en el medio acuático. Sin embargo, en los últimos años, la preocupación en torno a estos productos se centra en los metabolitos o productos de degradación que han sido en su mayor parte ignorados hasta la fecha y se ha demostrado que pueden ser más tóxicos que los compuestos a partir de los cuales se generaron (Sinclair y Boxall, 2003), por lo que la presencia en el ambiente de estas sustancias ha mostrado tener efectos en la salud y el desarrollo de los seres humanos, organismos acuáticos y la fauna silvestre (García *et al.*, 2011).

## 1.2. Introducción

En el siglo XXI, el mayor problema se centra en la calidad y gestión del agua, ya que, al ser un bien común limitado, se ha convertido en una preocupación de primera magnitud. Por esta razón, se está obligado a controlar, además de la disponibilidad, la conservación de los reservorios, controlando la calidad del agua que llega a ellos, por lo que es importante estudiar y contrarrestar los procesos que demeriten las características de este recurso vital (Carabias *et al.*, 2005).

Un reservorio de gran importancia cultural, ecológica y económica es la zona lacustre de Xochimilco cuyas presiones antrópicas han impactado negativamente en el equilibrio ecológico del lugar, ya que los xochimilcas que cultivan flores fumigan sus tierras con plaguicidas tales como el metilparatión, malatión, paraquat, clorpirifos y el 2, 4-D (Chávez *et al.*, 2011), los cuales además de tener un efecto tóxico comprobable, son de alta persistencia. Una vez liberados al ambiente, factores naturales como la biodegradación, la fotodegradación y la hidrólisis química disminuyen su persistencia y, por lo tanto, su ecotoxicidad (Narváez *et al.*, 2012). Sin embargo, algunos productos de transformación pueden tener mayor potencial de bioacumulación y de toxicidad que los compuestos parentales. Esto se debe a que diversos procesos de degradación actúan de manera simultánea sobre los compuestos progenitores en diferentes puntos de la estructura molecular (Narváez *et al.*, 2012). Esta situación dificulta el análisis de los metabolitos en las diferentes matrices ambientales debido a la complejidad del tratamiento de las muestras, la falta de especificidad de los métodos y el problema de la identificación de cada uno de los productos de degradación (Li y Yang, 2015). Por lo anterior, el conocimiento de los procesos de degradación en el ambiente es determinante en los estudios de la dinámica de los plaguicidas en la fase ambiental y su impacto sobre los ecosistemas acuáticos y terrestres (Narváez *et al.*, 2012).

Uno de los plaguicidas de acción herbicida de mayor uso es la atrazina, el cual es empleado para el control de malezas de hoja ancha y gramíneas perennes -plantas que compiten por recursos nutritivos del suelo y del espacio- en los cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, hortalizas y plantas de ornato. Este herbicida puede disminuir su concentración en suelo por fenómenos como adsorción, degradación, lixiviación y arrastre superficial y dichos fenómenos dependen de las características del herbicida, del suelo y de las condiciones ambientales (EFSA, 2015).

Los herbicidas, son sometidos a procesos donde los microorganismos pueden desempeñar un papel importante en la parcial o completa transformación y/o degradación de dichos compuestos (Kummerer, 2008). El principal mecanismo de eliminación de la atrazina en ambientes con pH neutro es la degradación bacteriana, la cual es icida (Da Cunha *et al.*, 2013).

La atrazina puede ser degradada en el ambiente por procesos bióticos obteniendo distintos productos metabólicos de toxicidad variable entre los que destacan la desetilatrazina, DEA, (4-amino-2-cloro-6-isopropilamino-1, 3, 5-triazina), deisopropilatrazina, DIA, (6-amino-2-cloro-4-etilamino-1, 3, 5-triazina), 2-hidroxiatrazina, HA, (4-etilamino-2-hidroxi-6-isopropilamino-1, 3, 5-triazina) -HA- y el ácido cianúrico, AC, (2, 4, 6-trihidroxi-1, 3, 5-triazina) (Mudhoo y Garg, 2011; Vonberg *et al.*, 2014).

Por ello, es de gran importancia estudiar la biodegradabilidad de este herbicida químico y de cuatro de sus productos de degradación, para conocer el impacto ambiental que tienen estos compuestos sobre la calidad del

agua superficial de algunos de los canales del sistema del área de Xochimilco, zona aledaña a la Ciudad Universitaria, sitio donde se desarrolló esta investigación.

### 1.3. Objetivos

#### 1.3.1. Objetivo general

Determinar la biodegradación del herbicida químico atrazina (ATZ) por un consorcio microbiano aislado de algunos puntos muestreados en los canales de Xochimilco

#### 1.3.2. Objetivos particulares

- Caracterizar fisicoquímicamente algunas muestras de agua superficial provenientes del sistema de canales de Xochimilco.
- Identificar a nivel bioquímico, los microorganismos predominantes en las muestras de agua superficial tomadas del sistema de canales de Xochimilco.
- Seleccionar los microorganismos capaces de degradar a la atrazina a los productos metabólicos de estudio desetilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA), ácido cianúrico (AC) e hidroxiatrazina (HA).
- Determinar los parámetros cinéticos que reflejen la capacidad de biodegradación de la atrazina y la aparición de cuatro de sus principales productos metabólicos de degradación (DEA y DIA, HA y AC) por el consorcio microbiano.
- Determinar mediante una prueba de toxicidad en una especie de alga si los productos de biodegradación resultan significativamente menos tóxicos que el compuesto inicial (atrazina).

### 1.4. Hipótesis

Bajo condiciones de laboratorio, la atrazina se biodegradará significativamente a productos de menor toxicidad mediante un consorcio microbiano aislado en los puntos en estudio de los canales de Xochimilco.

### 1.5. Alcances

La presente investigación, su experimentación y los resultados que se obtengan se limitan al:

1. Estudio de sitios puntuales del sistema de canales de Xochimilco, situados en puntos estratégicos dependiendo de la población y actividades antropogénicas de la zona, de acuerdo con los criterios establecidos por grupos fraternos que estudian este reservorio (Alcántara, 2014).

2. Se determinó el comportamiento cuantitativo del herbicida atrazina y de cuatro de sus metabolitos de degradación DEA, DIA, HA y AC, frente a un consorcio microbiano aislado e identificado bioquímicamente de muestras de agua superficial del sistema de canales de Xochimilco usando como matriz agua sintética que simule las características fisicoquímicas del sitio.
3. El estudio se realizó a nivel de laboratorio, bajo condiciones controladas de temperatura a 15°C y presión atmosférica, emulando las condiciones encontradas en campo.
4. El estudio de toxicidad se realizará con una sola especie de alga usada como indicador de calidad de agua.

## Capítulo 2. Marco teórico

### 2.1. Plaguicidas

Un plaguicida se define como cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destine a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal, así como las sustancias defoliantes y las desecantes (DOF, 2014a), los cuales, se pueden dividir genéricamente por la plaga que mitigan, según se muestra en la Tabla 2-1.

**Tabla 2-1. Clasificación de los plaguicidas según la plaga que controlan**

Tipo de plaguicida	Tipo de plaga que ataca	Ejemplos
<b>Acaricidas</b> <sup>b</sup>	Ácaros (garrapatas, corucos, etc.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organoclorados</li> <li>• Organofosforados</li> <li>• Carbamatos</li> <li>• Piretroides</li> </ul>
<b>Bactericidas</b> <sup>b</sup>	Bacterias	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organoclorados</li> <li>• Organofosforados</li> <li>• Carbamatos</li> <li>• Piretroides</li> <li>• Antibióticos</li> </ul>
<b>Fungicidas</b> <sup>a, c</sup>	Hongos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organoclorados</li> <li>• Fenoles</li> <li>• Ditiocarbamatos</li> </ul>
<b>Herbicidas</b> <sup>a, c</sup>	Algas y plantas terrestres y acuáticas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organoclorados</li> <li>• Triazinas</li> </ul>
<b>Insecticidas</b> <sup>a, b</sup>	Insectos (escarabajos, palomillas, pulgas, etc.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organofosforados</li> <li>• Carbamatos</li> <li>• Piretroides</li> </ul>
<b>Larvicidas</b> <sup>c</sup>	Larvas de insectos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tioureas</li> <li>• Hidroxicumarinas</li> </ul>
<b>Molusquicidas</b> <sup>d</sup>	Moluscos (caracoles de jardín, babosas, etc.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carbamatos</li> </ul>
<b>Nematicidas</b> <sup>c</sup>	Nemátodos (gusanos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organofosforados</li> <li>• Tioureas</li> <li>• Hidroxicumarinas</li> </ul>
<b>Rodenticidas</b> <sup>d</sup>	Roedores (ratas y ratones)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arsenicales</li> <li>• Tioureas</li> <li>• Hidroxicumarinas</li> </ul>

<sup>a</sup> Badii y Landeros, 2007; <sup>b</sup> IRAC, 2015; <sup>c</sup> Paritarios, 2015; <sup>d</sup> RAGRO, 2015

Otra forma de clasificarlos, de acuerdo con la Regulación Mexicana en el Decreto por el que se reforman, adicionan y derogan diversas disposiciones del Reglamento en materia de registros, autorizaciones de

importación y exportación y certificados de exportación de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias y materiales tóxicos o peligrosos (DOF, 2014a), es la siguiente:

**PLAGUICIDAS:**

**1. Químicos:**

- a. Técnicos
- b. Formulados para uso
  - i. Agrícola
  - ii. Doméstico
  - iii. Forestal
  - iv. Biocida
  - v. Biocida para uso como preservador de materiales
    - a) Biocida para uso en procesos industriales, sistemas de agua, sistemas de refrigeración y aire acondicionado
    - b) Biocida para uso como preservador de madera
    - c) Biocida para uso en pinturas antiincrustantes
  - vi. Jardinería
  - vii. Pecuario
  - viii. Urbano
  - ix. En salud pública

**2. Plaguicidas bioquímicos de uso agrícola, doméstico, forestal, jardinería, pecuario y urbano:**

- 1. Semioquímicos o infoquímicos
  - i. Feromonas
  - ii. Aleloquímicos
    - a) Alomonas
    - b) Kairomonas

**3. Microbianos de uso agrícola, doméstico, forestal, jardinería, pecuario, en salud pública y urbano:**

- a. Bacterias
- b. Hongos
- c. Virus
- d. Nemátodos
- e. Protozoarios
- f. Algas

**4. Botánicos de uso agrícola, doméstico, forestal, jardinería, pecuario, en salud pública y urbano**

**5. Microbianos con base en organismos genéticamente modificado**

**6. Misceláneos de uso agrícola, doméstico, forestal, jardinería, pecuario, en salud pública y urbano**

Se define a un plaguicida químico de uso agrícola como el producto resultante de una síntesis química, de uso directo en vegetales que se destina a prevenir, repeler, combatir y destruir los organismos biológicos nocivos a estos (DOF, 2014a). Los plaguicidas dependiendo de su uso agrícola, forestal, urbano, pecuario, doméstico, industrial y en la jardinería pueden llegar al ambiente, desde la fuente emisora del plaguicida hasta los puntos donde existe exposición para el ser humano por medio de difusión, lixiviación y evaporación. Dichos procesos



van a depender de las propiedades del plaguicida, tales como: la solubilidad, presión de vapor, constante de la ley de Henry, el coeficiente de distribución normalizado al carbono orgánico ( $K_{oc}$ ) y el coeficiente de partición octanol-agua, entre otras (INECC, 2015).

Para entender el efecto tóxico de los plaguicidas en el agua debe estudiarse su movimiento desde los campos de cultivos donde se aplica hasta su llegada a cuerpos de agua, el cual es un proceso complejo (FAO, 2015a). Los plaguicidas se caracterizan por ser unos compuestos móviles y con frecuencia han sido detectados en cuerpos de agua superficial y subterránea (INECC, 2015). Su migración hacia el agua subterránea depende de varios factores tales como las propiedades del suelo, la intensidad de la precipitación, los procesos de difusión, la adsorción y la profundidad del manto freático, entre otros (INECC, 2015).

Para disminuir el riesgo de contaminar los cuerpos de agua, se han establecido recomendaciones para el riego en zonas donde se aplicarán los plaguicidas (FAO, 2015b). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, en inglés) recomienda evitar la aplicación de estos agroquímicos a través de los sistemas de riego, a menos que la aplicación se realice con base en un programa de riego donde se asegure que sólo se humedece hasta la zona de la raíz, sin sobrepasar la capacidad de campo del suelo (USEPA, 2006).

Los efectos tóxicos de los plaguicidas son muy diversos y dependen de la naturaleza química y de una exposición aguda o crónica al producto. Los plaguicidas pueden impactar la población humana y a los animales mediante un envenenamiento secundario cuando se consumen alimentos que contienen residuos de plaguicidas por acumulación y movimiento de estos productos químicos persistentes en las cadenas tróficas (Badii y Landeros, 2007).

De manera indirecta, los animales pueden ser afectados cuando una parte de su hábitat o su suplemento alimenticio son modificados. Los herbicidas pueden reducir alimento, cobertura y sitios necesarios para la anidación de insectos, aves o peces. Los insectos polinizadores pueden ser reducidos, afectando de esta manera el proceso de polinización de las plantas (Badii y Landeros, 2007).

## 2.2. Atrazina

La atrazina es un herbicida químico sintético (Figura 2-1), de acción selectiva sistémica con actividad residual y foliar (PPDB, 2015). Tiene una baja solubilidad en agua, es no volátil y con base en sus propiedades físico-químicas, puede infiltrarse a las aguas subterráneas (USEPA, 2003). Por lo general, no es persistente en el campo ni en los sistemas acuáticos. Es moderadamente tóxico para los mamíferos (irritante de la piel, los ojos y el sistema respiratorio) y para la mayoría de la vida acuática, lombrices y abejas (PPDB, 2015).

### 2.2.1. Generalidades sobre la atrazina

La atrazina es utilizada como un herbicida de pre y post-emergencia tanto en los cultivos o áreas de usos permitidos como cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, trigo y varios tipos de pastos, así como en lagos y estanques, campos de golf, césped y a lo largo de carreteras o vías férreas (Hansen *et al.*, 2013).

El mecanismo de acción de los compuestos inhibidores de la fotosíntesis es la interrupción del flujo de electrones en el Fotosistema II, que provoca la destrucción de la clorofila y los carotenoides, lo que causa la

clorosis y la formación de radicales libres que destruyen las membranas celulares provocando necrosis (Rosales y Sánchez, 2006).

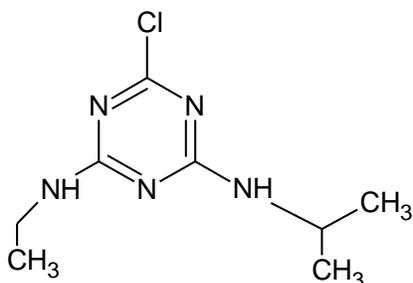


Figura 2-1. Estructura química de la atrazina (autoría propia)

El grado de toxicidad se puede inferir de acuerdo con las características físico-químicas cuantificables para la atrazina, como es la solubilidad, presión de vapor, constante de la ley de Henry, el coeficiente de partición octanol-agua, solubilidad, presión de vapor, entre otras (Tabla 2-2). Con esta información se puede predecir el lugar donde pudiera encontrarse un plaguicida en altas concentraciones y el grado de toxicidad propia del herbicida (INECC, 2015), ya que la atrazina al tener una baja presión de vapor y baja constante de Henry tiene una alta afinidad por el suelo o el agua, por lo que su capacidad de volatilizarse es poca, teniendo una alta capacidad de encontrarse en lixiviados (FAO, 2015c).

La predicción mediante las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas del comportamiento de los plaguicidas liberados en el ambiente es necesaria para anticipar y, por ende, minimizar impactos adversos fuera del punto de aplicación. Esto implica que se debe comprender qué le sucede a un plaguicida que ha sido aplicado en el campo y predecir su destino en el ambiente. Utilizando esta información, pueden estimarse los probables impactos adversos sobre el agua superficial o subterránea y/o sobre la salud humana (Reyna *et al.*, 2014).

La información acerca de los efectos tóxicos de la atrazina en humanos es limitada, sin embargo, los efectos conocidos están relacionados principalmente a daños reproductivos y daños en el desarrollo fetal (INECC, 2015); además, la exposición a la atrazina se ha asociado a un aumento en la incidencia de cáncer (EFSA, 2015). En la fauna, la atrazina es un disruptor endócrino que afecta el crecimiento de los organismos acuáticos, especialmente en el desarrollo reproductivo de peces, anfibios y reptiles (Solomon *et al.*, 2008).

La atrazina se mueve en el ambiente mediante su dispersión a través de gases, líquidos y partículas sólidas y la interacción de estas, desde la fuente emisora del plaguicida hasta los puntos donde existe exposición para el ser humano o biota (Bedmar *et al.*, 2015). El movimiento de los plaguicidas al igual que el de la atrazina está dado por procesos de difusión, lixiviación, evaporación, volatilización y escorrentías, los cuales pueden estar influidos por las características físicas y las condiciones climáticas del sitio de estudio; por consiguiente, es necesaria la información acerca de la topografía, tipos de suelo y ubicación, tipo de cubierta del suelo, precipitación anual, condiciones de temperatura, entre otros, para poder estimar hacia donde pudiera desplazarse el plaguicida aplicado (INECC, 2015). Los lugares a los que migra el herbicida son al agua subterránea o superficial, aire, suelo, subsuelo, sedimento y biota.

Tabla 2-2. Propiedades fisicoquímicas y ecotoxicológicas de atrazina (PPDB, 2015)

Propiedad	Valor
Número CAS	1912-24-9
Fórmula química	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>
Masa molecular (g/mol)	215.68
Nombre IUPAC	6-cloro-N2-etil-N4-(propan-2-il)-1,3,5-tirazina-2,4-diamina
Estado físico	Sólido cristalino, color blanco
Solubilidad en agua a 20°C (mg/L)	35
Solubilidad en disolventes orgánicos 20°C (mg/L)	Acetato de etilo: 24,000, cloruro de metileno: 28,000, tolueno: 4,000, hexano: 110
Punto de fusión (°C)	175.8
Punto de ebullición (°C)	Se descompone antes de la ebullición
Coefficiente partición octanol-agua en pH 7 a 20°C (log P)	2.7
Constante de disociación (pKa) a 25°C	1.7
Presión de vapor a 25°C (mPa)	0.039
Constante de ley de Henry a 20°C	1.20 x 10 <sup>-07</sup>
Índice potencial de lixiviación	3.20
Factor de bioconcentración (BCF, en inglés) (mg/kg)	4.3
DL <sub>50</sub> Pájaros/aves (mg/kg)	4,237
CL <sub>50</sub> Pez (96 h.mg/L)	4.5
CE <sub>50</sub> Invertebrados acuáticos (48 h.mg/L)	85
CL <sub>50</sub> Crustáceos acuáticos (mg/L)	1.0
CE <sub>50</sub> Plantas acuáticas, biomasa (mg/L)	0.019
CE <sub>50</sub> Algas (mg/L)	0.059
DL <sub>50</sub> Abejas melíferas (48 h.µg/abeja)	100
DL <sub>50</sub> Rata vía oral (mg/kg)	1,869
DL <sub>50</sub> Rata vía dermal (mg/kg)	>3,100
CL <sub>50</sub> Rata vía inhalatoria (mg/L)	5.8
Dosis de referencia aguda (mg/kg.día)	0.01
Consumo diario aceptable(mg/kg.día)	0.02

Se ha demostrado que después de la aplicación de los plaguicidas en suelos, los eventos de lluvia favorecen el transporte de los plaguicidas por escurrimiento, causando la infiltración y los consecuentes procesos de adsorción y degradación biológica y/o química. Las lluvias abundantes y su aplicación en campo aumentan el riesgo de migración de estos agentes químicos hacia cuerpos de agua por procesos de escurrimiento e infiltración (Mobaser *et al.*, 2012). La capacidad de retención de agua en el suelo influye en la migración de la atrazina (Müller *et al.*, 2012), ya que “en suelos arenosos la infiltración del agua es más rápida, en suelos arcillosos la infiltración ocurre lentamente, lo que influye en la velocidad de transporte de la atrazina al agua subterránea” (Hansen *et al.*, 2013).

La atrazina no permanece intacta por tiempo indefinido en el ambiente, ya que con el tiempo sufre una degradación influenciada por microorganismos, actividad química, pH, clima, contenido de materia orgánica del suelo, entre otros (Borja-Urzola, 2016; Quesada, 2013).

## 2.2.2 Biodegradación de la atrazina

Behki *et al.* (1993); Cervantes-Sánchez (2014); Da Cunha *et al.* (2013) y deCecilia y Maggi (2016), entre otros investigadores consideran que el proceso de mayor importancia es la degradación biológica, que ocurre a través de la actividad de microorganismos que cambian su actividad de acuerdo con la profundidad y ubicación del cuerpo de agua, debido a los procesos biológicos que varían entre aerobios y anaerobios. La degradación biológica se considera como el principal proceso por el cual se transforma este herbicida. Durante la biodegradación, los microorganismos utilizan atrazina como fuente de energía y de nutrientes. Sin embargo, la presencia de otras fuentes de nutrientes puede inhibir la degradación de este herbicida (Hansen *et al.*, 2013).

La presencia de carbono y de nitrógeno mineral en el agua y suelo limitan la biodegradación de la atrazina, ya que los microorganismos utilizan preferentemente esas fuentes de carbono y nitrógeno, que están más disponibles para su metabolismo, en lugar de emplear la molécula de atrazina como su fuente de esos nutrientes (Hansen *et al.*, 2013).

Las distintas enzimas que participan en la ruta metabólica de la biodegradación de la atrazina (Figura 2-2), han sido identificadas en distintas cepas bacterianas tales como las Gram negativas, *Pseudomonas sp.*, *Ralstonia brasiliensis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aminobacter aminovorans*, *Aminobacter ciceronei* y, Gram positivas, como las cepas del género *Nocardioides sp.* SP12, *Arthrobacter aureescens* TC1, *Rhodococcus corallinus* NRRL B-15444 y *Arthrobacter* (Cervantes-Sánchez, 2014).

Los microorganismos que utilizan atrazina, degradan parcialmente el herbicida mediante desalquilaciones y desaminaciones que liberan las cadenas laterales, sin deshalogenar o romper el anillo s-atrazina. Desde 1994 han sido aisladas y caracterizadas bacterias capaces de mineralizar atrazina, es decir, convertirla en compuestos inorgánicos (Behki *et al.*, 1993). La atrazina es utilizada preferentemente por los microorganismos como fuente de nitrógeno debido al estado totalmente oxidado de los carbonos del anillo s-triazina, las cadenas laterales N-alquilo pueden también utilizarse como fuente de carbono (Hansen *et al.*, 2013).

La vía para mineralizar la atrazina involucra dos etapas. En la primera, se genera ácido cianúrico mediante la remoción del cloruro y de las cadenas laterales N-alquilo a través de vías hidrolíticas y oxidantes; cuyas enzimas implicadas en dichas vías s-triazinas- tienen una amplia especificidad de sustrato.

En la segunda etapa, el ácido cianúrico es cortado por hidrólisis consecutiva, produciendo alofanato, amonio y dióxido de carbono por un conjunto de enzimas con un rango limitado de sustratos. Este contraste de especificidad, a nivel de sustrato, puede explicarse por las diferentes enzimas involucradas en la conversión de atrazina a ácido cianúrico (Seffernick *et al.*, 2012).

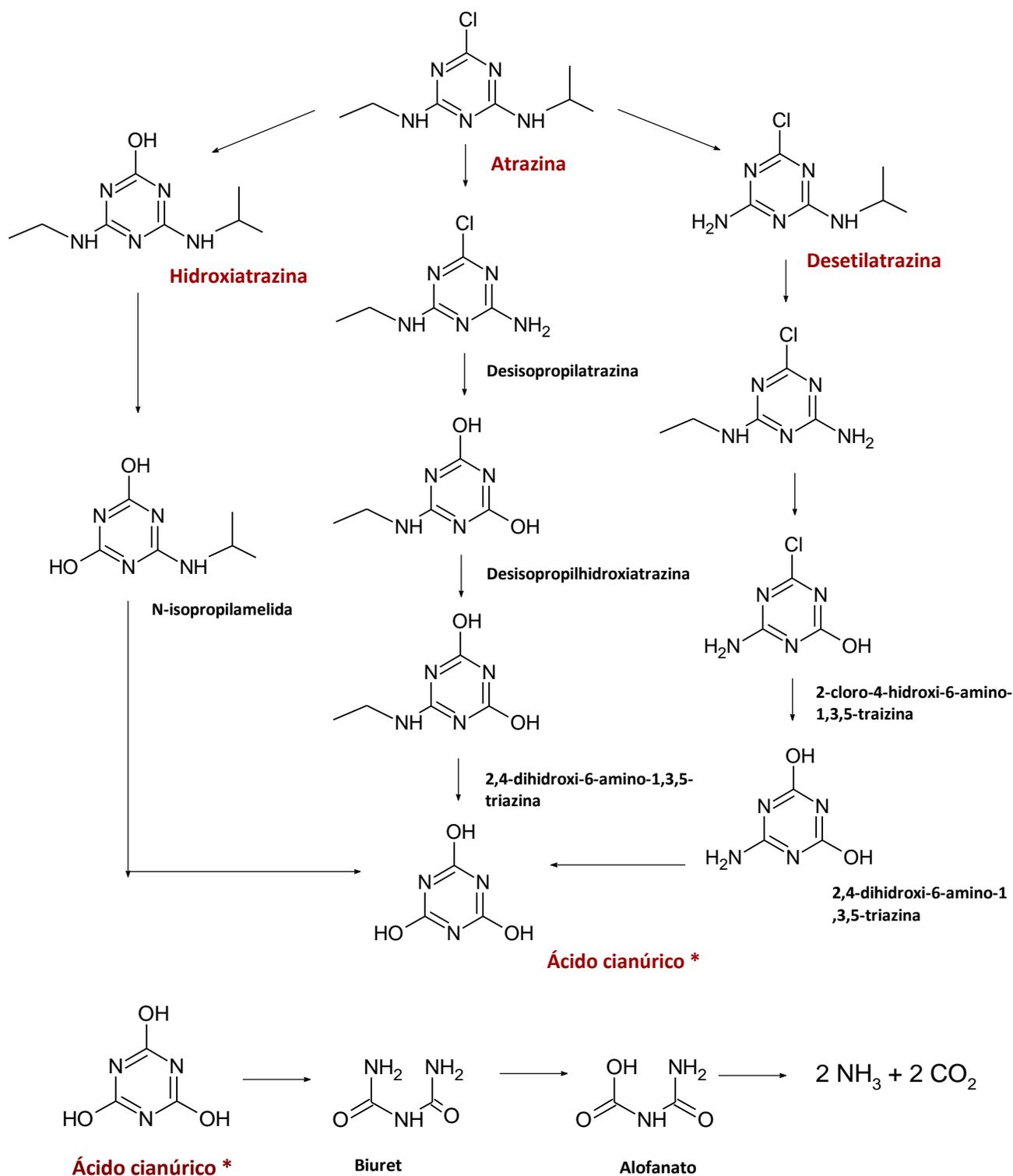


Figura 2-2. Ruta de mineralización de la atrazina y sus productos de degradación (Hansen *et al.*, 2013)

Normalmente, los microorganismos contienen los genes de degradación en elementos que pueden compartir o transferir entre ellos. Estos pueden combinarse dando lugar a diferentes arreglos moleculares que permiten la

utilización de la atrazina como fuente de nutrientes. La utilización de atrazina por microorganismos es regulada por la disponibilidad de nutrientes y la expresión de los genes. Dicha expresión es inducida por el ácido cianúrico y reprimida cuando el microorganismo encuentra una fuente preferencial de nitrógeno distinta a la atrazina (Hansen *et al.*, 2013).

### 2.2.3. Marco legal de la atrazina

A nivel mundial, la aplicación de este producto, implica riesgos de contaminación debido a la posibilidad de que el herbicida y sus productos de degradación o metabolitos, se transporten a los cuerpos de agua, por lo que su empleo y regulación ha sido cuestión de alerta (COFEPRIS, 2015b).

En los EE.UU. se ha establecido el límite de atrazina en agua para consumo humano en 3 µg/L (USEPA, 2003), mientras que la Comunidad Europea fijó el límite de 0.1 µg/L para el mismo uso del agua y la Organización Mundial de la Salud establece límites de 2 µ/L para atrazina y de 100 µg/L para atrazina y sus metabolitos (EFSA, 2015). La legislación mexicana no contempla a la atrazina como una sustancia a la cual deban establecerse límites máximos permisibles, por lo que no se regula la presencia de este herbicida en alguna norma oficial mexicana referente a las matrices agua, suelo, aire, alimentos.

Para la población ocupacionalmente expuesta al herbicida en el ambiente laboral, la Norma Oficial Mexicana NOM-010-STPS-1999, la cual trata sobre las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral, establece el límite máximo permisible de exposición a la atrazina (calculados para condiciones normales de temperatura y presión y para una jornada laboral de 8 horas diarias y 40 horas a la semana) en un valor de 10 mg/m<sup>3</sup> (DOF, 2014b).

En México, más del 45% de los plaguicidas comercializados son herbicidas (González-Márquez y Hansen, 2009), de los cuales los más empleados son la atrazina y el paraquat. En la actualidad, en México se cuenta con 43 registros sanitarios que permiten la comercialización nacional e internacional del herbicida, de los cuales, 22 pertenecen a la atrazina grado técnico, considerada como aquella en la cual el ingrediente activo se encuentra a su máxima concentración, obtenida como resultado de su síntesis y de sus compuestos relacionados y es exclusivamente como materia prima en la formulación de plaguicidas (DOF, 2014a) y 21 formulados (mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes inertes o diluyentes, cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo o hacerlo útil y eficaz) (DOF, 2014a). Se destacan las empresas Agricultura Nacional, S.A de C.V., Agritel, S.A de C.V., Agroquímicos Versa, S.A de C.V., Dow Agrosciences de México, S.A de C.V., FMC Agroquímica de México, S. de R.L. de C.V., Ingeniería Industrial, S.A de C.V., Makhteshim Agan de México, S.A de C.V., Syngenta Agro, S.A de C.V y Similia Defensivos Agrícolas, S.A de C.V. como principales comercializadoras de dichos productos (COFEPRIS, 2015a).

La atrazina es un herbicida ampliamente utilizado en zonas agrícolas de México; en 59% de los Distritos de Riego (DR) se aplica atrazina en dosis que van de 0.1 a 4 kg ha/año. Por ser un compuesto persistente, la atrazina puede representar un riesgo para el ambiente y se asocia con riesgos para la salud, dado que se ha encontrado que llega a contaminar cuerpos de agua y suelos (Jaramillo *et al.*, 2011). Este herbicida fue introducido al mercado nacional desde el año de 1975; sin embargo, la atrazina aún no ha sido incluida en las guías ambientales y de salud. La atrazina no se incluye en los programas de seguimiento ni en los métodos analíticos

rutinarios, por lo que la regulación mexicana no limita la presencia de este contaminante en suelo ni en los cultivos que se cosechan de los campos agrícolas donde se empleó este herbicida.

Datos preliminares del 2012 indican que el uso de fertilizantes, insecticidas y herbicidas fue de aproximadamente 1.7 millones, 37,501 y 37,684 toneladas (ton) respectivamente. De acuerdo con la Asociación Mexicana de la Industria de Plaguicidas y Fertilizantes, AMIFAC, en 1995 el empleo de herbicidas que contienen atrazina como ingrediente activo, fue de 2012 ton o 12.8% del total de herbicidas usados en México. La importación de productos que contienen atrazina como ingrediente activo (fracción arancelaria 2933.69.09) ha aumentado de 189.35 ton en 2003 a 287.8 ton en 2012, provenientes de Estados Unidos, China, India, Israel e Italia (SIAVI, 2012).

La revisión de la literatura científica sobre la atrazina puede ser útil para sugerir el mejoramiento de las prácticas agrícolas, así como para incitar a establecer regulaciones sobre el empleo y los límites máximos permisibles de atrazina y de otros plaguicidas de amplia aplicación en países donde las evidencias de su uso, migración ambiental e impactos aun no son concluyentes. Por ello, la prohibición o restricción de estas sustancias en otras regiones puede constituir un llamado de alerta para países como México, que aún no cuenta con regulaciones o suficientes pruebas de los riesgos y posibles efectos dañinos de la utilización de atrazina y de otros plaguicidas (Jaramillo *et al.*, 2011).

A nivel internacional, en 1993, el gobierno de los EE.UU. restringió la utilización de atrazina para el control de la vegetación en zonas no agrícolas, mientras que en los países miembros de la Unión Europea (UE), en el 2004 fueron retiradas las licencias de fabricación de productos fitosanitarios que contenían atrazina (Hansen *et al.*, 2013). Por tanto, en México debieran tomarse en cuenta las tendencias reguladoras de otros países de Europa y Estados Unidos o bien, de organizaciones internacionales como la Organización Mundial de Salud para que se puedan fijar los límites para este país, tomando en cuenta las propuestas existentes de modificación de prácticas agrícolas (Hansen *et al.*, 2013).

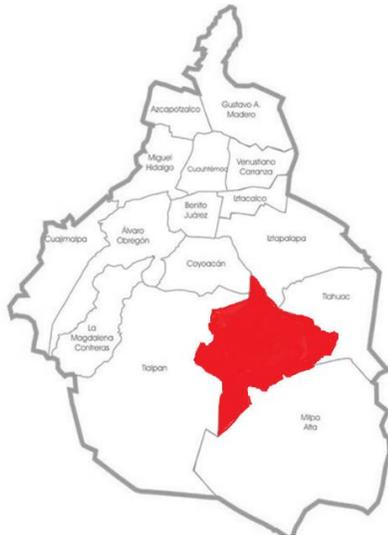
Estos mismos autores señalan que se requiere realizar el seguimiento de la atrazina en cuerpos de agua, así como estudios sobre su atenuación natural en sedimentos y suelos de zonas agrícolas de México. También son necesarios estudios adecuados sobre toxicidad, estimaciones de riesgo y de costo-beneficio, con el fin de conocer el impacto de la prohibición o de la restricción de la atrazina, así como el reemplazo por otros herbicidas menos tóxicos y similarmente efectivos (Hansen *et al.*, 2013).

## 2.4. Xochimilco, área de estudio

En el 2011 el Distrito Federal contaba con una superficie agrícola sembrada de 21,127 hectáreas (ha), de las cuales 1,424 pertenecían a la Delegación Xochimilco, la cual cuenta con una extensión territorial de 118 km<sup>2</sup> y cuyo uso de suelo se reparte en zona urbana (56%), agrícola (37%), boscosa (4%) y de pastizales (3%) (INEGI, 2015a). La Delegación Xochimilco, se encuentra en la parte sureste del Distrito Federal, como parte del hoy Valle de México y que era una cuenca lacustre (Figura 2-3). Colinda al norte con las delegaciones de Tlalpan, Coyoacán, Iztapalapa y Tláhuac, al este con las delegaciones de Tláhuac y Milpa Alta, al sur con las delegaciones de Milpa Alta y Tlalpan, y al oeste con la delegación de Tlalpan (INEGI, 2015b).

La zona lacustre de Xochimilco, la cual está formada por áreas de humedales, canales y chinampas, cuenta con una superficie de 26.57 km<sup>2</sup> y, a nivel mundial, se encuentra incluida en la Lista de Humedales de Importancia Internacional (RAMSAR, 2016). Sin embargo, las condiciones ambientales no son óptimas. La pérdida de la calidad ambiental se atribuye principalmente a la mala calidad del agua (Díaz *et al.*, 2013; Espinosa *et al.*, 2009;

Sandoval, 2013) y al cambio de uso de suelo agrícola a urbano (Zambrano *et al.*, 2009). El empleo de agroquímicos en las actividades agrícolas de las chinampas y zonas urbanas, ha provocado la contaminación del sistema acuático de Xochimilco (Alcántara, 2014).



**Figura 2-3. Localización de la Delegación de Xochimilco del Valle de México (MapaMéxicoDF360°, 2016)**

Xochimilco cuenta con una población total de 415,007 habitantes, de los cuales 205,305 son hombres y 209,702 mujeres que tienen como actividad primaria la siembra, cosecha de cultivos y la producción forestal-maderable y el turismo (INEGI, 2015a), por lo que la presión antropogénica ha llevado a usos distintos de las chinampas. El lago de Xochimilco se divide de acuerdo con el uso principal actual de las chinampas (Zambrano *et al.*, 2009): 1) Chinampera, donde aún se lleva a cabo la agricultura de forma tradicional como actividad principal; 2) Urbana, con uso principalmente de tipo vivienda; 3) Turístico, con uso urbano donde las principales actividades son las relacionadas con el sector turístico; y 4) Mixta, en la cual hay una proporción similar entre tierras agrícolas y urbanas. Estudios realizados por Alcántara (2014) revelan la presencia de plaguicidas organoclorados y organofosforados en muestras de sedimentos del sistema de canales de Xochimilco. Además, se establece que este sistema funciona como un sitio de retención (sumidero) de plaguicidas, los cuales tienden a adsorberse en los sedimentos y a degradarse lentamente.

## 2.5. Estudios toxicológicos

En la actualidad se usan especies indicadoras para determinar el impacto de los plaguicidas; las especies de estudio son aquellas que pueden representar a los organismos diferentes al blanco. La elección de especies regularmente satisface los siguientes criterios: ecológicamente significantes, abundantes y de amplia distribución geográfica, susceptibles a la exposición química, comercialmente disponibles para pruebas y de fácil manejo en el laboratorio. Para pruebas de ciclos de vida, las especies deben tener un ciclo de vida corto (Badii y Landeros, 2007).

La primera prueba de estudio para un plaguicida es su estudio al corto plazo, el cual consiste en estudios de toxicidad aguda para determinar la respuesta general de los organismos en un tiempo de 48 horas para invertebrados acuáticos o al menos 10% del tiempo de vida de otro tipo de organismo (Evans *et al.*, 2003). El objetivo de dichas pruebas es determinar las dosis letales (*LD*, en inglés) o concentraciones letales (*LC*, en inglés) requeridas para matar al 50% de los organismos sometidos a prueba (Devine *et al.*, 2008). La comprensión de los efectos toxicológicos de la exposición a corto y largo plazos, es el primer paso para cuantificar el peligro, pero la



toxicidad de los plaguicidas es solamente un indicador parcial del riesgo relativo en la vida silvestre (Díaz *et al.*, 2013).

La atrazina es generalmente más tóxica para los microorganismos fototróficos, exhibiendo su toxicidad mediante la interrupción de la fotosíntesis o por la inhibición del transporte de electrones en la reacción de Hill, evitando la correcta formación de la clorofila (DeLorenzo *et al.*, 2001). Cuando se intenta predecir la toxicidad de los plaguicidas en los estuarios o ecosistemas, se deben considerar los efectos de las mezclas de los plaguicidas y las interacciones con los nutrientes (DeLorenzo *et al.*, 2001).

Las algas han sido utilizadas como organismo acuático experimental en la mayor parte de los estudios toxicológicos realizados con plaguicidas ya que siendo la atrazina el herbicida más estudiado, al ser un inhibidor de la fotosíntesis mediante el bloqueo del transporte de electrones durante la reacción de la colina del Fotosistema II, tendrá un efecto en las algas. En dichos estudios, la mayoría de valores para CE<sub>50</sub> se determinaron utilizando la tasa de crecimiento de algas usando recuentos de células directos o por densidad óptica. La duración de las pruebas es variada, las exposiciones más comunes son desde 24 hasta 96 h (DeLorenzo *et al.*, 2001).

La razón más importante para incluir a las algas como indicadores ambientales es su papel principal en el flujo de energía de los ecosistemas acuáticos, contribuyendo principalmente en la producción primaria en los ambientes de agua dulce y marinos (Sánchez *et al.*, 2007). Las algas intervienen en la disponibilidad de nutrientes en el ecosistema, además de que los cambios en la producción algal y en su composición taxonómica, pueden afectar las interacciones en la red alimenticia y en la dinámica de los ecosistemas (Peña *et al.*, 2005). Las algas como organismos indicadores se usan gracias a su amplia distribución en todos los hábitats acuáticos considerándose como organismos cosmopolitas. Las comunidades de algas responden por lo general a los impactos antropogénicos, además de que sus ciclos de vida cortos las hacen indicadoras eficaces de impactos a corto plazo siendo sensibles a contaminantes y concentraciones que sobre otros organismos heterotróficos no tienen efecto aparente, aunado a que son fácilmente muestreables (Peña *et al.*, 2005).

De acuerdo con DeLorenzo *et al.* (2001) y Durrieu *et al.* (2011) se ha encontrado que en diversos estudios toxicológicos realizados con diferentes especies de algas usando a la atrazina como contaminante, los efectos negativos de mayor importancia a la exposición a dicho compuesto son la disminución de la tasa de crecimiento algal, la disminución de la clorofila, la inhibición del crecimiento de diferentes especies de algas, la deducción de la tasa de producción de oxígeno, la pérdida de especies, la reducción de la actividad primaria de estos microorganismos, dependiendo de las concentraciones utilizadas, tiempo de exposición y el tipo de especies probadas. Aunado a lo anterior, se observó que la atrazina aumenta su toxicidad en condiciones de nutrientes enriquecidos (DeLorenzo *et al.*, 2001).

A continuación, se presenta la metodología seguida en esta investigación para corroborar la hipótesis y alcanzar los objetivos planteados.

## Capítulo 3. Metodología

### 3.1. Tratamiento general

Con el propósito de determinar la biodegradabilidad del herbicida químico atrazina (ATZ) y el comportamiento de cuatro de sus principales productos metabólicos de degradación, desetilatrastina (DEA) y deisopropilatrastina (DIA), hidroxiatrazina (HA) y ácido cianúrico (AC), por un consorcio microbiano aislado de muestras de agua superficial proveniente del sistema de canales de Xochimilco, se planteó la siguiente metodología dividida de manera general en tres etapas aislamiento, biodegradación y toxicología (Figura 3-1).

**Etapa 1. Aislamiento.** A partir de las muestras (1a) tomadas de los diferentes puntos de muestreo en el sistema de canales de Xochimilco, se realizó la caracterización fisicoquímica de las muestras (1b) con el objetivo de conocer la calidad del agua proveniente de este cuerpo léntico y poder diseñar un agua sintética basada en dichas características (1b.1). Por otro lado, se conformó una muestra compuesta (1c) de la cual, mediante una serie de diluciones seriadas (1c.1) se aislaron y cultivaron microorganismos, para su posterior identificación bioquímica (1c.2). Habiéndose logrado el cultivo en condiciones de laboratorio de los grupos bacterianos aislados, se dio paso a adaptar a los microorganismos aislados a determinadas dosis de atrazina y a una baja concentración de fuente de nitrógeno (1c.3) para poder identificar a aquellas bacterias que logren asimilar al herbicida, disminuyendo su presencia en el medio.

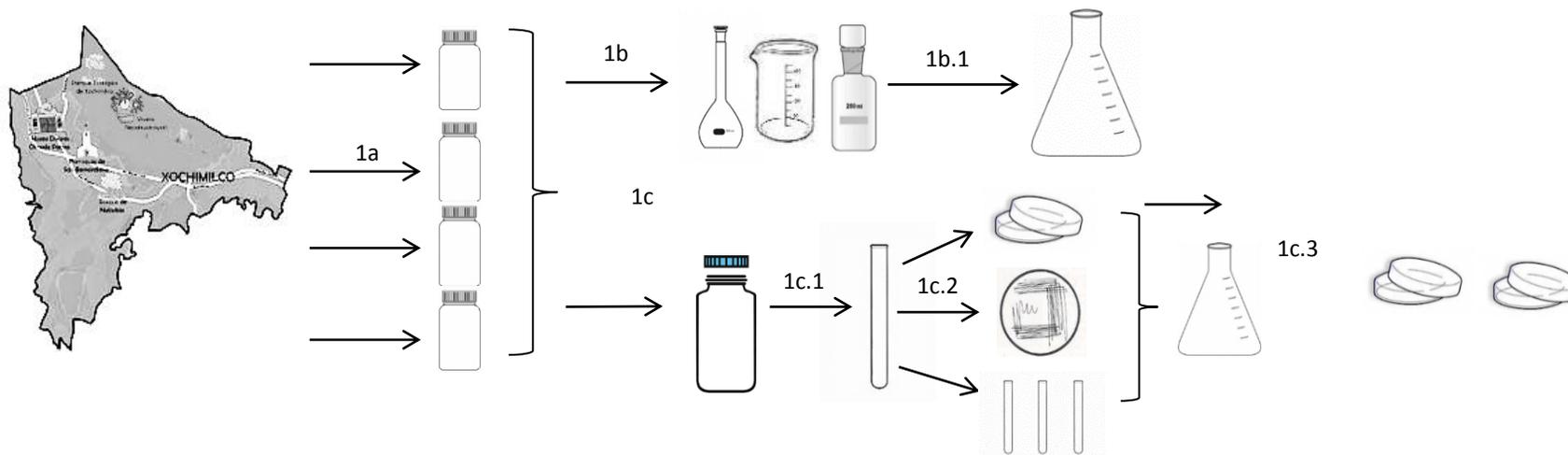


Figura 3-1. Etapa 1 del trabajo experimental

**Etapa 2. Biodegradación.** Las cepas bacterianas con capacidad de utilizar a la atrazina como parte de su metabolismo (1c.4) fueron sometidas a un estudio de biodegradación (2a), cuyo experimento se dividió en dos partes. Primero, se cuantificó el desarrollo celular (UFC/mL) contra el tiempo (2b.1), posteriormente, se tomaron alícuotas que, seguidas de una extracción en fase sólida, permitieron cuantificar el decremento de la concentración de la atrazina y la aparición e incremento de sus productos de degradación (2a.2).

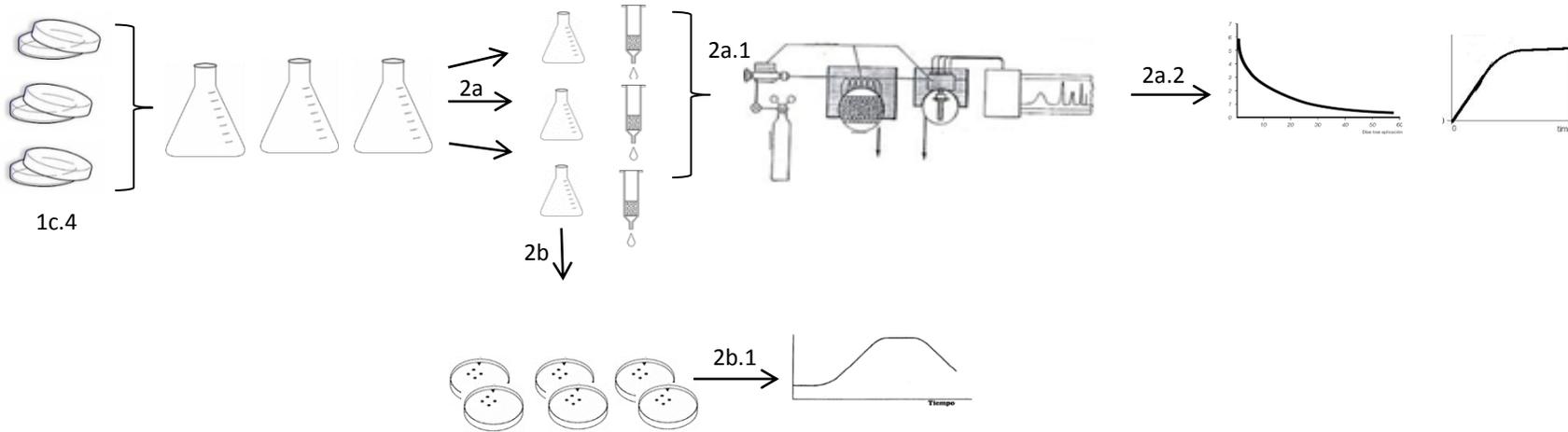


Figura 3-1. Etapa 2 del trabajo experimental (continuación)

**Etapa 3. Toxicología.** Con la finalidad de conocer el grado de toxicidad de los compuestos, ATZ, y DEA, DIA, HA y CA, producidos al día final del experimento (2a.1), se realizó un bioensayo en el que se expuso una especie de alga (3a.2 y 3a.3) con el fin de determinar si la atrazina o los productos resultantes de la biodegradación son de similar toxicidad. A lo anterior, se esperó que la atrazina fuera significativamente más tóxica (3a.4) que los productos resultantes del proceso de biodegradación.

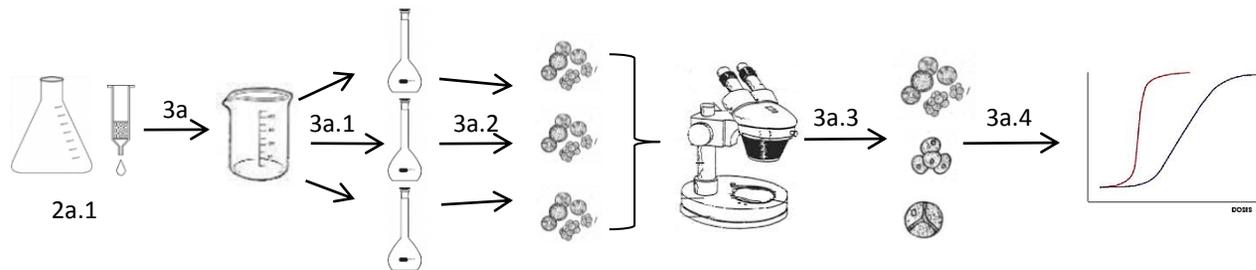


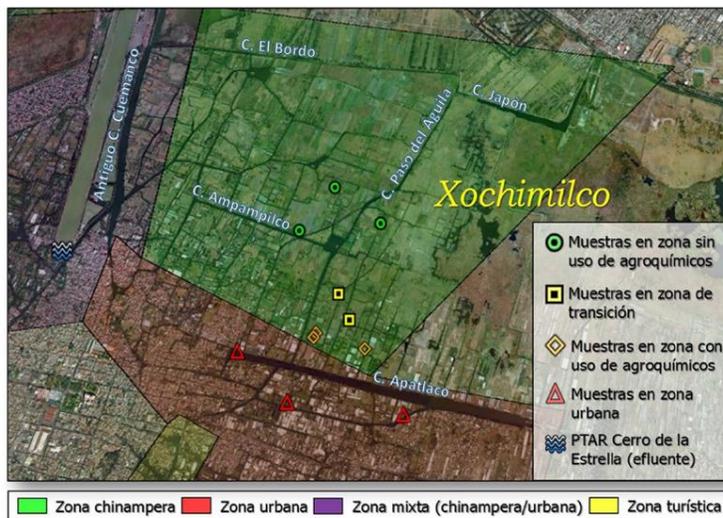
Figura 3-1. Etapa 3 del trabajo experimental (continuación)

### 3.2.2. Toma de muestra de agua superficial en el sistema de canales de Xochimilco

Las muestras recolectadas se tomaron de la parte superficial de cada uno de los puntos a lo largo de los canales (Tabla 3-1 y Figura 3-2). Dichas muestras siguieron las condiciones de toma, conservación y estudio descritas en la Tabla 3-2, con base en las técnicas de análisis recomendadas por las normas mexicanas (NMX).

**Tabla 3-1. Zonas y coordenadas de los puntos de estudio dentro de los canales de Xochimilco**

Tipo de actividad/Número de sitios de muestreo	Puntos de muestreo	Coordenadas por punto para el muestreo 1 Enero 18, 2016	Coordenadas por punto para el muestreo 2 Febrero 03, 2016	Coordenadas por punto para el muestreo 3 Abril 04, 2016	Coordenadas por punto para el muestreo 4 Mayo 06, 2016
Zona urbana /3	1	N 19° 15' 54.6 " O 99° 05' 37.6 "	N 19° 15' 54.6 " O 99° 05' 37.7 "	N 19° 15' 54.7 " O 99° 05' 37.5 "	N 19° 15' 54.3 " O 99° 05' 37.7 "
	2	N 19° 15' 42.9 " O 99° 05' 20.1 "	N 19° 15' 42.7 " O 99° 05' 19.6 "	N 19° 15' 43.0 " O 99° 05' 20.1 "	N 19° 15' 42.7 " O 99° 05' 19.4 "
	3	N 19° 15' 41.3 " O 99° 04' 59.1 "	N 19° 15' 41.3 " O 99° 04' 59.4 "	N 19° 15' 41.3 " O 99° 04' 59.4 "	N 19° 15' 41.2 " O 99° 04' 59.2 "
Zona chinampera con uso de agroquímicos /3	4	N 19° 16' 53.4 " O 99° 05' 08.4 "	N 19° 16' 53.5 " O 99° 05' 08.4 "	N 19° 16' 53.4 " O 99° 05' 08.4 "	N 19° 15' 53.4 " O 99° 05' 08.4 "
	5	N 19° 16' 56.5 " O 99° 05' 18.9 "	N 19° 16' 56.4 " O 99° 05' 18.7 "	N 19° 16' 56.6 " O 99° 05' 18.9 "	N 19° 16' 56.4 " O 99° 05' 18.2 "
	6	N 19° 15' 57.5 " O 99° 05' 19.3 "	N 19° 15' 57.6 " O 99° 05' 19.1 "	N 19° 15' 57.5 " O 99° 05' 19.3 "	N 19° 15' 57.6 " O 99° 05' 19.1 "
Zona chinampera de transición o mixta /2	7	N 19° 16' 0.07 " O 99° 05' 13.3 "	N 19° 16' 0.08 " O 99° 05' 13.2 "	N 19° 16' 0.06 " O 99° 05' 13.3 "	N 19° 16' 0.06 " O 99° 05' 13.4 "
	8	N 19° 16' 06.1 " O 99° 05' 14.1 "	N 19° 16' 05.5 " O 99° 05' 14.1 "	N 19° 16' 06.6 " O 99° 05' 14.0 "	N 19° 16' 06.3 " O 99° 05' 14.0 "
Zona chinampera sin uso de agroquímicos (orgánica) /3	9	N 19° 16' 19.8 " O 99° 05' 18.1 "	N 19° 16' 19.9 " O 99° 05' 23.3 "	N 19° 16' 21.4 " O 99° 05' 18.6 "	N 19° 16' 19.7 " O 99° 05' 23.3 "
	10	N 19° 16' 30.1 " O 99° 05' 15.8 "	N 19° 16' 30.1 " O 99° 05' 15.9 "	N 19° 16' 30.0 " O 99° 05' 15.9 "	N 19° 16' 30.1 " O 99° 05' 16.0 "
	11	N 19° 16' 24.9 " O 99° 05' 14.5 "	N 19° 16' 24.7 " O 99° 05' 14.1 "	N 19° 16' 25.0 " O 99° 05' 15.9 "	N 19° 16' 24.6 " O 99° 05' 14.2 "



**Figura 3-2. Mapa de la distribución de los puntos de muestreo en la zona lacustre de Xochimilco (García-Luna, 2017)**

Tabla 3-2. Características de la toma y conservación de muestra para su análisis fisicoquímico

Parámetro	Método analítico de referencia	Muestra y preservación Volumen /material de envase/condiciones de preservación/tiempo máximo de almacenamiento
<b>Demanda química de oxígeno (DQO)</b>	NMX-AA-030-SCFI-2001 Método 5220.D (APHA-AWWA-WPCF, 1998)	1 L / polietileno o vidrio / adición de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> hasta pH < 2 / 28 días
<b>Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)</b>	NMX-AA-028-SCFI-2001 Método 5210.B (APHA-AWWA-WPCF, 1998)	1 L / polietileno o vidrio / refrigeración a 4°C / 24 horas
<b>Fósforo total</b>	NMX-AA-029-SCFI-2001 Método 4500-P. B (APHA-AWWA-WPCF, 1998)	500 mL / plástico / refrigeración a 4 °C / 28 días
<b>Nitrógeno total (NTK), Nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), Nitrógeno orgánico</b>	NMX-AA-026-SCFI-2010 Método 4500-Norg.B (APHA-AWWA-WPCF, 1998) Método particular Büchi	2 L / polietileno o vidrio color ámbar / adición de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> hasta pH < 2 con posterior refrigeración a 4°C / 30 días en oscuridad
<b>Nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)</b>	NMX-AA-099-SCFI-2006 Método referido por Sreekumar <i>et al.</i> (2003)	500 mL / polietileno o vidrio / refrigeración a 4°C / 24 h
<b>Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b>	NMX-AA-082-1986 Método 4500-NO <sub>3</sub> .B (APHA-AWWA-WPCF, 1998)	500 mL / polietileno o vidrio / refrigeración a 4°C / 48 h
<b>Temperatura, pH, potencial redox, % O<sub>2</sub> disuelto y concentración de oxígeno disuelto</b>	APHA-AWWA-WPCF (1998)	Las lecturas se tomaron directamente en campo, por lo que, no requieren preservación
<b>Aislamiento de los grupos bacterianos de interés</b>	NMX-AA-102-SCFI-2006	1 L / polietileno o vidrio / refrigeración a 4°C / 24 h

### 3.2.3. Métodos de determinación de características fisicoquímicas de las muestras de agua

La determinación de los parámetros fisicoquímicos se llevó a cabo en dos etapas: la primera se realizó en campo, donde se cuantificaron los parámetros de pH, temperatura, conductividad eléctrica, potencial óxido-reducción, porcentaje de oxígeno disuelto y concentración de oxígeno disuelto mediante el equipo multiparamétrico HACH modelo HI 9828.

Cabe mencionar que el equipo multiparamétrico se configuró para realizar lecturas cada 3 segundos durante un tiempo de medición de 10 min, con el propósito de obtener un menor error en las determinaciones. Por ello, el

valor puntual dado por el equipo después del tiempo de medición representa el promedio de las 200 lecturas realizadas.

Los parámetros que no se determinaron en campo, se ensayaron en el laboratorio siguiendo las guías estandarizadas presentadas en la Tabla 3-2 y cuyos resultados detallados se presentan en el Anexo A.1.2 y A.1.3.

### 3.2.4. Método de aislamiento, cultivo e identificación de grupos bacterianos

A partir de las muestras recolectadas de los puntos de muestreo se formó una muestra compuesta, cuyo aislamiento físico bacteriano se logró por extendido en placa, diluyendo previamente la muestra con una solución salina isotónica para lograr una adecuada separación de las colonias, usando medios selectivos para su aislamiento y medios nutritivos para su mantenimiento.

Los agares que se utilizaron para el aislamiento básico de los grupos bacterianos fueron:

- Agar nutritivo
- Agar papa-dextrosa enriquecido con cloranfenicol (PDA-C)
- Agar sal-manitol (MSA)
- Agar eosina-azul de metileno (EMB)

Una vez sembradas las muestras de agua en los diferentes cultivos, estos se incubaron a una temperatura de 28°C para el agar papa-dextrosa enriquecido con cloranfenicol y se observó el crecimiento de las colonias a las 24, 48 y 72 h. Para el agar nutritivo, agar sal-manitol y agar eosina-azul de metileno, la incubación se realizó a una temperatura de 35°C con un periodo de observación de 12, 24 y 48 h. Las bacterias aisladas de los medios diferenciales se sembraron en medio nutritivo para su mantenimiento y caracterización macroscópica mediante la técnica estría radial. La caracterización microscópica de las bacterias aisladas se llevó a cabo mediante una Tinción de Gram (Anexo A.3.3), la cual, posteriormente fue estudiada con un microscopio óptico a 20, 40 y 100X.

Después de la caracterización micro y macroscópica de las bacterias aisladas y conociéndose su Gram, se seleccionaron y prepararon una serie de pruebas bioquímicas que permitieron identificar a las bacterias mediante su actividad metabólica.

### 3.2.5. Selección de pruebas bioquímicas para la identificación de las cepas aisladas

Posterior al aislamiento, se realizó la siembra de diferentes pruebas bioquímicas, con base en la premisa de que los microorganismos ocupan un reducido número de compuestos orgánicos, llevando a cabo transformaciones que ponen en manifiesto enzimas y procesos metabólicos útiles para la identificación por género y/o especie (Ramírez-Gama *et al.*, 2003). Para la selección de las pruebas bioquímicas realizadas (Anexo A.3.4 y Tabla A-19) se siguieron principalmente los esquemas de identificación propuestos por MacFaddin (2004).

### 3.2.6. Conteos bacterianos por la técnica de Miles y Misra (1938)

Para conocer la concentración bacteriana de los inóculos y de los biorreactores en la etapa de adaptación y biodegradación, se siguió la técnica de Miles y Misra (en Ramírez-Gama *et al.*, 2003), la cual se detalla en el Anexo A.4.2 de este trabajo. La predilección de este método en comparación con el extendido y vertido en placa es el ahorro significativo de materiales e insumos.

### 3.2.7. Extracción en fase sólida EFS (*SPE*) seguida de cromatografía de gases con detector de ionización de flama *GC-FID* (*GC-FID*) o cromatografía de líquidos de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos *CLAR-DAD* (*HPLC-DAD*)

La determinación analítica de la biodegradación de la atrazina, así como la aparición cualitativa y/o cuantitativa de sus metabolitos siguió la técnica de extracción en fase sólida EFS (*SPE*, en inglés), como una metodología de fácil implementación en laboratorio, útil para concentrar los compuestos de estudio y disminuir la cantidad de disolventes orgánicos (Carabias-Martínez *et al.*, 2002; Zarejousheghani *et al.*, 2014).

Posteriormente, se realizó el análisis cuantitativo por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (*GC-FID*, por sus siglas en inglés) para ATZ, DIA y DEA y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a un detector de arreglo de diodos (*HPLC-DAD* por sus siglas en inglés), para el estudio cualitativo de la HA y el AC, ya que son compuestos que en muestras acuosas pueden verse afectadas por altas temperaturas (Wulfeck-Kleier *et al.*, 2010), tal como lo sugieren la EPA (1992) y Segura *et al.* (2011). Los procedimientos presentados por Zhao *et al.* (2016) y Borja-Urzola (2017) fueron utilizados como base para el desarrollo de esta etapa experimental. La metodología explícita usada en este trabajo se presenta en el Anexo 5.

### 3.2.8. Aislamiento y mantenimiento de una especie de microalga silvestre empleada para bioensayos de toxicidad.

La especie algal de prueba se extrajo de una serie de humedales artificiales mantenidos y alimentados bajo las condiciones citadas por Miranda (2017). La muestra de agua se extrajo de la parte superficial de los humedales y mediante diluciones seriadas seguidas de la técnica de pipeteo con punta reducida (Arredondo y Voltolina, 2007) se aisló la especie algal predominante, la cual se depositó en un matraz Erlenmeyer con el agua sintética preparada según la Tabla 4-1 y se mantuvo según la Tabla A-30. La identificación de dicho microorganismo se llevó a cabo mediante su comparación micro-macroscópica y lugar de aislamiento con las especies encontradas en bases de datos internacionales como AlgaeBase (2017) y CONABIO (2017).

### 3.2.9. Bioensayos con atrazina y sus productos metabólicos empleando una especie de microalga silvestre

Para comparar el efecto tóxico de la atrazina respecto a sus productos metabólicos y un blanco, se diseñó un bioensayo siguiendo las metodologías propuestas por las guías 201 (Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test) de la OCDE (2011) y 8111 G de APHA-AWWA-WPCF (1998), en el que se valoró el

crecimiento de la biomasa algal, medida como masa seca, en presencia de los diferentes concentraciones y compuestos obtenidos de la fase de biodegradación. El montaje de este experimento se presenta detalladamente en el Anexo A.6.2.

### 3.3 Análisis estadístico de los resultados experimentales

Para el tratamiento numérico y estadístico de los datos experimentales se emplearon dos programas: el Microsoft Excel 2016 en la elaboración de hojas de cálculo y construcción de gráficas a lo largo de este documento y el STATGRAPHICS Centurion XVI.I en la realización del análisis estadístico-comparativo de los resultados experimentales.



## Capítulo 4. Resultados y discusión

### 4.1. Caracterización fisicoquímica del agua proveniente de Xochimilco por punto de muestreo

Las fotografías tomadas en los puntos de muestreo se presentan en la Tabla A-31. A lo largo de los muestreos subsecuentes, se procuró tomar las muestras siempre en el mismo punto, con apoyo en los datos del sistema de posicionamiento global (*GPS*, en inglés). Los datos “*in situ*” fueron obtenidos con el equipo multiparamétrico HACH modelo HI9828. Siguiendo las condiciones de preservación de las muestras y las metodologías, citadas en la Tabla 3-2, arrojándose los siguientes resultados para los diferentes muestreos. El procedimiento explícito, seguido para dicha caracterización y los materiales utilizados, se presentan en el Anexo 1 de este documento.

A continuación, se presentan diferentes gráficas, en las que se muestran de manera resumida el comportamiento de los parámetros según el muestreo y la zona de estudio. Cabe mencionar que los resultados explícitos para cada una de las determinaciones se presentan en el Anexo A.1.3.

#### 4.1.1. Determinación de materia orgánica medida como DQO ( $\text{mg O}_2/\text{L}$ ) y $\text{DBO}_5$ ( $\text{mg O}_2/\text{L}$ )

Respecto del parámetro de DQO se observó que en los meses que comprenden de enero a abril no se encontró una diferencia significativa entre ellos; sin embargo, la concentración y naturaleza de la materia orgánica no se puede considerar similar, ya que sí se encontró una diferencia notable en la  $\text{DBO}_5$  del mes de enero y mayo en comparación con los demás meses de estudio, tal como se muestra en la Gráfica 4-1.

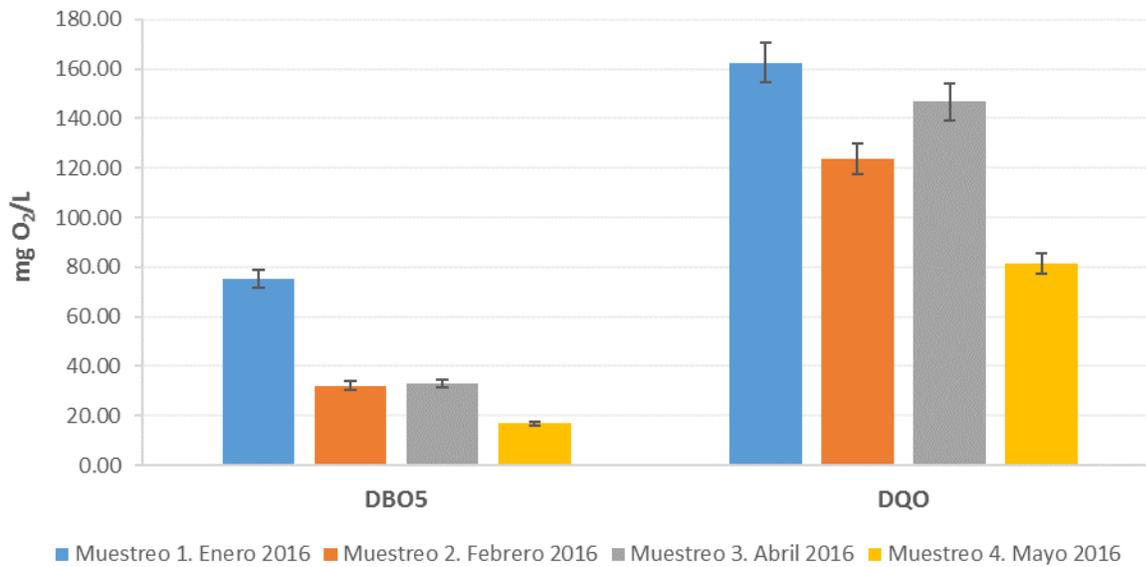
En la Gráfica 4-2 se muestra el comportamiento de dichos parámetros respecto de la zona de muestreo y se tiene que no existe una diferencia sustancial entra la cantidad de materia orgánica encontrada a lo largo de los canales sin importar el uso de suelo circundante a las áreas de estudio.

En las Tablas A-7 y A-8 se encuentran los resultados individuales para la DQO y la  $\text{DBO}_5$  respectivamente ya sea por punto y fecha de muestreo y zona de estudio. Adicionalmente es importante hacer notar que de acuerdo con el INECC (2017) la calidad de agua de los canales de Xochimilco se encuentra mayoritariamente en el intervalo de contaminada, clasificación dada a agua de tipo superficial con descargas de aguas residuales crudas, principalmente de origen municipal. Cabe mencionar que esta clasificación se hace tomando en cuenta únicamente las dos variables experimentales (DQO y  $\text{DBO}_5$ ) ya que para asegurar fehacientemente que el agua de Xochimilco se encuentra contaminada habría que realizar otras determinaciones fisicoquímicas y biológicas adicionales (Abeja-Pineda et al., 2015; Martínez-Cruz et al., 2006; Ortiz-Ordoñez et al., 2016).

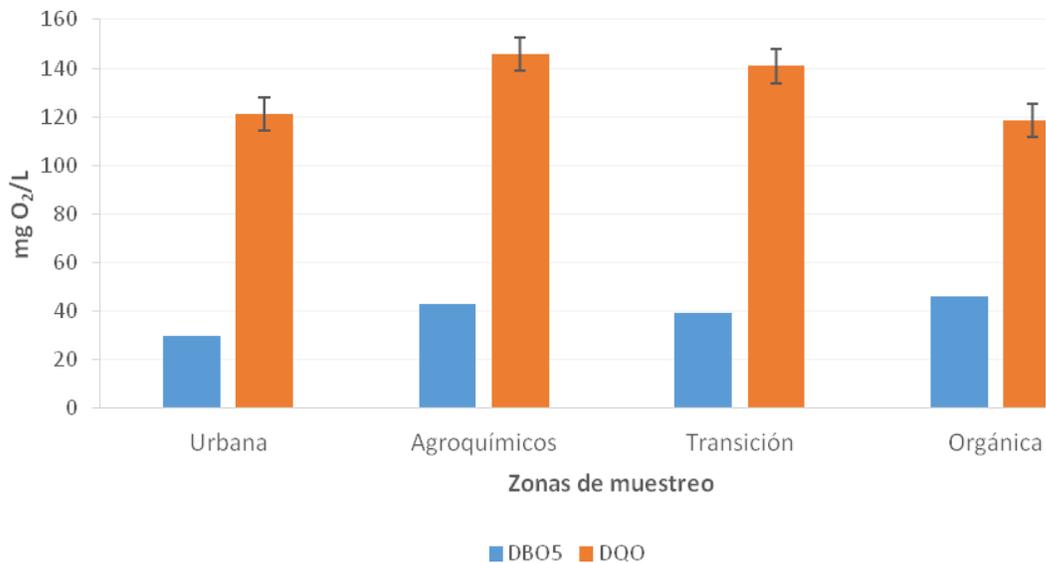
#### 4.1.2. Determinación de fósforo total, $P_{\text{total}}$ ( $\text{mg /L}$ )

El comportamiento del fósforo total fue similar en los once puntos de muestreo y en los diferentes meses de estudio, por lo que variables como la época del año y uso de suelo de la zona no se mostraron representativas para esta variable. Aunado a que la técnica de cuantificación no permite discriminar entre las diferentes especies del fósforo, se consideró que este nutriente se distribuye equitativamente a lo largo del sistema de canales de Xochimilco independientemente de su fuente de entrada. En la Tabla A-9 se presentan los valores

correspondientes para este nutriente, mientras que en las Gráficas 4-3 y 4-4 se presenta el comportamiento de este parámetro respecto del número de muestreo y zona de estudio.



Gráfica 4-1. Comparación del comportamiento de la DBO<sub>5</sub> y la DQO en los diferentes muestreos con desviación estándar



Gráfica 4-2. Comparación de la DBO<sub>5</sub> y en la DQO en las diferentes zonas de muestreo con desviación estándar

#### 4.1.3. Determinación de especies de nitrógeno medidos como $\text{NO}_3^-$ (mg /L), $\text{NO}_2^-$ (mg /L), NTK (mg /L), $\text{N-NH}_4^+$ (mg /L), $\text{N}_{\text{org}}$ (mg /L)

La concentración de nitratos no presentó una tendencia clara, ni con una asociación directa con el uso de suelo de cada zona o con el mes de muestreo; sin embargo, en los meses de febrero y abril la concentración de este nutriente fue más elevada, por lo que el proceso de nitrificación (con el nitrato como compuesto final) se vio más acentuado. En la Tabla A-10 se exponen los valores correspondientes al nitrógeno como nitratos componente fundamental en el ciclo del nitrógeno.

La concentración de nitrógeno en forma de nitritos aumentó claramente con el paso de los meses, duplicándose del valor del mes de febrero al mes de mayo. El aumento de este parámetro se puede atribuir a que los nitritos son una especie intermedia en los procesos de nitrificación y desnitrificación. Los valores obtenidos para este nutriente se observan en la Tabla A-11.

La concentración de nitrógeno total representa la suma de los valores de las especies orgánica y amoniacal. Estas especies se observaron elevadas en enero, mes en el cual las características ambientales son más frías y la cinética bacteriana capaz de degradar estas dos especies se ve disminuida. Este parámetro pareció tener una relación clara con la zona urbana, ya que los valores más altos se observaron en los puntos de muestreo 1, 2 y 3. La Tabla A-12 muestra los valores y el comportamiento correspondiente al nitrógeno total, respectivamente.

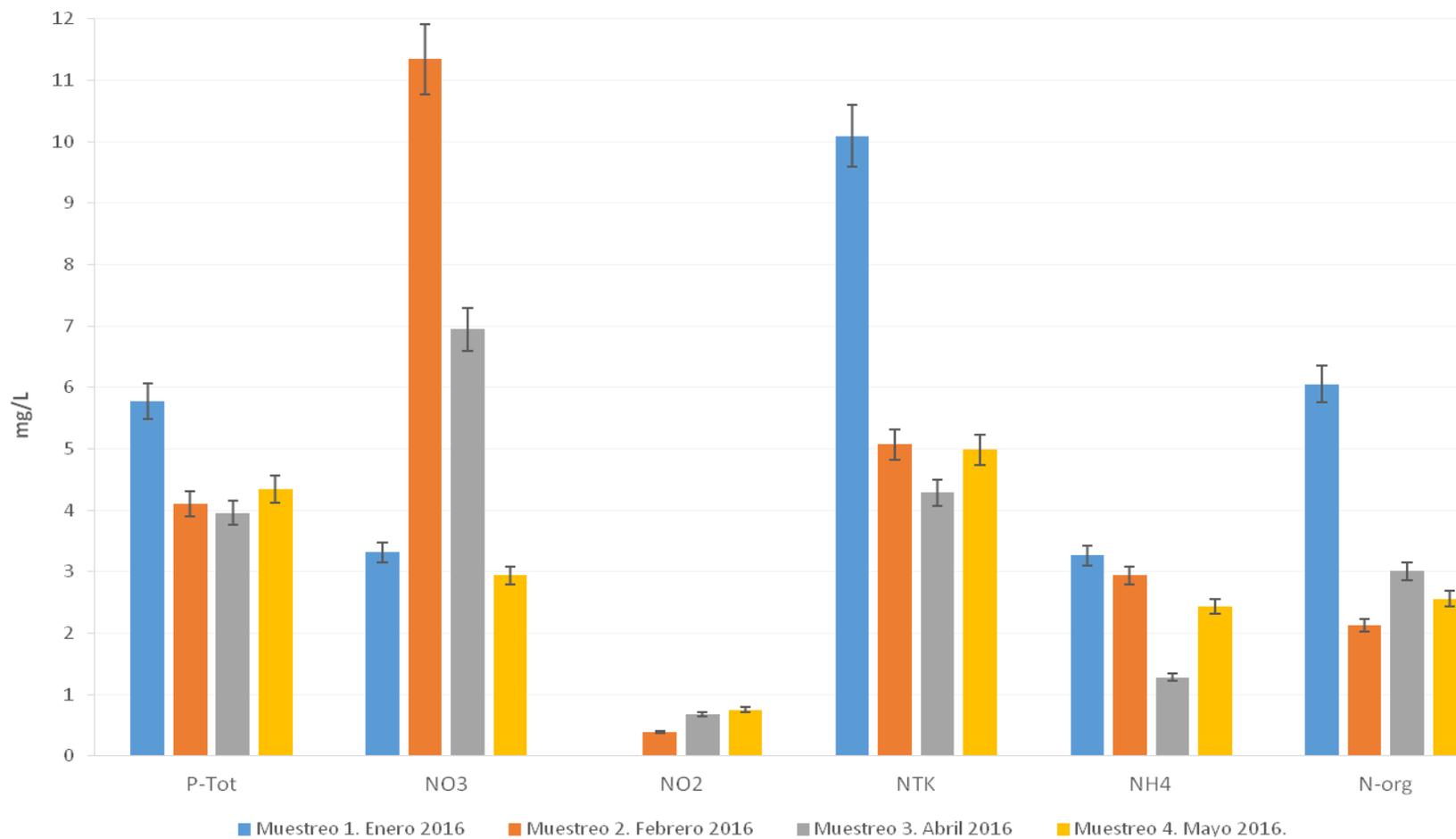
En coherencia con el nitrógeno total, el  $\text{N-NH}_4^+$  se encontró elevado durante el primer muestreo y en mayor proporción en la zona urbana. Esto podría relacionarse con la cantidad de agua residual doméstica que se descarga en esta sección de los canales, donde los compuestos con base en la urea son biotransformados a amonio. En la Tabla A-13 se muestran los valores correspondientes al nitrógeno amoniacal.

El nitrógeno orgánico, presentó una concentración elevada, con la diferencia de que los valores más altos se registraron en la zona catalogada como “chinampera con uso de agroquímicos”, debido a que el uso de estos productos podría estar incrementando la proliferación de biomasa bacteriana, la cual principalmente se mide como nitrógeno orgánico. En la Tabla A-14 se presentan los valores correspondientes al nitrógeno orgánico.

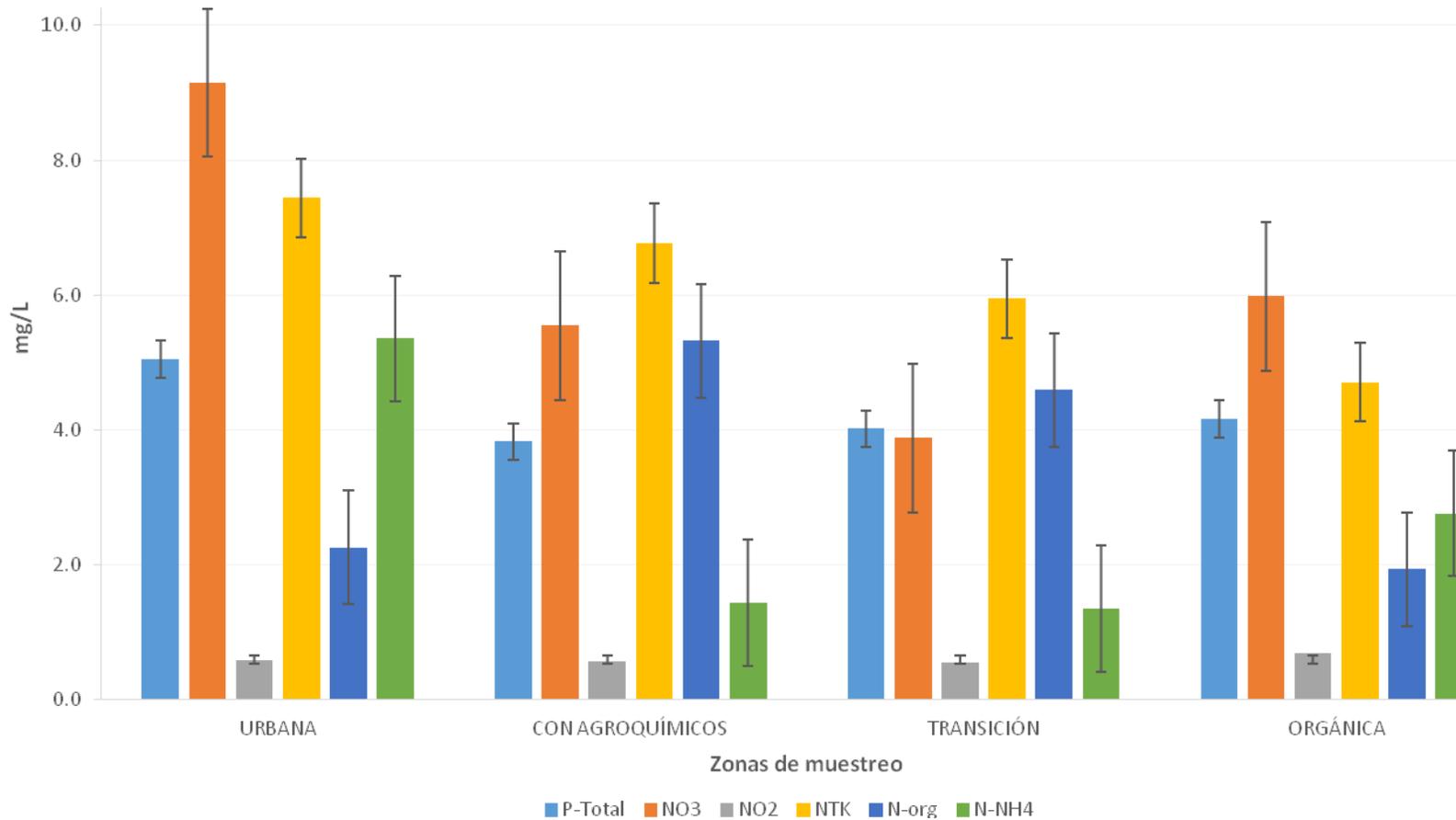
En las Gráficas 4-4 y 4-3 se expusieron los valores promedio por parámetro de estudio, obtenidos en los muestreos realizados en diferentes meses del presente año y en las cuatro zonas de estudio. En estas imágenes se presentaron las desviaciones estándar, con el propósito de conocer si las mediciones, nitrógeno y fósforo presentaban una variabilidad con el paso del tiempo y la zona de recolección.

#### 4.1.4. Potencial de hidrógeno, pH (unidades)

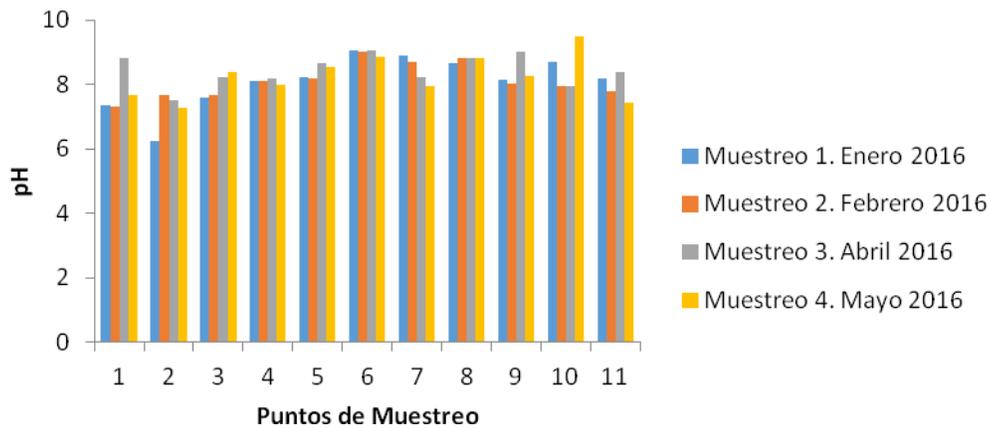
Respecto del pH de las muestras, se notó que este parámetro se mantuvo sin cambio considerable durante los cuatro meses de muestreo (Gráfica 4-5), hallándose valores que van desde el pH neutro a ligeramente ácido (una muestra) o ligeramente básico (varias muestras). Únicamente los valores de pH resultantes de la zona urbana son ligeramente neutros, pero esto se puede atribuir al metabolismo de la sustancial materia orgánica carbonosa a especies ácidas las cuales se disuelven en el agua. La Tabla A-15 se presenta los valores unitarios correspondientes al pH del agua al momento de tomar las muestras.



Gráfica 4-3. Comparación de los nutrientes en los diferentes muestreos



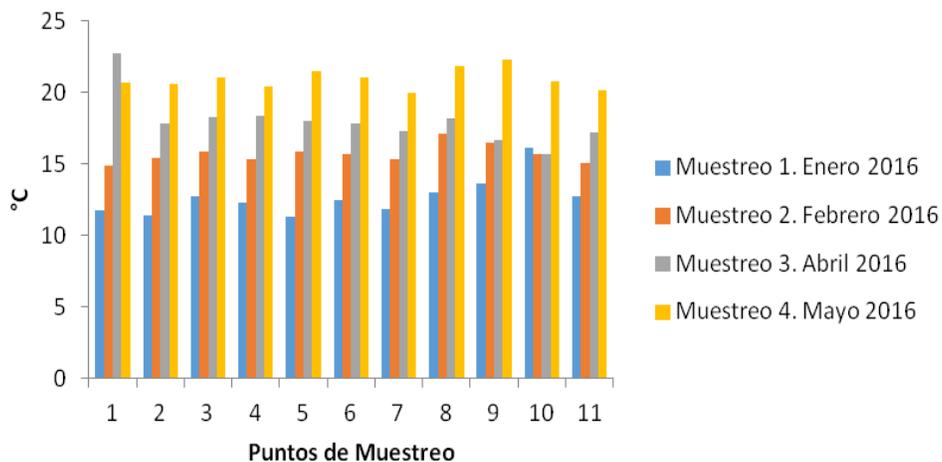
Gráfica 4-4. Comparación de la concentración de los diferentes nutrientes por zona de muestreo



Gráfica 4-5 Valores de pH en los diferentes meses por punto de muestreo

#### 4.1.5. Temperatura, °C

Los valores de temperatura se observaron claramente afectados por las características ambientales del transcurso del día y la época del año predominante en la fecha de muestreo (Gráfica 4-6), ya que el resultado más bajo se presentó en mes de enero (etapa de menor temperatura anual), mientras que los puntos con una mayor temperatura, correspondieron a los puntos 5, 8 y 9 que tienen una menor profundidad, por lo que la luz solar permitió el calentamiento más rápido del agua en estas zonas. En la Tabla A-16 se presenta los valores unitarios correspondientes a la temperatura puntual en el momento de la toma de las muestras.

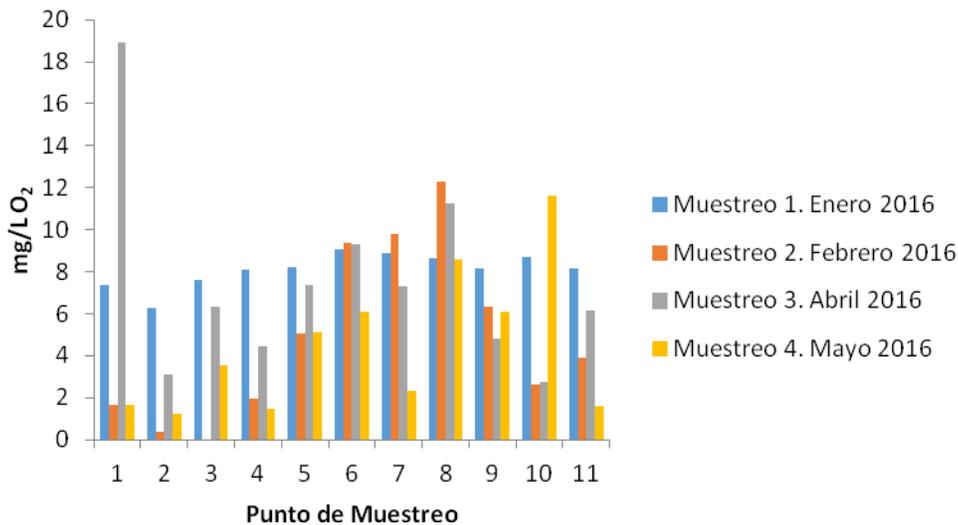


Gráfica 4-6. Comportamiento de la temperatura (°C) durante los diferentes meses de muestreo

#### 4.1.6. Oxígeno disuelto, OD (mg /L)

El parámetro de oxígeno disuelto es un indicador claro de la calidad del agua en un ecosistema y de los procesos metabólicos que ahí se desarrollan. Además, es una medida que se ve sensiblemente afectada por factores como la temperatura, presencia de material vegetal, profundidad del canal, entre otros. Cabe mencionar que los datos obtenidos resultaron muy heterogéneos, destacándose el punto 8 y el punto 2, donde se encontraron los valores más altos y bajos respectivamente, por lo que las características del punto de muestreo resultaron de importancia en las concentraciones de este compuesto (Gráfica 4-7).

En la a Tabla A-17 se presenta los valores unitarios correspondientes al oxígeno disuelto medido durante la toma de muestra.



**Gráfica 4-7. Comportamiento del parámetro de oxígeno disuelto en los diferentes muestreos**

#### 4.2. Composición del agua sintética de trabajo

El agua sintética se preparó usando como base la formulación propuesta por Lolmede *et al.* (2000), adaptando las cantidades y componentes a las concentraciones de nutrientes obtenidas en la caracterización fisicoquímica promedio de las muestras de agua de interés (Tabla 4-1).

A continuación, se presenta la formulación del agua sintética y su contribución teórica y real de fosfatos, carbono y nitrógeno, según el valor mínimo encontrado a lo largo de los diferentes muestreos. El cálculo de dicha composición se presenta en el Anexo 2 de este documento.

Tabla 4-1. Composición del agua sintética de trabajo

Componente	Contribución real (mg/L)	Contribución teórica (mg/L)	Intervalo de trabajo (mg/L)
Glucosa	71.8	71.8	71.7 – 227.1
Fosfato monobásico de potasio	3.0	3.0	3.0 – 7.6
Nitrato de potasio	1.32	0.9	0.9 – 22.3
Nitrito de sodio	0.07	0.01	0.01 – 1.02
Urea	1.8	1.6	1.6 – 21.1
Cloruro de amonio	0.6	0.4	0.4 – 10.3
Disolución amortiguadora $B_4H_{20}Na_2O_{17} \cdot 10H_2O/HCl$	5 mL/L	***	***
Sulfato de manganeso hidratado	0.00625	***	***
Sulfato de magnesio heptahidratado	0.062	***	***
Cloruro de calcio	0.037	***	***
Cloruro de hierro hexahidratado	37.5	***	***

Cabe mencionar, que el pH de trabajo para el agua sintética fue de 8.2, el cual se ajustó con NaOH 2M. Se realizó la aportación experimental de cada uno de los componentes y, en caso de ser necesario, se ajustó para cumplir con los intervalos especificados.

#### 4.3. Aislamiento y mantenimiento del consorcio bacteriano con posible capacidad para degradar atrazina

La siembra por dilución seriada y extendido en placa, se realizó según el procedimiento presentado en el Anexo 3 de este documento, obteniéndose la disminución gradual del número de colonias, tal como se muestra en la Tabla A-32. De estas cajas, se recuperaron las colonias más representativas por medio (Tabla A-18), basándose en dos criterios subjetivos:

1. Abundancia y características físicas como: tamaño, forma, color, textura, crecimiento en el medio entre otras.
2. Aquellas que compartían características macroscópicas con bacterias con capacidad documentada de degradar atrazina.

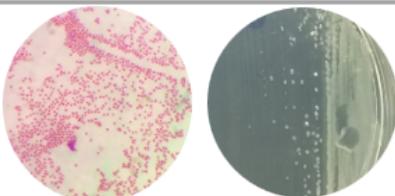
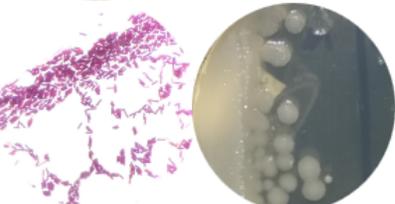
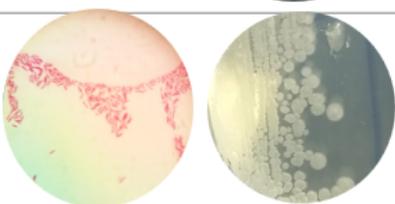
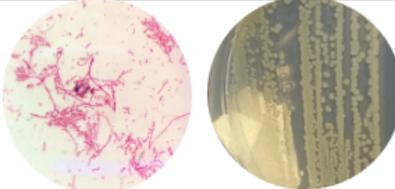


Cabe mencionar que del medio PDA-C solamente se logró recuperar una colonia, ya que no se observó crecimiento adicional.

Las colonias seleccionadas se sembraron en medio nutritivo para notar las cualidades de crecimiento similar de todas las bacterias en el mismo medio. Posteriormente, con este crecimiento se realizó la tinción de Gram (Anexo A.3.3), observándose las características descritas en la Tabla 4-2.

Con base en la tinción y en el crecimiento en las cajas de los diferentes medios, se realizaron las pruebas bioquímicas descritas en las Tabla A-19 y A-33 para identificar el género y, en algunos casos, la especie de las cepas aisladas.

**Tabla 4-2. Características las cepas aisladas e identificadas de los canales de Xochimilco**

Género	Características macroscópicas	Características microscópicas	Pruebas bioquímicas positivas	Tinción / Crecimiento
<i>Morococcus sp</i>	Colonias puntiformes, color paja con bordes irregulares y textura suave	Cocos, Gram negativo, apilados	Catalasa Fermentación de glucosa Movilidad Oxidasa Hidrólisis de lecitina	
<i>Bacillus megaterium</i>	Colonias grandes, acuminadas con bordes irregulares	Bacilos medios, con espora central, Gram positivos, sin agrupación aparente	Catalasa Reducción de nitratos Oxidación de glucosa Movilidad Hidrólisis de almidón Hidrólisis de caseína $\beta$ -hemólisis	
<i>Agrobacterium sp</i>	Colonias medianas color blanco, irregulares	Bacilos cortos y delgados, apilados, Gram negativo	Catalasa Oxidación de glucosa Movilidad Oxidasa Hidrólisis esculina Hidrólisis de caseína	
<i>Nocardia sp</i>	Colonias beige rugosas, secas con bordes irregulares	Estructuras alargadas con terminaciones bacilares o cocoides. Gram negativo.	Catalasa Reducción de nitratos Oxidativo de glucosa Oxidasa Hidrólisis de lecitina Hidrólisis de almidón	

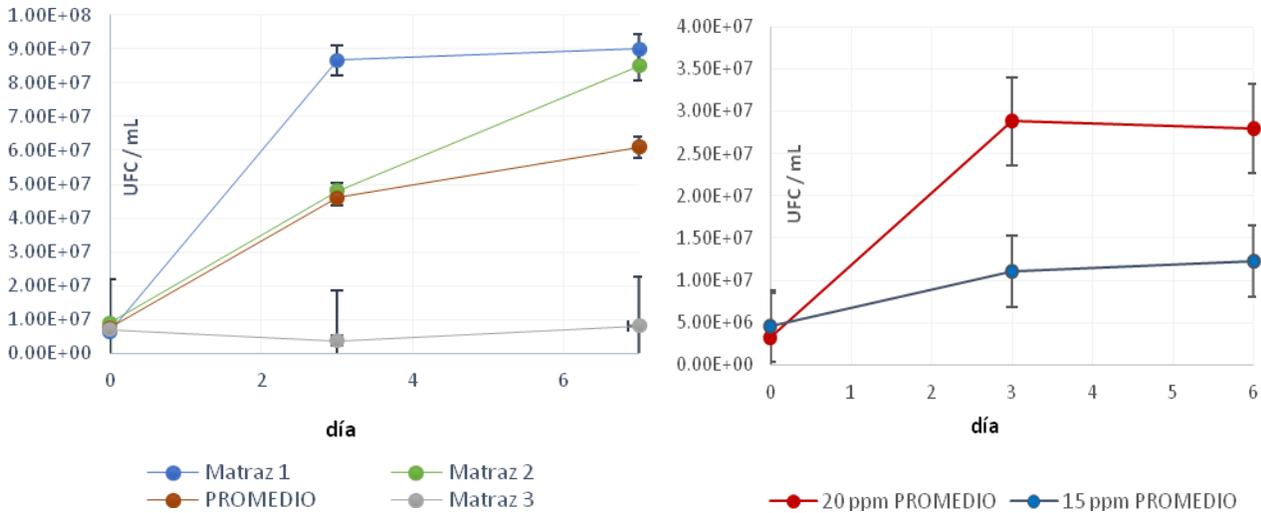
#### 4.4 Adaptación de las cepas bacterianas aisladas de los canales de Xochimilco

Las cepas aisladas de los canales de Xochimilco se sometieron a un proceso de adaptación al agua sintética preparada según la Tabla 4-14 para una posterior adaptación a la atrazina en concentraciones de 15 y 20 mg/L.

La adaptación al agua sintética se evaluó mediante cuatro conteos bacterianos, los cuales, se realizaron en un lapso de 15 días y se presentan en la Gráfica 4-8 siguiendo la técnica de Miles y Misra (en Ramírez-Gamma *et al.*, 2003) desarrollada en 1938 (Anexo A.4.2). En el día 15 se realizó una mezcla de la suspensión de

microorganismos en agua sintética contenida en los 3 matraces de trabajo para su conservación y uso futuro en la adaptación al herbicida.

El grupo de microorganismos adaptados al agua sintética se sembraron en un medio nutritivo para la preparación de un inóculo bacteriano de concentración conocida, siguiendo el procedimiento presentado en el Anexo A.4.1 de este trabajo. Dicho inóculo se fraccionó y re suspendió en disoluciones de 20 y 15 mg/L de atrazina. Al igual que en el agua sintética, la adaptación al plaguicida se evaluó por conteos bacterianos, los cuales se presentan en la Gráfica 4-9 y el Anexo A.4.4.



Gráfica 4-8. Adaptación de las cepas aisladas al agua residual sintética

Gráfica 4-9. Adaptación de las cepas aisladas a la atrazina (datos promedio)

#### 4.5 Cinéticas de degradación de atrazina (conteos microbianos)

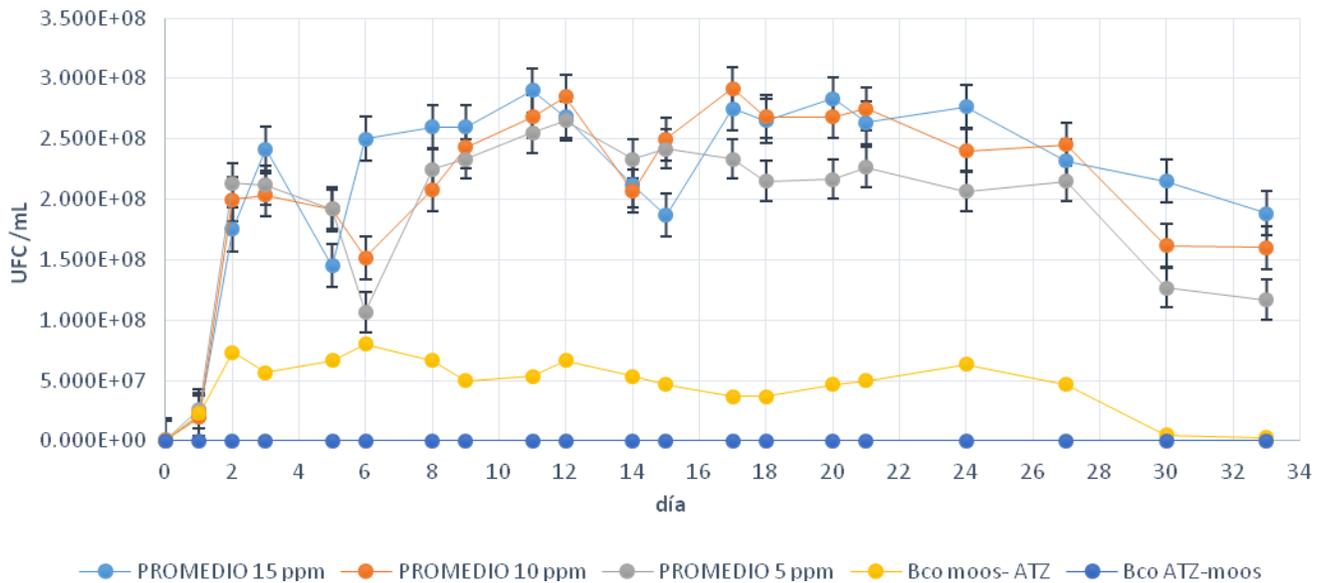
Las cepas aisladas que se adaptaron al agua sintética y a la atrazina, fueron usadas para analizar el proceso de degradación biológica que sufre este plaguicida en condiciones similares a las encontradas en Xochimilco con excepción de la concentración experimental del herbicida atrazina que, a pesar de no haberse encontrado en la zona de estudio, fue entre 1,000 y 50,000 veces mayor a las concentraciones máximas permisibles, reportadas por diversas organizaciones internacionales tal como se resume en Hansen *et al.* (2013).

La biodegradación se llevó a cabo a nivel matraz usando el agua sintética formulada y estudiando tres concentraciones diferentes de atrazina 5, 10 y 15 mg/L más dos blancos; el primero, incluía atrazina a una concentración de 10 mg/L sin microorganismos (Bco ATZ-moos) y el segundo, que no contenía atrazina, solamente el inóculo bacteriano (Bco moos-ATZ). Las concentraciones experimentales Las condiciones de trabajo para este experimento se presentan en la Tabla 4-3.

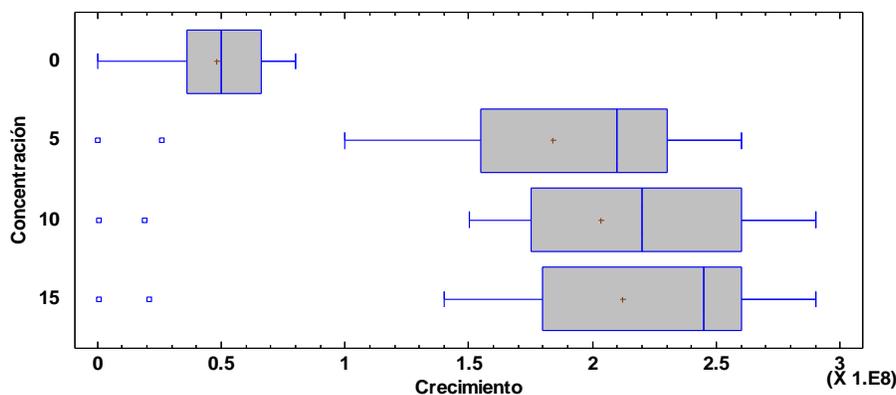
Tabla 4-3 Condiciones de trabajo para la etapa de biodegradación

Temperatura	Agitación	Duración	Número de muestreos (conteos bacterianos)	Número de muestreos (determinación analítica)	Número de matraces por concentración de atrazina
Ambiente Máxima 23°C Mínima 15°C	100 rpm	30 días (4 semanas)	20  Frecuencia de muestreo: Ver Gráfica 4-10	11  Frecuencia de muestreo: Cada tres días	15 mg/L: 2  10 mg/L: 2  5mg/L: 5  Bco ATZ-moos: 1  Bco moos-ATZ: 1

Los conteos bacterianos realizados a lo largo de los 30 días se presentan en la Gráfica 4-10 y Anexo 4-5, donde se observa un mayor desarrollo de microorganismos en presencia de atrazina respecto del blanco sin el herbicida, adicionalmente, existe una diferencia significativa en su proliferación con el 95% de confianza, lo que indica que el desarrollo bacteriano sí se ve modificado por las diferencias de concentración de atrazina, tal como se muestra en la Gráfica 4-8 de cajas y bigotes y la conclusión estadística en el Anexo A.9.1.



Gráfica 4-10. Biodegradación de atrazina (conteos bacterianos)



Gráfica 4-11. Comparación del desarrollo del consorcio microbiano con respecto de las diferentes concentraciones de atrazina

#### 4.6 Cinéticas de degradación de atrazina (resultados analíticos)

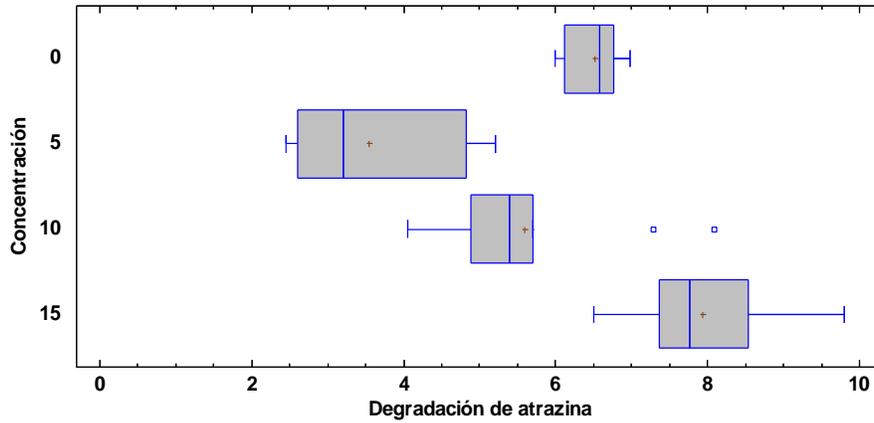
Las 11 muestras extraídas a lo largo de los 30 días del experimento para determinar la biodegradación de la atrazina y la aparición de los diferentes productos de degradación siguieron el procedimiento presentado para la extracción y cuantificación en el Anexo A.5.3. Dichos resultados se presentan en la Tabla 4-4 y la Gráfica 4-13.

Tabla 4-4. Porcentaje de biodegradación de atrazina y aparición de sus productos metabólicos

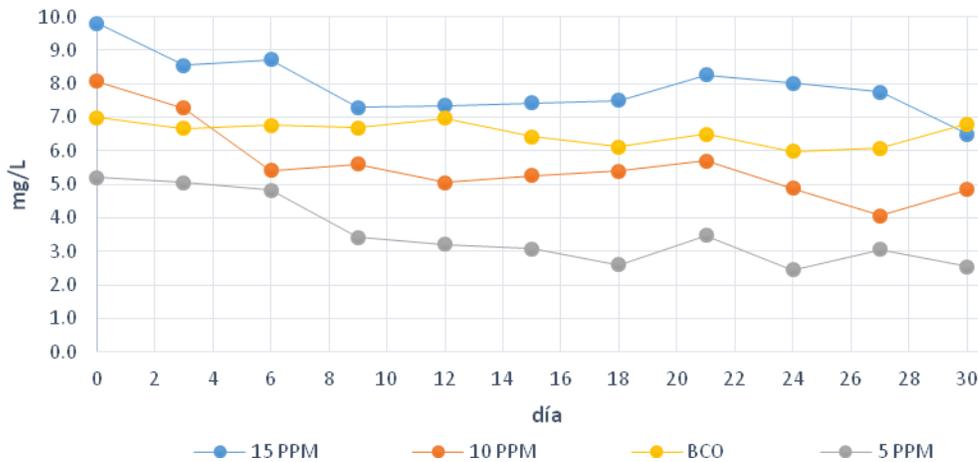
Concentración teórica de trabajo	15 mg/L	10 mg/L	5 mg/L	Bco ATZ-moos
Porcentaje de degradación (%)	33.73	40.11	51.30	2.72
Productos de degradación encontrados	DEA; AC; HA	DEA; HA	DEA; HA	AC
Concentración del producto de degradación (mg/L)	0.54; 1.97; 0.021	1.25; 0.23	0.73; 0.34	0.027
Día de aparición del producto metabólico	6; 30	12; 30	9; 30	30

Mediante la técnica de CG-FID se consiguió cuantificar la cantidad de atrazina disuelta en el agua residual sintética utilizada como matriz para determinar la biodegradación de este plaguicida. La fracción de atrazina disuelta no superó los 10 mg/L, pese a que la literatura reporta la solubilidad del herbicida en 35 mg/L (Tabla 2-2), por lo que factores como la temperatura, presión atmosférica, naturaleza del plaguicida y la capacidad disolvente del agua afectaron la solubilidad de la misma, tal como lo señalan Henry y Heinke (1999).

Dado lo anterior, no se logró exponer al consorcio microbiano aislado para este experimento a una concentración mayor de 10 mg/L; sin embargo, sí se observa diferencia en los porcentajes de biodegradación para las tres diferentes concentraciones de atrazina empleadas, tal como se muestra en la Gráfica 4-12 y la conclusión estadística en el Anexo A.9.2.



Gráfica 4-12. Comparación de la degradación de atrazina respecto a la concentración de prueba

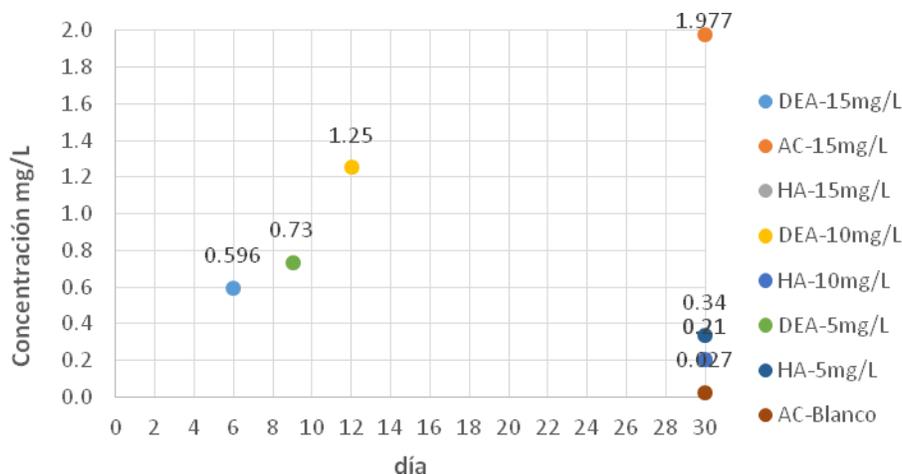


Gráfica 4-13. Seguimiento de la biodegradación de la atrazina durante los 30 días de estudio

El producto metabólico de degradación encontrado por CG-DIF fue la desetilatrazina (DEA), el cual solamente se observó en el día 9 para la concentración de 15 mg/L, el día 12 para 10 mg/L y en el día 6 para 5 ppm de atrazina, por lo que se sugiere que este compuesto se integró nuevamente al proceso de biodegradación dando como resultado compuestos de menor complejidad como la deisopropil-desetilatrazina -DIDEATZ- (deCecilia y Maggi, 2016).

En el caso de la HA y el AC sólo se realizó el análisis cromatográfico para el último día de muestreo (02 de septiembre, 2016) encontrándose a las concentraciones presentadas en la Tabla 4-14.

Adicionalmente, en la Tabla 4-5 y en el anexo A.5.3.4 se presenta el balance de materia realizado para conocer la cantidad de productos secundarios generados, pero no cuantificados a lo largo de la etapa de degradación; para las concentraciones de 15 mg/L, 10 mg/L y 5 mg/L fue de 1.12, 0.03 y 2.33 mg/L mientras que para el blanco fue de 0.16 mg/L.



Gráfica 4-14. Concentración de los productos de biodegradación durante los 30 días de estudio

Tabla 4-5. Balance de materia para las tres diferentes concentraciones de atrazina para el día 30 de experimentación.

ATZ inicial (mg/L)	ATZ final (mg/L)	ATZ Removida (mg/L)	DEA (mg/L)	AC (mg/L)	HA (mg/L)	OTROS (mg/L)
<b>15 mg/L</b>						
9.80	6.50	3.31	-	1.97	0.21	<b>1.12</b>
<b>10 mg/L</b>						
8.08	4.84	3.24	-	-	0.21	<b>3.03</b>
<b>5 mg/L</b>						
5.21	2.54	2.67	-	-	0.34	<b>2.33</b>
<b>Blanco</b>						
6.98	6.79	0.19	-	0.02	-	<b>0.16</b>

#### 4.7 Parámetros cinéticos y tiempo de vida media

Contemplando los modelos cinéticos propuestos por Monod (1949) y Michaelis-Menten (1913) y haciendo uso de lo presentado por deCecilia y Maggi (2016), Khan *et al.* (2015) y Bikandi (2014) se calcularon los parámetros cinéticos y analíticos que reflejen la biodegradación de la atrazina, los cuales se presentan en la Tabla 4-6 y su cálculo en el Anexo A.5.3.5

Cabe hacer notar que los resultados experimentales obtenidos a nivel de laboratorio como los presentados en este trabajo no pueden ser totalmente extrapolados al Sistema de Canales de Xochimilco o para algún otro cuerpo de agua con presencia de sólidos disueltos totales importante, ya que la atrazina puede sufrir fenómenos de adsorción a la materia orgánica e inorgánica en disolución, tal como lo mencionan Abate y Masini (2005) y Jin *et al.* (2016).

Tabla 4-6. Porcentaje de biodegradación de atrazina y aparición de sus productos metabólicos

Concentración (mg/L)	Parámetros cinéticos			Parámetros analíticos	
	Constante de crecimiento $k$	Tiempo de generación (d)	Velocidad de división $\mu$ (d <sup>-1</sup> )	Constante de degradación $k'$ (d <sup>-1</sup> )	Tiempo de vida media (d)
15	16.52	0.0419	23.85	0.013	51
10	16.62	0.0417	23.99	0.017	41
5	16.67	0.0416	24.05	0.024	29
Bco ATZ-moos	-	-	-	0.0009	736.08

A lo largo de los cinco meses de estudio del agua de los Canales de Xochimilco se obtuvieron valores promedio de sólidos disueltos totales (SDT) de 432.09, 381.63, 403.09 y 374.90 mg/L para el primero, segundo, tercer y cuarto muestreos, respectivamente, por lo que las concentraciones de SDT en conjunto con las condiciones de pH y de concentración de materia orgánica, medida como ácidos húmicos y fúlvicos, pueden promover la adsorción de la atrazina, por la formación de enlaces iónicos entre dichas sustancias (Yue *et al.*, 2016), aunque este fenómeno se ha estudiado y detectado principalmente en suelo, en agua superficial con alta cantidad de sólidos totales puede ser una interferencia importante, ya que es posible malinterpretar la adsorción del herbicida con la degradación o eliminación del mismo (Debasmita y Rajasimman, 2013).

#### 4.8 Efecto tóxico de la atrazina y sus metabolitos en un alga silvestre

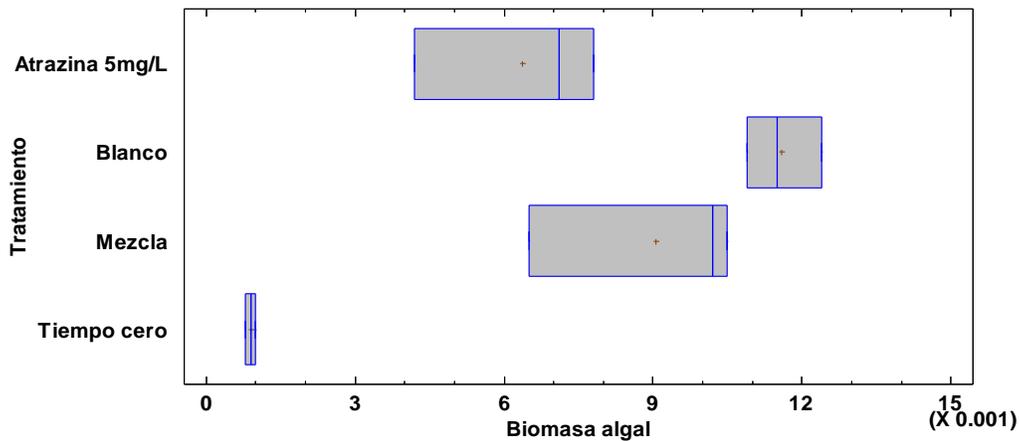
*Chlorococcum sp.* fue la especie de alga silvestre aislada de un sistema de humedales artificiales asistidos electroquímicamente (Miranda, 2017), cuyo proceso de aislamiento y mantenimiento se detalla en el Anexo A.6.1. La especie de alga aislada se expuso a una concentración de 5 mg/L de atrazina y a una concentración mixta de compuestos de 1.25 mg/L de DEA, 1.97 mg/L de AC y 0.34 mg/L de HA, para estudiar si había una diferencia estadística en el crecimiento algal entre la menor concentración de atrazina utilizada en la fase de biodegradación y la mayor concentración de los productos metabólicos encontrada a lo largo de todo el experimento respecto a un blanco sin contaminantes (Anexo A.6.2). Los resultados de esta prueba de toxicidad expresados como masa seca se presentan en la Tabla 4-7.

En dicha tabla se observa que existe una diferencia sustancial entre el desarrollo del alga en presencia de los diferentes compuestos en donde la atrazina es la sustancia con una toxicidad equiparable a la de mezcla de los compuestos de degradación, ya que presentan una diferencia significativa importante con respecto del blanco. La evidencia gráfica de dicha determinación se presenta en la Tabla A-34 y en el Anexo A.9.3

El efecto tóxico que tiene la atrazina sobre las algas es notorio, tal como lo demuestran Tang *et al.* (1997) y Deblois *et al.* (2013) cuyos experimentos reportan que desde concentraciones de 1 µg/L se encuentran efectos inhibitorios en el desarrollo de las algas en experimentos al largo plazo (mayores a 9 días), y de 1000 µg/L en experimentos al corto plazo como los desarrollados en esta investigación (96 h).

Tabla 4-7. Masa seca de la especie algal *Chlorococcum sp.* en presencia de atrazina y sus productos de degradación

	Tiempo cero (g)	Blanco (g)	Atrazina (g)	Mezcla (g)
Concentración	0.0009	0.0109	0.0071	0.0105
	0.0008	0.0124	0.0042	0.0065
	0.0010	0.0115	0.0078	0.0102
Promedio	0.0009 ± 0.00010	0.0116 ± 0.00075	0.0063 ± 0.00191	0.0090 ± 0.00223



Gráfica 4-15. Comparación de la producción de biomasa algal obtenida por tratamiento.

Adicionalmente, la semejanza estadística que existe entre la toxicidad de la atrazina y la mezcla de metabolitos, puede deberse a la similitud de determinadas características como el coeficiente de partición octanol-agua (hidrofobicidad-lipofilicidad) y solubilidad que comparten entre sí la DEA, HA y AC, con la ATZ, por lo que el mecanismo de acción (penetración física de la membrana o sitio de acción) pueden ser análogos (He *et al.*, 2012).



## Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

De acuerdo con los objetivos general, de determinar la biodegradación del herbicida químico atrazina (ATZ) por un consorcio microbiano aislado de algunos puntos muestreados en los canales de Xochimilco, así como los específicos de este trabajo, de caracterizar fisicoquímicamente algunas muestras de agua superficial provenientes del sistema de canales de Xochimilco, identificar a nivel bioquímico, los microorganismos predominantes en las muestras de agua superficial tomadas del sistema de canales de Xochimilco, seleccionar los microorganismos capaces de degradar a la atrazina a los productos metabólicos de estudio desetilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA), ácido cianúrico (AC) e hidroxiatrazina (HA), determinar los parámetros cinéticos que reflejen la capacidad de biodegradación de la atrazina y la aparición de cuatro de sus principales productos metabólicos de degradación (DEA y DIA, HA y AC) por el consorcio microbiano y determinar mediante una prueba de toxicidad en una especie de alga si los productos de biodegradación resultan significativamente menos tóxicos que el compuesto inicial (atrazina), así como la hipótesis de que bajo condiciones de laboratorio, la atrazina se biodegradará significativamente a productos de menor toxicidad mediante un consorcio microbiano aislado en los puntos en estudio de los canales de Xochimilco, a continuación, se señalan las conclusiones para esta investigación.

- Las cepas aisladas *Nocardia sp.*, *Bacillus megaterium*, *Morococcus sp.* y *Agrobacterium sp.* demostraron tener la capacidad de degradar a la atrazina hasta en un 50% en un lapso de 30 días, produciendo los metabolitos DEA, AC y HA en concentraciones variables, los cuales se determinaron mediante las técnicas analíticas de *GC-FID* y *HPLC-DAD*.
- Se caracterizaron fisicoquímicamente las muestras de agua superficial provenientes de cuatro zonas distintas a lo largo de los canales de Xochimilco, mediante parámetros de calidad de agua como DQO, DBO<sub>5</sub>, especies de nitrógeno y fósforo, con lo que fue posible formular un agua residual sintética que lograra emular las condiciones de nutrientes encontradas en el sitio de estudio.
- Haciendo uso de los parámetros cinéticos: constante de crecimiento ( $k$ ), el tiempo de generación ( $g$ ) y la velocidad de división ( $\mu$ ) y de parámetros analíticos: constante de degradación ( $k'$ ) y tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) se determinó que la presencia de un consorcio microbiano acelera significativamente la degradación de la atrazina con un tiempo de vida media teórico de hasta 29 días, mientras que sin presencia bacteriana puede ser mayor a un año.
- Haciendo uso del alga *Chlorococcum sp.* se comprobó que la mezcla de los productos de degradación DEA, AC y HA a las concentraciones determinadas, tienen un efecto tóxico similar al de la atrazina 5mg/L, al encontrarse que dichas sustancias disminuyen sustancialmente el desarrollo de esta especie algal por lo que la hipótesis no se cumplió.

## 5.2 Recomendaciones

De acuerdo con las conclusiones, para trabajos posteriores dentro de esta línea de investigación se recomienda lo siguiente:

- Tipificar a nivel molecular las cepas bacterianas *Nocardia sp.*, *Bacillus megaterium*, *Morococcus sp.* y *Agrobacterium sp.* para lograr la identificación inequívoca de dichos microorganismos.
- Realizar el seguimiento cromatográfico de la biodegradación de la atrazina diariamente con el fin de poder detectar y conocer de una manera óptima el comportamiento de los productos de degradación DEA, DIA, HA y AC; se sugiere el uso de la cromatografía de líquidos, ya que mediante esta técnica es posible la determinación simultánea de los cinco compuestos de estudio en una muestra acuosa previamente preparada, evitando así el uso de la extracción en fase sólida y la cromatografía de gases, por lo que resultaría un estudio más económico y factible.
- Evaluar de manera individual el efecto tóxico de los productos resultantes de la degradación para conocer la contribución negativa de cada uno de ellos y conocer si se presentan fenómenos de antagonismo, sinergismo entre otros.
- Hacer pruebas de biodegradación directamente con las muestras de agua extraídas de los canales de Xochimilco para evaluar la eficiencia del consorcio aislado en la degradación de la atrazina y de sus productos secundarios.

# ANEXOS

## Anexo 1. Equipos empleados y análisis químicos realizados

### A.1.1. Equipos empleados

En la Tabla A-1 se presentan los equipos utilizados para la presente investigación, tanto para la caracterización fisicoquímica de las muestras de agua proveniente de los canales de Xochimilco, así como para su estudio microbiológico.

**Tabla A-1. Equipos utilizados**

Equipo	Marca/Modelo	Utilidad
<b>Agitador orbital</b>	Shaker Incubator / Luzerne	Agitación de muestras diversas
<b>Autoclave</b>	Tuttnauer / 3150 EL	Esterilización de material y medios
<b>Balanza analítica</b>	Ohaus / N36434	Pesado de reactivos sólidos
<b>Baño ultrasónico</b>	Cole-Parmer / 08895-39	Preparación de disoluciones / lavado de material
<b>Bomba de aire</b>	Máxima / 30 galones	Aeración de disolución nutritiva para DBO <sub>5</sub>
<b>Campana de flujo laminar</b>	SEV/ CFL 102	Sembrado microbiológico
<b>Centrífuga</b>	Eppendorf / 5810R	Centrifugado de muestras / secado de cartuchos HLB
<b>Cromatógrafo de gases /detector de ionización de flama</b>	Agilent Technologies 7890 A / FID Agilent Technologies 7890	Cuantificación de muestras ATZ, DEA, DIA
<b>Cromatógrafo de líquidos /detector de arreglo de diodos</b>	Agilent Technologies 1260 /Agilent Technologies DAD G4212B	Cuantificación de muestras HA y AC
<b>Electrodo de oxígeno disuelto</b>	HACH / HI9828	Medición de oxígeno inicial y residual para DBO <sub>5</sub>
<b>Equipo de nitrógeno total Kjeldahl</b>	Büchi / Scrubber K-415 Büchi / K-446 Büchi / K-350	Lavador de gases. Nitrógeno total Digestor. Nitrógeno total Destilador. Nitrógeno total y nitrógeno amoniacal
<b>Equipo tipo “manifold”</b>	Supelco /	Extracción en fase sólida
<b>Equipo multiparamétrico</b>	HACH / HI9828	Medición de parámetros de campo
<b>Espectrofotómetro UV-Vis</b>	GBC Scientific Equipment / Cintra 5	Medición cuantitativa de parámetros

Tabla A-1. Equipos utilizados (continuación)

Equipo	Marca/Modelo	Utilidad
Medidor de pH	Thermo Electron Corporation / 720 AO	Medición de pH de muestras diversas
Horno	Felisa / F-293 D	Secado de reactivos y material. Digestión de DQO
Microscopio óptico	Olympus / CH30	Observación de muestras diversas
Microscopio estereoscópico	Olympus / SZ11	Observación de muestras diversas
Parrilla de agitación magnética	Science Med / MS7-H550-S	Agitación de muestras diversas
Set de micropipetas	Brant/1000-10000 $\mu$ L, 100-1000 $\mu$ L, 20-200 $\mu$ L	Medición de volúmenes
Sistema de purificación de agua	Millipore / Direct-Q3 UV	Obtención de agua destilada y desionizada
Vortex	Scientific Industries / Genie 2	Agitación de muestras diversas

### A.1.2. Determinaciones fisicoquímicas en el laboratorio

Para llevar a cabo cada determinación, el material utilizado fue lavado con detergente libre de fosfatos y nitrógeno en sus diferentes especies, continuando su ablución con agua corriente; seguido esto, se dejó en baño de ácido nítrico al 10% durante 12 h enjuagando con agua desionizada, para su posterior secado en horno a 100°C durante 2 h.

#### A.1.2.1. Demanda química de oxígeno. NMX-AA-030-SCFI-2001. Método de reflujo cerrado-método espectrofotométrico

Para realizar la determinación de la demanda química de oxígeno en las muestras, se realizó una curva patrón siguiendo las proporciones de cada una de las disoluciones presentadas en la NMX-AA-030-SCFI-2001, tal como se muestra en la Tabla A-2 para cada uno de los puntos.

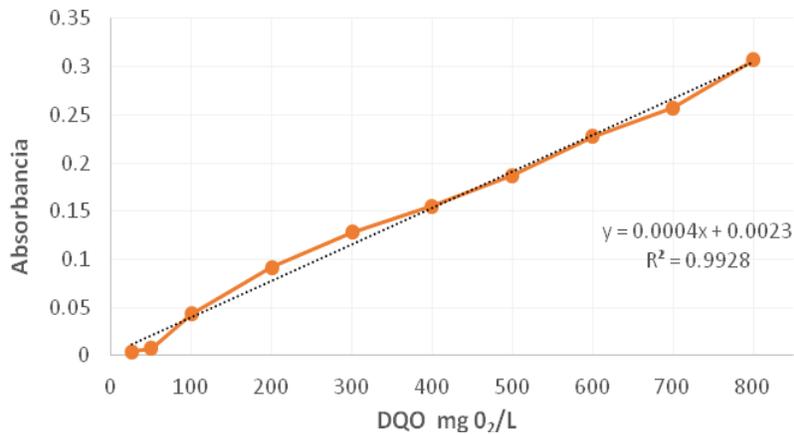
Tabla A-2. Preparación de disoluciones estándar de la curva patrón

Estándar	Disolución madre ( $\mu$ L)	DQO (mg O <sub>2</sub> /L)	Disolución A (mL)	Disolución B (mL)
1	250	25	1.5	3.5
2	500	50	1.5	3.5
3	1,000	100	1.5	3.5
4	2,000	200	1.5	3.5

Tabla A-2. Preparación de disoluciones estándar de la curva patrón (continuación)

Estándar	Disolución madre (μL)	DQO (mg O <sub>2</sub> /L)	Disolución A (mL)	Disolución B (mL)
5	3,000	300	1.5	3.5
6	4,000	400	1.5	3.5
7	5,000	500	1.5	3.5
8	6,000	600	1.5	3.5
9	7,000	700	1.5	3.5
10	8,000	800	1.5	3.5

Después de agregar cada una de las disoluciones indicadas a un tubo de digestión, se agitaron hasta la mezcla total de los componentes y se llevaron a digerir a un horno a una temperatura de 150°C por 2 h. Pasado el tiempo de digestión, se permitió el enfriamiento y sedimentación de los sólidos presentes en los tubos por 12 h para la posterior lectura de las absorbancias en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 600 nm. La curva patrón resultante se presenta en la Gráfica A-1.



Gráfica A-1. Curva patrón para la demanda química de oxígeno, DQO

Las muestras de agua se trataron de igual manera que los estándares utilizados para la curva patrón, reemplazando el volumen de disolución madre de HOOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK por 2.5 mL de muestra. El cálculo se realizó por interpolación directa en la curva siguiendo la siguiente ecuación.

$$DQO \left( \frac{mg}{L} \right) = \left( \frac{Abs\ mtra - 0.0023}{0.0004} \right) \tag{A-1}$$

### A.1.2.2. Demanda bioquímica de oxígeno. NMX-AA-028-SCFI-2001. Método electrométrico

Para la realización de esta prueba, fue necesario preparar un volumen aproximado de 12 L de agua nutritiva, la cual según lo presentado en la NMX-AA-028-SCFI-2001, ajustando la temperatura a  $20\pm 1^\circ\text{C}$  y permitiendo su aireación por mínimo una hora antes de realizar la prueba.

Para el sembrado de las muestras, se seleccionaron 3 alícuotas de trabajo, de acuerdo con las características físicas del agua (color, olor, sólidos visibles) y se incubaron en frascos Winkler de 300 mL de vidrio según los volúmenes presentados en la Tabla A-3.

**Tabla A-3. Alícuotas de siembra para  $\text{DBO}_5$**

	Volumen de muestra (mL)	Volumen final (mL)	Factor de dilución	Factor de dilución (%)	Oxígeno inicial (mg/L)	Oxígeno final (mg/L)	$\text{DBO}_5$ (mg/L)
<b>Muestra</b>	50	300	6	0.0066			
	10	300	30	0.0333			
	2	300	150	0.1666			
<b>Agua nutritiva</b>	300	300	1	100	6.98	6.85	
<b>Disolución estándar</b>	1	300	300	0.0033	6.96	6.31	195.67
	5	300	60	0.0166	6.99	3.72	197.4

Para considerar la determinación confiable, se deben realizar las siguientes consideraciones: la diferencia de oxígeno inicial y residual para el agua nutritiva pasados los 5 días de incubación, debe encontrarse en el intervalo de 0.1 - 0.2 mg/L; la disolución estándar sembrada a las condiciones citadas en la metodología, no debe disminuir o elevarse en un 20% al valor teórico de 198 mg/L. Tomando en cuenta lo anterior, el cálculo de la  $\text{DBO}_5$  para cada una de las muestras y la disolución estándar, sigue la ecuación que se presenta a continuación.

$$\text{DBO}_5 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\left( \text{Oxígeno inicial} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) - \text{Oxígeno residual al 5to día} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \right)}{\text{Factor de dilución en \%}} \tag{A-2}$$

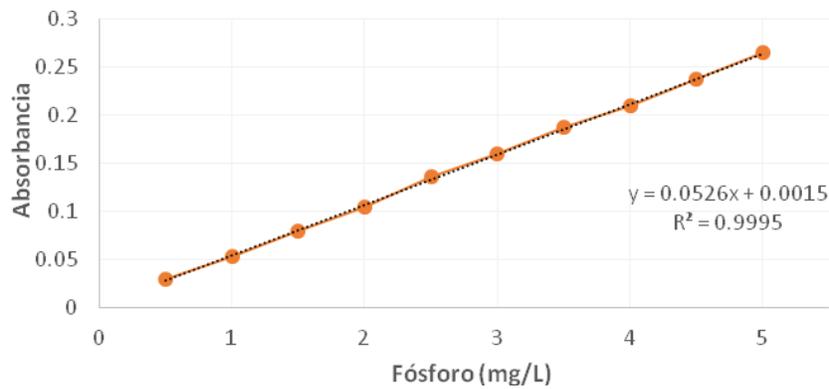
### A.1.2.3. Fósforo total. NMX-AA-029-SCFI-2001. Método ácido vanadomolibdofosfórico

Las disoluciones empleadas para la determinación de este parámetro se encuentran en la NMX-AA-029-SCFI-2001 por lo que, para realizar la cuantificación de fósforo total, se diseñó la curva patrón con una serie de estándares preparados bajo las condiciones de la Tabla A-4.

Tabla A-4. Curva patrón para fósforo total

Estándar	Volumen disolución madre (µL)	Fósforo total (mg/L)	Disolución reactiva (mL)	Volumen final (mL)
1	100	0.5	2	10
2	200	1	2	10
3	300	1.5	2	10
4	400	2	2	10
5	500	2.5	2	10
6	600	3	2	10
7	700	3.5	2	10
8	800	4	2	10
9	900	4.5	2	10
10	1,000	5	2	10

Cada uno de los estándares se aforó con agua destilada y las soluciones se dejaron reposar por 10 min antes de medir su absorbancia a 420 nm, dicha curva se muestra en la Gráfica A-2.



Gráfica A-2. Curva de calibración de fósforo total

Las corridas para las muestras se prepararon con 3 mL del agua a analizar, 2 mL de disolución de reactivo, aforando a 10 mL y siguiendo las mismas condiciones que los estándares para la curva patrón. La absorbancia obtenida por las muestras, se interpoló en la ecuación de la recta y se multiplicó por un factor de dilución tal como se muestra a continuación.

$$P_{Total} \left( \frac{mg}{L} \right) = \left( \frac{Abs\ mtra - 0.0015}{0.0526} \right) \left( \frac{10\ mL}{3\ mL} \right) \quad (A-3)$$



A.1.2.4. Determinación de nitratos. NMX-AA-082-1986. Método espectrofotométrico ultravioleta

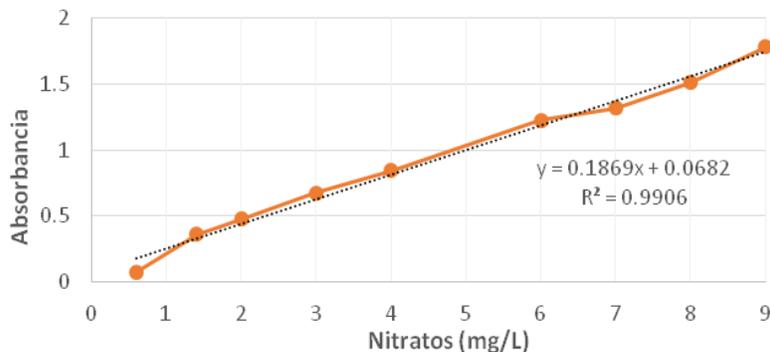
La determinación de este parámetro requiere de la preparación de las disoluciones presentadas en la NMX-AA-082-1986, tanto para la curva de calibración como para las muestras de agua superficial. Partiendo de la disolución patrón de nitratos, se prepararon diez estándares para la realización de la curva patrón según lo mostrado en la Tabla A-5. Con las absorbancias de cada punto se obtuvo la Gráfica A-3.

Tabla A-5. Curva patrón para nitratos

Estándar	Volumen disolución patrón (µL)	Nitratos (mg/L)	HCl 1N (µL)	Volumen final (mL)
1	200	0.2	200	10
2	600	0.6	200	10
3	1,400	1.4	200	10
4	2,000	2	200	10
5	3,000	3	200	10
6	4,000	4	200	10
7	6,000	6	200	10
8	7,000	7	200	10
9	8,000	8	200	10
10	9,000	9	200	10

Las muestras tomadas de los canales de Xochimilco se trabajaron siguiendo el procedimiento de los estándares, reemplazando el volumen de la disolución patrón de nitratos por 3 mL de agua superficial. La cuantificación de este nutriente se realizó según la ecuación A-4.

$$NO_3 \left( \frac{mg}{L} \right) = \left( \frac{Abs\ mtra - 0.0682}{0.1869} \right) \left( \frac{10\ mL}{3\ mL} \right) \tag{A-4}$$



Gráfica A-3. Curva patrón para nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

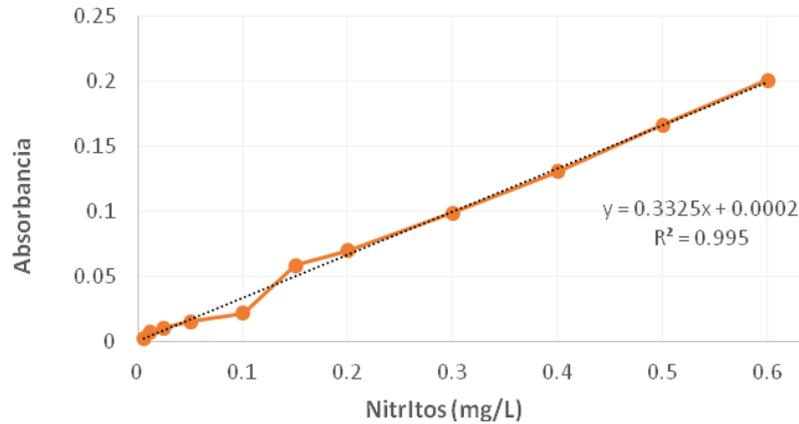
A.1.2.5. Determinación de nitritos. Sreekumar *et al.* (2003). Método de diazotización simple

Para la determinación de este parámetro, se utilizó una metodología de cuantificación alternativa a la técnica espectrofotométrica sugerida por la normatividad nacional e internacional de la N-(1-naftil) etilendiamina ya que esta sustancia resulta ser altamente tóxica y de alta importancia ambiental por sus efectos carcinogénicos en organismos superiores, por lo que se empleó el procedimiento propuesto por Sreekumar *et al.* (2003), usando reactivos más amigables con el medio. Para llevar a cabo esta prueba, se requirió la preparación de las disoluciones expuestas en Sreekumar *et al.* 2003 y la cuantificación de nitritos en las muestras de agua superficial. Se realizó una curva patrón cuyos estándares se prepararon según la Tabla A-6; la curva resultante de dichas determinaciones se presenta en la Gráfica A-4. El cálculo se llevó a cabo por interpolación directa en la ecuación de la recta, multiplicada por el factor de dilución correspondiente:

$$NO_2 \left( \frac{mg}{L} \right) = \left( \frac{Abs\ mtra - 0.0002}{0.3325} \right) \left( \frac{10\ mL}{5\ mL} \right) \quad (A-5)$$

Tabla A-6. Preparación de la curva patrón de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>

Estándar	Volumen disolución madre (µL)	Nitritos (mg/L)	Sulfanilamida (mL)	Etil-acetoacetato (mL)	Hidróxido de sodio (mL)	Volumen final (mL)
1	60	0.006	1	1	2	10
2	120	0.012	1	1	2	10
3	250	0.025	1	1	2	10
4	500	0.05	1	1	2	10
5	1,000	0.1	1	1	2	10
6	1,500	0.15	1	1	2	10
7	2,000	0.2	1	1	2	10
8	3,000	0.3	1	1	2	10
9	4,000	0.4	1	1	2	10
10	5,000	0.5	1	1	2	10



**Gráfica A-4. Curva patrón para nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)**

#### A.1.2.6. Nitrógeno total, amoniacal y orgánico Kjeldahl. Método particular del equipo BÜCHI

Para la determinación de los parámetros de nitrógeno total y amoniacal por la técnica de Kjeldahl, se requiere la preparación de los reactivos descritos en la NMX-AA-026-SCFI-2010.

##### **Metodología para nitrógeno total**

En un tubo de digestión Kjeldahl de 300 mL, se añadieron 100 mL de muestra con 8 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y una tableta catalizadora, más una varilla de ebullición para evitar la proyección de la muestra debido al calentamiento. El tubo se colocó en el digestor del equipo permitiendo el calentamiento de la mezcla según las siguientes rampas de temperatura.

- Rampa 1. Calentamiento a 180°C por 10 min
- Rampa 2. Calentamiento a 250°C por 15 min
- Rampa 3. Calentamiento a 420°C por 90 min

Pasado el tiempo de digestión, el tubo se dejó enfriar a una temperatura manejable y se agregaron 60 mL de NaOH al 32% y 50 mL de agua destilada. Se colocó en el destilador del equipo y se permitió su destilación por 3 min.

El destilado se recogió en un matraz Erlenmeyer con 60 mL de ácido bórico al 2% con 5 gotas de la disolución indicadora de rojo de metilo-verde de bromocresol y se valoró con el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.01 M previamente estandarizado hasta observar el vire de los indicadores de verde-azul a morado-rosa pálido, el volumen de ácido gastado se registra para realizar la cuantificación.

##### **Metodología para nitrógeno amoniacal**

A un tubo de digestión Kjeldahl de 300 mL, se adicionaron 100 mL de muestra y se agregaron 5 gotas de disolución indicadora de azul de bromotimol, se ajustó el pH con NaOH 1M hasta observar el vire del indicador de amarillo a gris- azul tenue y finalmente se añadieron 25 mL NaOH 1M. El tubo se colocó en el destilador y se destiló por 5 min. El residuo destilado se recogió en un matraz Erlenmeyer con 50 mL de ácido bórico al 4% con 5

gotas de mezcla de indicadores rojo de metilo-verde de bromocresol y se valoró con  $H_2SO_4$  0.01 M previamente estandarizado, hasta observar el vire de los indicadores de verde-azul a morado-rosa pálido. El volumen de ácido gastado se registró para realizar la cuantificación.

**Concentración de nitrógeno total**

$$\frac{mg}{L} NTK = \frac{(mL H_2SO_4 \text{ gastado} - mL H_2SO_4 \text{ blanco})(2^*)(M_{real} H_2SO_4) \left(14^{**} \frac{g}{mol}\right) * 1000^{***}}{mL \text{ muestra}} \quad (A-6)$$

donde,

\*Factor molar estequiométrico

\*\*Masa molecular del nitrógeno

\*\*\*Factor de conversión de mL a L

**Concentración de nitrógeno amoniacal**

$$\frac{mg}{L} NH_4 = \frac{(mL H_2SO_4 \text{ gastado} - mL H_2SO_4 \text{ blanco})(M_{real} H_2SO_4) \left(14^{**} \frac{g}{mol}\right) * 1000^{***}}{mL \text{ muestra}} * 1.288^{****} \quad (A-7)$$

donde,

\*\*Masa molecular del nitrógeno

\*\*\*Factor de conversión de mL a L

\*\*\*\*Factor de corrección para expresar el resultado como  $NH_4^+$

### A.1.3 Resultados particulares de la determinación fisicoquímica del agua de Xochimilco

Los resultados específicos para cada uno de los parámetros trabajados en la caracterización fisicoquímica del agua superficial de los canales de Xochimilco se presentan en las tablas siguientes, destacando los promedios por punto, zona y número de muestreo.

#### A.1.3.1 Valores para la demanda química de oxígeno, DQO

Tabla A-7. Valores promedio para la DQO en mg O<sub>2</sub>/para los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto de muestreo
1. Zona urbana	193.7 ± 16.0	104.5 ± 5.6	190.2 ± 53.0	115.1 ± 8.3	<b>150.9 ± 47.6</b>
2. Zona urbana	167.8 ± 13.4	101.0 ± 4.4	92.1 ± 24.3	86.6 ± 6.5	<b>111.9 ± 37.7</b>
3. Zona urbana	71.7 ± 0.3	82.5 ± 9.8	166.4 ± 5.8	95.2 ± 9.1	<b>103.9 ± 42.7</b>
Promedio zona urbana	<b>144.4 ± 53.2</b>	<b>96.0 ± 7.5</b>	<b>149.6 ± 52.0</b>	<b>99.0 ± 14.5</b>	*
4. Zona con agroquímicos	182.2 ± 9.2	115.5 ± 11.8	111.5 ± 14.1	61.0 ± 13.7	<b>117.6 ± 49.7</b>
5. Zona con agroquímicos	227.1 ± 8.1	208.7 ± 9.8	202.0 ± 10.96	110.2 ± 13.7	<b>187.0 ± 52.28</b>
6. Zona con agroquímicos	148.0 ± 3.0	129.2 ± 1.7	178.8 ± 5.4	69.0 ± 19.44	<b>131.3 ± 46.26</b>
Promedio zona con agroquímicos	<b>185.9 ± 34.8</b>	<b>151.2 ± 39.8</b>	<b>164.1 ± 42.9</b>	<b>80.1 ± 26.7</b>	*
7. Zona de transición	144.5 ± 15.7	156.2 ± 12.5	168.7 ± 9.5	80.8 ± 14.4	<b>137.6 ± 39.1</b>
8. Zona de transición	188.3 ± 3.9	112.2 ± 6.0	183.0 ± 15.5	97.3 ± 1.9	<b>145.3 ± 47.1</b>
Promedio zona de transición	<b>166.5 ± 33.6</b>	<b>134.3 ± 21.2</b>	<b>175.9 ± 13.4</b>	<b>89.1 ± 12.7</b>	*
9. Zona orgánica	122.7 ± 16.4	93.7 ± 6.0	97.1 ± 5.4	61.1 ± 1.9	<b>93.7 ± 25.2</b>
10. Zona orgánica	159.7 ± 7.7	146.2 ± 9.8	142.2 ± 9.9	112.0 ± 9.0	<b>140.1 ± 20.1</b>
11. Zona orgánica	182.4 ± 3.6	111.3 ± 10.53	112.3 ± 61.7	98.2 ± 1.2	<b>126.2 ± 30.1</b>
Promedio zona orgánica	<b>155.0 ± 22.0</b>	<b>117.1 ± 21.1</b>	<b>117.3 ± 45.5</b>	<b>90.5 ± 27.22</b>	*
Promedio por muestreo	<b>162.6 ± 39.2</b>	<b>123.7 ± 32.62</b>	<b>149.5 ± 45.5</b>	<b>89.77 ± 27.9</b>	Intervalo de trabajo <b>61.0 – 227.1</b>

A.1.3.2 Valores para la demanda bioquímica de oxígeno, DBO<sub>5</sub>Tabla A-8. Valores en mg/L para la DBO<sub>5</sub> en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto de muestreo
1. Zona urbana	64.8	34.8	31.0	15.8	<b>36.6</b>
2. Zona urbana	31.8	22.8	34.3	15.3	<b>26.0</b>
3. Zona urbana	25.2	30.7	32.0	17.1	<b>26.1</b>
Promedio zona urbana	<b>40.62</b>	<b>29.2</b>	<b>32.5</b>	<b>16.1</b>	*
4. Zona con agroquímicos	87.9	22.5	32.2	11.94	<b>38.6</b>
5. Zona con agroquímicos	103.2	35.7	31.7	6.6	<b>44.3</b>
6. Zona con agroquímicos	88.8	29.4	34.7	32.7	<b>46.4</b>
Promedio zona con agroquímicos	<b>93.3</b>	<b>29.2</b>	<b>32.9</b>	<b>17.1</b>	*
7. Zona de transición	87.0	21.6	33.8	17.7	<b>40.0</b>
8. Zona de transición	71.4	32.7	31.3	18.0	<b>38.3</b>
Promedio zona de transición	<b>79.2</b>	<b>27.15</b>	<b>32.9</b>	<b>17.9</b>	*
9. Zona orgánica	93.6	42.3	33.1	15.8	<b>46.2</b>
10. Zona orgánica	82.8	51.3	31.9	18.3	<b>46.1</b>
11. Zona orgánica	92.1	32.3	36.9	15.3	<b>44.15</b>
Promedio zona orgánica	<b>89.5</b>	<b>43.9</b>	<b>34.0</b>	<b>16.5</b>	*
Promedio por muestreo	<b>75.3</b>	<b>34.8</b>	<b>33.0</b>	<b>16.7</b>	*

A.1.3.3 Valores para fósforo total,  $P_{\text{tot}}$ Tabla A-9. Valores promedio en mg/L para  $P_{\text{total}}$  en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	7.6 ± 0.0	5.0 ± 0.1	4.1 ± 0.2	6.2 ± 0.3	5.7 ± 1.5
2. Zona urbana	4.9 ± 0.3	4.4 ± 0.1	4.2 ± 0.1	5.6 ± 0.3	4.7 ± 0.6
3. Zona urbana	5.3 ± 0.2	5.8 ± 0.0	4.5 ± 0.4	4.5 ± 0.2	5.0 ± 0.6
Promedio zona urbana	6.0 ± 1.6	5.1 ± 0.1	4.3 ± 0.3	5.5 ± 0.7	*
4. Zona con agroquímicos	5.0 ± 0.3	4.5 ± 0.0	4.1 ± 0.2	4.1 ± 0.1	4.4 ± 0.4
5. Zona con agroquímicos	5.7 ± 0.4	3.0 ± 0.0	3.7 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.9 ± 1.2
6. Zona con agroquímicos	5.6 ± 0.3	3.7 ± 0.1	4.0 ± 0.2	4.9 ± 0.3	4.6 ± 0.8
Promedio zona con agroquímicos	5.5 ± 0.3	3.0 ± 0.0	4.0 ± 0.2	4.1 ± 0.7	*
7. Zona de transición	5.2 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.2 ± 0.3	3.5 ± 0.2	3.8 ± 0.9
8. Zona de transición	6.7 ± 0.6	3.2 ± .2	3.3 ± 0.2	3.4 ± 0.2	4.3 ± 1.7
Promedio zona de transición	6.0 ± 1.0	3.4 ± 0.2	3.6 ± 0.4	3.5 ± 0.2	*
9. Zona orgánica	6.2 ± 0.2	3.2 ± 0.2	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.3	4.4 ± 1.2
10. Zona orgánica	5.1 ± 0.2	4.1 ± 0.1	3.7 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.2 ± 0.6
11. Zona orgánica	5.7 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.9 ± 0.2	3.9 ± 1.2
Promedio zona orgánica	5.7 ± 0.4	3.5 ± 0.5	3.7 ± 0.5	4.0 ± 0.2	*
Promedio por muestreo	5.7 ± 0.8	3.9 ± 0.9	3.9 ± 0.4	4.3 ± 0.1	Intervalo de trabajo 3.0 – 7.6

A.1.3.4 Valores para nitratos, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>Tabla A-10. Valores promedio para NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en mg/L en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por Punto
1. Zona urbana	4.9 ± 0.3	22.3 ± 1.0	9.6 ± 0.2	3.9 ± 0.1	<b>10.2 ± 18.4</b>
2. Zona urbana	3.2 ± 0.1	15.4 ± 0.4	8.5 ± 0.6	4.3 ± 1.30	<b>7.6 ± 5.5</b>
3. Zona urbana	3.2 ± 0.0	23.3 ± 0.0	13.9 ± 0.3	3.4 ± 0.9	<b>9.8 ± 9.6</b>
<b>Promedio zona urbana</b>	<b>3.8 ± 0.8</b>	<b>19.8 ± 4.1</b>	<b>9.5 ± 0.9</b>	<b>3.9 ± 0.8</b>	<b>*</b>
4. Zona con agroquímicos	2.9 ± 0.1	9.6 ± 0.4	11.2 ± 0.2	2.2 ± 0.0	<b>6.5 ± 4.5</b>
5. Zona con agroquímicos	3.0 ± 0.0	9.6 ± 0.5	7.2 ± 0.5	3.8 ± 0.0	<b>5.9 ± 3.0</b>
6. Zona con agroquímicos	2.5 ± 0.4	3.2 ± 0.0	2.7 ± 0.2	2.5 ± 0.0	<b>2.7 ± 0.3</b>
<b>Promedio zona con agroquímicos</b>	<b>2.8 ± 0.3</b>	<b>7.5 ± 3.3</b>	<b>7.1 ± 3.8</b>	<b>2.9 ± 0.8</b>	<b>*</b>
7. Zona de transición	2.0 ± 0.2	3.0 ± 0.3	4.2 ± 0.2	0.9 ± 0.1	<b>2.5 ± 1.4</b>
8. Zona de transición	3.6 ± 0.1	7.4 ± 0.1	11.0 ± 0.1	2.4 ± 1.0	<b>6.1 ± 3.9</b>
<b>Promedio zona de transición</b>	<b>2.9 ± 0.5</b>	<b>5.2 ± 2.7</b>	<b>7.6 ± 3.9</b>	<b>1.7 ± 0.9</b>	<b>*</b>
9. Zona orgánica	3.3 ± 0.5	13.8 ± 1.39	6.0 ± 0.3	2.7 ± 0.0	<b>6.5 ± 5.10</b>
10. Zona orgánica	3.1 ± 0.1	20.3 ± 1.0	3.6 ± 0.2	4.6 ± 0.1	<b>7.2 ± 8.2</b>
11. Zona orgánica	3.3 ± 0.3	3.4 ± 0.5	2.0 ± 0.2	1.5 ± 0.1	<b>2.5 ± 0.9</b>
<b>Promedio zona orgánica</b>	<b>3.3 ± 0.2</b>	<b>11.6 ± 6.6</b>	<b>3.9 ± 1.8</b>	<b>3.0 ± 1.4</b>	<b>*</b>
<b>Promedio por muestreo</b>	<b>3.2 ± 0.53</b>	<b>11.9 ± 7.0</b>	<b>7.2 ± 3.3</b>	<b>2.9 ± 1.1</b>	<b>Intervalo de trabajo 0.9 – 22.3</b>



A.1.3.5 Valores para nitritos, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>Tabla A-11. Valores promedio para NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en mg/L en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	ND	0.53 ± 0.0	0.77 ± 0.3	0.46 ± 0.1	<b>0.59 ± 0.2</b>
2. Zona urbana	ND	0.21 ± 0.0	0.71 ± 0.0	0.85 ± 0.1	<b>0.60 ± 0.3</b>
3. Zona urbana	ND	0.51 ± 0.1	0.91 ± 0.0	1.02 ± 0.0	<b>0.81 ± 0.3</b>
Promedio zona urbana	*	<b>0.43 ± 0.1</b>	<b>0.80 ± 0.2</b>	<b>0.78 ± 0.3</b>	*
4. Zona con agroquímicos	ND	0.01 ± 0.0	0.54 ± 0.0	0.48 ± 0.0	<b>0.40 ± 0.3</b>
5. Zona con agroquímicos	ND	0.37 ± 0.0	0.73 ± 0.1	0.97 ± 0.0	<b>0.69 ± 0.3</b>
6. Zona con agroquímicos	ND	0.30 ± 0.1	0.53 ± 0.0	0.70 ± 0.1	<b>0.51 ± 0.2</b>
Promedio zona con agroquímicos	*	<b>0.29 ± 0.2</b>	<b>0.60 ± 0.3</b>	<b>0.72 ± 0.3</b>	*
7. Zona de transición	ND	0.03 ± 0.0	0.54 ± 0.0	0.37 ± 0.0	<b>0.39 ± 0.2</b>
8. Zona de transición	ND	0.54 ± 0.0	0.77 ± 0.0	0.84 ± 0.0	<b>0.72 ± 0.1</b>
Promedio zona de transición	*	<b>0.40 ± 0.3</b>	<b>0.66 ± 0.1</b>	<b>0.61 ± 0.3</b>	*
9. Zona orgánica	ND	0.88 ± 0.3	0.94 ± 0.0	1.08 ± 0.0	<b>0.97 ± 0.1</b>
10. Zona orgánica	ND	0.51 ± 0.3	0.63 ± 0.5	0.66 ± 0.0	<b>0.60 ± 0.1</b>
11. Zona orgánica	ND	0.01 ± 0.0	0.32 ± 0.0	0.76 ± 0.1	<b>0.42 ± 0.4</b>
Promedio zona orgánica	*	<b>0.53 ± 0.3</b>	<b>0.63 ± 0.2</b>	<b>0.84 ± 0.2</b>	*
Promedio por muestreo	ND	<b>0.35 ± 0.2</b>	<b>0.67 ± 0.2</b>	<b>0.75 ± 0.3</b>	Intervalo de trabajo <b>0.01 – 1.02</b>

ND = No determinado

## A.1.3.6 Valores para nitrógeno total Kjeldahl, NTK

Tabla A-12. Valores promedio para NTK en mg/L en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	10.2 ± 0.4	8.8 ± 0.0	8.1 ± 0.0	9.4 ± 0.0	9.4 ± 0.9
2. Zona urbana	7.0 ± 0.4	5.8 ± 0.2	5.2 ± 0.7	5.9 ± 0.0	6.0 ± 0.7
3. Zona urbana	5.7 ± 0.0	6.8 ± 0.2	5.5 ± 0.2	7.3 ± 0.1	6.5 ± 0.9
Promedio zona urbana	8.1 ± 1.6	7.4 ± 1.7	6.2 ± 1.6	7.6 ± 1.6	*
4. Zona con agroquímicos	16.6 ± 0.4	4.2 ± 0.0	3.9 ± 0.0	5.3 ± 0.0	7.5 ± 6.0
5. Zona con agroquímicos	8.3 ± 0.0	4.5 ± 0.2	2.9 ± 0.2	3.5 ± 0.2	4.8 ± 2.4
6. Zona con agroquímicos	21.1 ± 0.0	5.2 ± 0.4	5.2 ± 0.2	5.0 ± 0.2	9.1 ± 8.0
Promedio zona con agroquímicos	15.4 ± 5.8	4.7 ± 0.4	4.0 ± 1.0	4.3 ± 1.0	*
7. Zona de transición	17.9 ± 0.4	2.9 ± 0.2	4.5 ± 0.2	2.3 ± 0.1	6.9 ± 7.3
8. Zona de transición	5.7 ± 0.4	3.5 ± 0.2	3.5 ± 0.2	2.9 ± 0.2	3.9 ± 1.2
Promedio zona de transición	11.9 ± 7.0	3.3 ± 0.3	4.1 ± 0.5	2.7 ± 0.3	*
9. Zona orgánica	8.9 ± 0.4	3.2 ± 0.0	3.2 ± 1.0	5.3 ± 0.2	5.3 ± 2.7
10. Zona orgánica	5.1 ± 0.0	4.5 ± 0.0	2.9 ± 0.0	3.8 ± 0.0	4.1 ± 1.0
11. Zona orgánica	3.8 ± 0.4	5.2 ± 0.2	1.6 ± 0.0	3.8 ± 0.0	3.7 ± 1.5
Promedio zona orgánica	6.2 ± 2.8	4.3 ± 0.8	2.7 ± 1.4	4.3 ± 0.8	*
Promedio por muestreo	10.0 ± 5.6	5.0 ± 1.8	4.2 ± 1.6	4.9 ± 2.0	Intervalo de trabajo 1.6 – 21.1

A.1.3.7 Valores para nitrógeno amoniacal, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

Tabla A-13. Valores promedio para N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en mg/L en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	10.3 ± 0.0	9.2 ± 0.6	5.0 ± 0.6	9.0 ± 0.9	<b>8.4 ± 2.3</b>
2. Zona urbana	4.9 ± 0.3	3.7 ± 0.3	0.8 ± 0.0	4.1 ± 0.3	<b>3.4 ± 1.7</b>
3. Zona urbana	5.7 ± 0.3	4.2 ± 0.0	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3	<b>3.1 ± 2.2</b>
Promedio zona urbana	<b>7.0 ± 2.7</b>	<b>5.7 ± 2.5</b>	<b>2.3 ± 2.0</b>	<b>4.8 ± 3.9</b>	*
4. Zona con agroquímicos	3.3 ± 0.0	1.6 ± 0.3	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.0	<b>1.4 ± 1.3</b>
5. Zona con agroquímicos	2.8 ± 0.3	1.2 ± 0.0	0.8 ± 0.3	1.2 ± 0.0	<b>1.5 ± 0.88</b>
6. Zona con agroquímicos	2.0 ± 0.3	1.2 ± 0.3	0.4 ± 0.1	0.8 ± 0.4	<b>1.1 ± 0.68</b>
Promedio zona con agroquímicos	<b>2.8 ± 0.5</b>	<b>1.4 ± 0.2</b>	<b>0.5 ± 0.2</b>	<b>0.8 ± 0.1</b>	*
7. Zona de transición	2.0 ± 0.0	1.6 ± 0.6	0.8 ± 0.0	1.2 ± 0.0	<b>1.4 ± 0.51</b>
8. Zona de transición	1.6 ± 0.29	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.3	1.2 ± 0.6	<b>0.9 ± 0.6</b>
Promedio zona de transición	<b>1.9 ± 0.4</b>	<b>1.1 ± 0.9</b>	<b>0.6 ± 0.2</b>	<b>1.2 ± 0.3</b>	*
9. Zona orgánica	9.0 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.3	6.5 ± 0.0	<b>3.8 ± 4.14</b>
10. Zona orgánica	1.2 ± 0.3	2.9 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.6	<b>1.7 ± 0.8</b>
11. Zona orgánica	2.8 ± 0.3	5.0 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.2 ± 0.3	<b>2.7 ± 1.7</b>
Promedio zona orgánica	<b>4.4 ± 3.7</b>	<b>2.9 ± 2.0</b>	<b>1.2 ± 0.4</b>	<b>2.5 ± 1.3</b>	*
Promedio por muestreo	<b>4.2 ± 2.9</b>	<b>2.9 ± 2.4</b>	<b>1.2 ± 1.1</b>	<b>2.6 ± 1.7</b>	Intervalo de trabajo <b>0.4 – 10.3</b>

A.1.3.8 Valores para nitrógeno orgánico, N-N<sub>org</sub>Tabla A-14. Valores promedio para N<sub>org</sub> (mg/L) en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	3.0 ± 0.6	0.3 ± 0.0	1.6 ± 1.3
2. Zona urbana	2.0 ± 0.7	2.0 ± 0.5	4.3 ± 0.7	1.7 ± 0.3	2.5 ± 1.2
3. Zona urbana	0.6 ± 0.3	2.6 ± 0.2	4.2 ± 0.5	6.1 ± 0.2	3.4 ± 2.0
Promedio zona urbana	2.0 ± 1.2	1.7 ± 1.0	3.9 ± 0.7	2.8 ± 2.0	*
4. Zona con agroquímicos	13.3 ± 0.4	2.5 ± 0.3	3.4 ± 0.3	4.8 ± 0.0	6.0 ± 2.3
5. Zona con agroquímicos	5.4 ± 0.3	3.3 ± 0.2	2.0 ± 0.0	2.3 ± 0.2	3.2 ± 1.5
6. Zona con agroquímicos	19.0 ± 0.3	3.9 ± 0.7	4.7 ± 0.0	4.1 ± 0.0	8.0 ± 7.3
Promedio zona con agroquímicos	12.6 ± 5.9	3.3 ± 0.5	3.5 ± 1.2	3.8 ± 1.3	*
7. Zona de transición	15.8 ± 0.4	1.2 ± 0.36	3.7 ± 0.2	1.1 ± 0.1	5.4 ± 7.0
8. Zona de transición	4.1 ± 0.1	3.1 ± 0.5	3.1 ± 0.0	1.7 ± 0.3	3.0 ± 1.0
Promedio zona de transición	10.0 ± 6.7	2.2 ± 1.1	3.4 ± 0.5	1.4 ± 0.6	*
9. Zona orgánica	0.5 ± 0.4	2.4 ± 0.1	2.4 ± 2.1	0.7 ± 0.2	1.5 ± 1.0
10. Zona orgánica	3.8 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.6 ± 0.3	2.1 ± 0.6	2.3 ± 1.0
11. Zona orgánica	0.9 ± 0.7	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.3	2.6 ± 0.3	1.0 ± 1.1
Promedio zona orgánica	1.8 ± 1.4	1.4 ± 0.5	1.4 ± 1.0	1.9 ± 0.9	*
Promedio por muestreo	6.0 ± 3.4	2.1 ± 1.0	3.0 ± 1.3	2.5 ± 1.8	Intervalo de trabajo 0.2 – 19.0

A.1.3.9 Valores para el potencial de hidrógeno, pH

Tabla A-15. Valores de pH en los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	7.3	7.3	8.8	7.6	7.8
2. Zona urbana	6.2	7.6	7.4	7.2	7.2
3. Zona urbana	7.5	7.6	8.2	8.3	8.0
Promedio zona urbana	7.1	7.5	8.2	7.8	*
4. Zona con agroquímicos	8.1	8.0	8.1	8.0	8.1
5. Zona con agroquímicos	8.2	8.1	8.6	8.5	8.4
6. Zona con agroquímicos	9.0	9.0	9.0	8.8	9.0
Promedio zona con agroquímicos	8.5	8.4	8.6	8.5	*
7. Zona de transición	8.8	8.7	8.2	7.9	8.4
8. Zona de transición	8.6	8.8	8.8	8.8	8.8
Promedio zona con agroquímicos	8.7	8.7	8.5	8.8	*
9. Zona orgánica	8.1	8.0	9.0	8.2	8.4
10. Zona orgánica	8.6	7.9	7.9	9.5	8.5
11. Zona orgánica	8.1	7.7	8.4	7.4	7.9
Promedio zona orgánica	8.3	7.9	8.4	8.4	*
Promedio por muestreo	8.1	8.10	8.4	8.2	Intervalo de trabajo 6.2 – 9.0

## A.1.3.10 Valores para la temperatura, °C

Tabla A-16. Valores de temperatura en °C para los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016
1. Zona urbana	11.7	14.8	22.7	20.6
2. Zona urbana	11.4	15.4	17.8	20.6
3. Zona urbana	12.7	15.8	18.2	21.0
4. Zona con agroquímicos	12.2	15.3	18.4	20.3
5. Zona con agroquímicos	11.3	15.8	18.0	21.5
6. Zona con agroquímicos	12.4	15.6	17.8	21.0
7. Zona de transición	11.8	15.3	17.2	19.9
8. Zona de transición	13.0	17.1	18.1	21.8
9. Zona orgánica	13.6	16.4	16.6	22.2
10. Zona orgánica	16.1	15.6	15.6	20.7
11. Zona orgánica	12.7	15.0	17.1	20.1
<b>Promedio por muestreo</b>	<b>12.6</b>	<b>15.7</b>	<b>18.0</b>	<b>20.9</b>

## A.1.3.11 Valores para el oxígeno disuelto, OD

Tabla A-14. Valores de OD en mg/L para los diferentes muestreos

Punto de muestreo	Muestreo 1 Enero 18, 2016	Muestreo 2 Febrero 03, 2016	Muestreo 3 Abril 04, 2016	Muestreo 4 Mayo 06, 2016	Promedio por punto
1. Zona urbana	1.1	1.6	18.8	1.6	5.8
2. Zona urbana	1.3	0.3	3.0	1.1	1.5
3. Zona urbana	1.4	0.0	6.3	3.5	2.8
Promedio zona urbana	1.3	0.7	9.4	2.1	*
4. Zona con agroquímicos	6.5	1.9	4.4	1.48	3.6
5. Zona con agroquímicos	7.6	5.0	7.3	5.1	6.3
6. Zona con agroquímicos	13.7	9.3	9.3	6.1	9.6
Promedio zona con agroquímicos	9.3	5.5	7.0	4.2	*
7. Zona de transición	12.8	9.8	7.3	2.3	8.1
8. Zona de transición	17.1	12.2	11.2	8.5	12.3
Promedio zona de transición	15.0	11.1	9.3	5.4	*
9. Zona orgánica	9.8	6.3	4.8	6.1	6.8
10. Zona orgánica	10.5	2.5	2.7	11.6	6.9
11. Zona orgánica	7.6	3.9	6.1	1.6	4.8
Promedio zona orgánica	9.4	4.3	4.6	6.4	*

## Anexo 2. Formulación básica del agua sintética con base en la caracterización fisicoquímica de las muestras obtenidas de los canales de Xochimilco

La formulación del agua sintética propuesta por Lolmede *et al.* (2000) se adaptó a los valores obtenidos en la caracterización fisicoquímica del agua superficial de los canales de Xochimilco hasta sus valores mínimos para favorecer la biodegradación de la atrazina.

- Para obtener una DQO<sub>teórica</sub> de 71.1 mg O<sub>2</sub>/L punto bajo del intervalo de 71.1 – 227.1 mg O<sub>2</sub>/L (Tabla 4-1) se usó glucosa como fuente de carbono, siguiendo la siguiente reacción.

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

$$0.0711 \frac{g O_2}{L} \left( \frac{1 mol O_2}{32 g O_2} \right) \left( \frac{1 mol Glucosa}{6 mol O_2} \right) \left( \frac{180 g Glucosa}{1 mol Glucosa} \right) = 0.066 \frac{g Glucosa}{L} \quad (A-8)$$

- Como fuente de fósforo total se usó el fosfato monobásico de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) para obtener una concentración de P<sub>total</sub> en el intervalo de 3.0 – 7.6 mg/L (Tabla 4-3), tomando como valor puntual para el cálculo 3.0 mg/L.

$$0.003.0 \frac{g P}{L} \left( \frac{136.086 g KH_2PO_4}{30.97 g P} \right) = 0.013 \frac{g KH_2PO_4}{L} \quad (A-9)$$

- El KNO<sub>3</sub> se usó para aportar la concentración de nitratos necesaria para el valor unitario de 0.9 mg/L del intervalo de 0.9 – 22.3 mg/L (Tabla 4-4), realizándose el cálculo siguiente.

$$0.9 \frac{g NO_3}{L} \left( \frac{101.103 g KNO_3}{68 g NO_3} \right) = 0.0013 \frac{g NO_3}{L} \quad (A-10)$$

- En caso del ión nitrito se empleó el NaNO<sub>2</sub> como compuesto proveedor de esta especie. El intervalo de trabajo fue de 0.01 – 1.02 mg/L (Tabla 4-5) y 0.01 mg/L como concentración base para dicho cálculo.

$$1.0x 10^{-5} \frac{g NO_2}{L} \left( \frac{69 g NaNO_2}{46 NO_2} \right) = 1.07x 10^{-5} \frac{g NaNO_2}{L} \quad (A-11)$$

- Para encontrar el equivalente necesario de nitrógeno total de 1.6 mg/L del intervalo 1.6 – 21.1 mg N/L (Tabla 4-6), se usó urea como materia prima, cuya cantidad se calculó con la siguiente relación:

1.072 g de urea en 1000 mL de agua desionizada = 0.499 mg NTK /mL. Por lo tanto,

$$0.0016 \frac{g NTK}{L} \left( \frac{1.0720 g UREA}{0.499 \frac{g NTK}{L}} \right) = 0.003 \frac{g UREA}{L} \quad (A-12)$$



- En el caso del nitrógeno amoniacal se usó  $\text{NH}_4\text{Cl}$  como dador de esta especie, en el intervalo de 0.4 – 10.3 mg/L (Tabla 4-7), con un valor medio de 0.4 mg/L. Por lo tanto,

$$0.0004 \frac{\text{g NH}_4}{\text{L}} \left( \frac{52 \text{ g NH}_4\text{Cl}}{17 \text{ g NH}_4} \right) = 0.0012 \frac{\text{g NH}_4\text{Cl}}{\text{L}} \quad (\text{A-13})$$

- Adicionalmente, a los componentes antes calculados se usó una disolución amortiguadora de tetraborato de sodio/ácido clorhídrico ( $\text{B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$ ) con un intervalo de acción de amortiguamiento de pH 8.1 a 9.2, cuya preparación se presenta a continuación.

A 100 mL de una disolución 0.025 M de  $\text{B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  se añadieron 37.6 mL de una disolución de HCl 0.1M, se llevaron a 200 mL con agua destilada y se ajustó el pH a 8.2 (valor intermedio del rango de referencia pH = 8.10 – 8.43 (Tabla 4-9).

$$0.025 \frac{\text{mol B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O}}{\text{L}} \left( \frac{381.4 \text{ g B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O}}{1 \text{ mol B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O}} \right) (0.1\text{L}) = 0.953 \text{ g B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O} \quad (\text{A-14})$$

Por lo que se requirieron 0.953 g de  $\text{B}_4\text{H}_{20}\text{Na}_2\text{O}_{17} \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  para preparar 100 mL de una disolución 0.025 M.

$$0.01 \frac{\text{mol HCl}}{\text{L}} \left( \frac{36.45 \text{ g HCl}}{1 \text{ mol HCl}} \right) \left( \frac{\text{mL}}{1.189 \text{ g HCl}} \right) \left( \frac{100\%}{38\%} \right) = 8.06 \frac{\text{mL HCl}}{\text{L}} \left( \frac{0.1 \text{ L}}{1} \right) = 0.806 \text{ mL HCl} \quad (\text{A-15})$$

Por lo tanto, se requirieron 0.806 mL de HCl concentrado para preparar una disolución 0.1 M de este ácido.

## Anexo 3. Tratamiento microbiológico de las muestras de agua

### A.3.1 Medios de cultivo empleados en el aislamiento, mantenimiento y siembra de los microorganismos extraídos de las muestras de agua

El trabajo microbiológico de las muestras, se realizó exclusivamente para el primer muestreo (18 de enero de 2016) dentro del plazo de 24 h, tal como se señala en la Tabla 3-2. Los demás muestreos no se consideraron para esta parte del desarrollo experimental del trabajo dado que en el análisis de los parámetros físicos y químicos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los datos. Los medios de cultivo empleados en dicho aislamiento y mantenimiento se presentan en la Tabla A-18.

**Tabla A-18. Medios de cultivo empleados**

Medio de cultivo	Marca	Utilidad
<b>Agar Eosina-Azul de metileno (EMB)</b>	BD-Bioxon	Diferenciación de organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa. Inhibición parcial de organismos Gram positivo
<b>Agar Papa-Dextrosa con cloranfenicol (PDA-C)</b>	BD-Bioxon	Cultivo y preservación de hongos. Inhibición parcial de flora contaminante
<b>Agar de Sal Manitol (MSA)</b>	BD-Bioxon	Medio selectivo para aislamiento de organismos Gram positivos. Inhibición parcial de organismos Gram negativos
<b>Agar nutritivo</b>	BD-Bioxon	Para el cultivo de organismos poco exigentes de diversas muestras

### A.3.2. Realización de la muestra compuesta y su siembra por dilución seriada

Para realizar el aislamiento de los microorganismos con posible capacidad de degradar atrazina, se tomaron 10 mL de cada una de las muestras por punto de muestreo, se depositaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL previamente esterilizado, el cual se agitó hasta obtener una muestra homogénea. Posteriormente, se tomó 1 mL de esta mezcla, se llevó a un tubo de ensayo con 9 mL de solución salina isotónica (SSI = 0.9 % de NaCl) y se agitó vigorosamente. Nuevamente se tomó una alícuota de 1 mL de muestra y se llevó a otro tubo con 9 mL de SSI. El procedimiento se repitió hasta obtener una dilución final de  $10^{-4}$ .

Finalmente, se tomaron 100  $\mu$ L de cada una de las diluciones y se sembraron por extendido en placa con varilla en "L" en cada uno de los medios presentados en la Tabla A-18 arriba.

### A.3.3. Técnica de tinción de Gram

Para realizar dicha tinción, fue necesario preparar un frotis de la colonia bacteriana de estudio, el cual se tiñó por un minuto con el colorante cristal violeta. Pasado el tiempo de contacto, fue necesario cubrir la preparación con una solución de Iodo de Gram o lugol, el cual se dejó actuar por un minuto más y, posteriormente, el frotis

se decoloró usando una mezcla de alcohol-acetona. Como paso final, se empleó el colorante de contraste safranina, el cual se dejó actuar por un min. Cabe mencionar que pasado el minuto de contacto de cada colorante y del lugol con la muestra, la preparación se lavó con agua destilada permitiendo que esta escurriera para eliminar exceso de humedad (Ramírez-Gama *et al.*, 2003).

### A.3.4 Pruebas bioquímicas para la identificación de las cepas bacterianas aisladas

A las cepas aisladas se les realizaron diferentes pruebas bioquímicas, con base en sus características micro-macroscópicas y lo recomendado en la literatura. Su forma de siembra, el tiempo de incubación y el reactivo de revelación se presentan en la Tabla A-19.

Tabla A-19. Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de las cepas aisladas de los canales de Xochimilco

Nombre	Tipo de siembra	Tiempo de incubación y temperatura	Reactivo de revelación	Utilidad
Agar sangre de carnero*	Estría	18-24 h. 35°C	-	Determinar si el microorganismo tiene actividad hemolítica
Ácido sulfhídrico, indol, movilidad (SIM)*	Picadura	18-24 h. 35°C	Reactivo de Erlich	Conocer si un microorganismo es móvil, produce indol y/o ácido sulfhídrico en el mismo tubo
Catalasa*	Aplicación directa en placa	Inmediata	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 30%	Evidenciar la presencia de la enzima catalasa por la producción de O <sub>2</sub> y H <sub>2</sub> O
Citrato de Simmons*	Asada	24-48 h. 35°C	-	Determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono
Hidrólisis del almidón*	Estría	18-24 h. 35°C	Yodo acuoso (Lugol) de Gram-aplicación directa en placa	Determinar si los microorganismos hidrolizan el almidón por medios enzimáticos
Hidrólisis de caseína*	Estría	18-24h. 35°C	-	Las caseasas hidrolizan las proteínas que coagulan la leche, responsables de la formación del cuajo
Hidrólisis de esculina*	Estría	18 h. 35°C	-	Corroborar si los microorganismos son capaces de hidrolizar la esculina a glucosa y esculetina
Hidrólisis de lecitina*	Estría	24 h. 35°C	-	Determinar la capacidad de un microorganismo para producir lecitinasa

\* Extracto de MacFaddin (2004)

Tabla A-19. Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de las cepas aisladas de los canales de Xochimilco (continuación)

Nombre	Tipo de siembra	Tiempo de incubación y temperatura	Reactivo de revelación	Utilidad
Hierro agar de Kligler (KIA)*	Picadura y estría	18-24 h. 35°C	-	Determinar la capacidad de un microorganismo de utilizar la lactosa con producción de gas o sin ella, junto con la posible producción de ácido sulfhídrico
Licuefacción de la gelatina*	Picadura	24 h-14 días. 35°C	-	Mostrar la capacidad de un microorganismo de producir enzimas proteolíticas
Oxidación-fermentación de glucosa*	Picadura	48 h-4días	-	Determinar si un microorganismo usa a la glucosa por vía oxidativa o fermentativa
Reducción de nitratos *	Asada	12-24 h. 30°C	Ácido acético al 30% N,N-dimetil- $\alpha$ naftilamina al 0.6%	Determinar la capacidad de un microorganismo para reducir los nitratos a nitritos o gas nitrógeno libre
Rojo de Metilo-Voges Proskauer*	Asada	3-5 días. 30°C	$\alpha$ -naftol al 5% en EtOH KOH al 40%	Verificar si los microorganismos producen acetoina a partir de la fermentación de la glucosa
Urea*	Asada	6-24 h a 35°C	-	Capacidad de un microorganismo de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco

\* Extracto de MacFaddin (2004)

## Anexo 4. Cinética de degradación de atrazina. Conteos microbianos

### A.4.1 Preparación de los inóculos bacterianos para el proceso de adaptación y biodegradación

Para la preparación de los inóculos bacterianos, se llevó a cabo el siguiente procedimiento: la o las bacterias de interés se sembraron en cajas de Petri de forma masiva, se dejaron incubar durante 24 h a 28°C. El crecimiento generado en las cajas se recolectó usando un asa punta recta tipo espátula, el cual se depositó en un volumen determinado de disolución salina isotónica estéril (NaCl 0.9%). Posteriormente, la suspensión bacteriana se agitó hasta observarse homogénea.

### A.4.2 Conteo por la técnica de Miles y Misra (1938)

La técnica consiste en colocar un número determinado de gotas (gota = 10 µL) provenientes de una sucesión de diluciones seriadas (Anexo A.3.2) sobre las placas de agar seco, después de que las gotas son totalmente absorbidas por el agar, se invierten las placas y se incuban a 28°C por 24h. Posterior a la incubación se seleccionan las placas que tengan colonias aisladas, de preferencia, aquellas que contengan menos de 40 colonias por gotas (ideal de 10 a 20) (Ramírez-Gama *et al.*, 2003).

Para conocer la cantidad de unidades formadoras de colonia por mililitro se debe aplicar la fórmula A-16.

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{(\text{Núm. de colonias contadas en gota}) \left( \frac{1}{\text{Dilución de la gota}} \right)}{\text{Volumen sembrado (0.010mL)}} \quad (\text{A-16})$$

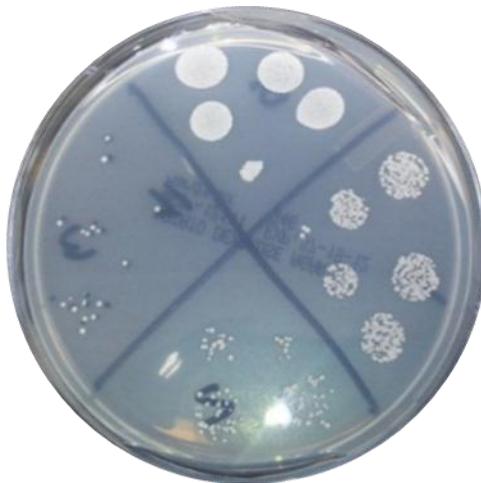


Figura A-0. Conteo microbiológico por la técnica de Miles y Misra (Sivams, 2016)

### A.4.3 Conteos en el proceso de adaptación al agua sintética

Los conteos microbianos unitarios para cada matraz o biorreactor, resultantes del proceso de adaptación al agua formulada a concentraciones de nutrientes similares a las determinadas en los canales de Xochimilco, se presentan en la Tabla A-20.

**Tabla A-20. Conteos obtenidos al agua residual sintética**

	Matraz 1	Matraz 2	Matraz 3	Promedio por conteo
<b>Día 0. Conteo 1</b>	6.5E+06 ± 2.0E+06	9.0E+06 ± 3.6E+06	7.0E+06 ± 1.0E+06	<b>7.5E+06 ± 1.3E+06</b>
<b>Día 3. Conteo 2</b>	8.6E+07 ± 1.1E+07	4.8E+07 ± 1.6E+07	3.6E+06 ± 1.1E+06	<b>4.6E+07 ± 7.4E+06</b>
<b>Día 7. Conteo 3</b>	9.0E+07 ± 3.6E+07	8.5E+07 ± 2.0E+07	8.0E+06 ± 3.0E+06	<b>6.1E+07 ± 1.4E+07</b>
<b>Día 15. Conteo 4</b>	6.5E+07 ± 1.0E+07			

### A.4.4 Conteos en el proceso de adaptación a la atrazina

En la Tabla A-21 se muestran las determinaciones puntuales para cada uno de los biorreactores de trabajo, así como sus valores promedio, durante el proceso de adaptación y utilización de atrazina. Dicha adaptación se llevó a cabo a concentraciones de 15 y 20 mg/L

**Tabla A-21. Conteos microbianos de adaptación a la atrazina**

	Matraz 1-20 mg/L	Matraz 2-20 mg/L	Promedio a 20 mg/L	Matraz 1-15 mg/L	Matraz 1-15 mg/L	Promedio a 15 mg/L
<b>Día 0. Conteo 1</b>	3.3E+06 ± 7.8E+05	3.2E+06 ± 1.3E+06	3.2E+06 ± 7.0E+04	2.1E+06 ± 1.8E+05	7.0E+06 ± 1.0E+06	4.5E+06 ± 3.4E+06
<b>Día 3. Conteo 2</b>	4.5E+07 ± 1.7E+07	1.2E+07 ± 2.0E+06	2.8E+07 ± 2.3E+07	1.1E+07 ± 2.5E+06	1.0E+07 ± 1.5E+06	1.1E+07 ± 4.7E+05
<b>Día 6. Conteo 3</b>	4.1E+07 ± 8.5E+06	1.4E+07 ± 1.1E+06	2.7E+07 ± 1.9E+07	1.1E+07 ± 4.9E+06	1.3E+07 ± 3.4E+06	1.2E+07 ± 1.0E+06
<b>Día 7. Conteo 4</b>	1.3E+07 ± 9.8E+05					

### A.4.5 Conteos en la biodegradación

Los 20 conteos microbianos realizados para determinar la biodegradación de la atrazina y el comportamiento de los productos de degradación (DEA y DIA) se proporcionan en la Tabla A-22, en donde se muestran los valores individuales por biorreactor, así como las UFC/mL promedio por concentración de estudio (15, 10 y 5 mg/L).

Tabla A-22. Conteos microbianos en la etapa de biodegradación de atrazina

CONTEO	15 mg/L-1	15 mg/L-2	PROM 15 mg/L	10 mg/L-1	10 mg/L-2	PROM 10 mg/L	5 mg/L-1	5 mg/L-2	PROM 5 mg/L	Bco $\mu$ oos-ATZ	Bco ATZ- $\mu$ oos
DÍA 0 CONTEO 1	4.3E+05 ± 5.7E+04	6.3E+05 ± 5.7E+04	5.3E+05 ± 1.4E+05	5.0E+05 ± 1.0E+05	3.3E+05 ± 5.7E+04	4.1E+05 ± 1.8E+05	1.3E+05 ± 5.7E+04	1.6E+05 ± 5.7E+04	1.5E+05 ± 2.3E+04	1.2E+05 ± 1.1E+04	0 ± 0.0E+00
DÍA 1 CONTEO 2	2.7E+07 ± 3.2E+06	1.6E+07 ± 1.0E+06	2.1E+07 ± 8.0E+06	2.5E+07 ± 0.0E+00	1.3E+07 ± 1.5E+06	1.9E+07 ± 8.1E+06	2.9E+07 ± 3.7E+06	2.3E+07 ± 4.5E+06	2.6E+07 ± 4.7E+06	2.2E+07 ± 8.5E+06	0 ± 0.0E+00
DÍA 2 CONTEO 3	1.8E+08 ± 2.6E+07	1.7E+08 ± 6.2E+07	1.7E+08 ± 7.0E+06	1.9E+08 ± 1.7E+07	2.1E+08 ± 4.5E+07	2.0E+08 ± 1.4E+07	2.4E+08 ± 4.0E+07	1.8E+08 ± 1.5E+07	2.1E+08 ± 4.2E+07	7.3E+07 ± 5.3E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 3 CONTEO 4	2.3E+08 ± 3.79E+07	2.5E+08 ± 5.51E+07	2.4E+08 ± 1.18E+07	1.8E+08 ± 2.52E+07	2.2E+08 ± 1.53E+07	2.0E+08 ± 2.83E+07	2.1E+08 ± 3.21E+07	2.1E+08 ± 7.21E+07	2.1E+08 ± 2.36E+06	5.6E+07 ± 1.53E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 5 CONTEO 5	1.8E+08 ± 1.5E+07	1.0E+08 ± 1.5E+07	1.4E+08 ± 5.8E+07	2.1E+08 ± 4.7E+07	1.7E+08 ± 1.0E+07	1.9E+08 ± 3.0E+07	1.8E+08 ± 3.5E+07	2.0E+08 ± 3.4E+07	1.9E+08 ± 1.1E+07	6.6E+07 ± 1.5E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 6 CONTEO 6	2.6E+08 ± 4.9E+07	2.3E+08 ± 5.8E+07	2.5E+08 ± 2.3E+07	1.9E+08 ± 6.2E+07	1.1E+08 ± 3.5E+07	1.5E+08 ± 5.4E+07	1.4E+08 ± 1.7E+07	7.3E+07 ± 4.1E+07	1.0E+08 ± 4.7E+07	8.0E+07 ± 1.0E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 8 CONTEO 7	2.9E+08 ± 2.5E+07	2.2E+08 ± 1.1E+07	2.6E+08 ± 4.7E+07	2.4E+08 ± 3.4E+07	1.7E+08 ± 1.1E+07	2.0E+08 ± 4.4E+07	2.4E+08 ± 5.5E+07	2.0E+08 ± 5.7E+06	2.2E+08 ± 3.0E+07	6.6E+07 ± 3.0E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 9 CONTEO 8	2.9E+08 ± 2.5E+07	2.2E+08 ± 1.5E+07	2.6E+08 ± 4.7E+07	2.9E+08 ± 5.0E+07	1.9E+08 ± 3.0E+07	2.4E+08 ± 7.0E+07	2.6E+08 ± 1.5E+07	2.0E+08 ± 3.2E+07	2.3E+08 ± 4.2E+07	5.0E+07 ± 1.7E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 11 CONTEO 9	3.0E+08 ± 7.0E+07	2.8E+08 ± 2.6E+07	2.9E+08 ± 1.4E+07	2.7E+08 ± 1.1E+07	2.6E+08 ± 1.5E+07	2.6E+08 ± 7.0E+06	2.5E+08 ± 2.8E+07	2.5E+08 ± 3.2E+07	2.5E+08 ± 2.3E+06	5.3E+07 ± 1.5E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 12 CONTEO 10	3.2E+08 ± 4.5E+07	2.1E+08 ± 4.0E+07	2.6E+08 ± 7.3E+07	2.6E+08 ± 4.1E+07	2.6E+08 ± 2.5E+07	2.8E+08 ± 3.0E+07	3.1E+08 ± 5.0E+07	2.1E+08 ± 5.6E+07	2.6E+08 ± 7.3E+07	6.6E+07 ± 1.5E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 14 CONTEO 11	2.3E+08 ± 5.7E+06	1.8E+08 ± 3.5E+07	2.1E+08 ± 3.5E+07	2.5E+08 ± 2.5E+07	1.5E+08 ± 3.0E+07	2.0E+08 ± 7.0E+07	2.6E+08 ± 1.5E+07	2.0E+08 ± 3.2E+07	2.3E+08 ± 4.2E+07	5.3E+07 ± 3.7E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 15 CONTEO 12	1.7E+08 ± 4.5E+07	2.0E+08 ± 2.6E+07	1.8E+08 ± 1.8E+07	2.7E+08 ± 5.8E+07	2.2E+08 ± 5.7E+06	2.5E+08 ± 3.7E+07	2.7E+08 ± 4.1E+07	2.0E+08 ± 1.1E+07	2.4E+08 ± 4.9E+07	4.6E+07 ± 3.9E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 17 CONTEO 13	2.5E+08 ± 1.0E+07	3.0E+08 ± 9.1E+07	2.7E+08 ± 3.5E+07	3.4E+08 ± 2.0E+07	2.4E+08 ± 2.0E+07	2.9E+08 ± 6.8E+07	2.1E+08 ± 2.5E+07	2.5E+08 ± 5.1E+07	2.3E+08 ± 2.8E+07	3.6E+07 ± 2.8E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 18 CONTEO 14	3.0E+08 ± 3.0E+07	2.3E+08 ± 2.0E+07	2.6E+08 ± 4.9E+07	2.7E+08 ± 5.7E+06	2.6E+08 ± 1.0E+07	2.6E+08 ± 1.1E+07	2.4E+08 ± 4.5E+07	1.8E+08 ± 6.8E+07	2.1E+08 ± 4.0E+07	3.6E+07 ± 5.7E+06	0 ± 0.0E+00
DÍA 20 CONTEO 15	2.9E+08 ± 1.0E+07	2.7E+08 ± 2.8E+07	2.8E+08 ± 9.4E+06	2.8E+08 ± 2.6E+07	2.5E+08 ± 5.7E+07	2.6E+08 ± 1.6E+07	2.4E+08 ± 2.6E+07	1.9E+08 ± 1.5E+08	2.1E+08 ± 2.1E+08	4.6E+07 ± 1.1E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 21 CONTEO 16	2.5E+08 ± 3.6E+07	2.7E+08 ± 8.7E+07	2.6E+08 ± 1.8E+07	2.7E+08 ± 8.9E+07	2.7E+08 ± 2.5E+07	2.7E+08 ± 2.3E+06	1.7E+08 ± 2.5E+07	2.7E+08 ± 8.7E+07	2.2E+08 ± 7.0E+07	5.0E+07 ± 1.7E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 24 CONTEO 17	2.3E+08 ± 3.4E+07	3.2E+08 ± 5.7E+06	2.7E+08 ± 6.6E+07	2.1E+08 ± 2.5E+07	2.6E+08 ± 1.5E+07	2.4E+08 ± 3.7E+07	1.9E+08 ± 4.5E+07	2.2E+08 ± 4.3E+07	2.0E+08 ± 1.8E+07	6.3E+07 ± 3.5E+07	0 ± 0.0E+00
DÍA 27 CONTEO 18	2.5E+08 ± 1.7E+07	2.1E+08 ± 5.1E+07	2.3E+08 ± 2.5E+07	2.6E+08 ± 5.2E+07	2.3E+08 ± 4.5E+07	2.4E+08 ± 2.1E+07	2.4E+08 ± 1.1E+07	1.8E+08 ± 1.1E+07	2.1E+08 ± 4.4E+07	4.6E+07 ± 5.7E+06	0 ± 0.0E+00
DÍA 30 CONTEO 19	2.4E+08 ± 2.0E+07	1.8E+08 ± 2.3E+07	2.1E+08 ± 4.4E+07	1.7E+08 ± 2.3E+07	1.4E+08 ± 2.3E+07	1.6E+08 ± 2.1E+07	1.4E+08 ± 5.7E+06	1.1E+08 ± 0.0E+00	1.2E+08 ± 2.3E+07	5.0E+06 ± 1.0E+06	0 ± 0.0E+00
DÍA 33 CONTEO 20	2.0E+08 ± 2.6E+07	1.7E+08 ± 5.7E+06	1.8E+08 ± 1.6E+07	1.6E+08 ± 2.5E+07	1.5E+08 ± 5.7E+06	1.6E+08 ± 9.4E+06	1.0E+08 ± 1.5E+07	1.3E+08 ± 5.0E+07	1.1E+08 ± 1.8E+07	2.6E+06 ± 5.7E+05	0 ± 0.0E+00

## Anexo 5. Cinética de degradación de atrazina. Parte analítica-instrumental

### A.5.1 Preparación de biorreactores para la fase de biodegradación

Los biorreactores contenían un volumen inicial de 450 mL de agua residual sintética estéril, preparada según la cantidad de nutrientes encontrados en los canales de Xochimilco. A cada uno de los matraces, se les agregó la cantidad de 6.75, 4.50 y 2.25 mg de atrazina para alcanzar las concentraciones de 15, 10 y 5 mg/L respectivamente.

Para realizar las determinaciones cromatográficas, se extrajeron de cada reactor 11 mL, los cuales se disponían en tubos Corning y se mantenían en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para su posterior centrifugación y extracción en fase sólida del sobrenadante.

### A.5.2 Características de estándares y su preparación

Las disoluciones estándar utilizadas para la cuantificación de la atrazina y sus productos de degradación DEA, DIA, por CG-FID y la cuantificación de HA y CA por HPLC-UV se prepararon siguiendo la Tabla A-23.

**Tabla A-23. Identificación de los estándares y su preparación**

Estándar	Datos	Preparación
<b>Atrazina</b>	Marca: Chem Service Lote: 2128124 Pureza: 98.6%	Pesar 5 mg de atrazina y aforar a 50 mL con acetonitrilo para un estándar de 100 mg/L.
<b>Ácido cianúrico</b>	Marca: Chem Service Lote: 1835500 Pureza: 99.5%	Disolver 5 mg de ácido cianúrico en un mililitro de HCl 1M y llevar a un volumen final de 50 mL con acetonitrilo para un estándar de 100 mg/L.
<b>Desetilatrazina</b>	Marca: Chem Service Lote: 4183200 Pureza: 98.4%	Pesar 5 mg de desetilatrazina y aforar a 50 mL con acetonitrilo para un estándar de 100 mg/L.
<b>Deisopropilatrazina</b>	Marca: Chem Service Lote: 4852400 Pureza: 99.2%	Pesar 5 mg de deisopropilatrazina y aforar a 50 mL con acetonitrilo para un estándar de 100 mg/L.
<b>2-Hidroxiatrazina</b>	Marca: Chem Service Lote: 2401300 Pureza: 97.9%	Disolver 5 mg de 2-hidroxiatrazina en un mililitro de HCl 1M y llevar a un volumen final de 50 mL con acetonitrilo para un estándar de 100 mg/L.



### A.5.3 Extracción en fase sólida y cromatografía de gases con detector de ionización de flama y cromatografía de líquidos de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos

#### A.5.3.1 Extracción en fase sólida (SPE)

Las muestras después de ser descongeladas, se centrifugaron a 4000 rpm, por 20 min a 4°C con la intención de eliminar la mayor cantidad de materia orgánica y bacterias del sobrenadante.

La extracción en fase sólida se llevó a cabo siguiendo los pasos de la Tabla A-24 usando cartuchos Oasis HLB (200mg) y capacidad de 6 mL, lote 110A32107A.

**Tabla A-24. Procedimiento para llevar a cabo la extracción en fase sólida de la atrazina y sus metabolitos de estudio**

Pasos	Procedimiento
<b>Acondicionamiento</b>	Pasar por el cartucho 6 mL de metanol y 6 mL de agua desionizada durante 5 min cada uno
<b>Volumen de muestra</b>	10 mL provenientes del sobrenadante de la centrifugación, se llevaron a un volumen de 100 mL con agua ultrapura y, posteriormente, se pasaron por el cartucho a un flujo entre 5-10 mL/min
<b>Lavado del cartucho</b>	Pasar 10 mL de agua ultrapura durante 5 min
<b>Secado del cartucho</b>	Centrifugar durante 10 min a 3500 rpm
<b>Elución</b>	Eluir los compuestos con 4 mL de una mezcla 50:50 acetonitrilo:metanol

#### A.5.3.1 Métodos cromatográficos

Para determinar cuantitativamente la ATZ y sus productos de degradación DEA, DIA se siguió el procedimiento cromatográfico sugerido por Borja-Urzola (2017), mientras que para la HA y el AC se siguió un desarrollo experimental particular; ambos métodos se presentan en la Tabla A-25.

**Tabla A-25. Métodos cromatográficos empleados en la determinación de ATZ, DEA, DIA, AC y HA**

Características	ATZ, DEA y DIA	HA y AC
<b>Tipo de cromatografía</b>	<i>GC-FID</i>	<i>HPLC-DAD</i>
<b>Columna</b>	Phenomenex, ZB-5MS, de 30 m x 250 µm x 0.25 µm	Precolumna: Phenomex, PN: KJ0-4282, Columna: Phenomex, Luna 3u, C18, 150 mm x 2.0 mm x 3 µm x 100 Å
<b>Rampa de temperatura del horno</b>	80°C por 2 min; 48°C/min hasta 176°C por 0 min; 6°C/min hasta 212°C por 1 min	23°C

Tabla A-25. Métodos cromatográficos empleados en la determinación de ATZ, DEA, DIA, AC y HA (continuación)

Características	ATZ, DEA y DIA	HA y AC
Volumen de inyección	10 µL	5 µL
Temperatura y presión del inyector	280°C / 14.775 psi	-
Flujo	He: 1.125 mL/min	Isocrático de 0.1 mL/min con fase móvil: Agua 30%: ACN 35%: MeOH 35%.
Temperatura del detector	250°C	-
Longitud de onda del detector	-	244 nm

### A.5.3.2 Curvas patrón de los compuestos de estudio

Partiendo de los estándares de 100 mg/L de ATZ, DIA y DEA, se realizó una dilución de los mismos en acetonitrilo hasta una concentración de 20 mg/L y se mezclaron en proporciones iguales para realizar las tres curvas patrón de manera simultánea. La preparación de los diversos estándares y puntos usados en las diferentes curvas se presentan en la Tabla A-24, Tabla A-26 y Gráfica A-5.

Tabla A-26. Curva patrón de DIA, DEA y ATZ

PUNTO	ESTÁNDAR (mL)	VOL FINAL (mL)	CONC (mg/L)	PROM DIA (área)	PROM DEA (área)	PROM ATZ (área)
1	4.00*	4	33.3	489,473	706,982	1,115,160
2	3.60*	4	30	423,371	626,774	1,084,271
3	5.00	5	20	257,505	414,298	640,398
4	3.75	5	15	173,541	287,402	453,026
5	2.50	5	10	102,375	176,829	287,026
6	1.35	5	5	48,143	90,165	151,306
7	0.25	5	1	6,623	13,285	29,033

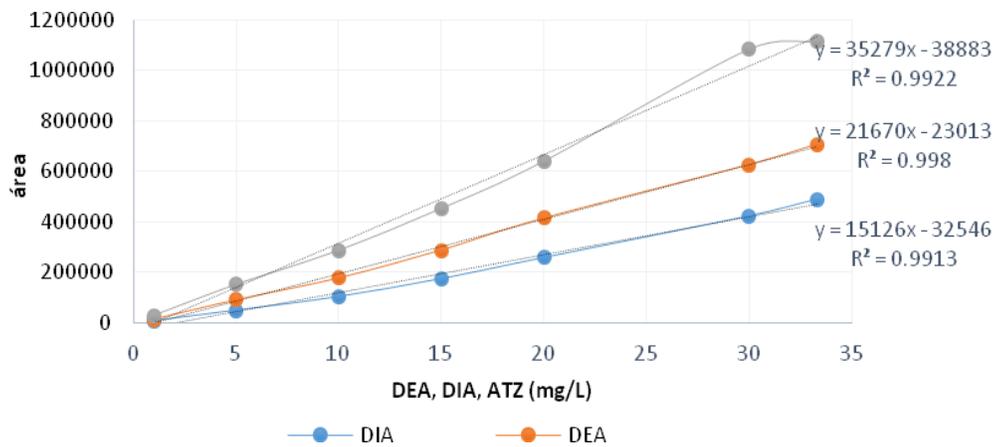
\*A partir de un estándar de DEA, DIA y ATZ a 100 mg/L

La gráfica que representa la curva de los diferentes compuestos se presenta en la siguiente página.

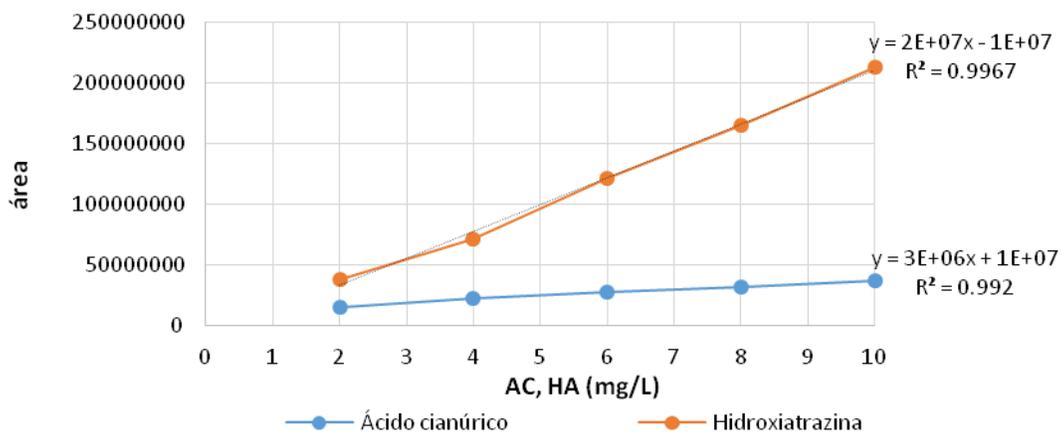
En el caso de AC y DEA se preparó una solución madre de 100 mg/L de cada estándar siguiendo la metodología de la Tabla A-23 y se realizaron las diluciones de la misma hasta obtener las concentraciones fijadas en la Tabla A-27 para obtener la Gráfica A-6.

Tabla A-27. Curva patrón AC y HA

PUNTO	ESTÁNDAR (mL)	VOL FINAL (mL)	CONC (mg/L)	PROM AC (área)	PROM HA (área)
1	0.2	2	10	37374257	213903421
2	0.16	2	8	32067306	165507279
3	0.12	2	6	27775323	121918686
4	0.08	2	4	22866275	72262640
5	0.04	2	2	15809913	38451032



Gráfica A-5. Curva patrón para DEA, DIA y ATZ



Gráfica A-6. Curva patrón AC y HA

### A.5.3.3 Cuantificación cromatográfica de la biodegradación de la atrazina y la aparición de los productos metabólicos

En las Figuras A-2 y A-3 se presentan los ejemplos de cromatogramas en los que aparecen los diferentes compuestos estudiados por esta técnica (ATZ, DEA y DIA) con sus respectivos tiempos de retención, mientras que en las Figuras A-4 y A-5 muestran los compuestos AC y HA.

Para realizar el cálculo de la concentración real de atrazina utilizada en la etapa de biodegradación, así como su disminución respecto al desarrollo del consorcio microbiano y el tiempo, se empleó la siguiente relación matemática para la atrazina (Fórmulas A-17 y A-18) y sus compuestos de degradación (Fórmula A-19).

$$ATZ \left( \frac{mg}{L} \right) = \left( \frac{\text{Área ATZ en Mtra} + 38883}{35279} \right) * \left( \frac{0.004 mL}{0.01 mL} \right) \quad (A-17)$$

$$\% \text{ de degradación de ATZ} = \frac{(ATZ_{\text{Día 0}} - ATZ_{\text{Día 30}}) * 100}{ATZ_{\text{Día 0}}} \quad (A-18)$$

$$\text{Producto de degradación} \left( \frac{mg}{L} \right) = \left( \frac{\text{Área Producto en Mtra} - \text{Ordenada al origen}}{\text{pendiente}} \right) * \left( \frac{0.004 mL}{0.01 mL} \right) \quad (A-19)$$

donde

0.004 mL= Volumen de disolventes utilizados para la elución de los compuestos ATZ, DEA y DIA.

0.01 mL= Volumen de muestra utilizada para la extracción en fase sólida.

Las áreas de los diferentes picos pertenecientes a la ATZ y a la DEA, así como su concentración se presentan de manera desarrollada en la Tabla A-16.

Tabla A-28. Datos cromatográficos para la determinación de la biodegradación de atrazina

ATZ (15 mg/L)							
MUESTREO	DÍA	FECHA	TR (min)	ÁREA	EXT (mg/L)	CONC. REAL (mg/L)	% DEGRADACIÓN
1	0	03/08/2016	8.341	825,886	24.51	9.80	33.73
2	3	06/08/2016	8.338	714,421	21.35	8.54	
3	6	09/08/2016	8.481	730,949	21.82	8.73	
4	9	12/08/2016	8.337	604,713	18.24	7.30	
5	12	15/08/2016	8.336	610,116	18.40	7.36	
6	15	18/08/2016	8.335	616,696	18.58	7.43	
7	18	21/08/2016	8.339	623,421	18.77	7.51	
8	21	24/08/2016	8.335	690,454	20.67	8.27	
9	24	27/08/2016	8.333	668,937	20.06	8.03	
10	27	30/08/2016	8.334	645,377	19.40	7.76	
11	30	02/09/2016	8.335	534,196	16.24	6.50	
DEA encontrada en la concentración de 15 mg/L							
3	6	09/08/2016	7.618	9,294	1.35	0.59	
AC encontrado en la concentración de 15 mg/L							
11	30	02/09/2016	3.180	24,827,249	4.94	1.97	
HA encontrada en la concentración de 15 mg/L							
11	30	02/09/2016	4.840	308,902	0.52	0.21	
ATZ (10 mg/L)							
MUESTREO	DÍA	FECHA	TR (min)	ÁREA	EXT (mg/L)	CONC. REAL (mg/L)	% DEGRADACIÓN
1	0	03/08/2016	8.338	674,140	20.21	8.08	40.11
2	3	06/08/2016	8.338	603,077	18.20	7.28	
3	6	09/08/2016	8.339	438,238	13.52	5.41	
4	9	12/08/2016	8.337	455,434	14.01	5.60	
5	12	15/08/2016	8.339	406,199	12.62	5.05	
6	15	18/08/2016	8.335	425,848	13.17	5.27	
7	18	21/08/2016	8.337	436,416	13.47	5.39	
8	21	24/08/2016	8.335	463,939	14.25	5.70	
9	24	27/08/2016	8.335	392,110	12.22	4.89	
10	27	30/08/2016	8.335	319,536	10.16	4.06	
11	30	02/09/2016	8.336	388,175	12.11	4.84	

Tabla A-28. Datos cromatográficos para la determinación de la biodegradación de atrazina (Continuación)

DEA encontrada en la concentración de 10 mg/L							
MUESTREO	DÍA	FECHA	TR (min)	AREA	EXT (mg/L)	CONC REAL (mg/L)	
5	12	15/08/2016	7.57	14,816	3.13	1.25	
HA encontrada en la concentración de 10 mg/L							
11	30	15/08/2016	4.833	37,2152	0.52	0.21	
ATZ (5 mg/L)							
MUESTREO	DÍA	FECHA	TR (min)	ÁREA	EXT (mg/L)	CONC. REAL (mg/L)	% DEGRADACIÓN
1	0	03/08/2016	8.338	420,705	13.03	5.21	51.30
2	3	06/08/2016	8.338	407,120	12.64	5.06	
3	6	09/08/2016	8.340	386,787	12.07	4.83	
4	9	12/08/2016	8.334	261,803	8.52	3.41	
5	12	15/08/2016	8.341	244,099	8.02	3.21	
6	15	18/08/2016	8.340	232,748	7.70	3.08	
7	18	21/08/2016	8.341	190,989	6.52	2.61	
8	21	24/08/2016	8.347	267,774	8.69	3.48	
9	24	27/08/2016	8.342	177,515	6.13	2.45	
10	27	30/08/2016	8.339	230,875	7.65	3.06	
11	30	02/09/2016	8.342	184,950	6.34	2.54	
DEA encontrada en la concentración de 5 mg/L							
4	9	12/08/2016	7.616	16,755	1.84	0.73	
HA encontrada en la concentración de 5 mg/L							
11	30	02/09/2016	4.883	6,960,387	0.85	0.34	
BCO ATZ-Moos (10 mg/L)							
MUESTREO	DÍA	FECHA	TR (min)	ÁREA	EXT (mg/L)	CONC. REAL (mg/L)	% DEGRADACIÓN
1	0	03/08/2016	8.478	577,137	17.46	6.98	2.72
2	3	06/08/2016	8.338	549,027	16.66	6.67	
3	6	09/08/2016	8.338	557,847	16.91	6.77	
4	9	12/08/2016	8.343	551,313	16.73	6.69	
5	12	15/08/2016	8.336	575,349	17.41	6.96	
6	15	18/08/2016	8.337	526,927	16.04	6.42	

Tabla A-28. Datos cromatográficos para la determinación de la biodegradación de atrazina (Continuación)

BCO ATZ-Moos (10 mg/L)						
MUESTREO	DÍA	FECHA	TR (min)	ÁREA	EXT (mg/L)	CONC. REAL (mg/L)
7	18	21/08/2016	8.335	501,248	15.31	6.12
8	21	24/08/2016	8.334	534,094	16.24	6.50
9	24	27/08/2016	8.336	489,433	14.98	5.99
10	27	30/08/2016	8.335	498,092	15.22	6.09
11	30	02/09/2016	8.334	560,397	16.99	6.79
<b>AC encontrado en el Blanco</b>						
11	30	02/09/2016	3.12	10,202,603	0.07	<b>0.02</b>

#### A.5.3.4 Balance de masa de la biodegradación de la atrazina

El balance de masa se realizó para el último día de la etapa de biodegradación siguiendo las siguientes ecuaciones:

$$ATZ \text{ biodegradada } \left(\frac{mg}{L}\right) = ATZ \text{ inicial } \left(\frac{mg}{L}\right) - ATZ \text{ final } \left(\frac{mg}{L}\right) \quad (A-20)$$

$$ATZ \text{ biodegradada } \left(\frac{mg}{L}\right) = DEA \left(\frac{mg}{L}\right) + HA \left(\frac{mg}{L}\right) + AC \left(\frac{mg}{L}\right) + OTROS \left(\frac{mg}{L}\right) \quad (A-21)$$

$$OTROS \left(\frac{mg}{L}\right) = ATZ \text{ biodegradada } \left(\frac{mg}{L}\right) - \left( DEA \left(\frac{mg}{L}\right) + HA \left(\frac{mg}{L}\right) + AC \left(\frac{mg}{L}\right) \right) \quad (A-22)$$

#### A.5.3.5 Cálculo de los parámetros cinéticos y analíticos en la biodegradación de la atrazina

El procedimiento matemático usado para el cálculo de los parámetros cinéticos (constante de crecimiento, tiempo de generación, velocidad de división) y analíticos (constante de degradación, tiempo de vida) se realizó según lo establecido por Bikandi (2014) y Khan et al. (2015).

A continuación, se presenta el cálculo ejemplo para la concentración de 5 mg/L, tomando extractos de las Tablas A-22 y A-28 presentados en la Tabla A-29.

**Tabla A-29. Datos empleados en el cálculo de los parámetros cinéticos**

	(UFC/mL)	log <sub>10</sub> UFC/mL		mg/L
Conteo inicial	1.50E+05	5.17	Concentración inicial	5.21
Conteo intermedio	2.63E+07	7.42	Concentración final	2.54
Conteo final	2.13E+08	8.32	-	-

$$\frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{\log_{10}(\text{Conteo a } T_f) - \log_{10}(\text{Conteo a } T_0)}{(T_f - T_i)} = \frac{\log_{10}(2.13E + 08) - \log_{10}(1.50E + 05)}{48} = 0.065 \quad (A-23)$$

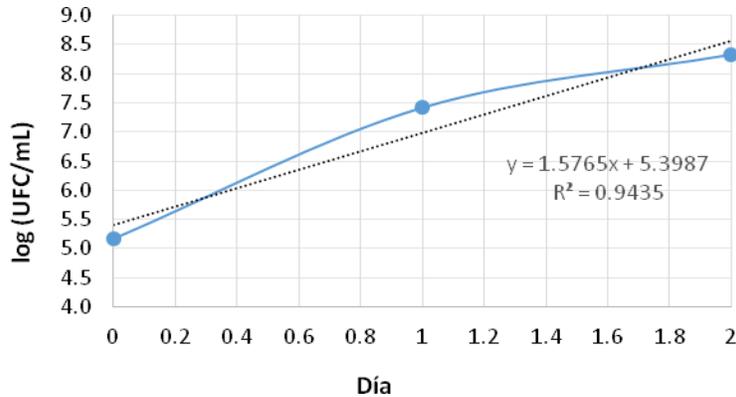
Mediante la Fórmula A-23 se calculó el incremento de la biomasa bacteriana respecto al tiempo en la fase exponencial de la cinética de crecimiento, considerada del tiempo cero hasta las 48 horas o dos días del experimento.



### A.5.3.5.1 Tiempo de generación (g)

El tiempo de generación se calculó usando la fórmula A-24 empleando la pendiente de la Gráfica A-7.

$$g(d) = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{0.065}{1.576} = 0.0416 \quad (\text{A-24})$$



Gráfica A-7. Fase exponencial de la curva de crecimiento para la concentración de 5 mg/L

### A.5.3.5.2 Constante de crecimiento (k)

La constante de crecimiento (k) bacteriano se calculó siguiendo la ecuación A-25.

$$k = \frac{\ln 2}{g} = \frac{\ln 2}{0.0416} = 16.67 \quad (\text{A-25})$$

### A.5.3.5.3 Velocidad de división ( $\mu$ )

La velocidad de división es el inverso del tiempo de generación, tal como se muestra en la ecuación A-26.

$$\mu (d^{-1}) = \frac{1}{g} = \frac{1}{0.0416} = 24.05 \quad (\text{A-26})$$

### A.5.3.5.4 Constante de degradación (k')

La constante de degradación se calculó según la concentración inicial y final de atrazina pasados los 30 días de la etapa de biodegradación, aplicando la ecuación A-27.

$$k' (d^{-1}) = \frac{-\ln\left(\frac{\text{Concentración final}}{\text{Concentración inicial}}\right)}{T_{final}} = \frac{-\ln\left(\frac{2.54}{5.21}\right)}{30} = 0.024 \quad (\text{A-27})$$

#### A.5.3.5.5 Tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ )

La relación matemática empleada para la estimación del tiempo de vida media de la atrazina a las diferentes concentraciones de estudio se presenta en la ecuación A-28.

$$t_{1/2} (d) = \frac{\ln 2}{k'} = \frac{\ln 2}{0.024} = 28.88 \quad (\text{A-28})$$

## Anexo 6. Prueba de toxicidad en una especie de alga silvestre

### A.6.1. Aislamiento y mantenimiento del alga silvestre *Chlorococcum sp*

La especie algal de prueba se extrajo de una serie de humedales artificiales mantenidos y alimentados bajo las condiciones citadas por Miranda (2017). La muestra de agua se extrajo de la parte superficial de los humedales y mediante diluciones seriadas seguidas de la técnica de pipeteo con punta reducida (Arredondo y Voltolina, 2007) se aisló la especie algal predominante, la cual se depositó en un matraz Erlenmeyer con el agua sintética preparada según la Tabla 4-1 y se mantuvo según la Tabla A-30. La identificación de dicho microorganismo se llevó a cabo mediante su comparación micro-macroscópica y lugar de aislamiento con las especies encontradas en bases de datos internacionales como AlgaeBase (2017); CONABIO (2017).

**Tabla A-30. Condiciones de mantenimiento del alga utilizada**

Periodo de luz	Tipo de lámpara	Flujo de aire	Recambio de medio
12 h luz - 12 h oscuridad	20W-127V-60Hz-0.15 A	10 L/min	10 días

### A.6.2 Bioensayo de toxicidad en el alga silvestre *Chlorococcum sp*

Para conocer la toxicidad de la atrazina respecto de sus productos de degradación, el alga silvestre *Chlorococcum sp* se sometió durante 96 h a tres tratamientos diferentes: ATZ (5mg/L), Mezcla DEA (1.25 mg/L), AC (1.97 mg/L), HA (0.34 mg/L) y blanco, usando como inóculo 3.5 mL de un cultivo de algas con 10 días de edad en un volumen final de 200 mL. En dicho experimento se conservaron las condiciones ambientales presentadas en la Tabla A-18. Se emplearon estos tres compuestos químicos ya que fueron los encontrados en mayor concentración en la fase de biodegradación.

Pasadas las 96 horas del experimento se tomó un volumen de 150 mL del medio de cada matraz y se pasó por un filtro de celulosa con tamaño de poro de 45  $\mu\text{m}$  con masa constante previamente determinada. Posteriormente, los filtros más la biomasa se llevaron a masa constante y mediante la ecuación A-29 se cuantificó el aumento de masa algal neto.

$$g \text{ biomasa algal} = (\text{biomasa más filtro (g)} - \text{filtro (g)}) \quad (\text{A-29})$$

## Anexo 7. Acervo fotográfico

### A.7.1. Puntos de muestreo y su clasificación con base en el uso del suelo

Los puntos de muestreo seleccionados para este trabajo se presentan en las Tablas A-31, en donde se puede apreciar que los puntos 1, 2 y 3, pertenecen a la zona urbana; 4, 5 y 6 a una zona de invernaderos en los que se usa algún tipo de agroquímico; 7 y 8 son considerados puntos de transición y 9, 10 y 11, son zonas chinamperas dedicadas al cultivo orgánico.

### A.7.2. Aislamiento de los diferentes microorganismos con potencial de degradar atrazina por el método de dilución seriada y extendido en placa

El método de dilución seriada y extendido en placa, permitió obtener colonias relativamente aisladas, tal como se muestra en la Tabla A-32.

### A.7.3. Pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias aisladas de los canales de Xochimilco

Las bacterias usadas en el proceso de biodegradación de la atrazina se identificaron mediante sus características metabólicas, las cuales se evidenciaron en las pruebas bioquímicas presentadas en la Tabla A-33, entre otras.

### A.7.4. Reactores (matraces) usado en la fase de biodegradación de atrazina

Los biorreactores usados en el estudio de la degradación de atrazina se muestra en la Figura A-1, los cuales se mantuvieron en condiciones de temperatura y agitación controladas.

### A.7.5. Cromatogramas obtenidos en la fase analítica de la biodegradación de atrazina

A continuación, se muestran ejemplos de los cromatogramas obtenidos a lo largo de la fase analítica de la etapa dos del desarrollo experimental. En la Figura A-2 se muestran los tres compuestos determinados por CG-FID, DIA, DEA y ATZ, según su tiempo de retención. En la Figura A-3 se presenta la aparición de la DEA y la ATZ en el día 6 de la experimentación para la concentración de 15 mg/L. Al igual que con los compuestos determinados por cromatografía de gases, en la Figura A-4 se muestra la aparición del AC y la HA por HPLC-DAD según su tiempo de retención. En la Figura A-5 se presenta la aparición de AC y HA para el día 30 en la concentración de 15 mg/L.

### A.7.6. Microalga empleadas para la fase de toxicidad

En la Figura A-6 se presenta la microalga identificada como *Chlorococcum sp.* con la que se realizó la fase de toxicidad de la atrazina y sus productos metabólicos resultantes. En la Tabla A-34 se muestra el desarrollo experimental del bioensayo de toxicidad de la atrazina y sus compuestos de degradación.

Tabla A-31. Puntos de muestreo

1	5
2	6
3	7
4	8

Tabla A-31. Puntos de muestreo (continuación)



Tabla A-32. Aislamiento de colonias por extendido en placa de diluciones seriadas

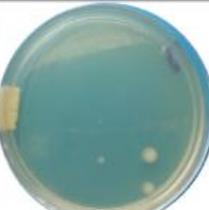
MEDIO EMB	MEDIO MSA	MEDIO NUTRITIVO	MEDIO PDA-C	DILUCIÓN
				Muestra directa
				10 <sup>-1</sup>
				10 <sup>-2</sup>

Tabla A-33. Pruebas bioquímicas de mayor importancia para la identificación de las bacterias con capacidad para degradar atrazina

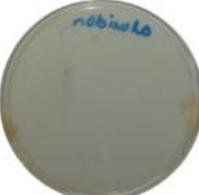
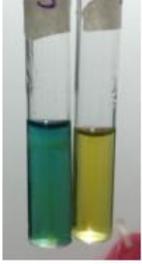
Prueba bioquímica	Control-Positiva	Prueba bioquímica	Control-Positiva
Hemólisis en agar sangre			
Hidrólisis del almidón			
Oxidasa			
Hidrólisis de lecitina			



Figura A-1. Biorreactores a diferentes concentraciones de atrazina al día cinco del estudio

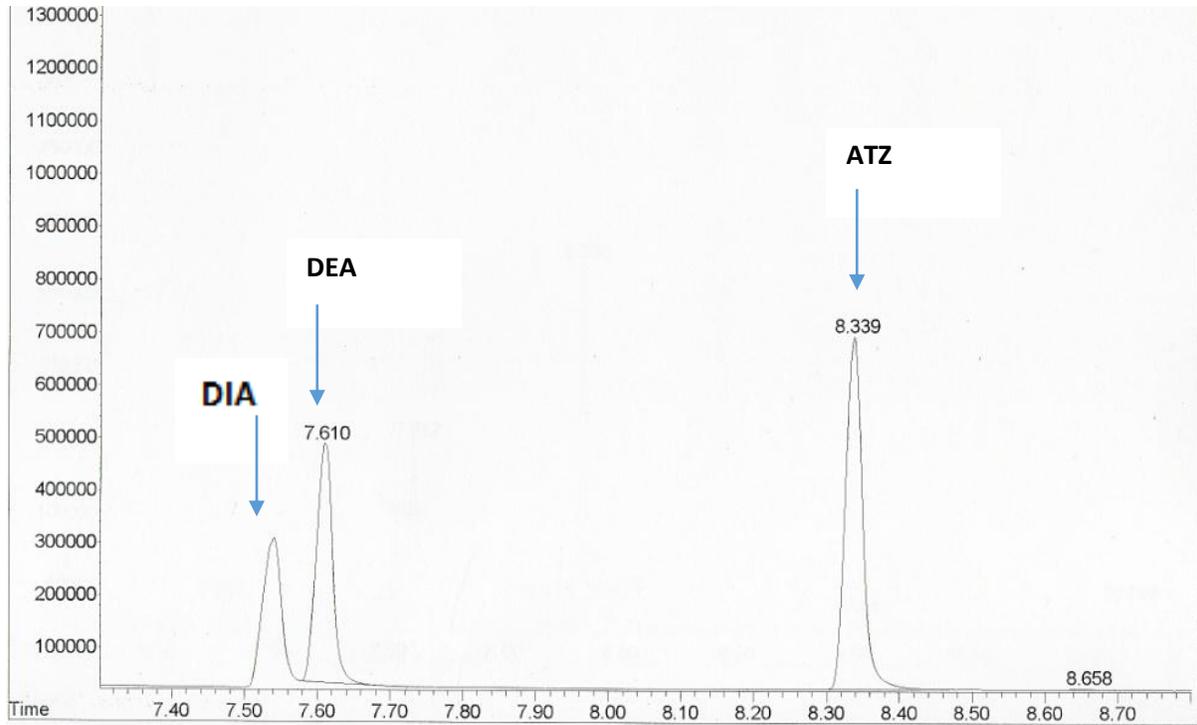


Figura A-2. Cromatograma de DIA, DEA y ATZ por CG-FID

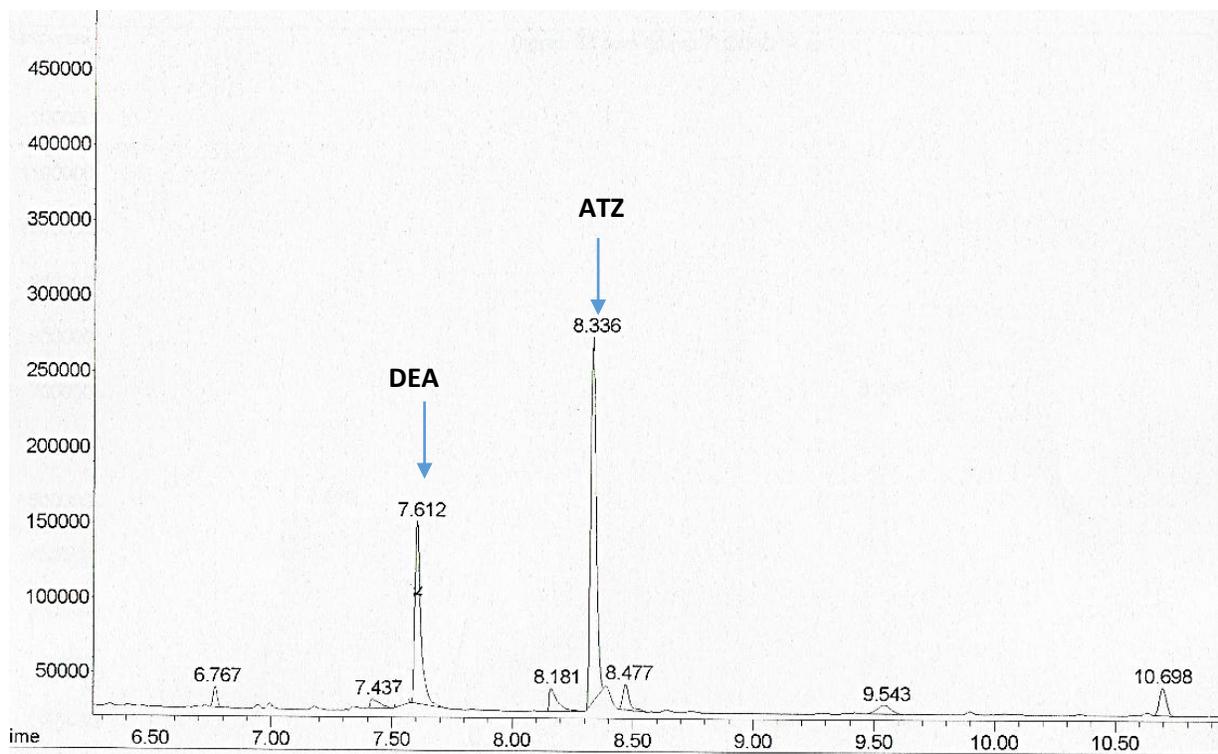


Figura A-3. Cromatograma de DEA y ATZ día 6 concentración 15 mg/L.



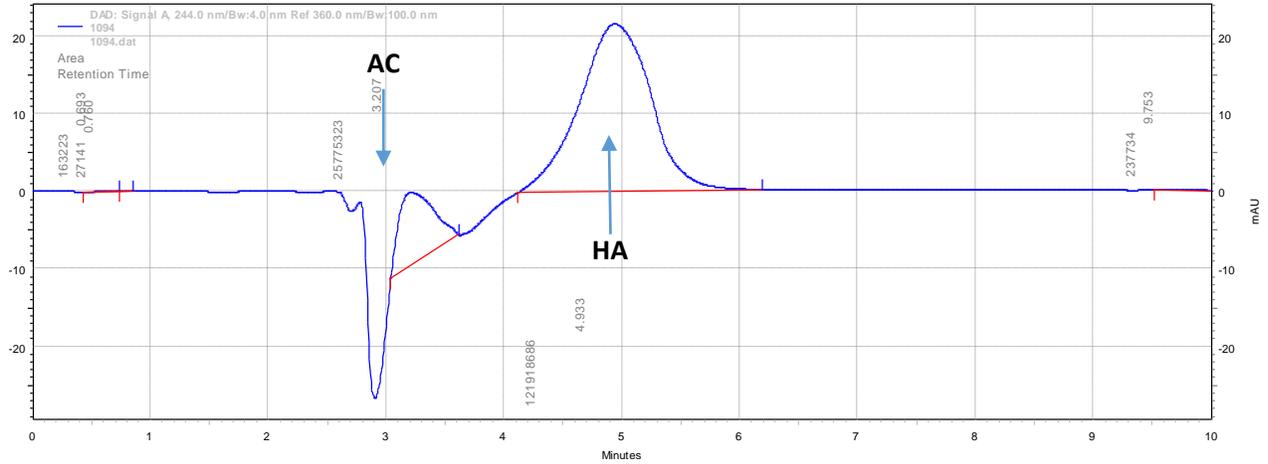


Figura A-4. Determinación de AC y HA por HPLC-DAD

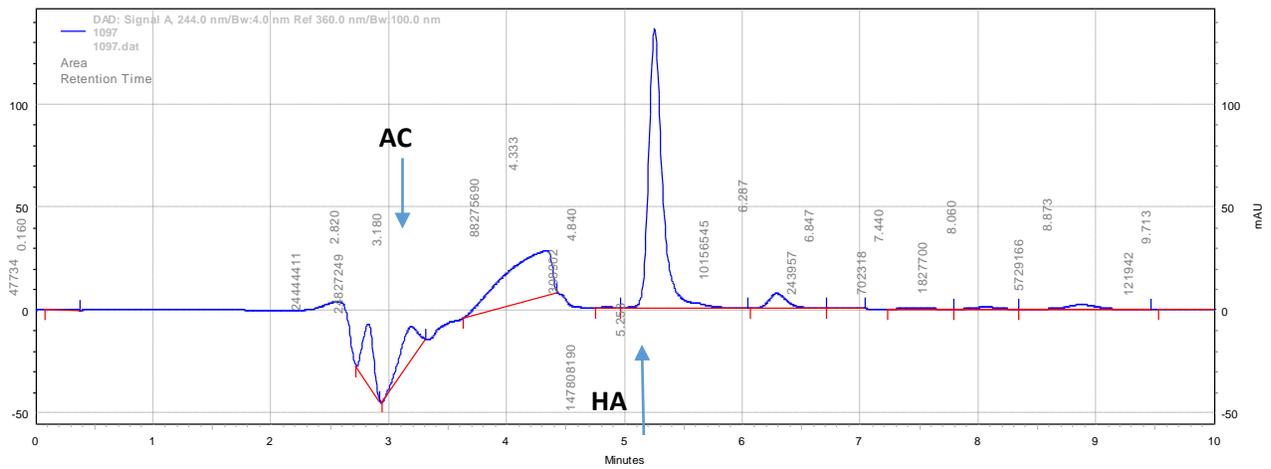


Figura A-5. Cromatograma AC y HA día 30 concentración 15 mg/L

En la Figura A-6 se presenta la microalga identificada como *Chlorococcum sp.* con la que se realizó la fase de toxicidad de la atrazina y sus productos metabólicos resultantes.

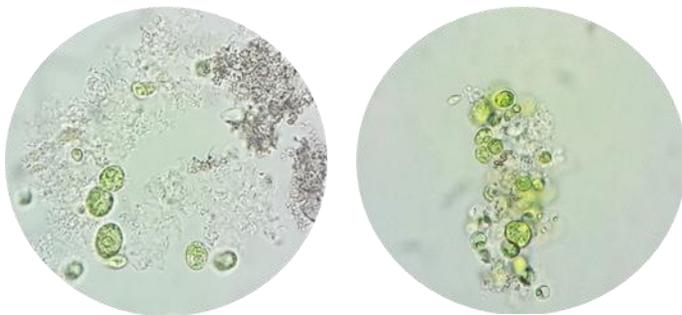
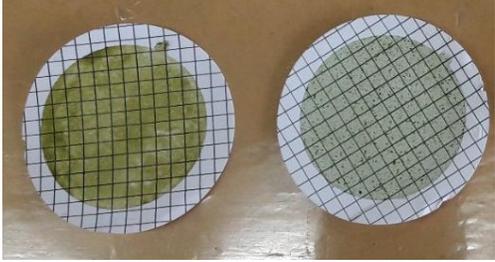
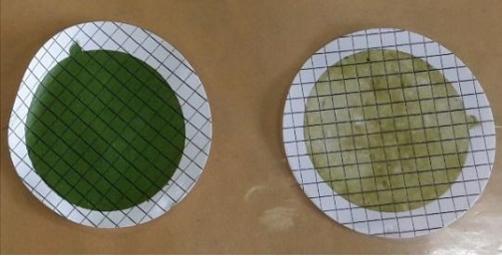


Figura A-6. Microalga *Chlorococcum sp*

Tabla A-34 Desarrollo experimental del bioensayo de toxicidad

Etapa de desarrollo	Evidencia fotográfica
<p>Tiempo cero</p>	
<p>Tiempo final</p>	
<p>Ejemplo de la biomasa algal obtenida</p>	
	<p>Mezcla (DIA, AC y HA)      Tiempo cero</p>
	
<p>Blanco      Atrazina</p>	

## Anexo.8 Análisis estadístico de los resultados obtenidos

Para la comparación estadística entre los diferentes experimentos y conocer si existen diferencias entre concentraciones y tratamiento respecto a una variable dependiente se llevó a cabo una serie de análisis de varianzas simples, seguidas de una prueba de rangos múltiples con un 95% de significancia, las cuales se presentan a continuación.

### A.8.1 Análisis estadístico del desarrollo bacteriano con las diferentes concentraciones de atrazina

Se realizó la comparación estadística del crecimiento bacteriano obtenido, respecto a las diferentes concentraciones de atrazina manejadas (15, 10 y 5mg/L) arrojándose las siguientes conclusiones:

**Tabla de análisis de varianzas, andeva (ANOVA en inglés) para la relación crecimiento por concentración**

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8.39889E15	2	4.19944E15	0.71	0.4975
Intra grupos	3.38641E17	57	5.94107E15		
Total (Corr.)	3.4704E17	59			

Gl, grados de libertad

La tabla de análisis de varianzas, andeva (ANOVA en inglés), descompone la varianza de crecimiento en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.70685, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de crecimiento entre un nivel de concentración y otro con un nivel del 95.0% de confianza.

Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se seleccionó la prueba de rangos múltiples

#### Pruebas de rangos múltiples para crecimiento por concentración

Concentración	Casos	Media	Grupos homogéneos
Blanco	20	4.5786E7	X
5	20	1.83808E8	X
10	20	2.03471E8	X
15	20	2.12077E8	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
10 - 15		-8.606E6	4.2661E7
10 - 5		1.9663E7	4.2661E7
10 - Blanco	*	1.57685E8	4.2661E7
15 - 5		2.8269E7	4.2661E7
15 - Blanco	*	1.66291E8	4.2661E7
5 - Blanco	*	1.38022E8	4.2661E7

\* indica una diferencia significativa

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

## A.8.2 Análisis estadístico de la biodegradación de la atrazina a sus diferentes concentraciones

Se realizó la comparación estadística de la biodegradación lograda durante los 30 días, respecto a las diferentes concentraciones de atrazina manejadas (15, 10 y 5mg/L) arrojándose las siguientes conclusiones:

### Tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés) para la relación crecimiento por concentración

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	111.421	3	37.1405	44.81	0.0000
Intra grupos	32.3273	39	0.828905		
Total (Corr.)	143.749	42			

Gl, grados de libertad

La tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés), descompone la varianza de degradación de atrazina en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 44.8066, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de degradación de atrazina entre un nivel de concentración y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se seleccionó la prueba de rangos múltiples.

### Pruebas de rangos múltiples para degradación de atrazina por concentración

Concentración	Casos	Media	Grupos homogéneos
5	11	3.54	X
10	11	5.59727	X
Blanco	11	6.519	X
15	11	7.93	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 5	*	2.979	0.80463
0 - 10	*	0.921727	0.80463
0 - 15	*	-1.411	0.80463
5 - 10	*	-2.05727	0.785238
5 - 15	*	-4.39	0.785238
10 - 15	*	-2.33273	0.785238

\* indica una diferencia significativa

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

## A.8.3 Análisis estadístico del desarrollo de la biomasa algal en comparación con los dos tratamientos ATZ a 5 mg/L y mezcla de metabolitos

Se comparó la biomasa algal obtenida después de los cinco días de estudio respecto de las dos disoluciones de prueba ATZ 5 mg/L y la mezcla de los metabolitos resultantes de la biodegradación

**Tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés) para biomasa algal por tratamiento**

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.000189123	3	0.0000630411	27.45	0.0001
Intra grupos	0.0000183733	8	0.00000229667		
Total (Corr.)	0.000207497	11			

Gl, grados de libertad

La tabla de análisis de varianza (ANOVA, en inglés) descompone la varianza de biomasa algal en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 27.449, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de biomasa algal entre un nivel de tratamiento y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se seleccionó la prueba de rangos múltiples.

**Pruebas de rangos múltiples para la biomasa algal por tratamiento**

Tratamiento	Casos	Media	Grupos homogéneos
Tiempo cero	3	0.0009	X
Atrazina 5mg/L	3	0.00636667	X
Mezcla	3	0.00906667	XX
Blanco	3	0.0116	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Atrazina 5mg/L - Blanco	*	-0.00523333	0.00285341
Atrazina 5mg/L - Mezcla		-0.0027	0.00285341
Atrazina 5mg/L - Tiempo cero	*	0.00546667	0.00285341
Blanco - Mezcla		0.00253333	0.00285341
Blanco - Tiempo cero	*	0.0107	0.00285341
Mezcla - Tiempo cero	*	0.00816667	0.00285341

\* indica una diferencia significativa

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

## Anexo 9. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

Los residuos generados a lo largo de este trabajo experimental se agruparon en dos conjuntos. El primero constaba de aquellos residuos que por su naturaleza ácida o básica era viable neutralizarlos en el laboratorio generando productos inocuos sin inconveniente de ser desechados al drenaje común. El segundo grupo estaba conformado por residuos que por algún componente o característica *CRETIB* (Corrosivo, Reactivo, Explosivo, Tóxico, Inflamable, Biológico-Infecioso) no era posible ser estabilizado en el laboratorio; estos últimos se etiquetaron adecuadamente especificando el proceso del cual provenían, así como la composición y concentración de sus componentes, y se entregaron a la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química para su correcta disposición final.

## Bibliografía

- Abate, G., Masini, J.C. 2005. Sorption of atrazine, propazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine and hydroxyatrazine onto organovermiculite. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **16**(5):936-943.
- Abeja-Pineda, O., López-López, E., Favari, L. Sedeño-Díaz, J.E. 2015. Algal growth potential and oxidative stress in *Ankistrodesmus falcatus* exposed to waters from Xochimilco Lake system, Mexico. *Aquatic Ecosystem Health & Management*. **18**(2):221-231.
- Alcántara, V. 2014. Caracterización y diagnóstico de la contaminación por plaguicidas en el lago de Xochimilco. *Tesis de Doctorado*. Programa de Posgrado en Ciencias de la Tierra, UNAM. México.
- AlgaeBase. 2017. Algae base, Species research. Consulta a redes internacionales (15-03-2017) <http://www.algaebase.org/search/species/>
- APHA-AWWA-WPCF. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 19th Edition. Washington, DC, EE.UU.
- Arredondo, O. B., Voltolina, L. 2007. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microagal*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. La Paz, Baja California, México. Pp 2-8.
- Badii, M.H.U., Landeros, J.U. 2015. Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. *Cultura Científica y Tecnológica*. **19**(4):21-34.
- Barceló, D., López, M.J.L. 2008. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. En *Jornadas de presentación de resultados: El estado ecológico de las masas de agua*. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas. Sevilla, España. Pp. 2-4.
- Bedmar, F., Gianelli, V., Angelini, H., Viglianchino, L. 2015. Riesgo de contaminación del agua subterránea con plaguicidas en la cuenca del arroyo El Cardalito, Argentina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*. **41**(1):70-82.
- Behki, R., Topp, E., Dick, W., Germon, P. 1993. Metabolism of the herbicide atrazine by *Rhodococcus* strains. *Applied and Environmental Microbiology*. **59**(6):1955-1959.
- Bikandi, J. 2014. *Cinética de la fase exponencial de la curva de crecimiento microbiano*. Consulta a redes Internacionales (15-03-2017) <http://www.testak.org/microbiologia/crecimiento/cinetica.pdf>
- Borja-Urzola, A.C. 2017. Influencia de la materia orgánica en la extracción en fase sólida de la atrazina y dos de sus metabolitos de degradación. Caso de estudio Canales de Xochimilco. *Tesis de Maestría en Ciencias Químicas*, UNAM. México.
- BVSDE. 2015. Evaluación de riesgos ambientales. Consulta a redes internacionales (23-11-2015) <http://www.bvsde.paho.org/tutorial/ambientales/anexo4.html>
- Cabrera, L. 2002. *Diccionario de aztequismos*. Colofón. S.A. México D.F. Pp-73. 155.
- Carabias, J., Landa, R., Collado, J., Martínez, P. 2005. *Agua, medio ambiente y sociedad*. 1ª edición Ed. UNAM-Reverté. D.F. México, P.15.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Herrero-Hernández, E., Sánchez-San Román, F.J., Flores, M.G.P. 2002. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography: Evaluation of pollution due to herbicides in surface and groundwaters. *Journal of Chromatography A*. **950**(1):157-166.
- Cervantes-Sánchez, W.M.A. 2014. Caracterización molecular y evaluación de la capacidad degradativa de la atrazina por bacterias aisladas de suelos. *Tesis profesional*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Lima, Perú.
- Chávez, C., Blanco, A., Luna, M., Dendooven, L., Cabirol, N. 2011. Removal of methyl parathion from a chinampa agricultural soil of Xochimilco Mexico: A laboratory study. *European Journal of Soil Biology*. **47**(4):264-269.

- CODEX. 2015. **Normas Internacionales de los alimentos**. CODEX Alimentarius. Consulta a redes Internacionales (01-10-2015)  
<http://www.codexalimentarius.org/codex-home/es/> y <http://www.fao.org/waicent/faostat/pest-residue/pest-s.htm>
- COFEPRIS. 2015a. **Autorización sanitaria, Registros sanitarios, plaguicidas y nutrientes vegetales, consulta de registros de plaguicidas y nutrientes vegetales, atrazina**. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Consulta a redes nacionales (01-10-2015)  
<http://189.254.115.250/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp>
- COFEPRIS. 2015b. **Catálogo de plaguicidas. Introducción**. Consulta a redes Internacionales. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (01-10-2015).  
<http://www.cofepris.gob.mx/CAS/establecimientos%20y%20productos%20biologicos/fundamentos/antecedentes/Catalogo%20de%20plaguicidas/INTRO.pdf>
- CONABIO. 2017. **REMIB. Comisión Nacional para la Biodiversidad**. Consulta a redes Internacionales. (15-03-2017) [http://www.conabio.gob.mx/remib\\_ingles/doctos/ficologica\\_cicimar.html](http://www.conabio.gob.mx/remib_ingles/doctos/ficologica_cicimar.html)
- Da Cunha, J., Pinelli, L., Bellini, L.M.I., Davyt, D., Fernández, S.A. 2013. Determinación de atrazina e intermediarios de biodegradación en enriquecimientos bacterianos provenientes de cursos de agua superficial de Uruguay. *Innotec*. **(8)**:23-29.
- Daughton, C. 2004. Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environ. Impact Asses.* **24**(7):711-732.
- deCecilia, D., Maggi, F. 2016. Kinetics of atrazine, deisopropylatrazine, and deethylatrazine soil biodecomposers. *Journal of Environmental Management.* **183**(3):673-686.
- DeLorenzo, M.E., Scott, G. I., Ross, P.E. 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **20**(1):84-98.
- Debasmita, N., Rajasimman, M. 2013. Optimization and kinetics on biodegradation of atrazine using mixed microorganisms. *Alexandria Engineering Journal.* **52**:499-505.
- Devine, J.G., Domínguez, E., Ogusuku, E. Furlong, J.M. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.* **25**(1):74-100.
- Díaz, E., Gibson, R., González, F., Zarco, A. E., Mazari, M. 2013. Endocrine disruptors in the Xochimilco wetland, Mexico City. *Water, Air, and Soil Pollution.* **(224)**:1586-1596.
- Deblois, C.P., Dufresne, K., Juneau, P. 2013. Response to variable light intensity in photoacclimated algae and cyanobacteria exposed to atrazine. *Aquatic Toxicology.* **126**:77-84.
- DOF. 2014a. Decreto por el que se reforman, adicionan y derogan diversas disposiciones del reglamento en materia de registros, autorizaciones de importación y exportación y certificados de exportación de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias y materiales tóxicos o peligrosos. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9. P. 17. México. D.F. México.
- DOF. 2014b. Norma Oficial Mexicana NOM-010-STPS-2014, Agentes químicos contaminantes del ambiente laboral. Reconocimiento, evaluación y control. *Diario Oficial de la Federación*. 2a secc. TOMO DCCXXVI, No. 19, P. 49. México, D.F. México.
- DOF. 2009. DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO. - Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. *Diario Oficial de la Federación*: Jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México, D.F., México.
- Durrieu, C., Guedri, H., Fremion, F., Volatier, L. 2011. Unicellular algae used as biosensors for chemical detection in Mediterranean lagoons and coastal waters. *Research in Microbiology.* **162**(9):908-914.



- EFSA. 2015. Reasoned opinion on the setting of a new maximum residue level for atrazine in cereals. **European Food Safety Authority. EFSA Journal. 13**(6):4126-4131. Consulta a redes Internacionales (10-10-2015) <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4126>
- Eggen, T., Moeder, M., Arukwe, A. 2010. Municipal landfill leachates: A significant source for new and emerging pollutants. **Science of the Total Environment. 408**(21):5147-5157.
- EPA. 1992. **Method 619. The Determination of Triazine Pesticides in a Municipal and Industrial Wastewater.** Environmental Protection Agency. Consulta a redes Internacionales (03-10-2016) [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method\\_619\\_1992.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_619_1992.pdf)
- Espinosa, A.C., Arias, C.F., Sánchez, C.S., Mazari, M. 2009. Comparative study of enteric viruses, coliphages and indicator bacteria for evaluating water quality in a tropical high-altitude system. **Environmental Health. 8**(49):1-10.
- Evans, J.A., Fernández-Bremauntz, A., Gavilán-García, A., Lema, I.I., Martínez-Cordero, M.A., Ramírez-Romero, P., Zuk, M. 2003. **Introducción al análisis de riesgos ambientales.** Semarnat-INECC. México, D.F. P. 34. <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/bitstream/handle/minam/1117/BIV00560.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- FAO. 2015a. **Manejo de malezas para países en desarrollo. Capítulo 10 Herbicidas.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consulta a redes nacionales (21-10-2015) <http://www.fao.org/docrep/t1147s/t1147s0e.html>
- FAO. 2015b. **Lucha contra la contaminación agrícola. Capítulo 1 Contaminación agrícola de los recursos hídricos: Introducción la calidad del agua, un problema mundial.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consulta a redes nacionales (12-10-2015) <http://www.fao.org/docrep/w2598s/w2598s03.htm#>
- FAO. 2015c. **Atrazine.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consulta a redes nacionales (15-10-2015) [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/JMPR/Report07/Atrazine.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report07/Atrazine.pdf)
- Fent, K., Weston, A., Caminada, D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology. 76**:122-159.
- García, G.C., Gortáres, M.P., Drogui, P. 2011. Contaminantes emergentes: efectos y tratamientos de remoción. **Química Viva. 2**(10):96-105.
- García-Luna, V.J. 2017. Efecto de las concentraciones de cuatro de los principales productos metabólicos (desetilatrazina, deisopropilatrazina, 2-hidroxiatrazina y ácido cianúrico) de la atrazina sobre su descomposición en muestras de agua y sedimentos del sistema de canales de Xochimilco. **Tesis de Doctorado.** Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería Ambiental, UNAM. México. En proceso.
- Gil, M.J., Soto, M.A., Usma, J.I., Gutiérrez, D.O. 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. **Producción Limpia. 7**(2):52-73.
- González-Márquez, L. C., Hansen, A. M. 2009. Adsorción y mineralización de atrazina y relación con parámetros de suelos del DR 063 Guasave, Sinaloa. **Revista Mexicana de Ciencias Geológicas. 26**(3):587-599.
- Hansen, A., Treviño, G., Márquez, H., Villada, M., González C., Guillén, A., Hernández, A. 2013. Atrazina: un herbicida polémico. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 29**:65-84.
- He, H., Yu, J., Chen, G., Li, W., He, J., Li, H. 2012. Acute toxicity of butachlor and atrazine to freshwater green alga *Scenedesmus obliquus* and cladoceran *Daphnia carinata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety. 80**:91-96.
- Henry, J.G., Heinke, W.G. 1999. **Ingeniería Ambiental.** Ed. Pearson Educación. 2da Edición. P. 156. México. D.F. México.
- Herrero, O., Pérez, P., Fernández, J., Carvajal, L., Pedropadre, A., Hazen, M. 2012. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research. 743**:20-24.

- Hawley. 2008. *Diccionario de química y productos químicos*. Ed. Omega. Pp. 564, 897,980, 1207. Madrid, España.
- INECC. 2017. *Evaluación de la calidad del agua*. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Consulta a redes nacionales (16-03-2017) [http://www.emapas.inecc.gob.mx/download/lch\\_calidad\\_del\\_agua.pdf](http://www.emapas.inecc.gob.mx/download/lch_calidad_del_agua.pdf).
- INECC. 2015. *Los plaguicidas y su transporte en el ambiente*. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Consulta a redes nacionales (23-06-2015) <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/index.html>
- INEGI. 2015a. *México en cifras. Información Nacional, por entidad federativa y municipios. Distrito Federal. Xochimilco. Actividades primarias*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Consulta a redes nacionales (01-10-2015) <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=9>
- INEGI. 2015b. *México en cifras. Información Nacional, por entidad federativa y municipios. Distrito Federal. Xochimilco*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Consulta a redes internacionales (10-10-2016) <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=9>
- IRAC. 2015. *Folleto de clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas*. España. Pp. 7-10. Dirección electrónica: <http://www.iraconline.org/documents/folleto-modo-de-accion-insecticidas-y-acaricidas/>
- Jaramillo, F., Rincón, R., Rico, R. Coordinadores. 2011. *Toxicología Ambiental*. Ciencias Básicas. Textos Universitarios. Libro-e. UdeG. Pp 178: 193-194. <https://www.scribd.com/doc/271719367/Toxicologia-Ambiental-Jaramillo>
- Jin, J., Kang, M., Sun, K., Pan, Z., Wu, F., Xing, B. 2016. Properties of biochar-amended soils and their sorption of imidacloprid, isoproturon, and atrazine. *Science of the Total Environment*. **550**:504-513.
- Khan, J. A., Shah, N. S., Khan, H. M. 2015. Decomposition of atrazine by ionizing radiation: kinetics, degradation pathways and influence of radical scavengers. *Separation and Purification Technology*. **156**:140-147.
- Kummerer, K. 2001. Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources. A review. *Chemosphere*. **45**:957-969.
- Lapworth, D., Baran, N., Stuart, M., Ward, R. 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ Pollution*. **163**:287-303.
- Li, Y.C., Yang, Y. 2015. On the paradox of pesticides. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*. **29**(1-3):179-187.
- Lolmede, J.A., Vidart, T., Tejero, I. 2000. Tratamiento de agua residual con elevado contenido de nitratos utilizando reactores de biomembrana aireados. *Ingeniería del Agua*. **7**(3):243-254.
- MacFaddin, J. 2004. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Ed. Panamericana. Pp. 8-25, 54-92, 160-172, 223-226, 306-326, 344-354,397-411. México, Distrito Federal, México.
- MapaMéxicoDF360°. 2016. Consulta a redes internacionales (20-09-16) [http://mapamexicodf360.com.mx/mapa-colonias-mexico#.V-F--\\_nhDIU](http://mapamexicodf360.com.mx/mapa-colonias-mexico#.V-F--_nhDIU)
- Martínez-Cruz, P., Hernández-Martínez, A., Soto-Castor, R., Esquivel-Herrera, A., Rangel-Levario, J. 2006. Use of constructed wetlands for the treatment of water from an experimental channel at Xochimilco, Mexico / Empleo de humedales artificiales para el tratamiento de aguas de un canal experimental de Xochimilco, México. *Hidrobiológica*. **16**(3):211-219.
- Michaelis, L., Menten, M.L. 1913. Die Kinetik der der Invertinwirkung. *Biochem. Z*. **49**:333-369.
- Miles, A.A., Misra, S.S. 1938. The estimation of the bactericidal power of the blood. *J. Hyg. (London)*. **38**:732.
- Miranda, O.H. 2017. Producción de electricidad en sistemas de humedales artificiales asistidos electroquímicamente: flujo continuo versus flujo intermitente. *Tesis de maestría*. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería Ambiental. UNAM. México. Ciudad de México. En proceso.
- Mobaser, J., Moazed, H., Behfar, A., Boroomand, N., Nazari, Z. 2012. Atrazine transport and distribution in field soils and comparison of the predictions made by leaching estimation and chemistry model-pesticide (LEACHP) model. *Scientific Research and Essays*. **7**:3348-3356.
- Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*. **3**:371-394. DOI: 10.1146/annurev.mi.03.100149.002103

- Mudhoo, A., Garg, V. 2011. Sorption, transport and transformation of atrazine in soils, minerals and composts: A review. *Pedosphere*. **21**(1):11-25.
- Müller, K., Duwig, C., Prado, B., Siebe, C., Hidalgo, C., Etchevers, J. 2012. Impact of long-term wastewater irrigation on sorption and transport of atrazine in Mexican agricultural soils. *Journal Environmental Science and Health*. **47**:30-41.
- Narváez, J., Palacio, J., Molina, F. 2012. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y Ambiente*. **15**(3):27-38.
- NMX-AA-026-SCFI-2010. Análisis de Agua - Medición de Nitrógeno Total Kjeldahl en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas - Método de Prueba. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México.
- NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de Agua - Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DDO<sub>5</sub>) en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas - Método de Prueba. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México, D.F. México.
- NMX-AA-029-SCFI-2001. ANÁLISIS DE AGUAS - Determinación de Fósforo Total en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas - Método de Prueba. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México, D.F. México.
- NMX-AA-030-SCFI-2001. ANÁLISIS DE AGUA - Determinación de la Demanda Química de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas - Método de Prueba - Parte 2 - Determinación del Índice de la Demanda Química de Oxígeno – Método de Tubo Sellado a Pequeña Escala. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México, D.F. México.
- NMX-AA-082-1986. Contaminación del Agua - Determinación de Nitrógeno de Nitrato. Método Espectrofotométrico Ultravioleta. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México, D.F. México.
- NMX-AA-099-SCFI-2006. Análisis de Agua – Determinación de Nitrógeno de Nitritos en Aguas Naturales y Residuales - Métodos de Prueba. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México, D.F. México.
- NMX-AA-102-SCFI-2006. Calidad del Agua – Detección y Enumeración de Organismos Coliformes, Organismos Coliformes Termotolerantes y *Escherichia Coli* Presuntiva – Método de Filtración en Membrana. *Diario Oficial de la Federación*. 1a secc. TOMO DCCXXV, No. 9, P. 17. México, D.F. México.
- OCDE. 2011. *Guidelines for the Testing of Chemicals Proposal for Updating Guideline 201. Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test*. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Consulta a redes internacionales (12-11-15) <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/1946914.pdf>
- OMS. 1997. Programa Internacional de Seguridad de Sustancias Químicas. Seguridad química; principios básicos de toxicología aplicada. *La naturaleza de los peligros químicos*. 2ª edición. Organización Mundial de la Salud. Ed. CEPIS. Lima, Perú. P. 14.
- Ortiz-Ordoñez, E., López-López, E., Sedeño-Díaz, J.E., Uría, E., Morales, I.A., Pérez, M.E., Shibayama, M. 2016. Liver histological changes and lipid peroxidation in the amphibian *Ambystoma mexicanum* induced by sediment elutriates from the Lake Xochimilco. *Journal of Environmental Sciences*. **46**:156-164.
- Paritarios. 2015. *El portal de la Seguridad, prevención y salud ocupacional en Chile. Plaguicidas*. Consulta a redes internacionales. (10-11-2015). Dirección electrónica: [http://www.paritarios.cl/especial\\_plaguicida.htm](http://www.paritarios.cl/especial_plaguicida.htm)
- Peña, J., Palacios, L., Ospina, N. 2005. *Algas como indicadoras de contaminación*. 1ª edición. Universidad del Valle. España. Pp. 77-79.
- PPDB. 2015. *Atrazina. Pesticide Properties Data Base*. Consulta a redes internacionales (12-11-15) <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/43.htm>
- Quesada, M.C. 2013. Avances en la determinación de residuos de herbicidas y cefalosporinas en muestras ambientales y alimentarias mediante técnicas miniaturizadas. *Tesis doctoral*. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Granada. España.

- RAGRO. 2015. **Agrotécnica Ragro**. Consulta a redes internacionales (12-12-2015) <http://www.ragro.com.mx/lgpo.asp?start=1&idgrupo=27&cmd=reset>
- Ramírez-Gama, M., Luna, B., Chávez, A., Velázquez, O., Tsuzuki, G., Vierna, L., Hernández, L., Muggenburg, I. 2003. **Manual de Prácticas de Microbiología General**. Facultad de Química. UNAM. Pp. 29, 125, 141. México, D.F. México.
- RAMSAR. 2016. **Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como habitat de aves acuáticas**. Consulta a redes internacionales (15-03-2017) <https://rsis.ramsar.org/RISapp/files/RISrep/MX1363RIS.pdf?language=es>
- Reyna, M.T., Linares, J.A., Reyna, S., Lábaque, M. 2014. Aplicación de modelos unidimensionales de flujo en suelos no saturados y transporte de herbicidas en zonas agrícolas. **Ambiente & Agua. An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. 9(3):434-444.
- Rosales, R.R., Sánchez, C.R. 2006. **Clasificación y uso de los herbicidas por su modo de acción**. SAGARPA. Pp. 15. México, D.F. México, México.
- Sánchez, O., Herzig, M., Peters, E., Márquez, R., Zambrano, L. Editores. 2007. **Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México**. Instituto Nacional de Ecología. P.101. México, D.F. <http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/533.pdf>
- Sandoval, J. 2013. Evaluación de la calidad del agua en los canales de Xochimilco para su recuperación ecológica. **Tesis de Maestría en Ciencias**. Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. México, D.F. México.
- Seffernick, J., Erickson, J., Cameron, S., Cho, S., Dodge, A., Richman, J., Sadowsky, M., Wackett, L. 2012. Defining sequence space and reaction products within the cyanuric acid hydrolase (AtzD)/ barbiturase protein family. **Journal Bacteriology**. 194(17):4579-4588.
- Segura, P. A., MacLeod, S. L., Lemoine, P., Sauvé, S., Gagnon, C. 2011. Quantification of carbamazepine and atrazine and screening of suspect organic contaminants in surface and drinking waters. **Chemosphere**. 84(8):1085-1094.
- SIAMI. 2012. **Sistema de Información Arancelaria Vía Internet**. Secretaría de Economía. México. Consulta a redes internacionales (12-10-12) <http://www.siavi.economia.gob.mx/>
- Sinclair, C., Boxall, A. 2003. Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. **Environmental Science and Technology**. 37:4617-4625.
- Sivams. 2016. **Miles and Misra Dilution Plating Technique**. Consulta a redes internacionales (09-10-2016) <http://www.sivams.com/photo-gallery.html>
- Solomon, K., Carr, J., Du Preez, L., Giesy, J., Kendall, J., Smith, E., van der Kraak, G. 2008. Effects of atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: A critical review. **Critical Reviews in Toxicology**. 38(9):721-772.
- Sreekumar, N. V., Narayana, B., Hegde, P., Manjunatha, B. R., Sarojini, B. K. 2003. Determination of nitrite by simple diazotization method. **Microchemical Journal**. 74(1):27-32.
- Statgraphics. 2016. **Centurion XVI.I**. <http://www.statgraphics.net/descargas/>
- Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., Hart, A. 2012. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. **Science of the Total Environment**. 416:1-21.
- Swartz, C., Reddy, S., Benotti, J., Yin, H., Barber, L., Brownawell, B., Ruthann, A. 2006. Steroid estrogens, nonylphenoxyethoxy metabolites, and other wastewater contaminants in groundwater affected by a residential septic system on Cape Cod, MA. **Environmental Science and Technology**. 40(16):4894-4902.
- Tang, J.X., Hoagland, K.D., Siegfried, B.D. 1997. Differential toxicity of atrazine to selected freshwater algae. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**. 59(4):631-637.
- USEPA. 2003. **Interim Registration Eligibility Decision for Atrazine**. United States Environmental Protection Agency. P.285. Washington, D.C. EE.UU.
- USEPA. 2006. **Decision Documents for Atrazine**. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. United States Environmental Protection Agency. Consulta a redes internacionales (09-10-2016) [http://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/reregistration/red\\_PC-080803\\_1-Apr-06.pdf](http://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-080803_1-Apr-06.pdf)

- Vonberg, D., Vanderborght, J., Cremer, N., Pütz, T., Herbst, M., Vereecken, H. 2014. 20 years of long-term atrazine monitoring in a shallow aquifer in western Germany. *Water Research*. **50**:294-306.
- Watanabe, N., Bergamaschi, B., Loftin, K., Meyer, M., Harter, V. 2010. Use and environmental occurrence of antibiotics in freestall dairy farms with manure forage fields. *Environmental Science and Technology*. **44**(17): 6591-6600.
- Wulfeck-Kleier, K.A., Ybarra, M.D., Speth, T.F., Magnuson, M.L. 2010. Factors affecting atrazine concentration and quantitative determination in chlorinated water. *Journal of Chromatography A*. **1217**(5):676-682.
- Yue, L., Ge, C., Feng, D., Yu, H., Deng, H., Fu, B. 2016. Adsorption–desorption behavior of atrazine on agricultural soils in China. *Journal of Environmental Sciences*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2016.11.002> (Article in press).
- Zambrano, L., Contreras, V., Mazari-Hiriart, M., Zarco-Arista, A.E. 2009. Spatial heterogeneity of water quality in a highly degraded tropical freshwater ecosystem. *Environmental Management*. **43**:249-63.
- Zarejousheghani, M., Fiedler, P., Möder, M., Borsdorf, H. 2014. Selective mixed-bed solid phase extraction of atrazine herbicide from environmental water samples using molecularly imprinted polymer. *Talanta*. **129**:132-138.
- Zhao, X., Wang, L., Ma, F., Bai, S., Yang, J., Qi, S. 2016. *Pseudomonas* sp. ZXY-1, a newly isolated and highly efficient atrazine-degrading bacterium, and optimization of biodegradation using response surface methodology. *Journal of Environmental Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2016.06.010> (Article in press).