BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Título de Tesis:

TRATAMIENTO FOTOQUÍMICO Y EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE AGUA RESIDUAL DE UN EFLUENTE HOSPITALARIO

Qué para obtener el Título de:

INGENIERÍA AMBIENTAL

Presenta:

ITZEL TORRES MARTÍNEZ

Director de Tesis:

DR. FERNANDO HERNÁNDEZ ALDANA

Puebla. Puebla. 2017

INDICE

INTRODUCCIÓN i
JUSTIFICACION iii
CAPITULO 1 1
1.1 ANTECEDENTES 1
1.1.1 IMPORTANCIA DEL AGUA 1
1.1.2 CONTAMINACIÓN DEL AGUA 3
1.1.3 FUENTES DE CONTAMINACIÓN 5
1.1.4 CONTAMINANTES 6
1.1.5 DETECCIÓN DE FÁRMACOS EN EL AGUA 11
1.2 SISTEMA CONVENCIONAL DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL 12
1.2.1 PRE-TRATAMIENTO 13
1.2.2 TRATAMIENTO PRIMARIO 14
1.2.3 TRATAMIENTO SECUNDARIO 15
1.2.4 TRATAMIENTO TERCIARIO 15
1.3 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA (POA`S) 16
1.4 EVALUACIÓN GENOTÓXICA 18
1.5 CICLO CELULAR 19
1.6 MITOSIS 19
1.6.1 ABERRACIONES MITÓTICAS 20
1.6.2 AGENTES MUTAGENOS 20
OBJETIVOS 22
OBJETIVOS PARTICULARES 22
HIPÓTESIS 22
CAPÌTULO 2 23
2.1 ELECCIÓN DEL AGUA RESIDUAL Y SU RECEPCIÓN 23
2.2 MATERIAL Y REACTIVOS 23
2.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL 25
2.3.1 REACTOR BATCH 25
2.3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA 27
2.3.3 DETERMINACIÓN DE DQO 27

2.3.4 DETERMINACIÓN DE pH 27
2.3.5 DETERMINACIÓN DE COLOR Y TURBIDEZ 27
2.3.6 TRATAMIENTO FOTODEGRADATIVO 28
2.3.7 MEDICIÓN DE PARÁMETROS 28
2.3.8 DETERMINACIÓN DE ESPECTROS 28
2.3.9 DETERMINACIÓN DE TURBIDEZ 29
2.3.10 DETERMINACIÓN DE COLOR 29
2.3.11 DETERMINACIÓN DE pH 29
2.3.12 DETERMINACIÓN DE DQO (DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO) 29
2.3.13 DETERMINACIÓN DE H_2O_2 RESIDUAL 29
2.3.14 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE LA NOM-CCA/032-ECOL/1993 30
2.4 DIAGRAMA DE FLUJO DEL TRATAMIENTO 31
2.5 ENSAYO GENOTÓICO 32
2.5.1 PREPARACIÓN DE REACTIVO**S** 33
2.5.2 ADQUISICIÓN DE LA MUESTRA BIOINDICADORA**.** 33
2.5.3 INDUCCIÓN A ENRAIZAMIENTO "DÍA 0" 34
2.5.4 MONTAJE DEL EXPERIMENTO "DÍA 1" 35
2.5.5 LECTURA DE RAÍCES**.** 38
CAPÍTULO 3 40
3.1 RESULTADOS 40
3.1.1 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS INICIALES Y FINALES 41
3.1.2 RESULTADOS DE LA ESPECTROSCOPIA UV-VIS 41
3.1.3 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS QUE MARCA LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-CCA/032-ECOL/1993 PARA CONOCER LA CALIDAD DE MUESTRA DE AGUA RESIDUAL**.** 44
3.1.4 CARACTERISTICAS PERCEPTIBLES DE LOS BIOENSAYOS 45
3.1.5 DETERMINACION DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS 47
5. CONCLUSIONES 56
**5.1 SISTEMA PERÓXIDO/OZONO/ULTRAVIOLETA ($UV/H_2O_2/O_3$): ** 56
5.2 SISTEMA ULTRAVIOLETA/PERÓXIDO (UV/H_2O_2): 56
5.3 SISTEMA ULTRAVIOLETA/PERÓXIDO (UV/O_3): 56
5.4 EVALUACIÓN GENOTÓXICA 57

5.4.1 AGUA RESIDUAL 57
5.4.2 AGUA CON TRATAMIENTO FOTOQUÍMICO 58
5.4.3 AGUA POTABLE 58
5.4.4 AGUA CON $CUSO_4$ Y NÍQUEL 58
ANEXO 59
DIAGRAMA DE MONTAJE DE LOS EQUIPOS 59
6. BIBLIOGRAFÍA 60

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución del agua en el mundo

Figura 2. Ciclo hidrológico del agua

Figura 3. Usos de agua

Figura 4 Diagrama de flujo de planta de tratamiento de agua residual

Figura 5. Ciclo celular

Figura 6. *Reactor Batch* funcionamiento fotoquímico con agua residual de hospital

Figura 7. Espectro de emisión en la región UV-visible de la lámpara de vapor de Hg de presión media

Figura 8 Espectrofotómetro UV-vis

Figura 9. Adquisición de la muestra

Figura 10. Peso de ajos

Figura 11. Soporte y tubos para montaje

Figura 12. Montaje experimental

Figura 13. Lavado de raíces

Figura 14. Comparación del crecimiento de raíces de *Allium sativum* en los tratamientos con Cu, Ni y Tratamiento Fotoquímico

Figura 15. Comparación del crecimiento de raíces de *Allium sativum* en los tratamientos con Control Negativo y Agua Residual

Figura 16. Microfotografía de células con presencia de profase anormal, metafase anormal y Anafase anormal, bajo tratamiento en Niquel, objetivo de 40X, tinción azul de metileno, a partir de este ejemplo de microfotografía se estableció el conteo de las células anormales por área

Figura 17 Microfotografía de células anómalas en raíces de *Allium Sativum* expuestas en Agua Residual

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Consumos de agua en L/cama/día en diferentes hospitales del mundo

Cuadro 2. Resultados de contaminantes presentes en las aguas residuales de cada uno de los hospitales anteriores

Cuadro 3. Alteraciones físicas del agua

Cuadro 4. Alteraciones químicas del agua

Cuadro 5. Alteraciones biológicas del agua

Cuadro 6. Capacidad de Oxidación

Cuadro 7. Ventajas de los procesos avanzados

Cuadro 8. Tiempo de muestro de alícuotas

Cuadro 9. Tratamiento radiación UV/ Vis

Cuadro 10. Tabla de control de agua residual, control positivo y negativo

Cuadro 11. Tabla de control de raíces de agua tratada

Cuadro 12. Parámetros determinados

Cuadro 13. Resultados de parámetros NOM-CCA/032-ECOL/1993

INDICE DE GRAFICAS

Grafica 1. Espectros obtenidos del tratamiento con un sistema ($UV/H_2O_2/O_3$) en el *fotorreactor batch*

Grafica 2. Espectros con un sistema (UV/H_2O_2)

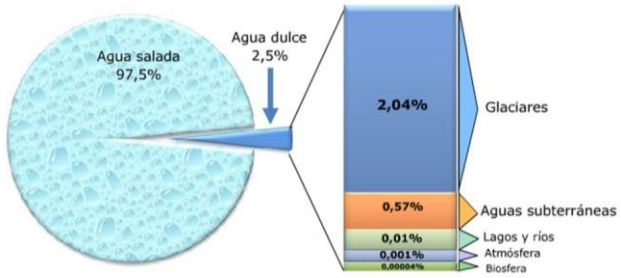
Grafica 3. Espectros obtenidos del tratamiento con un sistema (UV/O_3)

Grafica 4. Comparación de los espectros en los diferentes sistemas fotoquímicos

INTRODUCCIÓN

La superficie de la Tierra es principalmente acuosa, el 70 % del área terrestre es agua y es necesaria para los procesos tanto ambientales, industriales y sociales, además de que es indispensable para el surgimiento y desarrollo de la vida (CNA, 2005). Tomando en cuenta que un 97.5% de esa agua es salina y está ubicada principalmente en los océanos, y sólo un 2.5% es agua dulce. De esta agua dulce el 68.9% se encuentra congelada en algunos bancos de hielo, glaciares, y otra en la humedad del suelo. El otro 30.8 % almacenada en aguas subterráneas. Mientras que apenas un 0.3 % son agua superficial localizadas en los diferentes lagos, lagunas, rio y humedales. En la Figura 1 Se observa un esquema de las proporciones de agua distribuidas en el mundo (Bates et al, 2005).

Figura 1 Distribución del agua en el mundo



La cantidad de agua que actualmente hay en el planeta no varía, sin embargo, el lugar, la calidad y la forma si sufren variaciones. Cada vez es menos el agua disponible, a causa de una sobreexplotación, contaminación, cambio climático y deforestación que se ha provocado (D.B. Grupta, 1993)

Una de las principales fuentes de abastecimiento en México es la lluvia, debido a que la precipitación anual promedio es de 777 mm, esto equivale a una precipitación total de 1570 km^3. La diversidad fisiográfica y climática lleva una distribución heterogénea de los recursos hídricos. Datos de la CNA (Comisión Nacional del Agua), una gran parte del territorio mexicano es árida (31%) y semiárida (36%) y solo una tercera parte del territorio es húmedo y subhúmedo (33%) (Arriaga et al., 2000)

En el 2015 la Organización Mundial de la Salud estimó que 6600 millones de personas de un total de 7400 millones en todo el mundo tienen acceso a fuentes de agua potable mejoradas. (OMS, 2015)

La demanda por el líquido ha crecido significativamente en las últimas décadas debido a la generación de alimentos, energía y proporción de servicios a una población cada vez más numerosa. Esta situación podría agravarse ya que pronósticos dictan que alrededor del año

2025 cerca de mil 800 millones de personas en países o ciertas regiones sufrirán de completa escasez de agua, y dos terceras partes de la población del mundo serán sujetas a condiciones de estrés hídrico (UNEP, 2007).

En México el uso del agua se emplea de diferentes formas, de las cuales cabe destacar, el uso agrícola con un 76.6%, el abastecimiento público con 14.1%, Energía eléctrica con 5.1% y la industria con 4.1%. El 63% del agua utilizada para uso consuntivo son provenientes de agua superficiales, en cuanto al 37% son de fuentes subterráneas (CONAGUA, 1992).

Ante este consumo considerable de agua en México existen dos grandes problemáticas, la contaminación y descarga de aguas residuales. Lograr que los cuerpos de agua superficiales y subterráneas del país recuperen su salud requiere mantenerlos limpios y sin descargas de aguas residuales sin tratamiento adecuado tanto urbanas, industriales y agrícolas. El saneamiento de las aguas residuales adquiere más importancia para asegurar su recolección, tratamiento y adecuada disposición de los cuerpos receptores, en condiciones que no perjudiquen al medio ambiente y la salud de la población. (FAO, 2002)

El tratamiento de aguas residuales, es un proceso que incorpora diversas transformaciones físicas, químicas y biológicas, esto con el objetivo de remover y tratar los contaminantes persistentes en el agua. Estas aguas residuales se constituyen por agua de abastecimiento después de pasar por diferentes actividades de una población. Los obligados a colectar estas aguas residuales están sujetos a regulaciones locales, estatales y federales.

Hablar de recursos industriales de agua residuales o de procesos que exigen una mayor remoción de contaminantes al momento de descargar, se dice que requieren de tratamientos más minuciosos con una mejor tecnología. Si estas aguas no son manejadas adecuadamente pueden generar impactos ambientales y hacia la salud del hombre. Es por ello que son necesarias las plantas de tratamientos para dar una mejor calidad y a la vez dar una reutilización al agua para actividades del ser humano.

Se estima que en países en vías de desarrollo se vierten a los ríos y a otras cuencas hidráulicas cerca de 90% de las aguas residuales sin un tratamiento previo, acarreando problema de salud y al medioambiente (Carabias, 2005).

Debido al alto crecimiento demográfico en el país los recursos hídricos son sometidos a una sobre explotación, todo por la necesidad de producir alimentos. Como consecuencia se ha provocado la destrucción del ambiente en muchas regiones y establece la necesidad de utilizar aguas residuales en los sistemas de irrigación. Si estas aguas residuales no tienen la calidad adecuada pueden ocasionar numerosas enfermedades que han sido asociadas con el consumo de agua insalubre y alimentos contaminados.

Se estima que alrededor de 20 000 000 de hectáreas de suelo en el mundo son regadas con agua residual, se habla que aproximadamente equivale a un 7-10 % del total de la superficie del mundo es regada con agua residual. Esto quiere decir que un 10% de la población en el mundo consume alimentos producidos bajo el riego de agua residual. (Jiménez, 2008)

Otra de las problemáticas es la escases extrema, las autoridades nacionales suelen optar por derivar el agua de los agricultores hacia las ciudades, esto con el fin de que el uso industrial y urbano generen un mayor valor económico que los fines agrícolas.

México es una república federal compuesta por 32 estados. El país tiene una superficie cercana a 2 x 10^6 km^2 y una precipitación pluvial promedio anual de 777 mm, lo cual es equivalente a 1.522 x 10 m^9 m^3/año de agua. Este volumen de agua debería ser suficiente para todas las necesidades de la población, pero la mala distribución geográfica y temporal del recurso agua hace que resulte escaso para el 75% del país. Estas áreas están clasificadas como áridas y semiáridas.

JUSTIFICACION

Uno de los mayores retos a los que se enfrenta los seres humanos en este siglo es el de tener acceso a las fuentes de agua limpia en el mundo. Actualmente el agua se está convirtiendo en un factor limitante para la salud, producción de alimentos, el desarrollo industrial, el mantenimiento de los ecosistemas y su biodiversidad, hasta incluso para la estabilidad social y política.

Los problemas que actualmente son relacionados con el agua son muy severos en el mundo, a causa de que en muchas regiones la disponibilidad natural de agua es crítica, la calidad es inapropiada, los servicios son insuficiente, no alcanza la inversión económica para cubrir los rezagos y menos aún para la demanda creciente; las actividades productivas compiten por el agua, y el cambio climático incrementa la vulnerabilidad de los ecosistemas y de las personas en un gran número de países.

A pesar de que se están llevando a cabo importantes esfuerzos por resolver los problemas y rezagos vinculados con el agua, estos han sido insuficientes.

Estudios realizados por la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) prevé que la población mundial aumente en más de un tercio entre 2009 y 2050. Esto significa que la demanda comercial de alimentos seguirá creciendo, causando un mayor consumo de agua. (FAO, 2009)

El uso en la agricultura de aguas residuales tratadas adecuadamente está siendo una opción estudiada y adoptada en algunas regiones con escasez de agua, en algunas de ellas son poblaciones urbanas crecientes y con mayor demanda de agua de riego (Winpenny. 2003).

Los hospitales tienen un consumo considerable de agua potable por día, generando de la misma manera agua residual con compuestos tóxicos. Estas aguas son dispuestas a cuerpos receptores siendo tratadas o no, afectando la calidad y poniendo en riesgo la salud de las personas, el tratamiento ineficiente puede producir brotes de enfermedades.

Las plantas de tratamiento empleadas convencionalmente solo utilizan procesos primarios y secundarios sin mostrar mayor resultado en aguas residual hospitalaria, debido a la capacidad de remoción en estos tipos de compuestos recalcitrantes es baja. Por lo general la presencia de residuos farmacéuticos en el ambiente y en los sistemas hídricos generan un serio problema ya que son extremadamente resistentes a la degradación biológica y usualmente escapan intactos de los tratamientos de plantas convencionales además de que presentan gran cantidad de microorganismos patógenos. (Eugenia, 2013)

En el presente trabajo se considera el tratamiento de desinfección y descontaminación del agua residual de origen hospitalario debido a la gran toxicidad existente. La toxicidad establecida en está agua se relaciona con la presencia de diversas acciones, cada una de ellas es una fuente de contaminación, en las que se encuentran los quirófanos, salas de parto, sección de desinfección baños, laboratorios, cocina, lavandería etc. Cada una de ellas son generadoras de residuos tanto solidos como líquidos de alta toxicidad (Gil Miriam Janet, 2012). En el cuadro 1 se muestra el consumo de L/cama/día de diferentes hospitales del mundo y el cuadro 2 se muestra los resultados de contaminantes presentes en las aguas residuales de cada uno de ellos.

Cuadro 1. Consumos de agua en L/cama/día en diferentes hospitales del mundo

Hospital	**Característica**	**Nº camas**	**Volumen generado** ($L\ cama^{-1}\ d^{-1}$)	**Ciudad, País**
Clínica José de San Martín [3]	Escuela de la Universidad de Buenos Aires. Alta complejidad	400	1 400	Buenos Aires, Argentina
San Luis Potosí [9]	Militar	---	(26- 32 L d^{-1})	México
Al oeste de Ciudad de La Habana [10]	**General docente. Alta complejidad**		**1 850**	**Cuba**
Pinar del Río "Abel Santamaría" [11]	Clínico- quirúrgico	---	800	Pinar del Río, Cuba
Clínicas de Porto Alegre [4]	General y universitario	725	100	Brasil
Surdeste de Francia [1]	Enfermedades infecciosas y tropicales		750	Francia
Universidad Viena [12]	Clínico. Sección tratamientos oncológicos		50	Viena, Austria
Colegio Médico Christian [13]	Multi especializado	2 000	1 200	Tamil Nadu, India
Hanoi [14]	Gineco-obstétricos 2, Oncológico1, general 1	400- 1500	250- 750	Norte de Vietnam
Diferentes provincias [15]	Setenta de diversas complejidades	---	473-1 017 (745)	Irán
Hospital [16]	---	750	488- 656	España

Cuadro 2. Resultados de contaminantes presentes en las aguas residuales de cada uno de los hospitales anteriores

Indicador / Hospital	DQO mg L^{-1}	DBO mg L^{-1}	Nt mg L^{-1}	P mg L^{-1}	pH U	CE µS cm^{-1}	SS mg L^{-1}	DBO/DQO
Clínica José de San Martín [3]	240 - 257	38 - 77	---	1,5- 2,1	---	---	---	0,299
San Luis Potosí [9]	76 - 431	66 - 200	---	5,99	7,89 - 6,97	7,06 - 911,3	---	0,46
C Habana [10]	**64 - 612**	**21- 295**	**11 - 94**	**1.0 - 17**	**5,8 - 8,6**	**670 – 1 900**	**---**	**0,48**
Sudeste de Francia [1]	1223 (604 - 2590)	603 (251- 1559)	---	---	7,85 (6,26 - 8,52)	1 (0,524 - 1,669)	225 (155 - 297)	0,49 (0,41- 0,60)
Universidad Viena [12]	428 – 271 (como COT)	---	31- 57(como Nam)	5,4- 9,3	---	---	101- 184	---
Comunidad Haidian [17]	48- 277	20- 55	10- 24	---	6,2- 7,1	---	---	0,198
Seterta en Irán [15]	527 (161 –	348 (170		---			291 (153 -	0,66
Shevom Shaban [18]	806) 450	565) 270	18		6 - 8	---	550) ---	0,60
Colegio Médico Christian [13]	1 067	---	---	---	7,36	---	531	---
NC vertimiento*	**70-120**	**30-60**	**5-20**	**2-10**	**6,5-9**	**1400-3500**	**---**	**0,42-0,5**

Nota:

Entre paréntesis valores mínimos y máximos. Indicadores: Demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO), nitrógeno amoniacal (Nam), fósforo (P), conductividad eléctrica (CE), carbono orgánico total (COT), sólidos suspendidos (SS), nitrógeno total (Nt).

**** Límites máximos permisibles promedio para ríos y embalses***

El comportamiento de la calidad de las aguas residuales hospitalarias está en función con la regulación de la ley, tomando en cuenta la ineficiente normatividad en tarea del agua. (Bassols, 1997)

La importancia de la investigación es evaluar el tratamiento fotoquímico como alternativa limpia para acondicionar la calidad del agua residual de un hospital.

Los POAs (Procesos de Oxidación Avanzada) se consideran una alternativa viable para la oxidación, la remoción de toxicidad, remoción total de la carga microbiana y la reducción de la concentración en compuestos no biodegradables, debido a que se basan en procesos fotoquímicos capaces de producir cambios en la estructura química de los contaminantes por medio de la generación y el uso de especies transitorias poderosas principalmente el radical •OH que es un agente con alto poder de oxidación, tiempo de vida corto y oxida las moléculas orgánicas no selectivamente con velocidades constantes en el orden de 10^6 - 10^9 $M^{-1}.s^{-1}$. (Comninellis et al, 2008)

Los POAs (Procesos de Oxidación Avanzada) se clasifican en dos ramas principales los sistemas homogéneos donde no existe la presencia de catalizadores en forma sólida y los sistemas heterogéneos en los cuales se implementan catalizadores semiconductores, sustancias que aumentan la velocidad de reacción para lograr un equilibrio químico sin sufrir alteraciones químicas.

CAPITULO 1

1.1 ANTECEDENTES

Desde los inicios de las civilizaciones, los seres humanos han buscado asentarse en las proximidades de las corrientes fluviales, eso les garantizaba el rápido abastecimiento del agua potable necesaria para satisfacer sus requerimientos básicos y también el lugar en donde desechar sus residuos generados.

1.1.1 IMPORTANCIA DEL AGUA

El agua, al mismo tiempo que constituye el líquido con mayor abundancia en la Tierra, representa el recurso natural más importante y la base de toda forma de vida.

No es usual encontrar el agua en su forma pura. Cada molécula de agua está formada por un átomo de oxígeno y dos de hidrogeno.

En el planeta el agua ocupa una alta proporción en relación con las tierras emergentes, y esta presentada en diferentes formas, desde los mares, los ríos, lagos, e incluso desde los seres vivos.

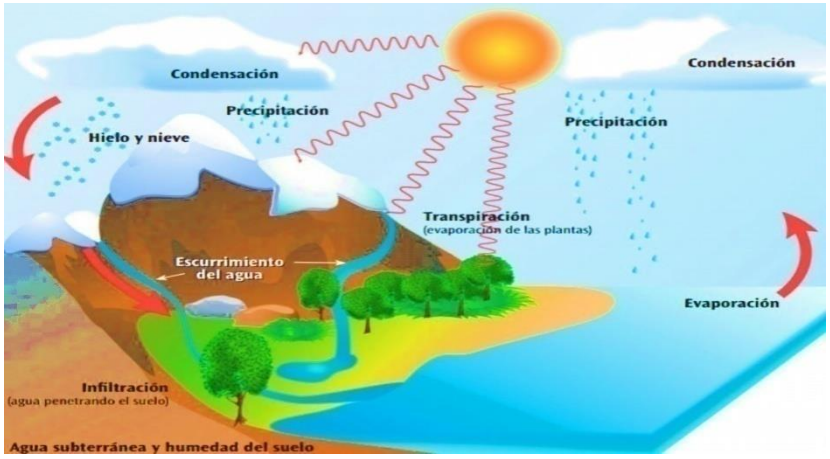
También se puede representar en diferentes fases o denominados ciclos, iniciando con:

a) **Evaporación:** Es un fenómeno natural que ocurre cuando la radicación solar hace subir el agua en forma de vapor desde el mar o suelo hasta la atmósfera.
b) **Evapotranspiración:** Es un fenómeno que explica la evaporación del agua en las plantas de la tierra. Inicia cuando las raíces de la planta absorben el agua del suelo, luego la trasportan por el tronco hasta llegar por las ramas a las hojas, donde se evaporan hacia la atmósfera.
c) **Precipitación:** Es la caída del agua desde la atmósfera hacia la superficie de la tierra. Este fenómeno da inicio cuando se dan ciertas condiciones de temperatura en la atmósfera, entonces, la humedad contenida en las nubes se condensa, se forman las gotas y por gravedad se precipitan hacia la tierra en forma de lluvia o granizo.
d) **Retención:** Se da cuando el agua precipitada no llega a la superficie de la tierra y es interceptada por la vegetación, edificios, u otros objetos, y vuelven a evaporarse.
e) **Infiltración:** Es toda el agua precipitada que cae y penetra entre la superficie y las capas del suelo. El agua que se infiltra en los suelos se le denominan aguas subterráneas. El agua que se infiltra en los suelos puede seguir tres caminos: Ser devuelta a la superficie y evaporada hacia la atmosfera, ser absorbida por las raíces de las plantas y regresada por la evapotranspiración y por último puede infiltrarse profundamente en el suelo, formando corrientes subterráneas.
f) **Las corrientes subterráneas:** Son aguas que se han infiltrado en el suelo que en algunos casos fluyen subterráneamente y se unen a ríos o lagos en otros casos pueden

contribuir a mantener los mantos de aguas subterráneas llamadas “mantos acuíferos”. (Custodio et al,1983)

A todo este ciclo se le denomina ciclo hidrológico del agua, como se muestra en la figura 2.

Figura 2. Ciclo hidrológico del agua



Dada la importancia del agua para la vida de los seres vivos, el aumento de las necesidades hidrológicas y el continuo desarrollo de la humanidad, el hombre está con la obligación de proteger estos recursos y evitar toda influencia nociva sobre las fuentes. (CEMDA, 2006)

Es una práctica acostumbrada el ubicar industrias y asentamientos humanos a la orilla de las corrientes de agua, para utilizar dicho líquido y al mismo tiempo verter los residuos del proceso industriales y de la actividad humana. Esto trae como consecuencia la contaminación de las fuentes y, por consiguiente, la perdida de la calidad de grandes volúmenes de agua.

Actualmente, muchos países se preocupan por la conservación del agua y han prohibido esta práctica, exigiendo el tratamiento de los residuos hasta llevarlos a medidas admisibles para la salud humana.

Es una obligación de todos cuidar los recursos hidrológicos, así como crear conciencia de que el agua es uno de los recursos más preciados de la naturaleza, por el papel que desempeña en la vida de los seres vivos.

Cabe destacar que el cuerpo humano está compuesto por un 80% de agua y es vital para la mayor parte de los procesos metabólicos de los seres vivos, además de que desempeña un papel importante en la fotosíntesis de las plantas, y como generador de oxigeno que es otro elemento vital.

Sin duda alguna el agua es un elemento fundamental en la naturaleza, pero puede convertirse en una amenaza debido a condiciones naturales o fuerzas desequilibradas (climas marcos, inclinadas, pendientes y suelos frágiles), que cuando actúan de manera conjunta son capaces de provocar desastres, los cuales se han ido incrementando con el tiempo por el manejo inadecuado de los recursos naturales. (Durand et al, 2012)

Debido al aumento de la necesidad del agua, año con año este preciado líquido se vuelve más escaso, por el continuo desarrollo de las actividades humanas poco sustentables que contienen las fuentes de agua, destinando cantidades de este recurso a sistemas industriales que no devuelven el agua al ecosistemas con las misma calidad, es por eso que es importante que toda la humanidad tenga la obligación de proteger este recurso y evitar toda influencia nociva sobre las fuentes de este líquido inestimable.

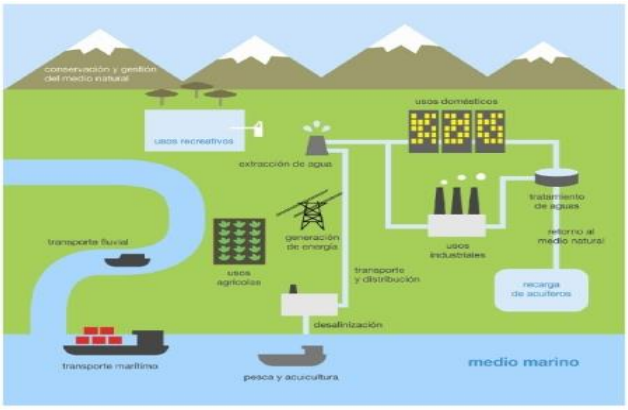
1.1.2 CONTAMINACIÓN DEL AGUA

Las actividades del hombre han generado una gran cantidad de contaminantes al medio ambiente, en donde el medio más afectado y donde es característico observar los daños es en el agua, *"La contaminación consiste en una modificación, generalmente provocada por el hombre, de la calidad del agua, haciéndola impropia o peligrosa para el consumo humano, la industria, la agricultura, la pesca y las actividades recreativas, así como para los animales domésticos y la vida natural",* esta es una definición de la contaminación de agua dada por organismos internacionales como el Consejo de Europa en la Carta Europea del Agua en 1968.

La contaminación del agua se produce a partir de la introducción directa o indirecta en los acuíferos o causes del agua (ríos, mares, lagos etc.) de diversas sustancias que pueden ser consideradas como contaminantes. Una de las clasificaciones es la contaminación natural, la cual corresponde con el ciclo natural de ésta, donde puede entrar en contacto con ciertos contribuyentes como son las sustancias orgánicas que se encuentra disueltas o en suspensión.

La contaminación del agua dependerá del lugar donde sea descargada, el uso consuntivo que es donde se da una modificación en la calidad del agua se considera dependiendo de donde sea utilizada ya sea en el sector industrial, el sector agrícola y el urbano. Así como se muestra en la figura 3.

Figura 3. Usos de agua



En el caso del agua residual agrícola se encuentran contaminantes como sales disueltas por fertilizantes empleados en los cultivos, materia en suspensión de origen ganadero, materia orgánica, nutrientes, desinfectantes, detergentes y trazas de pesticidas. En el caso del agua residual generalmente se encuentran sustancias orgánicas sintéticas de carácter no biodegradable, persistente, recalcitrante y una diversidad de compuestos químicos orgánicos e inorgánicos con elevada toxicidad, valores de pH variables y temperaturas altas, por último existen las aguas residuales del sector público donde se presentan contaminantes orgánicos naturales, sales, bio-nutrientes, microorganismos, predominando residuos fecales y junto con ellos se encuentran concentraciones pequeñas de fármacos junto con el agua proveniente de la industria ganadera.

El ciclo natural del agua tiene gran capacidad de purificación y aparentemente abundante, pero al parecer por estos aspectos hace que sea el principal vertedero de residuos de las actividades del humano, actualmente estos residuos se encuentran en mayores cantidades evitando que el agua no se regenere naturalmente, estando contaminados al punto de ser peligrosas para la salud humana. Esto no es un problema de escases físico si no de una deficiencia de gestión provocada por el crecimiento poblacional, mala distribución y contaminación del agua.

La calidad del agua es un factor determinante de la salud pública y de los ecosistemas, que registran la oferta del agua y su distribución potencial los diferentes usos. Es importante saber que el agua se encuentra asociada a la transmisión de enfermedades que afectan a la salud humana, ya sea por ingestión directa o mediante contaminación de los alimentos, por lo que su calidad está absolutamente relacionada con la calidad de vida de la población. (Cifuentes, 1993)

1.1.3 FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Las fuentes puntuales de descargas de aguas residuales están localizadas en puntos específicos a través de tuberías y alcantarillas, ejemplos de ellos son las plantas de tratamiento de agua negras, descargas de industrias, pozos petroleros, etc.

Las fuentes no puntuales son áreas grandes de terreno en donde descargan contaminantes al agua sobre una región extensa, la principal fuente no puntual es la agricultura.

Las clasificaciones de las aguas residuales se hacen con respecto a su origen, ya que este es el que va a determinar su composición. Siendo los residuos urbanos e industriales los que abarcarían gran parte de los contaminantes.

Aguas Residuales

Las aguas residuales urbanas son vertidos generados por poblaciones urbanas como consecuencia de las actividades propias de éstos. Los aportes que generan estas aguas son: aguas negras o fecales, aguas de lavado doméstico, aguas de limpieza de las calles y lixiviados, etc.

Estas presentan cierta homogeneidad en cuanto a su composición y carga de contaminantes, ya que sus aportes van a ser siempre los mismos. La homogeneidad tiene márgenes muy amplios, ya que las características de cada vertido urbano dependerán del núcleo de la población en el que se genere.

Aguas Residuales Industriales

Las aguas residuales industriales son todas aquellas que proceden de alguna actividad o negocio cuyo proceso de producción, transformación o manipulación se utilice agua. Estas aguas varían mucho en cuanto a su caudal y composición, dentro de un mismo tipo de industria.

Algunas industrias no tienen descargas continuas, si no únicamente en determinado horario del día o incluso en épocas del año, dependerá del tipo de producción y del proceso de la industria. También son habituales las variaciones de caudal y carga a lo largo del día.

En comparación con las aguas residuales urbanas estas aguas contienen contaminantes orgánicos muchos más difíciles de remover.

Su alta carga unida a la enorme variabilidad que presenta, hace que su tratamiento sea más complicado, siendo preciso un estudio específico para cada caso.

Agua residual hospitalaria

Estas aguas constituyen puntos de orígenes de descarga de fármacos, microrganismos, así como otros tipos de residuos líquidos y sólidos. Este tipo de compuestos son en su mayoría sustancias recalcitrantes que son vertidos al medio ambiente, produciendo un impacto en la composición física, química y biológica de los cuerpos receptores.

Los residuos hospitalarios vertidos en los emisarios finales se encuentran la materia orgánica, algunos ejemplos de ellos son la sangre y los fluidos, así como residuos de medicamentos químicos y desinfectantes.

Los problemas que se asocian con los líquidos residuales generados en los centros de salud han sido motivo de preocupación internacional debido al peligro de una potencial propagación de enfermedades y a los riesgos ambientales derivados de la ausencia de tratamientos adecuados. Es por ello que estos problemas trascienden el campo técnico-sanitario e involucren aspectos sociales, económicos, políticos y ambientales entre otros.

Tanto los residuos sólidos como los efluentes líquidos provenientes de centros hospitalarios representan un gran impacto sobre los ecosistemas y la salud pública, cuya magnitud ha comenzado a evaluarse en los últimos años en ámbitos científicos.

Las características que caben destacar de estas aguas son cargas de microorganismos patógenos, residuos farmacéuticos, radiactivos y otras sustancias toxicas y químicas. La dosis de contaminación de origen hospitalario muestra que ciertas sustancias, tales como antitumorales, antibióticos y compuestos organohalogenados al dejar las plantas de tratamiento de aguas residuales, estos compuestos pueden provocar la contaminación del hábitat. Un desequilibrio biológico además de causar efectos tóxicos y mutagénicos en organismos vivos.

1.1.4 CONTAMINANTES

Los contaminantes más persistentes en las aguas residuales son: materia orgánica, microorganismos, bacterias, hidrocarburos, desperdicios industriales, productos químicos, desechos radiactivos. Lo más grave de estas condiciones es que la mayoría de los contaminantes son arrojados al agua siendo estas absorbidas por la fauna y flora acuática, como una forma de auto-purificación de la naturaleza.

Contaminantes físicos: Estos contaminantes afectan el aspecto del agua y cuando flota o sedimentan interfieren con el medio ambiente. Son líquidos insolubles o sólidos de origen natural y diversos productos sintéticos que son arrojados al agua como resultado de las actividades del hombre. En el cuadro 3 se muestran alteraciones físicas del agua.

Cuadro 3. Alteraciones físicas del agua

Alteraciones físicas	**Características y contaminación que indica**
Color	El agua no contaminada suele tener ligeros colores rojizos, pardos, amarillentos o verdosos debido, principalmente, a los compuestos húmicos, férricos o los pigmentos verdes de las algas que contienen. Las aguas contaminadas pueden tener muy diversos colores, pero, en general, no se pueden establecer relaciones claras entre el color y el tipo de contaminación
Olor y sabor	Compuestos químicos presentes en el agua como los fenoles, diversos hidrocarburos, cloro, materia orgánica en descomposición o esencias liberadas por diferentes algas u hongos pueden dar olores y sabores muy fuertes al agua, aunque estén en muy pequeñas concentraciones. Las sales o los minerales dan sabores salados o metálicos, en ocasiones sin ningún olor.
Temperatura	El aumento de temperatura disminuye la solubilidad de gases (oxígeno) y aumenta, en general, la de las sales. Aumenta la velocidad de las reacciones del metabolismo, acelerando la putrefacción. La temperatura óptima del agua para beber está entre 10 y 14ºC. Las centrales nucleares, térmicas y otras industrias contribuyen a la contaminación térmica de las aguas, a veces de forma importante.
Materiales en suspensión	Partículas como arcillas, limo y otras, aunque no lleguen a estar disueltas, son arrastradas por el agua de dos maneras: en suspensión estable (disoluciones coloidales); o en suspensión que sólo dura mientras el movimiento del agua las arrastra. Las suspendidas coloidalmente sólo precipitarán después de haber sufrido coagulación o floculación (reunión de varias partículas).
Radiactividad	Las aguas naturales tienen unos valores de radiactividad, debidos sobre todo a isotopos del K. Algunas actividades humanas pueden contaminar el agua con isótopos radiactivos.

Espumas	Los detergentes producen espumas y añaden fosfato al agua (eutrofización). Disminuyen mucho el poder auto-depurador de los ríos al dificultar la actividad bacteriana. También interfieren en los procesos de floculación y sedimentación en las estaciones depuradoras.
Conductividad	El agua pura tiene una conductividad eléctrica muy baja. El agua natural tiene iones en disolución y su conductividad es mayor y proporcional a la cantidad y características de esos electrolitos. Por esto se usan los valores de conductividad como índice aproximado de concentración de solutos. Como la temperatura modifica la conductividad las medidas se deben hacer a 20ºC

Contaminantes químicos: Estos contaminantes son compuestos orgánicos e inorgánicos disueltos o dispersos en el agua. Los contaminantes inorgánicos provienen de descargas domésticas, agrícolas e industriales o de erosiones en el suelo. Los principales contaminantes son cloruros, óxidos de azufre, ácido sulfúrico, etc. Una gran parte de los contaminantes son liberados directamente a la atmosfera y bajan arrastrados por lluvia. Esta lluvia ácida, tiene efectos nocivos que pueden ser observables en la vegetación como en edificios y monumentos de las ciudades industrializadas. En el cuadro 4 se muestras alteraciones químicas del agua.

Cuadro 4. Alteraciones químicas del agua

Alteraciones químicas	Contaminación que indica
pH	Las aguas naturales pueden tener pH ácidos por el CO_2 disuelto desde la atmósfera o proveniente de los seres vivos; por ácido sulfúrico procedente de algunos minerales, por ácidos húmicos disueltos del mantillo del suelo. La principal substancia básica en el agua natural es el carbonato cálcico que puede reaccionar con el CO_2 formando un sistema tampón carbonato/bicarbonato. Las aguas contaminadas con vertidos mineros o industriales pueden tener pH muy ácido. El pH tiene una gran influencia en los procesos químicos que tienen lugar en el agua, actuación de los floculantes, tratamientos de depuración, etc.

Oxígeno disuelto OD	Las aguas superficiales limpias suelen estar saturadas de oxígeno, lo que es fundamental para la vida. Si el nivel de oxígeno disuelto es bajo indica contaminación con materia orgánica, septicización, mala calidad del agua e incapacidad para mantener determinadas formas de vida.
Materia orgánica biodegradable: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5)	DBO_5 es la cantidad de oxígeno disuelto requerido por los microorganismos para la oxidación aerobia de la materia orgánica biodegradable presente en el agua. Se mide a los cinco días. Su valor da idea de la calidad del agua desde el punto de vista de la materia orgánica presente y permite prever cuanto oxígeno será necesario para la depuración de esas aguas e ir comprobando cual está siendo la eficacia del tratamiento depurador en una planta.
Materiales oxidables: Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Es la cantidad de oxígeno que se necesita para oxidar los materiales contenidos en el agua con un oxidante químico (normalmente dicromato potásico en medio ácido). Se determina en tres horas y, en la mayoría de los casos, guarda una buena relación con la DBO por lo que es de gran utilidad al no necesitar los cinco días de la DBO. Sin embargo, la DQO no diferencia entre materia biodegradable y el resto y no suministra información sobre la velocidad de degradación en condiciones naturales.
Nitrógeno total	Varios compuestos de nitrógeno son nutrientes esenciales. Su presencia en las aguas en exceso es causa de eutrofización. El nitrógeno se presenta en muy diferentes formas químicas en las aguas naturales y contaminadas. En los análisis habituales se suele determinar el NTK (nitrógeno total Kendahl) que incluye el nitrógeno orgánico y el amoniacal. El contenido en nitratos y nitritos se da por separado.
Aniones: cloruros nitratos nitritos fosfatos sulfuros cianuros fluoruros	Indican salinidad Indican contaminación agrícola Indican actividad bacteriológica Indican detergentes y fertilizantes Indican acción bacteriológica anaerobia (aguas negras, etc.)

	Indican contaminación de origen industrial en algunos casos se añaden al agua para la prevención de las caries, aunque es una práctica muy discutida.
Cationes: sodio calcio y magnesio amonio metales pesados	indica salinidad están relacionados con la dureza del agua contaminación con fertilizantes y heces de efectos muy nocivos; se bioacumulan en la cadena trófica;
Compuestos orgánicos	Los aceites y grasas procedentes de restos de alimentos o de procesos industriales (automóviles, lubricantes, etc.) son difíciles de metabolizar por las bacterias y flotan formando películas en el agua que dañan a los seres vivos. Los fenoles pueden estar en el agua como resultado de contaminación industrial y cuando reaccionan con el cloro que se añade como desinfectante forman clorofenoles que son un serio problema porque dan al agua muy mal olor y sabor.

Contaminantes biológicos: Incluyen hongos, bacterias y virus que provocan enfermedades. Algunas bacterias son inofensivas y otras participan en la degradación de la materia orgánica contenida en el agua. En el cuadro 5 se muestran alteraciones biológicas del agua.

Cuadro 5. Alteraciones biológicas del agua

Alteraciones biológicas del agua	**Contaminación que indican**
Bacterias coliformes	Desechos fecales
Virus	Desechos fecales y restos orgánicos
Animales, plantas, microorganismos diversos	Eutrofización

Contaminantes emergentes: Fármacos

La generación de residuos es una de las características de los países en desarrollo económico, por lo tanto, el volumen de éstos crece de manera exponencial con respecto al grado de industrialización. Se tiene registros de unos cinco millones de sustancias químicas y se estima que cada año unas 100 sustancias nuevas se integran al registro. (GEO-3, 2002)

Las nuevas sustancias químicas han conducido a tener contaminantes emergentes denominados con ese término a contaminantes que vienen siendo detectadas en el agua desde hace poco tiempo (principalmente porque no existen técnicas ni manuales analíticos que las detecten) y no cuentan con una regulación legislativa especifica.

Estos contaminantes emergentes provienen de una diversidad de productos que se emplean en su gran mayoría en para el cuidado personal conocidos actualmente como "Pharmaceuticals And Personal Care Products" (PPCPs), estos compuestos se encuentran en perfumes, productos como detergentes, productos de higiene personal, aditivos de gasolina y productos farmacéuticos. (Pérez, 2008)

En el año de 1999 fueron detectados estos contaminantes en aguas superficiales y subterráneas, así como en aguas residuales donde varía sus concentraciones en ppt hasta ppb. El problema con este tipo de contaminación es que la mayoría de ellos no son eliminados en las plantas de tratamiento convencionales de aguas residuales, éstos son persistentes y algunos son bioacumulables. Este tipo de contaminación al ser muy variado y no tener concentraciones muy grandes en el medio ambiente se dificulta su estudio por lo que no se reconoce sus daños a los ecosistemas y la salud humana que se pueden llegar a presentar a largo plazo, ya que solo se tiene datos de algunos contaminantes ya estudiados. Sin embargo, es necesario realizar estudios más específicos sobre sus efectos a la salud y los ecosistemas ya que es un riesgo para la calidad del agua. (Daughton, 2001)

1.1.5 DETECCIÓN DE FÁRMACOS EN EL AGUA

La PIE (Pharmaceuticals in the Environment) se denomina como el área de estudios de los fármacos presentes en el agua, por la contaminación de aguas superficiales y subterráneas que se presentan en la mayor parte de los países, dado que los fármacos se encuentran activos en el agua, son resistentes a la degradación, altamente persistentes en el medio acuático y producen efectos diversos a los organismos acuáticos, así como un impacto negativo a la salud del hombre.

Estos medicamentos pueden llegar al medio acuático, a través de diversas fuentes, tales como las industrias farmacéuticas, efluentes hospitalarios, la excreción de los seres humanos y el ganado. También los podemos encontrar en algunos productos de higiene personal en las aguas, donde después de su liberación en los sistemas de alcantarillado, terminan en las plantas de tratamiento y finalmente en los sistemas acuáticos.

Los fármacos son sustancias químicas que tienen propiedades terapéuticas y presenta una serie de características que los hacen diferentes a los contaminantes químicos industriales convencionales, tales características son:

- Son moléculas polares y tienen más de un grupo ionizante. El grado de ionización y sus propiedades dependen del pH del medio. Son moderadamente solubles en agua, por lo tanto, lipofilicas.
- Las sustancias farmacológicamente activas incluyen compuestos formados por moléculas grandes y químicamente complejas, pero muy diferente en peso molecular, estructura, funcionamiento y forma.
- La persistencia en el medioambiente puede ser mayor a un año para fármacos como eritromicina, ciclofosfamida, naproxeno, sulfametoxazol, y de varios años para otros, como el ácido clofibrico, que pueden acumularse alcanzando niveles biológicamente activos.
- Después de ser suministradas, las moléculas son adsorbidas, distribuidas y, además sujetas a reacciones metabólicas, donde la estructura química de la molécula activa puede ser modificada.
- Estudios recientes han demostrado que los sistemas de tratamiento convencionales basados principalmente en el uso de microorganismos, resultan inadecuados para destruir de forma activa este tipo de compuestos orgánicos, debido a su compleja estructura molecular y las bajas concentraciones en las que se encuentra, en algunos de los casos se elimina menos del 10% del compuesto presente en el agua. (Castiglioni, 2006).

1.2 SISTEMA CONVENCIONAL DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL

Las plantas de tratamiento de aguas residuales tienen como objetivo disminuir el impacto ambiental y el riesgo a la salud humana por descargas de aguas residuales procedentes de la agricultura, la industria y la población a través del cumplimiento de los reglamentos según límites máximos permisibles normados.

Consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tiene como fin eliminar todos los contaminantes físicos, químicos y biológicos en las descargas de aguas.

Para lograr estos objetivos se emplean diferentes métodos:

- **Métodos físicos:** Son empleados para remover los residuos sólidos sin alterar la estructura química y permite la recuperación de los subproductos generados en el proceso.
- **Métodos químicos:** Consisten en oxidar los contaminantes presentes en el agua con un contenido bajo de materia orgánica a través de procesos de: oxidación clásica con cloro, oxidación avanzada y tratamientos electroquímicos, para lograr una reducción de dureza y la eliminación de elementos nocivos.
- **Métodos biológicos:** Se emplean microorganismos para la degradación de la materia orgánica que es biodegradable.

- **Método de aislamiento:** Consiste en una técnica de estabilización y solidificación para lograr el aumento de estabilidad de los residuos, con el objetivo de obtener un sólido o un cristal de baja o nula peligrosidad.

Las aguas residuales urbanas fundamentalmente son de carácter orgánico. Así que su tratamiento consiste principalmente en tratamiento primario y secundario, como se muestras en la figura 4

Figura 4 Diagrama de flujo de planta de tratamiento de agua residual

1.2.1 PRE-TRATAMIENTO

Las aguas residuales llevan todo tipo de elementos que deben ser retirados previamente, Hay que tener en cuenta que la mayoría de los colectores de aguas residuales suelen ser unitarios y normalmente no solo recogen agua sino también residuos sólidos de las calles arrastradas por el agua de la lluvia.

Ésta operación consiste en un desbaste, eliminación de arenas y desengrasado.

a) Desbaste

Las aguas residuales que llegan a una depuradora pueden contener trozos de madera, plásticos, trapos, raíces y todo tipo de residuos sólidos.

El desbaste es la obra que se realiza para remover del agua todos aquellos sólidos que por su volumen son arrastrados por el agua residual. Los residuos suelen ser voluminosos o densos, dependiendo del tipo de descarga. El desbaste tiene que estar en ubicado justo a la llegada de los colectores.

En algunas plantas pequeñas los sólidos son recogidos de forma manual, se aprovechan las horas de caudal mínimo.

b) Rejas

Ésta acción se divide en dos grupos, dependiendo del tipo de material que se separe: gruesos y finos.

Las rejas pueden ser curvas o rectas, y por su forma de limpieza pueden ser manuales o automáticas. Estas últimas, según sea la acción del peine pueden ser: de acción frontal y de acción dorsal.

c) Desarenadores

Su función es la de remover las arenas hasta de un tamaño de 20 micras. Existen muchas técnicas de desarenado que se pueden clasificar en:

- Desarenadores en caudal
- Desarenador de flujo tangencial
- Desarenadores rectangulares aireados

b) Desengrasado

Entre los productos a separar de las aguas residuales están aquellos que por su densidad tienden a flotar en el agua.

Para realizar esta operación se colocan los separadores de grasa, se puede hacer conjuntamente con el desarenador.

1.2.2 TRATAMIENTO PRIMARIO

Este tratamiento también se le denomina físico-químico, el cual consiste en reducir la materia suspendida por medio de la precipitación o sedimentación, con o sin reactivos o por medio de distintos tipos de oxidación química

Las aguas residuales contienen sustancias capaces de sedimentar o de flotar en la superficie, si la velocidad del agua llega a ser lo suficientemente baja. Los colectores y alcantarillas se diseñan para que el agua fluya rápidamente, impidiendo así que los procesos anteriores se produzcan.

Los desarenadores están diseñados para que el agua circule a una velocidad ligeramente inferior a los anteriores para que los materiales inorgánicos sedimentables pesados, se depositen en el fondo, de donde se extraen posteriormente.

Los tanques de sedimentación disminuyen la velocidad de las aguas a parámetros menores. La unidad de tratamiento que va después del desarenador, es la unidad de sedimentación y/o flotación, a este también se le denomina decantador, dado que sirve para decantar y

sedimentar el agua residual. Por consistir en una unidad del sistema inicial se le denomina decantador.

Los sólidos decantados son arrastrados hacia el extremo, en los decantadores rectangulares y hacia el centro, en los decantadores circulares e introducidos en un pozo de recolección. Desde ente pozo se bombea al sistema de tratamiento y evacuación de fangos.

Los flotantes se remueven mediante barrederas de superficie y se llevan a los vertederos, pueden ser incinerados o se llevan a enterrar.

1.2.3 TRATAMIENTO SECUNDARIO

Dentro de las etapas que forman el proceso de limpieza de las aguas residuales el tratamiento secundario, tiene el objetivo de depurar el agua de aquellas partículas cuyo tamaño es mucho menor a las que se pueden captar por la decantación y las rejillas. Para ellos se basa en sistemas biológicos, pero pueden ser afectados por aspectos externos, tales como cambios de clima por lo que tienen que estudiar sus características y adaptaciones al sitio del proceso, para poder hacer una elección adecuada.

El tratamiento biológico se puede dividir según el estado en el que se encuentren las bacterias responsables a la degradación. Si la masa bacteriana esta sobre las superficies inertes tales como materias cerámicas o plásticos, se requiere de un lecho fijo, o pueden estar suspendidos en el agua a tratar. En cada una de estas situaciones, la concentración de oxígeno en el agua determinara la presencia de bacterias aeróbicas, facultativas o anaeróbicas. Empleando como lodos activos, aireación prolongada, lagunas de aireación filtros biológicos y discos biológicos.

1.2.4 TRATAMIENTO TERCIARIO

Éste tratamiento funciona para depurar y sustraer los contaminantes que no han podido ser eliminados en las fases de tratamiento anteriores. Pueden incluir procesos como: adsorción, intercambio iónico, ultrafiltración, osmosis inversa, electrodiálisis, desinfección, procesos de oxidación convencionales y procesos de oxidación avanzada. Éste tratamiento es para aguas con compuestos recalcitrantes, con el objetivo de cumplir la normatividad y una mejor eficiencia de calidad de agua.

1.3 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA (POA`s)

Los procesos de oxidación avanzada comúnmente llamados POA`s son aquellos tratamientos terciarios que están basados en la generación de especies fuertemente oxidantes, que tiene como objetivo principal la eliminación de compuestos no biodegradables, presentes en las aguas residuales. Dichos procesos usan oxidantes (químicos) para reducir los niveles DQO/DBO, y para separar los componentes orgánicos y los componentes inorgánicos oxidables. Los POA's pueden oxidar totalmente los materiales orgánicos. (Comninellis, 2008)

El proceso consiste en una oxidación química en condiciones suaves de presión y temperatura hasta la mineralización completa de contaminantes. El agente oxidante es una especie radical denominada hidroxilo (•OH) con una elevadísima capacidad oxidante y con tiempos de reacción muy cortos. Debido a la altísima reactividad de estas especies es posible transformar tanto compuestos orgánicos como inorgánicos logrando así una reducción de DQO, COT y toxicidad en las aguas residuales tratadas. Además, la generación de radicales se realiza a partir de ozono, peróxido de hidrógeno y catalizadores soportados, por lo que los productos finales de reacción son únicamente agua y dióxido de carbono. El cuadro 6 indica la capacidad de oxidación, medida a través del potencial de oxidación, de diferentes compuestos. Los de mayor potencial son los que intervienen en los POA.

Cuadro 6. Capacidad de Oxidación

Especie	Potencial de oxidación (V)
Flúor	3,03
Radical hidroxilo (OH)	2,8
Oxígeno atómico	2,4
Ozono	2,07
Peróxido de hidrógeno	1,78
Radical Per hidroxilo	1,7
Permanganato	1,68
Ácido hipo bromoso	1,59
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Ácido hipoiodoso	1,45
Cloro	1,36
Bromo	1,09
Yodo	0,54

La versatilidad de los POAs se encuentra en el hecho de que ofrecen diferentes maneras de producir los radicales hidroxilos. Así, la generación de radicales hidroxilos se puede acelerar por la combinación de algunos agentes oxidantes como ozono, peróxido de

hidrógeno, radiación UV, sales de hierro [Fe (II) y Fe (III)] y catalizadores como dióxido de titanio.

Los POAs se pueden clasificar como procesos no fotoquímicos y procesos fotoquímicos en función de la participación de la luz en el proceso. (Kelly et al., 1999, Litter,2005).

Procesos no fotoquímicos

- Ozonización
- Procesos Fentón y relacionados
- Oxidación electroquímica
- Radiólisis y tratamiento con haces de electrones
- Plasma no térmico
- Oxidación en agua sub y supercrítica

Procesos fotoquímicos

- Ultravioleta de vacío.

-UV/H_2O_2

-UV/O_3

-UV/H_2O_2/O_3

Cuadro 7. Ventajas de los procesos avanzados. (Glaze, 1989;Masschelein, 2002)

VENTAJAS DE LOS PROCESOS AVANZADOS
Generalmente se consigue la mineralización completa del contaminante.
No generan lodos que a su vez requieren de un proceso de tratamiento y/o disposición.
Son muy útiles para contaminantes refractarios que resisten otros métodos de tratamiento, principalmente el biológico.
Sirven para tratar contaminantes a muy baja concentración (por ejemplo, plaguicidas ppb.)

No se forman subproductos de reacción, o se forman en baja concentración.
Son ideales para disminuir la concentración de compuestos formados por pre-tratamientos alternativos, como la desinfección.
Generalmente, mejoran las propiedades organolépticas del agua tratada.
En muchos casos, consumen menos energía que otros métodos.
Permiten transformar contaminantes refractarios en biodegradables.
Eliminan efectos sobre la salud de desinfectantes, medicamentos y oxidantes residuales.

1.4 EVALUACIÓN GENOTÓXICA

Se ha observado un creciente interés por el desarrollo y empleo de pruebas biológicas para evaluar los potenciales efectos tóxicos y genotóxicos de la contaminación sobre los seres humano y ecosistemas. Según estudios biológicos tiene la capacidad de expresar las alteraciones más sutiles que operan durante cierto tiempo en un ecosistema mediante respuestas individuales tales como reacciones fisiológicas, etológicas, morfológicas y bioquímicas, o en conjunto como cambios en la estructura y dinámica de las comunidades, perturbaciones en las ramas tróficas, etc. Por su capacidad para detectar cambios en la calidad de los efluentes y controlar que la toxicidad esté por debajo de los límites permitidos, los ensayos o tests biológicos se están transformando en herramientas valiosas para la evaluación de impactos ambientales.

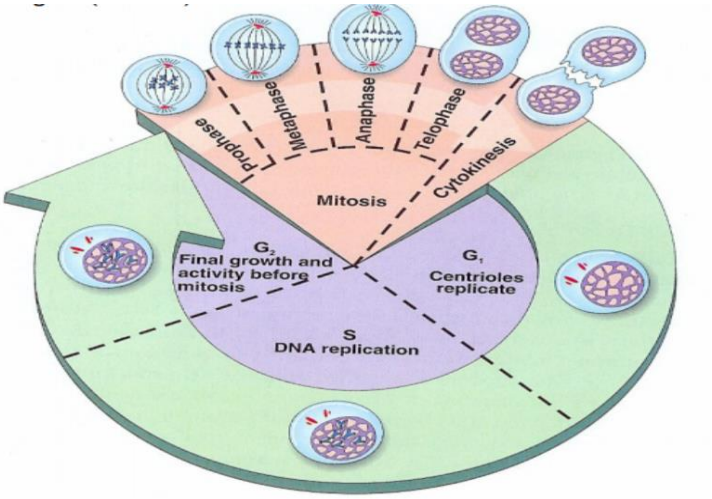
Estos ensayos biológicos son una herramienta de diagnóstico para terminar el efecto de agentes químicos y físicos sobre un organismo de prueba, bajo condiciones experimentales controladas y específicas. Dichos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluación y por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos.

Los efectos tóxicos se pueden manifestar en diferentes niveles, desde estructura subcelular o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Por lo tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo o la biocenosis, y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al toxico, y su relación con el ciclo de vida de los organismos; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico.

1.5 CICLO CELULAR

El ciclo de la división celular es la base para la reproducción de los organismos. Su función no es solamente originar nuevas células sino asegurar que los procesos se realicen en forma adecuada y con la regulación adecuada. Un ciclo celular típico se da en dos fases que son: la interfase que se divide en tres fases: G_1, S y G_2 y la mitosis que se dividen en profases, prometafase, metafase, anafase, telofase y citocinesis: En la interface, en G_1 se produce la acumulación de ATP necesaria para el proceso de división y el incremento del tamaño celular; la fase S se caracteriza por la replicación del DNA nuclear; y finalmente en G_2, que es el tiempo que trascurre entre la fase S y el inicio de la mitosis. Al fin el ciclo celular culmina con la mitosis, en donde se divide la cromatina duplicada de modo que cada célula hija obtengas una copia del material genético o sea un cromosoma de cada tipo. Dependiendo al tipo de célula, ésta entrara a un nuevo ciclo en G_1 o puede que la célula entre en fase G_o el cual corresponde a un estado de reposo especial característico de algunas células, en el cual puede permanecer por días, meses y a veces años.(Alberts, 1996)

Figura 5. Ciclo celular



1.6 MITOSIS

En esta fase la cromatina se condensa para formar cromosomas, la membrana nuclear se rompe, el cito esqueleto se organiza para formar el huso mitótico y los cromosomas se mueven a los polos opuestos. La segregación cromosómatica es seguida usualmente por la división celular.

Dependiendo a los organismos los detalles van a variar, la mitosis está dividida en cuatro etapas: profase, metafase, anafase, telofase. Las cuales tienen como función repartir equitativamente el material genético.

Profase: La cromatina se ha duplicado durante la fase S procedente y ahora consta de dos clemátides hermanas, cada una de las cuales contiene una secuencia de ADN especifica conocida como centrómero que permite la unión de las dos clemátides por proteínas específicas, necesarias para la correcta segregación del cromosoma. Casi al término de la profase los microtúbulos citoplasmáticos se depolimerizan.

Prometafase: Da inicio con la desintegración de la envoltura nuclear que se rompe originando vesículas de membranas indiferenciables de las vesículas de retículo endoplásmatico. En este momento los microtúbulos del huso entran en la región nuclear. En cada centrómero maduran complejos proteicos llamados cinetocoros que se unen a los microtúbulos del huso, que ejercen una tensión sobre los cromosomas, los cuales se ven sometidos a movimientos agitados.

Metafase: En esta etapa los microtúbulos del cinetocoro alinean los cromosomas en un plano ecuatoriano de la célula. Cada cromosoma se mantiene en tensión en esta placa metafísica por los cinetocoros apareados y por sus microtúbulos asociados, los cuales están unidos a los polos apuestos del huso. Denominados centriolos.

Anafase: Da inicio cuando la cinetocoros apareados se separan, permitiendo que cada cromátida sea arrastrada lentamente hacia un polo del huso.

Telofase: Cuando los cromosomas hijos separados llegan a los poros y los microtúbulos del cinetocoro desaparecen. Los microtúbulos polares se alargan aún más y se vuelve a formar la envoltura nuclear. La cromatina condensada se expande y los nucléolos reaparecen.

1.6.1 ABERRACIONES MITÓTICAS

Aberraciones cromosómicas: Están caracterizadas por cambios, ya sea en la estructura de los cromosomas como en el número total de los mismos, esto puede ocurrir espontáneamente o por la exposición a agentes químicos, físicos o biológicos. Dichas alteraciones cromosomales estructurales pueden ser inducidas por varios factores, tales como rotura del ADN, inhibición de las síntesis de ADN y replicación del ADN alterado. Las aberraciones presentadas en mayor frecuencia son los puentes anafásicos múltiples y únicos cuyos cromosomas presentan un estiramiento que en algunos de sus puntos los hace aparecer tan delgados que se dificulta asegurar su continuidad.

Durante la mitosis, la separación de los centrómeros en cromosomas dicéntricos produce un puente ana-telofásico, seguido por fractura cromosómica y eventual fusión de extremos dañados.

1.6.2 AGENTES MUTAGENOS

Mutación: Son alteraciones en la secuencia del ADN. Pueden estar desde un pequeño evento como la alteración de un solo par de bases nucleotidicas hasta la ganancia o pérdida

de cromosomas enteros. Los daños pueden ser causados por químicos, radiación o por errores durante la replicación y la reparación del ADN. Algunas consecuencias de las mutaciones pueden ser enfermedades genéticas; sin embargo, aunque en el corto plazo pueden aparecer como algo perjudicial, a largo plazo las mutaciones son esenciales para nuestra existencia.

Clastogeno: Son agentes que causan una rotura en los cromosomas y/o consecuentemente, ganancia o pérdida o reordenamiento de los fragmentos cromosómicos.

Aneuploidogeno: Son agentes capaces de producir en la célula uno o más cromosomas completos de un conjunto normal falten o se presenten más de una vez

OBJETIVOS

- ✓ Remover los contaminantes orgánicos presentes en el agua residual de un hospital del Estado de Puebla mediante un Proceso de Oxidación Avanzada y determinar la disminución de genotoxicidad.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Comprobar y comparar la eficiencia del tratamiento realizado en un fotorreactor tipo *Batch*, bajo un sistema UV/H_2O_2, UV/O_3 y UV/H_2O_2//O_3 como procesos fotooxidativos.
- ✓ Evaluar la calidad de muestra compuesta de agua residual para verificar el cumplimiento de parámetros de la Norma Mexicana NOM-CCA/032-ECOL/1993 que establece los límites máximos permisibles de contaminación en las aguas residuales de origen urbano o municipal para su disposición mediante el riego agrícola
- ✓ Determinar que las aguas residuales hospitalarias pre-tratadas tradicionalmente en el hospital y las aguas residuales hospitalarias tratadas con el método fotoquímico ejerzan acción tóxica y genotóxica sobre las células meristemáticas de raíces de *Allium sativum*, utilizadas como bioindicadores.

HIPÓTESIS

- ✓ El agua residual hospitalaria tratada con el método fotoquímico genera menor acción tóxica y genotóxica sobre las células meristemáticas de raíces de *Allium sativum* que el agua residual sin éste tratamiento.

CAPÌTULO 2

2.1 ELECCIÓN DEL AGUA RESIDUAL Y SU RECEPCIÓN

El agua residual de origen hospitalario genera un problema para la salud del hombre y el medio ambiente, descargando compuestos tóxicos, microorganismos patógenos, residuos de medicamentos y contaminantes emergentes. Estas aguas residuales son dispuestas en ríos o drenajes sin tener un previo tratamiento. Representando un riesgo aun mayor como contaminante para el medio ambiente.

Se recolectó una muestra compuesta en una planta de agua residual de tipo hospitalario en la Ciudad de Puebla de acuerdo a la NOM-002-SEMARNAT-1996.

2.2 MATERIAL Y REACTIVOS

El material que se usó en el método fotoquímico para la degradación de contaminantes orgánicos es el siguiente:

MATERIAL

- Balanza analítica
- Espátula
- Vidrio de reloj
- Matraz aforado de 1L
- Vaso de precipitados de 1L
- Vaso de precipitados de 100 mL
- Jeringa de una capacidad máxima de 1 mL de Hamilton
- Tiras indicadoras Quantofix Peroxid 25 de Merck
- Agitador magnético

EQUIPO

- *Reactor Batch*
- Espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Lambda 20
- Medidor portátil de pH Conductronic PC-18
- Generador de ozono marca King Ozono modelo Hydrozon K-40
- Compresor de aire Elite 801

REACTIVOS Y SUSTANCIAS

- Agua destilada
- Peróxido de hidrogeno al 50%
- Ozono en fase gaseosa

El material que se usó para el ensayo biológico es el siguiente:

MATERIAL

- Viales de vidrio
- Bulbos de ajo
- Cuchilla de disección
- Vidrio de Reloj
- Micropipeta de 100 a 1000 µL
- Puntas desechables para micropipetas
- Calentador
- Agitador
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Papel absorbente
- Pinzas
- Tubos eppendorf
- Papel rotulador
- Pipeta graduada con pera
- Tubos con tapa
- Calibrador vernier
- Balanza Analítica
- Cronometro
- Vaso precipitado 1 L.
- Vaso precipitado 100 mL.
- Tubos

EQUIPO

- Impresora 3D (DREMEL 3D IDEA BUILDER)
- Microscopio óptico
- Cámara adaptable
- Cámara de obscuridad

REACTIVOS Y SUSTANCIAS

- Agua residual
- Cobre
- Níquel
- Ácido nítrico
- Orceína acética al 2%
- HCl 1 N
- Etanol
- Ácido Acético

- Aceite de inmersión

2.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.3.1 REACTOR BATCH

El proceso fotoquímico se realizó con un *fotorreactor batch* como se muestras en la figura 6.

El *fotorreactor batch* cuenta con las siguientes características:

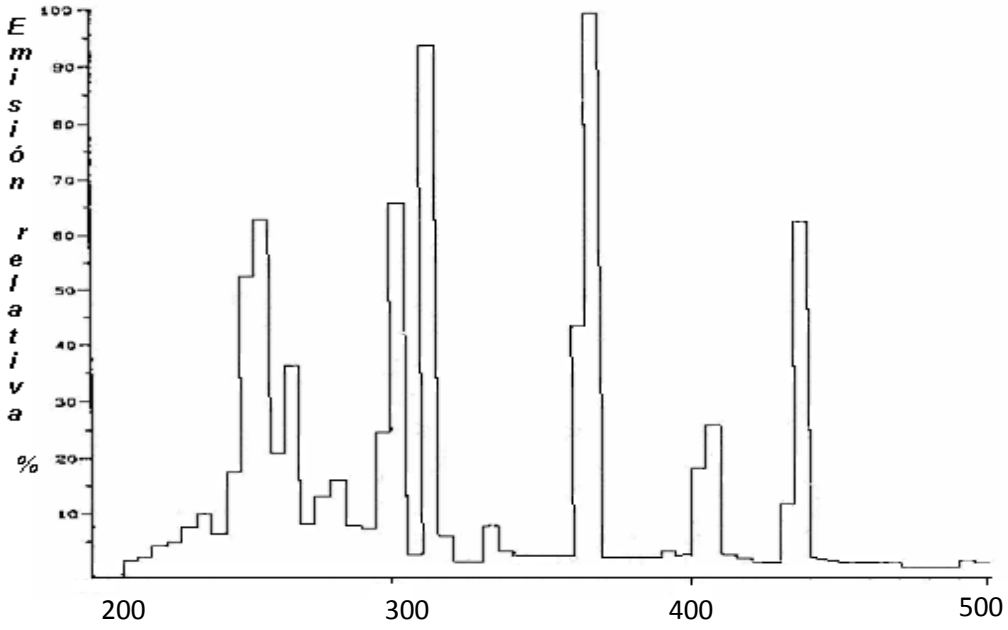
- Capacidad de 850 mL
- Está compuesta por una lámpara de vapor de mercurio de presión media modelo PUV-1022 de 11 cm de longitud de arco, que se encuentra protegida por una cubierta de cuarzo,1000 W/h, una tensión de 145 Volts corriente de 7.5 Amperes.
- El reactor tiene un sistema de recirculación de agua desmineralizada para regular la temperatura.
- El recipiente de reacción es de vidrio Pyrex, cuenta con dos entradas esmeriladas y en la parte inferior una entrada para la corriente de aire /ozono.
- Se utiliza un comprensor Elite 801 para la alimentación del aire.
- Un generador King Ozono modelo Hydrozon K-40, produce 40 mg/h de ozono

Figura 6. *Reactor Batch* funcionamiento fotoquímico con agua residual de hospital

- La lámpara de vapor de mercurio de presión media presenta un espectro de emisión esquemático en la región del UV-visible como se muestra en la figura 7, con una longitud de onda de 200 nm a 460 nm. En esta región es donde los grupos funcionales orgánicos absorben energía para su excitación y en esa misma región se forma el radical •OH.

Figura. 7 Espectro de emisión en la región UV-visible de la lámpara

de vapor de Hg de presión media



Longitud de onda (nm).

Durante el tiempo en que se sometió el agua a la fotodescomposición se midieron en intervalos de 5 minutos, se determinaron los espectros UV-visible mediante un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer modelo lambda 20 mostrado en la Figura 8, para dar el seguimiento a la reacción.

Figura 8 Espectrofotómetro UV-vis

Las celdas que se utilizaron en el espectrofotómetro son de cuarzo de 10 mm de espesor marca BECKMAN. Para determinar el contenido de H_2O_2 residual presente en las alícuotas, se emplearon barras indicadoras Quantofix Peroxid 25 (0.5-25 mg/L) de Merck.

2.3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra compuesta de agua residual proveniente de un efluente sin previo tratamiento fue llevada al laboratorio y vertida en filtros de papel cualitativo de 1.5 μm de retención, con la finalidad de clarificar y remover de la muestra los sólidos suspendidos para aumentar la eficiencia fotooxidativa,. Una vez obtenidas las alícuotas se procedió a realizar los siguientes análisis: pH, color, DQO y turbidez

2.3.3 DETERMINACIÓN DE DQO

Para la determinación de la demanda química de oxigeno (DQO) se utilizó el método número 29 de análisis del programa SPECTROQUANT con los “tests en cubeta” ya preparados en un fotómetro SQ-118 de Merck.

2.3.4 DETERMINACIÓN DE pH

La determinación de pH se realizó con ayuda de un medidor de pH portátil, Marca Conductronic, Modelo PC-16.

El pH de las alícuotas se midió antes y después del tratamiento fotoquímico para obtener la comparación de los resultados.

2.3.5 DETERMINACIÓN DE COLOR Y TURBIDEZ

Para obtener la medición de color y turbidez, se utilizó un fotómetro Modelo Nova 60 de Merck con los siguientes intervalos de medición:

Color: de 0.5- 50.0 m^{-1}.

Turbidez: 10 - 400 UNF (Unidades Nefelométricas de Formazina).

Para realizar la determinación, cada alícuota fue vertida en una celda de cuarzo de 50 mm de espesor.

2.3.6 TRATAMIENTO FOTODEGRADATIVO

Para realizar la degradación de los contaminantes orgánicos presentes en el agua residual hospitalaria se tomaron 850 mL para cada uno de los sistemas fotooxidativos: UV/H_2O_2, UV/O_3 y $UV/H_2O_2//O_3$ de las soluciones a tratar, se agregaron 0.02-0.05 mL de H_2O_2 al 50% dependiendo el sistemas y se introdujo en el reactor para irradiar la solución al mismo tiempo que se les suministró aire y/o ozono a flujo continuo, recubriendo la lámpara con una caja de aluminio diseñada para evitar el escape de radiación ultravioleta y el contacto directo con el operario, después de esta, se enciende, se deja estabilizar durante 3 min con el fin de alcanzar la máxima luminosidad. Al término de los 3 min. Se empieza a evaluar la fotodegradación de los contaminantes orgánicos tomando alícuotas en lapsos de 5 min. Durante media hora como se muestras en el cuadro 8.

Cuadro 8. Tiempo de muestro de alícuotas

No. de muestra	1	2	3	4	5	6
Tiempo (min.)	5	10	15	20	25	30

Para el sistema fotooxidativo $UV/H_2O_2/O_3$ se ocuparon 0.02 mL de peróxido de hidrogeno. A cada alícuota se le midió la cantidad de peróxido de hidrogeno residual presente en cada muestra, utilizando tiras indicadoras Quantofix Peroxide (0.5-5 mg/L) de Merck.

2.3.7 MEDICIÓN DE PARÁMETROS

La medición de los parámetros se realizó antes y después del tratamiento. Los parámetros que se midieron fueron pH, color, dureza, turbidez y DQO.

Para realizar la obtención de DQO es necesario remover todo el peróxido de hidrógeno que contenga la muestra que se trató. En el caso de la muestra inicial no es necesario hacer un proceso de remoción.

Con unas tiras indicadoras Peroxide Test (0.5- 25 mg/L.) de Merck se verifica que ninguna de las dos muestras contenga Peróxido. Esto se hace para que la medición de DQO no tenga ninguna interferencia y los resultados sean correctos.

2.3.8 DETERMINACIÓN DE ESPECTROS

Para establecer el tiempo de irradiación y obtener los espectros de cada uno de los sistemas se tomaron las alícuotas, estas se vierten en celdas de cuarzo y se introdujeron en el espectrofotómetro sin diluir la muestra.

Para cada solución se determinó el espectro de su concentración inicial, esto fue para tener referencia de la cantidad de degradación que se obtuvo durante el tratamiento y así hacer la comparación entre los tres sistemas fotooxidativos a los que se sometió estas aguas residuales

2.3.9 DETERMINACIÓN DE TURBIDEZ

Para la determinación de turbidez se realizó por medio de un fotómetro Merck modelo SQ-118, y utilizando el método 113 y celdas de cuarzo de 50 mm de espesor, el método tiene un intervalo de medición de 10- 400 UNF (Unidades Nefelometricas de Formazina)

2.3.10 DETERMINACIÓN DE COLOR

Para la determinación de color se realizó por medio de un fotómetro Merck modelo SQ-118 con el número de método 139 de análisis del programa SPECTROQUANT, el método tiene un intervalo de medida de 0.5-50.0 $m^{-1.}$

2.3.11 DETERMINACIÓN DE pH

Para la determinación de pH se realizó por medio de un medidor de pH portátil CONDUCTRONIC que mide un rango de 0-14 con un electrodo de vidrio modelo PC-16. El cual se calibró con soluciones estándar para una mejor precisión de los resultados.

2.3.12 DETERMINACIÓN DE DQO (DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO)

Para la determinación de DQO se realizó por medio del test en cubeta de Merck. Fue necesario obtener el contenido de H_2O_2, ya que se realizaron dos determinaciones. Debido a que los resultados arrojados en la primera prueba fueron muy incoherentes debido al contenido de peróxido. Para la remoción de H_2O_2 la muestra se sometió a un sistema de reflujo, el cual consiste en un proceso continuo de evaporación y condensación del disolvente en un refrigerante para mantener el volumen de reacción constante. Una vez que la muestra ya no contiene H_2O_2 se siguen las instrucciones anexas para completar la medición de la DQO. Se utiliza un Termorreactor TR-300 y un Fotómetro SQ-118. Se selecciona el método 28 para detectar un rango de medición de 10- 150 mg/L.

2.3.13 DETERMINACIÓN DE H_2O_2 RESIDUAL

Se midió la cantidad de peróxido de hidrogeno residual de las alícuotas tomadas de las soluciones y después de 3 segundos se compara visualmente con la escala colorimétrica que tiene diferentes tonalidades de azul y su equivalencia con las concentraciones detectadas.

2.3.14 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE LA NOM-CCA/032-ECOL/1993

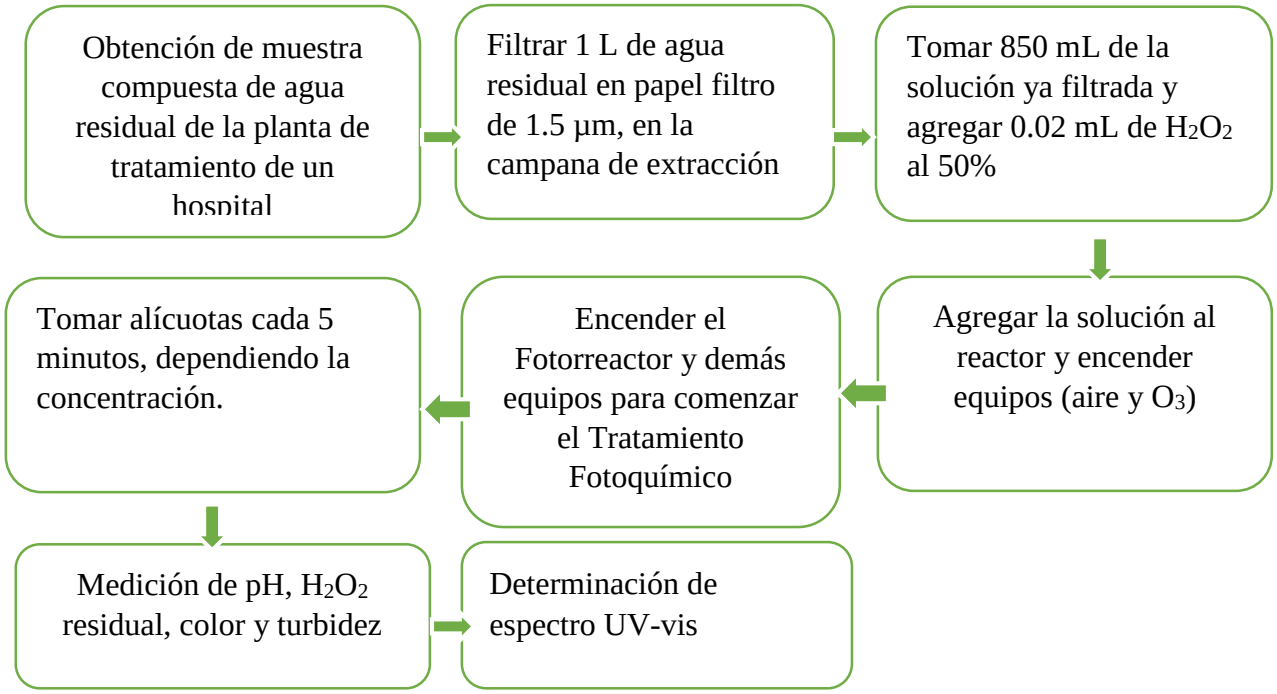
Para la determinación de parámetros que se establecen en la NOM-CCA/032-ECOL/1993. Se tomaron en cuenta los siguientes:

- Magnesio
- Níquel
- Zinc
- Arsénico
- Fenol
- Cromo
- pH

Para la determinación de los parámetros anteriores se utilizaron los respectivos test en cubeta de Merck, respectivamente en el fotómetro Merck modelo SQ-118 y un equipo para medir pH CONDUCTRONIC modelo PC-16 portátil

2.4 DIAGRAMA DE FLUJO DEL TRATAMIENTO

Tratamiento fotoquímico bajo un sistema ($UV/H_2O_2/O_3$) en el Fotorreactor *Batch*



Sistemas	H_2O_2 al 50% (mL)	O_3 mg/h
$UV/H_2O_2/O_3$	0.02	40
UV/H_2O_2	0.05	---
UV/O_3	----	40

Cuadro 9. Dosis en los tratamientos fotoquímicos

2.5 ENSAYO GENOTÓICO

A menudo, la información detallada sobre la identidad de los componentes de las aguas residuales es escasa, o se carece de datos sobre sus posibles efectos biológicos, como los efectos genotóxicos. La determinación de la genotoxicidad evalúa la magnitud de riesgo genético para el hombre por la presencia de contaminantes ambientales en un determinado nivel de exposición. (Farré y Barceló, 2003)

La evolución de los efectos biológicos utilizando un método efectivo, rápido, sencillo, sensible y barato que pueda proporcionar la información específica sobre toxicidad y ecotoxicidad (Ukaehbu y Odeigan, 2009) y permitan la incorporación de parámetros de toxicidad en el marco regulatorio. Muchos investigadores han estudiado el desarrollo de bioensayos y sensibles para supervisar y evaluar las descargas de materiales tóxicos.

Tradicionalmente, han utilizado crustáceos, peces y algas para la medición de la toxicidad acuática. Estos organismos presentan alguna respuesta a niveles peligrosos de cualquier sustancia química o mezcla de tóxicos presentes. Los bioensayos in vitro han ganado gran aceptación en las estrategias de biomonitores, fundamentalmente porque suministran resultados confiables, baratos, simples y rápidos. Estos bioensayos pueden auxiliar en la avaluación de los efectos a la salud (toxicidad humana y animal) y de los efectos ecológicos de sustancias químicas tóxicas que son introducidas por varias vías en el ambiente su aplicación de la toxicidad. En las últimas décadas, se han desarrollado bioensayos rápidos con el empleo de plantas como organismos de prueba, las que funcionan como excelentes herramientas de trabajo para el monitoreo ambiental.

Se pueden utilizar plantas superiores como un material importante para pruebas genéticas y con el propósito de monitorear diversos contaminantes presentes en el ambiente. Entre estas plantas, se encuentra el ajo (Saxena et al., 2005) y para evaluar las aberraciones cromosómicas y las perturbaciones en el ciclo mitótico, se han usado para evaluar un gran número de agentes genotóxicos, los resultados obtenidos contribuyendo a su aplicación en la vigilancia del medio ambiente. El ajo se utiliza como un organismo de prueba, debido a que es barato, fácilmente disponible, de fácil manejo y tiene ventajas sobre otras pruebas a corto plazo. Entre criterios de valoración del ajo se encuentra las aberraciones cromosómicas en la raíz y ha sido el más utilizado para detectar genotoxicidad generada por los contaminantes. Los índices de anomalías cromosómicas se utilizan para evaluar la genotoxicidad y los índices de micronúcleos en las células del meristemo radical, se emplean para verificar la mutagenicidad de diferentes productos químicos. El ensayo de aberración cromosómica en la raíz del ajo ampliamente utilizada para determinar los efectos genotóxios de diferentes compuestos. (Camargo *et al*., 2011)

Ventajas del ensayo de aberración cromosómatica radical con ajo

La principal conclusión de todas las investigaciones realizadas por las investigaciones realizadas por muchos autores es que los ensayos de la planta son los sistemas de prueba eficientes y fiables para la detección rápida de productos químicos de mutagenicidad y clastogenicidad. Entre estas pruebas con ajo se encuentra el ensayo de aberración en cromosómica radical que ha demostrado ser eficaz sensible menos y meióticas. (Smaka-Kincl *et al.*, 1996; Celik y Aslanturk, 2006) Este ensayo se ha utilizado para controlar la naturaleza de diversas plantas y productos vegetales.

2.5.1 PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Fijado: Se preparó una solución con: 1 mL de ácido acético por 3 de etanol al 70% y (1:3(V/V)), se depositó el fijador en frasco ámbar

Hidrolizante: la hidrólisis disuelve las pectinas de la línea media de la célula permitiendo que el citoplasma se vea más claro. Se preparó HCl 1N: En un matraz aforado 100 mL se agregó con micropipeta 3.26 mL de HCl; se aforó el resto del balón con agua destilada.

Colorante: Se disolvió 2.2 g de orceina sintética disuelta en 100 mL de ácido acético; se dejó hervir lentamente la solución y se agitó constantemente por unos minutos, luego se dejó enfriar y se filtró.

2.5.2 ADQUISICIÓN DE LA MUESTRA BIOINDICADORA.

Se seleccionaron 250 bulbos de ajo homogéneos de apariencia sana y tamaño estándar en las primeras horas de la mañana. La adquisición de los ajos se realizó en un mercado local.

Se eliminó de los ajos las hojas secas y las raíces antiguas con ayuda de una cuchilla, evitando dañar el meristemo radical.

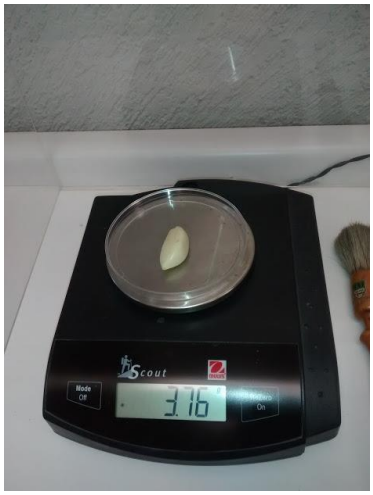
Se procedió a pesar los ajos, seleccionando que la mayor parte de los ajos presentaran pesos similares (0.600 g).

Se dejaron los ajos durante 20 minutos en hidratación con agua comercial y al término del tiempo se dejaron secar sobre papel absorbente durante 10 min.

Este ensayo consta de 5 días iniciando desde el momento de enraizamiento.

Figura 9. Adquisición de la muestra

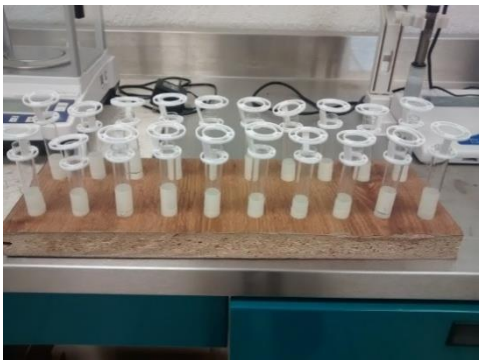
Figura 10. Peso de ajos



2.5.3 INDUCCIÓN A ENRAIZAMIENTO "DÍA 0"

Se seleccionaron 202 bulbos de ajo con las características necesarias y se tomaron 202 tubos de vidrio de 10 mL c/u, se suministró agua comercial a cada uno de los tubos, posteriormente se ubicaron cada uno de los ajos sobre los tubos. Los ajos se mantuvieron en una misma posición debidos a que se elaboraron unos soportes especiales para cada uno de los tubos. Este montaje fue ubicado en lugares sin luz, ya que en la etapa de enraizamiento no se realiza fotosíntesis

Figura 11. Soporte y tubos para montaje



Fue importante que durante el día de enraizamiento se suministrara cada 3 horas agua a los tubos para que los niveles de agua fueran los mismos que al inicio para todos los ajos, debido a que se pierde agua por evaporación de medio y absorción del ajo. Para suministrar el agua fue empleada una micropipeta procurando no mover los ajos. De este modo se dejaron durante 24 horas.

2.5.4 MONTAJE DEL EXPERIMENTO "DÍA 1"

Después de transcurrir 24 horas se procedió a retirar el agua comercial de los tubos y fue necesaria cambiarla por:

1. ***Control positivo 1 diluido en agua destilada (CP1);***
2. ***Control positivo 2 diluido en agua destilada (CP2);***
3. ***Control negativo (agua comercial) (CN);***
4. ***Disoluciones de la alícuota (DA) ;***
5. ***Disoluciones del tratamiento fotoquímico (DTF).***

De acuerdo a las siguientes tablas fue que se distribuyeron los ajos en cada una de las soluciones.

Cuadro 10. Tabla de control de agua residual, control positivo y negativo

							Alícuota		**Alícuota diluida en dH_2O**											
	Controles positivo diluidos en dH_2O				**Control negativo**		**100%**		**50%**		**25%**		**12.5%**		**6.25%**		**3.12%**		**1.56%**	
Bulbos de Ajos					**Agua comercial**															
	1	**1ª**	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª

	2	**2ª**	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª
	3	**3ª**	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª
	4	**4ª**	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª
	5	**5ª**	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª
	6	**6ª**	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª

Cuadro 11. Tabla de control de raíces de agua tratada

Tratada		**Tratada diluida en dH_2O**											
100%		**50%**		**25%**		**12.5%**		**6.25%**		**3.12%**		**1.56%**	
1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª	1	1ª
2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª	2	2ª
3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª	3	3ª
4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª	4	4ª
5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª	5	5ª
6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª	6	6ª

Figura 12. Montaje experimental

De éste modo se mantuvieron los ajos durante las 70 horas siguientes, cada 3 o 4 horas fue importante adicionar agua correspondiente a cada uno de los tubos, evitando el movimiento de los ajos con la ayuda de micropipetas.

Después de que las raíces pasaran 70 horas de exposición con cada uno de los tratamientos. Se realizaron las siguientes observaciones de acuerdo a las características externas que presentaban las raíces sin la necesidad de mover ni sacar los ajos de cada una de las soluciones.

- Color de punta de raíz
- Color de toda la raíz
- Engrosamiento de la raíz
- Aros en el bulbillo de raíz
- Punta de la raíz torcida
- Punta de la raíz abierta

Trascurrido otras 24 **(día 4)** se revisó que las raíces se mantuvieran en constante inmersión, además de seguir suministrando solución cada 3 o 4 horas.

En este día se realizó el llenado de fijador en tubos con tapa previamente esterilizados y fueron marcados por los diferentes tratamientos.

En el **día 5** las raíces ya se habían expuesto a las soluciones durante 120 horas; en éste día se realizó la medición de la longitud de las raíces con un calibrador Vernier. Al término de la medición se procedió a cortar las raíces, colocando cada ajo sobre una base y con ayuda de una cuchilla de hoja se cortaron las raíces. Posteriormente y en el menor tiempo posible, todas las raíces de ese ajo se depositaron en el recipiente correspondiente a su tratamiento que contenía una cantidad de fijador (ácido acético - etanol) preparado previamente.

Esto se realizó para que las células de las raíces se fijaran durante un periodo de 24 horas.

Pasadas las 24 horas, en un vidrio de reloj se lavaron las raíces con agua destilada y fueron pasadas a frascos con etanol al 70% sin perder la clasificación de sus tratamientos, esto con el fin de almacenarlas y posteriormente realizar las lecturas.

Figura 13. Lavado de raíces

2.5.5 LECTURA DE RAÍCES.

Para realizar la lectura de las células de las raíces se realizó una hidrolisis la cual consistía en poner un vidrio de reloj y adicionarles alrededor de 1 mL de hidrolizante HCl éste se llevó a calentamiento, evitando su ebullición. Se introdujeron las raíces en el hidrolizante y se dejaron hasta que las raíces se tornaron trasparente y la punta color banco, en un periodo de 3 a 4 min. Posteriormente se ubicó una raíz sobre un portaobjeto realizando un corte y dejando únicamente la punta blanca de la raíz es decir el meristemo radical. Ésta es teñida con orceina acética por 7 min evitando que se secara, se colocó un cubreobjetos al portaobjetos que contenía la raíz teñida y antes de presionar fue necesario cubrir con un papel absorbente, esto con la finalidad de permitir absorber el exceso de colorante y hacer más estable el squash.

Inmediatamente se procedió a llevar a cabo la observación en el microscopio óptico a una ampliación de 10 y 40 X, se realizó el enfoque y captura de la imagen con la cámara fotográfica adaptada al microscopio, en algunas ocasiones para tener mayor definición se procedió a capturar al 100 X.

Indicadores a medir:

1. El porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces respecto a la longitud promedio de las raíces del control
2. El número de raíces por tratamiento para cada bulbo de ajo
3. Índice mitótico
4. La frecuencia de células aberrantes

1. Se calculó el coeficiente de inhibición del crecimiento de las raíces, utilizando la siguiente ecuación:

$$1.\ Coeficiente\ de\ inhibicion\ (CI) = \frac{(longitud\ de\ control - longitud\ de\ tratamiento}{longitud\ control} \times 100$$

2. Se calculó la concentración efectiva media (CE_{50})

Es la concentración de tóxico que produce 50 % del efecto inhibitorio tomado como indicador de toxicidad; se calcula por medio del método Probit (paramétrico) conocido

como método de unidades probabilísticas, el cual ha sido recomendado como modelo de regresión lineal, que se emplea para evaluar la relación dosis-respuesta de un contaminante sobre un organismo, medida en términos de la concentración efectiva media (CE_{50}) y su precisión e intervalo de confianza. Este método requiere como mínimo que exista los siguientes datos: concentración de la sustancia o dosis; número de individuos, número de organismos muertos o afectados, porcentaje del efecto. (Castillo, 2004)

La genotoxicidad de los tratamientos en bulbos de ajo, incluye la fracción de células en división, daño por ruptura cromosómica, presencia de aberraciones cromosómicas y micronúcleos en las células del meristemo radical; alteraciones cromosómicas como C-metafase, anafases multipolares, cromosomas rezagados o vagabundos, anafases desorganizadas, pérdida cromosómica y células poliproides, podrían indicar problemas en la formación del huso mitótico por alteración o mala formación. Determinando una mala segregación de las cromatidas y alterando la distribución de la información genética en las células hijas. Para lo cual se tomaron en cuenta los siguientes indicadores:

$$2.\ Indice\ mitótico = \frac{N°\ célular\ en\ mitosis\ (divididas)}{N°\ total\ de\ células\ contadas} \times 100$$

(Restrepo y Reyes 2011; Ataga, 2012)

$$3.\ Inhibición\ mitotica = \frac{Indice\ mitótico\ de\ control - Indice\ mitótico\ del\ tratamineto}{Indice\ mitótico\ del\ control} \times 100$$

$$4.\ Frecuencia\ de\ células\ anómalas = \frac{N°\ de\ celulas\ anomalas}{Total\ de\ celulas\ contadas} \times 100$$

$$5.\ Indice\ de\ fases\ (F) = \frac{N°\ células\ en\ fase}{N°\ de\ células\ totales\ en\ mitosis}$$

CAPÍTULO 3

3.1 RESULTADOS

Para dar una evaluación de los resultados obtenidos en este trabajo se tomó en cuenta lo siguiente:

- Hacer una comparación de los espectros de absorción de UV-Vis de la muestra inicial y la muestra final sometidas a una irradiación a diferentes lapsos de tiempo, donde se aplicó un sistema de fotooxidativo UV/H_2O_2/O_3, en el fotorreactor.

- Comparación de los parámetros iníciales y finales obtenidos en el tratamiento

- Hacer la evaluación de los parámetros que marca la Norma Oficial Mexicana NOM-CCA/032-ECOL/1993 para conocer la calidad de muestra de agua residual en base en los métodos Merck que se tenían existentes en el laboratorio en el momento del estudio.

- Pruebas de Genotoxicidad

3.1.1 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS INICIALES Y FINALES

Los resultados obtenidos de los parámetros determinados en el efluente del tratamiento y después de irradiar fotoquímicamente.se muestran en el cuadro 12 En donde se observa una disminución de la turbidez, color y BQO, debido a la degradación fotoquímica de los contaminantes orgánicos que le proporcionan estas características;

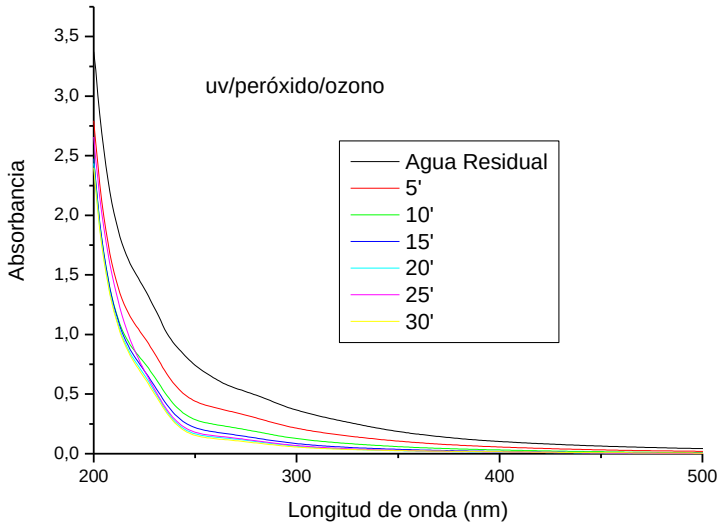
La turbidez en agua se debe a la presencia de partículas suspendidas y disueltas, la turbidez y la DQO decreció debido a la remoción de contaminantes oxidable.

Cuadro 12. Parámetros determinados

Parámetros	CON tratamiento	SIN tratamiento
pH	8.32	8.48
Color (m^{-1})	3.51	10.3
Turbidez (UNF)	18	56
DQO (mg/L)	16	101
Dureza (mg/L)	356	

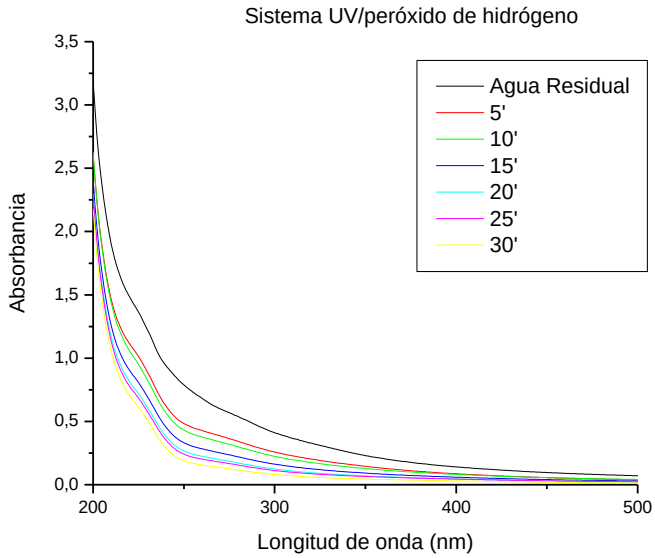
3.1.2 RESULTADOS DE LA ESPECTROSCOPIA UV-VIS

La espectroscopia de absorción UV/vis permite conocer con exactitud las concentraciones de la mezcla de contaminantes orgánicos presentes; sin embargo, por medio de la Ley de Lambert-Beer se sabe que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de un componente. En este caso en la gráfica 1 se muestran los espectros de las muestras tratadas fotoquímicamente en un sistema UV/peróxido/ozono. Extraídas cada 5 min, durante media hora con una curva de comparación de agua residual sin ser tratada. En la gráfica dos se realizó el mismo tratamiento, pero bajo un sistema UV/H_2O_2 y en la gráfica 3 bajo un sistema UV/H_2O_2

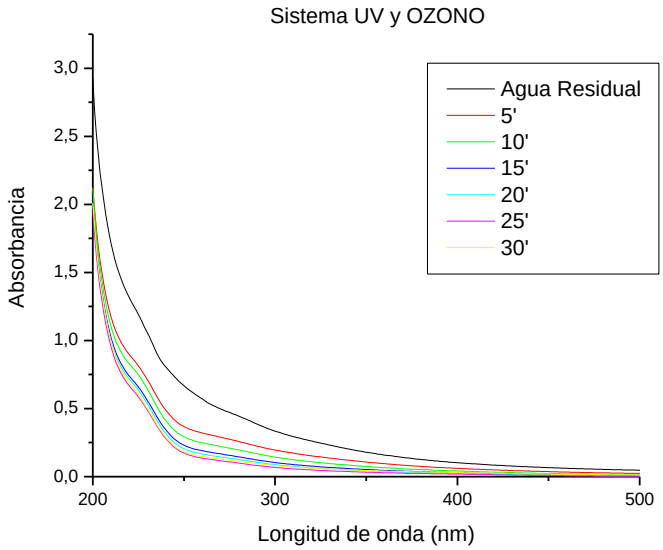


Grafica 1. Espectros obtenidos del tratamiento con un sistema ($UV/H_2O_2/O_3$) en el Fotorreactor *Batch*.

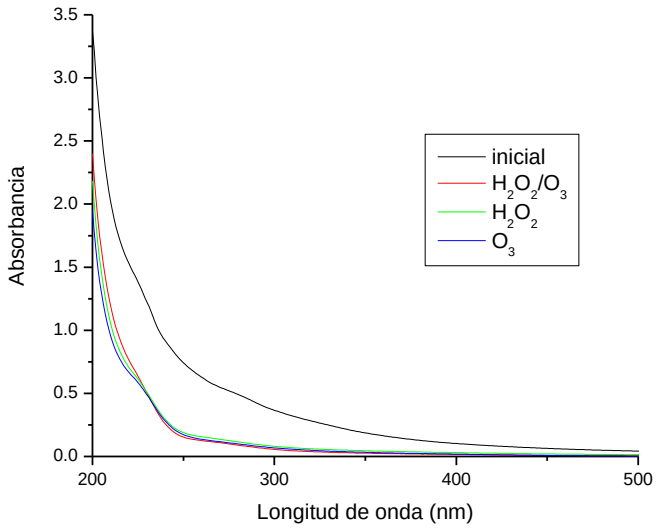
Al llevar a cabo la fotoirradiación del agua residual obtenida del hospital durante 30 minutos empleando cada uno de los sistemas es posible reconocer que existe una variación para la respuesta de carga contaminante entre los sistemas UV/H_2O_2 y UV/O_3, el área bajo la curva, disminuye, de acuerdo a la ley de Lambert – Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración, en este caso al área bajo la curva, es decir, si el área disminuye, la concentración también.



Grafica 2. Espectros con un sistema (UV/H_2O_2)



Grafica 3. Espectros obtenidos del tratamiento con un sistema (UV/O_3)



Grafica 4. Comparación de los espectros en los diferentes sistemas fotoquímicos

En la gráfica 4. Se observa que el sistema UV/O_3 tiene mayor eficiencia en la degradación de contaminantes orgánicos que absorben en esta región. Esto se puede deducir debido al menor área bajo la curva.

3.1.3 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS QUE MARCA LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-CCA/032-ECOL/1993 PARA CONOCER LA CALIDAD DE MUESTRA DE AGUA RESIDUAL.

En el cuadro 13 se exhibe la comparación de los resultados obtenidos de algunos parámetros establecidos por la NOM-CCA/032-ECOL/1993, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las aguas en las aguas residuales de origen urbano o municipal para uso agrícola. Se observa que estos parámetros cumplen con la normatividad vigente excepto, el níquel, el cual está por arriba de la normatividad.

Cuadro 13. Resultados de parámetros NOM-CCA/032-ECOL/1993

PARAMETROS	Limites max. Permisibles NOM-CCA/032-ECOL/1993	Parámetros agua residual
pH	6.5 a 8.5	8.48
Conductividad eléctrica (mohm cm^{-1})	2000	686
Sólidos suspendidos totales (mg L^{-1})	120	343
Magnesio (mg L^{-1})	0.2	< a 50
Zinc (mg L^{-1})	2.0	0.21
Cromo total (mg L^{-1})	0.1	*0.04
Níquel (mg L^{-1})	2.00	4.18
Cadmio (mg L^{-1})	0.01	<0.025
Fierro (mg L^{-1})	5	<0.01

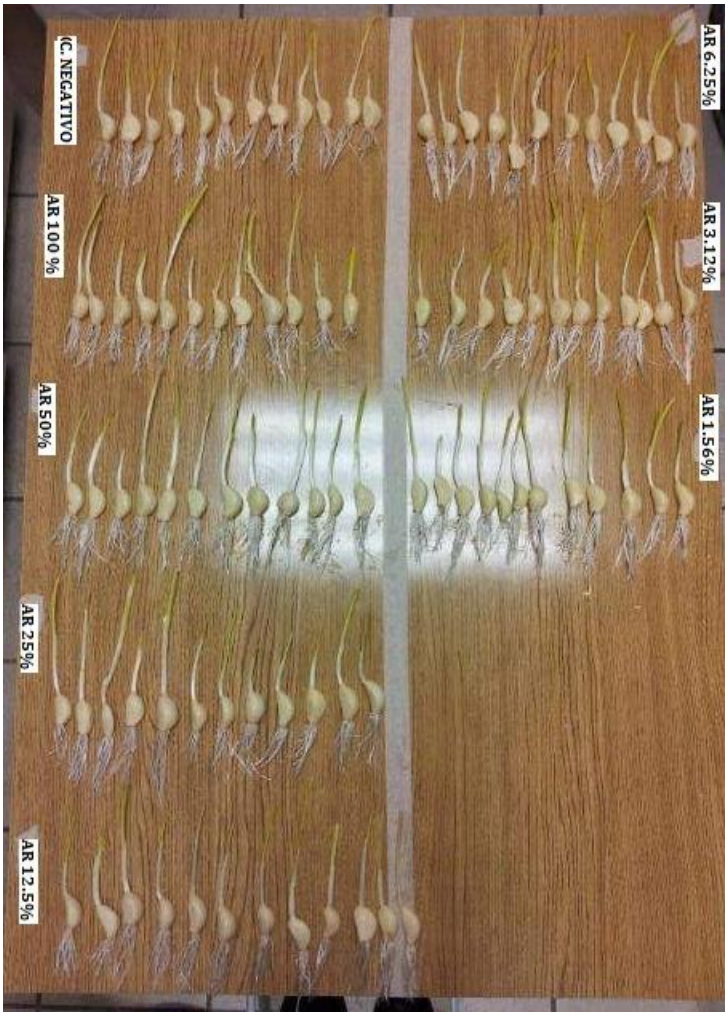
3.1.4 CARACTERISTICAS PERCEPTIBLES DE LOS BIOENSAYOS

En la Figura 14 se muestran las características físicas de los bulbos de ajo después de permanecer cinco días en contacto con las diferentes soluciones.

Figura 14. Comparación del crecimiento de raíces de *Allium sativum* en los tratamientos con Cu, Ni y Tratamiento Fotoquímico

Como se observa en el crecimiento de *Allium sativum* en agua diluida con Cobre y Niquel con respecto al color de las raíces se percibe que las puntas de las raíces es oscuro, muy cortas y dilatadas, posiblemente por la vacuolización, estas observaciones permiten establecer que hay un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de la raíz por exposición a los compuestos contenidos en el agua. Mientras que en agua tratada fotoquímicamente el color de las raíces es blanca y delgada. Una de las desventajas del tratamiento fotoquímico comparado con el Agua Residual es que siempre queda una cantidad de peróxido de hidrógeno residual.

Figura 15. Comparación del crecimiento de raíces de *Allium sativum* en los tratamientos con Control Negativo y Agua Residual



En la figura 15, para el tratamiento usado como control negativo con referencia, no se encontraron efectos que indiquen toxicidad, sin embargo un porcentaje de 1.11% se ve reflejado por la aparición de células binúcleadas esto puede deberse a la procedencia de la muestra o que el agua de garrafón usada es tratada previamente con cloro, el cual puede causar aberraciones cromosómicas. Como se puede observar la cantidad de raíces disminuyeron en el crecimiento con agua residual lo que significa una inhibición en comparación con las de agua tratada fotoquímicamente.

3.1.5 DETERMINACION DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS

Como indicador se empleó la planta de ajo debido a sus características de resistencia a tensiones ambientales bióticos y abióticos, tales como virus, bacterias y el estrés oxidativo. Sumando a su fácil observación de cromosomas, su rápida respuesta ante los tóxicos y por ser un indicador económico.

A continuación, se presentan los cuadros de aberraciones Cromosómicas y sus diferentes diluciones.

a) ABERRACIONES CROMOSÓMICAS DE AGUA RESIDUAL

Cuadro 14. Aberraciones cromosómicas (división anormal). Agua Residual

T	No.	AC	PN	PA	MF	AA	TF	IPF	No CA	TCC	FCA/F	FCE/GT (%)
1.56%	1	0	15	0	3	0	1	1	20	320	6.3	15.7 %
	2	0	28	0	0	5	0	0	33	297	11.1	
	3	0	82	0	0	0	0	0	82	358	22.9	
	4	1	44	6	1	1	0	0	53	292	18.2	
	5	4	43	3	0	3	0	0	53	276	19.2	
	6	1	46	1	0	0	0	0	58	337	17.2	
	7	6	45	0	0	0	0	0	51	355	14.4	
3.12%	1	0	65	0	4	0	0	0	69	287	24.04	20.06%
	2	20	47	0	4	0	0	0	71	366	19.39	
	3	6	56	0	2	0	0	0	64	289	22.14	
	4	2	42	1	2	0	0	0	47	322	14.59	
	5	5	50	2	6	2	0	9	74	298	24.83	
	6	6	52	0	2	0	0	4	64	305	20.98	
	7	0	17	0	1	0	0	3	21	325	6.46	
6,25%	1	0	57	0	3	1	0	0	61	258	23.64	23.44%
	2	3	46	0	1	0	0	3	53	236	22.45	
	3	0	62	0	1	1	0	0	64	255	25.09	

	4	0	53	0	0	0	0	0	53	257	20.62	
	5	0	74	0	0	0	0	0	74	308	24.02	
	6	1	45	0	1	1	0	1	49	245	20	
	7	0	87	0	1	0	0	0	88	311	28.29	
12.5%	1	2	69	0	3	0	0	7	81	274	29.56	30.90%
	2	7	0	4	4	3	0	16	34	314	10.82	
	3	12	103	0	4	1	0	0	120	296	40.54	
	4	3	71	7	7	4	0	0	92	303	30.36	
	5	12	76	6	2	5	0	2	113	326	24.66	
	6	17	92	4	3	0	0	3	119	365	32.60	
	7	1	130	0	1	4	0	13	149	313	47.60	
25%	1	0	71	0	1	1	0	0	73	246	29.67	31.44%
	2	3	87	0	2	0	0	3	95	284	33.45	
	3	0	70	0	2	1	0	0	73	276	26.44	
	4	1	104	0	0	1	0	1	107	303	35.31	
	5	0	86	0	1	0	0	0	87	302	28.80	
	6	3	89	0	0	0	0	3	95	302	31.45	
	7	1	95	0	1	0	0	1	98	280	35.00	
50%	1	2	69	0	3	0	0	7	81	313	25.87	33.69%
	2	7	0	4	4	3	0	16	34	286	11.88	
	3	12	103	0	4	1	0	0	120	278	43.47	
	4	3	71	7	7	4	0	0	92	289	31.83	
	5	12	76	6	2	5	0	2	103	275	37.45	
	6	17	92	4	3	0	0	3	119	299	39.79	
	7	1	130	0	1	4	0	13	149	327	45.56	
100%	1	3	123	0	7	2	0	3	138	328	42.07	44.74
	2	5	134	0	1	0	0	5	145	363	39.94	
	3	0	154	0	4	0	0	0	149	269	55.39	

4	4	137	0	0	1	0	4	146	276	52.89	
5	1	121	0	2	2	0	1	127	289	43.94	
6	0	145	0	0	0	0	0	145	358	40.50	
7	0	131	0	1	0	0	0	132	343	38.48	

En el Cuadro 14 se observa que a medida que aumenta la concentración de agua residual, aumenta el porcentaje de aberraciones celulares, prevaleciendo la formación de polinúcleos en todos los bioensayos, que pueden conducir a una apoptosis. Es decir a menor concentración de agua residual, menor porcentaje de aberraciones celulares fueron observadas en las imágenes captadas.

b) ABERRACIONES CROMOSÓMICAS DE AGUA RESIDUAL TRATADO POR UN SISTEMAS (UV/H_2O_2/O_3) en el *Fotorreactor Batch*

Cuadro 15. Aberraciones cromosómicas (división anormal). Agua Residual

T	No.	AC	PN	PA	MF	AA	TF	IPF	No CA	TCC	FCA/F	FCE/GT (%)
1.56%	1	0	35	0	8	0	0	0	43	239	17.99	14.09%
	2	0	41	0	3	0	0	0	41	219	18.72	
	3	1	21	0	1	1	0	0	24	178	13.48	
	4	1	12	0	2	3	0	0	18	194	9.27	
	5	0	14	0	4	0	0	0	18	213	8.45	
	6	0	36	0	0	0	0	0	36	220	16.36	
	7	0	28	0	1	1	0	0	30	208	14.42	
3.12%	1	0	35	0	6	0	0	0	41	224	18.30	16.82%
	2	0	41	0	2	0	0	0	43	208	20.67	
	3	1	21	0	1	1	0	0	24	198	12.12	
	4	1	42	0	3	3	0	0	49	194	25.25	
	5	0	24	0	2	0	0	0	26	231	11.25	
	6	0	36	0	0	0	0	0	36	230	15.65	
	7	1	28	0	2	1	0	0	32	220	14.54	
6.25%	1	4	35	0	8	0	0	0	57	240	23.75	17.44%
	2	2	41	0	3	0	0	0	56	221	23.33	
	3	2	21	0	1	1	0	0	25	209	11.96	
	4	1	12	0	2	3	0	0	17	194	8.76	
	5	0	14	0	4	0	0	0	28	213	13.14	
	6	3	36	0	0	0	0	0	49	223	21.97	

	7	4	35	0	8	0	0	0	40	208	19.23	
12.5%	1	0	21	0	3	0	0	0	24	243	9.87	
	2	0	43	0	4	2	0	0	49	276	17.56	
	3	0	56	0	3	2	0	0	61	217	28.11	
	4	1	47	0	1	0	0	0	49	191	25.65	
	5	0	56	0	0	1	0	0	57	222	25.67	19.85%
	6	3	39	0	1	0	0	0	43	219	19.63	
	7	0	25	0	0	0	0	0	25	200	12.5	
25%	1	8	54	0	3	3	0	0	68	241	28.21	
	2	2	47	0	3	0	0	0	52	243	21.39	
	3	3	56	0	1	1	0	0	61	274	22.26	
	4	6	25	0	0	2	0	0	33	197	16.75	20.54
	5	2	43	0	1	1	0	0	47	240	19.58	
	6	0	32	0	0	0	0	0	32	188	17.02	
	7	1	38	0	0	1	0	0	40	215	18.60	
50%	1	0	26	0	5	0	0	0	31	160	19.37	
	2	0	32	0	3	3	0	0	38	230	16.52	
	3	0	24	0	2	1	0	0	27	210	12.85	
	4	0	43	0	0	1	0	0	44	189	23.28	20.49%
	5	0	25	0	1	0	0	0	26	162	16.04	
	6	0	56	0	3	0	0	0	59	170	34.70	
	7	0	39	0	1	0	0	0	40	193	20.72	
100%	1	0	23	0	5	0	0	0	27	184	14.67	
	2	0	36	0	3	3	0	0	42	207	20.28	
	3	0	35	0	2	1	0	0	38	191	19.89	
	4	0	45	0	0	1	0	0	46	209	22	23.31%
	5	0	62	0	1	0	0	0	63	210	30	
	6	0	45	0	3	0	0	0	48	213	22.53	
	7	0	68	0	1	0	0	0	69	204	33.82	

Si se observa el cuadro 15, hay menor porcentaje de células aberrantes en comparación con las mismas concentraciones utilizadas con agua residual sin tratar (cuadro 14), El agua residual tratada fotoquímicamente disminuye la genotoxicidad generada en *Allium sativum* como bioindicador. Y se observa que tanto en el agua residual sin tratar y tratada fotoquimicamente, hay un comportamiento similar, en las dos, a medida que aumenta la concentración, aumenta el número de células anómalas, en los diferentes bioensayos con estás muestras de agua también prevalecen la presencia de polinúcleos como manifestaciones aberrantes prevalecientes. En el tratamiento fotoquímico la genotoxicidad presentada en el bioindicador demuestra una disminución desde 44.74 % en la muestra

compuesta de agua residual obtenida de un hospital sin tratamiento hasta un 23.31 % (aproximadamente disminuye en un 50%) en la muestra de agua residual tratada fotoquímicamente. Hay que enfatizar que se trató con muestras reales de agua residual y que contiene una gran cantidad de contaminantes orgánicos, metales pesados, microorganismos, sales como carbonatos, sulfatos, nitratos, fosfatos, etc. y que cualesquiera de ellos pueden generar aberraciones celulares, como se demuestra en los demás bioensayos, incluso en el agua potable que se utilizó como indicador negativo.

c) ABERRACIONES CROMOSÓMICAS DE AGUA POTABLE COMO INDICADOR NEGATIVO

Cuadro 16. Aberraciones cromosómicas (división anormal).

T	No.	AC	PN	PA	MF	AA	TF	IPF	No CA	TCC	FCA/F	FCE/GT (%)
CONTROL NEGATIVO	1	0	4	0	0	0	0	0	4	331	1.20	1.11%
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	268	0	
	3	1	10	0	1	0	0	0	12	289	4.19	
	4	0	3	0	0	0	0	0	3	228	1.31	
	5	2	0	0	0	0	0	0	2	273	0.73	
	6	0	1	0	0	0	0	0	1	284	0.35	
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	297	0	

En el cuadro 16. Se tabulan las células aberrantes obtenidas en el bioensayo negativo, era de esperarse un comportamiento en el cuál no se generará aberraciones celulares, sin embargo, si se observan estos eventos hasta en un 1.11 %, posiblemente por el origen desconocido de los bulbos de ajo utilizados (ajos no cultivados con agricultura orgánica), cultivados con agricultura convencional, en donde se utilizan plaguicidas, irrigación con aguas residuales no adecuadas, con metales, con sales, cultivados en suelos ya contaminados. Aunque en algunas referencias bibliográficas, a las células binucleadas las clasifican como eventos normales Donghua y colaboradores (2009) reportan que el ajo puede presentar células binúcleadas o debido a que el agua de garrafón usada es tratada previamente con cloro, el cual puede causar aberraciones cromosómicas (Itoh *et. al* 2006).

d) ABERRACIONES CROMOSÓMICAS DE CONTROL POSITIVOS

Cuadro 17. Aberraciones cromosómicas (división anormal).

T	No.	AC	PN	PA	MF	AA	TF	IPF	No CA	TCC	FCA/F	FCE/GT (%)
CONTROL POSITIVO $CuSO_4$	1	-	-	348	-	-	-	-	348	448	77.23	81.00%
	2	-	-	389	-	-	-	-	389	483	80.53	
	3	-	-	485	1	-	-	-	486	519	93.64	
	4	-	-	346	-	-	-	-	346	421	82.18	
	5	-	-	426	-	-	-	-	426	534	79.77	
	6	-	-	435	-	-	-	-	235	497	65.39	
	7	-	-	414	-	-	-	-	414	469	88.27	

Tóxico de referencia:

Se usó como tóxico de referencia sulfato de cobre con una concentración 0.0006 gr/250 mL de Agua, en exceso puede reducir el índice mitótico, inhibir la división celular e inducir aberraciones cromosómicas (Liu *et al*, 1994; Jiang *et al*., 2001).

El tratamiento denominado control positivo (sulfato cúprico), presentó una frecuencia de células anormales de 81 %, donde predominó la presencia de profase anormal.

Cuadro 18. Aberraciones cromosómicas (división anormal).

T	No.	AC	PN	PA	MF	AA	TF	IPF	No CA	TCC	FCA/F	FCE/GT (%)
CONTROL POSITIVO NÍQUEL	1	-	-	370	2	4	-	-	376	459	81.91	83.96%
	2	6	-	491	2	-	-	-	499	513	97.27	
	3	-	-	364	-	-	-	-	364	491	74.13	
	4	-	-	346	-	-	-	-	346	474	72.99	
	5	4	-	451	-	-	-	-	455	521	87.33	
	6	-	-	373	-	-	-	-	473	575	82.20	
	7	-	-	489	-	-	-	-	489	532	91.91	

Se usó como tóxico de referencia cloruro de níquel, debido a que en el agua residual utilizada en esta investigación, contenía este metal en exceso, es decir, por arriba de los parámetros establecidos por la norma. Como era de esperarse se observó una frecuencia alta de células anómalas (84%), en donde prevalece la presencia de profase anormal.

Abreviaturas

T= Tratamiento

No. Número de muestra

AC= Alargamiento celular

PN= Polinúcleos

PA= Profase anómala

MF= Metafase anómala

AA= Anafase anómala

TF= Telofase anómala

IPF= Incremento en profase

No. CA= Número de células anormales

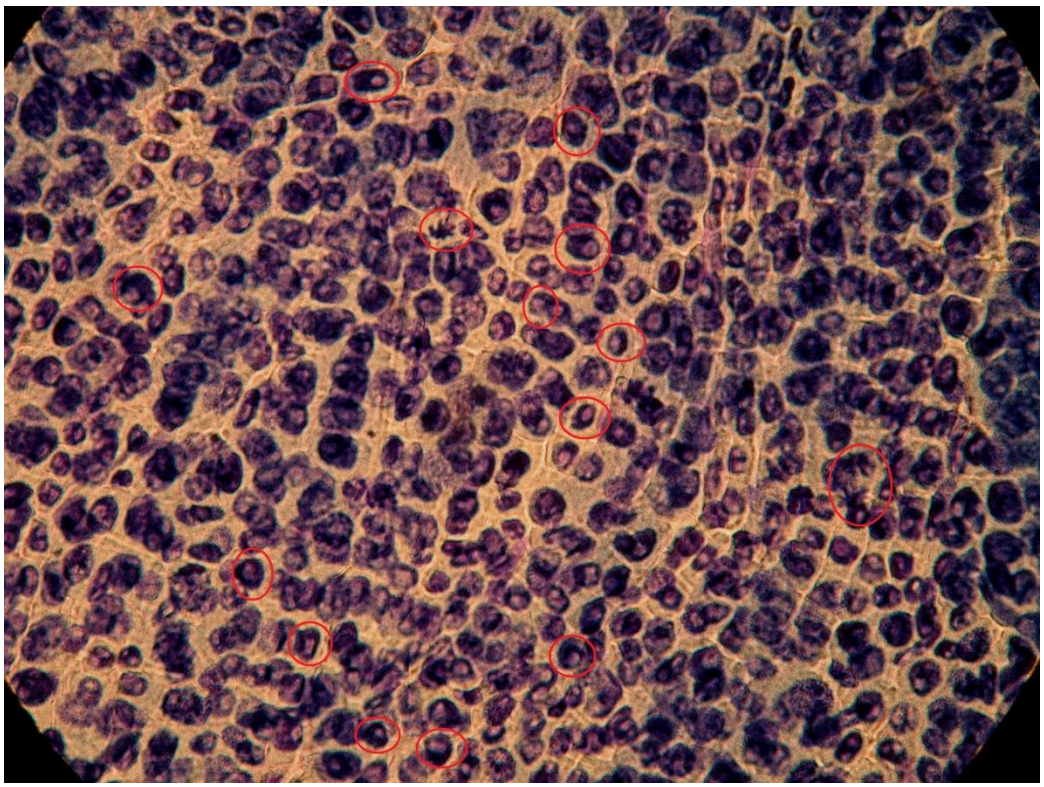
TCE= Total de células contadas

FCA/F= Frecuencia de células anómalas por foto

FCE/GT= Frecuencia de células anómalas en porcentaje por grupo de tratamiento.

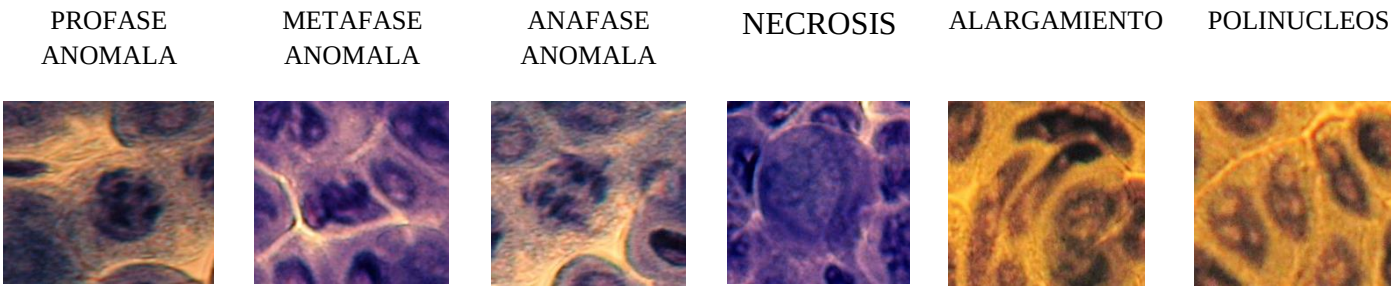
El tratamiento denominado control positivo (NIQUEL), presentó una frecuencia de células anormales de 83.96% , donde predominó la presencia de profase anormal, en la figura 16 se reconoce donde se señalan en rojo tres de las observaciones de esta fase, Profase anormal, Metafase anormal y Anafase Anómala.

Figura 16. Microfotografía de células con presencia de profase anormal, metafase anormal y Anafase anormal, bajo tratamiento en Niquel, objetivo de 40X, tinción azul de metileno, a partir de este ejemplo de microfotografía se estableció el conteo de las células anormales por área.



El Cobre y el Níquel causan inhibición en la elongación de la raíz por la interferencia del metal con la división celular, incluyendo la inducción de aberraciones cromosómicas y mitosis anormal. Se puede evidenciar que la longitud de estas raíces se inhibió al cabo del primer día de exposición. A pesar que las raíces reflejan inhibición, la parte aérea de los ajos continúa creciendo lentamente, lo que indica que las plantas tienen mecanismo de desintoxicación y tolerancia ante la presencia de metales como el Cobre y el Níquel.

Figura 17 Microfotografía de células anómalas en raíces de *Allium Sativum* expuestas en Agua Residual proveniente de una Unidad Hospitalaria.



En la Figura 17 se reportan la presencia de alargamiento celular, esto se ha observado por efecto de peroxidación lipídica, este efecto se ha encontrado inducido en ajo y daba por acumulación de cadmio, indicando que ocurre un ataque que parte de radicales libre sobre los componentes de ácidos grasos de los lípidos contenidos en la membrana, esto atribuido a la excesiva generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) exacerbado por las defensa antioxidantes (Ayla *et al.*, 2006). Aunque la muestra de agua residual no presentó un incremento en este metal. Sin embargo, el metal que rebasó los límites máximos permisibles fue el Níquel, lo cual se puede deberse a este metal u otra sustancia debido a que se trata de una compleja agua residual. También se puede observar lo que son las células

5.CONCLUSIONES

5.1 SISTEMA PERÓXIDO/OZONO/ULTRAVIOLETA (UV/H_2O_2/O_3):

Para el Sistema Peróxido/Ozono/Ultravioleta se presentó como mayor velocidad la degradación de los contaminantes orgánicos, disminución de color y olor; siendo 20 minutos el tiempo óptimo para la trasformación de los contaminantes y empleando una dosis final de 0.02 mL de H_2O_2/850 mL de muestra, cabe mencionar que en el agua residual ya tratada existe presencia de metales debido a que el sistema fotoquímico no realiza la trasformación de los metales dado a que el estado excitado formado se desactiva foto-físicamente sin conducir a un cambio químico (desactivación fotoquímica) como ocurre con los compuestos orgánicos e inorgánicos oxidables. Los metales presentan enlaces fuertes (enlaces metálicos que requieran una energía muy alta para logar su trasformación). Lo único que se lleva a cabo se incorpora radiación UV en presencia que muestran que contienen metales y aumentan la temperatura del sistema de reacción, trasformando la radiación en calor. Algunos metales presentes en el agua son propensos a reaccionar en procesos de oxidación, actuando como catalizadores o inhibiendo estos procesos. Es recomendables remover metales previos a los procesos de oxidación porque pueden transformarse en especies más toxicas.

5.2 SISTEMA ULTRAVIOLETA/PERÓXIDO (UV/H_2O_2):

El Sistema Ultravioleta/Peróxido también realiza una descontaminación de las aguas residuales, pero en comparación con el Sistema anterior la disminución de éste es menor, estableciendo que el incremento de la dosis de H_2O_2 hace lenta las reacciones de oxidación dado que el H_2O_2 hace lenta las reacciones de oxidación dado que H_2O_2 actúa como un captador de radicales hidroxilo, de igual modo como lo afirman mediante estudios en aguas simuladas para la disminución de color, así, el consumo de ●OH sería($\bullet OH + \bullet OH \rightarrow H_2O_2$) y ($\bullet OH + H_2O_2 \rightarrow \bullet O_2H + H_2O$). Esta es una de las razones por lo que este sistema es más lento respecto a los otros dos. (Hwang & Camp; Col., 2008) Los costos de este sistema son altos a escala real si se emplean en los lixiviados debido a la concentración de componentes orgánicos en dichas muestras y la baja transmitancia por lo que debería ser empleados en otro tipo de muestras, el uso de este sistema en muestras de aguas residuales previamente filtradas como ocurrió con el agua residual del hospital sería una alternativa debido a que son aguas específicas dado el grado de contaminación que presenta el riesgo que lleva consigo la descarga a cuerpos receptores.

5.3 SISTEMA ULTRAVIOLETA/PERÓXIDO (UV/O_3):

Éste último Sistema también degrada los contaminantes, pero tampoco iguala la eficiencia del Sistemas Peróxido/Ozono/ Ultravioleta debido a que las reacciones con radical hidroxilo son muy rápidas, pero la concentración de radical hidroxilo bajo condiciones de ozonización normalmente es relativamente baja. Este sistema presentó mayor velocidad de

descontaminación pero a medida que el proceso de fotodegradación ocurría, el incremento de temperatura alteraba la dilución del ozono en el agua (ARMY, 1996), sin embargo este inconveniente puede ser controlado mediante el baño recirculador que permite controlar la temperatura no superando los 45°C; el ozono puede descomponerse en oxígeno a unos 35°C (ARMY, 1996, pág. 82), contribuyendo a que el proceso de generación de radicales como el ●OH sea más lento.

Cabe mencionar que los Sistemas fotoquímicos no realizan las trasformaciones de los metales debido a que el estado de excitas formado se desactiva foto-físicamente son conducir a un cambio químico (desactivación fotoquímica) como ocurre con los compuestos orgánicos e inorgánicos oxidables (Hernández- 2013). Los metales presan enlaces fuertes (enlaces metálicos que requieren una energía muy alta para lograr su trasformación.), lo único que se lleva a cabo cuando se incorpora radical UV en presencia de muestras que contienen metales es aumentar la temperatura del sistema de reacción, trasformando la radiación en calor. Algunos metales presentes en el agua son propuestos a reaccionar en procesos de oxidación, actuando como catalizadores o inhibiendo procesos catalíticos. Es recomendables remover metales previo a los proceso de oxidación porque pueden transformarse en especies más tóxicas, ejemplo de ello es cromo trivalente que se oxida a una forma más tóxica como es el cromo hexavalente o el arsénico que pasa de trivalente a pentavalente. (ARMY 1996)

5.4 EVALUACIÓN GENOTÓXICA

5.4.1 AGUA RESIDUAL

Debido a que el agua residual no ha recibido ningún pre- tratamiento la toxicidad persiste hasta en un 44.74% de las raíces de los ajos (cuadro 14), presentando efectos tóxicos en las células tales como: mayor cantidad de polinúcleos. Además. El predominio de apariciones de necrosis, apoptosis y alargamientos celulares son aberraciones cromosómicas por efecto del agua residual sobre la cofia de la raíz de ajo. Otras de las características más evidentes es el crecimiento más prolongado de las raíces, esta característica se la podemos atribuir a una mayor cantidad de materia orgánica persistente en el agua.

5.4.2 AGUA CON TRATAMIENTO FOTOQUÍMICO

En éste tratamiento se produjo una reducción del porcentaje de células anormales (cuadro 16), sin embargo, persisten aberraciones tales como alargamiento celulares y presencia de polinúcleos lo cual puede conducir a una apoptosis posterior (muerte celular), a pesar de que las células disminuyen su toxicidad y conducen a un alargamiento de las raíces e incremento del número de raíces, se continua presentando efectos tóxicos que pueden atribuirse a la sobre producción de especies reactivas de oxígeno o a la presencia de sustancias que no sufren cambio químico con la fotooxidación (metales por ejemplo).

5.4.3 AGUA POTABLE

El agua potable usada como control negativo, no se encontraron efectos que indiquen toxicidad, sin embargo un porcentaje (cuadro 16) se ve reflejado por la aparición de células binúcleales esto puede deberse a la procedencia de la muestra, ya que se ha reportado que el agua de garrafón usada es tratada previamente con cloro, el cual puede causar aberraciones cromosómicas, otras de las posibles causas es la procedencia del ajo, a lo largo del trabajo se ha mencionado sobre la irrigación de cultivos con agua residuales, en donde el ajo ya puede venir con aberraciones cromosomales no detectadas anteriormente.

5.4.4 AGUA CON $CUSO_4$ Y NÍQUEL

Estas aguas fueron usadas como un control positivo, donde se presentó una frecuencia de células anormales del 80% (cuadro 16 y 17), donde predominó la presencia de profase anómala, en ambos casos se muestra la desintegración de las membranas nucleares y plasmáticas. Los metales presentes causan la inhibición de la raíz, interfiriendo en la división celular, incluyendo la inducción de aberraciones cromosómicas y mitosis anómala. Se observó que la longitud de estas raíces se inhibió al cabo del primer día de exposición, alcanzó una longitud que no sobre pasa 1 cm.

A pesar de que las raíces reflejan inhibición, la parte aérea de los ajos continúan su crecimiento lentamente de manera anormal, ya que se reportan la presencia de células alargadas, metafase anormal y formación de puentes en anafase.

ANEXO

Para realizar el trabajo de Genotoxicidad se diseñaron los equipos necesarios para mantener a los ajos en una posición en la que no tuviera movimiento, no se generará un estrés y hubiera una mejor maniobra de ellos para verter el agua**.** Éstos materiales se hicieron mediante una impresora 3D para después ensamblarlos. Cabe mencionar que el tiempo en que llevo realizar cada una de las piezas era de 9 a 15. Haciendo un promedios de 600 piezas en total.

DIAGRAMA DE MONTAJE DE LOS EQUIPOS

6. BIBLIOGRAFÍA

Arriaga,L., V.Aguilar y J.Alcocer. (2000). Aguas continentales y diversidad biológica de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México

Alberts B. Bray D, Lewis, Rafft M. (1996) Biología Molecular. Omeda, Barcelona

ARMI, D.O. (1996). Ultraviolet/ Chemical Oxidation. *Technical Letter*

Ayla, C. (2006). Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in Allium Sativum and Vicia faba. *Mutagenesis*. 21(1), 77–81

Bates,B.C.; Kundzewics, Z.W.; Wu, S. and Palutikof, J.P. (2008). Climate Change and Water. *Technical paper. Intergovernmental Panel on Climate Change.* Geneva. 24-31.

Bassols Batalla, A. (1997). Recursos Naturales de México. Teoría, conocimiento y uso. Nuestro Tiempo. México.

CNA. (2005). Estadísticas del agua en México. Síntesis. México

CONAGUA (1992). Notas Geohidrológicas de los Distritos de Noroeste, Generación de agua Subterránea, México.

Carabias, J. y R. Landa. 2005. Agua, Medio Ambiente y Sociedad: Hacia una Gestión Integral de los Recursos Hídricos en México. México, DF UNAM- El Colegio de México- Fundación Gonzalo Río Arronte.

Comninellis, C., Kapalka, A., Malato, s., Persons, s, Poulios, I., and Mantzavinos, D. (2008). Perspective, Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&D. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 83. 769-776

Custodio, E. y M.R. Lamas. (1983) Hidrología Subterránea. Omega

CEMDA. (2006). El agua lo que todas y todos queremos saber, México

Cifuentes, E. 1993. Problemas de salud asociados de riesgo agrícola con agua residual en México. Salud Pública de México, 35, 614-619.

Castillo, G. (2004). Ensayo toxicológico y métodos de evaluación de calidad de agua. Estandarizada, intercambiable, resultados y aplicaciones. Otawa, Canadá: Instituto Mexicano de Tecnología del agua. 46-52

Castiglioni, S., (2006). *Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy. Environmental Science and Technology*. Milan

Camargo, B.; Pasqualli, P. and Marin, M.A. (2011). The use of the Cytogenetic to Identify Mechanisms of Action of an Azo Dye in *Allium Cepa* Meristematic Cells. J Enviroment Analytic Toxicol, 1:3. 1-12.

D.B. Gupta. 1992. The importance of water resources for urban socioeconomic development. En International Conference on Water and the Environment: Development Issues for the 21st Century. Documentos de fondo. Dublín, Irlanda.

De la Peña María Eugenia, Ducci Jorge, Zamora Viridiana. (2013). Tratamiento de Aguas Residuales. Copyright. México.

Daughton. C. (2001). Pharmaceuticals and Personal Care the Environmental. USA. American Chemical Society.

Donghua, L. (2009). Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of *Allium sativum L. BIOCELL* 33 (1), 25-32

Durand Leticia, Figueroa Fernanda, Guzmán Mauricio. (2012). La Naturaleza en Contexto. Hacia una Ecología Política Méxicana. México

FAO. (2002). Agua y cultivo, logrando el uso de óptimo de agua en la agricultura. 10-18

FAO. (2009). La agricultura mundial en la perspectiva del año 2050. Roma

Farré, M. and Barceló D. (2003) Toxicity testing of wastewater and sawege sludge by biosensors, bioassays and chemucal analysis. Trend in Analytical Chemistry. 22. 299-310.

GEO-3. (2002). Perpectivas del Medio Ambiente Mundial

Hwang, S., J. Bouwer, E., L. Larson, S., & L. Davis, J. (2008). Decolorization of alkaline TNT Hydrolysis effluents using UV/H2O2. *Journal of Hazardous Materials*, 61–67.

Hernández Aldana, F.; Hernández E., M.; Rivera Tapia, J.,; Ojeda García, A.,; Romero Rodriguez B. Tapia Díaz, M. de L., (2013) Fotoquímica, una alternativa para la remoción de contaminantes emergentes. *Ciencias ambientales, temáticas para el desarrollo.* VI; 89 –100.

Itoh, S., Nakano, A. y Araki, T. 2006, Reevaluation of the toxicity of chlorinated water and the usefulness of MX as an index. J Water Health. 4[4] 523-31.

Jiménez, B. and Asano, T. (2008). "Water reclamation and reuse around the word, in B. Jiménez and T. Asano (eds) Water Reuse: An International Survey of Current Practice, Issues and Need, IWA Publishing, London. 10.5-10.6.

Jiang, W, Liu D. y Liu X. 2001. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of Zea mays. Biologia Plantarum 44: 105-109.

Kelly, A,; Hislop y James R. 1999. The Photochemical Generation of Hydroxyl Radical in the UV-vis/ Ferriozalate/H_2O_2 System. Environ. Sci. Technol. 33, 3119-3126.

Litter, M. 2005. Introducion to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water Treatment Hbd Env Chem. Vol. 2, Part M. 325-366.

OMS (2025) Informe 2015 del PCM sobre el acceso a agua potable y saneamiento: datos esenciales

Orozco, C.; Pérez, A.; Gonzáles M.N.; Rodríguez, F. y Alfayete, J. (2003). "Contaminación Ambiental, Una Visión desde la Química", España: Paraninfo CENGAGE Learning. 688.

Pérez, E.L.A. (2008). Degradantes Fotoquímicos de contaminantes emergentes mediante procesos solares. Evaluación Analítica. España. Tesis Doctorado

Saxena P.N.; Chauhan L.K.S. and Gupta S.K. (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cell of *Allium Sativum*. Spectroscopic basic of chromosome damage. Toxicol 216: 216: 244-252

UNEP, (2007). Global Environment Outlook, GEO4 environment for development, MALTA

Ukaehbu, M. C. and Odeigah, P. (2009). The Genotoxic Effect of Sewage Effluent on All*ium Cepa.* Report and Opinion, 1. 36-41

Winpenny James H.I.O. (2003). Reutilización del agua en la agricultura: ¿Beneficios para todos? Roma