BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Instituto de Ciencias
Centro de Agroecología

Maestría en Manejo Sostenible de Agroecosistemas

TRATAMIENTO FOTOQUÍMICO DE AGUA RESIDUAL PARA SU POTENCIAL USO AGRÍCOLA

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Manejo Sostenible de Agroecosistemas

Presenta:

SANDRA ESMERALDA GARCÍA TOLENTINO

Director de la Tesis

DR. FERNANDO HERNÁNDEZ ALDANA

Puebla, Pue. Noviembre, 2015

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS II
ÍNDICE DE FIGURAS I2
AGRADECIMIENTO INSTITUCIONAL V4
AGRADECIMIENTOS PERSONALES 5I
Abstract 7I
I. INTRODUCCIÓN 8
II. JUSTIFICACIÓN 12
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 13
IV. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL 15
V. OBJETIVOS 35
VI. HIPÓTESIS 36
VII. METODOLOGÍA 37
VII.1 Proceso Fotoquímico 37
VII.2 Bioensayo con plantas de maíz 40
VII.3 Ensayo microbiológico 43
VII.4 Análisis de genotoxicidad 45
VII.5 Análisis estadístico 47
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 48
VIII.1 Espectroscopia UV-vis 49
VIII.2 Análisis de agua residual previo al tratamiento fotoquímico. 51
VIII.3 Bioensayos en plantas de maíz 52
VIII.4 Ensayo microbiológico 54
VIII.5 Pruebas de genotoxicidad. 57
IX. CONCLUSIONES 658
X. LITERATURA CITADA 670

.
.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Titulo	Pág.
1	Principales líneas de emisión y dominio espectral útil de las lámparas de mercurio.	20
2	Métodos utilizados para la determinación de metales en aguas residuales con tratamiento primario avanzado a través de fotometría.	33
3	Comparación de parámetros en muestras de aguas residuales tratadas antes y después de ser irradiadas.	42
4	Comparación de algunos parámetros establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-CCA/032-ECOL/1993.	45
5	Porcentaje de emergencia, altura y peso seco promedio de las plántulas de maíz sobre el efecto de los tratamientos irrigados con diferentes tipos de aguas.	46
6	Determinación de metales pesados a través de absorción atómica en las plántulas de maíz.	47
7	Unidades formadoras de colonias por cada tratamiento utilizado.	48
8	Longitudes de las raíces sobre el efecto de los tratamientos.	51
9	Frecuencia de células anómalas sobre el efecto de los tratamientos.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Titulo	Pág.
1	Disponibilidad del agua en el planeta.	8
2	Extracción de agua por sector.	9
3	Sistema de recirculación del fotorreactor *batch*.	31
4	a) Distribución de los tratamientos b) Parcela útil.	34
5	Método de diluciones decimales.	37
6	Siembra por estría en placa.	37
7	Efecto del pH sobre el equilibrio H_2CO_3, HCO_3^- y CO_3^{2-}	41
8	a) Comparación de espectros UV-vis de aguas utilizadas en los diferentes tratamientos aplicados en las plántulas de maíz. b) Comparación de los espectros de la muestra inicial y después de tratar fotoquímicamente. c) Espectros resultantes durante diferentes tiempos de irradiación.	43
9	Unidades formadoras de colonias en Tratamiento Primario Avanzado.	48
10	Unidades formadoras de colonias en Agua Potable.	49
11	Unidades formadoras de colonias a los diez minutos de la irradiación con Tratamiento Fotoquímico.	49
12	Unidades formadoras de colonias a los quince minutos de la irradiación con Tratamiento Fotoquímico.	50
13	Unidades formadoras de colonias a los veinte minutos de la irradiación con Tratamiento Fotoquímico.	50
14	Comparación del crecimiento de raíces de *Allium sativum* en los diferentes tratamientos utilizados.	52
15	Microfotografía de células con presencia de profase anormal, bajo tratamiento de sulfato cúprico, objetivo de observación 40X, tinción azul de metileno, a partir de este ejemplo de microfotografías se establecen el conteo de las células	54

anormales por área.
16 Fases celulares del control negativo. 55
17 Vacuolización de la célula por efecto de acumulación de cobre; ampliación 100X 55
18 Microfotografía de células de la punta de raíz de ajo, evidenciando la formación de polinúcleos, que conducen a una apoptosis (tinción con orceina acética). 56
19 Microfotografía de células de la punta de raíz de ajo, evidenciando la formación de apoptosis (tinción azul de metileno.) 56
20 Fases celulares Tratamiento Primario Avanzado. 57
21 Izquierda; células con presencia de polinúcleos (100X – tinción azul de metileno); derecha; Alargamiento celular y binúcleos (40X-tinción azul de metileno). 57

AGRADECIMIENTO INSTITUCIONAL

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Química Ambiental del Centro de Química del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, bajo la dirección del Dr. FERNANDO HERNÁNDEZ ALDANA y con la ayuda de una beca otorgada por el CONACYT registro №. **556336.**

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Esta tesis, si bien ha requerido de mucho esfuerzo y dedicación por parte de la autora y con mucha ayuda de su director de tesis, la cual no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas las personas que a continuación mencionaré y a las cuales de antemano les doy mis más humildes gracias.

Primeramente, doy gracias a Dios por estar conmigo en cada paso que doy, por darle fortaleza a mi corazón e iluminar mi mente, así como poner en mi camino a aquellas personas que han sido la base y soporte durante toda mi vida y en esta etapa de estudio.

Agradezco infinitamente a mis padres Adriana y Laureano que aún sin estar físicamente en esta etapa procuran mi bienestar, y que desde el primer momento en que tomé la decisión de seguir con mis estudios me brindaron y me brindan todo el apoyo, cariño y colaboración sin ningún interés, ellos son las personas por la cuales hoy puedo afirmar que a pesar de los tropiezos nunca me han dejado sola; por enseñarme tanto y por ser un gran ejemplo a seguir, los quiero mucho.

A mi hija Scarlett que a pesar de su corta edad, sabe que me cuesta mucho el separarnos aunque haya sido por cortos tiempos y que éste gran esfuerzo lo hice para poder darle un mejor futuro.

A mis hermanos Eduardo e Itzel, que de igual forma no estamos casi juntos, sé que ellos me apoyan en todo lo bueno que haga y que cuento con ellos en las buenas y las malas.

Un agradecimiento especial al Dr. Fernando por aceptarme para trabajar con él y confiar en mí, por su paciencia y apoyo brindado desde siempre y por su gran amistad que me ha brindado, por escucharme y entenderme, por ser una persona con la que puedo contar siempre, por el cariño que me brinda y por los

ánimos que me ha dado cuando me notaba seria o confundida, muchas gracias Doc.

Así como a mis asesores los Doctores Agustín Aragón, Antonio Rivera y Rolando Rueda, que sin su ayuda y colaboración éste proyecto no hubiera podido ser finalizado en tiempo y forma.

De igual forma mi más sincero agradecimiento a mis amigos los Ingenieros Alejandro y Elizabeth, que de igual forma sin conocerme han confiado en mí y me han apoyado en esta etapa, sobre todo cuando más necesitaba de su apoyo, sin poner nunca peros o darme negativas, sino todo lo contrario.

A todas mis amigas(os) en general, por darme su apoyo y ánimo en cada etapa que se pasa y viene a lo largo de estos dos años de estudio.

En general agradezco a todas y cada una de las personas que han estado presentes en la realización de esta tesis, con sus altas y bajas, las cuales me dieron y siguen dando su apoyo, desde lo más profundo de mi corazón les doy gracias el haberme brindado todo el apoyo, colaboración ánimo y sobre todo cariño y amistad.

Abstract

Urban wastewaters after advanced primary treatment (APT) are again discharged into the river without any use. In the present research in a soilless culture system where maize seedlings were tested three different treatments were planted: 1. Obtained from the effluent water of an APT, 2. Photochemically treated wastewater (PCT) and 3. Urban water network (UW). A block randomly distributed design was probed, with five repetitions where the experimental unit was formed by a 36 cavities filled with Peat Moss and the useful plot was considered by 16 central plants for each experimental unit. Irrigations were scheduled since the first time of the planting, employed 27 mL/cavity. The removal of the organic contaminants present into the water was conducted by the employment of a *Batch* photoreactor, adapted with a recirculation system ($UV/H_2O_2/O_3$), evaluated to determine UV-Vis spectra, pH, color and turbidity parameters initial and final samples. Measurements of height and percentage of germination in plants, where is determined that the seedlings irrigated with water PCT were reached the highest average compared to APT and UW irrigated; After the 50 cm growing plant, a determination of the presence of heavy metal, via atomic absorption method, were carried on analyzing the leaves, roots and stalks of the samples. Concluding that the presences of heavy metals into the APT were higher than PCT treatments, it can be an impediment for the normal growing of the plants. Therefore, the application of the photochemical treatment using ($UV/H_2O_2/O_3$) system, represent a viable alternative for the wastewater treatment after the APT process to possible use of irrigation. In the microbiologic analysis it is observed that in longer irradiation times exist less colony forming unities per milliliter of treated water (CFU/mL) until they deactivate completely. In regard to the genotoxicity, it is observed that the chromosomic anomalies generated when Allum *Sativum* is grown in wastewater treated photochemically decreases up to 6 % or due to the presence of residual hydrogen peroxide. This toxicity found in the photochemical treatment would be attributed to the presence of metals due in this treatment to metals is not removed.

I. INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los compuestos químicos más notables e importantes para los seres humanos y la vida en general del planeta. Químicamente el agua es el óxido de hidrógeno (H_2O) que a su vez es el elemento más sencillo. En el aspecto cuantitativo, se sabe que el agua cubre aproximadamente el 72 % de la superficie terrestre (363 x 10^6 km^2) y la materia viva incluye en su composición desde un 50 a un 90 % del peso total (Bates *et al.,* 2008).

Los principales ecosistemas y biotas terrestres, así como los seres humanos, dependen del agua dulce, aquella cuyo contenido de sales es menor al 0.01 % (100 ppm). Sin embargo, el 97 % del agua de la Tierra es salada y se encuentra en mares y océanos, el restante 3 % es agua dulce; 2.24 % del total está concentrada en los casquetes polares y glaciares, 0.61 % es agua profunda e inaccesible y solo el 0.4 % del total es accesible (Nebel y Wrigt, 1999).

Aproximadamente el 70 % del agua dulce disponible se utiliza para la agricultura. La sobreexplotación del agua subterránea por parte de los agricultores excede los niveles de recarga natural de los acuíferos en al menos 160 000 millones de metros cúbicos cada año (FAOWATER, 2008). Se espera que en tiempos y regiones donde existe escasez de agua los agricultores adopten como alternativa el uso de aguas residuales urbanas o domésticas como fuente de agua para riego. Si bien el agua regenerada es una parte relativamente pequeña del suministro de agua total, ésta pudiera resolver algunos problemas para la agricultura.

Actualmente hay desequilibrio entre la disponibilidad y el incremento de la demanda del agua, de ahí la necesidad creciente de lograr un equilibrio hidrológico que asegure el abasto suficiente de agua a la población y armonizar la disponibilidad natural. Sobre esto, existe evidencia de la reutilización de aguas residuales en la agricultura en las civilizaciones griegas y romanas (Angelakis y Durham, 2008). La agricultura utiliza alrededor del 70 % de la extracción de agua, se espera que en tiempos y regiones donde existe escasez de agua los agricultores adopten como alternativa el uso de aguas residuales urbanas o

domésticas como fuente de agua para riego. Si bien el agua regenerada es una parte relativamente pequeña del suministro de agua total, ésta pudiera resolver algunos problemas para la agricultura. Asimismo, muchas variedades de cultivos utilizan agua regenerada en condiciones adecuadas tales como: cultivos agrícolas (maíz, cebada, avena, trigo), cultivos de fibras y semillas (algodón, semillas de flores), cultivos de hortalizas (brócoli, col, apio, coliflor), cultivos para forraje (alfalfa, heno, pasto) (Asano *et al*., 2007; Cirelli *et al*., 2012; Agrafioti y Diamadopoulos, 2012; Liu *et al*., 2010).

El crecimiento demográfico en el planeta, somete a una gran presión a los recursos hídricos, sobre todo por la necesidad de producir alimentos, como consecuencia se provoca 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 el consumo de agua insalubre y alimentos contaminados, así como, a las malas prácticas de higiene (CONAGUA-OMM, 2008); provocando en el peor de los casos la muerte principalmente en niños menores de 5 años y ancianos (Hernández *et al*., 2011; Rodríguez *et al.*, 2013). El cólera es un ejemplo de las diversas enfermedades que se transmiten al hombre por la ingesta de agua y alimentos contaminados; esta enfermedad causada por la bacteria *Vibrio cholerae* provocó una epidemia en varios países latinoamericanos en 1991 (Hernández *et al*., 2011), problemas como estos han conducido a la toma de medidas para el mejoramiento de la calidad del agua enfocadas especialmente en la desinfección (Fernández y Cecile, 2005).

El uso de alternativas para la desinfección e inactivación de agentes patógenos y para la eliminación de compuestos orgánicos persistentes y tóxicos, involucran el uso de la radiación ultravioleta como son los procesos de oxidación avanzados, estos procedimientos representan actualmente un eficaz tratamiento que conduce en un futuro no muy lejano al uso de la luz solar, no solo para la obtención de energía, sino como una alternativa del control de contaminantes mediante la fotooxidación. La degradación de contaminantes y microorganismos persistentes además de contaminantes emergentes se llevará

a cabo por este sistema sobre aguas residuales procesadas después de un Tratamiento Primario Avanzado (TPA).

Se estima que alrededor de 20 millones de hectáreas de tierra (casi el 7 % del área total) en el mundo son regadas con aguas residuales; particularmente en México las aguas residuales son clasificadas dentro de dos grupos, municipales e industriales (CONAGUA, 2012). De las municipales alrededor del 40.5 % son tratadas, y de las industriales un 15.8 %; el agua residual de actividades como la refinería altera la calidad del agua en el país; sumado a esto, no toda el agua que es tratada cumple con la normatividad correspondiente (Jiménez y Galizia, 2014).

En México los tratamientos de aguas residuales más empleados son: lagunas de estabilización (39.05 %), lodos activados (23.35 %), rafa o UASB (7.25 %), y fosa séptica (4.65 %) (Gil, 2010).

En el estado de Puebla, solo 38 plantas de tratamientos de aguas residuales realizan algún tratamiento a sus aguas residuales; de estas un 81 % recibe tratamiento primario y un 17 % recibe tratamiento secundario o convencional con filtros biológicos, lodos activados y sistema dual, la desinfección está basada en la cloración; el 54 % de las descargas sin tratamiento han sido arrojadas en suelos y barrancas y se estima que el 39 % se vierte en el rio Atoyac (INEGI, 2013), que atraviesa todo el municipio de Puebla actuando como cuerpo receptor de aguas residuales industriales y municipales, siendo así un foco de contaminantes y malos olores. Se reportan 5 plantas de tratamiento en esta municipalidad donde solo una trata alrededor del 40 % del volumen total generado en la zona metropolitana de Puebla (Gil, 2010), mediante los procesos de desarenado, desengrasado y clarificado lo que permite eliminar del agua 14.8 toneladas de grasa al día y retirar 4.7 m^3 de arena al día; a su vez produce 80 m^3 de lodo deshidratado al día para ser usados en más de 100 hectáreas de suelos erosionados (CONAGUA, 2011). El río Atoyac es el tercer cuerpo de agua más contaminado del país; superando su capacidad de carga 8 veces más del límite de lo que la CONAGUA clasifica como aceptable (CONAGUA LFD, 2014), el rio Atoyac desemboca sus aguas

(69 t día^{-1} de contaminante) a la presa Valsequillo "Manuel Ávila Camacho"; la presa además recibe descargas del rio Alseseca pero en menor caudal (28 t/día) (Saldaña y Gómez, 2006). El agua de la presa de Valsequillo se utiliza para riego agrícola del Distrito de Riego 030 Valsequillo que incluye los Valles de Tecamachalco, Tlacotepec, Tepanco y Tehuacán – Puebla (Díaz, 2008).

En este trabajo se utilizó un sistema fotoquímico ($UV/H_2O_2/O_3$) el cual tiene el propósito de eliminar contaminantes orgánico, transformar contaminantes inorgánico oxidables y microorganismos patogénicos. Estos tratamientos forman parte de los tratamientos de fotodegradación que pueden ser desde específicos hasta sistemas de amplio espectro de degradación.

II. JUSTIFICACIÓN

Históricamente el agua ha sido sinónimo de higiene, limpieza e incluso de salud, desafortunadamente cada vez es más frecuente el uso de las aguas no tan limpias por la presión del crecimiento demográfico que demanda cada vez más productos agrícolas de mejor calidad y en mayor cantidad. El agua es uno de los factores de la producción más importante en los agroecosistemas agrícolas, siendo el riego de los cultivos el principal sector consumidor de agua. Asociado al cambio climático ha traído como consecuencia sequías y escasez, obligando al uso de aguas residuales para la agricultura. Estas aguas residuales deben adecuarse debido a que se han encontrado contaminantes orgánicos y metales absorbidos en tubérculos y partes aéreas comestibles, estos contaminantes orgánicos si son no polares al igual que los metales pesados son bioacumulables en el tejido adiposo y ocasionar problemas de salud (Vig et al., 2003).

Una estrategia a seguir en este trabajo es la simulación de los procesos de autopurificación natural con una tecnología moderna y limpia. Estos se conocen como Procesos Avanzados de Oxidación (AOP´s), los cuales involucran la generación y uso de especies transitorias poderosas, principalmente el radical •OH, para la producción de estas especies químicas oxidantes, es necesario utilizar como energía luz ultravioleta, peróxido de hidrogeno y ozono como fuentes de radicales libres •OH.

Los radicales libres •OH transforman profundamente la estructura química de los contaminantes orgánicos e inorgánicos oxidables, cambiando su posible actividad biológica y consecuentemente su toxicidad. Además la radiación ultravioleta inactiva a los microorganismos acondicionando el agua residual para ser utilizada potencialmente para uso agrícola.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La población mundial está elevándose a una tasa de aproximadamente 1,2 % al año y se espera que aumente a 9,000 millones en el año 2050 (UN, 2013). Proporcionar agua adecuada y alimentos a estas personas es un gran desafío. El agua no sólo es esencial para el consumo humano directo y para los hogares, sino además para producir alimentos y productos manufacturados necesarios para vivir y mejorar los estándares de calidad de vida.

Es probable que el cambio climático agrave la escasez de agua. Un calentamiento global de 2 °C podría llevar a una situación en que “entre 100 y 400 millones más de personas podrían estar en peligro de padecer hambre y entre una a dos mil millones de personas ya no tendrán agua para satisfacer sus necesidades de consumo, higiene y alimentos”.

El ciclo natural del agua tiene una gran capacidad de purificación. Pero esta misma facilidad de regeneración del agua y su aparente abundancia, hace que sea el vertedero habitual en el que se arrojan los residuos producidos por las actividades antropogénicas. Muchas aguas están contaminadas hasta el punto de hacerlas peligrosas para la salud humana y dañinas para la vida, y hasta no renovables.

La agricultura es el sector donde se necesita el mayor porcentaje de agua comparado con el sector industrial, en tiempos de escasez extrema, las autoridades nacionales suelen optar por derivar el agua de los agricultores hacia las ciudades, dado que el agua tiene mayor valor económico en el sector industrial y urbano que en la mayoría de los usos agrícolas. En estas circunstancias, el uso de agua regenerada en agricultura permite conservar el agua dulce disponible hasta el momento para un fin de mayor valor económico y social, y así también los agricultores reciben un suministro de agua fiable y rico en nutrientes.

El medio ambiente es un usuario del agua silencioso, que está cargando con gran parte del déficit del recurso hídrico y que terminará por afectar de algún modo el suministro de agua pare cubrir las necesidades mínimas humanas.

IV. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

El agua es la sustancia que más abunda en la Tierra y es la única que se encuentra en la atmósfera en los tres estados de la materia (líquido, sólido y gaseoso).

La mayor reserva de agua está en los océanos, que contienen el 97 % del agua que existe en la Tierra (Figura 1). Se trata de agua salada, que sólo permite la vida de la flora y fauna marina. El resto es agua dulce, pero no toda está disponible: gran parte permanece siempre congelada, formando los casquetes polares y los glaciales. Desde el punto de vista cualitativo, se puede aseverar que todas las formas de vida requieren una entrada importante de agua y casi todas las funciones de nutrición y excreción en los seres vivos se basan en ella. (Orozco *et al.,* 2003).

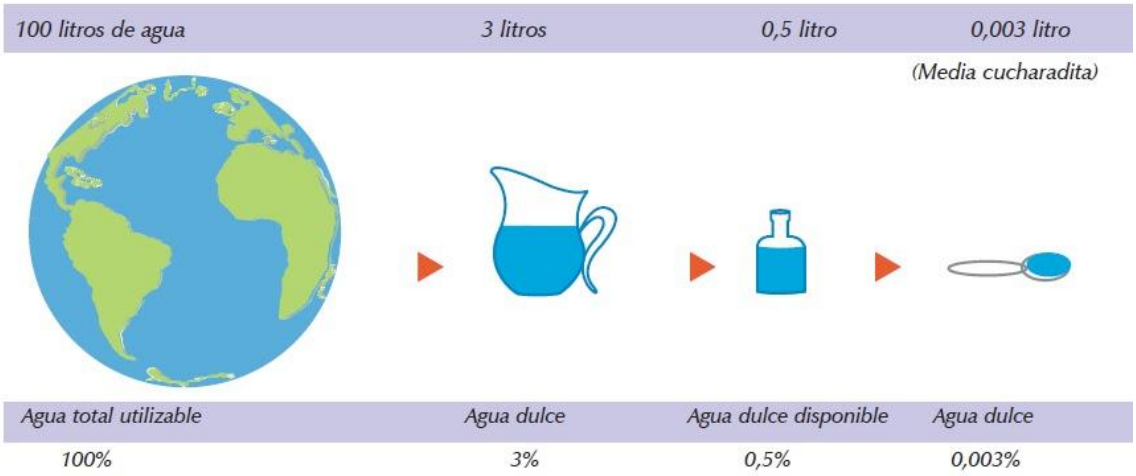


Figura 1. Disponibilidad del agua en el planeta.
Fuente **www.unesco.org**

La gran cantidad de agua dulce de las capas polares, glaciares y acuíferos profundos no se puede aprovechar. El agua dulce que puede ser usada procede básicamente de la escorrentía superficial del agua de lluvia, generada en el ciclo hidrológico. El agua se recicla continuamente por la evaporación causada por la luz solar unas cuarenta veces al año (FAO, 2002).

El promedio anual de precipitación sobre la tierra alcanza 119,000 km^3, de los cuales alrededor de 74,000 km^3 se evaporan a la atmósfera. Los 45,000 km^3 restantes fluyen hacia los cuerpos de agua o se infiltran en el suelo alimentando a los mantos acuíferos. Este volumen de agua se denomina

convencionalmente recurso hídrico. No todos estos recursos son utilizables, porque parte del agua fluye hacia ríos remotos y parte durante inundaciones periódicas. Se estima que de 9,000 a 14,000 km^3 son económicamente utilizables por el hombre, nada en comparación con la cantidad total de agua de la tierra (FAO, 2002).

En la actualidad aproximadamente 3,600 km^3 de agua dulce son extraídos para consumo humano, es decir, 580 m^3 per cápita por año. A nivel mundial (Figura 2), excepto la Unión Europea y América del Norte, el sector agrícola es el que consume más agua, que representan globalmente alrededor del 70 % de toda la extracción, el consumo doméstico alcanza aproximadamente el 10 % y la industria el 20 % (FAO, 2002).

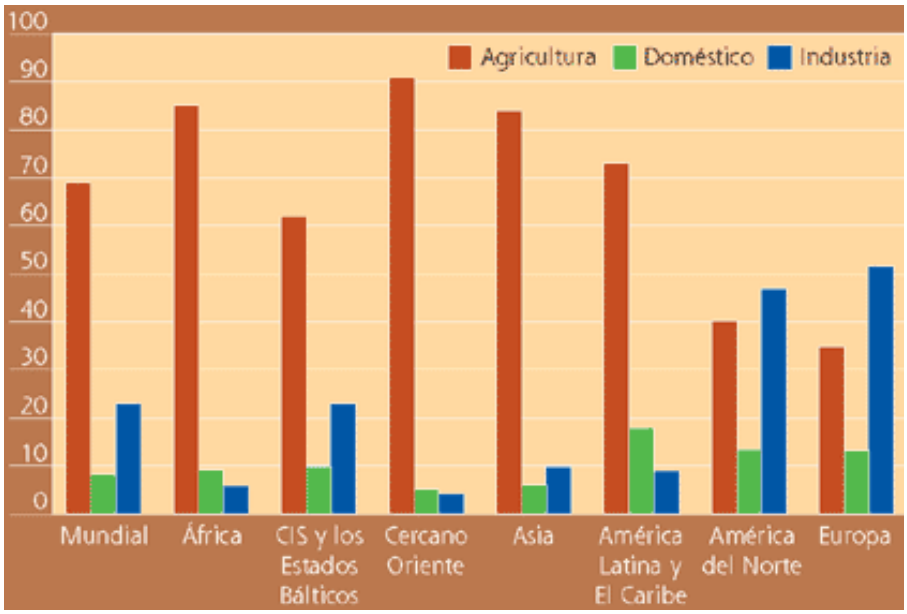


Figura 2. Extracción de agua por sector.
(FAO, 2002).

En muchas partes del mundo, la demanda del recurso hídrico supera sustancialmente al suministro de agua. En la actualidad se calcula que 430 millones (8 % de la población mundial) viven en países afectados por la escasez de agua; en 2020 se predice que alrededor de un cuarto de la población mundial estará enfrentando escasez crónica y recurrente de agua dulce. La extracción de agua es aproximadamente el doble de la recarga de los acuíferos; como resultado los niveles freáticos descienden de uno a tres metros cada año; debido a esta sobreexplotación la población está expuesta a riesgos

de salud, como alto contenido de fluoruros o arsénico en el agua potable (Castro, 2006). Asimismo, el uso excesivo de agua ha dado lugar al aumento de la salinidad, por la sobreexplotación.

Las innovaciones tecnológicas en la agricultura y el aumento de la superficie de cultivo han asegurado hasta el momento la producción de alimentos. Se estima que la población mundial crecerá a 9 mil millones en 2050 y con ello la producción de alimentos tendría que duplicarse. Por lo tanto, en las próximas décadas, la seguridad alimentaria y la nutrición podrían estar en una situación crítica en muchas partes del mundo, especialmente en los países en desarrollo (Altieri, 2010).

La cantidad de agua que requieren los cultivos varía entre 1,000 y 3,000 m^3 por tonelada de cereal cosechada. Por ejemplo, se requieren de 1 a 3 toneladas de agua para obtener 1 kg de arroz. Sin embargo, la cantidad de agua necesaria para la producción de una tonelada de cualquier cereal puede reducirse significativamente si se utiliza un buen manejo del suelo (FAO, 2002).

Estos retos mencionados se dan dentro de un escenario de alta disparidad en la distribución de la tierra, de marcados niveles de pobreza rural y de una decreciente y degradada base de recursos naturales, principalmente el agua.
El desafío es mantener una flexibilidad suficiente que permita la adaptación a los cambios ambientales y socioeconómicos impuestos desde afuera (Altieri y Nicholls, 2000). Así también es una cuestión de mantener el balance de las necesidades y oportunidades sin que el sector agrícola pierda su autonomía, organización, cultura y principalmente los recursos naturales (suelo, agua, biodiversidad, energía, ecosistemas).

La búsqueda de una sociedad sustentable implica, entre otras cosas, la reconversión de los sistemas productivos primarios (agricultura, ganadería, pesca, forestería, extracción) hacia modalidades ecológicamente adecuadas. En los países con una injusta distribución agraria, se hace además necesario impulsar la democratización de la propiedad de la tierra (Toledo, 2002).

Los elementos básicos de un sistema de cultivo sustentable son la conservación de los recursos renovables, la adaptación del cultivo al medio ambiente y el mantenimiento de niveles moderados, pero principalmente sustentables en la productividad (FAO, 2009).

La reducción del uso de energía y la preservación de los recursos naturales habla de una agricultura sustentable. Más del 40 % de los países en desarrollo se encuentran en situación crítica y los esfuerzos se ven marcados en la reutilización del agua para su producción agrícola (Salgot *et al*., 2006).

Aproximadamente 1 000 millones de personas viven actualmente en lo que se define como pobreza absoluta, es decir, con ingresos diarios inferiores a un dólar de EE.UU, la mayor parte de ellos padecen hambre crónica (FAO, 2002). En los países en desarrollo, de cuatro niños más de uno tiene un peso inferior al normal, y en los países en desarrollo la desnutrición es la causa principal de mortandad de la mitad de los niños. Aquellos menores que sobreviven y llegan a ser adultos encaran un futuro limitado por el hambre, la falta de vivienda, el analfabetismo y el desempleo (OMS, 2003).

Aunque el número de personas que padecen hambre ha disminuido en un 5 % desde los primeros años de la década de los noventa, se estima que en los países en desarrollo casi 800 millones todavía sufren hambre y en la misma situación están 30 millones en otros países (FAO, 2002). La lucha contra el hambre será cada vez más difícil, a medida que la población aumente y más gente del medio rural emigre a las áreas urbanas.

El factor clave es el aumento de la seguridad alimentaria posibilitando que todos los hogares tengan acceso real a alimentos adecuados para todos sus miembros y que no corran el riesgo de perder este acceso. Esto significa que no solamente los alimentos deben estar disponibles sino también que la gente tenga capacidad de compra. Hay varias formas de aumentar la seguridad alimentaria: aumentando localmente la producción de alimentos y la productividad, aumentando regularmente y con seguridad la importación de alimentos, proporcionando más trabajo y mejores remuneraciones a aquellas

personas que no tienen dinero para comprar los alimentos que necesitan, y mejorando los sistemas de distribución de alimentos.

La autosuficiencia alimentaria, que se alcanza cuando se satisfacen las necesidades alimenticias mediante la producción local, generalmente suele ser un objetivo de las políticas nacionales (Molden, 2007).

La reutilización en agricultura de las aguas residuales tratadas es una opción que se está estudiando y adoptando cada vez más en regiones con escasez de agua. Muchas regiones del mundo están experimentando crecientes problemas de déficits hídricos. Esto se debe al crecimiento implacable de la demanda de agua frente a unos recursos hídricos estáticos o en disminución y a las periódicas sequías debidas a factores climáticos (Molle y Berkoff, 2007).

Este intercambio también puede acarrear beneficios ambientales, al permitir la asimilación de los nutrientes presentes en las aguas residuales por las plantas y reducir así la contaminación aguas abajo.

Existe evidencia de la reutilización de aguas residuales en la irrigación de la agricultura desde las civilizaciones griega y romana. Se espera que en los tiempos y regiones donde el agua es escaza, los agricultores adoptan el uso alternativo de aguas residuales urbanas o domésticas como fuente de agua para el riego. Aunque el agua reutilizada es una parte relativamente pequeña del total del suministro del recurso hídrico, que podría resolver algunos de los problemas de la agricultura y consecuentemente en la producción de alimentos (Méndez *et al*., 2006).

Las aguas residuales domésticas, sin ningún tratamiento, han sido utilizadas para riego agrícola, aumentando de esta forma la productividad del suelo debido a los elevados contenidos de materia orgánica para las plantas y se evita el uso de fertilizantes, por lo que el uso de aguas residuales les resulta incluso económico. Sin embargo, se han incrementado notablemente las enfermedades gastrointestinales como consecuencia de los patógenos

contenidos en este tipo de aguas, produciendo verdaderos problemas de salud pública especialmente (Cifuentes, 1993).

Uno de los inconvenientes del uso de aguas residuales es la presencia de bacterias coliformes, las cuales provienen de las heces de humanos y animales; y la existencia de helmintos, cuya procedencia además del uso de agua residual es el empleo de estiércol como fertilizante, carencia de instalaciones sanitarias adecuadas y la falta de control de animales. El alto riesgo para la salud causado por los helmintos se debe a que su estadio de huevo perdura en el ambiente (Córdova *et al.,* 2002). Hernández-Acosta *et al.* (2014) citan que los huevos de *Ascaris lumbricoides* y *Toxocara canis* conservan su poder infectante en el suelo entre siete y doce años. Además de la presencia de microorganismos patógenos. Si bien, el uso de aguas residuales impulsa la producción de los campos agrícolas, también origina riesgos para la salud de los productores, sus familias y a la población que consuma los cultivos irrigados con este tipo de aguas.

En 1980, la Organización Mundial de la Salud, el Banco Mundial y el Centro Internacional de Referencia para Eliminación de Desechos, patrocinaron una serie de estudios y reuniones de expertos para examinar estos riesgos para la salud (Shuval, 1986 y Prost, 1988)a partir de una evaluación de la evidencia epidemiológica disponible, se estableció que los principales riesgos son: la transmisión de infecciones por nematodos intestinales, tanto a los que trabajan en los campos de riego con aguas residuales y para aquellos que consumen verduras cultivadas en estos campos; estas infecciones se deben a *Ascaris lumbricoides* (lombriz intestinal del ser humano), *Trichuris trichiura* (la triquina humana), *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus* (los anquilostomas humanos); y la transmisión de enfermedades bacterianas fecales como diarrea bacteriana, la disentería, la fiebre tifoidea y el cólera.

Se estima que 20 millones de hectáreas se riegan con aguas residuales o aguas contaminadas (Jiménez y Asano, 2008; Keraita *et al.,* 2008).
Asimismo, no existen datos que cuantifiquen la contribución de aguas residuales para el suministro de alimentos. Algunos estudios reportan que en

Pakistán el 26 % de la producción de hortalizas es por riego con aguas residuales (Ensink *et al*., 2004), en Hanoi, Vietnam el 80 % se irriga con aguas residuales diluidas y en África Occidental se calcula entre 50 y 90 % (Drechsel *et al*., 2006).

En los países en desarrollo, los recursos financieros y materiales limitados para el tratamiento de agua, la situación socio-económica y el contexto de la urbanización crean las condiciones para el uso de aguas residuales sin planificación ni control. Estas prácticas representan un riesgo significativo para la salud pública y tienen un alto impacto en la generación de enfermedades (UNESCO, 2008).

Problemas del uso de aguas residuales.

a) Limitada capacidad de las ciudades para el tratamiento de sus aguas residuales, provocando en consecuencia la contaminación de los suelos, las aguas y las fuentes de agua de riego tradicionales.
b) Falta de fuentes alternativas de agua (más baratos, de manera similar confiable, disponible o seguros) en el medio físico.
c) La demanda urbana de alimentos y los incentivos de mercado que favorecen la producción de alimentos en las proximidades de las ciudades, donde las fuentes de agua están generalmente contaminados.(FAO, 2013).

Ventajas del uso de aguas residuales.

a) La gran demanda mundial de alimentos, en el mundo, el mayor usuario de agua residual es la agricultura (Jiménez y Asano, 2008).
b) La disponibilidad todo el año, a diferencia de la precipitación pluvial o arroyos estacionales. Permite que los rendimientos, la gama de cultivos, la producción todo el año, aumenten en las zonas áridas y semiáridas (Keraita *et. al.,* 2008).
c) El aumento de la productividad y las ganancias permiten a los agricultores un medio de vida más fiable.

d) Su alto contenido de nutrientes. Las aguas residuales reciclan materia orgánica y una mayor diversidad de nutrientes que cualquier fertilizante comercial puede proporcionar, reduce por lo tanto el uso de fertilizantes.

Desventajas del uso de aguas residuales.

a) El riesgo para la salud por la presencia de agentes patógenos (virus, bacterias, protozoos y parásitos multicelulares), irritantes de la piel y productos químicos tóxicos como metales pesados, pesticidas y residuos de plaguicidas) (FAO, 2013). En primer lugar, las enfermedades están vinculados a la naturaleza del patógeno en las aguas residuales y, por tanto varían de un lugar a otro. En segundo lugar, los riesgos no se limitan a los agricultores, se pueden observar en al menos cuatro grupos: los trabajadores agrícolas y sus familias; los que manipulan cultivos; consumidores de cultivos o la carne y la leche procedente de ganado pastando en los campos contaminados; y los que viven en o cerca de las áreas donde se utilizan aguas residuales, dentro de estos grupos los más vulnerables son los niños y los ancianos.
b) Los agentes patógenos contaminan a los cultivos principalmente a través de contacto directo, aunque existen casos de absorción por las plantas (Hamilton *et al.,* 2007) y pueden ser una fuente de altos niveles de metales pesados y compuestos tóxicos orgánicos (Abaidoo *et al.,* 2009; Hamilton *et al*., 2007). Por esta razón existen investigaciones acerca de las cantidades máximas permitidas de metales pesados que los cultivos y suelo pueden estar expuestos cuando se aplican aguas residuales.
c) Los posibles efectos biológicos, como la genotoxicidad. 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, en este caso en las aguas residuales.

La protección y conservación de los recursos naturales es una de las mayores prioridades en la actualidad, el agua es un recurso valioso por lo que debe ser aprovechada al máximo. Muchas técnicas actuales del reciclado del agua contaminada solo transfieren contaminantes sin degradarlos, transformarlos o

eliminarlos. Se busca una alternativa de tratamiento adecuada, que permita la protección de la salud, remoción de la genotoxicidad, recuperación de agua y la estabilidad de los nutrientes.

La remoción de contaminantes tóxicos recalcitrantes, puede realizarse por tecnologías convencionales como: procesos de adsorción, stripping, floculación-coagulación (tecnologías no destructivas) y tecnologías que transforman profundamente la estructura química de los contaminantes cambiando sus actividades biológicas y convirtiéndolos en sustancias inocuas.
El propósito principal de la oxidación química es la mineralización de los contaminantes, transformándolos a dióxido de carbono, agua y compuestos inorgánicos (nutrientes) o en compuestos químicos inofensivos. Estos métodos correctamente aplicados dan solución al problema de la remoción de contaminantes (Sandip *et al*., 2011).

Los contaminantes no biodegradables se caracterizan por su alta estabilidad química y persistencia muy difícil de ser mineralizados, es necesario adoptar tecnologías más eficaces que las convencionales como Procesos de Oxidación Avanzada (Sandip *et al*., 2011).

Los POA´s (procesos de oxidación avanzada) es una metodología comúnmente usada, efectiva para el tratamiento de aguas residuales que contienen productos orgánicos, usualmente se utilizan para remover los constituyentes orgánicos recalcitrantes (aromáticos halogenados, nitrogenados, fosforados, pesticidas e insecticidas), provenientes del agua residual de la industria y el agua residual municipal (Comninellis, *et al.,* 2008).

Las reacciones fotoquímicas realizadas con ayuda de radiación ultravioleta que se forman en las capas superficiales de los cuerpos de agua son conocidos como procesos de autopurificación (Klaravioti, *et al.,* 2009). Es la capacidad de un cuerpo de agua para deshacerse de los contaminantes, por medio de procesos físicos, químicos y biológicos. La transformación de la materia orgánica de plantas en nutrientes o a otros contaminantes menos tóxicos.

Los tres procesos básicos que constituyen el sistema de purificación natural de agua en la naturaleza son:

1. La evaporación, seguida de condensación, elimina casi todas las sustancias disueltas.
2. La acción bacteriana convierte los contaminantes orgánicos disueltos en unos cuantos compuestos sencillos.
3. La filtración a través de arena y grava elimina la mayor parte de la materia en suspensión del agua.

Las reacciones fotooxidativas transforman contaminantes orgánicos en especies químicas más polares, es decir más solubles en agua y, en su caso ideal, conducen hasta la mineralización de los compuestos orgánicos, lo que significa que en dependencia de su composición química se forman agua (H_2O), dióxido de carbono (CO_2), nitrógeno (N_2), y algunos iones inorgánicos (Víctor *et al.*, 2005). De esta manera, los compuestos orgánicos se convierten en compuestos inofensivos. Estas reacciones fotooxidativas también se transforman a sustancias inorgánicas de bajo estado de oxidación en compuestos de alto estado de oxidación. La radiación UV y el ozono generan en dos reacciones consecutivas en la troposfera los radicales libres •OH, que por su alto potencial de oxidación son las partículas más reactivas de esta zona **(**Monks, 2005)

$$O_3 \xrightarrow[\lambda < 310\ \text{nm}]{h\nu} O_2 + O^*$$

$$O^* + H_2O \longrightarrow 2\ \bullet OH$$

Un amplio rango de compuestos orgánicos es detectado en el agua residual industrial y municipal, algunos de estos compuestos (productos químicos orgánicos sintéticos y sustancias de origen natural) constituyen severos problemas en los sistemas de tratamiento biológico, debido a su resistencia a la biodegradación y/o efecto tóxico en los procesos microbiológicos.

Una propuesta de tecnología moderna y limpia para la purificación de aguas contaminadas es utilizar procesos fotoquímicos, en particular los procesos avanzados de oxidación. Estos procesos se pueden definir como la aplicación a nivel laboratorio, escala piloto o industrial de un proceso fotoquímico de autopurificación que ocurre en la naturaleza. En el presente trabajo se analiza la factibilidad de un tratamiento utilizando procesos de oxidación avanzada aplicados a aguas residuales pretratadas para oxidar contaminantes orgánicos e inorgánicos oxidables con el uso de la luz UV y un precursor del agente oxidante radical libre •OH hasta convertir estas especies en nutrientes para las plantas.

En la literatura científica se encuentran reportados varios sistemas fotooxidativos como: H_2O_2/UV, O_3/UV, H_2O_2/O_3/UV (Kelly *et al.,* 1999, Litter, 2005).

Las potencialidades que ofrece los POA pueden ser explotadas para integrar a los procesos fotoquímicos como una degradación oxidativa de sustancias tóxicas o refractarias que salen en el tratamiento primario avanzado.

Otro aspecto relativo a la posibilidad de aplicación del POA es el que se refiere a la carga contaminante de los residuos normalmente expresada como demanda química de oxígeno (DBO). Solamente los desechos con relativamente pequeños contenidos de DQO (≤ 5,0 gL^{-1}) pueden ser tratados adecuadamente por medio de estas técnicas ya que los contenidos más altos de DQO requerirían el consumo de cantidades demasiado grandes de reactivos y largos tiempos de irradiación Los residuos con más contenidos contaminantes masivos pueden ser más convenientemente tratados por medio de la oxidación húmeda o incineración.

En la generación de radicales libres •OH en el laboratorio se utiliza una lámpara de luz UV que consiste de un tubo de cuarzo similar a una bombilla fluorescente con los electrodos en cada extremo, lleno de un gas inerte y una cantidad diminuta de mercurio. La energía eléctrica, aplicada por los electrodos, proporciona la descarga inicial para excitar los gases y el vapor de

mercurio presentes con la emisión consecuente de radiación ultravioleta. Los átomos del gas son excitados por colisión con los electrones libres del arco.

Se puede utilizar una lámpara de presión media de vapor de mercurio por el amplio dominio en que emiten este tipo de lámparas. La presión de este tipo de lámparas es de 10^3 mm de Hg aproximadamente. Estas lámparas emiten en el intervalo entre 194.2 y 579.1 nm. En 366 nm se encuentra la línea de emisión predominante. La potencia de estas lámparas a nivel industrial varía desde 100 W hasta 60,000 W dependiendo de la longitud del arco que va desde 3 cm hasta 2 m (Oppendländer, 2003). Este tipo de lámparas necesitan un sistema eficiente de enfriamiento debido a que gran parte de la energía se disipa en forma de calor.

La lámpara de baja presión de mercurio provee prácticamente una radiación monocromática a 253.7 nm; por lo tanto, estas lámparas se utilizan específicamente para procesos de desinfección de sistemas gaseosos y líquidos (Oppendländer, 2003). El cuadro 1 muestra las principales líneas de emisión de los diferentes tipos de lámparas.

Cuadro 1. Principales líneas de emisión y dominio espectral útil de las lámparas de mercurio (Oppendländer, 2003).

λ (nm)	Tipo de lámpara	Presión de mercurio
184.9 194.2 253.7	Presión baja	~10^{-3}- 10 mm de Hg
265.2 265.4 280.4 296.7 302.1 312.6 313.1 334.1	Presión media	~10^{3} mm de Hg
365.0 366.3 404.6 407.8 435.8 546.1 577.0 579.1	Presión alta	~8 x 10^{4} mm de Hg

Las principales ventajas de los procesos de oxidación avanzada (Andreozzi *et al.,* 1999), son las siguientes:

- Transforma químicamente a los contaminantes.
- Se consigue la mineralización completa de los contaminantes.
- No genera lodos que requieran un proceso de tratamiento y/o disposición.
- Son útiles para eliminar compuestos refractarios que resisten otros métodos de tratamiento.
- Disminuyen la concentración de compuestos formados por pretratamientos alternativos.
- Mejoran las propiedades organolépticas del agua tratada.
- Consumen menos energía que otros tratamientos.
- Transforman contaminantes refractarios en biodegradables.
- Eliminan efectos sobre la salud de desinfectantes y oxidantes residuales.

Limitaciones de los procesos avanzados de oxidación:

- Al final del proceso en sistemas UV/H_2O_2 no se puede evitar la presencia de una cantidad muy pequeña de peróxido de hidrógeno residual.
- Variaciones abruptas en la composición y concentración de los contaminantes pueden causar problemas en la fotooxidación.
- Puede haber factores de interferencia (autoabsorción de luz UV, agua no transparente, presencia de sólidos suspendidos, etc.).
- Algunos contaminantes pueden actuar como inhibidores de las fotorreacciones.
- Siempre es necesario realizar experimentos preliminares para establecer las condiciones ideales para cada caso concreto del tratamiento de un agua contaminada (Andreozzi *et al.,* 1999).

Los procesos de oxidación avanzada se dividen en dos grupos: no fotoquímicos y fotoquímicos.

Los procesos fotoquímicos involucran reacciones que ocurren por influencia de la absorción de radiación UV-Vis, ya sea del sol o de otra fuente, donde su cinética de reacción puede ser aumentada por la adición de H_20_2, O_3, sales metálicas o semiconductores. Los procesos fotoquímicos proporcionan las siguientes ventajas en el tratamiento de aguas y efluentes, que no se limitan al aprovechamiento del radical libre •OH como oxidante:

- Es posible utilizar los procesos fotolíticos directamente, sin agregar reactivos químicos.
- Evita el uso de O_3 o reduce su proporción.
- Aumenta la velocidad de reacción con la misma técnica en ausencia de luz.
- Evita cambios de pH drásticos.
- Permite el uso de variedad de oxidantes.
- Reduce costos operativos.
- Esta radical libre •OH posee propiedades adecuadas para atacar virtualmente a todos los compuestos orgánicos y reaccionar entre 10^6 a 10^{12} veces más rápido que otros oxidantes alternativos como el O_3.

La luz ultravioleta, conocida generalmente como UV es emitida en tres diferentes bandas UV-A, UV-B y UV-C. La radiación con mayor efecto germicida se encuentra entre las bandas UV-C Y UV-B, correspondiendo a 260 nm. De modo que la longitud de onda a 254 nm generada por emisores monocromáticos (presión baja) proporcionan la máxima efectividad germicida, inactivando los cinco principales grupos de microorganismos (virus, bacterias, hongos, algas, y protozoos) es decir, cuando estos organismos se exponen a la radiación UV, ésta penetra la pared celular llegando hasta el núcleo donde se encuentra la información genética, destruyendo la cadena de ADN y por lo tanto impide su reproducción.

Los componentes principales del sistema de desinfección con luz UV son las lámparas de vapor de mercurio, el reactor y los balastros electrónicos. La fuente de luz UV son las lámparas de arco de mercurio de baja o mediana presión, bien sea de baja o alta intensidad.

La longitud de onda óptima para desactivar eficazmente los microorganismos se encuentra en el rango de 250 a 270 nm. La intensidad de la radiación emitida por la lámpara se disipa a medida que la distancia de la lámpara aumenta.

Las lámparas de mercurio de presión media tienen una intensidad germicida aproximadamente 15 a 20 veces mayor que las lámparas de baja presión. La lámpara de mediana presión desinfecta más rápido y tiene más capacidad de penetración debido a su mayor intensidad. Sin embargo, estas lámparas operan a temperaturas más altas con un mayor consumo de energía eléctrica.

Existen dos tipos de configuraciones de reactor para el sistema de desinfección con luz UV: de contacto directo y sin contacto. En ambos casos, el agua residual puede fluir en forma perpendicular o paralela a las lámparas. En el caso del reactor de contacto, la serie de lámparas de mercurio está recubierta con protectores de cuarzo para minimizar los efectos de enfriamiento del agua residual.

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un líquido incoloro bastante estable. Se comercializa como soluciones acuosas a concentraciones entre el 3 y el 90 %. Contiene una acción bactericida la cual se debe a dos razones:

1. Producción de iones hidroxilo y radicales libres, que actúan oxidando componentes esenciales del microorganismo.
2. Liberación de O_2 por las catalasas tisulares, que actúan impidiendo la germinación de esporas de anaerobios como *Clostridium tetani.*

Además, el O_2 liberado en su descomposición en forma de burbujas favorece la eliminación de detritus celulares, bacterias y tejidos desvitalizados.

El ozono O_3 se produce artificialmente mediante los generadores de ozono desde finales del siglo XIX. La unión de tres moléculas de oxigeno inestables, es lo que determina que la función del ozono sea totalmente natural. La aplicación se está extendiendo a muy diversos campos: el cambio climático por su disminución en la ozonósfera, el interés creciente por la utilización de tratamientos ecológicos no agresivos con los resultados pretendidos, por supuesto con el medio ambiente, así como los tratamientos de salud.
Debido a sus poderosos efectos desodorizante y bactericidas, el ozono se utiliza para renovar el aire en atmósferas confinadas y para la esterilización y el tratamiento de las aguas. El interés de las aplicaciones del ozono en el tratamiento del agua es debido tanto a sus características oxidantes especialmente energéticas, aprovechadas para degradar o eliminar ciertas sustancias orgánicas o minerales no deseables, como a su extremado poder bactericida y virucida.
La oxidación de contaminantes orgánicos por radiación UV y oxidantes (H_2O_2, O_3, etc.) implica en la mayoría de los casos la generación y posterior reacción de los radicales •OH, los cuales son producidos en diferentes medios y condiciones.

La utilización de dos o más oxidantes mezclados ayuda a aprovechar los efectos sinérgicos causados entre ellos, lo que potencializa la destrucción de contaminantes orgánicos y biológicos (Doménech *et al*., 2001).

En general, los microorganismos a diferencia de los macroorganismos, son capaces de llevar a cabo procesos de crecimiento, generación de energía y reproducción, independientemente de otras células sean del mismo tipo o diferentes. Las células estudiadas en microbiología pueden pertenecer a dos grandes grupos, eucariotas y procariotas. Las eucariotas constituyen la unidad estructural de protozoarios, hongos y algas cuyo tamaño las incluye en esta especialidad. Son organismos unicelulares o multicelulares que poseen en su interior estructuras limitadas por membranas llamadas organelos (núcleo, mitocondrias y cloroplastos presentes sólo en células capaces de realizar fotosíntesis). Las células procariotas son las bacterias, cuya estructura interna es sencilla.

Los microorganismos indicadores de contaminación en el agua son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos, concentración y reacción frente a factores ambientales, pero que son más fáciles, rápidos y económicos de identificar. Una vez que se ha demostrado la presencia de grupos indicadores, se puede inferir que los patógenos se encuentran presentes en la misma concentración y que su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes, tiempo de retención hidráulica o sistemas de desinfección es similar a la del indicador (Arcos *et al*., 2005).

Un microorganismo indicador de contaminación fecal debe reunir las siguientes características (Apella y Araujo, 2003).

- Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos.
- Estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos.
- Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación.
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas, su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal.
- Debe ser fácil de aislar y cuantificar.
- No debe ser patógeno.

El análisis cuantitativo de bacterias indicadoras de contaminantes en una muestra de agua se puede realizar por metodologías diferentes, tales como:

- Recuento directo de microorganismos cultivables por siembra de la muestra o en un medio de cultivo agarizado.
- Recuento indirecto (basado en cálculos estadístico).

Aguas residuales provenientes de plantas de tratamiento, especialmente los situados en las cercanías de los ríos usados como colectores de aguas residuales de zonas industriales, unidades habitacionales, etc. se enfrentan con vertidos que contienen una mezcla compleja de diversas sustancias orgánicas e inorgánicas. 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 la toxicidad genotóxica. 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).

El control de los efluentes industriales que tradicionalmente se han regulado mediante métodos que miden los parámetros sumarios, tales como el carbono orgánico disuelto, carbono orgánico total, demanda biológica de oxígeno y la demanda química de oxígeno, no incluyen información acerca de los efectos biológicos, por esta razón se requiere usar estrategias de investigación efectivas para encontrar información analítica específica acerca de estos efectos. En consecuencia, se han desarrollado una serie de bioensayos para establecer los niveles de toxicidad de compuestos para los organismos acuáticos, herramienta útil en la evaluación del riesgo ambiental. Estas pruebas se basan en el uso de microorganismos (Parvez *et al.,* 2006), plantas (Grant 1999), invertebrados (Grazeffe *et al.,* 2008) y peces (Babich y Borenfreud, 1991).

Existen bioensayos rápidos como el empleo de plantas como organismos de prueba, estos funcionan como herramientas de detección inicial de toxicidad.

Es importante emplear bioensayos con plantas en la detección y control de los contaminantes tóxicos

La evaluación de los efectos biológicos utilizando un método efectivo, rápido, sencillo, sensible y barato que pueda proporcionar la información específica sobre toxicidad y ecotoxicidad (Ukaegbu y Odeigah, 2009) y permita la incorporación de parámetros de toxicidad en el marco regulatorio. Muchos investigadores han estudiado el desarrollo de bioensayos rápidos 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 compleja de tóxicos presentes. Los bioensayos in vitro han ganado gran aceptación en las estrategias de biomonitoreo, fundamentalmente porque suministran resultados confiables, baratos, simples y rápidos. Estos bioensayos pueden auxiliar en la evaluación 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 y permiten su aplicación en programas de monitoreo en la evaluación 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 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 ha usado para evaluar un gran número de agentes genotóxicos, los resultados obtenidos contribuyen 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 los criterios de valoración del ajo se encuentran las aberraciones cromosómicas en la raíz y ha sido el más utilizado para detectar genotoxicidad generada por los contaminantes. Los índices de

anomalías cromosómicas mitóticas 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 genotóxicos de diferentes compuestos (Camargo *et al.,* 2011).

Ventajas del ensayo de aberración cromosómica radical con ajo.

La principal conclusión de todas las investigaciones realizadas por muchos autores es que los ensayos de la planta son los sistemas de pruebas 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 cromosómica radical que ha demostrado ser eficaz, sensible, menos costoso y se utiliza para probar los mutágenos potenciales en células mitóticas y meióticas (Smaka-Kincl *et al.,* 1996; Celik y Aslanturk, 2006).

Estos ensayos de aberración cromosómica radical han sido adoptados por el Programa Internacional de Bioensayos con Plantas (IPPB) para la evaluación de los contaminantes del ambiente (Ma, 1999). Este ensayo se ha utilizado para controlar la naturaleza de diversas plantas y productos vegetales.

V. OBJETIVOS

Objetivo General

- Irradiar fotoquímicamente el efluente de un tratamiento primario avanzado y estimar los niveles de contaminación que se presentan en plántulas de maíz irrigadas con agua residual.

Objetivos específicos:

- Aplicar procesos fotoquímicos al agua residual de la Planta de Tratamientos de Aguas residuales “San Francisco” de forma que cumpla lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-CCA/032-ECOL/1993.
- Cuantificar el nivel de contaminación por metales pesados en las plántulas de maíz, utilizando agua residual tratada fotoquímicamente y agua residual con tratamiento primario avanzado.
- Realizar pruebas microbiológicas para estimar cualitativa y cuantitativamente los microorganismos presentes antes y después del tratamiento fotoquímico del agua residual.
- Realizar pruebas de genotoxicidad de las muestras de agua utilizadas en los diferentes tratamientos, utilizando la planta de ajo como bioindicador.

VI. HIPÓTESIS

El tratamiento de agua residual por métodos fotoquímicos reducirá significativamente ($\alpha \leq 0.05$) los niveles de contaminantes de acuerdo a la NOM-CCA/032-ECOL/1993 para su potencial uso agrícola.

VII. METODOLOGÍA

VII.1 Proceso Fotoquímico

La oxidación de los contaminantes orgánicos presentes en el agua proveniente de un proceso primario avanzado de una planta de tratamiento de agua residual, se llevó a cabo mediante el uso de un Fotorreactor *Batch* adaptado para recirculación en un sistema ($UV/H_2O_2/O_3$) con capacidad de un litro, equipado por una lámpara de vapor de mercurio (Hg) de presión media modelo PUV-1022 de 110 mm de longitud, 1000 W tensión de 145 Voltios, corriente de 7.5 Voltios y corriente de 7.5 Amperes, la parte externa del reactor es integrada por un recipiente cilíndrico de vidrio Pyrex el cual tiene en la parte superior dos entradas esmeriladas 15/30 y en la parte inferior una oliva donde se introduce la corriente de aire y suministro de ozono mediante un generador King Ozono modelo Hydrozon K-40. Con un suministro de ozono al reactor de 40 mg h^{-1}, la lámpara presenta la mayor emisión de longitud de onda entre 200 y 460 nm misma longitud que absorbe la mayor parte de los grupos funcionales orgánicos y donde se lleva a cabo la formación del radical •OH, finalmente fue evaluado al obtener los espectros UV-vis de las muestras iniciales y finales.

En la figura 3, se muestra la adaptación a un sistema de recirculación del reactor *Batch*. Fue necesario utilizar un reóstato para garantizar un flujo de electricidad constante, esto para asegurar que la lámpara del fotorreactor siempre estuviera cubierta de agua residual, el sistema se cubre con láminas de aluminio construidas específicamente para evitar el contacto de la luz ultravioleta con el usuario. Este sistema se reguló para un caudal de 0.5 $Lmin^{-1}$ y la dosis de peróxido de hidrógeno es 0.0119 mg L^{-1}.

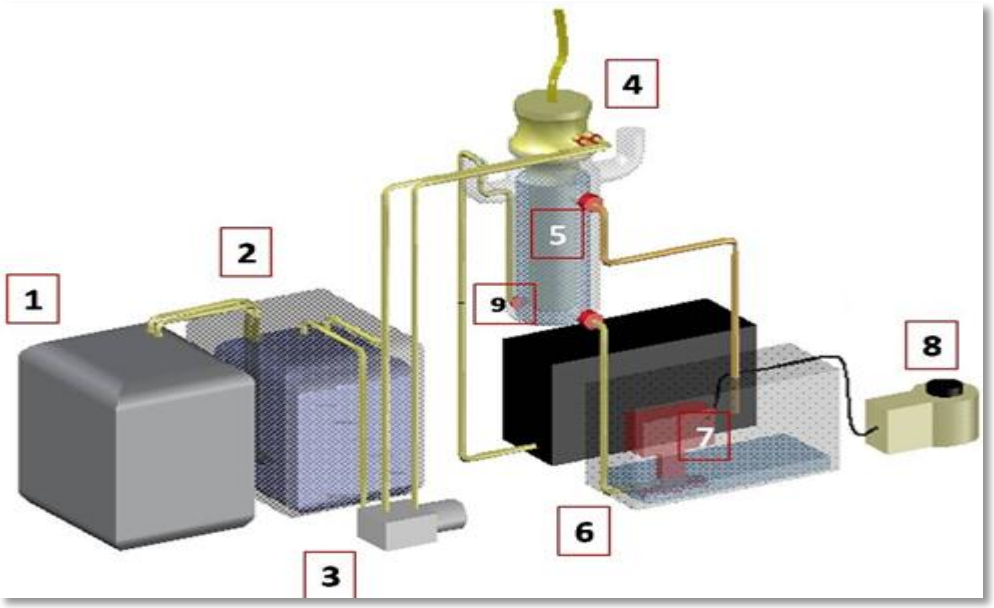


Figura 3. Sistema de recirculación del fotorreactor *batch*.

1. Sistema de enfriamiento
2. Reservorio de agua desmineralizada fría.
3. Bomba de recirculación de agua desmineralizada.
4. Recirculación de agua.
5. Fotorreactor *batch.*
6. Reservorio de agua residual.
7. Bomba de recirculación para agua residual.
8. Reóstato

Preparación de la muestra

La muestra de agua compuesta proveniente del efluente de un tratamiento primario avanzado, fue 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. Una vez obtenidas las alícuotas se procedió a realizar los siguientes análisis:

Determinación de pH

La determinación de pH se realizó con ayuda de un medidor de pH portátil, Marca Conductronic, Modelo PC16.

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

Determinación de color y turbidez

Para obtener la medición de color y turbidez, se utilizó un fotómetro Modelo Nova 60 de MERK 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.

Determinación de H_2O_2 residual

La cuantificación de peróxido de hidrógeno se obtuvo con la utilización de tiras reactivas. Éstas se sumergen en la muestra durante tres segundos para después ser comparadas con la escala de colores incluida en el contenedor de las tiras.

Determinación de DQO

La determinación de DQO (Demanda Química de Oxigeno) se realizó calentando a una temperatura donde la muestra irradiada fotoquimicamente (50 mL aproximadamente) alcanzó su punto de ebullición en un sistema de reflujo, con el fin de eliminar el peróxido de hidrógeno que es una sustancia que interfiere en la determinación, enseguida se dejó la muestra enfriar a temperatura ambiente y finalmente se utilizó el método 105 (15 - 300 mg L^{-1}) mediante un fotómetro Marca MERK Modelo NOVA 60.

Obtención de espectros

Al finalizar la irradiación fotoquímica a las muestras en estudio se procedió a la obtención de espectros UV-vis a través de un Espectrofotómetro Marca PERKIN ELMER Modelo Lambda 20 donde se utilizaron celdas de cuarzo de 10 mm de espesor.

Análisis de metales pesados en aguas residuales tratadas

La caracterización de las aguas residuales tratadas se llevó mediante un fotómetro SPECTROQUANT NOVA 60. En el cuadro 2 se presentan los métodos utilizados para la determinación de metales.

Cuadro 2. Métodos utilizados para la determinación de metales en aguas residuales con tratamiento primario avanzado a través de fotometría.

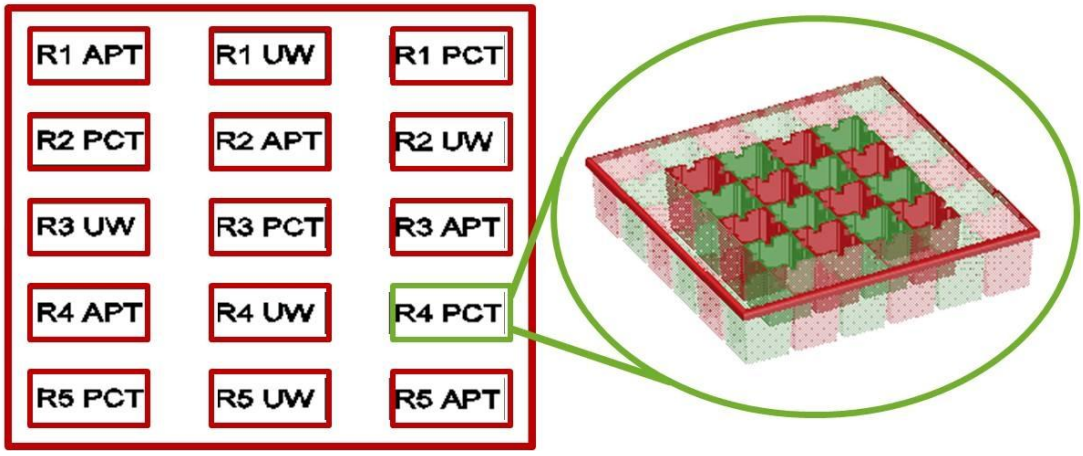
DETERMINACIÓN DE METALES EN AGUA POR FOTOMETRÍA	
Metales Pesados	Método utilizado
Cobre (Cu)	026
Cadmio (Cd)	067
Cromo (Cr)	039
Plomo (Pb)	066
Zinc (Zn)	174

VII.2 Bioensayo con plantas de maíz

El bioensayo se llevó a cabo el 14 de Febrero del 2014 y se utilizaron charolas de poliestireno de 36 cavidades, donde se rellenaron con sustrato a base de peet moss. Se utilizó semilla de maíz criolla y los tres tratamientos correspondientes al ensayo fueron los siguientes:

1. Agua con un tratamiento primario avanzado, provenientes del efluente de la PTAR San Francisco.
2. Agua del efluente de la PTAR San Francisco con un tratamiento fotoquímico.
3. Como testigo se utilizó agua de red urbana de la Ciudad de Puebla (agua potable).

Se utilizó un diseño de bloques al azar con cinco repeticiones (Figura 4 a), la unidad experimental fue una charola de poliestireno de 36 cavidades y para la parcela útil se consideró las 16 plantas centrales (Figura 4 b). Los riegos (tratamientos) se iniciaron desde la siembra y se realizaron en las primeras horas de la mañana de acuerdo a cada tratamiento, utilizando la misma cantidad de agua por tratamiento (1 L de agua para cada unidad experimental, es decir, aproximadamente 27 mL por cavidad).



a) b)

Figura 4. a) Distribución de los tratamientos, b) Parcela útil.

Parámetros evaluados

Los parámetros que se midieron fueron emergencia de plántulas (%), altura de la planta (cm), peso seco de la parte aérea de la planta (g) y peso seco de la raíz (g).

En la germinación se tomaron en cuenta el número de semillas que emergieron por parcela útil, realizando tres tomas de datos a los 7, 10 y 15 días de haber establecido el experimento. La altura en cm se tomó de las plantas que conformaron la parcela útil, misma que se realizó con un flexómetro considerando desde la base del tallo y hasta el doblez de la hoja más alta, obteniendo tres mediciones a los 15, 30 y 45 días después de la siembra. Una vez que la planta alcanzó una altura de 50 cm en promedio, se cortaron las 16 plantas de la parcela útil se etiquetaron y se separó la parte aérea de la raíz, se pesaron y se secaron por separado en una estufa bacteriológica a 60 °C hasta peso constante. Posteriormente se molieron en un molino eléctrico marca KRUPS y se determinó la presencia de metales pesados en hojas, tallo y raíz por absorción atómica.

Absorción Atómica

1) Se pesaron 250 mg de muestra seca de raíz y parte aérea, cada una por separado, se colocan en un recipiente de digestión de 120 mL, se realiza lo mismo para los tres tratamientos
2) Se adicionan 0.5 mL de ácido nítrico concentrado y 2 mL de peróxido de hidrógeno a cada recipiente, se asegura que la muestra este completamente humedecida.
3) Se colocan los recipientes de digestión en recipientes cerrados para permitir que la muestra y los reactivos se digirieran durante 30 minutos.
4) Se cierre la válvula de alivio del vaso y se coloca el recipiente en el horno de microondas y se programa para calentarse en 2 tiempos a) 4 minutos con energía de 296 watts y b) 8 minutos con energía de 565 watts.
5) Al finalizar el tiempo, se retira el recipiente del horno de microondas y se coloca en una campana de humos para enfriar. El enfriamiento se da por ventilación del recipiente mediante la rotación de media revolución de la válvula, hasta que el recipiente este completamente presurizado. Se retira la tapa y se enjuaga el tapón del recipiente con agua destilada.
6) Se vierte el contenido del recipiente de digestión en un tubo de centrífuga, se diluye hasta 15 mL de volumen, se tapa el tubo de centrífuga y se almacena.
7) El análisis elemental de la planta digerida se realiza usando un equipo de Absorción Atómica modelo VarianSpectrAA 55B y se coloca la lámpara establecida para el metal a determinar. El equipo se calibro de acuerdo al manual del equipo ajustando la recta a través del capilar que absorbe la solución del metal a determinar para seleccionar la longitud de onda y el ancho de banda espectral.
8) Se programa el flujo del gas acetileno a 1300 ºC.
9) Se coloca el vaso que contiene la solución en blanco, para realizar la lectura del blanco, se limpia el capilar cada vez que se cambie el vaso y se nebuliza la muestra. La lámpara se cambia de acuerdo al metal y se determinan los parámetros del contenido de cada metal
10) Se realizan los cálculos de los parámetros determinados.

VII.3 Ensayo microbiológico

El ensayo microbiológico permite conocer la cantidad de UFC mL^{-1} de la muestra inicial, además es útil para evaluar la capacidad desinfectante del sistema ($UV/H_2O_{2//}O_3$).

Preparación del caldo nutritivo

El caldo nutritivo es un medio líquido en el cual se pueden desarrollar gran variedad de microorganismos que no son muy exigentes en cuanto a sus necesidades nutricionales. Para preparar 200 mL se diluyen 1.6 g del medio deshidratado con 4 g del agar bacteriológico en 200 mL de agua destilada, para posteriormente calentar la solución con agitación suave y llevarla a ebullición durante un minuto. La solución se deposita en un frasco estéril y se esteriliza en autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión (121 °C). Posteriormente se dejara enfriar a temperatura ambiente.

Método de diluciones decimales

La preparación de diluciones decimales (Figura 5) a partir de una muestra tiene por objeto efectuar disoluciones progresivas de dicha muestra, para poder realizar recuentos microbianos posteriores.

La muestra a analizar se somete al método de diluciones decimales, para ello se utilizaron tubos de ensayo estériles con tapa, etiquetados y numerados. En el primer tubo se deben verter 1000 µL de la muestra utilizando una micro pipeta con punta desechable, en los tubos posteriores se deben verter 900 µL de caldo nutritivo utilizando una nueva punta desechable. A continuación se extraen 100 µL del primer tubo y se depositan en el segundo tubo, se agita levemente el contenido del segundo tubo y se extraen 100 µL para depositarlos en el tercer tubo y así sucesivamente hasta llegar a depositar 100 µL al último tubo, mismo al que se le restarán 100 µL para desecharlos adecuadamente. Las diluciones se incuban en una estufa a temperatura constante de 37 °C durante 24 horas. Todo se realiza bajo condiciones óptimas de esterilidad para evitar cualquier contaminación.

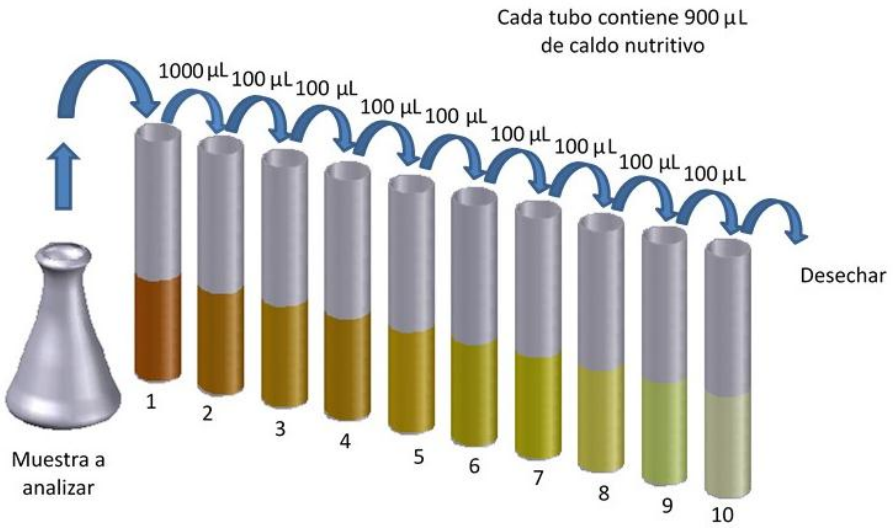


Figura 5. Método de diluciones decimales.

Siembra por estría en placa

Para llevar a cabo la siembra por estría en placa (Figura 6) se utilizan cajas Petri rotuladas y con el medio de cultivo. Con ayuda de una micro pipeta con punta desechable, se pasan 10 µL de la muestra a la superficie del medio de cultivo y con ayuda de un asa bacteriológica se siembra en el medio por estrías. Las muestras serán las mismas soluciones decimales que fueron preparadas e incubadas con anterioridad. Una vez completada la siembra, las cajas Petri se incuban en una estufa a temperatura constante de 37 °C durante 24 horas, pasado este tiempo se realiza el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias en las muestras.

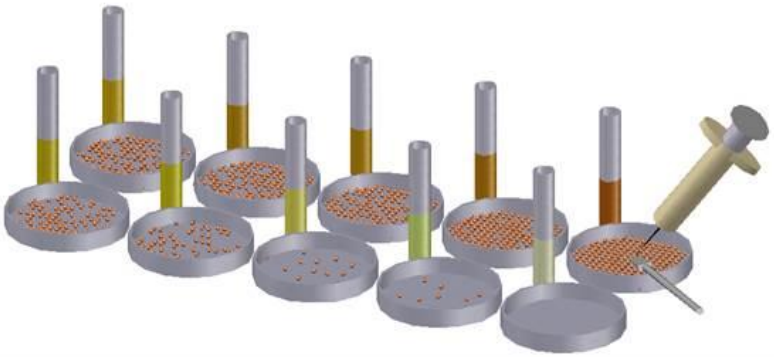


Figura 6. Siembra por estría en placa.

VII.4 Análisis de genotoxicidad

Se llevó a cabo un análisis de toxicidad y genotoxicidad en plantas de ajo.

Se seleccionaron 65 bulbos de ajo homogéneos de apariencia sana, se sometieron a enraizamiento en condiciones de oscuridad durante 24 horas. La semilla de ajo (bulbos) se colocan en probetas de 10 mL teniendo cuidado de que la punta del ajo quedara hacia arriba y la parte basal estuviera en contacto con el agua. Una vez que germino la semilla se realizaron los tratamientos correspondientes:

1) Agua con un tratamiento primario avanzado (TPA)
2) Agua residual tratada fotoquimicamente (TF)
3) Agua potable (AP) como control negativo
4) Sulfato cúprico $CuSO_4 \bullet 5H_2O$; 0.006 g diluido en 250 mL de agua potable como tóxico de referencia (Liu *et al.,* 2009).

A las 48 horas se midió la longitud de las raíces de cada bulbo de ajo por tratamiento a la misma hora (alrededor de las 10:00 horas), se utilizó un vernier (Berrocal, Blas H., Flores & Siles, 2013). Asimismo se adiciono agua de cada tratamiento muestra, con la finalidad de asegurar la absorción y concentración.

Después de 120 horas, se procedió a cortar las raíces, se fijaron de manera separada en etanol: ácido acético glacial (3:1 v/v) durante 24 horas, posteriormente se sometieron a hidrolisis (HCl 1N a 60 °C) durante 10 minutos y después se lavaron en agua destilada. Las raíces fueron ubicadas de modo independiente según el grupo en portaobjetos, se tiñeron con azul de metileno por 5 minutos y se sometieron a squash según el método de Feulgen. Se registró el coeficiente de inhibición de la raíz al primer día. La actividad mitótica, tasa y tipo de aberraciones fueron reconocidas usando 4 réplicas para cada tratamiento. Finalmente se observaron al microscopio y se tomaron microfotografías en los objetivos de 40X y 100X.

Para evaluar la toxicidad se determinaron los siguientes indicadores:

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

Coeficiente de inhibición (CI) = (longitud del control - longitud del tratamiento) * 100

Longitud control

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 dientes 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 uso 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:

1. $$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{N° células en mitosis (divididas)}}{\text{N° total de células contadas}} * 100$$

(Restrepo y Reyes 2011; Ataga, 2012)

2. $$\text{Inhibición mitótica} = \frac{\text{Índice mitótico del control - Índice mitótico del tratamiento}}{\text{Índice mitótico del control}} * 100$$

3 $$\text{Frecuencia de células anómalas} = \frac{\text{N° de células anormales}}{\text{Total de células contadas}} * 100$$

(Ataga, 2012).

$$4 \quad \text{Índice de fases (F)} = \frac{\text{N° células en fase}}{\text{N| células totales en mitosis}}$$

VII.5 Análisis estadístico

Se verifico la hipótesis de varianzas homogéneas para los datos obtenidos en el bioensayo para la determinación de metales pesados en plantas de maíz, así como en la parte de genotoxicidad mediante la prueba de Barttlet, además se realizó el análisis de la varianza de acuerdo con el diseño experimental y la comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey (Mark, 2010). Todos los cálculos y pruebas estadísticas se realizaron utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics, 2007) a un nivel de confianza del 95 %.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de los parámetros determinados en el efluente del tratamiento primario avanzado (TPA) y después de irradiar fotoquimicamente (TF) se muestran en el cuadro 3. En donde se observa una disminución de la turbidez, color y DQO, debido a la degradación fotoquímica de los contaminantes orgánicos que le proporcionan estas características; el pH aumentó posiblemente por la formación de bicarbonatos, esto es debido a que en un tipo de agua hay carbonatos y también hay dióxido de carbono libre, se lleva a cabo la reacción química que transforma al carbonato en bicarbonato, hasta alcanzar el equilibrio representado en la siguiente reacción:

$$CaCO_3 + CO_2 + H_2O \rightleftharpoons Ca(HCO_3)_2$$

Esta reacción regula el equilibrio carbonato-bicarbonato en el medio. Si la concentración de CO_2 es suficiente para lograr que en la reacción de equilibrio no haya un desplazamiento a la izquierda, transformando bicarbonatos en carbonatos, al CO_2 se le llama anhídrido carbónico equilibrante.

Por debajo de valores de pH de 4.3, sólo existe H_2CO_3. A partir de un pH de 8.3, empiezan a aparecer los carbonatos. A un pH de 6.3 existe un 50% tanto de H_2CO_3 como de HCO_3^- (punto 1 en la Figura 7). A un pH de 10.33 existe un 50% de HCO_3^- y de CO_3^{2-} (punto 2 de la Figura 7).

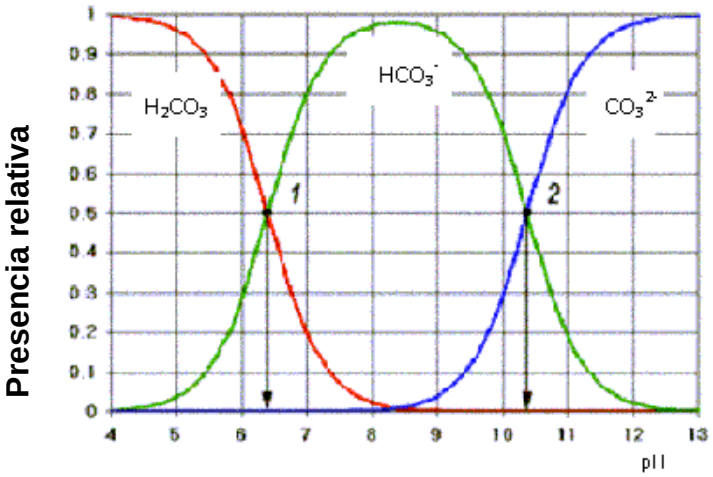


Figura 7. Efecto del pH sobre el equilibrio H_2CO_3, HCO_3^- y CO_3^{2-}

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 oxidables, que generan estos parámetros.

Cuadro 3. Comparación de parámetros en muestras de aguas residuales tratadas antes y después de ser irradiadas.

TRATAMIENTO	TURBIDEZ (UNF*)	COLOR (1/m)	pH	DQO mg/L
Tratamiento primario avanzado	62	11.7	6.8	200
Tratamiento fotoquímico	16	3.1	7.8	90

***UNF: Unidad Nefelométrica de Formazina**

VIII.1 Espectroscopia UV-vis

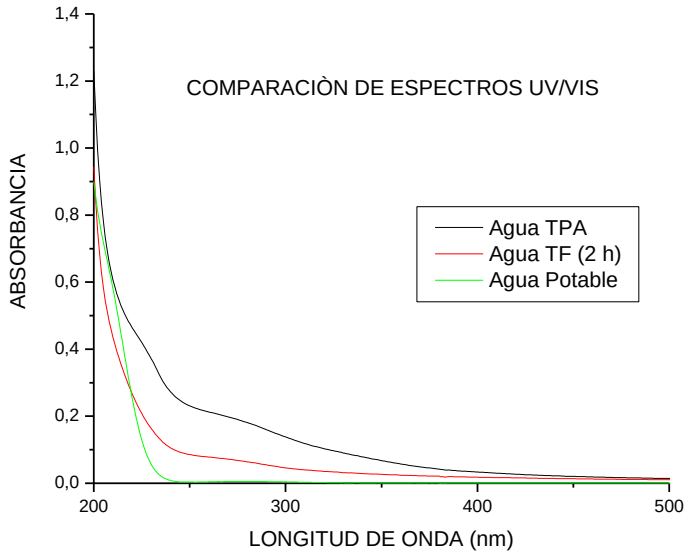
La espectroscopia de absorción UV/vis permite conocer con exactitud las concentraciones de la mezcla de contaminantes orgánicos presentes; sin embargo, por medio de la Ley de Lambert-Beer se sabe que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de un componente. En este caso como se observa en la figura 8 se muestran gráficos con los espectros de las muestras de agua utilizadas en los bioensayos a diferentes concentraciones de compuestos orgánicos que absorben en esta región del espectro. Se puede visualizar claramente que no hay un punto máximo de absorbancia, lo que dificulta y no posibilita la medición de la cinética de reacción y por lo tanto saber el porcentaje de degradación de los contaminantes orgánicos presentes.

La figura 8 a) presenta la comparación de los espectros determinados para los diferentes tipos de agua utilizados en el riego de las diversas unidades experimentales. El espectro del agua obtenida del efluente del TPA tiene mayor cantidad de compuestos que absorben en esta región (mayor área bajo la curva), el segundo espectro se obtiene después de irradiar durante 2 horas fotoquimicamente el agua de descarga del TPA, la concentración inicial de los contaminantes ha disminuido (el área bajo la curva es menor), sin embargo, aún contiene compuestos orgánicos que son considerados como nutrientes y el tercer espectro es determinado del agua potable utilizada como testigo, tiene menor cantidad de contaminantes que absorben en esta región, este

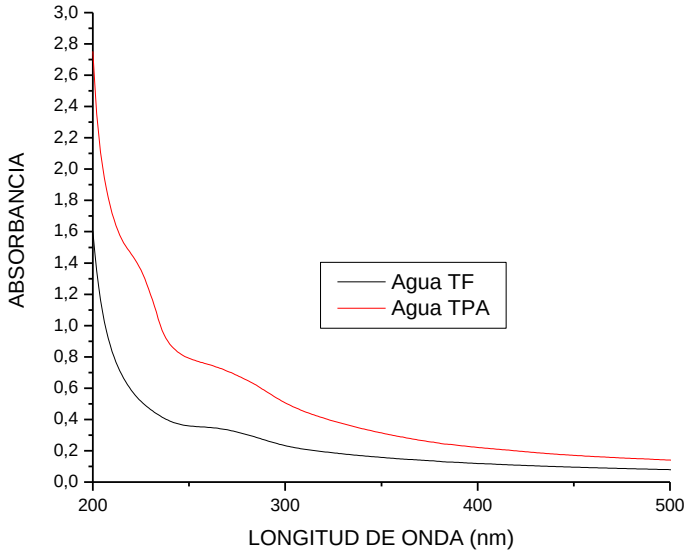
comportamiento se observa en los grupos de espectros obtenidos para los bioensayos.

La figura 8 b) presenta la comparación de los espectros del efluente del TPA y el agua tratada fotoquimicamente, se observa que el agua irradiada tiene menor concentración (menor área bajo la curva).

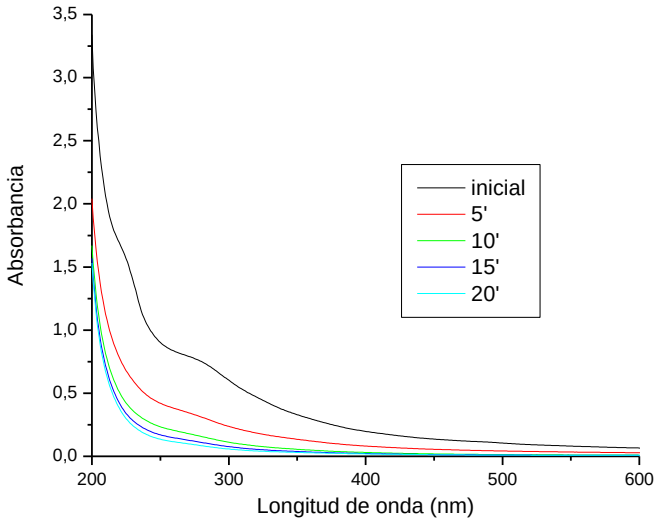
La figura 8 c) muestra el seguimiento de la fotodescomposición de los contaminantes orgánicos a través del tiempo. Se observa que conforme va aumentando el tiempo de irradiación la concentración de los contaminantes que absorben en ésta región disminuyen.



a)



b)



c)

Figura 8. a) Comparación de espectros UV-vis de aguas utilizadas en los diferentes tratamientos aplicados en las plántulas de maíz. b) Comparación de los espectros de la muestra inicial y después de tratar fotoquimicamente y c) Espectros resultantes durante diferentes tiempos de irradiación.

VIII.2 Análisis de agua residual previo al tratamiento fotoquímico.

En el cuadro 4 se exhibe la comparación de los resultados obtenidos de algunos parámetros establecidos en la norma oficial mexicana NOM-CCA/032-ECOL/1993, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las aguas residuales de origen urbano o municipal para su uso agrícola. Se

observa que estos parámetros cumplen con la norma vigente excepto, el cobre, el cual está por arriba de la normatividad.

No se encontraron diferencias entre los parámetros determinados en el TPA y el TF debido a que los metales no son removidos con el tratamiento fotoquímico.

Y que por lo tanto las aguas residuales con tratamiento, pueden ser utilizadas para el riego agrícola, con lo que se previene el deterioro ecológico y se asegura una calidad de agua satisfactoria, es necesario señalar que los parámetros físicos, químicos cumplen con la normatividad, excepto el cobre.

Cuadro 4. Comparación de algunos parámetros establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-CCA/032-ECOL/1993.

PARÁMETROS	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	*TPA	*TF	*AP
Conductividad eléctrica (mohm cm^{-1})	2000	686		
Sólidos suspendidos totales mg L^{-1}	120	343		
Cadmio mg L^{-1}	0.01	< 0.025	< 0.025	< 0.025
Cobre mg L^{-1}	0.2	0.68*	0.70*	0.83*
Cromo total mg L^{-1}	0.1	0.08	0.07	0.09
Fierro mg L^{-1}	5	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Manganeso mg L^{-1}	0.2	0.03	0.02	0.03
Níquel mg L^{-1}	0.2	0.20	0.07	0.09
Plomo mg L^{-1}	6	0.29	0.21	0.27
Zinc mg L^{-1}	2.00	0.47	0.20	0.23

***Excede el máximo permisible.**
***TPA. Tratamiento primario avanzado**
***TF. Tratamiento fotoquímico**
***AP. Agua potable**

VIII.3 Bioensayos en plantas de maíz

Los datos obtenidos del porcentaje de emergencia en la semilla de maíz fueron sometidos a la prueba de Bartlett para confirmar su homogeneidad, posteriormente se sometieron al análisis de varianza en donde no se observó diferencia significativa ($\alpha \leq 0.05$) entre el efecto de los tratamientos, en el cuadro 5 se muestra los resultados de la comparación de medias por el método de Tukey en donde se puede aseverar que el porcentaje de emergencia máximo que se obtuvo fue del 97.5 % en donde no hubo diferencia significativa del efecto de los tratamientos sobre la emergencia de las semillas de las

plantas, asimismo se puede percibir lo mismo para los datos adquiridos en el peso seco en parte aérea y raíz.

Cuadro 5. Porcentaje de emergencia, altura y peso seco promedio de las plántulas de maíz sobre el efecto de los tratamientos irrigados con diferentes tipos de aguas.

Tratamientos	***Medias del porcentaje de emergencia en días, E.E, y Significancia.***			***Medias de la altura en cm, E.E, y Significancia.***			***Medias del peso seco promedio, E.E, y Significancia.***	
	7 días	***10 días***	***15 días***	***15 días***	***30 días***	***45 días***	***Tallo y hojas (g)***	***Raíz (g)***
Tratamiento Primario Avanzado	75.00 ± 6.55 a	90.00 ± 3.75 a	96.25 ± 1.53 a	9.10 ± 0.10 a	26.40 ± 0.40 a	46.60 ± 0.40 a	11.48 ± 0.50 a	3.4 ± 0.60 a
Agua Potable	77.50 ± 5.44 a	92.50 ± 2.33 a	96.25 ± 1.53 a	8.80 ± 0.20 a	26.60 ± 0.70 a	48.10 ± 0.60 a	10.08 ± 1.03 a	3.6 ± 0.50 a
Tratamiento Fotoquímico	86.25 ± 3.06 a	96.25 ± 1.53 a	97.50 ± 1.53 a	9.30 ± 0.10 a	28.30 ± 0.33 a	50.40 ± 0.40 b	11.84 ± 0.87 a	3.0 ± 0.44 a

E.E.: Error estándar.

Se muestra diferencia estadísticamente significativa entre aquellos niveles que muestran letra diferente (α ≤ 0.05).

De acuerdo al Análisis de Varianza realizada en las tres evaluaciones de la altura efectuadas en diferentes períodos de crecimiento de las plántulas de maíz, se encontró diferencia significativa entre el efecto de los tratamientos a los 45 días de la siembra, asimismo, la prueba de comparación de medias (Tukey HSD), presenta dos grupos de medias en donde se indica que el efecto del tratamiento fotoquímico es estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) al efecto de los demás tratamientos evaluados, con una altura de planta de 50.4 cm., cuadro 5.

Los datos obtenidos de la determinación de los metales pesados por absorción atómica en la parte aérea y raíz se presentan en el cuadro 6 donde se observa que el Cd no fue detectado a través de este método, Pál, (2006) investigó los

efectos provocados por el Cd en maíz y reportó que este elemento induce cambios fisiológicos tales como inhibición del crecimiento, cambios en el metabolismo del agua y de los iones. Así mismo, los valores de Cu y Cr son más altos en la raíz y menores en la parte aérea de la planta después del tratamiento fotoquímico. La tolerancia a los metales pesados es muy dependiente de varias adaptaciones biológicas, químicas y fisiológicas en los sitios contaminados con metales pesados (Leung *et al.,* 2007).

Cuadro 6. Determinación de metales pesados a través de absorción atómica en las plántulas de maíz.

Metales pesados en la parte área (ppm)					
Tratamientos	Cu	Cr	Pb	Zn	Cd
AP	0.70	0.06	0.25	0.19	ND
TF	0.80	0.04	0.04	0.14	ND
TPA	0.60	0.06	0.25	0.38	ND
Metales pesados en la raíz (ppm)					
AP	1.72	2.0	0.42	1.3	ND
TF	0.85	0.16	0.14	1.6	ND
TPA	0.80	0.18	0.50	1.7	ND

ND = No detectado.

El método utilizado no tiene sensibilidad para detectar concentraciones menores de cadmio, por lo que no es posible otorgar un juicio acerca de su existencia.

VIII.4 Ensayo microbiológico

El cuadro 7 presenta el conteo de las unidades formadoras de colonias obtenidas de la siembra de las diferentes aguas utilizadas en el bioensayo experimental, en el tratamiento fotoquímico se percibe que después de 20 minutos de irradiación las UFC mL^{-1} logran la nulidad absoluta, debido a la acción de la radiación ultravioleta para disminuir o inactivar la carga microbiana.

Cuadro 7. Unidades formadoras de colonias por cada tratamiento utilizado.

TPA	UFC	TPA	UFC mL^{-1}	TF tiempo de	UFC mL^{-1}

(número de dilución)	mL^{-1}	(número de dilución)		irradiación (min)	
0	1^4	0		5	7^3
1	1.3^3	1	1^4	10	5.1^2
2	1.2^3	2	9^3	15	4.8^2
3	1.1^3	3	8^3	20	0
4	1.1^3	4	7.5^2	25	0

En las figuras 9 y 10 se exhibe el cultivo de las unidades formadoras de colonias en el tratamiento primario avanzado y agua potable respectivamente, el resultado del TPA es indefinido debido a la inmensa cantidad de microorganismos ahí presentes, que imposibilitan su conteo, en el agua potable sucede lo mismo, con la diferencia que si fue posible cuantificar las UFC mL^{-1} y en general la cantidad es menor que el tratamiento primario avanzado.

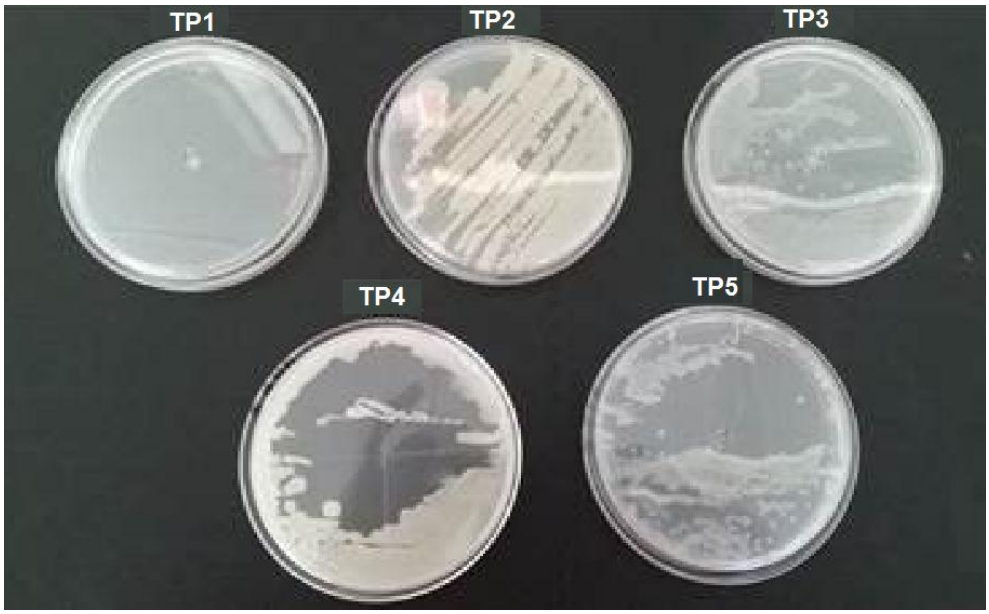


Figura 9. Unidades formadoras de colonias en Tratamiento Primario Avanzado.

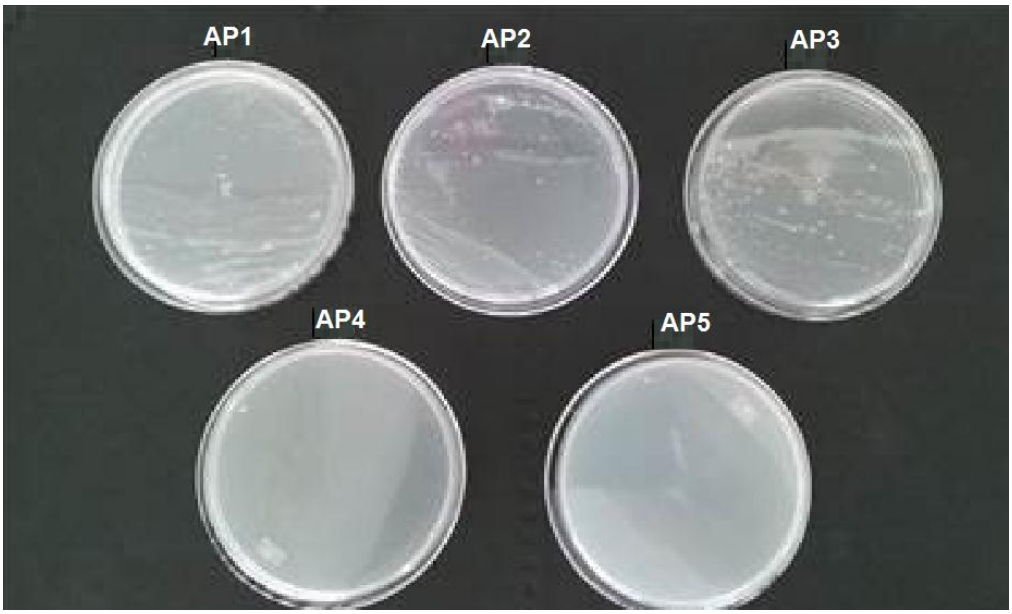


Figura 10. Unidades formadoras de colonias en Agua Potable.

En las figuras 11, 12 y 13, el resultado muestra que a medida que aumenta el tiempo de exposición a la radiación ultravioleta disminuyen la cantidad de microorganismos presentes en el agua tratada fotoquimicamente, debido a la acción de la luz ultravioleta sobre la pared celular de los microorganismos y como consecuencia inactiva la carga microbiana del agua residual.

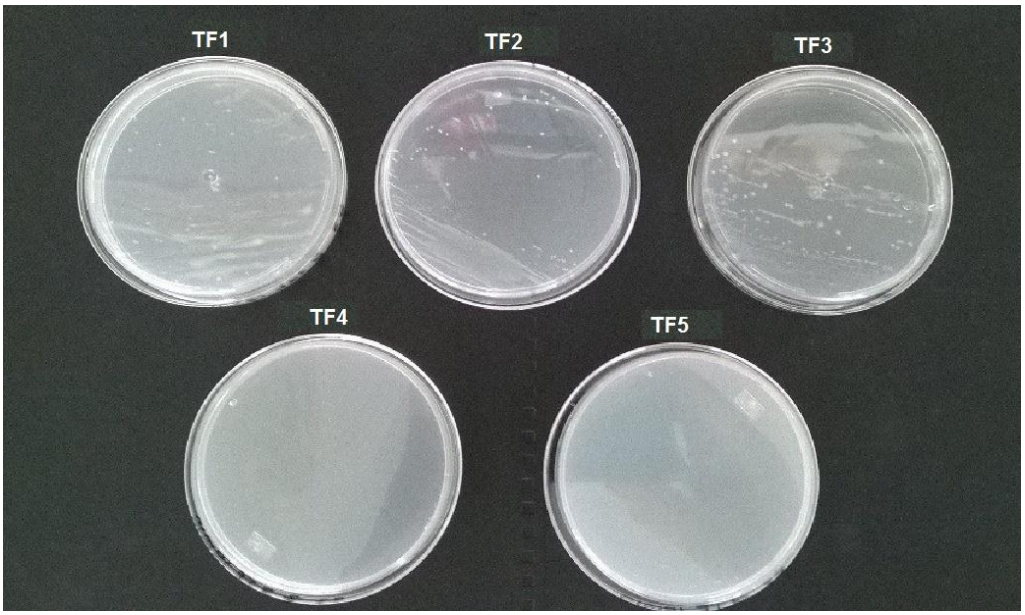


Figura 11. Unidades formadoras de colonias a los diez minutos de irradiación con Tratamiento Fotoquímico.

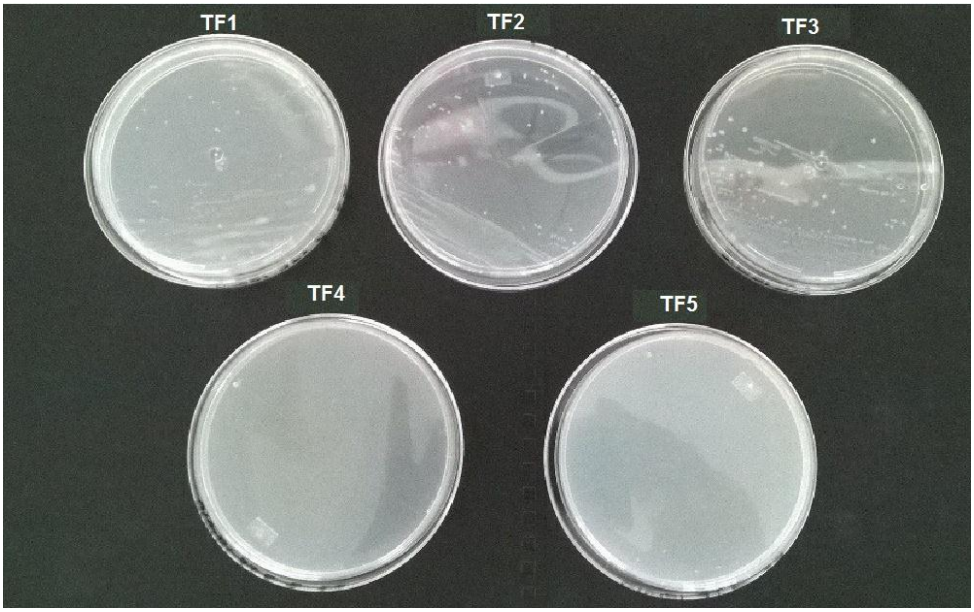


Figura 12. Unidades formadoras de colonias a los quince minutos de irradiación con Tratamiento Fotoquímico.

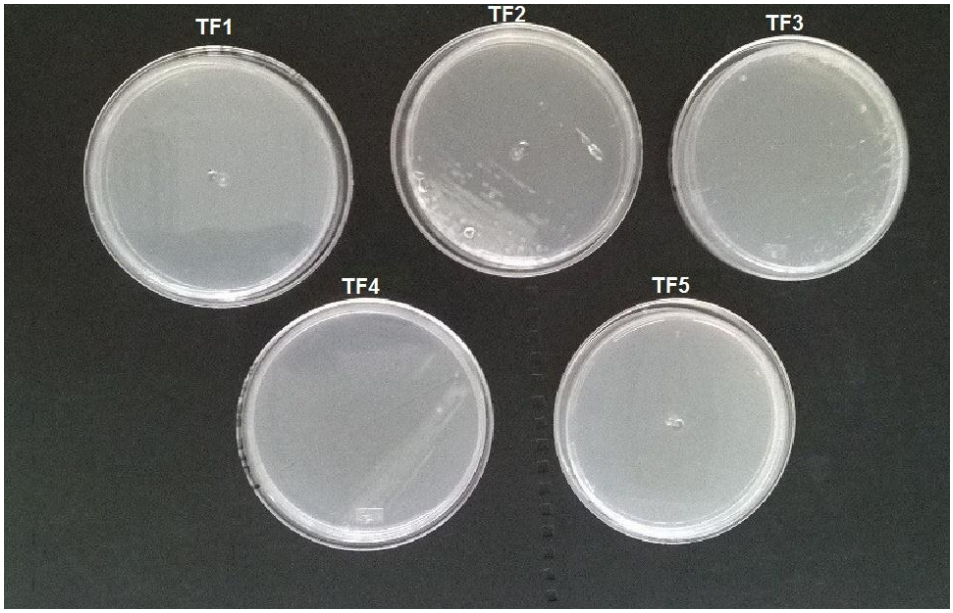


Figura 13. Unidades formadoras de colonias a los veinte minutos de irradiación con Tratamiento Fotoquímico.

En los datos del tratamiento fotoquímico, obtenidos de las alícuotas recolectadas en periodos de 5 minutos de irradiación, se observa que con 20 minutos de irradiación se asegura una calidad de agua satisfactoria con respecto a los parámetros microbiológicos.

VIII.5 Pruebas de genotoxicidad.

Los datos obtenidos de las mediciones de las longitudes de raíces al primer y quinto día del ensayo fueron sometidos a la prueba de Bartlett para confirmar

su homogeneidad, posteriormente se sometieron al análisis de varianza en donde se observó diferencia significativa ($\alpha \leq 0.05$) entre el efecto de los tratamientos, en el cuadro 8 se muestra los resultados de la comparación de medias por el método de Tukey en donde se puede aseverar que las raíces con mayor longitud al primer y quinto día fueron las del tratamiento fotoquímico donde se presentan diferencia significativa entre el efecto de los diferentes tratamientos sobre el crecimiento de las raíces.

Cuadro 8. Longitudes de las raíces sobre el efecto de los tratamientos.

Tratamientos	Medias de la longitud de raíz al 1er día, E.E. y significancia	Medias de la longitud de raíz al 5to día, E.E. y significancia
AP	0.525 ± 0.070 a	3.61 ± 0.181 a
$CuSO_4.5H_2O$	1.24 ± 0.057 b	1.5 ± 0.0199 b
TPA	1.36 ± 0.0611 b	2.03 ± 0.063 c
TF	1.59 ± 070 c	5.59 ± 0.164 d

E.E.: Error estándar
Se muestra diferencia estadísticamente significativa entre aquellos niveles que muestran letra diferente ($\alpha \leq 0.05$).

En la figura 14, al hacer un análisis cualitativo respecto a las características perceptibles de los ensayos, se observa que la longitud y el número de raíces son mayores en el tratamiento fotoquímico comparado con el TPA, posiblemente por el estrés oxidativo causado por la presencia de peróxido de hidrógeno residual y otras especies oxidativas. Una de las desventajas del tratamiento fotoquímico es que siempre queda una cantidad de peróxido de hidrógeno residual. Con respecto al color de las raíces se percibe que cuando se hace crecer *Allium sativum* en agua obtenida del efluente del TPA, el color de las puntas de las raíces es oscuro, más cortas y dilatadas, posiblemente por la vacuolización, mientras que en agua tratada fotoquimicamente el color de las puntas de las raíces es blanca y delgadas. Estas observaciones permiten establecer que hay un efecto inhibitorio sobre la raíz por exposición a los compuestos contenidos en el agua residual del tratamiento primario avanzado y que esta inhibición disminuye con el tratamiento fotoquímico.

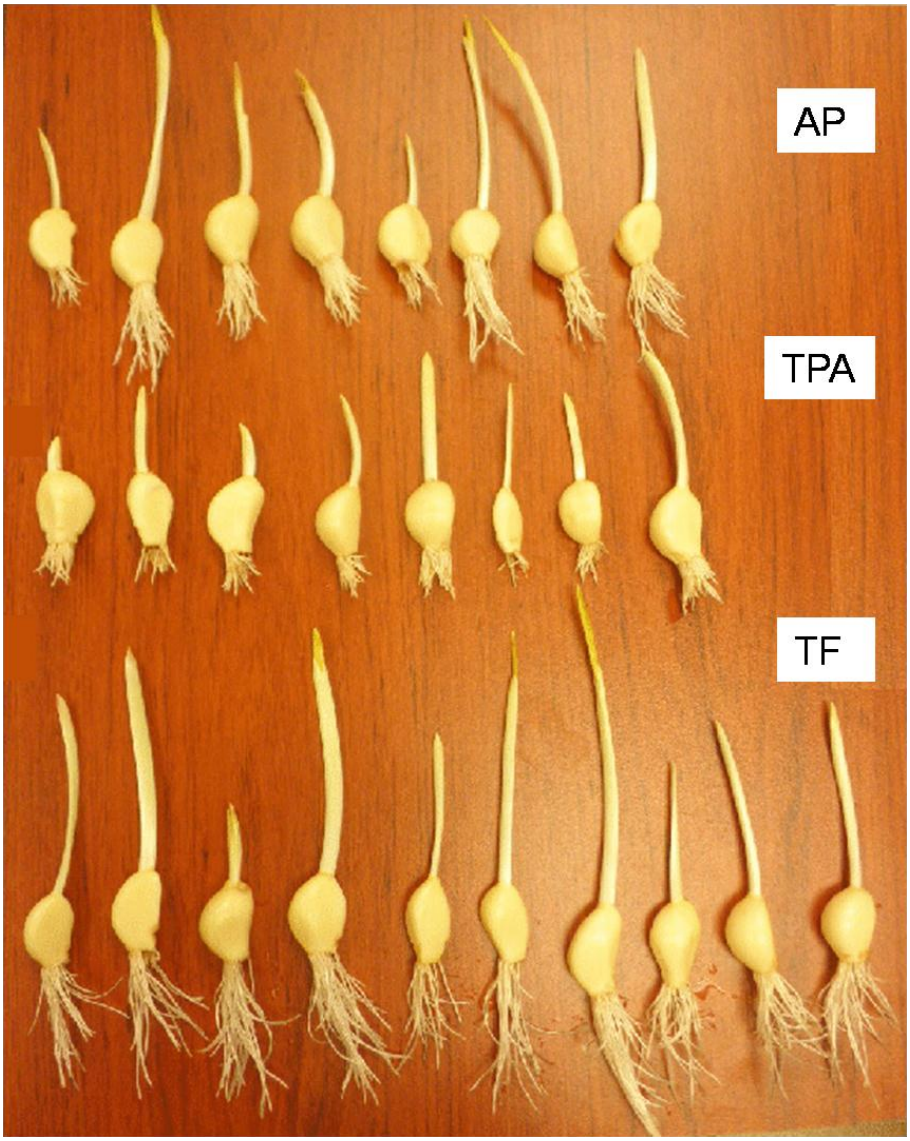


Figura 14. Comparación del crecimiento de raíces de *Allium sativum* en los diferentes tratamientos utilizados.

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 (Ayla, 2006). Sumado a su fácil observación de cromosomas, su rápida respuesta ante los tóxicos y por ser un indicador económico.

En el cuadro 9, para el tratamiento usado como control negativo o el que contiene agua de garrafón como referencia, no se encontraron efectos que indiquen toxicidad, sin embargo un porcentaje de 0.13 % se ve reflejado por la aparición de células binúcleadas esto puede deberse a la procedencia de la muestra, aunque 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).

Cuadro 9. Frecuencia de células anómalas sobre el efecto de los tratamientos.

Aberraciones cromosómicas (división anormal)												
T	No.	AC	PN	PA	MF	AA	TF	IPF	No CA	TCC	FCA/F	FCA/GT (%)
AP	1	0	0	0	0	0	0	0	0	172	0	0.13
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	158	0	
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	166	0	
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	137	0	
	5	1	0	0	0	0	0	0	1	133	0.8	
$CuSO_4.5H_2O$	1	6	0	86	0	0	0	4	96	200	48.0	43.20
	2	0	0	52	4	1	0	0	57	169	33.7	
	3	11	0	101	1	2	0	0	115	189	60.8	
	4	2	0	50	3	0	0	0	55	160	34.3	
	5	3	0	44	0	0	0	0	47	138	34.1	
TPA	1	3	0	0	0	0	0	7	10	97	10.3	29.26
	2	1	1	0	3	1	0	20	26	142	18.3	
	3	6	0	0	0	0	0	10	16	101	15.8	
	4	8	1	0	2	0	1	16	28	70	40.0	
	5	16	0	0	2	2	0	39	59	65	90.8	
TF	1	5	0	0	0	0	0	0	5	101	4.9	6.2
	2	4	4	0	0	0	0	0	8	99	8.1	
	3	4	3	0	0	0	0	0	7	104	6.7	
	4	4	2	0	0	0	0	0	6	93	6.4	
	5	5	0	0	0	0	0	0	5	97	5.1	

T= Tratamiento
No. Número de muestra
AC= Alargamiento celular
PN= Polínucleos
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.

Tóxico de referencia:

Se usó como tóxico de referencia sulfato de cobre puesto que 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 43.2 %, donde predominó la presencia de profase anormal, en la figura 15 se reconoce donde se señalan en rojo cuatro de las observaciones de esta fase y el efecto se generaliza para gran parte del área de la microfotografía.

Figura 15. Microfotografía de células con presencia de profase anormal, bajo tratamiento de sulfato cúprico, objetivo de observación 40X, tinción azul de metileno, a partir de este ejemplo de microfotografías se establecen el conteo de las células anormales por área.

Cabe destacar que la cantidad empleada de tóxico fue de 0.006 g/250 mL de agua de garrafón; y estudios realizados por Donghua *et al.* (2009) con una concentración de 0.0635 g L^{-1} registraron efectos similares, donde la profase anómala que se registra en este estudio se relacionan con los efectos de desintegración tanto de los núcleos como de las membranas nuclear y plasmática (Donghua, 2009). El cobre causa inhibición en la elongación de la raíz por la interferencia de metal con la división celular, incluyendo la inducción de aberraciones cromosómicas y mitosis anormal. Se pudo evidenciar que la longitud de estas raíces se inhibió al cabo del primer día de exposición, alcanzó una longitud que no sobrepasaba 1.5 cm. Donghua (2009) establece que el efecto de este tóxico se ve reflejado después de una hora de exposición con la concentración reportada que es más alta a la empleada en este estudio. A

pesar de que las raíces reflejan inhibición, la parte aérea de los ajos continua su crecimiento lentamente, lo que indica que las plantas tienen mecanismos de desintoxicación y tolerancia ante la presencia de metales como el cobre, al formar complejos metálicos (Hall, 2002).

También se reporta la presencia de células alargadas, metafase anormal y formación de puentes en anafase (anafase anormal), esta última se presenta debido al efecto de la pegajosidad que genera el cobre entre los cromosomas (Figura 16).

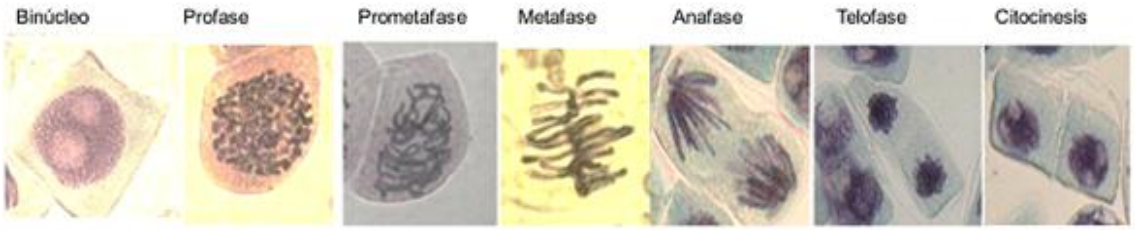


Figura 16. Fases celulares del control negativo.

Una de las características externas que a simple vista se reconoció en este tratamiento fue el hinchamiento de las raíces y mediante observaciones a simple vista, y en observación de microfotografías se pudo encontrar que la vacuolización (Figura 17) o dilatación de la vacuola ocurre al encontrarse la célula en presencia de sustancias que causan efectos tóxicos (Donghua e Ingrid, 2004; Verbruggen *et al*., 2009).

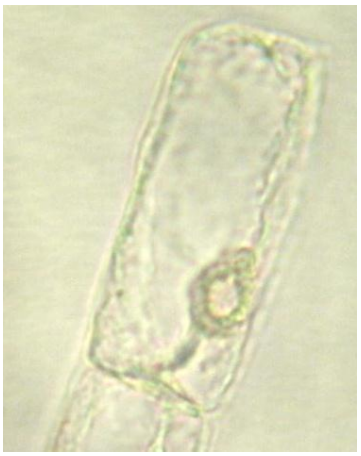


Figura 17. Vacuolización de la célula por efecto de acumulación de cobre; ampliación 100X.

Agua residual

El tratamiento primario avanzado que presenta el agua residual permite que el agua disminuya la toxicidad sólo hasta un 29,26 %, (Cuadro 9) presentando efectos tóxicos en las células tales como: mayor cantidad de células en profase tornándose la mitosis más lenta debido a que las células permanecen más tiempo en esta fase partiendo que el tratamiento de control negativo (agua de garrafón) permite una mayor visualización de diferentes fases. Además, el predominio de apariciones de polinúcleos, necrosis, apoptosis y alargamientos celulares son aberraciones cromosómicas por efecto del agua residual sobre la cofia de la raíz de ajo (Figura 18 y 19).

Figura 18. Microfotografía de células de la punta de raíz de ajo, evidenciando la formación de polinúcleos, que conducen a una apoptosis (tinción con orceina acética).

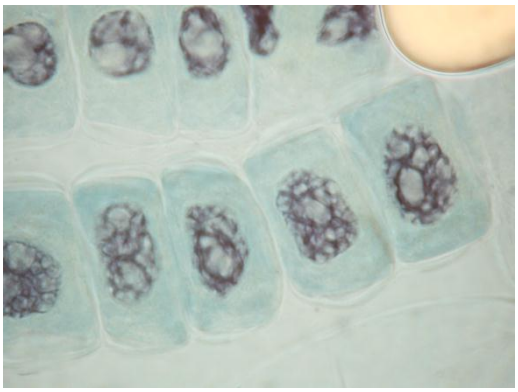


Figura 19. Microfotografía de células de la punta de raíz de ajo, evidenciando la formación de apoptosis (tinción azul de metileno).

En la figura 20 se reporta la presencia de alargamiento celular, esto se ha observado por efecto de peroxidación lipídica, este efecto se ha encontrado inducido en ajo y haba por acumulación de cadmio, indicando que ocurre un ataque por parte de radicales libres 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 defensas antioxidantes deficientes (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 cobre, lo cual puede deberse a este metal u otra sustancia debido a que se trata de una muestra compleja (agua residual).

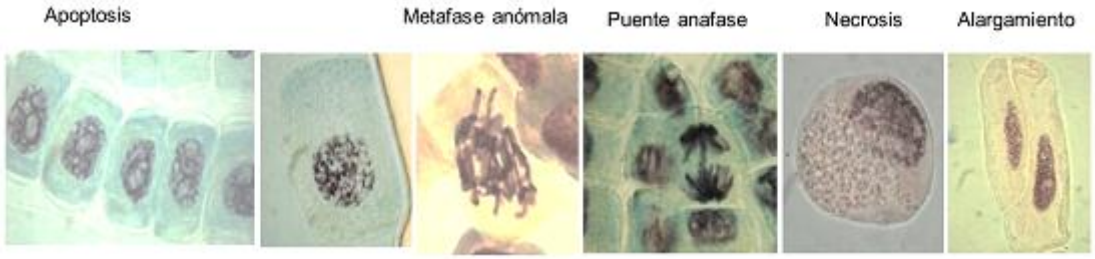


Figura 20. Fases celulares Tratamiento Primario Avanzado.

Tratamiento fotoquímico

En este tratamiento se produjo una reducción del porcentaje de células anormales de un 6.27 % (Cuadro 9), sin embargo persisten aberraciones tales como alargamiento celular 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 sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos sumado a que el tratamiento fotoquímico no elimina metales, actúa principalmente sobre la materia orgánica y a la presencia de cloro en aguas residuales (Figura 21). Sin embargo, el porcentaje de anomalías, decreció.

Figura 21. Izquierda; células con presencia de polinúcleos (100X – tinción azul de metileno); derecha; alargamiento celular y binúcleos (40x-tinción azul de metileno).

IX. CONCLUSIONES

Se determinó que el Cu, Pb y Zn fueron los elementos con mayor concentración para los diferentes tipos de agua utilizada y se observó el mismo comportamiento en la acumulación tanto en raíces como en la parte aérea de las plantas de maíz.

En la parte aérea se encontró menor acumulación de metales que en las raíces de las plantas de maíz.

Las concentraciones de metales en las plantas exhibieron el siguiente orden: Cu >Zn> Pb> Cr> Cd en raíz y parte aérea.

La altura de las plantas fue mayor con la incorporación de agua residual tratada fotoquimicamente. En el porcentaje de emergencia en semillas de maíz y el peso seco de las plantas no se encontró diferencias estadísticas.

El número de UFC mL^{-1} disminuyó hasta nulificarse por completo conforme aumentó el tiempo de irradiación al agua residual.

A pesar de que la planta de tratamientos de aguas residuales “San Francisco” realiza un tratamiento primario avanzado considerado de tipo convencional, el agua presentó toxicidad. Al presentar anomalías cromosómicas radicales en plántulas de ajo, se destaca apoptosis y necrosis celular en un 29.3 %.

El agua tratada fotoquimicamente después del tratamiento primario avanzado presento una disminución en la genotoxicidad generada, observándose dos anomalías cromosómicas principalmente, disminuyéndo la genotoxicidad hasta un 6 %, posiblemente concebida por la presencia de metales al igual que en el ensayo positivo.

Las aguas residuales con tratamiento fotoquímico, pueden ser utilizadas para el riego agrícola, con lo que se previene el deterioro ecológico y se asegura una

calidad de agua satisfactoria, es necesario señalar que los parámetros físicos, químicos y microbiológicos se cumplen, excepto el cobre.

X. LITERATURA CITADA

Abaidoo, R.; Keraita, B,; Drechsel, P.; Dissanayake, P.; y Maxwell, A. 2009. Soil and crop contamination through wastewater irrigation and options for risk reduction in developing countries, in P. Dion (ed) *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*, Springer Verlag, Heidelberg.

Agrafioti, E. y Diamadopoulos, E. 2012. A strategic plan for reuse of treated municipal wastewater for crop irrigation on the Island of Crete. *Agri. Water Manage.* 105, 57-64.

Altieri. M. y Nicholls S.I. 2000. Agroecología Teoría y práctica para una agricultura sustentable. México: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe.

Abaidoo, R.; Keraita, B,; Drechsel, P.; Dissanayake, P. y Maxwell, A. 2009. Soil and crop contamination through wastewater irrigation and options for risk reduction in developing countries, in P. Dion (ed) *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*, Springer Verlag, Heidelberg. 275-297.

Agrafioti, E. y Diamadopoulos, E. 2012. A strategic plan for reuse of treated municipal wastewater for crop irrigation on the Island of Crete. *Agri. Water Manage.* 105, 57-64.Altieri. M. y Nicholls S.I. (2000). Agroecología Teoría y práctica para una agricultura sustentable. México: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. 1-8.

Altieri, M. 2010. El estado de arte de la agroecología y su contribución al desarrollo rural en América Latina. México: División de control biológico Universidad de California, Berkely. 166-168.

Andreozzi, R.; Caprio, V.; Insola, A. and Marotta, R. 1999. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. Catalysis Today 53, 51–59.

Angelakis, A. y Durham B. (2008). Water recycling and reuse in EUREAU countries: Trends and challenges. *Desalination*, 218, 3-8.

Apella, M.C. y Araujo, P.Z. 2003. Microbiología del agua. Conceptos básicos. Argentina. Solar Safe Water. 33-50.

Arcos, M.P.; Ávila, S.L.; Estupiñan, S.M y Gómez, A.C. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. Colombia. Unicolmayor. 69-79.

Asano, T.; Burton, F.L.; Leverenz, H.L.; Tsuchihashi, R. y Tchobanoglous, G. 2007. Water reuse. Issues, technologies, and applications. Metcalf y Eddy / *AECOM.* New York: McGraw-Hill. 401-412.

Ataga, D. 2012. Studies on the physicochemical properties and genotoxicity of effluents from a dairy industry. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 5(2), 11–18.

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

Babich, H. y Borenfreud E. 1991. Cytotoxicity and genotoxicity assays with cultured fish cells: A review. Toxicology in Vitro 5 [1]: 91-100.

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.

Berrocal, A.; Blas H.; Flores, J.; y Siles, M. 2013. Evaluación del potencial mutagénico de biocidas (vertimec y pentacloro) sobre cebolla. *Revista Colombiana de Biotecnología,* XV(1), 17-27.

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 Environment Analytic Toxicol, 1:3. 1-12.

Castillo, G. 2004. Ensayos toxicologicos y métodos de evaluacion de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Otawa, Canadá: Instituto Mexicano de Tecnología del agua. 47-52.

Castro, M.I. 2006. Presencia de arsénico en el agua de bebida en América Latina y su efecto en la salud pública. Centro Panamericano de

Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS-SB/SDE/OPS) Urbanización Camacho, La Molina, Lima, Perú.

Celik, T.A. y Aslanturk, O.S. 2006. Antimitotic and anti-genotoxic effects of Plantago lanceolata aqueous extract on *Allium cepa* root tip meristem cells. Cellular and Molecular Biology, 61: 693-697.

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

Cirelli, G.L.; Consoli, S.; Licciardello, F.; Aiello, R.; Giuffrida F. y Leonardi, C. 2012. Treated municipal wastewater reuse in vegetable production. *Agr. Water Manage.* 104, 163-170.

Comninellis, C., Kapalka, A., Malato, s., Parsons, 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.

CONAGUA - OMM. 2008. Interrelaciones agua y salud publica en México - Informe OMM/Premia N° 064. México: Organización Metereologica Mundial.

CONAGUA. 2011. Inventario nacional de plantas municipales de potabilización y de tratamiento de aguas residuales en operación. DF, México: SEMARNAT.

CONAGUA. 2012. *Estadísticas del Agua en México, edición 2012.* Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional del Agua. Tlalpan, México, D. F: Subdirección General de Planeación.

CONAGUA LFD. 2014. Ley Federal de Derechos - Disposiciones Aplicables en Materia de Aguas Nacionales 2014. Tlalpan, México, D. F.: Comisión Nacional del Agua.

Córdoba A., Ciarmela, Ma. L., Pezzani, B., Gamboa, M. I., De Luca, M. M., Minvielle, M., & Basualdo, J. A. 2002. Presencia de parásitos intestinales

en paseos públicos urbanos en La Plata Argentina. Parasitología Latinoamericana, 57(1-2), 25–29.

Díaz, R. 2008. Calidad del Agua de la Presa Manuel Ávila Camacho Utilizada para el Riego de los Cultivos en el Distrito de Riego 030 “Valsequillo”. Memorias del Congreso ANCA, Universidad Autónoma de Morelos. pp. 1-10.

Donghua , L. & Ingrid, K. 2004. Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy (EELS). *Bioresource Technology*, 153–158.

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

Donghua, L.; Ping, X.; Quingnin M.; Jing, Z., Jiegang G. y Wusheng J. (2009). Pb/Cu Effects on the organization of microtubule cytoskeleton in interphase and mitic cells of Allium sativum L. Biotic and abiotic stress. 695-702.

Doménech, X.; Jardim, W. F. y Litter, M. I. 2001. “Procesos Avanzados de Oxidación para la Eliminación de Contaminantes”, Ciencia y Tecnología, Iberoamericano para el desarrollo, 1-24.

Drechsel, P.; Graefe, S.; Sonou, M. y Cofie, O. 2006. ‘Informal irrigation in urban West Africa: An overview’, Research Report 102, International Water Management Institute, Colombo, Sri Lanka. 11-18.

Ensink, J., Mahmood, T., van der Hoek, W., Raschid-Sally, L. and Amerasinghe, F. 2004. A nation-wide assessment of wastewater use in Pakistan: An obscure activity or a vitally important one?, Water Policy. 6, 197–206.

FAO. 2002. Agua y cultivos, logrando el uso óptimo del agua en la agricultura. 10-18.

FAO. 2009. Water resource allocation strategies: opportunities for wastewater reuse in agriculture. Conference paper for Malta Water Resources Authority. FAO, Rome.

FAO. 2013. Reutilización del agua en la agricultura: ¿Beneficios para todos?. Informe sobre temas hídricos. Roma.

FAOWATER. 2008. Water at a Glance: The relationship between water, agriculture, food security and poverty. Rome, FAO. (Available in http://www.fao.org/nr/water/docs/wateratglance.pdf).

Farré, M. and Barceló D. 2003. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. Trends in Analytical Chemistry. 22[5]: 299-310.

Fernández, A. y Cecile, M. 2005. Evaluación de la condición del agua para consumo humano en Latinoamérica. Proyecto Solar Safe Water, Buenos Aires - Iguazú. pp. 17-32.

Grant, W. 1999. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 426 [2]: 107-112.

Grazeffe V.; Tallarico L.; Pinheiro A.; Kawano, T.; Suzuki M.; Okazaki K. Pereira, C.A. y Nakano E. 2008. Establishment of the comet assay in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) Mutat Res. 654 [1]: 58-63.

Gil, R. 2010. El origen del agua en Puebla. San Andres Cholula: Consejo Directivo del Soapap. Gobierno del Estado de Puebla. 28-40.

Hall, J. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification. Journal of Experimental Botany. 53, 1-11.

Hamilton, A. J.; Stagnitti, F.; Xiong, X.; Kreidl, S. L.; Benke, K. K. and Maher, P. (2007). Wastewater irrigation: The state of play', Vadose Zone Journal, 4 [6]: 823–40.

Hernández, C. 2011. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. Enfermedades Infecciosas y Microbiología, 31(4) 151.

Hernández-Acosta, E.; Quiñones-Aguilar, E.; Cristóbal-Acevedo, D.; Rubiños Panta, J. 2014. Calidad biológica de aguas residuales utilizadas para riego de cultivos forrajeros en Tulancingo, Hidalgo, México. Rev. Chapingo, 20 [1]: 89-100.

Holler, F. y Crouch, S. R. 2001, Química Analítica, Ed. Mc Graw-Hill México, 330-331.

INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Agua potable y drenaje 2013.

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.

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.

Jiménez, B. and Galizia, J. 2014. Diagnóstico del agua en las américas. (J. P. Zúñiga, Ed.) Foro Consultivo Cientifico y Tecnologìa. México, Distrito Federal. 292-301.

Jiménez, B. and Asano, T. 2008. 'Water reclamation and reuse around the world', in B. Jiménez and T. Asano (eds) Water Reuse: An International Survey of Current Practice, Issues and Needs, IWA Publishing, London, 10.5-10.6.

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

Keraita, B., Jiménez, B. and Drechsel, P. 2008. 'Extent and implications of agricultural reuse of untreated, partly treated and diluted wastewater in developing countries', Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 3. 58. 15.

Klaravioti, M., Mantzavinos, D., and Kassinos, D. 2009. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. Environmental international. 35. 402-417.

Leung, H.M., Ye Z.H. y Wong M.H. 2007. Survival strategies of plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi on toxic mine tailings. Chemosphere 66, 905-915.

Liu, M.; Liu, X.; Hao, J. and Gao, L. (2010). Effect of simulated drought stress on plant growth, yield and fruit properties of tomato. Acta Horticulturae, 193–202.

Liu, D.; Ping. X., Qingmin, M.; Zou, J.; Jiegang, G. and Wusheng, J. 2009. Pb/Cu effects on the organization of microtubule cytoskeleton in interphase and mitotic cells of Allium sativum L. 28. 695-702.

Litter, M. 2005. Introduction to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water Treatment Hdb Env Chem. Vol. 2, Part M. 325–366.

Ma, T.H. 1999. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands on workshop in China. Mutation Research. 426: 103-106.

Mark, D. L. 2010. Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) *Encyclopedia of Research Design*. Neil J. Salkind Ed. 1566-1571.

Méndez, M. A. F., Ricardo, M. P. C., Pérez, P. J., Hernández, G. C., y Campos, O. 2006. Uso de las aguas residuales para el riego de cultivos agrícolas en la agricultura urbana. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, *15*[3], 17–21. Obtenido de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93215304.

Molden, D. 2007. Water for food, water for life: a Comprehensive Assessment of water management in agriculture. International Water Management Institute and Earthscan, London. 72-75.

Molle, F. and Berkoff, J. 2007. Irrigation water pricing: the gap between theory and practice. Published under the auspices of the International Water Management Institute. CABI, UK. 67-80.

Monks, P. 2005. Gas-phase radical chemistry in the troposphere. Chem. Soc. Rev. 34: 376–395.

Nebel, B., Wrigt R. 1999. Ciencias Ambientales, Ecología y Desarrollo Sostenible, Sexta edición, México. Prentice Hall. 264,299, 302.

Organización Mundial de la Salud. 2003. Informe sobre la salud del mundo. World Health Report. Suiza. 8-12, 136.

Oppendländer, T. 2003. Photochemical Purification of Water and Air. Edit. Wiley-VCH. 110.

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

Pál M., Horváth E., Janda T., Páldi E. y Szalai G. 2006. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. J. Plant Nutr. Soil Sci.169: 239-246.

Parvez, S., Venkataraman C. y Mukherji S. 2006. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. Environment International 32: 265-268.

Prost, A. 1988. Revision of the 1973 WHO guidelines: a WHO Scientific Group proposes revised health guidelines for the use of wastewater. IRCWD news, No. 24/25. 11.

Restrepo, R., Reyes, D., Ortìz, M., Rojas, F., Kouznetsov, V. 2011. Aberraciones cromosomales en bulbos de cebolla *Allium cepa* inducidas por moléculas híbridas 4-aminoquinolínicas. Scientiarum*, 17*(3) 253-261.

Rodriguez, H. 2013. La salud ambiental en México: situación actual y perspectivas futuras. Salud Pública México, 55(6), 638-649.

Saldaña, P., y Gómez, M. 2006. Caracterización de fuentes puntuales de contaminación en el Río Atoyac, México. Asociación Interamerciana de Ingenieria Sanitaria y Ambiental. Uruguay.

Salgot, M.; Huertas, E.; Weber, S.; Dott, W. y Hollender, J. 2006. Wastewater reuse and risk: definition of key objectives. Desalination 187: 29-40.

Sandip, S.; Ruparelia, J.P. and Manish, L.P. 2011. A general review on Advanced Oxidation Processes for waste water treatment. International Conference on Current Trends in Technology. 1-7.

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

Shuval, H., Adin, A., Fattal, B., Rawitz, E. y Yekutiel P. 1986. Wastewater irrigation in developing countries: health effects and technical solutions. Washington, DC, The World Bank (Technical Paper No. 51).

Smaka-Kincl V.; Stegner P.; Lovka M. y Toman M.J. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium sativum* procedure. Mut Res, 368: 171-179.

Statgraphics. 2010. Statgraphics Centurion XVI User Manual. Stat Point Technologies, Inc. E. S. A. 305.

Toledo. V. 2002. Agroecología, sustentabilidad y reforma agraria: la superioridad de la pequeña producción familiar. Agroecol. e Desenv. Rur. Sustent., Porto Alegre, 3[2], 27-36.

Ukaegbu, M. C. and Odeigah, P. 2009. The Genotoxic Effect of Sewage Effluent on *Allium* cepa. Report and Opinion, 1[6], 36-41.

UN. Department of Economic and Social Affairs. Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat. World Population Prospect: The 2010 revisión. Disponible

en: http://esa.un.org/wpp/panel_population.htm. Fecha de consulta: Noviembre 2013.

UNESCO. 2008. El agua en un mundo en constante cambio. El tercer informe sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo.

Verbruggen, N., Hermans, C., & Schat, H. 2009. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. New Phytologist, 181, 759–776.

Vig, K., Megharaj, M., Sethunathan, N., Naidu, R. 2003. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. Advances in Environmental Research, 8: 121-135

Víctor, M.; Sarria, G.; Rincón, A.; Torres, R. y Pulgarin C. 2005. New electrochemical and photochemical systems for water and wastewater treatment Rev. Colomb. Quim. vol.34 no.2, 161-173.

www.uneso.org