



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



"La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra"

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL AGUA RESIDUAL TEXTIL (PROCESO DENIM) VERTIDA AL RÍO ATOYAC

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

ANDRÉS ESTRADA RIVERA

Director de tesis:

Dra. Anabella Handal Silva

Julio 2018



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL AGUA RESIDUAL TEXTIL (PROCESO DENIM) VERTIDA AL RÍO ATOYAC

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

ANDRÉS ESTRADA RIVERA

Comité tutorial:

Director	Dra. Anabella Handal Silva
Integrante Comité Tutorial	Dra. Fabiola Avelino Flores
Integrante Comité Tutorial	Dra. Wendy A. García Suastegui
Integrante Comité Tutorial	Dr. Fernando Hernández Aldana

Julio 2018



BUAP

C. ANDRÉS ESTRADA RIVERA

Por este conducto me permito comunicarle que los miembros del jurado integrado por:

<i>Dr. José Víctor Rosendo Tamariz Flores</i>	<i>Presidente</i>
<i>Dra. Gladys Linares Fleites</i>	<i>Secretario</i>
<i>Dr. Fernando Hernández Aldana</i>	<i>1er. Vocal</i>
<i>Dr. Alejandro I. Alonso Calderón</i>	<i>2do. Vocal</i>
<i>Dra. Edith Chávez Bravo</i>	<i>Suplente</i>

Designado para la defensa de su tesis “*Evaluación Toxicológica del Agua Residual Textil (Proceso Denim) Vertida en el Río Atoyac*” han manifestado mediante su voto que esta cumple con los méritos suficientes para ser defendida como tesis de grado de Maestría en Ciencias Ambientales, por lo que este Posgrado le autoriza la impresión de la misma

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE
“PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR”
H. PUEBLA DE Z., JUNIO 27 DE 2018

E. Torres R.

DR. EDUARDO TORRES RAMÍREZ
COORDINADOR



ETR/app
c.c.p. Archivo
c.c.p. Minutario

AGRADECIMIENTOS

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
(CONACyT)**

Por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría.

A la Doctora Anabella Handal Silva por asesorarme y proveerme de los medios necesarios para la realización de este trabajo.

A los integrantes del Comité Tutorial

Dra. Fabiola Avelino Flores

Dra. Wendy A. García Suástegui

Dr. Fernando Hernández Aldana

Por su valiosa contribución para la realización de esta tesis.

Al Departamento de Tecnología Ambiental del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme trabajar en dicho Departamento.

Al posgrado en Ciencias Ambientales por darme la formación académica en Ciencias Ambientales.

Al Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción del ICUAP por permitirme llevar a cabo este trabajo.

A todos mis profesores de la Maestría que me formaron en Ciencias Ambientales y me indujeron en el trabajo de la investigación.

Y por último a todos mis compañeros de la Maestría que me enriquecieron como estudiante y persona con sus aportaciones y puntos de vista.

DEDICATORIAS

A MI MADRE:

María de Jesús Rivera Palacios (QEPD).

A MI PADRE:

Andrés Estrada Pavón (QEPD).

Por su amor y apoyo incondicional y ser las personas más bondadosas del mundo conmigo a pesar de todas las dificultades; la mayoría de mis logros incluyendo este se los debo a ustedes por siempre les estaré agradecido.

A mis hermanos: Blanca Patricia, Gabriela e Iván de Jesús. Gracias por estar presentes aportando buenas cosas a mi vida y por los grandes momentos de felicidad.

ÍNDICE

1. INTRODUCCION.	1
2. MARCO TEÓRICO.	3
2.1. La Ciencia Ambiental.	3
2.2. Contaminación.	4
2.2.1. Contaminación del agua en México.	7
2.3. El desarrollo de la industria Textil en Puebla y Tlaxcala.	9
2.3.1. Problemática ambiental del agua residual textil en Puebla y Tlaxcala.	11
2.4. Proceso Denim.	14
2.5. Toxicología Ambiental.	17
2.5.1. Carga tóxica e índice toxicológico.	19
2.6. Bioensayos.	20
2.6.1. Modelo experimental.	21
3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.	24
4. JUSTIFICACIÓN.	25
5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.	25
5.1. Pregunta general.	25
5.2. Preguntas particulares.	25
6. OBJETIVOS.	26
6.1. Objetivo General.	26
6.2. Objetivos Particulares.	26
7. HIPÓTESIS.	26
8. METODOLOGÍA.	27
8.1. Zona de estudio.	27
8.2. Trabajo de campo.	28
8.3. Trabajo de laboratorio.	30
8.3.1. Análisis fisicoquímico del ARTC.	31
8.3.2. Determinación de concentración del colorante índigo.	32
8.3.3. Aclimatación de los peces.	32
8.4. Bioensayo.	33
8.5. Análisis histológico.	35
8.6. Análisis molecular.	36

8.7. Análisis estadístico.	37
9. CARACTERIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO.	37
9.1. Villa Alta.	38
9.1.1. Usos del suelo.	38
9.1.2. Clima, flora y fauna.	38
9.1.3. Aspectos socioeconómicos y ambientales de Villa Alta.	39
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
10.1. Trabajo de campo.	41
10.2. Análisis del agua residual textil compuesta (ARTC).	43
10.3. Determinación de la cantidad de colorante índigo, en el ARTC.	48
10.4. Determinación de caudal volumétrico del efluente textil.	51
10.5. Carga de contaminantes vertida en la estación de muestreo.	51
10.6. Bioensayo.	52
11. ANÁLISIS MACROSCÓPICO DEL EFECTO DEL ARTC EN EL PEZ CEBRA (Danio rerio).	55
12. HISTOLOGÍA.	60
12.1. Histología de branquias.	60
12.2. Histología de hígado.	62
13. ANÁLISIS MOLECULAR.	63
14. CONCLUSIONES.	66
15. BIBLIOGRAFÍA.	67
16. ANEXOS.	79

Índice de tablas

Tabla 1. Rangos Índice Toxicológico	19
Tabla.2. Normas de referencia y equipos utilizados en los análisis fisicoquímicos del ARTC	30
Tabla 3. Formato de registro hoja clínica.....	34
Tabla 4. Resultados fisicoquímicos <i>In situ</i> del agua residual textil y del río .	41
Tabla 5. Cuadro comparativo entre el ART y la NOM-001 (Uso riego agrícola, Protección de vida acuática.....	43
Tabla 6. Concentración promedio de índigo residual en muestras de.....	48
Tabla 7. Carga de contaminantes que exceden la NOM-001-SEMARNAT ..	51
Tabla 8. Mortalidad promedio de pez cebra (<i>Danio rerio</i>) en diferentes concentraciones de ARTC.....	52

Índice de figuras

Figura. 1. Distribución de la región hidrológica del Balsas	13
Figura.2. Sustancias químicas utilizadas en el proceso Denim.....	16
Figura. 3. Pez cebra (<i>Danio rerio</i>).....	22
Figura. 4. Relación de las Ciencias Ambientales y la Toxicología.....	23
Figura.5. Etapas de la investigación	26
Figura. 6. Ubicación de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala	27
Figura 7. Toma de muestras del ART en la zona de estudio	28
Figura. 8. Acondicionamiento de peces para los trabajos experimentales ...	32
Figura.9. Toma de muestras en zona de estudio.....	33
Figura.10. Grupo control y bioensayos a diferentes diluciones de ARTC.....	33
Figura 11. Bioensayo para determinar la concentración letal media CL ₅₀	33
Figura. 12. Ubicación geográfica de la zona de estudio Villa Alta	40
Figura. 13. Concentración de índigo en el agua residual textil.....	48
Figura. 14. Concentración – Respuesta con transformación Probit	53
Figura. 15. Cabeza del pez. Grupo control en agua de garrafón.....	55
Figura. 16. Cabeza del pez. Grupo experimental 75% ARTC	55

Figura. 17. Aparato branquial. Grupo control en agua de garrafón	55
Figura. 18. Aparato branquial. Grupo experimental 75 % ARTC.....	55
Figura. 19. Grupo control. Aparato branquial	56
Figura. 20. Grupo experimental 75 % ART. Aparato branquial	56
Figura. 21. Grupo control. Branquiespinas	57
Figura. 22. Grupo experimental 75 % ARTC	57
Figura. 23. Vista macroscópica de los filamentos	57
Figura. 24. Vista microscópica del pez cebra (<i>Danio rerio</i>)	58
Figura. 25. Grupo Control. Histología de branquias	59
Figura. 26. Grupo 75 % ARTC. Histología de branquias.....	59
Figura. 27. Grupo experimental 75% ARTC. Histología de filamentos.....	60
Figura. 28. Grupo Experimental 75% ARTC. Aneurisma	60
Figura. 29. Grupo control. Histología de hígado	60
Figura. 30. Grupo experimental 75%. Histología de hígado.....	60
Figura. 31. Western Blot 13.5% ARTC	63

1. INTRODUCCION.

Este trabajo está orientado a evaluar el daño toxicológico que puede producirse, por efecto del agua residual textil (ART) que es vertida al Río Atoyac en la población de Villa Alta, municipio de Tepetitla de Lardizábal. El Municipio de Villa Alta ha sufrido un enorme deterioro ambiental en los últimos 20 años debido al crecimiento demográfico e industrial, lo cual ha producido una gran cantidad de contaminantes de todo tipo, y que al no ser manejados de manera adecuada impactan en la salud de los ecosistemas y de los habitantes de la localidad.

Una de las principales fuentes de contaminación en el lugar son las descargas de agua residual vertidas a la cuenca del Río Atoyac provenientes de las industrias textiles productoras de mezclilla (proceso Denim) y los talleres de lavandería de acabado de las prendas confeccionadas con dicha tela (Vallejo, 2016).

En México, las Normas Oficiales Mexicanas (NOMs) regulan los límites máximos permisibles de contaminantes de las descargas de aguas residuales en cuerpos de agua y bienes nacionales; son antiguas y están incompletas desde 1996 a la fecha no han sido revisadas y tampoco adecuadas a las necesidades actuales en materia de protección ambiental, ya que, no se contempla, en el caso concreto de estudio, los límites máximos permisibles del colorante índigo así como, el efecto tóxico del ART (Rodríguez, 2014).

El objetivo de la presente investigación consiste en evaluar la toxicidad del agua residual textil (proceso Denim) vertida al Río Atoyac y su efecto en la morfología, fisiología e histología del pez cebra (*Danio rerio*).

Los análisis fisicoquímicos realizados en el ART demostraron que siete parámetros se encuentran fuera de Norma 001-SEMARNAT-1996: nitrógeno total, sólidos sedimentables, grasas y aceites, DBO₅, fósforo, DQO, sólidos suspendidos totales. Dichos parámetros inducen: respuestas fisiológicas, morfológicas, al estrés, adaptaciones bioquímicas y ajustes del comportamiento del pez cebra. Cuando se producen cambios en los hábitats naturales las especies pueden lograr sobrevivir con mucho esfuerzo, adaptándose a los cambios generados en su entorno, pero si la alteración es grave, como es el caso de Villa Alta, es probable que los organismos mueran (Vega, 2010).

Las principales aportaciones al conocimiento del presente trabajo de investigación en la zona de estudio fueron los siguientes: se determinó el flujo de ART aproximado que fue de 3.6 L/s = 9,331 m³/mes, la carga estimada de contaminantes que fue de 31.2 ton/mes, así como, la

concentración letal media (CL_{50}) a la cual sobrevivió el 50% de los peces fue de 19.04% de ART. El análisis macroscópico en el pez cebra, los efectos a diferentes concentraciones de ART (13.5-75%) fueron: oscurecimiento de la piel en todo el cuerpo del pez, secreción pronunciada de mucus, así como, reblandecimiento muscular en comparación con el grupo control.

El análisis microscópico en branquias mostró que el ART afectó la longitud y distribución de filamentos y lamelas, el espesor de los epitelios, al unirse en algunas partes de algunos filamentos se observaron cambios de tamaño de algunos eritrocitos. El análisis molecular, confirmó la presencia de metalotioneínas en los peces sometidos a la menor concentración de ART (13.5%), donde se presentó la sobrevivencia del 100% de peces. De manera particular se analizó la respuesta toxica del pez cebra al ART durante el tratamiento agudo, mediante el uso de marcadores biológicos. Es importante mencionar que trabajos de este tipo son limitados en la zona de estudio. También se evidencia la importancia de realizar estudios toxicológicos para dar respuestas a la problemática ambiental en la zona de estudio.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. La Ciencia Ambiental.

Las ciencias ambientales son un área del conocimiento que se formó a finales de los años sesenta del siglo veinte y nace de la necesidad de buscar soluciones a la grave y compleja crisis ambiental que vive la sociedad globalizada en sus relaciones con la naturaleza (RFCA, 2007).

La humanidad debido a su capacidad y desarrollo tecnológico causa graves impactos en la naturaleza, esto nos llevara en las siguientes décadas a cambios drásticos en la tierra y los habitantes. El ser humano ha venido evolucionando a través de los años para perfeccionar su condición y procurarse una vida de comodidades, lo cual nos ha llevado a una serie de problemáticas ambientales globales como el decremento de la capa de ozono, el calentamiento global, la pérdida de especies, el uso de alimentos transgénicos o el continuo problema de eliminación de residuos sólidos (McKinney *et al.*, 2012).

Los problemas ambientales son difíciles de resolver porque el medio natural y las personas que habitan los diferentes ecosistemas forman un sistema complejo interrelacionado no solamente con elementos ambientales sino también sociales (Enger, 2010; Miller, 2007). La ciencia ambiental busca explicar cómo los humanos afectamos nuestro ambiente observando los problemas que surgen del mal uso que le damos a los recursos naturales dando respuestas a la sociedad para hacer cambios consistentes para un futuro sustentable (Wright-Boorse, 2011).

También es fundamental el concepto de sustentable que implica un cambio de modelo de desarrollo, propone la protección de la naturaleza, además de la equidad social presente y futura. El término de desarrollo surge en 1983, cuando la ONU crea la comisión sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. El desarrollo sustentable a partir del medio ambiente propone un cambio social pacífico y gradual, que de manera planificada modifique nuestra relación con la naturaleza y con nosotros mismos (Ramirez, *et al.*; 2004).

Para poder realizar este cambio de paradigma es básica la intervención de la Ciencia Ambiental, que es un campo multidisciplinario de trabajo basado en la investigación y pericia de especialistas de numerosas ciencias tradicionales que incluyen a la biología,

ingenierías, ecología, química, geología, física, antropología, derecho y economía (Chiras, 2013).

Por lo antes mencionado, el estudio del concepto de ambiente es complejo porque sus componentes pertenecen a dominios conceptuales de distintas disciplinas, en donde los diversos aspectos del conjunto son abordados desde las diferentes especializaciones disciplinares pertinentes, tomando en cuenta su correspondiente bagaje histórico, epistemológico, y metodológico. La contaminación es una de las evidencias del deterioro ambiental, como consecuencia de acciones humanas con efecto negativo sobre la naturaleza y el medio ambiente humano.

2.2. Contaminación.

La contaminación ambiental, en cualquier ecosistema, se presenta cuando se liberan al ambiente por actividades antropogénicas, comerciales o industriales sustancias que debido a su composición química o la cantidad evitan que se lleve a cabo la función de los procesos naturales lo que conlleva a la alteración de los hábitats e impacta en los recursos naturales degradando la calidad del aire, el agua y suelo, reduce la biodiversidad, generando un ambiente indeseable que afecta la salud y bienestar humano, y provoca problemas sociales y pérdidas económicas (EPA, 2016; OCDE, 2003; UNESCO, 1989).

Los contaminantes se propagan y distribuyen mediante la dispersión que está en función de las propiedades fisicoquímicas (densidad, pH, punto de fusión, punto de ebullición, punto de fusión, solubilidad y el coeficiente de difusión) de los materiales y de las condiciones meteorológicas. Entre los factores meteorológicos que tienen influencia en la materia y energía tenemos a la radiación solar, la lluvia, el viento, las corrientes de agua principalmente (Segura y López, 2003).

Por otra parte, se debe considerar el aumento en el volumen de emisión de sustancias contaminantes debido al rápido crecimiento económico derivado del incremento poblacional que presiona al ambiente y produce en los ecosistemas una serie de transformaciones denominados “impactos ambientales”. Estos cambios pueden ser tanto positivos como negativos (Baxter, 1997). Las actividades identificadas como generadoras de impacto ambiental son:

La producción energética e industrial cuyos impactos se pueden dividir en dos grupos: el uso de recursos desde su extracción hasta su desecho, y el consumo de energía. Sus efectos

más generalizados son el agotamiento de los recursos naturales tanto abióticos como bióticos y la contaminación del agua, aire y suelo (Bordehore, 1998).

El transporte es responsable de un alto porcentaje de deterioro ambiental debido al uso de materia prima, transformación del territorio para la construcción de infraestructuras y consumo de combustible, aportando el 20% de gases de efecto invernadero y otro porcentaje similar en deposiciones ácidas. Además de ser la primera fuente de ruido y malos olores en las ciudades (Sampere, 2000).

En la agricultura la producción intensiva vegetal y animal, incluyendo la modificación genética pueden generar serios problemas de salud y ambientales. El abuso de fertilizantes, contribuyen a la contaminación atmosférica aumentando los óxidos de nitrógeno intensificando el efecto invernadero, destrucción de la capa de ozono, deposición ácida, eutrofización de acuíferos, ríos, lagos y aguas costeras. Todo lo mencionado anteriormente altera y destruye parcial o totalmente los hábitats causando la fragmentación y pérdida de biodiversidad (Rico, 2005).

Contaminación del suelo: El suelo es la capa más superficial de la superficie terrestre, es un recurso no renovable que juega un papel esencial en la biosfera (Gatheru *et al.*, 2017) donde los animales y humanos obtienen alimento y las plantas nutrientes (Solís y López, 2003). Las causas principales de la contaminación del suelo son las actividades antropogénicas como la agricultura, la ganadería, la minería y la industria que han producido una gran acumulación de contaminantes químicos orgánicos e inorgánicos entre los que están: los compuestos orgánicos volátiles, metales pesados y metaloides causando un riesgo significativamente tóxico para los ecosistemas (Cachada, 2017).

Además, la contaminación del suelo provoca la reducción de la biomasa, afecta la diversidad taxonómica y las funciones en los procesos microbianos, de este modo desajusta los ciclos biogeoquímicos de los nutrientes como la mineralización y la síntesis de sustancias orgánicas entre los que podemos citar ciclos del carbono, oxígeno, nitrógeno, fósforo, azufre y del agua (Romero, 2016).

Contaminación del aire: La contaminación del aire se define como el deterioro que se produce por cualquier agente que modifica las características naturales de la atmósfera. Algunas de las actividades que provocan este tipo de contaminación son la quema de combustibles fósiles por ejemplo en el transporte, las industrias y generación de energía; las actividades de construcción, demolición, incendios forestales y emisiones volcánicas (Elías, 2017).

En la atmósfera los compuestos primarios que contribuyen a la contaminación del aire son los óxidos de azufre (SO_x), el monóxido de carbono (CO), los óxidos de nitrógeno (NO_x),

los compuestos secundarios que resultan de la reacción química y transformaciones de los contaminantes primarios como son el ozono (O₃), la lluvia ácida y la contaminación fotoquímica constituida por sustancias oxidadas y luz solar (SEMARNAT, 2013). Los efectos que se producen son: destrucción de la capa de ozono, inversión térmica y lluvia ácida la cual a su vez produce impactos negativos en los ecosistemas acuáticos y terrestres; el efecto invernadero, cambio climático, afectación a la visibilidad y desde luego a la salud (Inche, 2004).

Contaminación del agua: La contaminación del agua es la presencia de componentes químicos, físicos o biológicos que producen una condición de deterioro de un cuerpo de agua con respecto a algún uso (Linda, 2018). La contaminación hídrica es uno de los mayores problemas ambientales de la actualidad. Al igual que los otros tipos de contaminación, se ha atribuido principalmente al crecimiento industrial y urbano (Hennigan, 1969).

Los fenómenos de origen antropogénico que mayor daño producen a los cuerpos de agua son la lluvia ácida que tiene consecuencias sobre todo en la flora y fauna acuática (Newbery *et al.*, 1990). Otro fenómeno de contaminación del agua es la eutrofización el cual consiste en un incremento en el suministro de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo. Las principales causas del proceso de eutrofización son: Las descargas de aguas residuales las cuales son ricas en nutrientes, contribuye al cambio trófico del cuerpo receptor.

El uso excesivo de fertilizantes, que aportan nitrógeno en forma de sales como nitrato y amonio y fósforo como fosfato. La deforestación y erosión de los suelos agrícolas también impactan en la carga de nutrientes ya que los escurrimientos al pasar por un terreno que no tiene protección edáfica lava y se lleva todos los nutrientes (RAPAL, 2010).

¿Cómo impacta la contaminación del agua a la biodiversidad y al ser humano? Desde un enfoque holístico la contaminación hídrica en general se evidencia directamente en biosfera que es la parte viva que comprende todas las regiones del planeta representada por la flora y la fauna, que afectan todos los ecosistemas acuáticos y terrestres así como, los ecosistemas urbanos compuestos por seres humanos que también dependen del medio ambiente para su supervivencia (Segura y López, 2003).

La calidad del agua siempre ha sido un factor determinante para el bienestar humano. Las enfermedades propagadas por el agua contaminada con materia fecal han diezmando poblaciones de ciudades enteras. Hay todavía epidemias ocasionales causadas por

agentes infecciosos transportados en el agua, como el cólera, poliomielitis y otras. El agua insalubre sigue causando graves problemas a las personas que están obligadas a usarla, tanto para beber como para la irrigación de hortalizas y el aseo (Campos, 2003).

2.2.1. Contaminación del agua en México.

Según datos del programa de la ONU “Aguas y ciudades”, cerca de 800 millones de personas residen cerca de ríos contaminados, sin servicios básicos ni saneamiento adecuado, expuestos a altos índices de contaminación por productos químicos y riesgo de enfermedades contagiosas como diarrea, brotes malaria, cólera y de manera más severa problemas de insuficiencia renal y leucemia (ONU, 2017).

La falta de tratamiento adecuado de las aguas residuales en los países emergentes ha contribuido a la contaminación de los recursos hídricos tanto subterráneos como superficiales. De hecho, se calcula que diariamente se descargan dos millones de toneladas de desperdicios a los ríos del mundo. Por otro lado, la protección de los recursos hídricos y la contaminación del agua tienen un precio más allá de la degradación ambiental.

La situación de contaminación de los ríos en el mundo simboliza la grave crisis que aqueja desde hace muchos años al planeta. Los principales ríos del mundo están muriendo como resultado no solo de su contaminación también por el cambio climático y las represas. De los 500 ríos principales del mundo, la mitad están altamente contaminados (WWF, 2011).

Aunque el agua es un elemento importante para el desarrollo de la sociedad, también se puede convertir en una amenaza para el ser humano, ya que su contaminación puede generar epidemias y enfermedades crónicas (CONACYT, 2016). La calidad del agua es un factor determinante de salud pública y de los ecosistemas, que restringe la oferta del agua y su distribución para sus diferentes usos, además de afectar de manera particular a la salud infantil menores de 5 años.

En México el deterioro en la calidad del agua se ve reflejado en la contaminación de los ríos principalmente. México se encuentra en el lugar 81 a nivel mundial entre los países con una disponibilidad de agua promedio baja con 465 mil metros cúbicos de agua al año, y tiene 85 ríos principales, que se agrupan en tres vertientes: la occidental, la oriental y la interior. En el país el 74 % de los cuerpos de agua presentan algún grado de contaminación, la principal fuente son descargas de aguas residuales. Las áreas urbanas generan 255 m³ de agua residual y no existe la capacidad de tratar este volumen con las plantas de tratamiento

que disponemos, una de las formas de disminuir el agua contaminada que arrojamamos a los ríos y lagos es disminuir nuestro consumo, en tanto se construyen plantas de tratamiento que la dejen con un grado de calidad aceptable antes de ser vertida a los cuerpos de agua naturales SEMARNAT, 2011. Los ríos más contaminados del país son: Lerma, Bravo, Papaloapan, Panuco, Turbio, Coatzacoalcos y el Atoyac (INEGI, 2008).

En México la sobreexplotación de los recursos hídricos es un grave problema que ha ido aumentando. Los mayores problemas de contaminación en el agua se presentan en el Valle de México y el Sistema Cutzamala, seguidos por la península de Baja California. La contaminación del agua provoca enfermedades infecciosas intestinales; en el año 2010, en nuestro país, estos padecimientos fueron la tercera causa de muerte en niños menores de un año (CONAGUA, 2011). Las tasas más altas de mortalidad por cada 100 000 habitantes por este tipo de enfermedades se concentran en los estados de Chiapas 49.82 %, Oaxaca 44.77% y Puebla 41.59% (FUSDA, 2008).

La Comisión Nacional del Agua monitorea la calidad del agua superficial basada en tres indicadores: la demanda bioquímica de oxígeno a cinco días que indica la presencia de materia orgánica biodegradable, la demanda química de oxígeno que reporta el nivel de materia orgánica que proviene de descargas municipales e industriales, y los sólidos suspendidos totales, los cuales se originan por dos vías: las aguas residuales (GREENPEACE, 2009), y los cambios de cobertura y uso de suelo que alteran la calidad de los ríos ya que se experimentan modificaciones en los aportes del agua y sedimentos dentro de la cuenca y los ecosistemas (UNAM, 2014).

En el país, más de 13 millones de metros cúbicos de aguas residuales se vierten anualmente sobre los cuerpos de agua dulce (CONAGUA, 2010). En México sólo se trata el 32.6 % de las aguas residuales municipales y el 15.7 % de las aguas industriales y agrícolas (INEGI, 2008). La contaminación que se genera en los ríos de México llega al mar, afectando la calidad del agua de las zonas costeras de las cuales 338 playas presentan contaminación, desafortunadamente en México la mayoría de las industrias no cuentan con programas para manejar los desechos que eliminan de sus procesos, y al no contar con plantas de tratamiento adecuadas, depositan sus residuos, en muchos casos tóxicos a cuerpos de agua que son ensuciados gravemente principalmente los ríos (SEMARNAT, 2009).

La industria textil es considerada como una de las principales generadoras de contaminantes de agua y desechos peligrosos debido a que en su proceso de fabricación incluye diversas etapas que provocan una seria contaminación al medio ambiente. Los principales puntos de generación de contaminantes están centrados en el manejo de materiales peligrosos, emisiones al aire, residuos sólidos, líquidos, consumo de energía y generación de grandes cantidades de aguas residuales altamente coloreadas y constituidas por compuestos difícilmente biodegradables (Amjad A.K. *et al.*, 2007).

2.3. El desarrollo de la industria Textil en Puebla y Tlaxcala.

La ciudad de Puebla, fundada en 1531, comenzó a adquirir importancia como centro productivo a mediados del siglo XVI, gracias a la abundante presencia de agua, a la proximidad de sitios proveedores de materia prima y a su ubicación estratégica desde el punto de vista comercial, la ciudad contó con las condiciones que permitieron el desarrollo de una amplia gama de actividades productivas, de las cuales la textil fue la que cobró mayor importancia.

La manufactura textil en Puebla surgió en el siglo XVI, se convirtió en el siglo siguiente en el centro de la industria algodonera de la Nueva España, a mediados del siglo XVIII la industria textil se consolidó, en 1835 se inició su mecanización con la fundación de la Constancia Mexicana, la primera fábrica textil del centro del país. Durante el siglo XIX se establecieron a la orilla del Atoyac, en los estados de Puebla y Tlaxcala, 13 fábricas textiles, las cuales aprovecharon la energía hidráulica de la corriente. De este modo el agua del río Atoyac se volvió un recurso estratégico para la industrialización entre los siglos XIX y XX, con el aumento demográfico el impacto ambiental que tuvo la industrialización textil provocó una mayor demanda del líquido y su contaminación (Rosas, 2012; Handal *et al.*, 2017).

Las primeras fábricas textiles instaladas en Puebla se ubicaron a lo largo del Río Atoyac, ya que sus aguas presentaban las mejores condiciones para ser aprovechadas industrialmente. Los centros fabriles ubicados a lo largo del Río Atoyac su desarrollo se caracterizó por que las fábricas se ubicaron en las inmediaciones del río a fin de aprovechar su agua como fuerza motriz, para lo cual adaptaron edificios de producción preexistentes como molinos y haciendas adaptando sus espacios para dar cabida a la nueva maquinaria y construyendo espacios adyacentes (Ibáñez, 2012).

Con el paso del tiempo los procesos textiles fueron evolucionando, si bien muchas fábricas se modernizaron incorporando nuevos procesos industriales, otras desaparecieron. Así, a partir de 1897, el corredor industrial del Atoyac se conformó por 13 factorías textiles, en Tlaxcala y Puebla (Gamboa, 1985).

La problemática del Atoyac se agudiza, a partir de la década de los 70s, principalmente por la incorporación del agua residual la cual contiene grandes cantidades de sales, metales pesados, detergentes y grasas, que provienen de las poblaciones de Tlaxcala, San Martín Texmelucan, Moyotzingo y la ciudad de Puebla. Las aguas negras del Río Atoyac rebasan los límites máximos permisibles de las normas oficiales mexicanas para DBO₅, DQO, metales y compuestos tóxicos. Las zonas de mayor concentración de población están mayormente expuestas a la diversidad y concentración de sustancias químicas potencialmente tóxicas (Tribunal Latinoamericano del Agua, 2011).

El Río Atoyac además presenta un grado de anoxia severo y las industrias que más contaminan son las del ramo textil, metalúrgica y de alimentos, además de las actividades domésticas y agrícolas. La elevada concentración de materia orgánica en el río implica la reducción en el contenido de oxígeno disuelto, lo que afecta a los organismos y los ecosistemas acuáticos. Por otro lado, a largo plazo pueden presentarse enfermedades en las poblaciones cercanas, pérdida de biodiversidad, desaparición de paisajes, etc. Podemos entonces mencionar que con la contaminación existente del Atoyac se afecta la calidad de vida, se pierde sustentabilidad y se pone en riesgo la supervivencia de las generaciones futuras (Handal, *et al.*, 2017).

El desmedido incremento poblacional e industrial amenaza los recursos hidrológicos de Puebla y Tlaxcala con la temible expectativa de que la disponibilidad del agua escasee a niveles críticos comparativo con la Ciudad de México (CONAGUA, 2016). En 2010 se reportaron en México 14,950 establecimientos del sector textil y del vestido (INEGI, 2011).

Lo anterior conlleva a la generación de descargas de aguas residuales que son la causa de contaminación en los cuerpos de aguas superficiales y subterráneos, algunos de los daños que se manifiestan a nivel municipal o en pequeñas localidades de Puebla y Tlaxcala son la pérdida de biodiversidad y efectos negativos en la salud pública (Rodríguez, 2014). El ejemplo más representativo del deterioro de calidad del agua de los recursos hídricos en los estados de Puebla y Tlaxcala se refleja en la cuenca del Río Atoyac. Se han realizado caracterizaciones de descargas de agua residual en el Alto Balsas, el cual recibe la mayoría

de dichas descargas en la cuenca y donde se ubican en los estados de Puebla y Tlaxcala. Puebla cuenta con varios parques industriales que se ubican en la zona. En el estado de Puebla se estima un volumen de descarga de aguas residuales que afecta a los Ríos Atoyac y Alseseca de 119.4 Mm³ anuales (Saldaña y Gómez, 2006).

La carga contaminante que trae consigo el Río Atoyac se ve incrementada cuando entra a la zona urbana de Puebla, donde está la mayor densidad demográfica del estado y también están localizados 14 parques industriales que incluyen empresas de distintos giros: automotriz, farmacéutico, textil, alimentos, metalúrgico entre otras, de los cuales los giros principales en la zona del Atoyac son la textil (24%), químico (23%) y de alimentos (17%); (Pérez, 2017; Saldaña y Gómez, 2006).

En los últimos 7 años ha habido un notable aumento en la demanda bioquímica de oxígeno (49%) y de metales pesados en diferentes proporciones; el río presenta condiciones anóxicas (una media de 1.47 mg de O₂/L), altas concentraciones de contaminantes orgánicos y gran población de bacterias coliformes Pérez *et al.*, (2018) identificaron durante un recorrido del río de aproximadamente 25 km de longitud desde la localidad de Covadonga hasta la presa del municipio de Emilio Portes Gil en Puebla, 11 especies de bacterias patógenas oportunistas Gram negativas, que pertenecen a las familias entero bacterias (*Morganella morganii*, *Enterobacteria cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafniaalvei*, *Kluyvera sp*); Pseudomonadaceae (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomona ssp*) y Xanthomonadaceae (*Stenotrophomona maltophilia*). Tomando en consideración estas condiciones podemos afirmar que el Río Atoyac se encuentra en un grave estatus de deterioro, lo cual impide la supervivencia de fauna acuática.

2.3.1. Problemática ambiental del agua residual textil en Puebla y Tlaxcala.

Las actividades antropogénicas impactan al ambiente natural que provocan diversos problemas ambientales, sin embargo, el ser humano no toma conciencia de que también forma parte del ambiente natural. La sociedad moderna depende de las fuentes de energía y los materiales para mantener su civilización (McKinney; *et al.*, 2012).

El problema ambiental inicia cuando hay un cambio en la calidad y cantidad de algún factor ambiental el cual afecta la salud y el bienestar de las personas. Los problemas ambientales son complejos y el conocimiento para resolverlos está disperso. Para resolverlos se requiere que se involucren diversas áreas del conocimiento (Ordin, 2017).

El estudio de un ecosistema natural que ha sufrido la acción del ser humano, ya sea por medio de la explotación de sus recursos por agro sistemas e industrias, o bien por la instalación de asentamientos de diversos tipos como grandes ciudades y las obras de infraestructura, supone la consideración de una serie de elementos que intervienen en tales procesos: elementos sociales, económicos y políticos, es decir supone concebir el objeto de estudio (ambiente y ser humano) como un sistema complejo. La teoría de sistemas complejos es una propuesta para abordar el estudio de una problemática ambiental. Se trata de un método para trabajar interdisciplinariamente (García, 2006).

El ambiente como objeto de estudio se definió como: "*el conjunto de elementos físicos, químicos, biológicos y de factores sociales, capaces de causar efectos directos o indirectos, a corto o largo plazo, sobre los seres vivos y las actividades humanas*" (Conferencia Estocolmo, 1972) y es objeto de estudio, de muchas disciplinas entre las principales: la biología, la química, la geología, la antropología, la medicina, la toxicología, economía, la política por mencionar algunas. También se mencionó que la toxicología ambiental estudia los efectos nocivos de los agentes químicos, biológicos y agentes físicos en los sistemas biológicos y que establece, además, la magnitud del daño en función de la exposición de los organismos, buscando identificar, prevenir y tratar las enfermedades derivadas de dichos efectos.

Derivado de lo anterior en Puebla y Tlaxcala la industria textil contribuye enormemente al deterioro del agua debido al tipo de procesos que maneja y los grandes volúmenes de agua residual que produce. La composición del agua residual de la industria textil dependerá de las sustancias químicas que use en sus procesos; principalmente el teñido y lavado contienen una diversa combinación de compuestos como: colorantes, saponificadores, surfactantes, suavizantes, entre otras sustancias difíciles de degradar (Cortázar, *et al*; 2014; Rodríguez, 2011).

Entre los límites de San Martín Texmelucan, Puebla y Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala; se han establecido fábricas y talleres productores de tejidos de tela de mezclilla para la confección de jeans (Denim), las cuales generan enormes volúmenes de agua residual con elevadas concentraciones de materia orgánica, cloruros, hidróxidos de sodio, metales pesados y compuestos orgánicos volátiles, algunas de ellas consideradas tóxicas y cancerígenas para los seres vivos. Lo que representa un enorme riesgo de salud no sólo para los ecosistemas de la zona sino también para las poblaciones cercanas (Vallejo, 2016).

También en la zona agrícola industrial de San Martín Texmelucan, Puebla y Villa Alta, Tlaxcala se han detectado graves enfermedades como anemia hemolítica, insuficiencia renal y leucemia; causadas en buena medida por contaminantes arrojados en el Río Atoyac. Estudios de biomonitorio realizados por investigadores de la UNAM determinaron que, debido a la situación ambiental de las zonas de San Martín Texmelucan, Puebla y Villa Alta, Tlaxcala existe una correlación entre los daños genotóxicos entre pobladores de las comunidades cercanas al río debido a la acción de agentes contaminantes en sus células (Montero, 2006 y 2012).

Otra de las causas que agudizan la problemática de la contaminación del agua en el Río Atoyac son las industrias que al ahorrar en costos vierten sus aguas residuales sin tratamiento adecuado. Esto sucede no obstante que existen normas ambientales (NOM-001-ECOL-1996; NOM-002-ECOL-1996) que exigen que las aguas residuales industriales cumplan con parámetros fisicoquímicos de calidad bien definidos. Además, el parámetro sobre toxicidad no es tomado en cuenta en la normatividad mexicana por lo que sería importante establecer límites máximos que puedan ser cumplidos por las industrias para evitar el deterioro en la calidad del agua de los cuerpos receptores, proteger las comunidades de sistemas acuáticos y la salud de la población adyacente (Rodríguez, 2014).

La problemática ambiental del Río Atoyac es resultado del gran deterioro producido tanto por la expansión demográfica sostenida como por desarrollo económico de los Estados de Puebla y Tlaxcala, (Fig.1) que se asientan en 2429 km² de extensión superficial de la subcuenca del Atoyac en el Alto Balsas (Sandoval, 2009).



Figura. 1. Distribución de la región hidrológica del Balsas (CONAGUA, 2009).

La subcuenca del Atoyac está localizada entre los estados de Puebla y Tlaxcala formando parte del inicio de la cuenca del río Balsas. Históricamente el Río Atoyac ha sufrido un deterioro en su calidad debido a la enorme cantidad de descargas de agua residual tanto de procesos industriales como de asentamientos humanos (Bravo *et al*; 2015).

2.4. Proceso Denim.

La industria textil, como ya se mencionó es una de las más importantes de México. La composición del agua residual, de una industria textil, dependerá de las sustancias químicas que utilicen durante el proceso (Cortázar, 2017), y es considerada como una de las principales generadoras de sustancias peligrosas en el agua debido a que en sus procesos de fabricación incluye diversas etapas que provocan una seria contaminación al medio ambiente. Los principales puntos de generación de contaminantes están centrados en el manejo de materiales peligrosos, emisiones al aire, residuos sólidos, líquidos, consumo de energía y generación de grandes cantidades de aguas residuales altamente coloreadas y constituidas por compuestos difícilmente biodegradables.

El agua de los efluentes generados en la industria textil es típicamente caliente, alcalina y coloreada. Los principales contaminantes presentes son sólidos suspendidos, aceites minerales y compuestos orgánicos, los cuales se consideran compuestos xenobióticos recalcitrantes a los procesos biodegradativos. También están presentes concentraciones significativas de metales pesados, como cromo, cobre, zinc, níquel o plomo. En el proceso de fabricación de la fibra natural, el agua residual puede contener pesticidas y contaminantes microbiológicos, como bacterias, hongos y otros patógenos.

La falta de tratamiento de aguas residuales de la industria textil es un problema ambiental al que se le ha dado atención, ya que muchos colorantes y aditivos textiles son tóxicos no biodegradables y son descargados a canales y ríos, permaneciendo en el ambiente (WBG, 2011).

El proceso Denim, es el proceso a través del cual se elaboran los tejidos de algodón teñidos con el colorante índigo o añil, y que se conoce de manera general como mezclilla, posteriormente la mezclilla se transforma en prendas de vestir. El proceso requiere 5600 L de agua para producir un par de pantalones. Además, el uso de accesorios de metal como botones, cierres, remaches y etiquetas de aspecto de cuero usados en la producción hace difícil reciclarlos (Amutha, 2017).

El proceso Denim, incrementa significativamente la contaminación ambiental, debido a su gran consumo de agua; el colorante índigo es muy irritante para la piel, ojos y mucosas; y cuando se descompone puede producir anilina y ácido pícrico compuestos clasificados como cancerígenos; la sosa caústica que como ya se mencionó anteriormente es utilizada en los procesos de pre teñido, específicamente en el proceso de descruce y que causa quemaduras a ojos y piel; si se evapora causa irritaciones severas en el aparato respiratorio, además que en solución confiere altos niveles de pH (de 11 a 13 unidades); el hidrosulfito de sodio como reductor es peligroso para la vida acuática, su inhalación produce en las personas irritación severa de las mucosas y tracto respiratorio produciendo dolor abdominal, vomito, disturbios en el sistema nervioso central, tanto en humanos y animales, además de causar desequilibrio en diferentes ecosistemas acuáticos y cadenas alimenticias (Periyasamy, 2017).

El índigo que es uno de los más antiguos e importantes colorantes de la historia de la humanidad tiene poca solubilidad en agua, menor a 2 mg/L, por lo que debe ser transformado en un producto más soluble antes de su aplicación industrial, esto se logra empleando un agente reductor fuerte que lo transforma en una forma soluble (Sala, 2006).

Las etapas involucradas en el proceso Denim son:

El descruce: Sirve para retirar las impurezas naturales del algodón como las ceras, pectinas y proteínas. El algodón puede contener entre 4 y 12% de estas impurezas por peso. El hidróxido de sodio en caliente (60-70°C), el acomplejante y el surfactante (actúan como humectantes) son utilizados en esta etapa. El proceso se lleva a cabo en solución acuosa y consume grandes volúmenes de agua y mucha energía (Santillo, 2005).

Preparación del colorante: El añil como se ha mencionado es poco soluble en agua y para lograr su fijación se utilizan reacciones de óxido-reducción (REDOX). En primer lugar, se reduce el colorante hasta llegar a una forma soluble en agua utilizando hidróxido de sodio e hidrosulfito de sodio, esto provoca la presencia de sales de azufre en las aguas residuales y altos valores de pH (Fernelius, 1983).

Proceso de tintura: El índigo reducido es soluble en el agua, tiene una alta afinidad por las fibras celulósicas del algodón y entre los espacios abiertos de estas. Las fibras teñidas se exponen al aire y de este modo la molécula teñida se oxida retornando a su forma insoluble. Las partículas de tinte insoluble son atrapadas dentro de la fibra, coloreando de esta forma permanentemente la prenda de azul (Quintero y Cardona, 2010).

Enjuague: El propósito de la etapa de enjuague es remover la materia insoluble que no se ha fijado en la etapa de teñido en la superficie de la fibra. El enjuague incluye un proceso fisicoquímico, que remueve la mugre del sustrato o fibra como en la etapa de descruce (Tecnitex, 1996).

Construcción de la tela o tejido: En términos generales, en este proceso se entrelazan hebras dispuestas a lo largo (urdimbre) con otras que van en ángulo recto a las primeras

(tramado) pasando por encima o debajo de éstas. A fin de evitar que se rompa la hebra de la urdimbre como resultado de la fricción que se produce durante la operación del telar, es necesario agregar una etapa conocida como engomado (Luna, 2013).

Acabado: Este proceso consta de 4 etapas: Chamuscado que consiste en introducir la tela que sale del tejido a una cámara de combustión con el propósito de eliminar pelusa y fibras salientes de la tela.

Desengomado: Se prepara la tela adhiriendo productos químicos a través de un baño con desengomantes y antiestáticos para realizar el pre-encogimiento y torsión.

Torsión: Se hace pasar a la tela sobre tres rodillos que tienen el propósito de mover la tela hacia la derecha o izquierda dependiendo de la sarga con la que fue tejida para enderezar su orientación y no salgan desviadas las prendas al ser elaboradas.

Sanforizado: En este punto el proceso la tela se encoge hasta alcanzar el porcentaje deseado para evitar que las prendas construidas con esta tela se encojan más cuando se laven (del Villar *et al*; 2010).

Elaboración de prendas y deslavado: Por otra parte, el lavado del Denim es un acabado estético para mejorar la apariencia y darle fuerza al tejido. En el lavado de la mezclilla, varios efectos pueden producirse, tales como, desvanecimiento del color, arrugamiento, pilling (frisado formación de nudos o bolitas en el tejido). El lavado de la superficie puede ser a través de diferentes métodos como con piedras, arena, enzimas de celulosa, hipoclorito de sodio, permanganato de potasio, peróxido de hidrogeno, laser, ozono, etc.

Por todo lo anterior, el proceso de teñido no solamente necesita colorantes, sino también varios productos especiales conocidos como auxiliares (Fig.2) entre los que se encuentran: humectantes, surfactantes, secuestrantes, antiespumantes, colorantes, encolantes, suavizantes, desengrasantes, lubricantes y estabilizadores antiestáticos (Quiminet, 2008), los cuales son desechados a través de procesos de enjuague por desborde continuo (Manual de Saponificación, 2015).

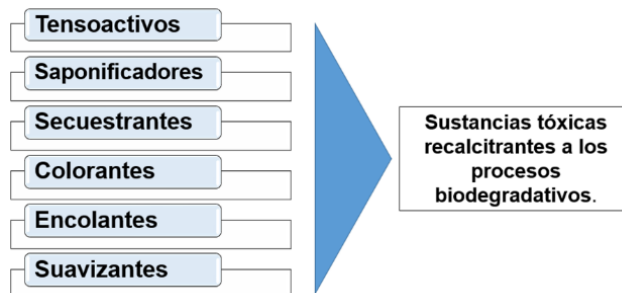


Figura.2. Sustancias químicas utilizadas en el procesos Denim.

Los auxiliares son de gran importancia para que el proceso sea lo más rápido y homogéneo, la mayoría son agentes tensoactivos y contienen sustancias xenobióticas persistentes a los

procesos biodegradativos. También contiene altas concentraciones de metales pesados, sólidos disueltos totales y altas demandas bioquímicas de oxígeno (Sherma *et al.*, 2008).

En particular, las aguas residuales textiles contribuyen enormemente a la contaminación y deterioro del agua debido a las grandes descargas en el medio ambiente, principalmente en cuerpos de agua como los ríos y son consideradas como las más contaminantes de todos los sectores industriales. Incluso bajas concentraciones de (10-50 mg/L) colorantes solubles “azo” pueden colorear fuertemente arroyos y ríos (Wenjuan, 2012). Los tensoactivos o surfactantes son productos químicos, que ejercen su efecto en la superficie de contacto entre dos fases, mediante la modificación de su tensión superficial (Sole, 2014).

Saponificación es una reacción química entre un lípido y una base, en la que se obtiene como principal producto la sal de dicho ácido. En el aspecto textil la saponificación consiste en añadir al baño de descruce de la fibra sosa caustica a altas temperaturas (Manual de Saponificación, 2015). Los agentes secuestrantes son compuestos químicos con la habilidad de formar complejos solubles de iones metálicos en presencia de agentes químicos que normalmente producirían precipitados en soluciones acuosas (Quiminet, 2006).

La carga contaminante generada en las diferentes operaciones del proceso textil ha sido descrita extensamente por diversos autores (Crespi, 1979; Ourdelot, 1973;). En general la carga contaminante de los efluentes textiles es de dos a tres veces superior a la de un agua residual urbana y algo más tóxica.

Estudios realizados han encontrado gran variedad de compuestos orgánicos en las muestras de aguas residuales textiles como cloroformos; fenoles (Garcés, 2007); cloro fenoles (Calderón, *et al.*; 2008), todos compuestos persistentes y moderadamente tóxicos para la vida acuática (GREENPEACE, 2012). Los altos niveles de contaminación generado por las aguas residuales textiles ponen en riesgo a la población cercana, puesto que la cantidad de bacterias podría generar enfermedades como salmonelosis, tifoidea, gastroenteritis hasta hongos en piel (Calderón; 2008).

2.5. Toxicología Ambiental.

La toxicología tiene como preocupación principal resolver situaciones en las que se pone en peligro la vida de un ser vivo, debido al efecto nocivo de una estructura química perniciosa conocida como tóxico. Para lograrlo estudia el origen y propiedades de los tóxicos usando modelos experimentales (Gutiérrez y López, 2001).

Un tóxico lo podemos definir como cualquier sustancia xenobiótica capaz de producir daño adverso en los organismos vivos, entre ellos figuran los fármacos, las sustancias químicas industriales, los venenos presentes en la naturaleza y los contaminantes del medio ambiente (Silbergeld, 2014). El aumento en el uso de sustancias químicas para diversos propósitos ha propiciado la presencia de contaminantes tóxicos en aire, agua, alimentos y otras partes del ambiente, lo cual ha motivado a que la toxicología se subdivide en las siguientes áreas:

Toxicología forense, que estudia los métodos de investigación médico-legal, en los casos de envenenamiento y muerte (Álvarez, 2011).

Toxicología clínica, es la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las intoxicaciones que pueden manifestarse con curso agudo o crónico (Jiménez, 2009).

Toxicología ocupacional, identifica los riesgos físicos, químicos y biológicos, que se pueden encontrar en el ambiente laboral, evalúa los efectos adversos a la salud de los trabajadores que surgen de la exposición de los compuestos tóxicos. Establece medidas de control para prevenir o minimizar dichas exposiciones (Amr, 2002).

Toxicología ambiental, En la sociedad moderna, la toxicología es una herramienta importante de la salud ambiental y de la salud laboral. Esto se debe a que las organizaciones tanto gubernamentales como no gubernamentales, utilizan la información toxicológica para evaluar y regular los peligros presentes tanto en los sitios laborales como en el ambiente en general (Guerrero, 2011).

La toxicología ambiental estudia los daños causados al organismo por la exposición a los tóxicos que se encuentran en el medio ambiente. La respuesta tóxica en un órgano determinado depende de la exposición de ese órgano al tóxico, o sea el daño depende de la concentración de la sustancia en el tejido blanco La toxicidad es la capacidad de alguna sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo (Peña *et al.*, 2004).

La evaluación medio ambiental de sustancias y productos químicos tiene como objeto principal, estimar los riesgos que una sustancia química puede ocasionar en el medio ambiente tras su emisión (De la Torre, 2004). Para medir la toxicidad se determina la "concentración letal 50" (CL₅₀); este es un indicador estadístico de toxicidad aguda, el cual señala la cantidad del tóxico que causa la muerte del 50% de los animales que la reciben en un determinado periodo de tiempo (García *et al.*, 2013).

La intensidad de toda reacción toxica depende de varios factores: 1- La capacidad del producto de atravesar las barreras biológicas y llegar a su lugar de acción. 2- La dosis del producto activo que se encuentra en el tipo de acción y 3- Las condiciones de este sitio de acción (receptor, enzima, transportador). Estas circunstancias son función de factores que

dependen del medio ambiente, factores endógenos propios del individuo e inducción o antagonismo por otros productos (Nóvalos, 2008).

2.5.1. Carga tóxica e índice toxicológico.

Son dos parámetros que se utilizan para evaluar y clasificar el nivel de daño potencial en los humanos y animales que puede tener una estación de descarga de agua residual. Para calcular el índice toxicológico se debe tomar en cuenta el caudal del vertimiento industrial, la concentración letal media del vertimiento y la carga tóxica del efluente con respecto a su cuerpo receptor.

Esta evaluación es una herramienta útil para establecer prioridades para el tratamiento de efluentes y así adoptar estrategias sobre el control en la descarga.

Para el cálculo de la carga toxicológica se utiliza la ecuación:

$$\text{Carga toxica (UT)} = 100 / (\text{CL}_{50}) * \bar{Q}$$

Donde:

UT = Carga tóxica expresada en unidas toxicológicas

CL₅₀ = Concentración letal media de la descarga que produjo la muerte de los organismos expuestos en el periodo de 96 horas

\bar{Q} = Caudal promedio del efluente (m³/día)

Con el cálculo y la transformación logarítmica en base 10 de la carga toxica se obtiene el índice toxicológico de la siguiente forma: IT = Log10 (1 + UT)

Una vez obtenidos los valores del índice de toxicológico se puede clasificar el rango de riesgo toxicológico con base a cuatro criterios (Tabla 1).

Tabla 1. Rangos Índice Toxicológico.

Despreciable	1 a 1.99
Reducida	2 a 2.99
Moderada	3 a 3.99
Considerable	4 a 4.99
Elevada	> 5

2.6. Bioensayos.

Son sistemas de prueba que se realizan con organismos vivos (algas, bacterias, invertebrados y peces) los cuales se exponen a una sustancia dada o a una mezcla en condiciones controladas. Sirven para evaluar la toxicidad aguda o el impacto crónico de químicos puros o mezclas como las que podemos encontrar en descargas domésticas, industriales o agrícolas (Ariza, 1999).

Los bioensayos son una herramienta muy útil sobre todo en el monitoreo de la calidad del agua, debido a la numerosa cantidad de sustancias naturales y antropogénicas encontradas en los cuerpos de agua. Con el incremento en cantidad de compuestos antropogénicos y la transformación de productos durante los tratamientos de agua, no es factible la detección analítica y cuantitativa de cada químico en el agua. Incluso si los compuestos químicos son detectados individualmente, múltiples compuestos podrían interactuar e inducir toxicidad en organismos acuáticos por mecanismos de aditividad o sinergismo.

Para determinar grados de toxicidad en diferentes sustancias como aguas residuales, metales pesados y compuestos químicos; se utilizan como biomarcadores distintos órganos o sistemas como el nervioso (Flavia *et al.*; 2018), las branquias (Riva, Crespi y Balasch, 1980); el hígado (Carlson *et al.*, 2013); además, se pueden llevar a cabo experimentos en distintas etapas del desarrollo de los organismos, desde la etapa embrionaria (Brundo *et al.*, 2016); con alevines, juveniles y adultos (Hollis *et al.*, 1998).

Los bioensayos según su duración pueden ser agudos, es decir de duración a corto plazo de minutos u horas, con efectos adversos letales o subletales sobre los organismos de prueba. Crónicos, tienen una duración de largo plazo de semanas o meses. Que pueden mantenerse incluso alrededor de la décima parte de la vida media de la especie. Están relacionados con cambios de metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia (Valero, 2011).

Según su renovación del medio se clasifican en estáticos, en este tipo de ensayos de toxicidad no existe renovación de la solución ocupada en el experimento durante todo el tiempo que dure, semiestático el cual se caracteriza porque no tiene una renovación continua de la solución ensayo, pero con renovación periódica de la solución después de periodos prolongados por ejemplo cada 48 horas y dinámico en el cual la toxicidad se renueva constantemente la solución de los recipientes del experimento (Valero, 2011).

2.6.1. Modelo experimental.

Los modelos experimentales son organismos ampliamente estudiados, tienen ventajas particulares: ya que todos los efectos negativos en su desarrollo son detectables y hacen posible la repetición rápida y continua de los experimentos (BIOPEdia, 2014). Los peces son los vertebrados más usados para realizar el biomonitoreo de la calidad del agua (Li; *et al.*, 2010).

El pez cebra (*Danio rerio*) se ha convertido en los últimos 30 años en uno de los modelos biológicos más importantes dedicado a la experimentación junto con otros modelos animales. La importancia de estudiar este organismo radica en que su patrón de desarrollo es similar al de los vertebrados superiores, incluidos los mamíferos y por lo tanto el hombre.

Debido a la similitud entre el genoma humano y el del pez cebra muchas de las mutaciones que se producen en el pez pueden dar lugar a fenotipos similares a los que presentan muchas enfermedades humanas (Moreno, 2013; Chen, 2006). Entre otros estudios están caracterizaciones de estrés oxidativo y daño cardiovascular en embriones (Huang *et al.*, 2018); comportamiento genético (Norton y Bally; 2010; Dazy *et al.*, 2008; 2007; Diekman *et al.*, 2004); investigaciones de enfermedades del hígado (Goessling y Sadler, 2015; Wang *et al.*, 2017); disturbios metabólicos (Kamel y Ninov; 2017); desarrollo y enfermedades de riñón (Jerman y Sun; 2017); enfermedades esqueléticas (Luderman *et al.*, 2017); efectos de sustancias tóxicas en el desarrollo embrionario (Yao *et al.*, 2018, Dung y Yen, 2006; Filho, *et al.*, 2001; Hai *et al.*, 2007); estudios de terapias para páncreas y complicaciones de diabetes mellitus (Sarras *et al.*, 2015; Prince *et al.*, 2017); daño en la reparación del DNA (Rajaguru *et al.*, 2003; Scandalios, 1997; Seshadri *et al.*, 1994), cáncer (Chapman, 1995; Shin *et al.*, 2002) y otras enfermedades (Sturve *et al.*, 2008; Sumathi, *et al.*, 2001, Sweeney *et al.*, 1994).

El estudio realizado por Wenjuan Zhang en 2012 donde se caracterizó la toxicidad aguda, genotoxicidad y estrés oxidativo presentada por efluentes textiles en el pez cebra demostró que el agua residual textil presenta varios grados de toxicidad que inducen genotoxicidad del pez cebra (*Danio rerio*). Se llevaron a cabo estudios comparativos sobre la caracterización de la toxicidad de aguas residuales textiles realizado por K.P Sharma, S. Sharma y P.K. Singh en 2007 aplicado a peces y se demostró que la toxicidad de dichas aguas produce lesiones internas y externas de los órganos, así como, daños en la cantidad y morfología de los glóbulos rojos.

Como podemos observar el pez cebra (*Danio rerio*) se utiliza como organismo modelo en distintos campos como toxicología ambiental (Hai *et al.*, 2007; Lanciotti *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2008. Minissi *et al.*, 1996; Morikawa *et al.*, 1997; OECD, 2004), la farmacología (Prigione *et al.*, 2008; Puvaneswari, Muthukrishnan y Gunasekaran, 2006), la biomedicina, la toxicología genómica, para investigar diferentes procesos biológicos. Además, el pez cebra podría utilizarse para estudios de monitoreo ecológico-ambiental y evaluaciones de contaminantes multitudinarios, como los metales pesados tóxicos, disruptores endocrinos, y los contaminantes orgánicos (Tsangaris *et al.*, 2011; US EPA, 1991a; US EPA, 1991b).

El pez cebra es un ciprínido de unos 5-6 cm, dulceacuícola y de aguas tropicales (Fig.3). Es nativo del sur de Asia, se distribuye sobre todo por el norte y este de India, aunque también se encuentra en Bangladesh y Nepal. Habita en lagos, lagunas y charcas con abundantes plantas acuáticas, creciendo en la orilla más que en los ríos y arroyos ya que prefiere los cursos de agua remansada antes que las corrientes (Matthew S. *et al.*, 2002; Díaz, 2006; Harper *et al.*, 2011). Las ventajas de trabajar con el pez cebra son: rápido desarrollo / organogénesis y bajo costo, Menos impedimento ético, Tamaño pequeño, Fertilización externa y la embriogénesis, Alta productividad: 100-300 huevos / semana, La administración directa de compuestos al medio de embriones, Embriones transparentes y costo/ tiempo de eficiencia (Chapman, 1995).



Figura. 3. Pez cebra (*Danio rerio*) (foto de Estrada, A.R., 2016).

Por lo anteriormente expuesto la presente investigación pretende conocer la composición química del agua residual textil y los efectos que produce en la morfología, la fisiología, y la genética sobre los organismos acuáticos en concreto, el pez cebra (*Danio rerio*).

En este estudio los objetivos responden a algunos aspectos de la problemática ambiental, mismos que se analizan y estudian con ayuda de un conjunto de herramientas propias de la toxicología ambiental por consiguiente, es un estudio interdisciplinario donde participan representantes de distintas disciplinas que trabajan integradamente para resolver la

problemática de la contaminación ambiental por el agua residual textil (ART) que se vierte directamente al Río Atoyac, en la población de Villa Alta Municipio de Tepetitla de Lardizábal (Fig. 4).

En la actualidad, el conocimiento científico sobre el efecto que produce, el agua residual textil, en la biodiversidad y la salud ambiental, en México y concretamente en Puebla es limitado.

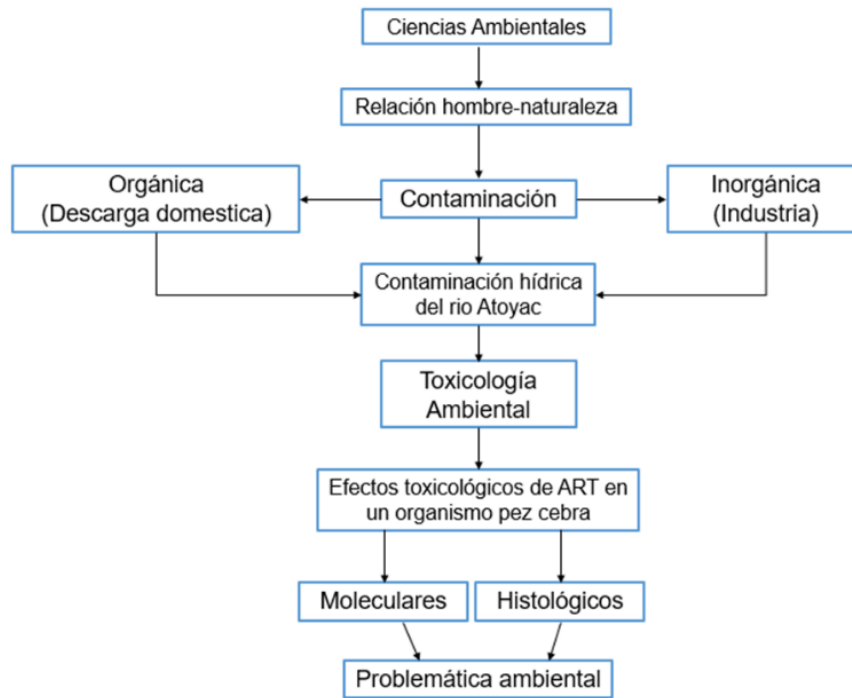


Fig. 4. Esquema de la relación de las ciencias ambientales y la toxicología.

3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

La zona de estudio se ubica en la población de Villa Alta, municipio de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala. La población de Villa Alta inicialmente era agrícola, pero debido a la poca rentabilidad de la agricultura y a la falta de oportunidades laborales en la localidad, paso a ser industrial y de servicios, esta reconversión de su economía tuvo un impacto negativo en el ambiente. En la zona de estudio, el proceso de industrialización se ha agudizado con la ubicación del corredor industrial Ixtacuixtla, que tiene presencia directa en los municipios de Tepetitla e Ixtacuixtla, y cuya influencia de atracción de mano de obra abarca también el municipio de Nativitas.

El deterioro del río Atoyac está estrechamente relacionada con la proliferación de esta industria que realiza descargas de aguas residuales, así como a la laxa o nula regulación en materia de agua por parte de los distintos niveles gubernamentales. Particularmente, la industria textil y de confección, representada por cientos de talleres familiares asentados en el municipio, que operan en su mayoría de modo informal y clandestino. Esos talleres constituyen el principal patrimonio económico de la localidad y, para la mayoría de los pobladores, es la única fuente de empleo de la familia.

Derivado de lo anterior en Puebla y Tlaxcala la industria textil contribuye enormemente al deterioro del agua debido al tipo de procesos que maneja y que produce elevadas concentraciones de materia orgánica, cloruros, hidróxidos de sodio, metales pesados y compuestos orgánicos volátiles, algunas de ellas consideradas tóxicas y cancerígenas para los seres vivos. Lo que representa un enorme riesgo de salud no sólo para los ecosistemas de la zona sino también para las poblaciones cercanas. Esto ha ocasionado que los costos ambientales y de salud sean grandes y de relevante importancia,

Aunque existen legislaciones y tratados, que tienen como objetivo controlar la emisión de sustancias contaminantes (NOM-001-SEMARNAT-1996). Estas no se cumplen totalmente o se cumplen parcialmente y no contemplan el efecto tóxico del agua residual textil en los organismos acuáticos.

Como problema ambiental, se estudió el efecto tóxico del agua residual textil (proceso Denim) que se vierte en el Río Atoyac y que ha traído como consecuencia el deterioro de la calidad del agua en el ecosistema y el posible efecto en la salud de los peces. Para evaluar este daño se utilizó como modelo de estudio al pez cebrá (*Danio rerio*).

4. JUSTIFICACIÓN.

Este estudio proporciona información científica nueva y actualizada sobre el efecto tóxico del ART en los organismos acuáticos utilizando el modelo experimental pez cebra (*Danio rerio*). La información que se genere contribuirá al análisis de la problemática ambiental ocasionada por la actividad industrial textil en la región de Villa Alta.

También será una propuesta en defensa del ambiente que ayude a complementar las Normas existentes (NOM-001-SEMARNAT-1996), relacionadas

Es importante mencionar que trabajos de este tipo son limitados en la zona de estudio sobre los efectos tóxicos del ART en la salud de los peces y el ambiente. También se evidencia la importancia de realizar estudios toxicológicos para dar respuestas a la problemática ambiental en la zona de estudio.

5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.

5.1. Pregunta general.

¿Cuáles son los efectos toxicológicos del agua residual textil (proceso Denim) vertida al Río Atoyac en el pez cebra (*Danio rerio*)?

5.2. Preguntas particulares.

¿Cuáles son las características biofísicas de la zona de estudio?

¿Cuál es la calidad física, química y toxicológica del agua residual textil, que se descarga en el Río Atoyac?

¿Se producen alteraciones fisiológicas, morfológicas o conductuales en el pez cebra (*Danio rerio*) por efecto del agua residual textil?

6. OBJETIVOS.

6.1. Objetivo General.

Evaluar la toxicidad del agua residual textil (proceso Denim) vertida al Río Atoyac y su efecto en el pez cebra (*Danio rerio*).

6.2. Objetivos Particulares.

1. Caracterización biofísica de la zona de estudio.
2. Analizar la calidad física, química y toxicológica del agua residual textil del proceso Denim que se descarga en el Río Atoyac.
3. Determinar la concentración letal media aguda (CL₅₀) en el pez cebra (*Danio rerio*) del agua residual textil.
4. Evaluar los efectos toxicológicos del ART en la morfología, fisiología y estructura molecular del pez cebra.

7. HIPÓTESIS.

El agua residual textil que se vierte al Río Atoyac afecta la fisiología, morfología y estructura molecular del pez cebra (*Danio rerio*).

8. METODOLOGÍA.

La presente investigación se realizó en el Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción del ICUAP en el periodo comprendido del 08 de agosto del 2016 al 06 de agosto del 2018. A continuación, se describe la metodología de investigación que se realizó en la presente investigación (Fig. 5), misma que está conformada de 3 fases:

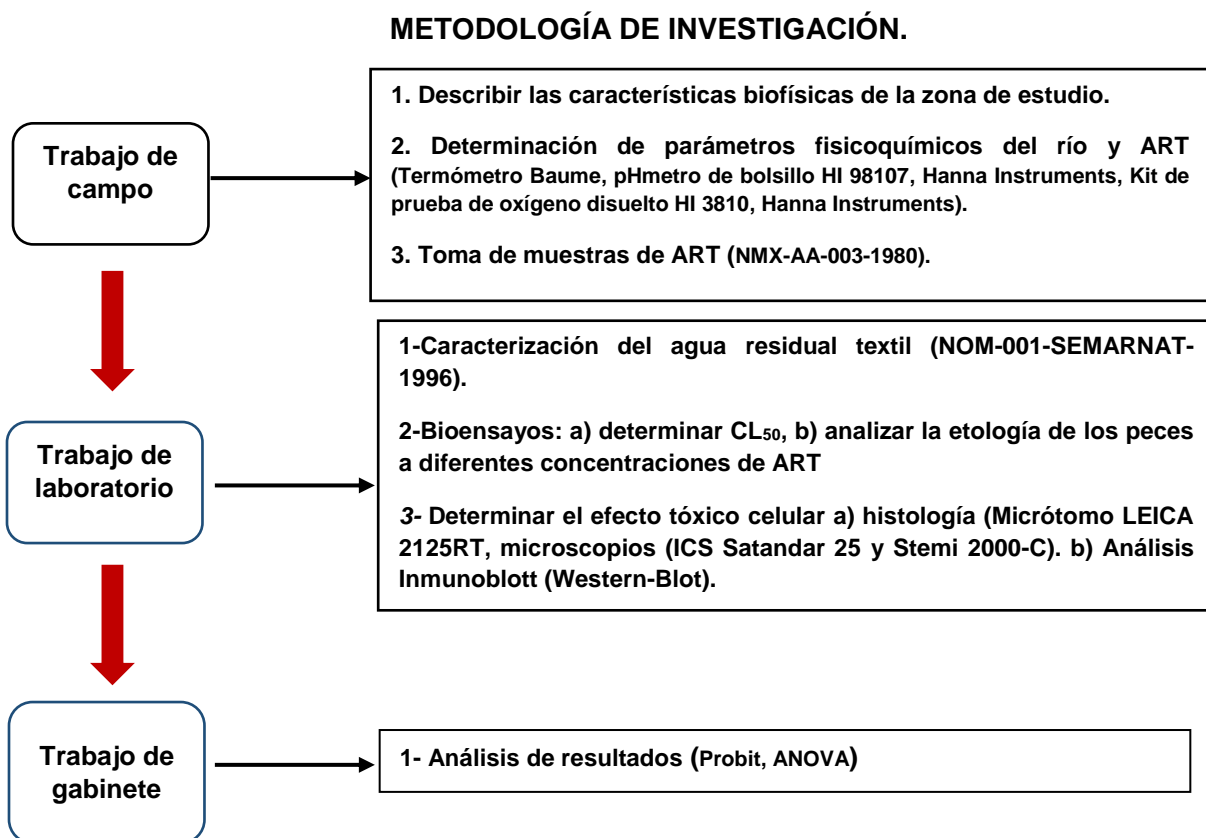


Fig.5. Etapas de la investigación.

8.1. Zona de estudio.

Para ubicar la zona de estudio, e investigar los efluentes de las empresas textiles que descargan sus residuos al Río Atoyac, esto fue posible gracias al apoyo del CIS (Centro Integral de Servicios) de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Una vez que se obtuvieron las coordenadas de localización, se realizaron exploraciones y visitas de campo, se tomaron fotografías de los diferentes puntos de descarga y zonas aledañas. La zona

seleccionada fue la población de Villa Alta del municipio de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala (Fig.6).

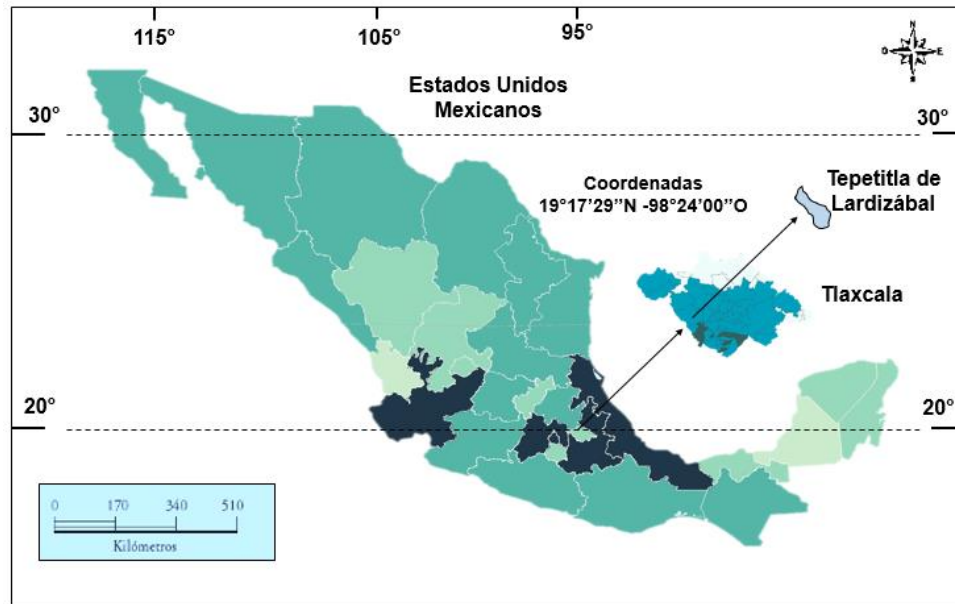


Figura. 6. Zona de estudio, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala. (INEGI, 2005).

En esta etapa se realizó una descripción de los aspectos físicos, químicos y biológicos de la zona de estudio para lo cual se llevó a cabo una minuciosa investigación bibliográfica de artículos en revistas, base de datos de INEGI relacionados con la cartografía, el clima, hidrografía, flora y fauna de la comunidad de Villa Alta Tlaxcala, documentos oficiales y revisión de artículos de periódicos. También se consultaron datos estadísticos realizados por el Consejo Nacional de Población (CONAPO).

8.2. Trabajo de campo.

Las muestras, de agua residual textil se tomaron del efluente en la zona de estudio con base a lo que marca la NMX-AA-003-1980 “Aguas Residuales Muestreo”, que es la Norma Oficial Mexicana que establece los lineamientos generales y recomendaciones para muestrear las descargas de aguas residuales, con el fin de determinar sus características físicas y químicas.

Para la colecta de muestras se colocó un recipiente de plástico de 4 L a la salida del efluente de la descarga (antes de que llegue al río), el volumen del líquido en el recipiente se vació en dos recipientes de plástico de 20 L cada uno hasta llenarlos. Este procedimiento se realizó cada cuatro horas, tres veces al día (7:00, 12:00 y 16:00 horas) en el mismo lugar con la finalidad de obtener un volumen final de 120 L (Fig.7). Las muestras se trasladaron inmediatamente al laboratorio donde se mezclaron para así obtener una muestra de agua residual textil compuesta (ARTC) o “solución madre”. A partir de este momento se montaron los bioensayos con esta agua así como, se procedió al análisis fisicoquímico del ARTC.



Figura 7. Toma de muestras del ART en la zona de estudio.

También se midieron el oxígeno disuelto, el pH y la temperatura del agua residual textil (ART) y del río *in situ* por triplicado con diferentes equipos y técnicas. El oxígeno se midió con ayuda de un kit. Aplicando el método de titulación. Las mediciones se realizaron por triplicado *in situ* en dicha localidad.

El agua residual textil (ART) se colectó en la zona de estudio (Fig.7) de la siguiente manera: a las 7:00 am se colectó 80 L de ART en garrafones de plástico previamente tratados con HCl al 10% y agua potable, luego a las 12:00 y 17:00 horas. Posteriormente 240 L de ART se trasladaron inmediatamente al laboratorio donde se mezcló y a esta agua se le llamó agua residual textil compuesta (ARTC) o solución “madre” (100%). A partir de esta solución se realizaron los análisis de los siguientes parámetros: DQO, DBO₅ y turbidez así como, la realización de los Bioensayos.

Para la medición de la DQO se tomó un volumen de 70 ml de agua de río, y para la DBO₅ un volumen de 300 ml. Ambos tipos de muestra se almacenaron en botellas de vidrio con

tapa esmerilada, y se mantuvieron en frío y protegidas de la luz para ser inmediatamente analizadas al llegar al laboratorio.

En cuanto a la turbidez, el volumen de la muestra fue de 50 mL y se almacenó en frascos de polietileno de cuello ancho; y se mantuvieron en frío para su conservación. El procedimiento para la recolección y análisis de muestras se realizó de acuerdo a la norma NMX-AA-042-1987 con algunas modificaciones.

8.3. Trabajo de laboratorio.

En el análisis fisicoquímico del ARTC (proceso Denim) se utilizaron las técnicas de referencia que marca la NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para el control de descargas de aguas residuales, en aguas y bienes nacionales (Tabla. 5). El objetivo principal de la norma es la de proteger la calidad del agua y así salvaguardar la salud de los ecosistemas y las personas.

Para el análisis de la DQO se utilizó un kit de prueba Spectroquant para un rango de 25-1500 mg/L. la prueba se basa en el método de la determinación del cromo III y la oxidación del ácido cromo sulfúrico, y contiene una serie de tubos y celdas de reacción, en las cuales se colocaron 3 ml de muestra. Una vez que la muestra se añadió cuidadosamente por las paredes del tubo, se tapó y agitó vigorosamente.

Luego se realizó este procedimiento con cada muestra, estas se colocaron en un termo reactor a 148°C por dos horas para posteriormente dejarse enfriar en la gradilla del kit por 10 minutos. Finalmente, las mediciones se realizaron en un fotómetro Nova 60 Spectroquant Merck, en el cual se introdujo el tubo directamente, seleccionando el número de método 138.

La medición de la turbidez también se llevó a cabo con el fotómetro Nova 60 Spectroquant. El método es muy simple, y solo consistió en trasvasar un volumen de aproximadamente 10 ml de la muestra, sin ningún tipo de tratamiento ni filtrado, a una celda de medición rectangular de 50 mm de espesor, para luego colocarla en el fotómetro seleccionado el número 177.

Para medir la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) se utilizó un incubador OxiTop control OC 100, el cual contiene 12 botellas ámbar de 500 mL provistas de un sistema de medición manométrica de presión, en cada una de las tapas. El método consiste en la medición de los cambios de presión parcial del oxígeno como consecuencia del consumo

en la oxidación biológica de la materia orgánica, añadiendo previamente (inicio de incubación) un inhibidor del proceso de nitrificación, y absorbiendo del sistema, el CO₂ producido mediante pastillas de KOH. Este método respirométrico proporciona una medida directa de oxígeno consumido por los microorganismos en un recipiente cerrado en condiciones de temperatura y agitación constante (60 rpm). El tiempo de incubación fue de 5 días a una temperatura de 20 °C.

Es preciso señalar que antes de verter las muestras en las botellas incubadoras, se comprobó que el pH de la misma se encontrara entre las 6 y 8 unidades; en caso de ser necesario el pH se ajustó con una solución de hidróxido de sodio o ácido sulfúrico. El volumen de la muestra que se colocó en la botella de incubación fue de 250 ml; este valor se estableció en función de los valores de la DQO medidos en un ensayo preliminar con agua del Río Atoyac, los cuales sirvieron de referencia tomando en cuenta las concentraciones de oxígeno registradas.

Luego de añadir las muestras de agua en las respectivas botellas incubadoras, se colocó en cada una de ellas, un agitador magnético, el KOH y una gota de inhibidor de la nitrificación. Finalmente se colocaron las tapas sensores, se resetearon y se inició el ciclo de medición. Se anotaron las medidas registradas diariamente durante 5 días, sin necesidad de realizar ningún cálculo.

8.3.1. Análisis fisicoquímico del ARTC.

El análisis fisicoquímico del ARTC se realizó con base a los siguientes métodos de prueba, por triplicado (tabla. 2).

Tabla.2. Normas de referencia y equipos utilizados en los análisis fisicoquímicos del ARTC.

Parámetro	Norma de referencia	Material y equipo
Sólidos sedimentables	NMX-AA-004-SCFI-2013	Cono de sedimentación Imhoff.
Sólidos suspendidos	NMX-AA-034-SCFI-2015	Equipo de filtración, balanza analítica, horno de secado, desecador, crisol Gooch.
Grasas y aceites	NMX-AA-005-SCFI-2013	Embudo Büchner, desecador, equipo de extracción Soxhlet, estufa eléctrica, balanza analítica, equipo de filtración a vacío.
Nitrógeno total	NMX-AA-026-SCFI-2016	Digestor con sistema de extracción, destilador con sistema de condensación, balanza analítica, balanza granataria.

DBO ₅	NMX-AA-028-SCFI-2001	Equipo de aireación con difusor, incubador con termostato.
DQO	NMX-AA-30/1-SCFI-2012	Aparato de reflujo, mantilla de calentamiento, bureta clase A, materiales auxiliares de ebullición.
Fósforo total	NMX-AA-029-SCFI-2001	Balanza analítica, espectrofotómetro.
Metales pesados	NMX-AA-051-SCFI-2016	Espectrofotómetro de absorción atómica.

8.3.2. Determinación de concentración del colorante índigo.

La determinación del colorante índigo en el ARTC se llevó a cabo mediante análisis espectrofotométrico UV/VIS (espectrofotómetro Perkin Emler modelo lamda 20) y se realizó la construcción de la curva de calibración de la siguiente manera: Se preparó una solución patrón de concentración conocida del colorante índigo (2500 mg/L). A partir de esta solución se procedió a realizar diluciones con diferentes concentraciones en % en volumen. De las diluciones realizadas se procedió a pipetear 1 ml y se agregó en celdas desechables translucidas de 1.5 mL PS semi micro (marca RAND). Se calibró el espectrofotómetro colocando una celda con agua destilada y seleccionó el rango máximo de longitud de onda para el colorante azul índigo que corresponde a 660 nm. La curva se ajustó utilizando el software Origin 6.1 a fin de analizar y graficar datos obtenidos. Por último, se cuantificó la concentración del colorante índigo.

8.3.3. Aclimatación de los peces.

Se aclimataron un total de 270 peces cebra (*Danio rerio*) adultos hembras y machos reproducidos en criaderos de Cuautla en el estado de Morelos. Los peces se aclimataron durante una semana en las siguientes condiciones de laboratorio: los peces se distribuyeron en cuatro acuarios de 40 L cada uno con agua potable marca esu (BUAP), el fondo de los acuarios tenían filtro, la temperatura del agua se mantuvo constante a 27°C ± 1°C con ayuda de un termostato, el pH fue de 7.3 a 7.5, la dureza del agua fue de 5° a 15° DGH, las condiciones de iluminación fueron de 14:10 (luz/obscuridad) y la concentración del oxígeno fue de 3.5 a 4 mg/L, los peces fueron alimentados con hojuelas comerciales Wardley dos veces al día. Durante el periodo de aclimatación y mantenimiento de los organismos los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron constantes. Diariamente se registraron y controlaron los parámetros fisicoquímicos del agua (Fig.8).

8.4. Bioensayo.

Para la ejecución de los bioensayos se tomó como guía los lineamientos de la OCDE 502, para pruebas de químicos de 1992. Se contó con la aprobación del Comité Institucional de la BUAP para cuidado y uso de los animales de experimentación (CICUAL) para el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo de investigación.

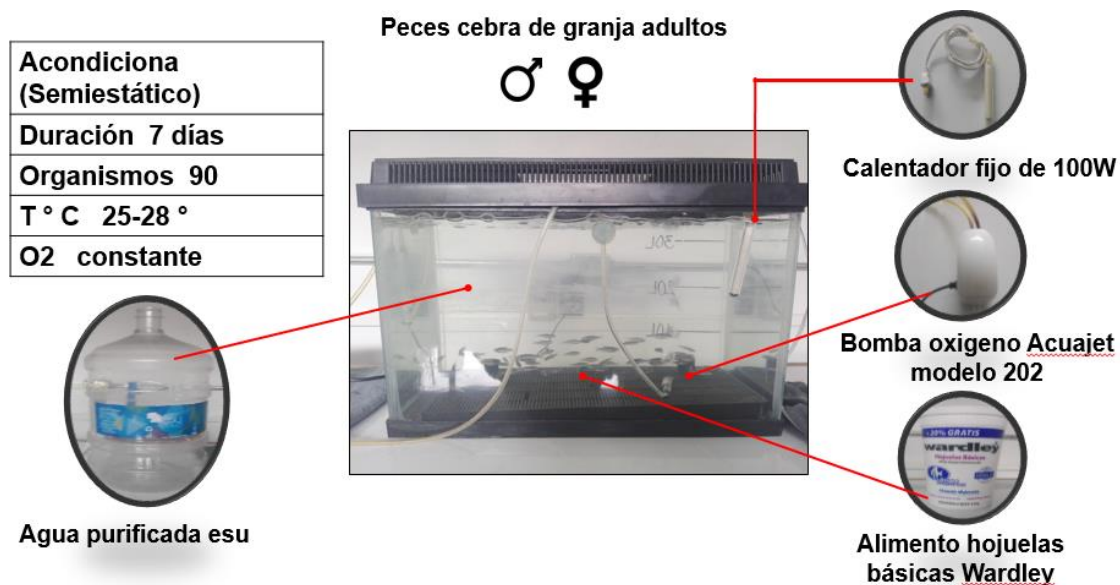


Figura. 8. Acondicionamiento de peces para los trabajos experimentales.

El agua residual textil (ART) se colectó en la zona de estudio (Fig.9) de la siguiente manera: a las 7:00 am se colectó 80 L de ART en garrafones de plástico previamente tratados con HCl al 10% y agua potable, luego a las 12:00 y 17:00 horas. Posteriormente 240 L de ART se trasladaron inmediatamente al laboratorio donde se mezcló y a esta agua se le llamó agua residual textil compuesta (ARTC) o solución "madre" (100%). A partir de esta solución se realizaron las sucesivas diluciones con agua de garrafón (75% ARTC + 25% agua de garrafón) y así sucesivamente en las siguientes diluciones 50, 35, 25 y 13.5% (Fig.10).



Fig.9. Toma de muestras en zona de estudio.



Fig.10. Grupo control y bioensayos a diferentes diluciones de ARTC.

Cada bioensayo está formado por el grupo control (agua de garrafón) y cinco grupos experimentales. En cada grupo se colocaron 15 peces (previamente aclimatados) durante 96 horas (tratamiento agudo) en condiciones de laboratorio. A partir de este momento se registraron los cambios conductuales y la sobrevivencia de los peces del grupo control y de los grupos experimentales. Las observaciones se realizaron cada 4 horas según lo establecido en la tabla 3. Los bioensayos se realizaron por triplicado (Fig.11). En cada bioensayo se utilizaron 90 peces.

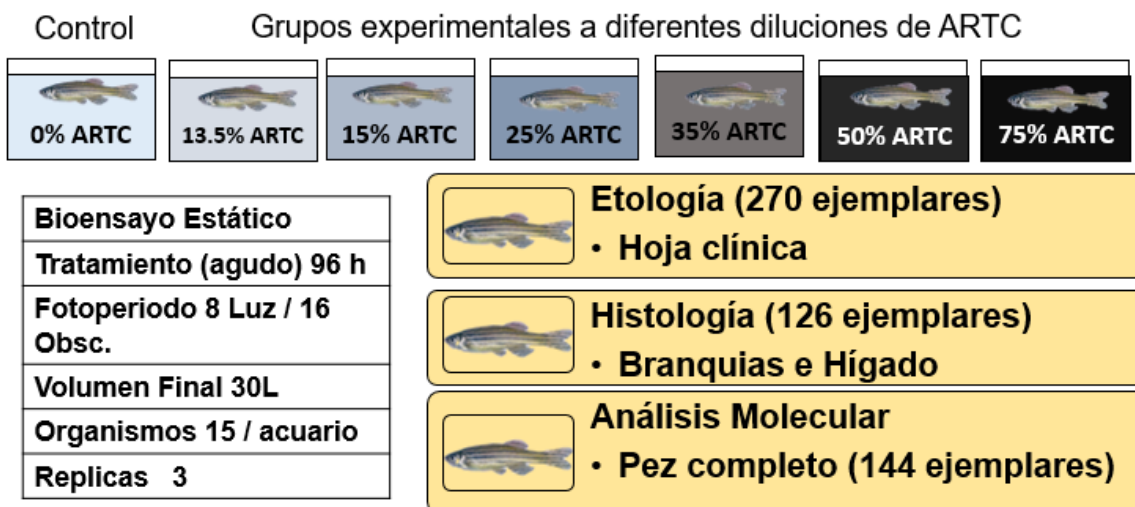


Figura 11. Bioensayo agudo (96 h) para determinar la concentración letal media CL₅₀.

Los peces que mueren durante el tiempo del experimento fueron eliminados inmediatamente, porque al descomponerse pueden causar estrés al resto de los peces. El signo de mortalidad en los peces se determinó por la inmovilidad y/o ausencia de movimiento del opérculo espiratorio y/o falta de reacción a un estímulo mecánico.

El número de peces que presenten anomalías corporales deben registrarse en función de la naturaleza de la anomalía descrita. Cuando las deformidades estén asociadas al comportamiento anormal se consideran tan graves que existe un considerable sufrimiento para el organismo, dichos animales sufrieron eutanasia y ser tratados como mortalidades durante el análisis. Comportamiento anormal: hiperventilación, natación descoordinada atípica quiescencia y la conducta alimentaria atípica deben registrarse una vez al día (Tabla 3).

Al final de la prueba todos los organismos se pesan. Se reportó el peso húmedo y el peso en seco. Longitud: se mide la longitud individual total y longitud estándar. La información se registró cada cuatro horas durante 4 días en los grupos experimentales (control, 75, 50, 35, 25, 15 y 13.5%) en el formato correspondiente.

Tabla 3. Formato de registro hoja clínica

Formato de registro C/ 4 h = Hoja clínica												
FECHA:			JUVENIL									
			NORMAL		ANORMAL							
Hora	No.	Acuario	Vivo	Muerto	Híper Ventil.	Natación s/ coord.	Quiescencia	Conducta Alimentaria Atípica	L _{TOT}	L _{STD}	P _{HUM}	P _{SEC}
		Experimento 1										
		Experimento 2										
		Experimento 3										
		Experimento n										
Observaciones:												
Experimento 1												
Experimento 2												
Experimento 3												
Experimento n												

Los ejemplares que murieron durante los bioensayos se colocaron en frascos de cristal con solución de paraformaldehído al 4%, para su fijación, se rotularon debidamente y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el análisis histológico. Los ejemplares que sobrevivieron al experimento fueron sacrificados y se colocaron en frascos de cristal, rotulados debidamente y almacenados en ultra congelador ScienTemp a -40 °C.

8.5. Análisis histológico.

De los ejemplares que murieron durante cada uno de los bioensayos, se seleccionaron dos ejemplares, de cada grupo experimental. A cada ejemplar se le realizó la disección y se le extrajeron las branquias e hígado los que fueron fijados en

paraformaldehído y se colocaron en frascos de cristal con líquido de Bouin debidamente identificados durante 24 horas. Posteriormente los órganos se deshidrataron colocándolos en sucesivas soluciones de alcohol al 70, 96 y 100%, durante 24:00 horas en cada concentración de alcohol. Después del proceso de deshidratación los órganos fueron incluidos en parafina y cortados en forma seriada a 10 micras con la ayuda de un micrótopo marca LEICA 2125RT. Los cortes se tiñeron en Hematoxilina – Eosina. Posteriormente se observaron con ayuda de los microscopios ICS Standar 25 y microscopio Stemi 2000-C marca ZEISS.

8.6. Análisis molecular.

Para efectuar este análisis se empleó la técnica conocida como Western Blot. Se utilizaron 2 ejemplares de pez completo del grupo control y dos ejemplares del grupo experimental del 13.5% de ARTC. Los ejemplares fueron introducidos en una solución buffer de lisis (0.02M tris HCl pH 7.4, 0.1m NaCl, 0.1M glicina y Tx 0.1%) sumado a un grupo de inhibidores de proteasas 1 mM PMSF y 1 mM ditioneol, después se procedió a homogeneizarlos con un rotor marca Labnet H5500. Posteriormente el homogeneizado fue centrifugado durante 30 minutos a 13400 rpm, todo esto se hizo a una temperatura de 4°C para evitar la desnaturalización proteica. El líquido sobrenadante se recuperó y mediante el método de Bradford se llevó a cabo la cuantificación de las proteínas.

Posteriormente se realizó la separación electroforética de las proteínas utilizando geles de poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio. Las proteínas fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa PMSF SIGMA y fueron incubadas con solución de leche descremada al 5% y 0.1% tween-20 en TBS (Tris-HCl pH 7.4, NaCl 150 mM) durante una hora a temperatura ambiente, para evitar que se presentaran uniones inespecíficas de los anticuerpos.

El siguiente paso fue volver a incubar las membranas durante 18 horas a 4°C, con el anticuerpo primario diluido en proporción de 1:300 en leche descremada al 1% y 0.1% tween-20 en TBS. Después se incubaron con el anticuerpo secundario (Goat-antimouse IgG Santa Cruz Biotechnology, Inc.) acoplado a peroxidasa diluido en leche descremada al 1% y 0.1% Tween-20 en PBS, durante 2 horas a temperatura ambiente.

Las proteínas de las muestras se separaron mediante electroforesis. Las bandas inmunorreactivas se revelaron usando el kit de quimioluminiscencia Super Signal West Pico Pierce. Los resultados se expresaron en densidad óptica de banda de metaloteoneina sobre la membrana teñida con tinta china para cada uno de los grupos.

8.7. Análisis estadístico.

Los análisis estadísticos que se utilizaron fueron el análisis de regresión Probit y el análisis de varianza (ANOVA), del paquete estadístico Statgraphic.

9. CARACTERIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO.

La zona de estudio se localiza en la comunidad de Villa Alta localizada en el municipio de Tepetitla de Lardizábal, al suroeste del estado de Tlaxcala. Tepetitla de Lardizábal cuenta con una extensión territorial de 28.709 km², a una altitud media de 2,260 m.s.n.m. Colinda con los municipios de Ixtacuixtla, Nativitas y el Estado de Puebla. El clima predominante es el templado subhúmedo. Cuenta con una población total de 18,725 habitantes de los cuales el 52 % son mujeres y 48 % son hombres. Existe un aproximado de 4,401 viviendas (INEGI, 2012).

Tepetitla se divide en cuatro localidades de importancia administrativa y urbana. Su población se asienta de la siguiente manera: la cabecera municipal, Tepetitla, aloja el 50.65%, Villalta el 28.29%, San Mateo Ayecac el 15.73%, Guadalupe Victoria el 3.71% y el porcentaje restante se aloja en pequeños asentamientos rurales. El recurso hídrico superficial más importante de Tepetitla es el Río Atoyac. Cuenta además con un arroyo de caudal sólo en época de lluvias llamado Canal Rojano. Tiene mantos freáticos y seis pozos para extracción de agua, que es su fuente de suministro urbano municipal (Rodríguez *et al*, 2011).

De las 1,424 hectáreas que conforman la superficie del municipio el 84 % es destinado a los cultivos de ciclo corto, 213 hectáreas se ocupan para ganadería y 4 hectáreas no tienen vegetación. La vegetación silvestre es de tipo secundario relacionada fundamentalmente con los terrenos de cultivo. Con respecto a la fauna, aun cuando las zonas urbanas han crecido sin control, todavía se pueden encontrar en menor número especies silvestres características de la zona como conejos, tlacuaches, topes y víboras de cascabel. Al norte del municipio está localizado el corredor industrial Ixtacuixtla que está conformado por 13 empresas de las cuales siete están clasificadas como grandes empresas, dos como medianas y cuatro como chicas. Son empresas de índole agroindustrial, alimentaria, automotriz, textil, petroquímica, de minerales no metálicos, agroquímicos y confección, que generan un total de 3,788 empleos (Rodríguez, 2014).

9.1. Villa Alta.

Villa Alta se ubica en el municipio de Tepetitla de Lardizábal en el estado de Tlaxcala se localiza en las coordenadas geográficas 19°17'29"N -98°24'00"O a una altura de 2,240 msnm. Limita al norte con la localidad de San Gabriel Popocateca, al sur con San Mateo Ayecac y San Martín Texmelucan Puebla, al oeste con San Martín Texmelucan Puebla y al este con Villa Mariano Matamoros y San Gabriel Popocateca (Fig.6).

El poblado de Villa Alta se ubica en la Provincia del Eje Neo volcánico, Sub provincia Lagos y Volcanes de Anáhuac, sistemas de topo formas llanura aluvial con lomerío. Perteneció a la Región RH18 que corresponde al Alto Balsas, cuenca Río Atoyac de la subcuenca Río Atoyac-San Martín Texmelucan, además hay otras corrientes menores como el Río Rojano y el Ajejela que convergen en la corriente principal del Río Atoyac. Su clima es Templado subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media (Muñoz, 2013).

9.1.1. Usos del suelo.

Debido a que Villa Alta está situado en la zona Neo-volcánica los tipos de suelo que predominan son de origen evidentemente coluvial y aluvial son suelos muy ligeros, pero de gran productividad ricos en materia orgánica, buena porosidad y estructura, principalmente predominan los cambisoles y los Phaeozems. De este modo la comunidad a lo largo de su historia ha sido eminentemente agrícola. El uso del suelo está distribuido en agricultura 66.5 %, zona urbana 32.59 % y vegetación pastizal 0.91 %. La agricultura de esta zona es de temporal entre los principales cultivos que se producen están: tomate, avena, alfalfa, cilantro, cebolla, betabel, col y coliflor (Muñoz, 2013).

9.1.2. Clima, flora y fauna.

Por su ubicación geográfica, clima, y gran crecimiento urbano, el municipio prácticamente no presenta vegetación silvestre, la vegetación actual es de tipo secundaria, asociada a los terrenos de cultivo, donde se observan árboles de sauce (*Salix bonplandiana*), tejocote (*Crataegus pubescens*), capulín (*Prunus serotina*), tepozán (*Buddleia cordata*) y pirul (*Schinus molle*). En las calles, caminos vecinales y carreteras se encuentran árboles de fresno (*Fraxinus uhdei*), cedro blanco (*Cupressus benthamii*), y especies introducidas como la casuarina, el eucalipto y el trueno. El único vestigio de vegetación silvestre está representado por la vegetación de galería que se localiza en la

ribera del Río Atoyac, misma que está constituida fundamentalmente por ailes (*Alnus acuminata*), fresnos (*Fraxinus uhdei*) y sauces (*Salix bonplandiana*).

No obstante, el crecimiento y expansión acelerada de la mancha urbana, en el territorio del municipio, todavía es común encontrar algún tipo de fauna silvestre como: conejo (*Silvilagus floridanus*), liebre (*Lepus californicus*), tlacuache (*Didelphis marsupialis*), topo y otros roedores. Aves como zopilote (*Coragyps atratus*), gavilán (*Falco sparverius*) y una gran variedad de pájaros. Reptiles como víbora de cascabel (*Crotalus sp.*) (Muñoz, 2013).

9.1.3. Aspectos socioeconómicos y ambientales de Villa Alta.

Este estudio está centrado en la población de Villa Alta en el municipio de Tepetitla de Lardizábal en el estado de Tlaxcala, que en los últimos 30 años ha experimentado una profunda transformación en su estructura económica. De ser una comunidad agrícola, ha pasado a ser preponderantemente manufacturera y, a la fecha, su población vive prácticamente de la realización de actividades industriales (Vallejo Román, 2016). Debido al acelerado crecimiento de la industria de la mezclilla, México se convirtió en el séptimo país exportador mundial de este tejido (Torres, 2001) y Puebla a nivel nacional ocupa el segundo lugar en producción (INEGI, 2011).

El resultado de este desarrollo en la industrial textil, específicamente la industria de la mezclilla, es que el Río Atoyac se ha clasificado como uno de los ríos más contaminados del país, a consecuencia de la degradación histórica que ha sufrido el medio ambiente por la falta de saneamiento y el tratamiento inadecuado de las aguas residuales, los métodos inseguros en la eliminación de complejos productos químicos y la gestión irresponsable del agua todos estos factores tienen una influencia directamente en la calidad y productividad de los ecosistemas, así como en la salud humana en la forma de mortalidad, morbilidad y bienestar. Prueba de ello son los efluentes generados, por la industria textil, y que son vertidos en el Río Atoyac, algunos se ubican en la población de Villa Alta.

Lo anteriormente expuesto, se ha demostrado a través de diferentes documentos oficiales y académicos como por ejemplo: el “Estudio de Clasificación del Río Atoyac”; los informes rendidos por la CONAGUA, en la “Caracterización de los Ríos Atoyac, Xochiac o Hueyapan y sus afluentes”, la “Evaluación del riesgo sanitario ambiental de las zonas aledañas al Río Atoyac” que realizó la CONAGUA y en la “Evaluación de UNAM en el 2006, son documentos donde se revelan factores de riesgo para la salud en la población en relación al contacto

con sustancias químicas tóxicas presentes en el Río Atoyac, provenientes de descargas de aguas residuales industriales no controladas.

En la recomendación de la CNDH sobre el Río Atoyac (2017) respecto a la falta de operación de las plantas tratadoras de agua residual y el funcionamiento de un número no determinado de talleres dedicados al proceso de teñido de mezclilla que descargan directamente a la red de alcantarillado; se enlistan una serie de compuestos químicos utilizados en las industrias aledañas al río, y que han sido reportados en las descargas de aguas residuales efectuadas hacia el Río Atoyac y sus afluentes, que tienen potencial genotóxico y carcinógeno en humanos, señalando a las mujeres embarazadas como un foco de mayor vulnerabilidad ya que se expone a sus hijos en desarrollo al efecto genotóxico. Asimismo, hace referencia a que en los últimos años estos problemas han levantado la preocupación de organizaciones de la salud como la Organización Mundial de la Salud a través de la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer y del Programa Internacional de Seguridad Química.

Por su parte, la COFEPRIS en el oficio CGJC/3/UR/557/2015 de fecha 22 de julio de 2015, hace referencia a un análisis de riesgo realizado por esa autoridad en los municipios cercanos al Río Atoyac, *“detectando una relación entre la exposición a COV’s (tolueno, benceno y xilenos) y la presencia de diversos padecimientos, como leucemia mieloide; que, si bien señaló que las causas pueden ser multifactoriales, destaca la existencia de riesgos potenciales”*. Al respecto en la población de Villa Alta, la contaminación del Río Atoyac se ha evidenciado por los estudios de Navarro *et al.*, (2003) quienes detectaron casos de personas enfermas o muertas de trombocitopenia, leucemia y otros tipos de cáncer, entre 1996 y 2003. Otro estudio realizado por Morales (2010), advirtió afecciones a la salud en comunidades de Tlaxcala y Puebla aledañas al río y señaló que a partir de 2002 se observó incremento de enfermedades como leucemia linfoblástica, púrpura trombocitopénica y anemia hemolítica.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1. Trabajo de campo.

Los resultados del análisis fisicoquímico del agua residual textil (proceso Denim) en la estación de descarga y del agua del río (antes de mezclarse con el ART) se muestran, en la tabla 4.

La toma de muestras del agua residual textil, la toma de muestras del río *in situ* se tomaron de la zona de estudio (Fig. 12).

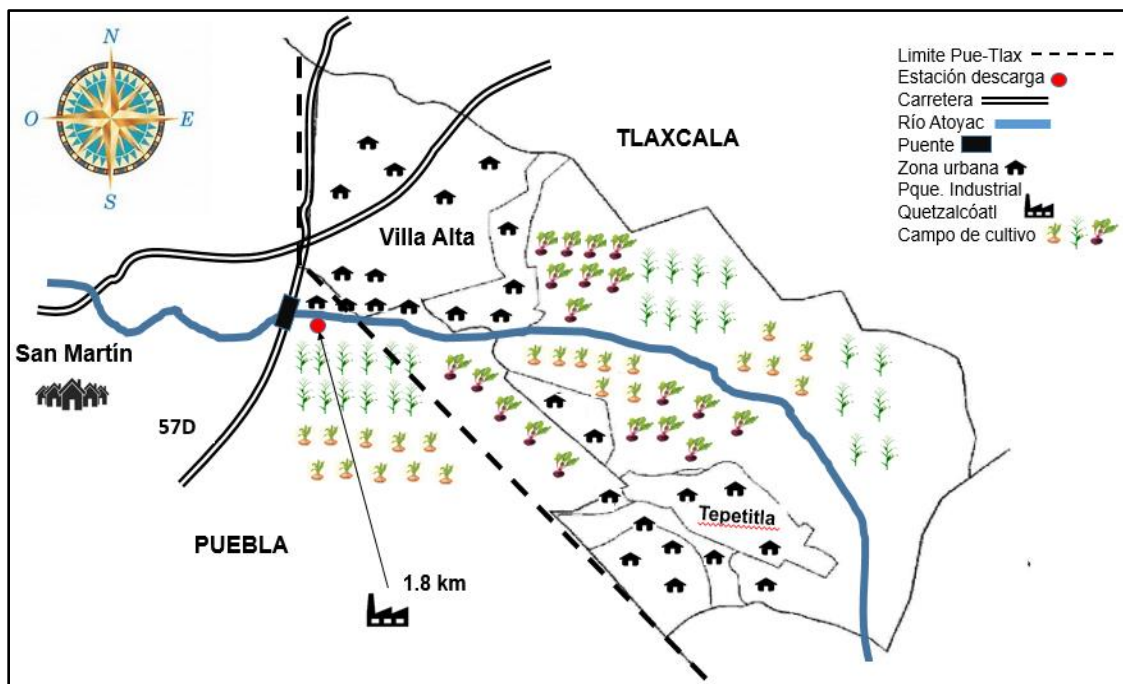


Figura. 12. Ubicación geográfica de la zona de estudio en la Localidad de Villa Alta (Elaboración propia Estrada A. R., 2016).

El valor obtenido de pH de 8.2 ± 0.4 presentó un comportamiento ligeramente alcalino e indica que se encuentra dentro de límite máximo permisible según la NOM-001-SEMARNAT-1996. Este parámetro juega un papel muy relevante en el desarrollo de los organismos acuáticos, estudios realizados por (Srineetha, *et al.*, 2014) mostraron que los efectos de pH ácidos reducen la capacidad de consumo de oxígeno en los peces en diferentes etapas de desarrollo, sin embargo, se ha reportado que los puntos letales de

acidez y alcalinidad son de pH 4 y pH 11 respectivamente, aguas con valores de pH de 6.5 a 9.0 son adecuadas para la sobrevivencia de organismos acuáticos (Nicovita, 1998).

Respecto a los valores obtenidos de temperatura entre el ART y el río, hubo en promedio, una diferencia de aproximadamente 15°C. Sin embargo, la temperatura de descarga del efluente fue de 29° C y cumple con lo estipulado por la NOM respecto al límite máximo permisible que señala puede alcanzar hasta 40°C.

Los valores promedio de temperatura en el agua del río tienen un rango de 12 a 18°C que son temperaturas idóneas para la vida acuática, no obstante, es importante mencionar que el incremento de temperatura del agua condiciona la absorción y disminución de oxígeno de hasta un 30% cuando aumenta el gradiente en 15°C en el cuerpo receptor, como lo indican los resultados de los estudios realizados por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, 1992).

Otros estudios muestran el impacto negativo que las altas temperaturas tienen sobre los cuerpos de agua receptores como el de Mahemet en 2017 quien registró temperaturas en los procesos textiles de hasta 80°C. Esta diferencia de temperaturas implica que el cuerpo receptor disminuya su contenido de oxígeno disuelto, lo que aumenta la susceptibilidad de enfermedades y muerte en los peces.

Tabla 4. Resultados fisicoquímicos *In situ* del agua residual textil y del río.

pH	ART	8.2 ± 0.4
	Río	8.0 ± 0.3
T (°C)	ART	29.1 ± 1.1
	Río	15.8 ± 3
OD (mg/L)	ART	0.0
	Río	1.7 ± 1.3
Q (L/S)	ART	3.6 ± 0.6
Características organolépticas	ART	Fuerte olor a sulfuro, irrita ojos, nariz y garganta. Color azul fuerte abundante espuma
	Agua Río Atoyac	Sin olor, no irrita mucosas. Color café intenso y turbio.

Los resultados obtenidos en la cuantificación de oxígeno disuelto demostraron que el ARTC es anóxica lo cual afecta la oxigenación del cuerpo receptor. Con respecto al río se determinó que la concentración de oxígeno disuelto es sumamente baja equivale a 1.7 mg/L en promedio; en estas concentraciones no es posible el sustento de vida acuática aerobia. De acuerdo a lo establecido por SEMARNAT en (2010), relacionado con el índice de la calidad del agua, el valor mínimo de concentración de oxígeno disuelto del agua potable

debe ser 5 mg/L. En base a este parámetro podemos afirmar que tanto el agua residual textil como el del agua del río están fuertemente contaminadas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Pérez C. *et al.*, (2018) que obtuvo un promedio de concentración de oxígeno disuelto en el Río Atoyac de 1.47 mg/L en temporada de lluvias y de 0.27 mg/L de oxígeno disuelto en época seca, también Bravo en 2015 monitoreo varias estaciones de descarga en un recorrido de aproximadamente 35 km del Río Atoyac mostrando un nivel de marcada hipoxia menor a 0.34 mg/L, por lo que podemos afirmar que el agua del Río Atoyac bajo estas condiciones pierde su capacidad de sustentar vida de organismos acuáticos aerobios.

Respecto a las características organolépticas el agua del efluente presentó color azul intenso y espuma. El color azul es indicativo de la presencia de colorante índigo, por otra parte la espuma es una característica habitual en el agua residual del proceso Denim, y se debe a los surfactantes utilizados en los procesos de teñido para el acondicionamiento de las fibras, esta espuma al ser eliminada en los enjuagues ocasiona interferencia en el proceso de absorción de oxígeno atmosférico en el agua y por lo tanto disminuye el oxígeno disuelto que perjudica la sobrevivencia de los peces (Giovanni, 2011; Jaramillo, 2018).

10.2. Análisis del agua residual textil compuesta (ARTC).

El análisis físico químico del ARTC demostró lo siguiente: se analizaron 17 parámetros en total, de los cuales siete parámetros: sólidos sedimentables, nitrógeno total, fósforo, grasas y aceites, sólidos suspendidos totales, DBO₅ y DQO; rebasan los límites máximos permitidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-001-SEMARNAT-1996), tanto para uso en riego agrícola como, para protección de la vida acuática (Tabla 5).

Se determinó que los sólidos sedimentables del agua residual textil fueron de 10 mg/L en comparación con la concentración aceptada por la NOM-001-SEMARNAT-1996, que es de 2 mg/L, (Tabla. 5) estos valores están muy por encima de la NOM y al compararlos con los obtenidos por Navarro I. *et al.*, 2003, quienes obtuvieron un valor de 2 mg/L en Villa Alta, es cinco veces mayor. Es decir que, la cantidad de sólidos sedimentados en el río, en el transcurso de 15 años se incrementó 5 veces. Esta situación aunada a que la cantidad de sólidos suspendidos en el agua incrementan la turbiedad por estar compuestos tanto de material orgánico como inorgánico y que la cantidad presente en el río refleja el nivel de erosión de la zona.

Dado que en aguas limpias su contenido son muy bajos prácticamente inexistentes, podemos inferir, por los resultados obtenidos, que el agua residual textil contiene gran cantidad de material que no es soluble y que al no ser removidos y ser vertidos sedimentan en poco tiempo en el río; estos resultados coinciden con los obtenidos por Severiche, (2013). Estos materiales debido a su gran peso se van acumulando progresivamente en el fondo del río formando fangos y trae como consecuencia que en las zonas de desove los lechos de grava se cubran por sedimentos finos e impidan el desove de los peces (FAO, 1997; Grimalt, 2005). Adicionalmente, las descargas industriales y municipales contribuyen al aumento de los sólidos sedimentables.

Respecto al contenido de nitrógeno y fósforo total en el agua residual, estos exceden los límites máximos permisibles para sustentar vida acuática que son de 25 mg/L y 10 mg/L respectivamente (tabla.5). Los excesos de estos elementos producen el crecimiento excesivo de algas (APHA, 1998). A su vez, el crecimiento excesivo de las algas evita el paso de luz a capas internas interrumpiendo el proceso de la fotosíntesis, las algas al morir por falta de nutrientes se descomponen y consumen gran parte del oxígeno del medio que afecta la vida acuática de la flora y la fauna, porque obstruye el intercambio gaseoso y desvía los rayos luminosos, que aprovecha el fitoplancton para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis (Romero, 2010).

Por investigaciones realizadas se sabe que el nitrógeno y el fósforo son elementos comunes que se hallan en la superficie terrestre y en la atmósfera. El primero, en forma de gas, es el principal constituyente del aire que respiramos, es un constituyente de los organismos vivos y por ello un nutriente fundamental. El fósforo por su parte tiene una función fundamental en la generación de energía en los organismos vivos y constituye otro pilar en la nutrición de los mismos. Sin embargo, cuando se produce un excesivo aumento de estos en el ambiente, como es el caso del agua residual textil vertida al Río Atoyac generalmente trae como consecuencia en las actividades humanas, el aire y el agua que resultan contaminados. Cantidades altas de estos elementos en ríos, lagos, bahías y demás cursos de agua permiten un crecimiento elevado de algas y plantas. Este crecimiento excesivo desestabiliza los ecosistemas.

Por consiguiente, estos resultados demuestran disminución en la calidad del agua del Río Atoyac en la zona de estudio.

Tabla 5. Cuadro comparativo entre el ART y la NOM-001 (Uso riego agrícola, Protección de vida acuática.

Parámetro	mg/L	Uso en riesgo agrícola		Protección de vida acuática	
	ART	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
NITROGENO TOT	47.76	40	60	15	25
SOL. SED.	10	1	2	1	2
GRA Y ACE	66	1	2	1	2
DBO5	696.67	150	200	30	60
FOSFORO	10.89	20	30	5	10
DQO	1332.8	320	320	320	320
SST	1160	150	200	40	60
As (Arsénico)	0.006	0.2	0.4	0.1	0.2
Cd (Cadmio)	0.02	0.2	0.4	0.1	0.2
Cu (Cobre)	0.053	4	6	4	6
Cr (Cromo)	0.245	1	1.5	0.5	1
Hg (Mercurio)	0.001	0.01	0.02	0.005	0.01
Ni (Níquel)	0.096	2	4	2	4
Pb (Plomo)	0.148	0.5	1	10	0.4
Zn (Zinc)	0.133	10	20	10	20

*PD Promedio diario. ** PM Promedio mensual

Los resultados obtenidos demuestran que la concentración de oxígeno disuelto disponible para organismos como los peces disminuyó drásticamente haciéndolos vulnerables y propensos a morir. Al no haber oxígeno en el medio todos los procesos se ven alterados. Los compuestos orgánicos provenientes de los organismos muertos y otras contaminaciones son difícilmente oxidados y degradados aumentando aún más el problema. El impacto sobre las personas es notable. El agua obtenida de lagos y ríos degradados es difícilmente aprovechable debido a la contaminación impidiendo su uso para beber. El exceso de estos contaminantes proviene de la agricultura intensiva con un elevado uso de fertilizantes aplicados a plantas, el riego excesivo produce canalizaciones de agua que arrastran los fertilizantes hasta los cursos de agua. El estiércol del ganado también es otra fuente importante de contaminación, especialmente de nitrógeno, detergentes y otros productos de uso domésticos pueden contener cantidades apreciables de fósforo en forma de sales que terminan en el agua entre otras (Baker, J.L. 1983; Pérez M.L. 2002).

En relación al exceso de grasas y aceites, el promedio obtenido fue de 66 mg/L que es un valor sumamente alto con respecto a los límites máximos permitidos que marca la NOM-001 de SEMARNAT, que es de 2 mg/L (Tabla. 5). Sin embargo, al comparar estos resultados con los obtenidos por Navarro I. *et al.*, (2003) quienes reportaron en la zona, descargas de agua residual, industrial y/o municipal en el Río Atoyac de grasas y aceites

(12 – 74 mg/L): podemos concluir, que a través de los años el problema se ha incrementado y representa un problema de contaminación importante; porque en los cuerpos de agua estas sustancias interfieren en el intercambio gaseoso entre el agua y la atmósfera y no permiten el libre paso del oxígeno hacia el agua, ni la salida del CO₂ del agua hacia la atmósfera; en casos extremos pueden llegar a producir la acidificación del agua, esta situación se agrava con la ausencia de oxígeno disuelto en la zona, además de interferir con la penetración de la luz solar. Todos estos fenómenos impiden la sobrevivencia de los organismos acuáticos, situación que coincide con lo reportado por Tomohito, (2018).

Con relación a los sólidos suspendidos totales en el ARTC, la concentración cuantificada fue de 1160 mg/L y la cantidad permisible es de 200 mg/L como promedio diario para uso en riego agrícola y 60 mg/L como promedio diario para preservación de vida acuática (Tabla.5). Este exceso de material suspendido trae como consecuencia el aumento de la turbidez del agua del río que también evita la penetración de la luz para que se pueda llevar a cabo el proceso de fotosíntesis en el cuerpo de agua, lo cual conlleva a la disminución de oxígeno disponible para la respiración de los peces.

Otros estudios realizados, como el de Kashif en 2017, que obtuvo valores de hasta 3360 mg/L en aguas residuales textiles, estos resultados se encuentran muy por encima en comparación con los obtenidos, por otro lado, otras investigaciones como la de Yukelser *et al.*, en 2017 encontraron concentraciones de sólidos suspendidos en aguas residuales textiles entre 90 y 350 mg/L valores que están por debajo, en comparación con los obtenidos en la presente investigación. Lo que significa que existe un intervalo muy amplio de valores para este parámetro, sin embargo, en todos los casos mencionados los valores obtenidos exceden lo que marca la Norma Oficial Mexicana.

La demanda bioquímica/biológica de oxígeno (DBO₅) mide la cantidad de oxígeno consumido requerido para degradar la materia orgánica del ARTC, en procesos biológicos aerobios durante cinco días fue de 696.67 mg/L, el valor máximo permitido en la NOM-001 oficial es de 60 mg/L y para la protección de vida acuática, el excedente es de 636.67 mg/L (Tabla. 5).

Este valor indica la cantidad de materia orgánica degradable que es vertida por el efluente de ART al Río Atoyac y demuestra el alto grado de contaminación existente en el agua y representa el impacto negativo en la fauna acuática (Huma, *et al.*, 2015). Este es un indicador asociado a procesos de respiración microbiana (EPA, 2014). Navarro I. *et al.*, (2003) reportaron, para la zona, una concentración de DBO₅ (45 mg/L) estos valores para el año en que se determinaron ya reflejaban contaminación. Sin embargo, al comparar estos

resultados con los obtenidos quince años después demuestran el estado crítico en el que se encuentra la calidad del agua del Río Atoyac ya que la cantidad de oxígeno requerido por los organismos en sus procesos metabólicos al consumir la materia orgánica presente en las aguas residuales es de 696.67 mg/L y equivale a diez veces más, con respecto a lo señalado en la NOM-001. Esto nos permite predecir que las descargas de los efluentes domésticos e industriales se ha incrementado y por consiguiente los niveles de oxígeno se han abatido y como resultado no hay peces en el Río Atoyac, al menos en esta zona de muestreo.

La demanda química de oxígeno (DQO) en el agua residual textil fue de 1332.8 mg/L en comparación con la permisible por la NOM-001-SEMARNAT-1996 que es de 320 mg/L (Tabla. 5) existe un excedente de 1012.8 mg/L de materia orgánica. Estos resultados significan que la calidad del agua residual del efluente es poco biodegradable, y posee un grado de contaminación extremadamente alto (Gil, 1998); con este grado de contaminación orgánica es imposible la preservación de vida acuática porque prácticamente consume todo el oxígeno disuelto, que de acuerdo a los índices obtenidos en el medio no hay oxígeno, por consiguiente las sustancias de ser oxidadas por medios químicos no se realiza, lo cual demuestra el alto grado de contaminación existente (Grimalt, 2005).

Sabemos que la biodegradabilidad de la materia orgánica es la propiedad que permite que las aguas residuales puedan ser depuradas por medio de microorganismos, los que utilizan estas sustancias como alimento y fuente de energía para su metabolismo y reproducción. La consideración de la aceptabilidad medioambiental hacia determinados compuestos orgánicos puede incluir no solo su biodegradabilidad, persistencia y toxicidad a microorganismos sino también, el efecto sinérgico de sustratos mezclados como los efectos inhibidores de posibles metabolismos.

Es conocido que el valor de la DQO siempre será superior al de la DBO₅. Debido a que muchas sustancias orgánicas pueden oxidarse químicamente pero no biológicamente. La diferencia es que los gramos o miligramos de oxígeno se refieren, en el caso de la DBO₅ a los requeridos por la degradación biológica de la materia orgánica; mientras que en el caso de la DQO representan los necesarios para la degradación química de la materia orgánica. La relación entre DBO₅/DQO nos da una idea del grado de degradación de la materia orgánica. Si la relación (DBO₅/DQO) <0,2 entonces hablamos de unos vertidos de naturaleza industrial, poco biodegradables y son convenientes los tratamientos fisicoquímicos. Si la relación (DBO₅/DQO) >0,5 entonces hablamos de unos vertidos de naturaleza urbana, puede ser tratadas mediante tratamientos biológicos. Al sustituir estos

valores por los resultados obtenidos tenemos $(696.67/1332.8) = 0.52$ este valor indica que los vertidos son mayormente urbanos y pueden ser tratados biológicamente.

Con base en los análisis fisicoquímicos realizados, podemos inferir que el agua residual textil que se vierte al Río Atoyac en la zona de muestreo no recibe el tratamiento adecuado y representa un riesgo para los cuerpos de agua superficiales, por el aporte de nutrientes que se derivan de la materia orgánica en descomposición o de compuestos químicos de origen antropogénico como metales pesados y compuestos nitrogenados (Cervantes-Zepeda, 2011), los cuales son sumamente tóxicos (Yusu - Sonibare, 2004, Savin - Butnaru, 2008).

Por todo lo anteriormente expuesto se ha demostrado la gran cantidad de materia orgánica existente en el ARTC, que es vertida al Río Atoyac mismo que no contiene oxígeno. Situación que agrava aún más la contaminación ya existente en el río. En relación con los valores obtenidos de los metales pesados, podemos concluir que todos los parámetros se encuentran dentro de los límites permisibles de la NOM -001.

Las causas de este mal manejo del agua residual se debe a varios factores, entre ellos la falta de estandarización de los procedimientos de la planta tratadora, la nula vigilancia de las autoridades y principalmente la irresponsabilidad de las empresas que buscan el máximo de ganancias con la mínima inversión posible. Los resultados obtenidos confirman que los parámetros más característicos de las aguas residuales textiles son: la DQO, la DBO₅ (como indicadores de contaminación orgánica), nitrógeno y fósforo (indicadores de nutrientes), SS, conductividad (presencia de sales), color y tensioactivos.

10.3. Determinación de la cantidad de colorante índigo, en el ARTC.

La cuantificación del colorante se determinó mediante análisis espectrofotométrico UV y se midió el % de absorbancia de tres muestras de ARTC y por interpolación se obtuvo la concentración del colorante en cada muestra (Fig.13). Con base en esta información se determinó la concentración promedio de índigo residual en mg/L que fue de 34.9 ± 20.6 gr/L (Tabla 6).

Al respecto no se encontraron estudios que hayan determinado la cantidad de índigo en el agua residual textil, sin embargo si se menciona que el índigo puede descomponerse en sustancias más sencillas como la anilina (Montero, *et al*; 2006), la legislación ambiental de China y Alemania establecen para la anilina un límite máximo de descarga en agua residual textil de 1.0 mg/L (Zongping, 2011); la anilina puede ser tóxica si se ingiere, inhala o por

contacto con la piel; daña a la hemoglobina, la EPA en 2006 determinó que la anilina probablemente es carcinogénica en seres humanos.

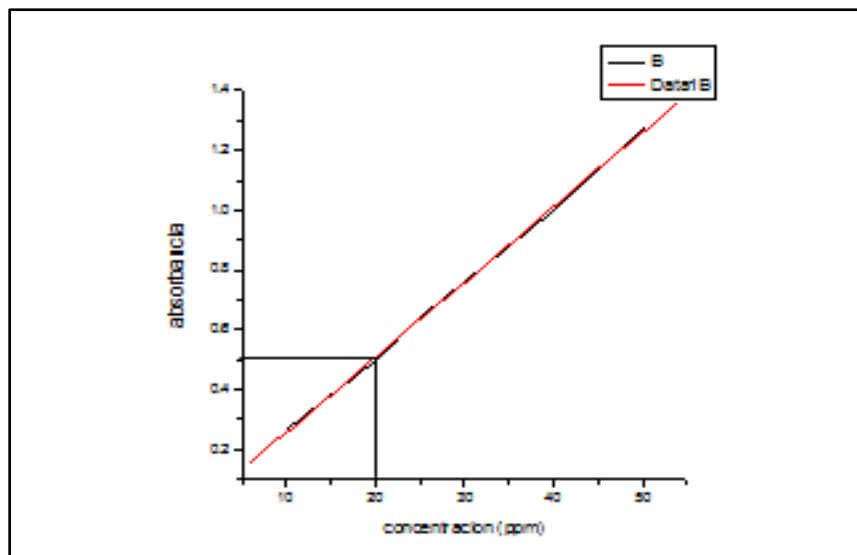


Fig. 13. Concentración de índigo en el agua residual textil.

En México la norma que evalúa la concentración de anilina es la NOM-081-STPS-1993, en el medio ambiente laboral en el aire. Al respecto, no se encontró ninguna otra norma para su determinación en solución.

Tabla 6. Concentración promedio de índigo residual en muestras de ARTC.

Muestras ARTC	Fecha de toma de muestras	mg/L
1	18 de marzo de 2017	7.53
2	27 de Julio de 2017	49.5
3	28 de septiembre de 2017	47.8
	Promedio	34.94 ± 23.7

A nivel internacional la EPA (Agencia de Protección Ambiental, 1986) calculó el factor de estimación de riesgo de cáncer para personas expuestas a la anilina y determinó que en concentraciones de 600 µg/L de cada diez mil personas una de ellas puede desarrollar cáncer. Sabemos que el colorante al degradarse en el ambiente se transforma en anilina a partir de este supuesto, inferimos que la cantidad existente de colorante en el agua residual

textil es cincuenta y ocho veces mayor, al compararla con los datos de la EPA 2006. Este dato refleja el alto porcentaje de probabilidad de que la población este expuesta a contraer cáncer.

Se realizaron tres mediciones de agua residual textil compuesta para determinar la concentración promedio y los resultados demostraron que existe una gran dispersión en las lecturas ± 23 mg/L, esto podría deberse a que probablemente no hay un procedimiento estandarizado en la planta tratadora de agua residual de la empresa, el hecho es que las descargas del colorante varían y como no existe una reglamentación al respecto, porque en las NOM este parámetro no está contemplado.

Sin embargo, se ha demostrado que los colorantes textiles tienen gran persistencia en el ambiente y los métodos de eliminación clásicos no son útiles debido a que oxidaciones o reducciones parciales pueden generar productos secundarios altamente tóxicos. Una gran proporción de los colorantes no son directamente tóxicos para los organismos vivos; sin embargo, la fuerte coloración que imparten a los medios de descarga puede llegar a suprimir los procesos fotosintéticos en los cursos de agua, por lo que su presencia debe ser controlada.

El tratamiento del agua residual textil, con contenido de tintes y específicamente con tinte índigo, es uno de los más difíciles; esto es así, porque el tinte es de origen sintético y tiene una estructura molecular aromática compleja, la cual es más estable y más difícil de biodegradar (Frijtersa *et al.*, 2006). Diversos estudios han constatado el efecto del colorante, que impide en el agua el paso de luz solar, inhibiendo el proceso de fotosíntesis, reduce el oxígeno disuelto por lo que daña severamente la vida acuática. Se ha demostrado que algunos colorantes azo (índigo) pueden ser carcinogénicos y muta génicos, además de que los productos resultantes de su degradación pueden resultar más tóxicos (Brown y De Vito, 1993; Gavril y Hodson, 2007).

Montero en (2006) señaló que este tipo de colorantes al ser desechados en el agua residual producen irritación en la piel y mucosas, además de que su descomposición en sustancias más simples genera anilinas compuestos considerados como cancerígenos y muta génicos. También existen trabajos donde se reportan cambios en el contenido total de lípidos y colesterol, además de alteraciones sobre la síntesis de proteínas sobre las células espermatogénicas y se han evidenciado daños morfológicos observados en las células del hígado (Mathur *et al.*, 2003).

Por consiguiente, es importante mencionar que en las Normas Oficiales Mexicanas se contemple el colorante índigo, el cual no está regulado en la actualidad, tomando en cuenta

que a nivel mundial México ocupa el séptimo lugar como exportador de mezclilla y Puebla el segundo lugar.

10.4. Determinación de caudal volumétrico del efluente textil.

La corriente del Río Atoyac avanza de Oeste a Este a una velocidad media de 2.5 m/s, el ancho del río en la zona de muestreo fue de 8 - 10 metros (Fig. 8). El diámetro del tubo de drenaje del ART es de 70 cm. La profundidad del río en temporada seca fue de 120 cm y en temporada de lluvias fue de 145 cm. Con estos datos se pudo calcular el flujo volumétrico del caudal de salida del ART (Flujo volumétrico $Q = \text{volumen} / \text{tiempo}$), por triplicado a diferentes horas del día. El promedio obtenido de descarga del flujo de ART al Río Atoyac que fue de 3.6 L/s, y equivale a 12, 960 L/día y 311,040 L/mes (311.04 m³/mensuales) de acuerdo con la formula siguiente:

$$\text{Flujo volumétrico (Q)} = \frac{3.6 \text{ L}}{\text{s}} \times \frac{3600 \text{ s}}{\text{h}} \times \frac{24 \text{ h}}{\text{día}} \times \frac{30 \text{ días}}{\text{mes}} = 311\ 040 \frac{\text{L}}{\text{mes}}$$

Al comparar estos resultados con los publicados por Saldaña (2006) quien estimó que 48 empresas descargaban un volumen diario de 6340 m³/d, lo que equivale a 1.53 L/s en promedio y Bravo (2015) contabilizaron 73 descargas industriales, entre Puebla y Tlaxcala y el caudal fue de 4.2 L/s. Al respecto podemos decir que el volumen de descargas se ha incrementado de manera importante en el transcurso de 9 años, así como, el número de empresas. En esta investigación estamos comparando el valor obtenido que corresponde a la descarga de una empresa (3.6 L/s) comparada con valores de descarga de 48 (1.53 L/s) y 73 (4.2 L/s) empresas. Estos valores obtenidos hace doce y tres años respectivamente, nos dan una idea del incremento en los volúmenes de agua utilizados que es proporcional a la cantidad de agua residual textil y a la contaminación que se vierten al Río Atoyac a través del tiempo y demuestra como la sociedad civil y los diferentes niveles de gobierno no hacen nada al respecto.

10.5. Carga de contaminantes vertida en la estación de muestreo.

En la tabla 5 se presenta el promedio del flujo de descarga del efluente del ART de los siete parámetros que rebasan los límites máximos permitidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-001-SEMARNAT-1996), tanto para uso en riego agrícola como, para

protección de la vida acuática que son: sólidos sedimentables, nitrógeno total, fosforo, grasas y aceites, sólidos suspendidos totales, DBO₅ y DQO. Con base en esta información se estimó la descarga de compuestos químicos que el efluente vierte en el Río Atoyac, que fue de 31.26 toneladas/mes (Tabla 7).

Tabla 7. Carga de contaminantes que exceden la NOM-001-SEMARNAT-1996.

PARAMETRO	mg/L Promedio ARTC	kg/mes Promedio ARTC	Ton/mes Promedio ARTC
NITROGENO	47.76	448.13	0.45
SOL. SED.	10	93.83	0.09
GRA Y ACE	66	619.28	0.62
DBO5	696.67	6536.88	6.54
FOSFORO	10.89	102.18	0.10
DQO	1332.8	12505.72	12.51
SST	1160	10884.33	10.88
ÍNDIGO	39.7	370.44	0.37
TOTAL			31.26

Este volumen de descargas de sustancias químicas representa un riesgo para la salud del ecosistema del Río Atoyac, ya que esta cantidad representa la contaminación antropogénica existente en el río, misma que el río no tiene la capacidad de asimilación y dilución para su auto depuración; lo que trae como consecuencia problemas de eutrofización y anoxia del cuerpo de agua y por consiguiente, impide sustentar cualquier tipo de vida aerobia además, de representar un grave problema de salud pública.

10.6. Bioensayo.

El objetivo del bioensayo fue estimar la CL₅₀ (concentración letal 50) a 96 horas (tratamiento agudo) a diferentes concentraciones de agua residual textil compuesta (tóxico) en el pez cebra (*Danio rerio*) que es el modelo experimental o bioindicador utilizado por su alto grado de sensibilidad. Denominamos bioensayo al proceso de determinar la potencia de una sustancia, en este caso del ARTC, a partir de las respuestas producidas por el organismo biológico (pez cebra). Para el caso las dosis de sustancia se expresan en porcentajes de agua potable y ARTC. Las respuestas son una medida del resultado de la aplicación de

ARTC en las concentraciones (75, 50, 35, 25, 15 y 13.5%) y las respuestas son cuantitativa y cualitativa.

Cada bioensayo o modelo experimental consta de seis grupos experimentales y un control. En cada Bioensayo se colocaron quince ejemplares (Tabla 8).

Para evaluar los efectos adversos del ARTC a diferentes concentraciones (75, 50, 35, 25, 15 y 13.5%) en el pez cebra (*Danio rerio*) bajo condiciones estandarizadas y reproducibles en el laboratorio. El efecto tóxico agudo, se determinó en el transcurso de 96 horas en cada concentración de cada bioensayo se colocaron 15 peces. En las concentraciones 75, 50, 35% todos los peces murieron. En las concentraciones 25 y 15% el efecto fue severo (el 50% sobrevivió) y en la concentración 13.5%, el 100% de los ejemplares sobrevivieron (tabla 8).

Tabla 8. Mortalidad promedio de pez cebra (*Danio rerio*) en diferentes concentraciones de ARTC.

%ARTC	MORTALIDAD			TOTAL DE MUERTOS	PROMEDIO MORTALIDAD TOTAL	TIEMPO DE VIDA
	Bioensayo 1	Bioensayo 2	Bioensayo 3			
75	15	15	15	45	1.0	40'
50	15	15	15	45	1.0	1 h 51'
35	13	15	15	43	0.95	13 h 42'
25	11	12	15	38	0.84	40 h 33'
15	9	5	9	23	0.51	54 h 41'
13.5	0	0	0	0	0	96 h
Control	0	0	0	0	0	96 h
				196		

El comportamiento en los peces que murieron fue similar en todas las concentraciones. Se evaluó el movimiento espontaneo del pez que se reflejó en la velocidad y dirección de desplazamiento en el agua, así como, la coordinación de los movimientos. También se evaluaron, el equilibrio, el tono muscular y la frecuencia respiratoria, que se evalúa por el movimiento el opérculo, que es la estructura ósea que cubre las branquias. Órganos que permiten el intercambio gaseoso en los peces.

La diferencia que se observó fue en el tiempo de sobrevivencia de los peces fue proporcional a la concentración del ARTC, es decir, a mayor concentración de ARTC, el tiempo de sobrevivencia fue considerablemente menor (Tabla.8). Con estos criterios se han descrito tres niveles: Estado I. Inmovilidad, pero movimiento opercular. Estado II: movimientos corporales descoordinados (nado vertical a veces pegado a las paredes de vidrio del acuario, boquea y en repetidas veces sale a la superficie) y movimiento opercular.

Estado III: Movimiento opercular y desplazamiento normal. La muerte en los peces paso sucesivamente del estado III al II y al I en el transcurso de 40'-13 h 40' en las concentraciones (75-35%), en las concentraciones 25 y 15% fueron 40 h 30' y 54 h 40' respectivamente.

Podemos concluir que, en relación a la conducta del pez ante las diferentes concentraciones letales de agua residual textil, estas fueron respuesta de organismos al síndrome general de adaptación (estrés). Este último se define como la suma de todas las respuestas fisiológicas que ocurren cuando los organismos al intentar establecer o mantener la homeostasis corporal interna. El estrés agudo o letal se observó entre 75-35% de ARTC y las respuestas de muerte ocurren rápidamente como respuesta a perturbaciones a corto plazo, la duración en término de tiempo de sobrevivencia fue entre 40'-13 h 40' horas.

El estrés crónico o subletal (25-15 % de ART) Las respuestas adversas son las mismas, pero menos evidentes e intensas y tardan en expresarse. Podemos concluir que cuando los organismos se exponen a concentraciones subletales el comportamiento de los peces es de subsistencia y tratan de mantener a toda costa el equilibrio homeostático; este comportamiento fue característico en exposiciones del ARTC a mayor tiempo y a menor concentración del ARTC.

Es importante mencionar que las condiciones de temperatura, pH, concentración de Oxígeno, alimento en todos los acuarios fue igual, la única diferencia fue la variación en la concentración del ARTC.

La concentración letal media (CL_{50}), también se obtuvo mediante el método estadístico Probit. La concentración del tóxico (variable independiente) y la respuesta de la población (mortalidad=variable dependiente) serán las variables del modelo experimental. La técnica estadística a emplear será una regresión de tipo Probit.

La regresión Probit es un tipo particular de regresión lineal que se construye para conocer la relación que existe entre una variable independiente (las diferentes concentraciones de agua residual textil) y una variable dependiente (la respuesta=mortalidad) para especie (*Danio rerio*) a 96 horas de exposición (4 días) tiempo que dura la exposición al agua residual textil. Para ello la respuesta acumulada de los organismos (mortalidad acumulada) se transforma a unidades Probit (eje Y) y la concentración del agua residual textil (tóxico) se transforma logarítmicamente (eje X). El resultado es una recta en la cual podemos

interpolarse el 50% de la respuesta y conocer que concentración del agua residual textil compuesta causa la muerte del 50% de los organismos (Fig. 14).

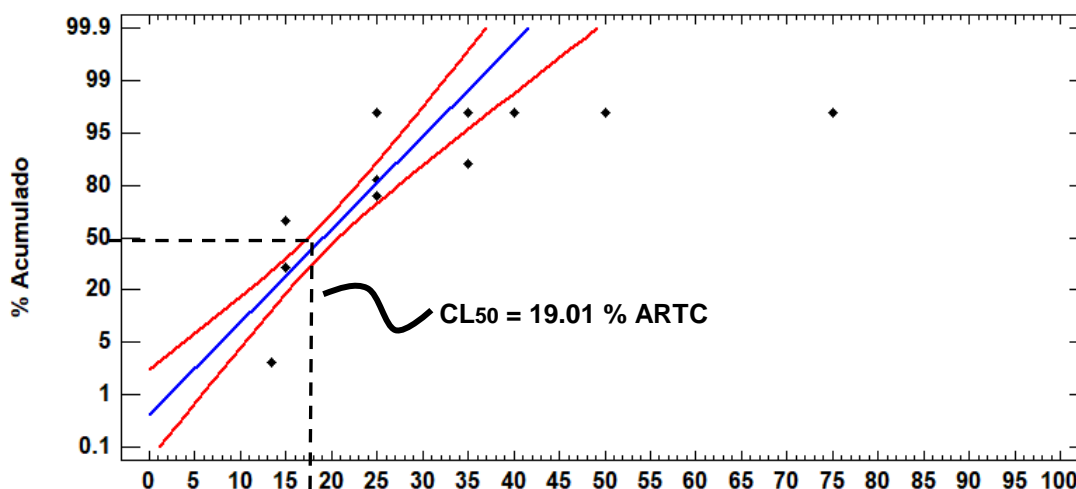


Fig. 14. Concentración – Respuesta con transformación Probit y logarítmica con un 95% de confianza.

Por los resultados obtenidos en la figura 14 podemos concluir que la CL_{50} en el tratamiento agudo del pez cebra a 96 horas, fue de 19.01%, es decir que la concentración del agua residual textil necesaria para causar la muerte del 50% de la población de estudio (*Danio rerio*) en un tratamiento agudo, a 96 horas, fue de 19.01% y representa la dosis letal (DL_{50}). Por consiguiente, la concentración de 19.01% de agua residual textil compuesta, es la respuesta del pez cebra a la cual se muere el 50% de la población de peces y representa la mortalidad acumulada que es la cantidad de los compuestos tóxicos del agua residual textil que hay en el organismo, dosis letal (DL_{50}).

11. ANÁLISIS MACROSCÓPICO DEL EFECTO DEL ARTC EN EL PEZ CEBRA (*Danio rerio*).

Al comparar los peces del grupo experimental 75% de ARTC con el grupo control (Figuras 16 y 15) se observó como principales hallazgos que el colorante cubrió todo el cuerpo del pez y este presentó una coloración corporal más oscura. Se observó reblandecimiento de la musculatura en todo el cuerpo y deformación del ojo y gran cantidad de secreción de mucus en toda la superficie del cuerpo. Esta secreción actúa como una respuesta o mecanismo de defensa ante el estrés, por la elevada concentración de colorante que le impide ver y poder orientarse, además, que impide el intercambio gaseoso a nivel de las branquias (Figuras 15, 16 y 18).

Vega, (2010) explicó que el epitelio y mucus son la primera barrera protectora del pez contra agentes externos como hongos, bacterias y parásitos; ya que contiene carbohidratos, péptidos antibacterianos y proteínas como mucina, aglutinina, proteína C reactiva y lisozima las cuales, son una barrera de defensa química primaria. La investigación de Sharma *et al.*, en 2007 demostró en un estudio comparativo de agua residual textil tratada y no tratada sus efectos en la respuesta inmune innata de los peces provoca obscurecimiento de la piel y secreción pronunciada de mucus; estas respuestas coinciden con las obtenidas en nuestros resultados (Figura. 16).

Con respecto, al reblandecimiento muscular algunos estudios demuestran que la carne del pescado se ablanda después de 24 horas de almacenamiento *post mortem* debido a la pérdida de textura que es ocasionada por la acción de proteasas sobre las fibras microfibrilares y de algunos tipos de colágeno (Suarez *et al.*, 2007).



Fig. 15. Grupo control en agua de garrafón (microscopio Standar 25 ZEISS)



Fig. 16. Grupo experimental 75% ARTC, (microscopio Standar 25 ZEISS)

Al comparar el grupo control (Fig. 15) con el grupo experimental 75% de ARTC (Fig. 16) se pudo observar, debido a que el operculo es transparente, gran cantidad de colorante distribuido al interior del aparato branquial que lo oscurece y sobre el opérculo, se encuentra gran cantidad de pigmento.

Al interior del aparato branquial se observó coloración negra por la infiltración del colorante a través de la abertura del operculo. Al comparar este grupo con el grupo control, se observó que en el grupo control, el operculo es transparente y mantiene su coloración rosada que

es característica del aparato branquial sano, que refleja la normal circulación de la sangre en los vasos capilares alojados en las lamelas de los filamentos en los arcos branquiales.

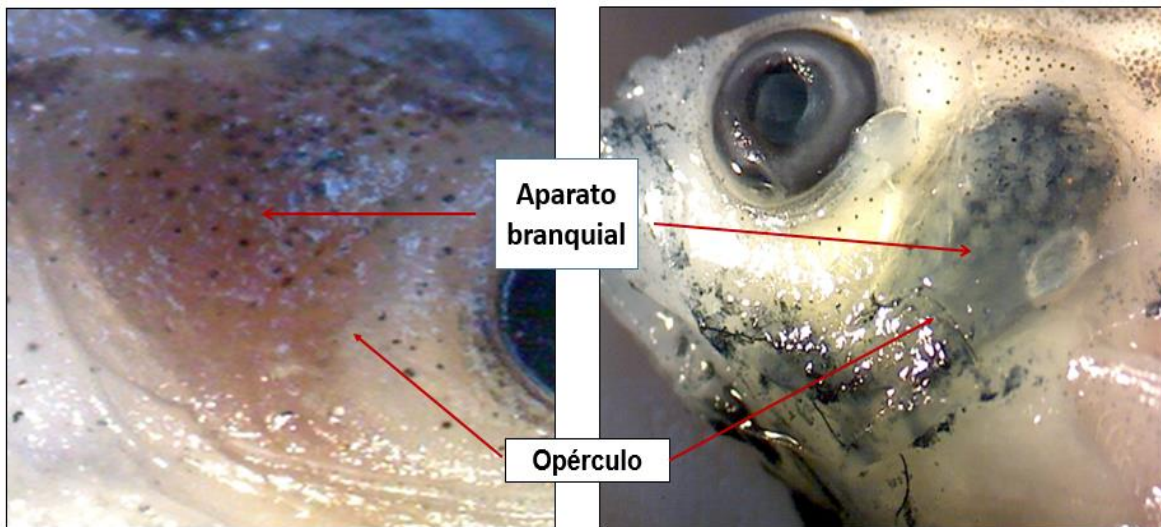


Fig. 17. Grupo control en agua de garrafón (microscopio Standar 25 ZEISS)

Fig. 18. Grupo experimental 75 % ARTC. Aparato branquial obscuro (índigo), secreción mucosa (microscopio Standar 25 ZEISS)

Al comparar el aparato branquial de los peces del grupo control (Fig. 17) con el grupo experimental 75% de ARTC (Fig. 18). Se observó que, en los peces del grupo experimental, restos de colorante que se distribuyen entre las lamelas de los filamentos lo cual impide el intercambio gaseoso entre el agua y el interior de los vasos sanguíneos por simple difusión. En cambio, en los peces del grupo control el aparato branquial se observa transparente, brillante y presenta coloración rosada (Fig. 17).

Al comparar el grupo control (Fig. 19) con el grupo experimental (Fig. 20) se puede observar en el grupo experimental una compactación de las lamelas en los filamentos; mientras que en el grupo control estas se encuentran separadas, también se observó en los filamentos la presencia de vasos sanguíneos en cambio, estos no se observan en el grupo experimental.

Esta condición evita que se pueda llevar a cabo el intercambio de gases. En cambio, en el grupo control, se observó que el aparato branquial es translucido y se pueden observar unos canales finos rojos son los vasos sanguíneos en las lamelas de los filamentos (Fig.19).

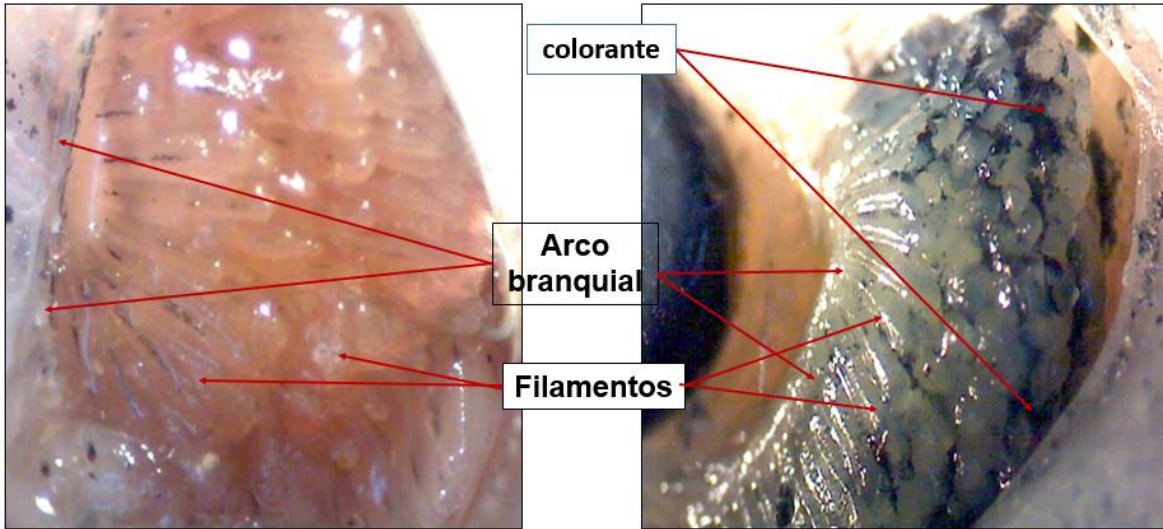


Fig. 19. Grupo control (microscopio Standar 25 ZEISS)

Fig. 20. Grupo experimental 75 % ART. Aparato branquial (índigo), Arco branquial, filamentos (microscopio Standar 25 ZEISS)

En la figura 21 correspondiente al grupo control en comparación con el grupo experimental. Se observó que en el aparato branquial de los peces del grupo experimental 75% en ARTC, hay residuos de colorante adheridos a las branquiespinas, los filamentos están muy compactos, su coloración es oscura y opaca, no hay división entre las lamelas y estas se encuentran compactas (Fig. 22).

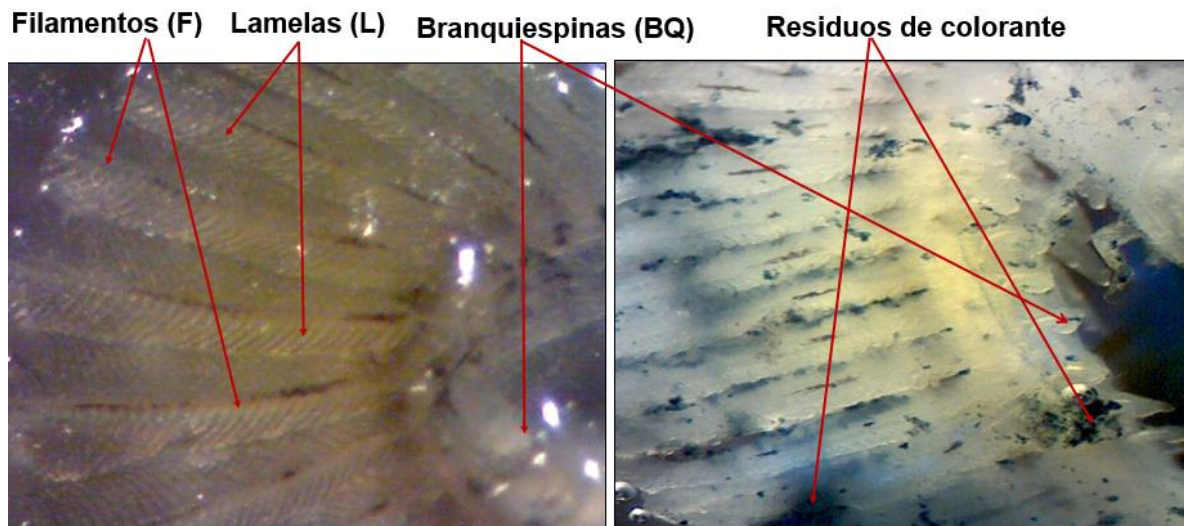


Fig. 21. Grupo control (microscopio Standar 25 ZEISS)

Fig. 22. Grupo experimental 75 % ARTC. Residuos de colorante, Branquiespinas, Filamentos y Lamelas (microscopio Standar 25 ZEISS)

Mientras que en el grupo control los filamentos están bien definidos, independientes y separados. Las lamelas están brillantes, su coloración es translúcida y se puede observar en ellas los vasos sanguíneos (Fig.21).

En la figura 23 se observó un acercamiento de las lamelas en el grupo experimental 75% de ARTC, las cuales se observan inflamadas, muy compactas, con manchas de colorante, incluso los vasos sanguíneos presentan un color purpura verdoso, que indica la infiltración del colorante al torrente sanguíneo y como ya se mencionó evita el correcto intercambio de gases necesario para la oxigenación de los peces, produce la asfixia que llevó a la muerte del organismo.

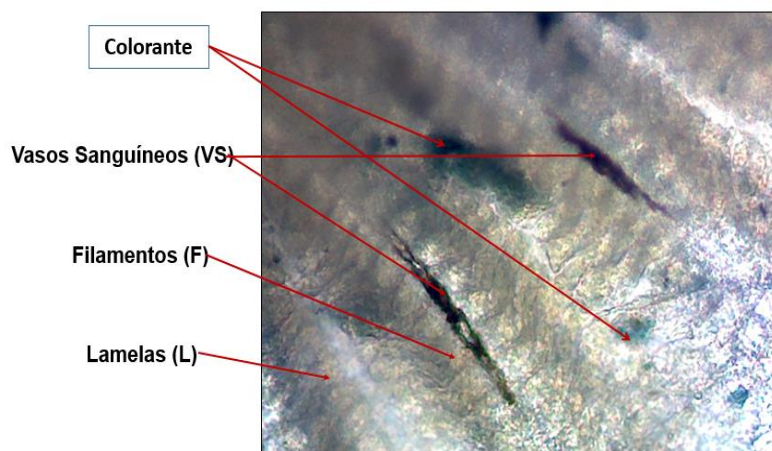


Fig. 23. Vista macroscópica de los filamentos (F), vasos sanguíneos (VS), lamelas (L) y colorante. (Microscopio ICS Standar 25 ZEISS)

En la figura 24 se observó el arco branquial y las branquioespinas de los peces en la concentración 75% de ARTC con residuos de colorante adheridos a la estructura ósea, lo que corrobora la penetración del índigo al interior del aparato branquial. Aunque en estas estructuras óseas el colorante no representa un riesgo para la sobrevivencia del organismo acuático, sin embargo, en el caso de los filamentos branquiales estas adherencias impiden la respiración eficiente de los peces.

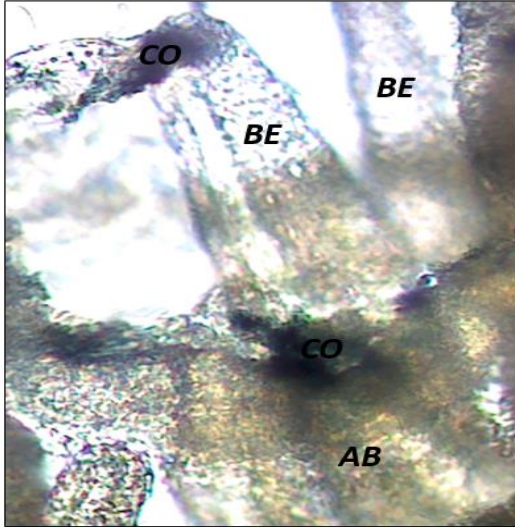


Fig. 24. Vista microscópica del pez cebra (*Danio rerio*) del grupo experimental 75%. Branquiespinas (BE), arco branquial (AB), azul índigo (CO). (10X, microscopio óptico ZEISS)

12. HISTOLOGÍA.

12.1. Histología de branquias.

Al comparar los cortes histológicos de las branquias en los organismos de los grupos experimentales y el grupo control las principales diferencias que se observaron fueron: con respecto a la forma, la longitud y distribución de los filamentos y lamelas, como podemos observar en la figura 25 con respecto a la 26. El grupo control tiene los filamentos uniformes con estructura cilíndrica están alargados y la distribución de las lamelas es uniforme y están extendidas a lo largo de los filamentos, el grosor de la capa epitelial es uniforme (Fig. 25).

En el grupo experimental con 75% de ARTC (Fig. 26) se observó que los filamentos están más delgados, y en el extremo final del filamento se puede ver incremento en el grosor del epitelio, las lamelas están distribuidas asimétricamente, torcidas e incluso algunas están adheridas entre sí, debido posiblemente al exceso de mucina, además de que el epitelio tuvo un aumento en el espesor por la secreción de mucus.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Sharma, (2007); Olaf, (2015) y Ling (2016) que señalan, que la superficie de las branquias se encuentra cubierta con una delgada membrana mucosa la cual está en contacto con el ambiente acuoso y cuando grandes cantidades de sustancias xenobioticas solubles o bien agentes patógenos logran penetrar, estas producen una respuesta inmune en el epitelio branquial generando secreción de

mucina e incremento en capa epitelial como respuesta defensiva innata, estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestra investigación.

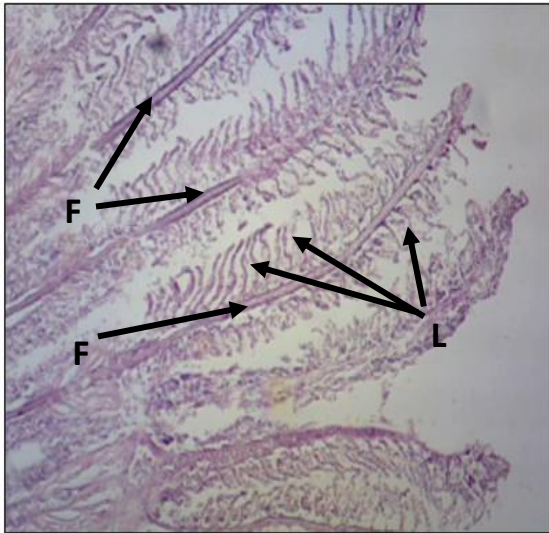


Fig. 25. Grupo Control. Filamentos (F), lamelas (L). Tinción Hematoxilina-eosina 40x (microscopio ICS estándar 25 Zeiss).

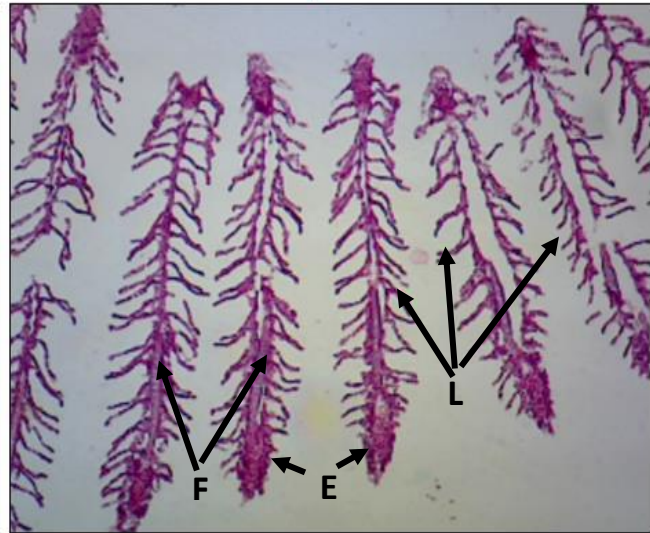


Fig.26. Grupo 75 % ART. Filamentos (F), lamelas (L), epitelios (E). Tinción Hematoxilina-eosina 40x (microscopio ICS estándar 25 Zeiss).

El hecho de que las lamelas se encuentren adheridas o pegadas limita el área útil para la realización del intercambio gaseoso (Fig.27) además, el engrosamiento del epitelio también dificulta la difusión de los gases para que el oxígeno pueda introducirse en los vasos sanguíneos ser captado por los eritrocitos y transportado a los diferentes tejidos (Musso, 2014).

Otro hallazgo importante que se observó, fue la presencia de eritrocitos con aneurisma en la zona apical de la lamela (Fig. 28) lo cual trae como consecuencia la pérdida en la funcionalidad de estas células que se encargan de transportar los gases para la detoxificación y oxigenación de los organismos, además de que los eritrocitos a causa de esta condición pueden reventarse condición conocida como hemolisis, esto genera una menor cantidad de células que transporten oxígeno y como consecuencia el pez sufre un desequilibrio de oxigenación que le puede causar debilidad y la consecuente muerte (Román, *et al.*, 2009).



Fig. 27. Grupo experimental 75% ART. Lamelas (L). Tinción Hematoxilina-eosina 40x (microscopio ICS estándar 25 Zeiss).



Fig. 28. Grupo Experimental 75% ARTC. Aneurisma (A) de eritrocito (E). Tinción Hematoxilina-eosina 40x (microscopio ICS estándar 25 Zeiss).

12.2. Histología de hígado.

Los resultados del análisis histológico del hígado no mostraron diferencias al comprar los grupos experimentales (Fig.30) con el grupo control (Fig.29).

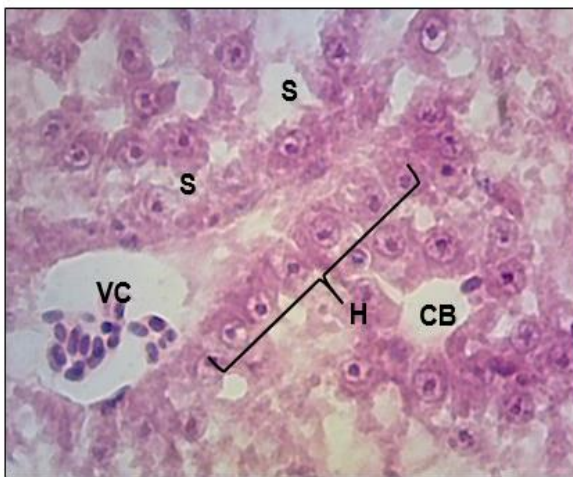


Fig. 29. Grupo control lóbulo hepático clásico triado: conducto biliar (CB), vena central (VC), cordones hepáticos (H) y sinusoides (S). Tinción Hematoxilina-eosina 40x (microscopio ICS estándar 25 Zeiss).

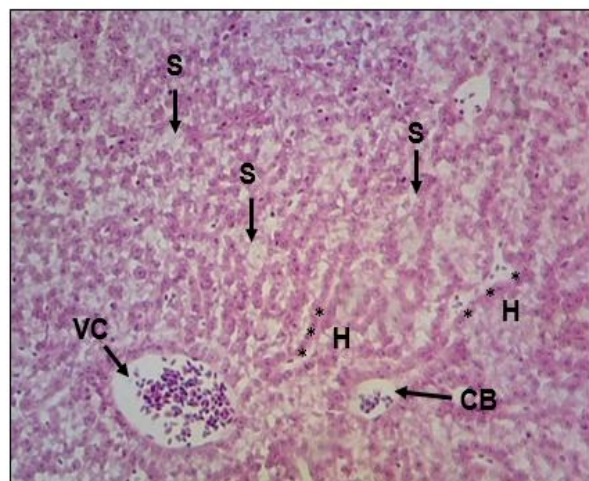


Fig. 30. Vista panorámica del lóbulo hepático del grupo experimental 75% ART. Conducto biliar (CB), vena central (VC), cordones hepáticos (H) y sinusoides (S). Tinción Hematoxilina-eosina 40x (microscopio ICS estándar 25 Zeiss).

Se pudo observar en ambos casos una estructura típica de lóbulo hepático (Figuras 29 y 30), los hepatocitos mantuvieron su estructura normal con buena definición de núcleos, los

cordones de hepatocitos, sinusoides, conductos biliares y vena central sin alteraciones aparentes en tratamiento agudo.

Sin embargo, otros estudios han demostrado que la toxicidad de otros tipos de agua residual o sustancias xenobioticas producen daños en la morfología y fisiología hepática del pez cebra. La cloroanilina causa deformación y cambios de pigmentación de los hepatocitos, núcleo, mitocondrias, en el almacenamiento de glucógeno y la presencia de macrófagos (Burkhardt, *et al* 1999). El trabajo efectuado por Gomes en (2018) al someter peces cebra a bioensayos con aguas residuales de una planta de celulosa mostraron cambios morfológicos hepáticos que sufrieron vacuolización, áreas con necrosis celular y tejido hepático con infiltración de grasa (Gomes, 2018). Yang *et al.*, en (2018) realizaron bioensayos sometiendo al pez cebra a bioensayos con thifluzamida un fungicida ampliamente utilizado en los cultivos de arroz, los hallazgos del trabajo indicaron efectos degenerativos vacuolización del tejido hepático, cambios ultra estructurales en los hepatocitos como inflamación del retículo endoplasmico.

Los daños ocasionados al hígado de los peces por la toxicidad de las sustancias xenobioticas nos indican la importancia de incluir la evaluación toxicológica de los efluentes industriales para poder determinar el grado de peligrosidad de las descargas industriales. Aunque en nuestro caso no se observó daño del ARTC en la histología del hígado del pez cebra, esto no quiere decir cómo se verá más adelante, que no haya una manifestación de desequilibrio homeostático en los peces a causa del ARTC. Es importante aclarar que no existen trabajos que constituyan un marco de referencia relacionado con los daños que ocasiona el ARTC (proceso Denim) de la zona de estudio, sobre las alteraciones en el hígado de los peces.

13. ANÁLISIS MOLECULAR.

El análisis para determinar la toxicidad a nivel molecular del ARTC en el pez cebra se enfocó en determinar la expresión de las metalotioneínas (MTs) en el pez completo, mediante la técnica Western Blot. El Western Blot es una técnica analítica usada para detectar una proteína específica en un extracto crudo, mediante el uso de anticuerpos.

Por investigaciones realizadas, las MTs se expresan de manera coordinada y lo hacen en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente importante su presencia en órganos parenquimatosos como el hígado, riñón, intestino, testículos, pulmón,

corazón y cerebro (Zelazowski and Piotrowski, 1977). Las metalotioneínas están presentes en todos los organismos, constituyen una familia de proteínas intracelulares capaces de unirse a otros metales de transición y metales pesados. En 1985, Karin señaló que la función de estas proteínas estaba relacionada con la desintoxicación de metales pesados y xenobióticos, regulación homeostática de metales esenciales y funciones antioxidante celulares.

Sabemos que las metalotioneínas son proteínas que se encargan de detoxificar al organismo de metales pesados. Las metalotioneínas se unen a los metales a fin de agotar los iones metálicos y así, evitar que estos, actúen sobre el sistema enzimático y generen toxicidad (Juárez, 2014).

El daño por la toxicidad de los metales pesados ha sido investigado ampliamente (Nava y Mendez, 2008; Londoño, *et al.*, 2016; Kobielska *et al.*, 2018; Edelstein, 2018; Ji *et al.*, 2018; Dahri *et al.*, 2018), quienes demostraron que altas concentraciones de metales pesados se vuelven tóxicos para la vida celular y que varios órganos se pueden ver afectados como: riñones, pulmones, hígado, el sistema gastrointestinal, pero principalmente el sistema nervioso central y periférico. Los metales pueden comportarse como cancerígenos, promoviendo transformaciones malignas.

De ahí la importancia de utilizar la expresión de las metalotioneínas como biomarcador para evaluar el riesgo de la toxicidad del agua residual textil que serviría para complementar el análisis fisicoquímico que marca la NOM-001-SEMARNAT-1996.

Se ha demostrado ampliamente que la industria textil es una industria que consume grandes cantidades de agua, energía y productos químicos auxiliares, además genera una gran cantidad de agua residual; estos efluentes poseen elevadas concentraciones de colorantes, contaminantes orgánicos refractarios, compuestos tóxicos, componentes inhibidores, tensoactivos, componentes clorados. Los procesos de la industria textil no liberan grandes cantidades de metales; sin embargo, aun las pequeñas concentraciones involucradas pueden producir acumulación en los tejidos de animales acuáticos. Muchas veces los efectos se observan a largo plazo, y en la mayoría de los casos son difíciles y costosos de tratar.

Estos resultados demuestran que la sobrevivencia de los peces en la concentración de 13,5% de ARTC fue del 100%, y de acuerdo al análisis fisicoquímico del ARTC la concentración de metales pesados se encuentra por debajo de la NOM-001 (Tabla.5), sin

embargo, podemos observar por la expresión de MTs (Fig. 31) la presencia de metales pesados presentes en el ARTC, que pueden afectar la acumulación del metal en diferentes órganos especialmente en Branquias e hígado.

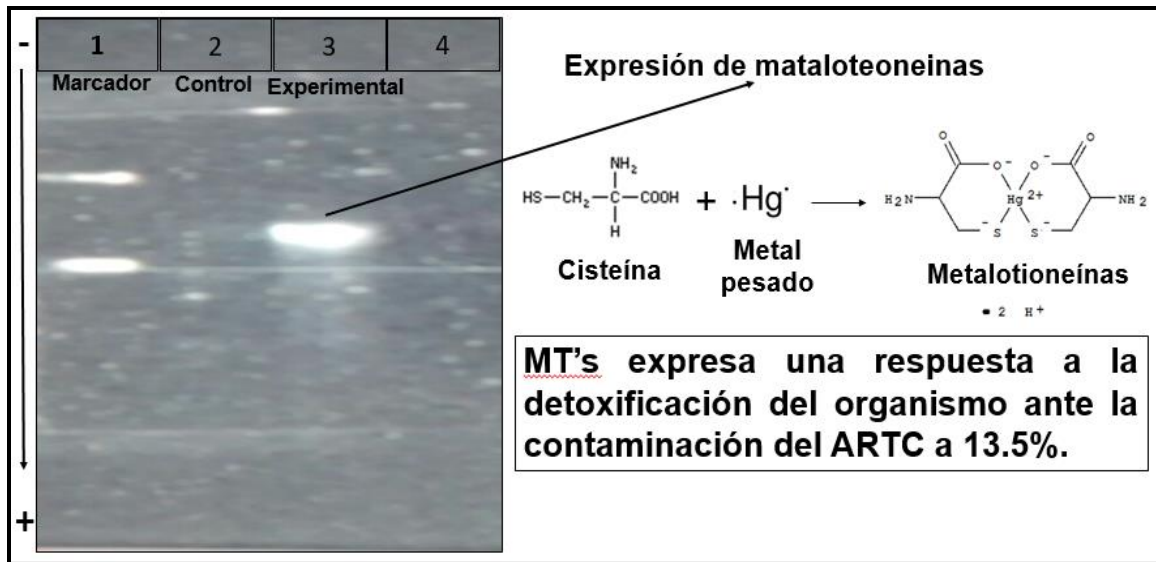


Fig. 31. Western Blot 13.5% ARTC. Se observa expresión de MT solo en el grupo experimental.

Estos resultados constituyen un importante hallazgo. Primero se demostró que los niveles de los metales pesados están dentro de los límites permisibles por la NOM -001 (Tabla 5), también se demostró que en la concentración de 13.5% de ARTC todos los organismos sobrevivieron y por consiguiente se presume que no había daño (Tabla 8). Sin embargo, por los resultados obtenidos del Western blot se observó, la inducción de respuesta al estrés celular por la presencia de los metales pesados.

Con lo cual se demostró la presencia de metales pesados en el organismo y por otro lado la expresión de MTs es directamente proporcional a la cantidad de metal presente en el organismo que entra al organismo del pez a través de las branquias y la boca. Por consiguiente, los metales pesados son potencialmente secuestrados por las MTs del medio interno para poder mantener el equilibrio metabólico interno y de esta manera mantener al organismo vivo.

Debe, por lo tanto, existir un claro vínculo entre las concentraciones de metales pesados presentes en el ARTC del medio y la concentración de MTs. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Bianchini *et al.*, 2002 en organismos acuáticos. De esta manera, la

inducción de MTs en este escenario tiene un carácter de adaptación, es decir, que las MTs tienen el objetivo fundamental de eliminar metales a fin de mantener al organismo vivo, en virtud de sus propiedades desintoxicantes (Viarengo *et al.*, 2000).

Por todos los resultados obtenidos podemos inferir que, la expresión de las metalotioneinas participa en la regulación de la homeostasis corporal interna de los peces para mantener su medio interno dentro de ciertos parámetros. Estar fuera de estos parámetros por algo más que un corto período llevaría al organismo a la muerte o al desarrollo de enfermedades, como lo pudimos observar en las concentraciones (75-35%) así como, los resultados observados en su comportamiento.

14. CONCLUSIONES.

1. Las variables analizadas en el ARTC (nitrógeno total, sólidos suspendidos totales, fósforo total, DBO₅, DQO, sólidos sedimentables, grasas y aceites y metales pesados) en el agua residual textil compuesta y su efecto en el pez cebra (*Danio rerio*) así como, su innegable interrelación en las respuestas fisiológicas, respuestas al estrés, adaptaciones bioquímicas y ajustes del comportamiento del pez cebra tienen implicaciones importantes en la pérdida de biodiversidad en la zona.
2. Cuando se producen cambios en los hábitats naturales, las especies pueden lograr sobrevivir con mucho esfuerzo, adaptándose a los cambios generados en su entorno, como se demostró en los peces que sobrevivieron al 100% en la concentración de 13.5% de ARTC, pero si la alteración es grave, como es el caso, de lo que ocurre en Villa Alta es probable que los organismos que dependen de ellos no puedan adaptarse y mueran.
3. La localidad de Villa Alta es un claro ejemplo de cómo el desarrollo socioeconómico en una comunidad se lleva a cabo sin cuidar el ambiente anteponiendo intereses de poder del sector industrial con la permisibilidad del sector público. Esta falta de planeación ambiental compromete la conservación de los recursos naturales de la región y por consecuencia el bienestar social actual e incluso el de las generaciones futuras.

15. BIBLIOGRAFÍA.

- Agencia Informativa Conacyt. 2016. Agua contaminada una amenaza latente en México. 1. Recuperado de <http://www.conacytprensa.mx/index.php/ciencia/ambiente/11179-agua-contaminada-una-amenaza-latente-en-México>.
- Álvarez, Alejandro; Ortiz, Cinthya. 2011. Toxicología Forense. 2-16. Recuperado de <https://vdocuments.mx/documents/toxicologia-forense1-5634faa0678d3.html>
- Amjad, A.K., Qayyum, H., 2007. Decolorization and removal of textile and non-textile dyes from polluted wastewater and dyeing effluent by using potato (*Solanum tuberosum*) soluble and immobilized polyphenol oxidase. *Bioresource Technology*. 1012-1019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.04.008>
- Amr, Sania. 2002. Occupational Toxicology: A Practical Approach Applied Toxicology. NURS, 2. Recuperado de <http://www.higieneocupacional.com.br/download/occupational-toxicology.pdf>
- Amutha, K. 2017. Environmental impacts of denim. *Sustainability in Denim*. 27-48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102043-2.00002-2>
- APHA (American Public Health Association), 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, DC, USA. 220.
- APHA (American Public Health Association), 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington.1265
- Ariza, Corina. 1999. Comparación de toxicidad entre *Oncorhynchus mykiss* y *Daphnia magna* utilizando como agente toxico agua residual tratada y no tratada del municipio de Puebla. (Tesis de Maestría). Posgrado de Ciencias Ambientales. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Baker, J.L. y Lafren, J.M. 1983. Water quality consequences of conservation tillage. *Journal of Soil & Water Conservation*, Ankeny, 38(3): 186-93.
- Baxter, L.A., Finch, S.J., Lipfert, F.W., Yu, Q.Q. 2006. Comparing Estimates of the effects of air pollution on human mortality obtained using different regression methodologies, 17. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1997.tb00865.x>
- Bianchini, A., Bowles, K.C., Brauner, C.J., Gorsuch, J.W., Kramer, J.R., Wood, C.M., 2002. Evaluation of the effect of reactive sulfide on the acute toxicity of silver (I) to *Daphnia magna*. Part II. Toxicity results. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 1294– 1300
- Biopedia. 2014. Biodiversidad, biomas y más. Enciclopedia ilustrada de la vida en la Tierra. Recuperado de <https://www.biopedia.com/organismos-modelos/>
- Bordehore, César. 1998. Problemas Ambientales Problemas Humanos. *Sociología Ambiental*. 321-343.
- Bravo, Inclán; Izurieta, Jorge; Hernández, Rubén. 2015. Evaluación toxicológica del Rio Atoyac, Puebla, y su relación con los parámetros Físicoquímicos. *Research Gate*. 1. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/272508172_Diagnostico_de_calidad_del_agua_y_g_rado_de_contaminacion_en_el_rio_Atoyac_Oaxaca.
- Brown, M; De Vito S. 1993. Predicting azo dye toxicity. *Crit. Rev. Environ.Sci.* 249–324.

- Brundo, María; Pecoraro, Roberta; Marino, Fabio; Privitera, Vittorio. 2016. Toxicity Evaluation of New Engineered Nanomaterials in Zebrafish. ResearchGate. 1-5. DOI: 10.3389/fphys.2016.00130
- Burkhardt, Holm; Schroeder, Oulmi; Storch, V. 1999. Toxicity of 4-Chloroaniline in early life stages of Zebrafish. Environmental Contamination and Toxicology. 85-102.
- Cachada, Anabela. 2017. Soil and Pollution: An Introduction to the Main Issues. Academic Press. (35) 9: 1-28. Recuperado de https://play.google.com/books/reader?id=fE6ZDgAAQBAJ&printsec=frontcover&output=reader&hl=es_419&pg=GBS.PA1.w.5.0.91
- Calderón, Alonso; Pérez, Curiel; Montiel, C. 2008. Eliminación de fenol, 2-clorofenol y colorantes en aguas artificialmente contaminadas y aguas residuales textiles utilizando a la peroxidasa de chayote. 278. Recuperado de <http://www.itson.mx/publicaciones/rln/Documents/v4-n2-32-eliminacion-de-fenol-2-clorofenol-y-colorantes-en-agua.pdf>
- Campos, Irene. 2003. Saneamiento Ambiental. EUNED. 31-33. Recuperado de https://books.google.com.mx/books/about/Saneamiento_Ambiental.html?id=lsgrGBGIGeMC&redir_esc=y
- Carson, Patrick; Van Beneden, Rebecca. 2013. Arsenic exposure alters expression of cell cycle and lipid metabolism genes in the liver of adult zebrafish. Article history. 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.006>
- Chen, Huizhong; 2006. Recent advances in azo dye degrading enzyme research. Current Protein and Peptide Science, 7(2): 101–111. Doi: 10.2174/138920306776359786.
- Chira, Piura. 2013. Manual de Operaciones Proyecto Especial Chira Piura. Gobierno Regional Piura. 8-25. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/202623527/Manual-Chira-2013>
- CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y tecnología). 2016. Agua contaminada una amenaza latente en México. Agencia Informativa. 1. Recuperado de <http://www.conacytprensa.mx/index.php/ciencia/ambiente/11179-agua-contaminada-una-amenaza-latente-en-mexico>
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2011. Atlas del Agua en México. 48. Recuperado de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/SGP-18-11.pdf>
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2010. Situación de los recursos hídricos en México. 2-26. Recuperado de www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Contenido/Documentos/SINA/Capitulo_2.pdf
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2015. Atlas del Agua en México. 2021 Recuperado de www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/ATLAS2015.pdf
- Cortazar, Adriana; Coronel, Claudia; Escalante, Adelfo; González, Cesar. 2017. Contaminación Generada por Colorantes de la Industria Textil.1. Recuperado de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n3/e1.html>
- Cortazar, Adriana; Coronel, Claudia; Escalante, Adelfo; González, Cesar. 2014. Boletín científico Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2(3), 1. Recuperado de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n3/e1.html>.

- Crespi M., 1979. Contaminación de la industria Textil. Curso de ingeniería Ambiental. E.T.S.I.I. de San Sebastián. 25-34. Recuperado de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/6164/Article04.pdf>
- Dazy M, Beraud E, Cotelle S, Meux E, Masfaraud J F, Ferard J F, 2008. Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere*, 73(3): 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.044>
- De la Torre, Ana. 2004. Curso de Toxicología Ambiental y Seguridad Química. 1. Recuperado de <http://www.ritsq.org/wp-content/uploads/cd-oxamb/Documentos/10%20de%20la%20Torre%20FINAL.pdf>
- Del Villar, Maribel, Templos Cesar; Vera, Diego; Villar, Felipe. 2010. Incrementar la eficiencia en el proceso de tejido plano de mezclilla en la empresa Denim Hidalgo, aplicando la metodología DMAMC de seis Sigma. Tesis para obtener el título de licenciado en ciencias informáticas. 21. Recuperado de <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7204/17.1903.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Diekmann M, Waldmann P, Schnurstein A, Grummt T, BraunbeckT, Nagel R, 2004. On the relevance of genotoxicity for fish populations II: genotoxic effects in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to 4-nitroquinoline-1-oxide in a complete life-cycle test. *Aquatic Toxicology*, 68(1): 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.01.019>
- Dung C H, Wu S C, Yen G C, 2006. Genotoxicity and oxidative stress of the mutagenic compounds formed in fumes of heated soybean oil, sunflower oil and lard. *Toxicology in Vitro*, 20(4): 439–447
- Edelstein, Menahem; Ben-Hur, Meni. 2017.
- Elías Sanidas, Dimitris P. Papadopoulos, Harris Grassos, María Velliou. 2017. Air pollution and arterial hypertension. A new risk factor is in the air; *Journal of the American Society of Hypertension*. 709-715. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2017.09.008>.
- EMDM (Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México). 2018. Recuperado de: www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM29tlaxcala/municipios/29019a.html. Consultado 13 de marzo de 2016.
- Enger, Eldon; Smith, Bradley. 2010. *Ciencia Ambiental*. Mc Graw-Hill/ Interamericana de México. 1-25.
- EPA, 1986. *Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater*, 1-42.
- EPA, 2016. *Technical support document for water quality based toxics control*. EPA/505/2-90-001. Office of Water, US EPA, NW Washington DC.
- FAO.1997. Programa de las Naciones Unidas para la alimentación y Medio Ambiente. *Perspectivas del Medio Ambiente Mundial*. Disponible en: <http://www.unep.org/publications/>
- Feng, Lin; Chen, Yong-Po. 2016. Modulation of immune response, physical barrier and related signaling factors in the gills of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed supplement diet with phospholipids. *Fish and Shellfish Immunology*. 79-73.
- Fernelius, W,C. 1983. Indigo. *Journal of Chemical Education*, 60 (8). 633-634. DOI: 10.1021/ed060p633.

- Filho D W, Torres M A, Tribess T B, Pedrosa R C, Soares C H L, 2001. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acara (*Geophagus brasiliensis*). Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 34(6): 719–726. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/bjmb/v34n6/3832m.pdf>
- Flavia, Abe; Soares, Amadeu; de Oliveira, Danielle. 2018. Toxicity of dyes to zebrafish at the biochemical level: Cellular energy allocation and neurotoxicity. Environmental Pollution. 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.020>
- Frijtersa, C; Schefferb, G; Muldera, R. 2006. Decolorizing and Detoxifying Textile Wastewater, Containing both Soluble and Insoluble Dyes, In A Full Scale Combined Anaerobic/Aerobic System”, Water Research, 40, 1249 – 1257.
- FUSDA (Fundación por la Socialdemocracia de las Américas). 2008. 48. Recuperado de <http://www.fusda.org/revista11pdf/Revista11%20-5ELAGUAENMEXICO%20.pdf>
- Gamboa, Leticia, 1985. Los empresarios de ayer: el grupo dominante en la industria textil de Puebla 1906-1929, Puebla. Instituto de Ciencias de la Universidad Autónoma de Puebla. 9-11.
- Garcés, Luis; Peñuela, Gustavo. 2007. Tratamiento de las aguas residuales de una industria textil utilizando colector solar. Revista Lasallista de Investigación. 4(2). Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v4n2/v4n2a04.pdf>
- García, E. et al. 2013. Farmacia Hospitalaria. 668.
- García, Rolando. 2006. Sistemas Complejos. Conceptos, método y fundamentación epistemológica de la investigación interdisciplinaria. Gedisa. 39.
- Gatheru, Michael; Waigi, Kaisun, Yanzheng, Gao. 2017. Sphingomonads in Microbe-Assisted Phytoremediation: Tackling Soil Pollution. Cell Press. 833-899.
- Gavril M; Hodson P.V., 2007. Investigation of the Toxicity of the Products of Decoloration of Amaranth by *Trametes versicolor*. *J. Environ. Qual.*, **36**, 1591–1598.
- Gil, Manuel. 1998. Demanda bioquímica de oxígeno de efluentes con productos xenobióticos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Ciudad Universitaria s/n. -28040- Madrid, 47-54.
- Giovanni, Russell; Delgado, Víctor. 2011. Mean lethal concentration (LC₅₀) of four biodegradable household detergents in *Laeonereis culveri* (Webster 1879) (*Polychaeta: Annelida*). Laboratorio de Suelos, División de Ciencias e Ingeniería, Universidad de Quintana Roo. 1-10.
- Goessling, Wolfram. 2015. Zebrafish: An Important Tool for Liver Disease Research. Gastroenterology. 149(6). 1361-1377. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.034>.
- Gomes, Allison; Van Der Kraak, Glen. 2018. Exposure to a Brazilian pulp mill effluent impacts the testis and liver in the zebrafish. Comparative Biochemistry and Physiology. 206-207.
- Greenpeace, 2009. Crisis Ambiental y de Salud en la bahía de Algeciras/bahía de Gibraltar. Demandas y propuestas para el Foro de Diálogo Tripartito 1-8. Recuperado de: <https://es.scribd.com/document/29699880/Greenpeace-2009-sobre-Bahia-Algeciras>
- Greenpeace, 2012 Hilos Tóxicos. 12. Recuperado de http://www.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/Docs/2012/HILOS_TOXICOS_MEXICO.pdf

- Greenpeace, 2013. Ríos Tóxicos Lerma y Atoyac. 6. Recuperado de <http://www.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/Docs/2014/toxicos/Rios%20tóxicos%20Lerma%20y%20Atoyac-WEB.pdf>
- Grimalt Juan, 2005. Riesgos de los fangos acumulados en el embalse de Flix en el Tramo Bajo del Río Ebro. Congreso Nacional de Medio Ambiente. 5
- Guerrero, Luis. 2011, Cuadernillo de Toxicología. Tecnológico de estudios Superiores del Oriente del Estado de México. 2-4. Recuperado de <http://www.tesoem.edu.mx/alumnos/cuadernillos/2011.042.pdf>
- Gutierrez, José; López, Adela. 2001. Fundamentos de ciencia toxicológica. Días de Santos. 1-26. Recuperado de <https://es.scribd.com/doc/80481737/Ciencia-Toxicologia>.
- Hai F I, Yamamoto K, Fukushi K, 2007. Hybrid treatment systems for dye wastewater. Environmental Science & Technology, 37(4): 315–377. DOI: 10.1080/10643380601174723
- Handal-Silva, Anabella, Pérez Castresana, Gabriela, Morán Perales, José L., García Suastegui, Wendy. 2017. Historia hídrica de la contaminación del Alto Balsas. Ciencias Naturales y Exactas.1-9.
- Harper C., Laurence C., 2011. The laboratory ZEBRAFISH. Taylor and Francis Group. 274.
- Heideman, Warren; Antkiewicz, Dagmara; Carney, Sara. 2005. Cardiovascular Toxicology. Cardiovasc toxicology. 1-3. DOI: 10.1385/CT: 5:2:203
- Hennigan, Rober. 1969. Wáter Pollution. Oxford University Press. 976-978. <https://doi.org/10.2307/1294973>
- Hollis, Lydia; McGeer, James. 1998. Cadmium Accumulation, gill Cd binding, acclimation, and physiological effects durin long term subletal Cd exposure in rainbow trout. Department og Biology, Mc Master University, Hamilton, Ontario.
- Huang, Mengmeng; Jiao, Jingjing; Wang, Jun; Xia, Zhidan; Zhang, Yu. 2018. Characterization of acrylamide-induced oxidative stress and cardiovascular toxicity in zebrafish embryos. Journal of Hazardous Materials. 451-460. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.01.016>.
- Ibáñez González, Luis Antonio. 2012. La evolución de las fábricas textiles de Puebla en el corredor Atoyac. Boletín de monumentos históricos. Tercera Época. (25): 37-44. Recuperado de <http://www.boletin-cnmh.inah.gob.mx/boletin/boletines/3EV25P37.pdf>
- Inche, Jorge. 2004. Gestión de la calidad el aire: causas, efectos y soluciones. Instituto de investigación de Ingeniería Industrial, 33-43. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/Geologia/gestion_calidad/contenido.htm
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). 2012. Informe de resultados y evaluación. Recuperado de http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/1334/702825128531/702825128531_1.pdf
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). 2011. La Industria textil y del vestido en México. Recuperado de http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/1334/702825128531/702825128531_1.pdf
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). 2008. Indicadores estadísticos del Instituto Nacional de Geografía e informática. Recuperado de http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/boletines/2015/iooe/iooe2015_04.pdfJaramillo, Consuelo;

- Quiroz, Manuela, Medina, Stefania. 2018. Biorremediación del colorante negro azoico por levadura inmovilizada en Gelatina. 21.
- Jaramillo, Consuelo; Quiroz, Manuela; Medina, Stefania. 2018. Biorremediación del Colorante Negro Azoico por Levadura Inmovilizada en Gelatina. 30-33. DOI: 10.21500/20275846.3199.
- Jerman, Stephanie; Sun, Zhaoxia. 2017. Chapter Two - Using Zebrafish to Study Kidney Development and Disease. Current Topics of Biology. 41-79. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.11.008>
- Ji, Yong, WU, Peijun; Zhang, Jun. 2018. Heavy metal accumulation, risk assessment and integrated biomarker responses of local vegetables: A case study along the Lean River. Chemosphere. 361-371.
- Jiménez, Repetto; Kuhn, Repetto. 2009. Toxicología Fundamental. Madrid Díaz de Santos Editorial. 13. Recuperado de <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788988.pdf>
- Jiménez, Blanca, 2001. Contaminación Ambiental en México. 39. Recuperado de https://books.google.com.mx/books/about/La_Contaminación_Ambiental_en_México.html?hl=es&id=8MVxlyJGokIC&redir_esc=y
- Juárez, Rebollar; Méndez, Armenta. 2014. Aspectos funcionales de la metalotioneína en el sistema nervioso central. Arch Neurocién, 19(1). 34-41. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2014/ane141f.pdf>
- Kamel, Margrit; Ninov, Nikolay. 2017. Catching new targets in metabolic disease with a zebrafish. Current opinion in pharmacology. 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.08.007>
- Karin M. 1985. Metallothioneins: Proteins in search of function. Cell 41:9-10.
- Kashif, Nadeem; Gokce, Tezcanli, Guyer; Nadir, Dizge. 2017. Polishing of biologically treated textile wastewater through AOPs and recycling for wet processing. Journal of Water Process Engineering, 29-39. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.09.011>
- Kobieska, Paulina; Howarth, Ashlee; Farha, Omar; Nayak, Sanjit. 2018. Metal-organic frameworks for heavy removal from water. Coordination Chemistry Reviews. 92-107.
- Lanciotti E, Galli S, Limberti A, Givannelli L, 2004. Ecotoxicological evaluation of wastewater treatment plant effluent discharges: a case study in Prato (Tuscany, Italy). Annali Dilgiene, 16(4): 549–558.
- Linda, Schweitzer; James Noblet. 2018. Green Chemistry. Elsevier. 261-290.
- Li, Li; Zheng, Binghuis; Liu, Lusan. 2010. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. Procedia Environmental Sciences. 1510-1524. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2010.10.164>
- Ling, Feng; Yong-Po, Chen; Wei-Dan, Jiang; Yang, Liu; Jun Jiang. 2016. Modulation of immune response, physical barrier and related signaling factors in the gills of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed supplemented diet with phospholipids. Fish and Shellfish Immunology. 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.11.020>.
- Liu W, Quan X, Cui Q, Ma M, Chen S, Wang Z J, 2008. Ecotoxicological characterization of photoelectron catalytic process for degradation of pentachlorophenol on titania nanotubes electrode. Ecotoxicology and Environmental Safety, 71(1): 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.08.004>

- Luderman, Lauryn; Unlu, Gokhan. 2017. Chapter Three - Zebrafish Developmental Models of Skeletal Diseases. Current Topics og Biology. 81-24. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.11.004>
- Luna, Miguel A. 2013. Análisis del Cluster Textil en el Perú, Tesis Digitales. 18-19. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/ingenie/angulo_lm/angulo_lm.pdf
- Manual de Saponificación. 2015. 2. Recuperado de <http://documents.mx/documents/saponificacion-55b082f7e7382.html#>
- Matthews M., Trevarrow B., Mattheus J., 2002. A virtual tour of the guide for Zebrafish core and users. Lab Animal, vol. 31 (3): 34-40. doi: 10.1038/5000140 Source: PubMed.
- Mathur N., Krishnatrey R., Sharma S. y Sharma K.P., 2003. Toxic effects of textile printing industry effluents on liver and testes of albino rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 71:453–457.
- Mahmet, Dilaver; Murat, Selda; Dursun, Mehtap. 2017. Hot wastewater recovery by using ceramic membrane ultrafiltration and its reusability in textile industry. Cleaner Production. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.015>
- McKinney, Michael; Schoch, Robert. 2012. Environmental science: systems and solution, Jones and Bartlett Publishers, 15-50.
- Michael P.Waalke Justine S.GarveyCurtis D.Klaassen. 1985. Comparison of methods of metallothionein quantification: Cadmium radioassay, mercury radioassay, and radioimmunoassay. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 79(3) .524-527.
- Miller, Jr., Tyler. 2007. Ciencia Ambiental: Desarrollo Sostenible, un enfoque integral. Guardar México Thompson, 323 (52).
- Minissi S, Ciccotti E, Rizzoni M, 1996. Micronucleus test in erythrocytes of *Barbus plebejus* (Teleostei, Pisces) from two natural environments: a bioassay for the in-situ detection of mutagens in freshwater. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 367(4): 245–251.
- Montero, Regina. 2012. La contaminación del Atoyac, problema ecológico y sanitario. Boletín UNAM-DGCS-507. 1-3.
- Montero, Regina. 2006. Increased cytogenetic damage in a zone in transition from agricultural to industrial use: comprehensive analysis of the micronucleus test in peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 21(5). 1-4. DOI:10.1093/mutage/gel040.
- Morales, Jorge. 2013. Sanear el Atoyac. Recuperado de: <https://www.poblanerías.com/2018/05/sanear-al-atoyac-la-promesa-de-siempre/>. Consultado 27 de febrero de 2017.
- Moreno, Mirella. 2013. Mantenimiento en el laboratorio del pez cebra. Facultad de Ciencia y Tecnología. 4. Recuperado de <https://addi.ehu.es/bitstream/10810/10642/1/TFG.%20Pez%20cebra.docx.pdf>
- Morikawa Y, Shiomi K, Ishihara Y, Matsuura N, 1997. Triple primary cancers involving kidney, urinary bladder, and liver in a dye worker. *American Journal of Industrial Medicine*, 31(1): 44–49.
- Muñoz, Hipolito; Suarez, Juan; Reyes, Andrea; Baumann, Jurgen; Carreón, Miguel; Montealegre, Gehiel. 2013. Relación entre el nitrógeno y las microcuencas del río Zahuapan, México. *Tecnología y Ciencia del Agua*. Recuperado de: www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222013000400003

- Musso, Arturo. 2014. Eritrocitos y Eritrocitopatías. *Red Cells and Red Cell Disorders*, 18(2), 151-155.
- Nava, Concepción; Mendez, Marisela. 2011. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neuroclen.* 16(3).
- Navarro, Inés. 2003. Evaluación ambiental y epidemiológica para identificar factores de riesgo a la salud por contaminación del Río Atoyac, México. 1-8. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/puertorico29/navarro.pdf>
- Newbery, David; Siebert, Hosrst; Vickers, John. 1990. Wiley on behalf of centre for Economic Policy Research. 297-306. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/1344480>.
- Nicovita Boletín. 1998. Influencia del pH sobre los organismos acuáticos. 1-2. Recuperado de: studylib.es/doc/5696485/influencia-del-ph-sobre-los-organismos
- Norton, William; Bally, Laure. 2010. Adult zebrafish as a model organism for behavioural genetics. *BMC Neuroscience.* 11-19. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-90>.
- Novalbos, Jesús, 2008. Toxicología Alimentaria. 3. Recuperado de <http://docplayer.es/14753798-1-factores-que-dependen-del-medio-ambiente.html>
- OECD, 2003. Daphnia sp., acute immobilization test and reproduction test. Recuperado de <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948277.pdf>
- Olaf, Erling; Kvellested, Agnar; Fischer, Uwe. 2015. Fish mucosal immunity: Gill. 142.
- ONU (Organización Mundial de las Naciones Unidas). 2003. El Derecho del Agua. 3. Recuperado de <http://www.ohchr.org/Documents/Publications/FactSheet35sp.pdf>
- ONU (Organización Mundial de las Naciones Unidas). 2017. Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos. 2-7. Recuperado de <http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002475/247553s.pdf>
- Ordin, Anders; Wolfgang, Olsen; Christoph, Sofka. 2017. Solving Environmental Problems: Knowledge and Coordination in Collaborative Search. *Long Range Planning.* 50(6). 726-740. <https://doi.org/10.1016/j.lrp.2016.05.003>.
- Ourdelot. J.C. 1973. El tratamiento de las aguas residuales de las industrias textiles. Centro de Investigaciones Textiles. ROUEN.
- Peña, Carlos *et al.* 2004. Toxicología Ambiental. Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental.1 Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/tutorial/fulltex/toxamb.pdf>
- Pérez, Gabriela; Tamariz, Víctor; López, Lucía; Hernández, Lucía; Castelán, Rosalía; Morán, José Luis; García, Wendy; Díaz, Alfonso; Handal, Anabella. 2017. Atoyac River Pollution in the Metropolitan Area of Puebla, México. *Water.* 2-17. www.mdpi.com/journal/water
- Perez, M. L. 2002. Remoción de fosforo y nitrógeno en aguas residuales utilizando un reactor discontinuo secuencial (SBR). XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México
- Periyasamy, A.P. 2017. Denim processing and health hazard. *Sustainability in Denim.* 161-196.
- Prince, Victoria; Anderson, Ryan; Dalgin, Gokhan. 2017. Chapter Seven - Zebrafish Pancreas Development and Regeneration: Fishing for Diabetes Therapies. *Current Topics in Developmental Biology.* 235-276. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.10.005>

- QuimiNet. 2008. La función de los agentes secuestrantes. 1 Recuperado de <http://www.quiminet.com/articulos/la-funcion-de-los-agentes-secuestrantes-16304.htm>
- Quintero, Luz; Cardona, Santiago. 2010. Tecnologías para la decoloración de índigo e índigo carmín. Escuela de Ciencias y Medio Ambiente. Universidad Autónoma de Colombia, 374. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v77n162/a37v77n162.pdf>
- Ramírez Treviño, Alfredo; Sánchez Núñez, Juan Manuel; García Camacho, Alejandro. 2004. El Desarrollo Sustentable: Interpretación y Análisis Revista del Centro de Investigación. Universidad La Salle, vol. 6, núm. 21, julio-diciembre, 55.
- RAPAL Uruguay. 2010. Contaminación y eutrofización del agua. RAPAL Uruguay. 14-16. Recuperado de <http://www.rapaluruguay.org/agrotoxicos/Uruguay/Eutrofizacion.pdf>
- Rajaguru P, Suba S, Palanivel M, Kalaiselvi M, 2003. Genotoxicity of a polluted river system measured using the alkaline comet assay on fish and earthworm tissues. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 41(2):85–91. <https://doi.org/10.1002/em.10134>
- (RFCA). Red Colombiana de formación ambiental, 2007. Las ciencias ambientales una nueva área del conocimiento. ISBN. 11. Recuperado de <http://media.utp.edu.co/centro-gestion-ambiental/archivos/metodologia-de-la-investigacion-cualitativa/lascienciasambientalesunanuevaareadeconocimiento.pdf>
- Rico, Aldo. 2005. Sociología Ambiental. Grupo Editorial Universitario. 324-342.
- Riva, Maria del Carmen; Flos, Rosa, Crespi, M; Balash, J. 1980. Contaminación aguda por vertidos textiles: Tratamiento de carpines dorados (*Carassius auratus*) con dicromato potásico; determinación de la toxicidad y niveles de cromo en branquias. 65-70. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/39433585_Contaminacion_aguda_por_vertidos_textiles_Tratamiento_de_carpines_dorados_Carassius_auratus_con_dicromato_potasico_determinacion_de_la_toxicidad_y_niveles_de_cromo_en_branquias
- Rodríguez, Lilia. 2011. Contaminación e Internalización de los Costos de la Industria Textil. 7. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65421407008>.
- Rodríguez, Lilia. 2014. Contaminación del Atoyac. Daños Ambientales y Tecnologías de Mitigación. 8, 42-52.
- Román, Yannick; Claude, Marie; Levrier, Julie; Duvernoy, Daniel; Saint, Michael. 2009. Effect of Hemolysis on Plasma Protein Levels and Plasma Electrophoresis in Birds. *BioOne*, 45(1), 73-80. <https://doi.org/10.7589/0090-3358-45.1.73>
- Romero-Freire; Sierra Aragón; Martínez Garzón; Martín Peinado. 2016. Is soil basal respiration a good indicator of soil pollution? *Elsevier*. 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.09.006>.
- Romero, Mynor. 2010. El agua potable. Recuperado de: www.elaguapotable.com/Eutrofizacio.htm. Consultado el día 28 de Septiembre de 2017.
- Rosas, Francisco. 2012. Agua e Industria en Puebla. El establecimiento de la fábrica textil La Covadonga, 1889-1897. 3-4.
- Sala Ammar; Flox, Cristina; Abdelhédi, Ridha; Brillas, Enric. 2006. Electrochemical degradation of the dye indigo carmine at boron-doped diamond anode for wastewaters remediation. *Research Gate*. 229-233. DOI: 10.1007/s10311-006-0053-2
- Sampere, J; Riechmann, J. 2000. Sociología y medio ambiente. Síntesis, 1-10.

- Santillo, Walters. 2012. El tratamiento textil y sus repercusiones ambientales. 1-5. Recuperado de docplayer.es/82633-El-tratamiento-de-textiles-y-sus-repercusiones-ambientales.html
- Sandoval Ana María, Flores Griselda, Scott, Monks; Gordillo, Alberto; Villegas, Elba. 2009 Evaluación FQ, microbiológica y toxicológica de la degradación ambiental del río Atoyac. *Interciencia*: 34(12). 2. Recuperado de https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_Helminetos/Griselda_Pulido/sandoval2009a.pdf
- Sarras, Michael; Leontovich, Alexey; Intine, Robert. 2015. Use of zebrafish as a model to investigate the role of epigenetics in propagating the secondary complications observed in diabetes mellitus. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 3-7. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.07.001>.
- Savin, I; Butnaru, R. 2008. Wastewater characteristics in textile finishing mills. *Environmental Engineering and Management Journal*. 7(6), 859-864.
- Scandalios J G, 1997. *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 815–839. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2005000700003>
- Segura, Luz María; López, Jerónimo. 2003. Principios básicos de contaminación ambiental. Universidad Autónoma del Estado de México. 62-64. Recuperado de https://books.google.com.mx/books/about/Principios_básicos_de_contaminación_am.html?id=4ileAQAAIAAJ
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2005. Boletín de SEMARNAT Agua. 49.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2011. Estadísticas del agua en México. 20 - 28. Recuperado de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGP-1-11-EAM2011.pdf>
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2013. Calidad del aire una práctica de vida. 7-9. Recuperado de <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD001593.pdf>
- Seshadri S, Bishop P L, Agha A. M, 1994. Anaerobic/aerobic treatment of selected azo dyes in wastewater. *Waste Management*, 14(2): 127–137. [https://doi.org/10.1016/0956-053X\(94\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0956-053X(94)90005-1).
- Severiche, Carlos; Barreto, Arnaldo. 2013. Efecto de las lluvias sobre la calidad del agua en la ciénaga grande de santa marta, caribe colombiano en periodo 2006-2009. Universidad de manizales maestría en desarrollo sostenible y medio ambiente Manizales. 1-70. Recuperado de: <https://es.scribd.com/document/315464424/Tesis-de-Maestria-c-severiche-27-Mayo-2013>
- Sharma, Rajesh; Agrawal, Madhoolika; Marshal, Fiona. 2008. Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi. *Environmental Pollution*. 254-263. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.10.010>
- Sharma, K.P. Sharma, P. y Singh P.K., 2007. Estudio comparativo sobre la caracterización de toxicidad de aguas residuales textiles por pruebas químicas y biológicas. *Journal of Environmental Biology*. 49. Recuperado de http://www.jeb.co.in/journal_issues/200610_oct06/paper_03.pdf

- Shin J T, Fishman M C, 2002. From zebrafish to human: modular medical models. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 3: 311–340. DOI: 10.1146/annurev.genom.3.031402.131506
- Sigel, A.; Sigel, H.; Sigel, R.K.O.2009. *Metallothioneins and Related Chelators*. *Metal Ions in Life Sciences* 5. Cambridge: RSC Publishing. ISBN 978-1-84755-899-2.
- Silbergeld, Ellen. 2014. *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*, 33: 2. Recuperado de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>
- Srineetha, U; Reddy, Venkata; Bhaskar, M. 2014. Effect of Environmental acidic pH on Oxygen Consumption in Different stages of Fish, *Cyprinus carpio* (L). *Journal Environmental Science Toxicology and Food Technology*. 17-21. Recuperado de http://www.nicovita.com/extranet/Boletines/jul_98_03.pdf
- Sole, Antonio. 2014. Tensioactivos en la Industria Textil. 3C Tecnología.138. Recuperado de <https://www.3ciencias.com/wp-content/uploads/2014/09/TENSIOACTIVOS-EN-LA-INDUSTRIA->
- Sturve J, Almroth B C, Förlin L, 2008. Oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sewage treatment plant effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3): 446–452.
- Suarez, Héctor; De Francisco, Alicia; Henríquez, Luis; Pardo, Sandra. 2007. Pérdida de textura *post mortem* de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. *Acta Biol. Colombia*. 3-18.
- Sumathi M, Kalaiselvi K, Palanivel M, Rajaguru P, 2001. Genotoxicity of textile dye effluent on fish (*Cyprinus carpio*) measured using the comet assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(3): 407–414. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2007.12.004
- Sweeney E A, Chipman J K, Forsythe S J, 1994. Evidence for direct-acting oxidative genotoxicity by reduction products of azo dyes. *Environmental Health Perspectives*, 102(S6): 119–122. Recuperado de https://pdfs.semanticscholar.org/473f/08d0a8b89864c115d75cb29e8e1323c9b1a3.pdf?_ga=2.242731906.1406987927.1522360612-1688785155.1522360612
- Tecnitex. 1996. *Manual de Operaciones de un Tren de Teñido*. Tecnitex Company. 5
- Tribunal Latinoamericano del Agua. 2011. Contaminación Industrial en los ríos Atoyac y Xochaic estados de Puebla y Tlaxcala. 1-5.
- Tomohito, Hanazawa; Sakurai, Yoko, Matsumiya, Kentaro; Mutoh, Taka. 2018. Effects of solid fat content in fat particles on their adsorption at the air–water interface. *Food Hydrocolloids*, 920-927. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.003>
- Torres, Juan. 2001, Artículo Mezclilla Deslavada. 5. Recuperado de http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lit/trujillo_p_mj/capitulo1.pdf
- Tsangaris C, Vergolyas M, Fountoulaki E, Nizheradze K, 2011. Oxidative stress and genotoxicity biomarker responses in Grey Mullet (*Mugil cephalus*) from a polluted environment in Saronikos Gulf, Greece. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61(3): 482–490. DOI 10.1007/s00244-010-9629-8
- UNAM, 2014. *IMPLEVIUM*. Periódico Digital de divulgación de la Red del Agua. 7. Recuperado de <http://www.agua.unam.mx/assets/pdfs/impluvium/numero03.pdf>

UNESCO. 1989. Sustainable Development and Healthy Environments Water, Sanitation and Health.
2

Valero, 2011. Determinación de la concentración letal media de arsénico y litio mediante bioensayos de toxicidad sobre el organismo acuático *daphnia pulex*. Universidad La Salle, programa de ingeniería ambiental y sanitaria. 24-31. Recuperado de repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17188/T41.11%20V237d.pdf;sequence=1

Vallejo, Jannet. 2016. Talleres de mezclilla y transformaciones socio ambientales en un municipio rural. El caso de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México. Sociedad Ambiente, 68-91.

Vega, Cristina. 2010. Contaminación Ambiental. 16-40. Recuperado de <https://es.calameo.com/read/0025132075bb2057d6dcc>.

Viarengo, A. 2000. Biomonitoring Study Assessing the Residual Biological Effects of Pollution Caused by the HAVEN Wreck on Marine Organisms in the Ligurian Sea (Italy). 607-616. Recuperado de [/link.springer.com/article/10.1007%2Fs00244-005-0209-2](http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00244-005-0209-2).

Wang, Shuang; Miller, Sophie; Ober, Elke; Sadler, Kirsten. 2017. Current Topics in Developmental Biology. 161-195. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.11.012>

Wenjuan, Zhang et al, 2012. Characterisation of acutetotoxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish. 24:2020. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)61030-9](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(11)61030-9)

(WBG). World Bank Group. 2011 *Pollution Prevention and Abatement: Textiles Industry*. Draft Technical Back-ground Document. Washington, D.C., 1-10.

(WWF). World Wild Life, 2011. Los ríos más contaminados del mundo. Recuperado de <https://blogdelagua.com/actualidad/internacional/los-10-rios-mas-contaminados-del-mundo/>

Wright, Richard; Boorse, Dorothy. 2014. Environmental science: toward a sustainable future. Pearson Education. 10-25

Yang, Yang; Dong, Fengshou; Liu, Xingang; Xu, Jung; Wu, Xiaohu. 2018. Thifluzamide effects lipid metabolism in zebrafish (*Danio rerio*). Science of Total Environmental. 1227-1236.

Yao, Hongzhou; Yu, Jianping; Zhou, Ying. 2018. The embryonic developmental effect of sedaxane on zebrafish (*Danio rerio*). Chemosphere. 299-305. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.046>

Yukseler, E.Sahinkaya; Kitis, Dilek. 2017. Analysis of the best available techniques for wastewaters from a denim manufacturing textile mill. Journal of Environmental Management. 1118-11125. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.041>.

Yusuf, R.O. and Sonibare, J.A., 2004. Characterization of textile industries effluents in Kaduna, Nigeria and Olayinka, Studies on industrial pollution in Nigeria. The effects of textile effluents on the quality of ground water in some parts of Lagos, Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences 44-50.

Zelazowski AJ, Piotrowski JK. 1977. A modified procedure for determination of metallothionein-like proteins in animal tissues. Acta Biochimica Polonica. 24-97.

Zongping Wang, Miaomiao Xue, Kai Huang and Zizheng Liu Huazhong. 2011. Textile Dyeing Wastewater Treatment, 1-5. Recuperado de http://cdn.intechopen.com/pdfs/22395/InTech-Textile_dyeing_wastewater_treatment.pdf

16. ANEXOS.

Anexo 1

Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

1. Objetivo y campo de aplicación

Esta Norma Oficial Mexicana establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, con el objeto de proteger su calidad y posibilitar sus usos, y es de observancia obligatoria para los responsables de dichas descargas. Esta Norma Oficial Mexicana no se aplica a las descargas de aguas provenientes de drenajes separados de aguas pluviales.

2. Referencias

Norma Mexicana NMX-AA-003 Aguas residuales - Muestreo, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de marzo de 1980.

Norma Mexicana NMX-AA-004 Aguas - Determinación de sólidos sedimentables en aguas residuales - Método del cono Imhoff, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 13 de septiembre de 1977.

Norma Mexicana NMX-AA-005 Aguas - Determinación de grasas y aceites - Método de extracción soxhlet, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 8 de agosto de 1980.

Norma Mexicana NMX-AA-006 Aguas - Determinación de materia flotante - Método visual con malla específica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5 de diciembre de 1973.

Norma Mexicana NMX-AA-007 Aguas - Determinación de la temperatura - Método visual con termómetro, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 23 de julio de 1980.

Norma Mexicana NMX-AA-008 Aguas - Determinación de pH - Método potenciométrico, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de marzo de 1980.

Norma Mexicana NMX-AA-026 Aguas - Determinación de nitrógeno total - Método Kjeldahl, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de octubre de 1980.

Norma Mexicana NMX-AA-028 Aguas - Determinación de demanda bioquímica de oxígeno - Método de incubación por diluciones, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de julio de 1981.

Norma Mexicana NMX-AA-029 Aguas - Determinación de fósforo total - Métodos espectrofotométricos, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de octubre de 1981.

Norma Mexicana NMX-AA-034 Aguas - Determinación de sólidos en agua - Método gravimétrico, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de julio de 1981.

Norma Mexicana NMX-AA-042 Aguas - Determinación del número más probable de coliformes totales y fecales - Método de tubos múltiples de fermentación, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de junio de 1987.

Norma Mexicana NMX-AA-046 Aguas - Determinación de arsénico en agua - Método espectrofotométrico, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de abril de 1982.

Norma Mexicana NMX-AA-051 Aguas - Determinación de metales - Método espectrofotométrico de absorción atómica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de febrero de 1982.

Norma Mexicana NMX-AA-057 Aguas - Determinación de plomo - Método de la ditizona, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de septiembre de 1981.

Norma Mexicana NMX-AA-058 Aguas - Determinación de cianuros - Método colorimétrico y titulométrico, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de diciembre de 1982.

Norma Mexicana NMX-AA-060 Aguas - Determinación de cadmio - Método de la ditizona, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26 de abril de 1982.

Norma Mexicana NMX-AA-064 Aguas - Determinación de mercurio - Método de la ditizona, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de marzo de 1982.

Norma Mexicana NMX-AA-066 Aguas - Determinación de cobre - Método de la neocuproína, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 16 de noviembre de 1981.

Norma Mexicana NMX-AA-078 Aguas - Determinación de zinc - Métodos colorimétricos de la ditizona I, la ditizona II y espectrofotometría de absorción atómica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 12 de julio de 1982.

Norma Mexicana NMX-AA-079 Aguas Residuales - Determinación de nitrógeno de nitratos (Brucina), publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de abril de 1986.

Norma Mexicana NMX-AA-099 - Determinación de nitrógeno de nitritos - Agua potable, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 11 de febrero de 1987.

3. Definiciones

3.1 Aguas costeras Son las aguas de los mares territoriales en la extensión y términos que fija el derecho internacional; así como las aguas marinas interiores, las lagunas y esteros que se comuniquen permanente o intermitentemente con el mar.

3.2 Aguas nacionales Las aguas propiedad de la Nación, en los términos del párrafo quinto del artículo 27 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.

3.3 Aguas residuales Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos,

incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas.

3.4 Aguas pluviales Aquéllas que provienen de lluvias, se incluyen las que provienen de nieve y granizo.

3.5 Bienes nacionales Son los bienes cuya administración está a cargo de la Comisión Nacional del Agua en términos del artículo 113 de la Ley de Aguas Nacionales.

3.6 Carga contaminante Cantidad de un contaminante expresada en unidades de masa por unidad de tiempo, aportada en una descarga de aguas residuales.

3.7 Condiciones particulares de descarga El conjunto de parámetros físicos, químicos y biológicos y de sus niveles máximos permitidos en las descargas de agua residual, determinados por la Comisión Nacional del Agua para el responsable o grupo de responsables de la descarga o para un cuerpo receptor específico, con el fin de preservar y controlar la calidad de las aguas conforme a la Ley de Aguas Nacionales y su Reglamento.

3.8 Contaminantes básicos Son aquellos compuestos y parámetros que se presentan en las descargas de aguas residuales y que pueden ser removidos o estabilizados mediante tratamientos convencionales. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los siguientes: grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno⁵, nitrógeno total (suma de las concentraciones de nitrógeno Kjeldahl, de nitritos y de nitratos, expresadas como mg/litro de nitrógeno), fósforo total, temperatura y pH.

3.9 Contaminantes patógenos y parasitarios Son aquellos microorganismos, quistes y huevos de parásitos que pueden estar presentes en las aguas residuales y que representan un riesgo a la salud humana, flora o fauna. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los coliformes fecales y los huevos de helminto.

3.10 Cuerpo receptor Son las corrientes, depósitos naturales de agua, presas, cauces, zonas marinas o bienes nacionales donde se descargan aguas residuales, así como los terrenos en donde se infiltran o inyectan dichas aguas cuando puedan contaminar el suelo o los acuíferos.

3.11 Descarga Acción de verter, infiltrar, depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor en forma continua, intermitente o fortuita, cuando éste es un bien del dominio público de la Nación.

3.12 Embalse artificial Vaso de formación artificial que se origina por la construcción de un bordo o cortina y que es alimentado por uno o varios ríos o agua subterránea o pluvial.

3.13 Embalse natural Vaso de formación natural que es alimentado por uno o varios ríos o agua subterránea o pluvial.

3.14 Estuario Es el tramo del curso de agua bajo la influencia de las mareas que se extiende desde la línea de costa hasta el punto donde la concentración de cloruros en el agua es de 250 mg/l.

3.15 Humedales naturales Las zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, sujetas o no a la influencia de mareas, como pantanos, ciénegas y marismas, cuyos límites los constituyen el tipo de vegetación hidrófila de presencia permanente o estacional; las áreas donde el suelo es predominantemente hídrico; y las áreas lacustres o de suelos permanentemente húmedos, originadas por la descarga natural de acuíferos.

3.16 Límite máximo permisible Valor o rango asignado a un parámetro, el cual no debe ser excedido en la descarga de aguas residuales.

3.17 Metales pesados y cianuros Son aquéllos que, en concentraciones por encima de determinados límites, pueden producir efectos negativos en la salud humana, flora o fauna. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los siguientes: arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc y cianuros.

3.18 Muestra compuesta La que resulta de mezclar el número de muestras simples, según lo indicado en la Tabla 1. Para conformar la muestra compuesta, el volumen de cada una de las muestras simples deberá ser proporcional al caudal de la descarga en el momento de su toma.

3.19 Muestra simple La que se tome en el punto de descarga, de manera continua, en día normal de operación que refleje cuantitativa y cualitativamente el o los procesos más representativos de las actividades que generan la descarga, durante el tiempo necesario para completar cuando menos, un volumen suficiente para que se lleven a cabo los análisis necesarios para conocer su composición, aforando el caudal descargado en el sitio y en el momento del muestreo.

3.20 Parámetro Variable que se utiliza como referencia para determinar la calidad física, química y biológica del agua.

3.21 Promedio diario (P.D.) Es el valor que resulta del análisis de una muestra compuesta. En el caso del parámetro grasas y aceites, es el promedio ponderado en función del caudal, y la media geométrica para los coliformes fecales, de los valores que resulten del análisis de cada una de las muestras simples tomadas para formar la muestra compuesta. Las

unidades de pH no deberán estar fuera del rango permisible, en ninguna de las muestras simples.

3.22 Promedio mensual (P.M.) Es el valor que resulte de calcular el promedio ponderado en función del caudal, de los valores que resulten del análisis de al menos dos muestras compuestas (Promedio diario).

3.23 Riego no restringido La utilización del agua residual destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas en forma ilimitada como forrajes, granos, frutas, legumbres y verduras.

3.24 Riego restringido La utilización del agua residual destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas, excepto legumbres y verduras que se consumen crudas.

3.25 Río Corriente de agua natural, perenne o intermitente, que desemboca a otras corrientes, o a un embalse natural o artificial, o al mar.

3.26 Suelo Cuerpo receptor de descargas de aguas residuales que se utiliza para actividades agrícolas.

3.27 Tratamiento convencional Son los procesos de tratamiento mediante los cuales se remueven o estabilizan los contaminantes básicos presentes en las aguas residuales.

3.28 Uso en riego agrícola La utilización del agua destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas y su preparación para la primera enajenación, siempre que los productos no hayan sido objeto de transformación industrial.

3.29 Uso público urbano La utilización de agua nacional para centros de población o asentamientos humanos, destinada para el uso y consumo humano, previa potabilización.

4. Especificaciones.

4.1 La concentración de contaminantes básicos, metales pesados y cianuros para las descargas de aguas residuales a aguas y bienes nacionales, no debe exceder el valor indicado como límite máximo permisible en las Tablas 1 y 2 de esta Norma Oficial Mexicana. El rango permisible del potencial hidrógeno (pH) es de 5 a 10 unidades.

4.2 Para determinar la contaminación por patógenos se tomará como indicador a los coliformes fecales. El límite máximo permisible para las descargas de aguas residuales

vertidas a aguas y bienes nacionales, así como las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola) es de 1,000 y 2,000 como número más probable (NMP) de coliformes fecales por cada 100 ml para el promedio mensual y diario, respectivamente.

Tabla. 1.

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA CONTAMINANTES BÁSICOS																					
PARÁMETROS (miligramos por litro, excepto cuando se especifique)	RÍOS						EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES				AGUAS COSTERAS						SUELO				
	Uso en riego agrícola (A)		Uso Público Urbano (B)		Protección de vida acuática (C)		Uso en riego agrícola (B)		Uso público urbano (C)		Explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		Recreación (B)		Estuarios (B)		Uso en riego agrícola (A)		Humedales naturales (B)		
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	
Temperatura °C (1)	N.A.	N.A.	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	N.A.	N.A.	40	40
Grasas y Aceites (2)	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	
Materia Flotante (3)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	
Sólidos Sedimentables (ml/l)	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	N.A.	N.A.	1	2	
Sólidos Suspendidos Totales	150	200	75	125	40	60	75	125	40	60	150	200	75	125	75	125	N.A.	N.A.	75	125	
Demanda Bioquímica de Oxígeno ₅	150	200	75	150	30	60	75	150	30	60	150	200	75	150	75	150	N.A.	N.A.	75	150	
Nitrógeno Total	40	60	40	60	15	25	40	60	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	
Fósforo Total	20	30	20	30	5	10	20	30	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	

(1) Instantáneo

(2) Muestra Simple Promedio Ponderado

(3) Ausente según el Método de Prueba definido en la NMX-AA-006.

P.D.= Promedio Diario; P.M.= Promedio Mensual; N.A.= No es aplicable (A), (B) y (C): Tipo de Cuerpo Receptor según la Ley Federal de Derechos.

Tabla. 2.

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA METALES PESADOS Y CIANUROS																				
PARÁMETROS (*)	RÍOS						EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES				AGUAS COSTERAS						SUELO			
	Uso en riego agrícola (A)		Uso público urbano (B)		Protección de vida acuática (C)		Uso en riego agrícola (B)		Uso público urbano (C)		Explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		Recreación (B)		ESTUARIOS (B)		Uso en riego agrícola (A)		HUMEDALES NATURALES (B)	
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
Arsénico	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2
Cadmio	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.05	0.1	0.1	0.2
Cianuro	1.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	3.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0
Cobre	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4	6.0	4	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4	6.0	4.0	6.0
Cromo	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
Mercurio	0.01	0.02	0.005	0.01	0.005	0.01	0.01	0.02	0.005	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.005	0.01	0.005	0.01
Níquel	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4
Plomo	0.5	1	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	5	10	0.2	0.4
Zinc	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20

(*) Medidos de manera total.

P.D.= Promedio Diario, P.M.= Promedio Mensual; N.A.= No es aplicable

(A), (B) y (C): Tipo de Cuerpo Receptor según la Ley Federal de Derechos.

Anexo 2

NMX-AA-003-1980.

Norma Mexicana "aguas residuales. - muestreo".

1.- OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma establece los lineamientos generales y recomendaciones para muestrear las descargas de aguas residuales, con el fin de determinar sus características físicas y químicas, debiéndose observar las modalidades indicadas en las normas de métodos de prueba correspondientes.

2.- DEFINICIONES

2.1 Agua residual.

Es el líquido de composición variada proveniente de usos municipal, industrial, comercial, agrícola, pecuario o de cualquier otra índole, ya sea pública o privada y que por tal motivo haya sufrido degradación o alteración en su calidad original.

2.2 Canal abierto.

Cualquier conducto en el cual el agua fluye presentando una superficie libre.

2.3 Colector.

Es un conducto abierto o cerrado que recibe las aportaciones de agua de otros conductos.

2.4 Descarga.

Es el conjunto de aguas residuales que se vierten o disponen en algún cuerpo receptor.

2.5 Muestra simple.

Es aquella muestra individual tomada en un corto período de forma que el tiempo empleado en su extracción sea el transcurrido para obtener el volumen necesario.

2.6 Muestra compuesta.

Es la que resulta del mezclado de varias muestras simples.

3.- APARATOS Y EQUIPO.

3.1 Recipientes para el transporte y conservación de las muestras.

Los recipientes para las muestras deben ser de materiales inertes al contenido de las aguas residuales. Se recomiendan los recipientes de polietileno o vidrio.

Las tapas deben proporcionar un cierre hermético en los recipientes y se recomienda que sean de material afín al del recipiente. Se recomienda que los recipientes tengan una capacidad mínima de 2 dm³. (Litros).

3.2 Muestreadores automáticos.

Se permite su empleo siempre y cuando se operen de acuerdo con las instrucciones del fabricante del equipo muestreador dándoles el correcto y adecuado mantenimiento, asegurándose de obtener muestras representativas de las aguas residuales.

3.3 Válvulas y accesorios.

Cada toma de muestreo debe tener una válvula de cierre que permita el paso libre de las aguas residuales y de los materiales que puedan contener y proporcionar el cierre hermético de la toma. Esta válvula y los accesorios necesarios para su instalación, deben ser de materiales similares a los de la toma y/o los conductos en que éstas se instalen.

3.4 Hielera o refrigerador.

3.5 Material común de laboratorio.

4.- IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS.

4.1 Se deben tomar las precauciones necesarias para que en cualquier momento sea posible identificar las muestras. Se deben emplear etiquetas pegadas o colgadas, o numerar los frascos anotándose la información en una hoja de registro. Estas etiquetas deben contener como mínimo la siguiente información.

Identificación de la descarga. Número de muestra. Fecha y hora de muestreo. Punto de muestreo. Temperatura de la muestra. Profundidad de muestreo. Nombre y firma de la persona que efectúa el muestreo.

4.2 Hoja de registro.

4.2.1 Se debe llevar una hoja de registro con la información que permita identificar el origen de la muestra y todos los datos que en un momento dado permitan repetir el muestreo.

4.2.2 Se recomienda que la hoja de registro contenga la siguiente información:

Los datos citados en el inciso 4.1.

Resultados de pruebas de campo practicadas en la descarga muestreada.

Cuando proceda, el gasto o flujo de la descarga de aguas residuales que se muestrea.

Descripción detallada del punto de muestreo de manera que cualquier persona pueda tomar otras muestras en el mismo lugar.

Descripción cualitativa del olor y el color de las aguas residuales muestreadas.

5.- PROCEDIMIENTO.

5.1 Cualquiera que sea el método de muestreo específico que se aplique a cada caso, debe cumplir los siguientes requisitos.

3.2 Muestreadores automáticos.

Se permite su empleo siempre y cuando se operen de acuerdo con las instrucciones del fabricante del equipo muestreador dándoles el correcto y adecuado mantenimiento, asegurándose de obtener muestras representativas de las aguas residuales.

3.3 Válvulas y accesorios.

Cada toma de muestreo debe tener una válvula de cierre que permita el paso libre de las aguas residuales y de los materiales que puedan contener y proporcionar el cierre hermético de la toma. Esta válvula y los accesorios necesarios para su instalación, deben ser de materiales similares a los de la toma y/o los conductos en que éstas se instalen.

3.4 Hielera o refrigerador.

3.5 Material común de laboratorio.

4.- IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS.

4.1 Se deben tomar las precauciones necesarias para que en cualquier momento sea posible identificar las muestras. Se deben emplear etiquetas pegadas o colgadas, o numerar los frascos anotándose la información en una hoja de registro. Estas etiquetas deben contener como mínimo la siguiente información.

Identificación de la descarga. Número de muestra. Fecha y hora de muestreo. Punto de muestreo. Temperatura de la muestra. Profundidad de muestreo. Nombre y firma de la persona que efectúa el muestreo.

4.2 Hoja de registro.

4.2.1 Se debe llevar una hoja de registro con la información que permita identificar el origen de la muestra y todos los datos que en un momento dado permitan repetir el muestreo.

4.2.2 Se recomienda que la hoja de registro contenga la siguiente información:

Los datos citados en el inciso 4.1.

Resultados de pruebas de campo practicadas en la descarga muestreada.

Cuando proceda, el gasto o flujo de la descarga de aguas residuales que se muestrea.

Descripción detallada del punto de muestreo de manera que cualquier persona pueda tomar otras muestras en el mismo lugar.

Descripción cualitativa del olor y el color de las aguas residuales muestreadas.

5.- PROCEDIMIENTO.

5.1 Cualquiera que sea el método de muestreo específico que se aplique a cada caso, debe cumplir los siguientes requisitos.

5.6.1 Se recomienda que las muestras sean compuestas (ver inciso 2.6), para que representen el promedio de las variaciones de los contaminantes. El procedimiento para la obtención de dichas muestras es el siguiente:

5.6.1.1 Las muestras compuestas se obtienen mezclando muestras simples en volúmenes proporcionales al gasto o flujo de descarga medido en el sitio y momento del muestreo.

5.6.1.2 El intervalo entre la toma de cada muestra simple para integrar la muestra compuesta, debe ser el suficiente para determinar la variación de los contaminantes del agua residual.

5.6.1.3 Las muestras compuestas se deben tomar de tal manera que cubran las variaciones de la descarga durante 24 horas como mínimo.

5.7 Preservación de las muestras.

Solo se permite agregar a las muestras los preservativos indicados en las Normas de Métodos de Prueba.

5.8 Preservar la muestra durante el transporte por medio de un baño de hielo y conservar las muestras en refrigeración a una temperatura de 277K (4°C).

5.9 Se recomienda que el intervalo de tiempo entre la extracción de la muestra y su análisis sea el menor posible y que no exceda de tres días.