



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

Contaminación acuática



Guadalupe Barrera Escorcía

Patricia Ramírez Romero



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA**

Dr. Salvador Vega y León
Rector General

Mtro. Norberto Manjarrez Álvarez
Secretaria General

UNIDAD IZTAPALAPA

Dr. José Octavio Nateras Domínguez
Rector

Dr. Miguel Ángel Gómez Fonseca
Secretario

Dra. Edith Ponce Alquicira
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dra. Milagros Huerta Coria
Coordinadora de Extensión Universitaria

Lic. Adrián Felipe Valencia Llamas
Jefe de la Sección de Producción Editorial

Primera Impresión 2015
ISBN: 978-607-28-0454-8

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina,
Del. Iztapalapa, 09340. México, D. F.

Impreso y hecho en México/*Printed in Mexico*

Índice

Presentación	5
Bibliografía	10
Prácticas de laboratorio	11
1. Detergentes. Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)	13
2. Demanda Biológica de Oxígeno (DBO ₅)	17
3. Calidad sanitaria del agua	21
4. Bioensayo. Determinación de concentración letal media (CL ₅₀)	39
5. Lluvia ácida	45
6. Contaminación en subsuelo	49
7. Determinación de metales disueltos en agua	53
Ejercicios	57
1. Elaboración de soluciones	59
2. Sólidos particulados..	61
3. Residuos sólidos o basura	63
4. Evidencias estadísticas de deterioro ambiental.	67
5. Manejo e interpretación de datos de monitoreo ambiental	69
6. El concepto de riesgo y de evaluación del riesgo ecológico	75
7. Sentido de identidad	79
Cuestionarios	81
1. Del documental "Chapala: en lucha contra la extinción"	83
2. Del video "Contaminación Lumínica"	83
3. Del video "Plastic Planet"	84
4. De la película "Erin Brockovich"	84
5. Del documental "Huicholes y Plaguicidas"	85
6. Del video "Tragedia en Valdez"	86
7. De la película "Una Acción Civil"	86

Presentación

El presente material apoya la Unidad de Enseñanza Aprendizaje (UEA) Contaminación Acuática, asignatura obligatoria de nueve créditos (tres horas de teoría y tres horas de laboratorio) ubicada en el décimo trimestre de la Licenciatura en Hidrobiología, la cual se imparte en la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM Iztapalapa. Este documento integra instructivos para el desarrollo de prácticas de laboratorio y ejercicios, además de cuestionarios de películas y documentales que abordan los problemas de contaminación. Las diferentes opciones que se presentan pretenden que el profesor a cargo pueda seleccionar a su criterio los materiales que le sirvan de mayor apoyo para el desarrollo de la UEA. El contenido de esta obra está enfocado a que los estudiantes adquieran habilidades en el manejo de material de laboratorio, se familiaricen con algunas técnicas de análisis de contaminantes y utilicen algunas herramientas de evaluación de la calidad del agua y de análisis del comportamiento de algunos contaminantes en el ambiente, así como de los riesgos asociados a su presencia. Asimismo, orienta a los alumnos para que lleven a cabo un control adecuado de los datos generados en las prácticas, y que realicen un manejo correcto de la información en el análisis de sus resultados y su interpretación, de manera que esto les permita generar reportes adecuados. Adicionalmente, se presentan dos secciones, una de ejercicios y otra de cuestionarios, los cuales tienen la intención de que el estudiante se apropie del conocimiento y realice así un aprendizaje significativo, incluso fuera de las instalaciones de la universidad, para que redondee sus conocimientos y pueda llevar a cabo la interpretación de datos que, debido a lo ceñido del tiempo, no es posible obtener durante el curso; asimismo, los alumnos pueden procesar algunos otros datos disponibles en diferentes fuentes de información, lo que les permitirá aprovechar las bases de datos disponibles en internet, información que puede ser interpretada con fines didácticos. El análisis estadístico de esta información promoverá que el estudiante desarrolle una capacidad crítica acerca de la validez de estos datos.

Guadalupe Barrera Escorcía
Patricia Ramírez Romero

Introducción

El estudio de la contaminación acuática se ha convertido en una necesidad derivada del impacto de las actividades humanas. Los ambientes acuáticos se modifican con frecuencia y presentan deterioro. La contaminación incluye materiales de tipo físico, químico y biológico, así como formas de energía que afectan de manera negativa a los organismos que se encuentran en los ecosistemas. La investigación sobre la contaminación se ha enfocado casi exclusivamente a la determinación de las concentraciones de los tóxicos en el agua, el sedimento y los organismos. Algunos autores plantean que la capacidad para resolver los problemas de contaminación está limitada debido a la escasez en el conocimiento de las propiedades básicas, la estructura y la función de los ecosistemas, así como de los efectos de los contaminantes (Servos, 2000). Los ambientes más estudiados se encuentran en zonas templadas, lo que ha derivado en cierta tendencia a utilizar los resultados obtenidos en estas zonas como adecuados para interpretar los efectos en áreas tropicales.

Las zonas tropicales, como es el caso de muchos cuerpos acuáticos mexicanos, son particularmente vulnerables a la contaminación, ya que estos ambientes son altamente productivos y cuentan con una gran diversidad. El comportamiento del agua en cuerpos acuáticos costeros favorece la permanencia de los contaminantes (Contreras, 2010). La emisión de diversos agentes tóxicos hacia el ambiente ha aumentado, y el análisis de los efectos que producen estos compuestos sobre los organismos debe profundizarse. Los cambios que se presentan en los ecosistemas pueden ser paulatinos o violentos, y es posible que su origen sea natural o antropogénico. Por lo anterior, es imprescindible que los estudiantes de Hidrobiología sean introducidos en el estudio de la contaminación acuática, con el fin de preparar profesionales que más adelante sean capaces de plantear soluciones a los problemas generados a través de un análisis integral que involucre las herramientas disponibles en las diferentes ramas del conocimiento.

Objetivo general

Que el estudiante adquiera habilidades específicas en el manejo de materiales y técnicas de análisis de contaminantes en ambientes acuáticos, que genere datos, registre y analice correctamente la información derivada de las prácticas, elabore reportes concluyentes y desarrolle su capacidad analítica en la interpretación de información proveniente de estadísticas disponibles en fuentes electrónicas y medios masivos de comunicación.

Reportes de prácticas

Para acreditar la parte práctica del curso de Contaminación Acuática, será indispensable la asistencia puntual del estudiante por lo menos a 80% de las sesiones. Deberá participar activamente en las mismas, elaborar los reportes de las prácticas de laboratorio que se desarrollen durante el curso, así como de los ejercicios, las actividades y los cuestionarios que el profesor indique. Los reportes deberán entregarse una semana después de que haya concluido la actividad correspondiente.

Los reportes de prácticas deberán incluir las siguientes partes:

Carátula con título y autores.

Introducción y Objetivo.

Material y Método.

Resultados.

Discusión y conclusiones.

Cuestionario.

Bibliografía (Ésta deberá estar ligada al texto y citarse correctamente).

Copia de las bitácoras de cada uno de los miembros del equipo.

La calidad de la presentación se tomará en cuenta.

Algunos aspectos de seguridad a seguir en el laboratorio

Este manual se ajusta al Instructivo del Funcionamiento Interno y Operativo para Regular el Uso de los Servicios e Instalaciones de los Laboratorios de Docencia, aprobado por el Consejo Académico en la Sesión número 314 del 9 de noviembre de 2009.

Será por lo tanto obligatorio el uso de bata dentro del laboratorio. No podrán introducirse ni consumirse alimentos o bebidas en el laboratorio. No se deberá pipetear oralmente ningún tipo de reactivo o solución; para ello se utilizarán propipetas. Con el fin de evitar accidentes, los estudiantes deberán estar familiarizados con la ubicación de los extintores, el botiquín y las salidas de emergencia.

Previamente a la elaboración de cada práctica y al terminar la misma, se lavará el material con Extran (detergente libre de fosfatos) y se enjuagará con abundante agua de la llave para terminar con un enjuague con agua destilada. En el caso de medios de cultivo, estos deberán esterilizarse para su uso y después de la práctica.

Al concluir cada práctica, los materiales de desecho deberán colocarse en los recipientes adecuados para ello. Los equipos utilizados en las prácticas deberán entregarse perfectamente limpios. Cualquier irregularidad deberá reportarse al profesor.

Cada estudiante llevará una bitácora para el registro de sus actividades a lo largo del curso. Esta consistirá en una libreta que no sea de argollas, y de preferencia con las hojas numeradas. En ella se registrarán con pluma las actividades, los resultados y cualquier eventualidad surgida durante el desarrollo de las prácticas. Una copia de las bitácoras de cada uno de los miembros del equipo deberá anexarse al reporte de cada práctica.

Bibliografía

Contreras, E.F. 2010. *Ecosistemas costeros mexicanos. Una Actualización*. Universidad Autónoma Metropolitana, México. 514 p

Servos, M. 2000. Deadman Dance. *Env. Tox. Chem.* 19: 2621-2622.

Prácticas de laboratorio

Práctica 1

Detergentes. Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)

Introducción

Los detergentes, así como otros surfactantes, afectan los ecosistemas, modificando las características físicas y químicas del agua. Tienen la capacidad de disminuir la tensión superficial de ésta, lo que facilita la pérdida del oxígeno disuelto hacia la atmósfera. Además, los fosfatos que suelen acompañar a los detergentes secuestran iones como el calcio, disminuyendo la dureza del agua, y al mismo tiempo el fósforo actúa como un nutriente que aprovechan algunos organismos que viven en el agua. Si bien no son particularmente tóxicos, su adición es continua y en grandes cantidades, por lo que su impacto en el ambiente es importante. La molécula anfotérica, que constituye su principio activo, puede ser de carácter aniónico (como la mayoría de los detergentes comerciales), es decir, afín a los ácidos; o bien, catiónico o neutro. El método de SAAM tiene aplicación generalizada y oficial (NMX-AA-039-SCFI-2001) en el análisis de las muestras de agua en México. El azul de metileno es un colorante catiónico que reacciona con aniones orgánicos para formar sales hidrófobas de color azul que pueden extraerse con un solvente orgánico y cuantificarse por fotometría. La mayoría de los jabones y detergentes son aniónicos por lo que se considera que el método de SAAM evalúa la mayor parte de ellos.

Objetivo

Que el alumno determine la cantidad de detergentes aniónicos presentes en una muestra de agua, e interprete la relevancia ambiental de esta concentración.

Material

Por grupo

1 espectrofotómetro

Por equipo

1 matraz aforado de 1 L

4 probetas de 50 mL

2 celdas

2 pipetas de 10 mL

4 embudos de separación

2 pipetas de 5 mL

1 soporte con anillo

1 embudo de vidrio de 8 cm de diámetro

18 vasos de precipitado de 100 mL

Fibra de vidrio prelavada con cloroformo, papel aluminio y masking tape

1 L de muestra en envase de plástico proporcionada por el profesor

Reactivos

Cloroformo

Ácido sulfúrico

Azul de metileno

Fosfato de sodio dihidrogenado monohidratado

Hidróxido de sodio

Estándar de Sulfonato de Alquilbenceno Lineal (SAL)

Alcohol etílico

Fenoltaleína

Método

En esta práctica es importante que el material se lave con extrán libre de fosfatos.

Preparación de reactivos

1. Solución de azul de metileno (30 mg/L). Pesar 0.100 g de clorhidrato de azul de metileno y diluir en 100 mL de agua. Transferir 30 mL de esta disolución a un matraz volumétrico de 1 L y añadir 500 mL de agua. Adicionar cuidadosamente 50 mL de la disolución de ácido sulfúrico al 14% y pesar 50 g de fosfato de sodio dihidrogenado monohidratado y añadir. Agitar hasta que todo esté disuelto, aforar hasta la marca con agua y mezclar.
2. Disolución indicadora de fenoltaleína (5.0 g/L). Pesar 0.5 g de fenoltaleína y diluir en 50 mL de alcohol etílico, aforar a 100 mL con agua y mezclar.
3. Solución de hidróxido de sodio (10 g/L). Pesar 10 g de hidróxido de sodio y diluir en agua, aforar a 1 L y mezclar.
4. Disolución de lavado de fosfatos (2.74 M). Pesar 50 g de fosfato de sodio dihidrogenado monohidratado y diluir en 500 mL de agua en un matraz volumétrico de 1 L. Añadir cuidadosamente 50 mL de la solución de ácido sulfúrico diluir hasta la marca con agua y mezclar. La disolución tiene un pH de aproximadamente 1.8.
5. Solución de ácido sulfúrico (14% volumen por volumen). Añadir cuidadosamente 140 mL de ácido sulfúrico concentrado a 700 mL de agua fría (de 0 a 5°C), aforar a 1 L con agua y mezclar.
6. Solución diluida de ácido sulfúrico (0.7% volumen por volumen). Tomar una alícuota de 50 mL de la disolución de ácido sulfúrico al 14%, aforar a 1 L con agua y mezclar.
7. Solución patrón de sulfonato de alquilbenceno Lineal (1.0 mL = 1.0 mg SAL). Pesar la cantidad del material de referencia necesario para proveer el equivalente de 1.0 g de SAL en una base activa al 100 %. Disolver en agua y aforar a 1 L, mezclar suavemente para prevenir la formación de espuma. La disolución patrón puede almacenarse sin que experimente deterioro a 4°C en la oscuridad durante 12 meses en un frasco bien cerrado.
8. Solución intermedia de sulfonato de alquilbenceno lineal (1.0 mL = 0.01mg SAL). Tomar una alícuota de 10 mL con pipeta volumétrica de la disolución patrón (ver inciso anterior) libre de espuma y aforar a 1 L con agua, que ha sido previamente ajustada a un pH 2 con ácido sulfúrico, y mezclar. La disolución estándar puede guardarse sin que experimente deterioro a 4°C en la oscuridad por lo menos durante 12 meses en un frasco bien cerrado. A partir de ésta se elaborarán las soluciones para la curva patrón.

Procedimiento

9. Elaboración de diluciones para la curva patrón.

10. Preparar una serie de estándares de SAL en el intervalo de 0.01 – 0.20 mg/100 mL. Diluir con agua destilada los mililitros necesarios de la solución estándar intermedia (ver tabla 1) para preparar un volumen de 100 mL de cada concentración.
11. Asimismo, preparar un blanco, (parámetro de referencia) el cual se elaborará con 100 mL de agua destilada.

Tabla 1. Volúmenes de estándar intermedio y agua destilada necesarios para preparar las concentraciones de la curva patrón.

mL de solución estándar de SAL	mL de agua destilada	Concentración final de SAL / 100 mL	Transmitancia	Absorbancia
Blanco	100	0 mg		
1	99	0.01 mg		
5	95	0.05 mg		
9	91	0.09 mg		
15	85	0.15 mg		
18	82	0.18 mg		
20	80	0.20 mg		
100 mL Muestra	0			

12. Procesamiento de las diluciones, el blanco y la(s) muestra(s).

Colocar en un embudo de separación 100 mL de la muestra, estándar o blanco, añadir tres gotas de la disolución indicadora de fenoltaleína y agregar suficiente disolución de hidróxido de sodio para producir un color rosa.

Adicionar disolución diluida de ácido sulfúrico, en pequeñas cantidades hasta que el color rosa desaparezca completamente.

Adicionar 25 mL de la disolución de azul de metileno y mezclar.

Adicionar 10 mL de cloroformo y agitar durante 30 segundos, liberar cuidadosamente la presión.

Permitir la separación de las fases y drenar el cloroformo dentro de un segundo embudo de separación de 500 mL.

Dejar cualquier capa de emulsión en el primer embudo de separación y repetir la extracción, en forma seriada, con dos porciones adicionales de 10 mL de cloroformo. Liberar la presión del embudo cuidadosamente.

Adicionar 50 mL de la disolución de lavado de fosfatos a los extractos combinados de cloroformo en un segundo embudo de separación y agitar vigorosamente durante 30 segundos. Colocar el embudo de separación en posición vertical. Permitir que la muestra se estabilice durante un minuto.

Filtrar la capa de cloroformo a través de un embudo y un tapón de fibra de vidrio a un matraz volumétrico de 100 mL.

Adicionar una alícuota de 20 mL de cloroformo al segundo embudo de separación y repetir los pasos de agitación. Pasar la capa de cloroformo a través del tapón de fibra de vidrio al matraz volumétrico de 100 mL.

Aforar a 100 mL con cloroformo.

Calibración del espectrofotómetro. Encender el aparato 15 minutos antes de su uso. Colocar la longitud de onda en 650 nm. Calibrar a 100% T, A = 0 con el blanco (A máxima aceptable de 0.015).

Medir la absorbancia de cada uno de los extractos en un plazo no mayor de 30 minutos después de su obtención. Leer las diluciones de menor a mayor concentración.

Medir la absorbancia de la(s) muestra(s), asegurándose de enjuagar con cloroformo la celda entre cada muestra.

Interpretación de resultados

Determinación de la concentración. Elaborar la curva patrón graficando Absorbancia vs concentración de SAL, usar una regresión lineal para obtener la ecuación de dicha curva y despejar la concentración para entonces sustituir la absorbancia por aquella de la muestra.







Comparar los resultados con los límites de concentración, para estas sustancias que marca la legislación Mexicana, de acuerdo al uso del agua de su muestra.

Comparar sus resultados con lo reportado en la literatura en distintos cuerpos acuáticos, así como en datos de descargas.

Cuestionario

1. Explique cómo lleva a cabo un detergente su acción limpiadora.
2. Enliste cuatro adyuvantes incluidos en la formulación de un detergente comercial y explique cómo actúan.
3. Explique los efectos que cada tipo de adyuvante puede tener sobre el ambiente y los organismos.
4. ¿Qué interferencias afectan la aplicación de la técnica de SAAM en muestras ambientales?
5. ¿Por qué es necesario leer los extractos en un plazo máximo de 30 minutos después de su obtención?

Bibliografía

-  Alfonso-Insua, D., Pérez García, C., Morales Monteagudo, A., Valera Vásquez, Z. A. & A. Meneses Marcel. 2010. Evaluación ecotoxicológica de detergentes comerciales y naturales, como criterio de contaminación ambiental. *Revista electrónica de veterinaria 11 (03B): 1-9.*
-  Diario Oficial de la Federación. 2009. *Ley Federal de Derechos (Disposiciones aplicables en materia de agua nacionales.* DOF, México, 67 p.
-  Merck, E. Darmstad. 1974. *Análisis del Agua.* Merck E. (Ed.), R.F.A., 226 p.
-  NMX-AA-039-SCFI-2001. Análisis de aguas - determinación de sustancias activas al azul de metileno (SAAM) en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
-  Ramírez Corrales, J.M. 2006. Detergentes orgánicos sintéticos y ambiente. *Hidrogenesis 4 (1).* 22-27.
-  Rodier, J. 1981. *Análisis de las aguas.* Ed. Omega, Barcelona: 1059 p.

Práctica 2

Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅)

Introducción

La Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅), también denominada demanda bioquímica de oxígeno, es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de cinco días. Se determina a través de las concentraciones de oxígeno disuelto que se registran en el inicio de la prueba y a los cinco días posteriores. La diferencia entre las concentraciones de oxígeno disuelto es indicativa de la cantidad de materia susceptible de ser oxidada por medios biológicos en una muestra líquida o en suspensión cuando se ha inhibido la fotosíntesis y se encuentran condiciones adecuadas para el desarrollo de microorganismos aerobios. La DBO₅ se considera una medida indirecta de la cantidad de materia orgánica que se encuentra en la muestra.

Se aplica en la evaluación de agua residual y superficial, y aunque la prueba tiene algunas limitaciones, su uso es amplio porque:

1. El consumo de oxígeno se vincula a la cantidad de materia orgánica presente.
2. Caracteriza al agua para su tratamiento.
3. Permite medir la eficiencia en el proceso de tratamiento.
4. Es un parámetro normado para la descargas de aguas residuales.

Objetivo

Que el alumno determine la DBO₅ de una muestra de agua e interprete su resultado en relación a la calidad de la misma.

Material

Por grupo

1 oxímetro con electrodo para DBO₅

Por equipo

10 botellas de DBO ámbar de 250 a 300 mL

3 pipetas de 1 mL

1 pipeta de 5 mL

1 pipeta de 10 mL

1 probeta de 500 mL

1 potenciómetro

2 agitadores de cristal

1 vaso de precipitado de 500 mL

2 matraces aforados de 100 mL

1 matraz aforado de 1000 mL

Reactivos

Fosfato dihidrogenado de potasio (KH_2PO_4)

Fosfato hidrogenado dipotásico (K_2HPO_4)

Fosfato hidrogenado disódico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

Cloruro de amonio (NH_4Cl)

Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

Cloruro de calcio anhidro (CaCl_2)

Cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

Glucosa grado reactivo

Ácido glutámico grado reactivo

Buffer para calibración pH 7

Método

Preparación de reactivos

1. Buffer de fosfatos. Disolver 8.5 g de KH_2PO_4 , 21.75 g de K_2HPO_4 , 33.4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1.7 g de NH_4Cl en agua destilada, aforar a 1 L. pH aprox. 7.2.
2. Buffer de sulfato de magnesio. Disolver 22.5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, af. a 1L.
3. Buffer de cloruro de calcio. Disolver 27.5 g de CaCl_2 , af. a 1 L.
4. Buffer de cloruro férrico. Disolver 0.25 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, af. a 1 L.
5. Solución de glucosa y ácido glutámico. Disolver 150 mg de glucosa y 150 mg de ácido glutámico aforados a 1 L. Esta solución se prepara el día de la práctica.

Procedimiento

1. Lavar el material previamente con etanol, enjuagar con agua y dar un enjuague final con agua destilada.
2. La muestra de agua se colecta en botellas con tapón esmerilado de 250 mL de capacidad, llenas hasta el tope, se tapan cv y se procesan en menos de 2 h, o se mantienen a 4°C para su procesamiento antes de 24 h.
3. Preparar 1L de agua de dilución, agregando 1 mL/L de cada uno de los cuatro buffers previamente preparados.
4. Dilución de la muestra. Según su origen; si es agua residual muy contaminada diluir de 0.01 a 1.0%, si es agua residual doméstica de 1.0 a 5.0%, para efluentes tratados de 5.0 a 25.0%, y si es agua de río poco contaminado de 25 a 100%.

5. Hacer tres diluciones por muestra, por duplicado, en las probetas de 500 mL, llenando posteriormente las botellas hasta el tope (total seis botellas). Colocar aire por burbujeo para saturar de oxígeno las diluciones.
6. Llenar otras dos botellas sólo con agua de dilución (blanco) y 2 más sólo con la solución de glucosa y ácido glutámico (control positivo), 4 botellas. También colocar aire por burbujeo.
7. Medir el oxígeno disuelto en cada botella. Si el electrodo desplaza parte de la muestra, llenar de nuevo con la muestra diluida (ODi mg/L).
8. Incubar durante cinco días en la oscuridad a 20°C.
9. Cinco días después determinar la concentración final de oxígeno disuelto en cada botella (OD₅ mg/L).

Interpretación de resultados

Cuando no se utilice inóculo ni diluciones:

$$\text{DBO}_5 \text{ (mg/L)} = \text{ODi mg/L} - \text{OD}_5 \text{ mg/L}$$

Cuando se emplea una dilución:






$$\text{DBO}_5 \text{ (mg/L)} = \frac{\text{ODi mg/L} - \text{OD}_5 \text{ mg/L}}{\% \text{ de dilución expresado en decimales}}$$

Analizar el resultado en relación a los valores típicos en agua residual.

Cuestionario

1. ¿Qué similitudes y que diferencias tiene esta técnica con la determinación de productividad con botellas claras y oscuras?
2. ¿Cuál es el objetivo de colocar un control negativo y un control positivo en esta prueba?
3. ¿Qué limitaciones tiene la DBO₅ como indicador de la calidad del agua?
4. ¿Qué importancia tiene la DBO₅ en estudios de contaminación?
5. ¿Qué inconvenientes se presentan si se obtienen valores muy altos, muy bajos o iguales a cero en la determinación de la DBO₅?
6. ¿Cuál es la calidad de la(s) muestra(s) de agua analizada(s) de acuerdo con los valores asociados a agua residual?

Bibliografía

-  American Public Health Association (APHA). 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. APHA, E.U., 690 p.
-  Diario Oficial de la Federación (DOF). 1997. Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Secretaría de Medio Ambiente Recursos naturales y Pesca, México, enero 6: 68-86.
-  Metcalf & Eddy. 1991. *Wastewater Engineering. Treatment Disposal and Reuse*. McGraw-Hill, Inc., N.Y., 1334 p.
-  NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de agua - determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO5) y residuales tratadas - Método de prueba. Se puede bajar del siguiente sitio:
-  http://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDYQFjAB&url=http%3A%2F%2Fcci.tij.uabc.mx%2Fusuarios%2Fiso%2Fagua%2Fnormas%2Fnmx-aa-028-scfi-2001%2520DBO.doc&ei=63cfUuiAKZK-9gS2z4GoBg&usg=AFOjCNEmlAjzDYv_AzxFgQnZaQJomBVX_A&sig2=flz9XtrOGdcM5aaGOLxrQ&bvm=bv.51495398.d.eWU

Práctica 3

Calidad sanitaria del agua

Introducción

La contaminación por microorganismos incluye una amplia variedad de especies, cuyo estudio es complejo. Por ello, usualmente el análisis se restringe a la determinación de algunos grupos de bacterias indicadoras de la presencia de patógenos en el agua o los alimentos. Estos grupos incluyen a las bacterias coliformes y a los estreptococos. Ciertas concentraciones de estas bacterias se consideran un riesgo sanitario. Los límites aceptables para ellas están descritos en la legislación mexicana. Existen varios métodos para determinar la concentración de estos microorganismos, de los cuales se presentan tres a continuación.

a) Determinación de bacterias coliformes a través del método de tubos múltiples

Este método determina el Número Más Probable (NMP) de bacterias con base en series decimales de dilución de una muestra (como mínimo tres), las cuales se elaboran con varias réplicas en un medio de cultivo líquido. La prueba consta de una fase de enriquecimiento y una confirmativa. Este método se utiliza para muestras de agua en las cuales se esperan concentraciones elevadas de microorganismos. Las bacterias coliformes forman parte de la familia Enterobacteriaceae, el grupo se consideró en un inicio de origen intestinal (entérico), aunque posteriormente se corroboró que algunas pueden encontrarse en el ambiente de manera natural. Así, se estableció que dentro del grupo de las bacterias coliformes (coliformes totales), sólo una parte tenía origen intestinal (coliformes fecales). Estas bacterias comparten características bioquímicas en común como la capacidad para fermentar lactosa y son útiles como microorganismos indicadores de la sanidad del agua.

Objetivo

Que el alumno determine la calidad sanitaria de una muestra con base en el Número Más Probable de bacterias coliformes totales y fecales.

Material

Por grupo

- 1 autoclave
- 1 termómetro 0 – 100 °C
- 1 par de guantes de asbesto
- 2 Incubadoras (a 35°C y 44.5°C)

Por equipo

- 1 frasco de cristal de 100 mL de capacidad con tapa metálica (Gerber)
- 1 matraz Erlenmeyer de 600 mL
- 2 matraces Erlenmeyer de 250 mL
- 2 pipetas de 10 mL
- 2 vasos de precipitado de 600 mL

1 probeta de 100 mL

1 probeta de 500 mL

1 gradilla

1 o 2 mecheros Bunsen

1 potenciómetro

1 parrilla de calentamiento con agitación

1 agitador magnético

Escobillones para lavado de la cristalería (matraces, tubos y pipetas)

Papel para envolver el material a esterilizar

Masking tape

Solicitar también el siguiente material, el cual se conservará hasta el final de la práctica

2 vasos de precipitado de 600 mL

8 pipetas graduadas de 5 mL

40 tubos de ensayo con tapón de rosca

15 campanas Durham

Material para siembra

Mechero

Gradilla

Algodón

Piceta con alcohol

Piceta con agua destilada

Material previamente esterilizado

Reactivos y medios de cultivo

Caldo lactosado (LAC)

Caldo Bilis Verde Brillante al 2% (BVB)

Caldo E.C. (*Escherichia coli*) (EC)

Alcohol etílico

Agua destilada

Método

Preparación de reactivos y material estéril

1. Lavar el material con extrán, enjuagar con agua y enjuagar al final con agua destilada.
2. Caldo LAC de doble concentración. Pesar 0.52 g de LAC, adicionar 20 mL de agua destilada, ajustar el pH a 6.9 ± 0.1 . Colocar 5 mL de esta solución en tres tubos de ensayo.
3. Caldo LAC. Pesar 1.56 g de LAC, adicionar 120 mL de agua destilada, ajustar el pH a 6.9 ± 0.1 . Colocar 9 mL de esta solución en 12 tubos de ensayo.
4. Caldo BVB. Pesar 4.0 g de BVB, adicionar 100 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7.1 ± 0.1 . Colocar 10 mL de esta solución en 10 tubos de ensayo.
5. Pesar 3.7 g de EC, adicionar 100 mL de agua destilada, ajustar el pH a 6.9 ± 0.1 . Colocar 10 mL de esta solución en 10 tubos de ensayo.
6. Colocar 9 mL de agua destilada para dilución (DIL) en cinco tubos de ensayo.
7. Colocar una campana Durham invertida en cada tubo, excepto en los que tienen sólo agua. Colocar el tapón en cada tubo sin cerrar completamente.
8. Etiquetar cada tubo.
9. Colocar los tubos en vasos de 600 mL para esterilización, cubrir con un capuchón de papel indicando el medio de cultivo, el número del equipo y la fecha.
10. Pipetas. Colocar un tapón de algodón en cada pipeta. Envolver en papel paquetes de cuatro pipetas. Etiquetar con número de equipo.
11. Frascos. Envolver en papel el frasco de 100 mL.
12. Esterilizar este material en autoclave a 15 libras durante 15 minutos. Dejar enfriar, sacar el material, cerrar bien los tubos y almacenar hasta la siembra de la muestra.

Procedimiento

1. Colecta de la muestra de agua. Tomar una muestra de agua superficial en el frasco estéril de 100 mL utilizando guantes. Procesar en 2 h, o bien, refrigerar a 4°C y procesar antes de 24 h. **NO CONGELAR LA MUESTRA.**
2. Preparación del área de siembra. Lavar la mesa, secar y dar una limpieza final con alcohol. Colocar los tubos en la gradilla de acuerdo con el esquema de la figura 1 y etiquetar cada tubo. Asegurarse de que los medios no estén contaminados y que las campanas Durham no queden con burbujas. Encender el mechero. Aflojar los tapones. Colocar un vaso con alcohol a unos 30 cm del mechero. Se cuenta con 15 cm alrededor del mechero como área estéril.

Dilución	Réplicas			
	LAC doble conc.	LAC doble conc.	LAC doble conc.	
100%	LAC doble conc.	LAC doble conc.	LAC doble conc.	
10%	LAC	LAC	LAC	DIL
1%	LAC	LAC	LAC	DIL
0.1%	LAC	LAC	LAC	
Control	LAC	LAC	LAC	DIL

Figura 1 Disposición de los tubos en la gradilla.

1. Siembra e incubación. La secuencia de siembra se presenta en la figura 2. Se colocarán 5 mL de la muestra en cada uno de los tubos de LAC doble concentración, 1 mL en cada uno de los tubos de la dilución al 10% y un tubo de dilución. Desde este tubo se colocará 1 mL en cada tubo de LAC de la siguiente dilución y un tubo de dilución y así hasta terminar. Usar una pipeta por dilución. Una vez utilizadas las pipetas se colocarán en el alcohol. Al terminar se envolverán las pipetas en papel para su esterilización y posteriormente se lavarán.

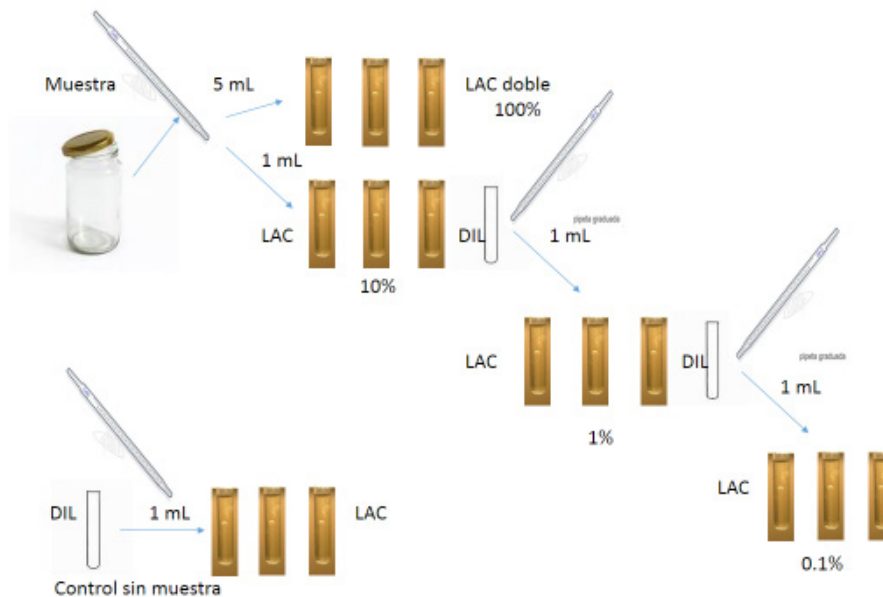


Figura 2. Secuencia de siembra en el medio de enriquecimiento para bacterias coliformes. Colocar en cada tubo de la réplica el volumen indicado.

2. Conteo. Anotar el número de los tubos donde hubo crecimiento de bacterias y producción de gas a las 24 y a las 48 h para llenar la tabla 1.

Tabla 1. Registro del número de tubos con crecimiento (+) en medio LAC.

Dilución	LAC 24 ± 2 h	LAC 48 ± 3 h
100%		
10%		
1%		
0.1%		
Control		

3. Resiembra de los tubos (+) a las 48 h. Lavar la mesa, colocar los tubos en gradillas, trabajar frente al mechero, aflojar los tapones antes de resembrar. Resembrar con asa de siembra en condiciones asépticas. Por cada tubo de LAC (+) y los controles, será inoculado un tubo BVB y un tubo EC. Incubar los tubos de BVB a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ y los de EC a $44.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
4. Conteos. Anotar el número de tubos (+) en medios confirmativos en la tabla 2.

Tabla 2. Registro del número de tubos con crecimiento (+) en BVB y EC.

Dilución	BVB 24 ± 2 h	BVB 48 ± 3 h	EC 24 ± 2 h	EC 48 ± 3 h
100%				
10%				
1%				
0.1%				
Control				

Interpretación de resultados

Determinación del Número Más Probable (NMP). Se utilizarán las tablas de McCrady (tabla 3) (MERCK, 1982) considerando la dilución. En caso de obtención de características anormales se aplicará la siguiente fórmula:

$$\text{NMP}/100\text{mL} = \frac{\text{No. de tubos (+)} * 100}{\sqrt{(\text{mL de muestra en tubos (-)}) * (\text{mL de muestra en todos los tubos})}}$$

Tabla 3 de Mc Crady.

Tubos positivos por			NMP para 100 mL	
10 mL	1.0 mL	0.1 mL	3 tubos por grado de dilución	5 tubos por grado de dilución
0	0	0	< 3	< 2
0	0	1	3	2
0	1	0	3	2
0	2	0	6	4
1	0	0	4	2
1	0	1	7	4
1	1	1	11	6
1	2	0	11	6
2	0	0	9	5
2	1	0	15	7
2	1	1	20	9
2	2	0	21	9
2	2	1	28	—
2	3	0	30	12
3	0	0	23	8
3	0	1	39	11
3	0	2	64	—
3	1	0	43	11
3	1	1	75	14
3	1	2	120	—
3	2	0	93	14
3	2	1	150	17
3	2	2	210	—
3	3	0	240	—
3	3	1	460	—
3	3	2	1100	—
3	3	3	≥ 2400	—
4	0	0	—	13
4	0	1	—	17
4	1	0	—	17
4	1	1	—	21
4	1	2	—	26
4	2	0	—	22
4	2	1	—	26
4	3	0	—	27
4	3	1	—	33
4	4	0	—	34
5	0	0	—	23
5	0	1	—	31
5	0	2	—	43
5	1	0	—	33
5	1	1	—	46
5	1	2	—	63
5	2	0	—	49
5	2	1	—	70
5	2	2	—	94
5	3	0	—	79
5	3	1	—	110
5	3	2	—	140
5	3	3	—	180
5	4	0	—	130
4	4	1	—	170
5	4	2	—	220
5	4	2	—	280
5	4	4	—	350
5	5	0	—	240
5	5	1	—	350
5	5	2	—	540
5	5	4	—	1600
5	5	5	—	≥ 2400





Los NMP se interpretarán de acuerdo a las normas vigentes en México para emisión (NOM-ECOL-001-SEMARNAT-1996) y de recepción (Diario Oficial de la Federación, 2009).

Esterilización y lavado final del material. **Todo el material utilizado será esterilizado antes de lavarse.** Se dispondrá de los medios como residuos biológicos. El lavado con extrán incluirá la parte interna de las campanas Durham.

Cuestionario

1. ¿Qué bacterias patógenas se asocian al grupo coliforme?
2. ¿Cómo se determina si hubo un control aséptico en la prueba?
3. ¿La muestra de agua analizada es apta para qué uso?
4. ¿Qué ventajas y desventajas tienen estas técnicas de análisis bacteriológico?
5. Describa brevemente que son las Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Bibliografía

-  American Public Health Association (APHA). 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. APHA, E.U. 690 p.
-  Diario Oficial de la Federación. 2009. Ley Federal de Derechos (Disposiciones aplicables en materia de agua nacionales. DOF, México, 67 p.
-  Merck, E. 1982. *Manual de Medios de cultivo*. MERCK, Darsmadt, Alemania, 189 p.
-  Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites Máximos Permisibles en las Descargas de Aguas Residuales en Aguas y Bienes Nacionales. *Diario Oficial de la Federación*, Diciembre 11, México. 35 p.

b) Determinación de estreptococos fecales a través del método de tubos múltiples

Introducción

El grupo de bacterias estreptococos fecales, también denominado estreptococos del grupo D (+) (Mac Faddin, 2004), incluye varias especies de origen intestinal, comunes en animales de sangre caliente. Estos microorganismos se pueden enumerar también por el método de tubos múltiples. Los estreptococos fecales resisten más a la desinfección que *E. coli* y su tiempo de supervivencia en agua de mar es mayor. Por este motivo se consideran un indicador complementario valioso en los estándares de calidad del agua con fines recreativos en aguas marinas. En México se exigen para el análisis de la calidad sanitaria del agua de playa.

Objetivo

Que el alumno determine el Número Más Probable de estreptococos fecales en una muestra de agua a través de la técnica de tubos múltiples.

Material

Por grupo

- 1 termómetro 0 – 100 °C
- 1 autoclave
- 1 par de guantes de asbesto
- 1 incubadora

Por equipo

- 1 frasco de cristal de 100 mL de capacidad con tapa metálica (Gerber)
- 1 matraz Erlenmeyer de 600 mL
- 1 matraz Erlenmeyer de 250 mL
- 2 pipetas serológicas de 10 mL
- 2 vasos de precipitado de 600 mL
- 1 probeta de 100 mL
- 1 probeta de 500 mL
- 1 gradilla
- 1 o 2 mecheros Fisher o Bunsen
- 1 potenciómetro
- 1 parrilla de calentamiento con agitación
- 1 agitador magnético

Escobillones, papel para envolver y masking tape

Algodón y gasa

Solicitar también el siguiente material, el cual se conservará hasta el final de la práctica

2 vasos de precipitado de 600 mL

5 pipetas graduadas de 5 mL

30 tubos de ensayo con tapón de rosca (con viales)

Material para siembra

Mechero

Gradilla

Algodón

Piceta con alcohol

Piceta con agua destilada

Material previamente esterilizado

Reactivos

Extracto de carne

Extracto de levadura

Peptona de caseína

Triptona o polipeptona

Glucosa

Cloruro de sodio

Di- potasio hidrogenofosfato

Potasio hidrogenofosfato

Azida de sodio

Púrpura de bromocresol

Alcohol etílico

Agua destilada

Método

Preparación de reactivos y material estéril

1. Lavar el material con extrán, enjuagar con agua y enjuagar al final con agua destilada.
2. Caldo azida dextrosa (AD) de doble concentración. Pesar 0.18 g de extracto de carne, 0.6 g de triptona o polipeptona, 0.3 g de glucosa, 0.3 g de cloruro de sodio y 0.004 g de azida de sodio, adicionar 20 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.2 . Colocar 5 mL de esta solución en 3 tubos de ensayo.
3. Caldo AD de concentración normal. Pesar 0.54 g de extracto de carne, 1.8 g de triptona o polipeptona, 0.9 g de glucosa, 0.9 g de cloruro de sodio y 0.024 g de azida de sodio, adicionar 120 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.2 . Colocar 9 mL de esta solución en 12 tubos de ensayo.
4. Caldo púrpura de bromocresol azida (PBA). Pesar 1.0 g de extracto de levadura, 1.0 g de peptona de caseína, 0.5 g de glucosa, 0.5 g de cloruro de sodio, 0.27 g de di- potasio hidrogenofosfato, 0.27 g de potasio hidrogenofosfato, 0.05 g de azida de sodio y 0.0032 g de púrpura de bromocresol, adicionar 100 mL de agua destilada, ajustar el pH a 6.9 ± 0.2 . Colocar 10 mL de esta solución en 10 tubos de ensayo.
5. Colocar 9 mL de agua destilada para dilución (DIL) en cinco tubos de ensayo.
6. Etiquetar cada tubo.
7. Colocar los tubos en vasos de 600 mL para esterilización, cubrir con un capuchón de papel indicando el medio de cultivo, el número del equipo y la fecha.
8. Pipetas. Colocar un tapón de algodón en cada pipeta. Envolver en papel paquetes de cinco pipetas. Etiquetar con número de equipo.
9. Frascos. Envolver en papel el frasco de 100 mL.
10. Esterilizar este material en autoclave a 15 libras durante 15 minutos. Dejar enfriar, sacar el material, cerrar bien los tubos y almacenar hasta la siembra de la muestra.

Procedimiento

1. Colecta de la muestra de agua. Tomar una muestra de agua superficial en el frasco estéril de 100 mL utilizando guantes. Procesar en 2 h, o bien, refrigerar a 4°C y procesar antes de 24 h. NO CONGELAR LA MUESTRA.
2. Preparación del área de siembra. Lavar la mesa, secar y dar una limpieza final con alcohol. Colocar los tubos en la gradilla de acuerdo con el esquema de la tabla 1, etiquetar cada tubo. Asegurarse de que los medios no estén contaminados. Encender el mechero. Aflojar los tapones. Colocar un vaso con alcohol a unos 30 cm del mechero.

Tabla 1 Disposición de los tubos en la gradilla.

Dilución	Réplicas			
	AD doble conc	AD doble conc	AD doble conc	
100%	AD	AD	AD	DIL
10%	AD	AD	AD	DIL
1%	AD	AD	AD	
0.1%	AD	AD	AD	
Control	AD	AD	AD	DIL

3. Siembra e incubación. La secuencia de siembra se presenta en la figura 2. Se colocarán 5 mL de la muestra en cada uno de los tubos de AD doble concentración, 1 mL en cada uno de los tubos de la dilución al 10% y un tubo de dilución. Desde este tubo se colocará 1 mL en cada tubo de AD de la siguiente dilución y un tubo de dilución y así hasta terminar. Usar una pipeta por dilución. Una vez utilizadas las pipetas se colocarán en el alcohol. Al terminar se envolverán las pipetas en papel para su esterilización y posteriormente se lavarán.

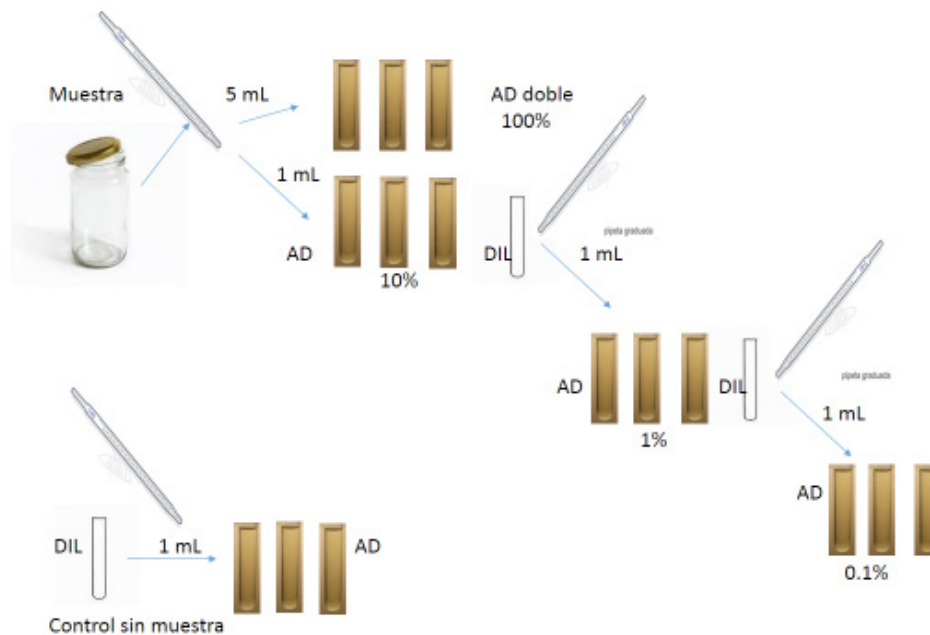


Figura 2 Secuencia de siembra en el medio de enriquecimiento para bacterias estreptococos fecales. Se colocará en cada tubo de la réplica el volumen indicado.

4. Cuento. Anotar el número de los tubos donde hubo crecimiento de bacterias (se aprecia turbidez en el medio) a las 24 y 48 h para llenar la tabla 2.

Tabla 2. Registro del número de tubos con crecimiento (+) en medio AD.

Dilución	AD 24 ± 2 h	AD 48 ± 3 h
100%		
10%		
1%		
0.1%		
Control		

- Resiembrar de los tubos (+) a las 48 h. Lavar la mesa, colocar los tubos en gradillas, trabajar frente al mechero, aflojar los tapones antes de resembrar. Resembrar con asa de siembra en condiciones asépticas. Por cada tubo de LAC (+) y los Controles, será inoculado un tubo PBA. Incubar los tubos a 36 ± 1°C.
- Conteos. Anotar el número de tubos (+) en el medio confirmativo en la tabla 3. En este caso se aprecia turbidez y el medio debe presentar viraje de color de púrpura a café o amarillo.

Tabla 3. Registro del número de tubos con crecimiento (+) en PBA.

Dilución	PBA 24 ± 2 h	PBA 48 ± 3 h
100%		
10%		
1%		
0.1%		
Control		

Interpretación de resultados

Determinación del Número Más Probable (NMP). Se utilizarán las tablas de McCrady (MERCK, 1982) considerando la dilución. En caso de obtención de características anormales se aplicará la siguiente fórmula:

$$\text{NMP}/100\text{mL} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de tubos (+)} * 100}{\sqrt{(\text{mL de muestra en tubos (-)}) * (\text{mL de muestra en todos los tubos})}}$$




Los NMP se interpretarán de acuerdo a las normas vigentes en México para calidad sanitaria de agua de playa (NMX-AA-120-SCFI-2006).

Esterilización y lavado final del material. Todo el material utilizado será esterilizado antes de lavarse. Se dispondrá de los medios como residuos biológicos.

Cuestionario

1. ¿Qué bacterias patógenas se asocian al grupo estreptococos fecales?
2. ¿Cómo se determina si hubo un control aséptico en esta prueba?
3. ¿La muestra de agua analizada es apta para el uso indicado?
4. ¿Qué ventajas y desventajas tienen estas técnicas de análisis bacteriológico?
5. ¿Todos los estreptococos se consideran fecales?

Bibliografía

-  Aquiahuatl, R. M. A., S.T. Volke, V.F. Ramírez, G.M. Salazar, B.L.A. Prado & M.K. Shirai. 2011. *Manual de prácticas del laboratorio de microbiología general*. UAM, México, 63 p.
-  Diario Oficial de la Federación (DOF). 2006. NMX-AA-120-SCFI-2006 que Establece los Requisitos y Especificaciones de Sustentabilidad de Calidad de Playas. Diario Oficial de la Federación, México, 40 p.
-  Mac Faddin, J. 2004. *Pruebas Bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. 3ª Ed. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, 860 p.

c) Calidad sanitaria del agua. Colisure®

Introducción

La contaminación por microorganismos incluye una amplia variedad de especies, de manera que su estudio se puede hacer complejo. Usualmente el análisis se restringe a la determinación de algunos grupos de bacterias que se consideran indicadoras de la presencia de patógenos en el agua o los alimentos. Estos grupos incluyen a las bacterias coliformes y la *Escherichia coli*, que son de origen entérico (es decir, intestinal). Las bacterias coliformes son saprófitas microaerobias con forma de bacilo, negativas a la tinción de Gram. El grupo incluye tanto a bacterias patógenas estrictas, como inocuas. Altas concentraciones de estos grupos se consideran un riesgo sanitario. La evaluación de la presencia de bacterias coliformes y *E. coli* puede hacerse de manera simultánea utilizando el método Colisure®, el cual ofrece resultados en 24 horas.

Objetivo

Que el alumno determine la calidad sanitaria de una muestra de agua a través de bacterias coliformes utilizando un Kit comercial.

Material

Por grupo

- 1 termómetro 0 – 100 °C
- 1 autoclave
- 1 par de guantes de asbesto
- 1 Incubadora

Por equipo

- 18 tubos de ensayo con tapa de rosca esterilizados
- 3 pipetas de 10 mL esterilizadas
- 5 pipetas de 1 mL esterilizadas
- 3 botes con tapa de 100 mL esterilizados
- 1 gradilla para 30 tubos
- 2 mecheros Bunsen
- 2 propipetas
- 250 ml de agua destilada estéril

Reactivos

- 1 piceta con alcohol
- 2 sobres de reactivo Colisure®

Método

Nota: todo el trabajo deberá hacerse en área estéril, lo que implica limpiar previamente con alcohol la mesa, poner dos mecheros y manejar todos los materiales entre ellos.

Preparación de reactivos

Colocar 100 ml de agua estéril en un bote con tapa y agregar un sobre de reactivo Colisure®. Cerrar y agitar hasta disolver el reactivo.

Repetir para tener dos botes de reactivo disuelto.

Procedimiento

1. La muestra deberá ser tomada en frascos estériles de 100 mL de capacidad (Gerber por ejemplo) y procesada en un plazo máximo de dos horas.
2. Si la muestra no puede procesarse en este plazo, colocarla en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento, que deberá realizarse antes de 24 horas desde la colecta. NO CONGELAR LA MUESTRA.
3. Preparar una incubadora a 35°C.
4. Etiquetado de los tubos.
 - a) Etiquetar 6 tubos con la leyenda 10%, 6 más con la leyenda 1% y 6 más con 0.1%
 - b) Etiquetar 9 tubos con la leyenda "muestra 1" y 9 más con la leyenda "control".
5. Con una pipeta estéril, poner 10 mL de reactivo Colisure® disuelto en cada uno de los 18 tubos de ensayo. Esterilizar a la llama la pipeta entre cada pasada.
6. Siembra de la muestra.
 - a) Tomar con una pipeta estéril 1 mL de muestra y colocarlo en 1 tubo con la leyenda de "10%". Repetir en los otros dos tubos etiquetados "10%" (esterilizar a la llama la pipeta entre tomas).
 - b) Agitar suavemente todos los tubos para homogeneizar.
 - c) Con otra pipeta tomar 1 mL de uno de los tubos anteriores (10%) y pasarlo a un tubo con leyenda de 1%.
 - d) Repetir esta operación 2 veces utilizando los otros tubos etiquetados 1% (esterilizar a la llama la pipeta entre tomas).
 - e) Agitar suavemente para homogeneizar.
 - f) Con otra pipeta tomar 1 mL de uno de los tubos anteriores (1%) y pasarlo a un tubo con leyenda de "0.1%".
 - g) Repetir esta operación 2 veces utilizando los otros tubos etiquetados "0.1%" (esterilizar a la llama la pipeta entre tomas).
 - h) Agitar suavemente para homogeneizar.

7. Poner a incubar los 18 tubos a 35 °C durante 24 horas.
8. Conteo de los resultados por muestra.
 - a) Observar el color de los tubos a la luz natural y contar en cada dilución los amarillos y por separado los rojos o magenta.
 - b) Utilizando una lámpara de luz negra (UV 365 nm) en un cuarto oscuro, observar los tubos rojos o magenta y contar aquellos que presenten fluorescencia. Anotar los resultados en la tabla 1.

Tabla 1. Registro de los tubos con respuesta.

Dilución	Amarillo	Rojo o magenta	Fluorescencia
10%			
1%			
0.1%			

9. Esterilización y lavado final del material. Una vez terminado el conteo, los tubos con medio, los tubos con agua y las pipetas serán esterilizados nuevamente. Después podrán vaciarse a drenaje o bien disponerse como residuos biológicos. Luego serán lavados con Extran y agua enjuagando finalmente con agua destilada. Los viales deberán lavarse internamente. Después serán devueltos.









Interpretación de los resultados

1. Cálculo del Número Más Probable (NMP). El cálculo del número más probable de bacterias se hará de acuerdo a la fórmula del APHA, pág. 9-49.
2. Comparar los resultados con los límites de concentración, para estas bacterias que marca la legislación Mexicana, de acuerdo al uso del agua de su muestra.

Cuestionario

1. ¿Cómo se determina si hubo un control aséptico en esta prueba?
2. ¿La muestra de agua analizada es apta para qué uso?
3. Explique cómo funciona el método Colilert.
4. ¿Qué ventajas y desventajas tiene el uso de kits en el análisis bacteriológico?
5. Compare los siguientes métodos de análisis bacteriológico del agua: Unidades Formadoras de Colonias (UFC), filtro de membrana y SimPlate.

Bibliografía

-  American Public Health Association (APHA). 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. APHA, E.U. 690 p.
-  Bitton, G., B. Koopman, K. Jung. 1995. An assay for the enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in water and wastewater. *Water Environ. Research* 67 (6): 906-909.
-  Brenner, K.P., C.C. Rankin, Y.R. Roybal, G.N. Stelma Jr., P.V. Scarpino & A.P. Dufour. 1993. New Medium for the Simultaneous Detection of Total Coliforms and *Escherichia coli* in Water. *Applied Environmental Microbiology* 59 (11): 3534-3544.
-  Campbell, R. 1987. *Ecología Microbiana*. Limusa, México, 268 p.
-  Edberg, S.C., Rice, E.W., Karlin, R.J., & M.J. Allen. 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (S1): 106S–116S.
-  Geissler, K., Manafi, M., Amorós, I. & J. L. Alonso. 2000. Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. *Journal of Applied Microbiology*, 88 (2): 280–285.
-  Hamilton, W.P., Kim, M. & E.L. Thackston. 2005. Comparison of commercially available *Escherichia coli* enumeration tests: Implications for attaining water quality standards. *Water Research* 39 (20): 4869–4878.
-  Olstadt, J., Schauer, J.J., Standridge, J. & S. Kluender. 2007. A comparison of ten USEPA approved total coliform/E. coli tests. *Journal of Water and Health* 5 (2): 267–282.

Práctica 4

Determinación de la concentración letal media (CL₅₀)

Introducción

La determinación de concentraciones de contaminantes y tóxicos en el ambiente no indica las consecuencias de su presencia. Por este motivo los efectos se evalúan a través de bioensayos. Estos pueden ser de tipo agudo (letal), en los que se determina la mortalidad, a través de la cual se calcula la concentración letal media (CL₅₀), que es aquella en la que muere la mitad de los organismos sometidos a la prueba. Otros son de tipo crónico (subletal) y en ellos se evalúan respuestas fisiológicas e incluso moleculares a través de biomarcadores. Las pruebas se realizan con tóxicos aislados o con muestras ambientales, utilizando especies de cultivos controlados o nativas del sitio. Son comunes los estudios en invertebrados (*Daphnia magna*, *Moina macrocopa*, *Artemia salina*), vertebrados (peces, ratas), especies vegetales (*Lemna gibba*) e incluso bacterias (*Salmonella typhimurium* y *Phytobacterium phosphoreum*). Algunos bioensayos están normados y se usan para la determinación de condiciones especiales de descarga, siguiendo un protocolo semejante al que se aplicará en esta práctica.

Objetivo

Que el alumno realice un bioensayo de toxicidad aguda con un tóxico de prueba específico y calcule la CL₅₀.

Material

Por grupo

1 oxímetro

Organismos de prueba. Neonatos de *Daphnia magna* de 48 horas de edad

Por equipo

1 vaso de precipitado de 1000 mL

1 vaso de precipitado de 500 mL

12 vasos de precipitado de 50 o 100 mL

1 probeta de 100 mL

3 pipetas Pasteur con bulbo

2 matraces Erlenmeyer de 250 mL

6 cajas de Petri

2 matraces aforados de 100 mL

50 cm de manguera de hule

1 potenciómetro

1 termómetro

Reactivos

Sulfato de cobre

Agua destilada

Agua sintética reconstituida madurada de una semana (PROY-NMX-AA-087-SCFI-2009)

Método

Preparación de reactivos

1. Hacer los cálculos necesarios para preparar 100 mL de una solución de sulfato de cobre con una concentración de 1g/L. Etiquetarla con la leyenda "Solución Madre".
2. Preparar las diluciones para la prueba. Utilizando la solución madre, se elaborarán 100 mL de las soluciones indicadas en la tabla 1. El control incluirá solamente el agua de dilución.

Tabla 1. Soluciones de prueba.

mL de solución estándar del tóxico	mL de agua sintética	Concentración final del tóxico
Control	100	
1	99	
2	98	
3	97	
4	96	
5	95	

3. Calcular la concentración final del tóxico para cada solución.
4. Colocar 50 mL de cada solución en dos vasos de precipitado, ya que se trabajará por duplicado (total 12 vasos). Etiquetar.

Procedimiento

1. Medir en cada vaso la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto.
2. Colocar 10 organismos en cada vaso. Tapar los vasos con cajas de Petri.
3. Registrar en la tabla 2 los organismos sobrevivientes a los 0, 15, 30, 60 y 120 min.

Tabla 2. Registro de la mortalidad durante el bioensayo.

Concentración del tóxico	0 h		15 min		30 min		60 min		120 min	
Control										

4. Anotar en la bitácora las modificaciones apreciables en la conducta de los organismos (nado errático, lento o acelerado). El criterio de muerte es la inmovilidad.
5. Medir los parámetros fisicoquímicos al final de la prueba.

Interpretación de Resultados

1. Si los duplicados dieron igual respuesta, los datos de ambos vasos se unirán para la interpretación. En caso de no ser así, deberá eliminarse un duplicado o toda la concentración.
2. Graficar en papel Probit (Fig. 1) el porcentaje de mortalidad vs dilución para los plazos de 60 y 120 min. Determinar la concentración letal media (CL_{50}) por interpolación.
3. Graficar también la mortalidad vs el tiempo para la obtención del tiempo letal medio (TL_{50}) por interpolación. Éste se obtendrá para una sola concentración.
4. Se incluirá el promedio de los valores de los parámetros fisicoquímicos para discutir el control de la prueba. Se espera que estos se comporten de manera semejante en todas las diluciones y los duplicados. Esto puede corroborarse por ANOVA.
5. Para que la prueba se considere adecuada, deberán sobrevivir al menos 90% de los organismos control.
6. Compare sus resultados con la información toxicológica publicada para este tóxico en pruebas con Daphnidos y otras especies.

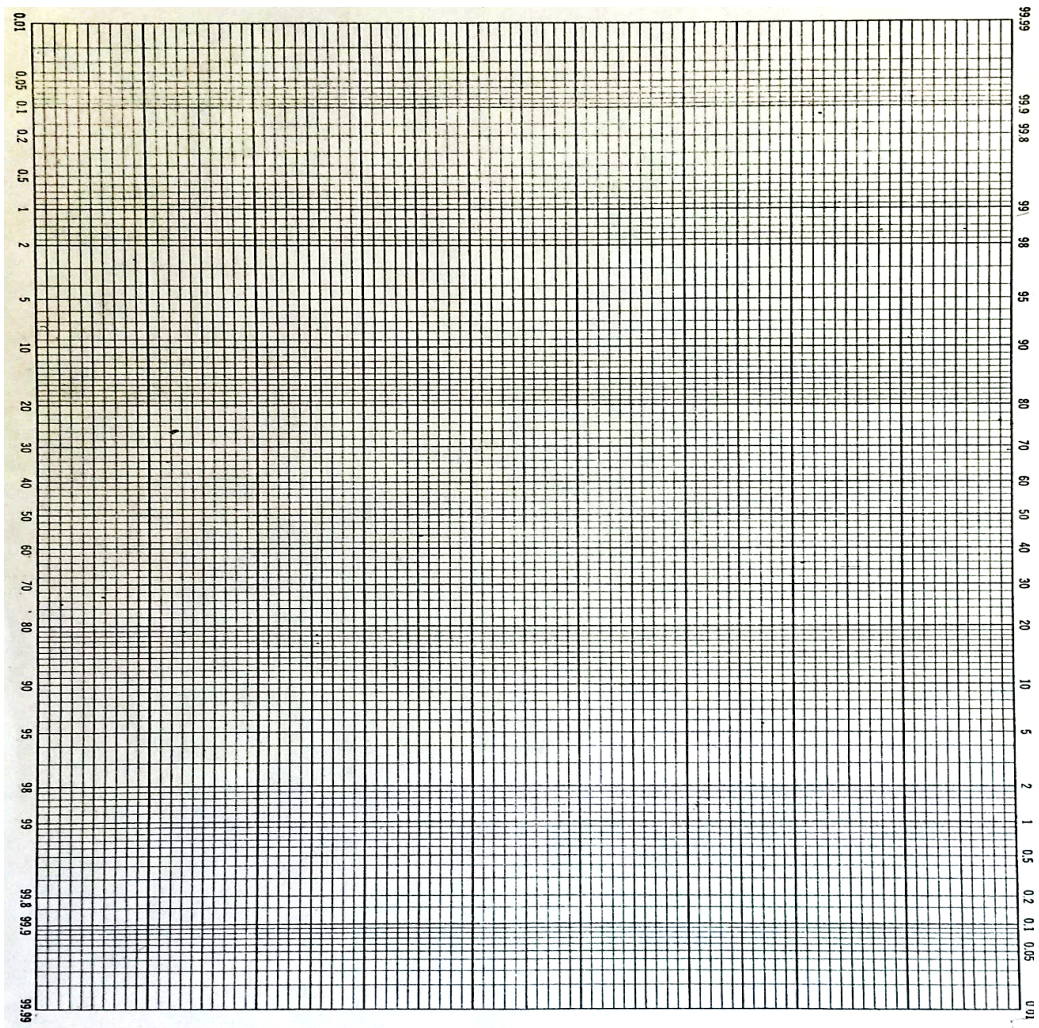






Figura 1. Papel probit.

Cuestionario

1. ¿Qué criterios se aplican para seleccionar una especie para bioensayos?
2. ¿Cuál es la importancia de los grupos control en los bioensayos?
3. ¿Qué es la concentración efectiva media o CE_{50} ?
4. ¿Los resultados de los bioensayos permiten interpretar directamente el efecto de los tóxicos evaluados en el ambiente?
5. Si el tóxico de prueba es $K_2Cr_2O_7$, ¿cómo prepararía una solución estándar de 0.25 ppm de Cr?
6. ¿Por qué es importante el uso de la especie *Daphnia magna* en bioensayos?

Bibliografía

-  Diario Oficial de la Federación. 2009. PROY-NMX-AA-087-SCFI-2009. Análisis de calidad del agua - evaluación de toxicidad aguda con *Daphnia magna*, Straus (Crustacea - Cladocera) - Método de prueba. Diario Oficial de la Federación, 42 p.
-  Moreno, D.F. 2003. *Toxicología Ambiental*. Mc Graw Hill, México, 370 p.
-  Ramírez Romero, P. y A. Mendoza Cantú (Eds.). 2007. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. SEMARNAT-INE, México, 414 p.
-  USEPA. 2007. *Aquatic Life Ambient Freshwater Quality Criteria – Copper. 2007 Revision*. EPA-822-R-07-001. Washington DC. USEPA. 200 pp.

Práctica 5

Lluvia ácida

Introducción

Entre los efectos globales derivados de la contaminación se incluye la formación de lluvia ácida como consecuencia de la presencia de una atmósfera oxidante, que reacciona con el vapor de agua. Algunos de estos compuestos se precipitan en forma seca y otros en forma líquida, afectando a los organismos que quedan en contacto con agua cuyo pH es inferior al normal. Tal es el caso de la vegetación terrestre y de los ecosistemas acuáticos que reciben esta lluvia. Si bien el agua de lluvia tiene numerosos componentes que pueden generar la acidez, los efectos de varios tóxicos ambientales se analizan a través de modelos simplificados.

Objetivo

Que el estudiante observe el efecto de la lluvia ácida en plantas terrestres a través de un experimento controlado en laboratorio.

Material

Por equipo

10 plantas pequeñas en macetas, se recomiendan los sapitos (*Maranta leuconeura*)

2 botellas de 3 L para guardar las soluciones de trabajo (pH 3 y pH 7)

1 vaso de precipitado de 2 L

1 pipeta de 10 mL

1 propipeta

1 agitador de cristal

2 cajas de Petri de 10 cm de diámetro

1 equipo de disección con 2 agujas, 1 bisturí, 1 pinzas

1 charola de disección

1 Palangana

1 potenciómetro

1 microscopio óptico

1 microscopio estereoscópico

1 cámara fotográfica (puede ser de teléfono celular)

Reactivos

H₂SO₄ o HCl

Estándares de pH (4, 7 y 10)

Método

Esta práctica se realizará en varias sesiones. Los resultados se esperan entre una y dos semanas después de iniciar la práctica según la especie de trabajo.

Preparación de reactivos

1. Encender y calibrar el potenciómetro que se usará para preparar las soluciones.
2. Preparar 3 L de una solución con ácido (puede ser HCl o H_2SO_4) para obtener un $pH = 3$. El ácido deberá ser manejado bajo la campana de extracción y usando siempre una propipeta. El ácido se incorporará al agua despacio, agitando y verificando con el potenciómetro el cambio de pH de la solución.
3. Evaluar el pH del agua del grifo y utilizarla como solución de pH7, ajustar el pH de ser necesario.

Procedimiento

1. Se seleccionarán y etiquetarán cinco plantas para formar dos lotes.
2. Las plantas serán colocadas en un sitio donde sea posible tener acceso diario y las plantas reciban luz, éste puede ser otro laboratorio, un cubículo o el domicilio de algún estudiante.
3. Diariamente se regará un lote con la solución ácida (pH3) y el otro con el agua de grifo (pH7).
4. Se registrará diariamente en una tabla de datos en la bitácora y con fotografías, el aspecto de las plantas y sus cambios (color de hojas, tallo, necrosis, caída y muerte).
5. Detener el experimento una vez que se obtenga una diferencia significativa entre los dos lotes.
6. Las plantas serán transportadas al laboratorio en el horario de clase, para realizar observaciones de hojas y raíces bajo el microscopio, anotar los cambios y analizar si existen diferencias.






Interpretación de resultados

1. Presentar en una tabla la frecuencia de los cambios observados en las plantas de los diferentes grupos de exposición.
2. Graficar la frecuencia de cada uno de los tipos de cambios observados en el tiempo (días).
3. Comparar los resultados aplicando la prueba estadística "t" de Student.
4. Presentar una línea del tiempo de los cambios observados en las plantas expuestas a pH3 que incluya las fotografías tomadas.

Cuestionario

1. ¿Cuál es el origen de los compuestos oxidantes que generan la lluvia ácida?
2. ¿Qué problemas de salud provoca la lluvia ácida?
3. ¿Cuáles son sus efectos en los ecosistemas y la biota acuática?
4. ¿Qué medidas pueden tomar los gobiernos para evitar la formación de lluvia ácida y sus efectos?
5. ¿En la carrera de Hidrobiología, que conocimientos considera usted que podrían ayudarle a estudiar el deterioro del ambiente por lluvia ácida?

Bibliografía

-  Bravo, H.A., Sosa, E.P., Sánchez, P.A., Soto, R.A., Alarcón, A. L. J. 2005. Precipitación ácida en la costa del Golfo de México. En: Botello, A.V., J. Rendón von Osten, G. Gold Bouchot y C. Agraz Hernández. *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. 2da Ed.: 535-552.
-  García, M.G., Ramírez, H., Meulenert, P.A., Gracia, F., Alcalá, J., Arellano, J.C., Espinoza, M.M. Torre, O. 2006. Influencia de los contaminantes SO₂ y NO₂ en la formación de lluvia ácida en la Zona Metropolitana de Guadalajara, Jalisco, México. *e-Gnosis*. 4:1-16.
-  Han, Z., Ueda, H. Sakurai, T. 2005. Model study acidifying wet deposition in East Asia during wintertime. *Atmospheric Environment* 40: 2360-2373.
-  Sanhueza, E., Santana, M., Donoso, L. Pacheco, M. 2005. Química atmosférica en la gran sabana III: composición iónica y características ácido-básicas de las lluvias. *Interciencia* 30(10): 618-622.
-  <http://www.ine.gob.mx/calair-info-basica/554-calair-lluvia-acida>

Práctica 6

Contaminación en subsuelo

Introducción

La contaminación en el subsuelo se genera por la migración de los contaminantes desde diferentes medios, como la atmósfera, escorrentías e incluso inyección. El transporte de contaminantes a través de éste presenta particularidades derivadas de la composición del suelo. La lixiviación depende además del contaminante específico. Algunas sustancias migran con facilidad, como es el caso de los nitratos, mientras que otras, como el DDT, son retenidas en la superficie por sus características químicas. El agua en el subsuelo se mueve en cierta dirección y con cierta velocidad, su destino depende de la permeabilidad del terreno, del volumen del acuífero y de la composición del suelo y su inclinación, entre otros aspectos. Una vez que los contaminantes entran en él, pueden deteriorar los mantos acuíferos, por lo que posiblemente el subsuelo es el medio que representa más problemas de control.

Debido a que el comportamiento de los contaminantes en el ambiente es complejo, con frecuencia se hace uso de modelos para deducir su dispersión, dilución y concentración, entre otros fenómenos. Existen diferentes tipos de modelos: hipotéticos, matemáticos, conceptuales y de tipo físico. Entre estos se incluyen los dispositivos experimentales y las maquetas. La presente práctica hace uso de una maqueta (Fig. 1) para ejemplificar el comportamiento de los contaminantes en el subsuelo cuando hay extracción de agua a través de pozos.



Figura 1. Dispositivo experimental para análisis de la contaminación en subsuelo.

Objetivo

Que el estudiante sea capaz de discernir si la extracción de agua a través de pozos modifica la migración de contaminantes en el subsuelo, y que calcule el tiempo de disminución de la concentración de contaminantes hasta niveles seguros, utilizando un modelo físico de subsuelo.

Material

Por grupo

1 maqueta de subsuelo

1 bomba de vacío

Por equipo

- 1 espectrofotómetro de luz
- 10 pipetas Pasteur con bulbo
- 3 probetas de 50 mL
- 10 vasos de 50 mL

Reactivos

- Colorante vegetal
- Agua destilada

Método

Preparación de reactivos

1. Elaborar una solución de 1 g de colorante en 50 mL de agua. Esta solución será considerada como 1000 mg/L de nitratos, 5 mg/L de Cr total y 220 mg/L de DBO₅.
2. A partir de la solución de colorante elaborada (100%) obtener las siguientes diluciones: 10%, 5%, 2.5%, 1.25% y 0.62%.

Procedimiento

1. Registrar la transmitancia en el espectrofotómetro, calibrando a 0% de transmitancia con la solución del colorante al 10%, y a 100% de transmitancia con agua. Generar una curva patrón, a partir de diluciones como indica la tabla 1.

Tabla 1. Curva patrón para calcular concentraciones hipotéticas de tres contaminantes.

Colorante	Transmitancia (%)	Nitratos (mg/L)	Cr total (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)
Control 0%	100			
0.62%				
1.25%				
2.50%				
5.00%				
10.00%	0			

2. Llenar la maqueta con agua. Conectar uno de los pozos al sistema de vacío para la extracción de muestras de agua.
3. Incorporar el colorante (100%) en el dispositivo de la maqueta que representa al cuerpo acuático.

4. Extraer el agua a través de la bomba de vacío. El colorante penetrará en el dispositivo atravesando las capas de diferentes materiales que representan las capas en el subsuelo. Reponer el colorante y el agua si disminuyen los niveles.
5. Extracción de muestras. Cuando el colorante llegue al pozo de extracción, se iniciará la toma de muestras (t_0). A partir de este momento se suspenderá el aporte del contaminante (colorante) y se tomarán muestras cada 5 minutos (un mínimo de 10). Se leerá la transmitancia de las muestras, estos datos se registrarán en la tabla 2.

Tabla 2. Registro de transmitancia en el agua extraída del dispositivo cada 10 minutos.

Colorante	Transmitancia	Nitratos (mg/L)	Cr total (mg/)	DBO ₅ (mg/L)
Muestra t_0				
Muestra t_1				
Muestra t_2				
Muestra $t \dots n$				





Interpretación de resultados

1. Calcular las concentraciones hipotéticas de nitratos, cromo y DBO₅, a partir de la curva patrón.
2. Se elaborará una gráfica de la variación de las concentraciones hipotéticas en el tiempo. Se espera un incremento de la concentración, seguido de una disminución paulatina. Cada minuto se considerará como un día.
3. Determinar en qué momento se alcanzan concentraciones por arriba de los límites aceptables para consumo humano (NOM-127-SSA1-1994) y para riego (NOM-001-SEMARNAT-1996).
4. Determinar en qué momento se vuelven a alcanzar niveles seguros para consumo y riego. Si es necesario se realizará una extrapolación.

Cuestionario

1. ¿Qué papel juega la adsorción en la migración de contaminantes en el subsuelo?
2. ¿Los compuestos que no lixivian son contaminantes importantes en el subsuelo?
3. ¿El dispositivo utilizado es un modelo de difusión de contaminantes?
4. ¿Qué consecuencias tiene la contaminación de mantos acuíferos?

Bibliografía

-  Arizabalo, R.D., G.G. Díaz. 1991. *La contaminación del agua subterránea y su transporte en medios porosos. Cuaderno 6.* Instituto de Geofísica, UNAM, México, 34 p.
-  Diario Oficial de la Federación. 2000. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. DOF, México, 21 p.
-  González-Morán, T. 2002. Modelo funcional del proceso de alteración del agua subterránea en las cercanías del basurero de Santa Catarina, Chalco, México. *Revista Geofísica* 57:111-124.
-  Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites Máximos Permisibles en las Descargas de Aguas Residuales en Aguas y Bienes Nacionales. *Diario Oficial de la Federación*, Diciembre 11, México. 35 p.

Práctica 7

Determinación de metales disueltos en agua

Introducción

Los metales han sido utilizados por el hombre desde épocas ancestrales para la elaboración de una amplia variedad de utensilios. Su uso se incrementó exponencialmente a partir de la Revolución Industrial, por lo que las actividades relacionadas con su extracción, transformación y uso se convirtieron en fuentes de contaminación cuyas consecuencias para el ambiente y el ser humano han sido devastadoras. Por lo anterior se han puesto límites a las concentraciones de estas sustancias en el agua, los suelos, los sedimentos y los alimentos.

Objetivo

Que el alumno determine la concentración de algunos metales (cromo VI y cobre) en muestras de agua e interprete la relevancia ambiental de sus resultados.

Material

Por grupo

1 espectrofotómetro HACH

Por equipo

8 vasos de precipitado de 50 o 100 mL

2 agitadores de vidrio

1 piceta con agua destilada

1 piceta vacía

2 probetas de 50 mL

5 pipetas de 10 mL

1 Botella de plástico 1 L

1 Botella de vidrio 1 L

Reactivos

HACH ChromaVer3

HACH CuVer1

Ácido nítrico concentrado

Agua destilada

Método

Preparación de reactivos

1. Preparar una solución de con ácido nítrico al 10%.
2. Asegurarse de tener una almohadilla de HACH ChromaVer3 y HACH CuVer1 para cada muestra y para el blanco.

Procedimiento

1. Toma y fijado de la muestra. Tomar una muestra de agua en una botella de plástico de 1L, usando guantes para evitar contaminar la muestra. Agregar a la muestra 2 mL de ácido nítrico concentrado (El tiempo máximo de conservación es de seis meses a una temperatura de 4°C).
2. Lavado de material. El material deberá ser lavado con Extran libre de fosfatos (NO LAVAR CON DETERGENTE COMERCIAL) y enjuagado con agua destilada, luego de lo cual se le dará tres enjuagues con ácido nítrico al 10%, para terminar con dos enjuagues de agua destilada.
3. Determinación de cromo hexavalente.
 - a) Preparación del blanco. Se agregan 25 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 50 mL.
 - b) Colocar 25 mL de la muestra en un vaso de precipitado.
 - c) Agregar a la muestra y al blanco una almohadilla del reactivo chromaVer3, disolver durante un minuto o hasta hacer reacción usando un agitador de cristal distinto para cada muestra.
 - d) Programar el espectrofotómetro a 540 nm y calibrar a cero con el blanco. Colocar la muestra en la celdilla y leer la concentración de la muestra directamente en el espectrofotómetro.
 - e) Si la muestra se encuentra muy concentrada deberá diluirse con agua destilada para obtener una lectura confiable.
 - f) Después de leer 10 muestras es necesario volver a calibrar el espectrofotómetro con el blanco antes de continuar leyendo otras 10 muestras.
4. Determinación de cobre.
 - a) Preparación del blanco. Se agregan 25 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 50 mL.
 - b) Colocar 25 mL de la muestra en un vaso de precipitado.
 - c) Agregar a la muestra y al blanco una almohadilla de del reactivo cuVer1, disolver durante un minuto o hasta hacer reacción.
 - d) Programar el espectrofotómetro a 560 nm y calibrar a cero con el blanco. Colocar la muestra en la celdilla y leer la concentración de la muestra directamente en el espectrofotómetro.
 - e) Si la muestra se encuentra muy concentrada deberá diluirse con agua destilada para obtener una lectura confiable.
 - f) Después de leer 10 muestras es necesario volver a calibrar el espectrofotómetro con el blanco antes de continuar leyendo otras 10 muestras.

Interpretación de resultados

Comparar los resultados con los límites de concentración para estas sustancias que marca la legislación Mexicana (NOM-001-SE-MARNAT-1996, NOM-127-SSA1-1994), de acuerdo al uso del agua de la muestra analizada.

Comparar sus resultados con lo reportado en la literatura en distintos cuerpos acuáticos, así como con información ecotoxicológica que permita deducir que especies o grupos pueden estar a salvo y en riesgo por la presencia de los metales.

Cuestionario

1. ¿Qué parámetros físico-químicos alteran la solubilidad de los metales?
2. ¿Cuál es el mecanismo general de toxicidad de los metales?
3. ¿Cuáles son los órganos destino del cobre y el cromo VI?
4. ¿Qué son las metalotioneínas y cuál es su importancia en el biomonitoreo de la contaminación por metales?
5. Describa el caso de cromatos de México.

Bibliografía

-  Albert, L. 2004. *Toxicología Ambiental*. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chihuahua, 453 pp.
-  Contreras Pérez, J. B., Mendoza, C.L. & A. Gómez. 2004. Determinación de metales pesados en aguas y sedimentos del Río Halna. *Ciencia y Sociedad* 29(1):38-71.
-  Diario Oficial de la Federación. 2000. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. DOF, México, 21 p.
-  Moreno, D.F. 2003. *Toxicología Ambiental*. Mc Graw Hill, México, 370 p.
-  HACH. 1992. HACH Water Analysis Handbook. 2ª Ed. Compañía Hach, Loveland, Colorado, 831pp.
-  Pérez, Gisbert, A. 2010. *Ingeniería del medio ambiente*. Editorial Club Universitario. España, 282 pp.
-  Robledo Marengo, M.L., A.E. Rojas García, I.M. Medina Díaz & B.S. Barrón Vivanco. (Eds.). 2012. *Fundamentos de Toxicología*, Universidad Autónoma de Nayarit, México, 571 p.
-  Santiago Rivas, S. 2007. Contribución a la determinación de la fracción de metales traza ligados a las proteínas similares a las metalotioneínas en muestras de mejillón. Tesis de Doctorado en Química. Universidad de Santiago de Compostela. Portugal.
-  Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites Máximos Permisibles en las Descargas de Aguas Residuales en Aguas y Bienes Nacionales. *Diario Oficial de la Federación*, Diciembre 11, México. 35 p.

Ejercicios

Ejercicio 1

Elaboración de soluciones

Introducción

El control del material y los reactivos es muy importante en el estudio de muestras ambientales, ya que cambios mínimos pueden generar interpretaciones erróneas, por lo tanto es indispensable la elaboración precisa de las soluciones. Por esta razón es necesario que el estudiante demuestre su capacidad en la elaboración de las mismas.

Se utilizan de manera común las siguientes soluciones:

1. **Molales (m)**: Estas se obtienen con el peso en moles del soluto **más** un litro de disolvente.
2. **Molares (M)**: Estas se obtienen con el peso en moles del soluto **aforado** a un litro de disolvente.
3. **Normales (N)**: Estas se obtienen con el **peso equivalente** (moles/número de valencia) del soluto **aforado** a un litro de disolvente. El número de valencia es el que se genera en la sustancia al separarse en forma iónica, por ejemplo el HCl, forma un ion H^{1+} y un ion Cl^{1-} , por lo que su número de valencia es 1; el H_2SO_4 , se separa como H_2^{2+} y SO_4^{2-} , por lo que su número de valencia es 2.
4. **Porcentuales**: Que se obtienen con el peso del soluto aforado a 100 mL del disolvente.
5. O bien la concentración en g, mg, μ g, o mL mL/L.

Si el soluto tiene estado sólido, se obtiene el peso en gramos, pero si su estado es líquido, se calcula el peso a través de la fórmula de densidad:

$$\text{Densidad} = \text{masa (g)} / \text{volumen (mL)} \text{ o } d = m/v,$$

Ejemplo. Para obtener 1 g de ácido sulfúrico (H_2SO_4 , cuya densidad es 1.84) y se encuentra en estado líquido, se deben tomar 0.54 mL, porque:

$$v \text{ (mL)} = m \text{ (g)} / d = 1 / 1.84$$

Si la sustancia se encuentra diluida, esto deberá considerarse al elaborar la solución. Ejemplo. El ácido clorhídrico (HCl) al 100% se volatiliza y es tóxico. El reactivo en los laboratorios se indica en el recipiente, suele estar al 35%. Así, si se desea obtener 10 mL de HCl cuya pureza es 35%, se deben tomar 28.57 mL, porque:

10 mL se encuentran al 35%,	10 mL _____ 35%	
como X mL se obtendrían al 100%	X mL _____ 100%	X = 28.57 mL

Objetivo

Que el estudiante practique y reafirme los conocimientos en el cálculo necesario para la elaboración de soluciones de uso común en el análisis de contaminantes y efectos de tóxicos.

Método

Procedimiento e interpretación de resultados

El estudiante indicará la forma correcta en que se deben elaborar las siguientes soluciones:

1. 100 mL de una solución 8% de NaOH.
2. 200 mL de una solución 14% de H_2O_2 cuya pureza es de 25%.
3. Un litro de agua con salinidad de 25 partes por mil de NaCl.
4. 100 mL de una solución 1 N HCl, cuya pureza es 37.46%, densidad 1.19.
5. 50 mL solución 2.5 N de H_2SO_4 (pureza 98%, densidad 1.84).
6. Un litro de una solución 1.5 M de $NaNO_3$ a partir de un reactivo heptahidratado ($NaNO_3 \cdot 7H_2O$).
7. 500 mL de una solución 0.2 N de Na_2CO_3 a partir de $Na_2CO_3 \cdot 11H_2O$
8. 200 mL de caldo lactosado (fórmula por litro: peptona de gelatina 5g, extracto de carne de res 3g, lactosa 5g).

Cuestionario

1. ¿Por qué es importante que los hidrobiólogos sepan manejar soluciones correctamente?
2. Siendo el límite máximo permisible 0.0002 mg/L de Cd para la protección de la vida acuática en agua costera y estuarios, ¿Cómo se interpreta una muestra en la que se registraron 3 ppm (partes por millón)?
3. ¿Si se llevan a cabo bioensayos con *Daphnia magna* (especie dulceacuícola), puedo ocupar un agua con 1% de salinidad?
4. ¿Es posible utilizar agua con 3.5% de salinidad para colocar en un acuario peces provenientes de arrecifes?

Bibliografía

 Plumer, D.T., 1981. *Bioquímica Práctica*. Mc Graw Hill, México, 345 p.

Ejercicio 2

Sólidos particulados

Introducción

Los materiales sólidos asociados al aire o al agua modifican sus características y tienen consecuencias en los ecosistemas y en la salud humana. Este material puede ser considerado contaminante si su proporción natural se incrementa como resultado de erosión, intemperismo o la introducción de materiales pulverizados.

En muestras de agua es posible caracterizar los sólidos particulados y disueltos, y diferenciar en estos la fracción orgánica (volátil) y la inorgánica (fija), con lo que se pueden tener valores de: Sólidos Particulados Totales (SPT), Sólidos Disueltos Totales (SDT), Sólidos Totales Totales (STT), Sólidos Particulados Fijos (SPF), Sólidos Disueltos Fijos (SDF), Sólidos Totales Fijos (STF), Sólidos Particulados Volátiles (SPV), Sólidos Disueltos Volátiles (SDV) y Sólidos Totales Volátiles (STV).

Objetivo

Que el alumno interprete la importancia de los contenidos de sólidos totales (totales, volátiles y fijos) presentes en el agua, respecto al tipo de sistema que la contiene y la actividad que en él se desarrolla.

Método

Procedimiento e interpretación de resultados

1. A partir de los valores proporcionados en la tabla 1, interprete si el sistema acuático de donde se tomaron las muestras se encuentra en buenas condiciones, y si el uso que se le da al agua se ve afectado por la cantidad de sólidos particulados que contiene.
2. Leer el artículo: Effects of Suspended Sediments on Aquatic Ecosystems (Newcombe & Macdonald, 2011), disponible en el siguiente vínculo.
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1577/1548-8675%281991%29011%3C0072%3AEOSSOA%3E2.3.CO%3B2#.Uh7Ktz-BWCg>

Tabla 1. Cantidad de partículas de diferentes ecosistemas acuáticos.



TIPO DE SISTEMA	ACTIVIDAD	STT(Σ)	STV(ORG)	STF(INOR)
Río Arriba	---	0.05	0.002	0.048
Río	Agricultura controlada	0.08	0.022	0.058
Río	Forestal Clandestina	0.30	0.20	0.10
Río	Ganadería	0.38	0.25	0.13
Laguna costera	---	0.35	0.23	0.12
Laguna costera	Acuicultura camarón	0.28	0.19	0.09
Laguna costera	---	0.17	0.15	0.02
Boca laguna	---	0.15	0.10	0.05

STT= Sólidos Totales Totales, STV = Sólidos Totales Volátiles, STF = Sólidos Totales Fijos

Cuestionario

1. ¿Qué supuesto se consideró para el desarrollo del modelo de sedimentos suspendidos?
2. Mencione cinco efectos de los sedimentos en los salmones.
3. ¿Qué factores considera el Índice de estrés en los organismos?
4. ¿En qué afecta a los invertebrados la presencia de sedimentos suspendidos?
5. ¿Con qué están relacionados los efectos de los sedimentos sobre el perifiton?
6. Describa brevemente tres métodos para la eliminación del material particulado del agua.
7. ¿Es importante el tamaño de las partículas en relación a su efecto como contaminante?

Bibliografía

-  Newcombe, C. P. & D. D. Macdonald. 1991. Effects of Suspended Sediments on Aquatic Ecosystems. *North American Journal of Fisheries Management* 11(1): 72-82
-  Pepper, I.L., Ch. P. Gerba & M.L. Brusseau. 2006. *Environmental and Pollution Science*. Academic Press, London.

Ejercicio 3

Residuos sólidos o basura

Introducción

Se denomina basura a todo aquel material o producto considerado como desecho y que necesita ser eliminado. La acumulación de estos materiales puede causar problemas de salud humana y ambiental si se hace de manera inadecuada. El manejo de residuos incluye su recolección, clasificación, tratamiento y eliminación.

La composición de los residuos está estrechamente relacionada con el nivel de desarrollo y los hábitos de consumo de las poblaciones. De manera general, los residuos pueden ser clasificados de acuerdo con su composición en orgánicos e inorgánicos. Algunos residuos poseen características que los hacen peligrosos por lo que su manejo debe hacerse por separado y bajo estrictas reglas de manejo.

Objetivo

Que el alumno analice el tipo y cantidad de basura que se genera su casa y lo vincule a las estadísticas nacionales e internacionales.

Método

Material por persona:

1 par de guantes de plástico

1 hoja de registro

1 balanza

Procedimiento e interpretación de los resultados

1. Durante toda una semana se clasificará, pesará y registrará diariamente toda la basura producida en la casa de cada uno de los miembros del equipo.
2. Los datos obtenidos serán ajustados para expresarlos en Kg/persona/día.
3. Se llenará la tabla 1 por persona, por equipo y por grupo, para lo cual deberá calcular los valores promedio de residuos sólidos generados.

Tabla 1. Registro de basura producida en los domicilios de los integrantes del grupo.

Tipo de Residuo	Cantidad	Peso
Restos de alimentos		
Vidrio		
Papel y derivados		
Textiles		
Plásticos		
Metales		
Otros		




Interpretación de resultados

1. Comparar los datos obtenidos entre los miembros del equipo y explicar a qué pueden deberse las diferencias observadas.
2. Comparar los datos generados con los de los otros equipos del grupo.
3. Comparar el promedio de producción de residuos sólidos del grupo con las estadísticas nacionales e internacionales.

Cuestionario

1. ¿Cómo se clasifican los residuos sólidos de acuerdo con su origen?
2. ¿Qué son los residuos peligrosos y que normas se aplican a su manejo?
3. ¿Qué son los residuos de manejo especial y que normas se aplican a su manejo?
4. ¿Qué problemas presenta el manejo de la basura tecnológica?
5. ¿Cómo podría reducir la generación de basura en su casa?
6. Por ley, ¿quién debe encargarse del manejo de la basura en México?
7. Describa el problema de la basura en los ambientes marinos.
8. ¿Qué son las islas de plástico y dónde se localizan?
9. ¿Qué convenios internacionales ha firmado México con relación al manejo de residuos?

Bibliografía

-  Bernache, G. 2006. Cuando la basura nos alcance: el impacto de la degradación ambiental. CIESAS. Guadalajara, Jal., 551 pp.
-  Elias, X. 2009. Reciclaje de residuos industriales: Residuos sólidos urbanos y fangos de depuradoras. 2ª. Ed. Ediciones Díaz de Santos. Madrid. 1295 pp.
-  Mora, R. 2004. *El problema de la basura en la Ciudad de México*. Fundación de Estudios Urbanos y Metropolitanos Adolfo Christlieb Ibarrola, 82 p. (páginas 17, 18 y 20).

Ejercicio 4

Evidencias estadísticas de deterioro ambiental

Introducción

De acuerdo con la CEPAL (Comisión Económica para América Latina y el Caribe) es importante que los países cuenten con fuentes periódicas de información para apoyar la toma de decisiones en materia de control y prevención de la contaminación ambiental (Mercado, *et al.*, 2008). En México la SEMARNAT ha puesto a la disposición del público un número de estadísticas ambientales que pueden ayudar a observar la situación actual, así como algunas de las tendencias de deterioro ambiental.

Objetivo

Que el alumno analice la situación ambiental actual y sus tendencias a partir de la información disponible en las estadísticas oficiales de medio ambiente.

Método

Procedimiento

A partir del Módulo de consulta de estadísticas ambientales de México en la SEMARNAT:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/mce_index.html

1. Analizar la calidad del agua en el período 1990-2006 de dos de los siguientes cuerpos acuáticos: Lago de Catemaco, Lago de Chapala, Lago de Pátzcuaro, Río Bravo, Río Grijalva, Río Lerma y Río Pánuco.

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServletad33.html

La discusión de los datos anteriores puede hacerse con base en los Criterios de calidad del agua:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServleta0c5.html

2. Analizar las emisiones de contaminantes derivados de diversas fuentes por entidad utilizando los datos de los años 1999 y 2005:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/mce_index.html

3. Analizar los datos de especies invasoras 2007 -2011, para especies acuáticas:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServlet162b.html

4. Analizar la generación estimada de residuos peligrosos según la categoría de generador:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServletc51f.html

y la generación estimada de residuos peligrosos según el tipo de industria.

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServlet7932.html

5. Analizar las tasas estimadas de deforestación según el tipo de vegetación.

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServlet982a.html

6. Analizar y comparar la degradación de suelos de 1999,

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServletc044.html

con la degradación de suelos de 2002,

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServlete903.html

y la degradación de suelos: superficie afectada por procesos y tipos de degradación según tipo de vegetación, 2002:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServlet47c4.html

7. Analizar la evolución en el consumo de energía:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServletb92f.html





Interpretación de resultados

La integración de la información consultada deberá hacerse con base en estadística descriptiva y/o gráficos, los cuales deberán tener título y cita al texto.

Se llevará a cabo un análisis crítico de la calidad de la información y podrán proponerse mejoras al sistema.

Sin embargo, lo más importante es discutir qué refleja la información con respecto al estado de salud del ambiente en México.

Literatura recomendada

-  Mercado, A., C. López, A. Flores, F. Giner, B. Graizbord, A. Lorea & C. Schatán. 2008. Desarrollo de las estadísticas del medio ambiente: planteamientos y conclusiones. Simposio Desarrollo de las estadísticas del medio ambiente: fuentes, alcances y usos. Ciudad de México, Octubre 20-21, 2008. Consultado el 10 de abril de 2013 en:
 <http://www.eclac.org/dmaah/noticias/noticias/6/36376/conclusiones-simposio-rev7a.pdf>
-  SEMARNAT. Compendio de estadísticas ambientales 2012. Consultado el 10 de abril de 2013 en:
 http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/Compendio_2012/mce_index.html

Ejercicio 5

Manejo e interpretación de datos de monitoreo ambiental

Introducción

El deterioro ambiental a nivel mundial y sus consecuencias en la salud humana y de los ecosistemas ha motivado a los gobiernos de muchas naciones a establecer acuerdos para controlar dicha situación. Una herramienta fundamental en la lucha por el medio ambiente es el monitoreo, el cual se define como la observación del comportamiento de uno o más parámetros en el ambiente para detectar cambios. Un programa de monitoreo ambiental se diseña con base en los objetivos que se desean alcanzar; es decir, dependiendo de las preguntas a las que se quiera dar respuesta se establecerán los parámetros a medir, así como la frecuencia de las mediciones y la ubicación de los sitios de muestreo. Asimismo, las variaciones naturales debidas a los ciclos anuales de ciertos parámetros ambientales y los procesos de sucesión deben ser consideradas, así como el historial de las alteraciones de tipo antropogénico del área de interés. En general, un programa de monitoreo debe ser continuo y de largo plazo para obtener datos confiables útiles en el diseño de estrategias y para la toma de decisiones.

Objetivo

Que el alumno sea capaz de analizar e interpretar datos ambientales de un sistema de monitoreo.

Método

Procedimiento




La oficina encargada de manejar el Sistema Ambiental de Usos Múltiples “Escalante Salgado” diseñó un sistema de monitoreo de diez estaciones, ubicadas a lo largo y ancho del sistema, en el que se evaluaron parámetros fisicoquímicos y biológicos (Ver figura 10 y tablas 1 a 5).

Analizar cada variable para tratar de explicar si se observan cambios y si estos se pueden explicar por la propia naturaleza del sistema o si estos cambios pudieran tener un origen antropogénico.

Interpretación de los resultados

1. Aplicar estadística descriptiva y graficar los datos por temporada.
2. Conseguir límites máximos permisibles, criterios de calidad y/o normas aplicables a cada uno de los compartimentos ambientales evaluados (agua, suelos, sedimentos, biota), para evaluar la calidad ambiental.
3. Conseguir información ambiental de otros sistemas en México para comparar el comportamiento de los parámetros medidos.
4. El reporte del presente ejercicio deberá tener el formato de una publicación científica de la Revista Hidrobiológica.

Bibliografía

-  Chapman, D. 1996. *Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring*. 2nd Ed. UNESCO/WHO/UNEP Londres. 609 pp.
-  Montes de Oca, R. 1996. Monitoreo ambiental. En: *Curso de Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud, México*. AMCRESPAC. 258-282.
-  Wiersma, G, B. 2004. *Environmental Monitoring*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 768 pp.

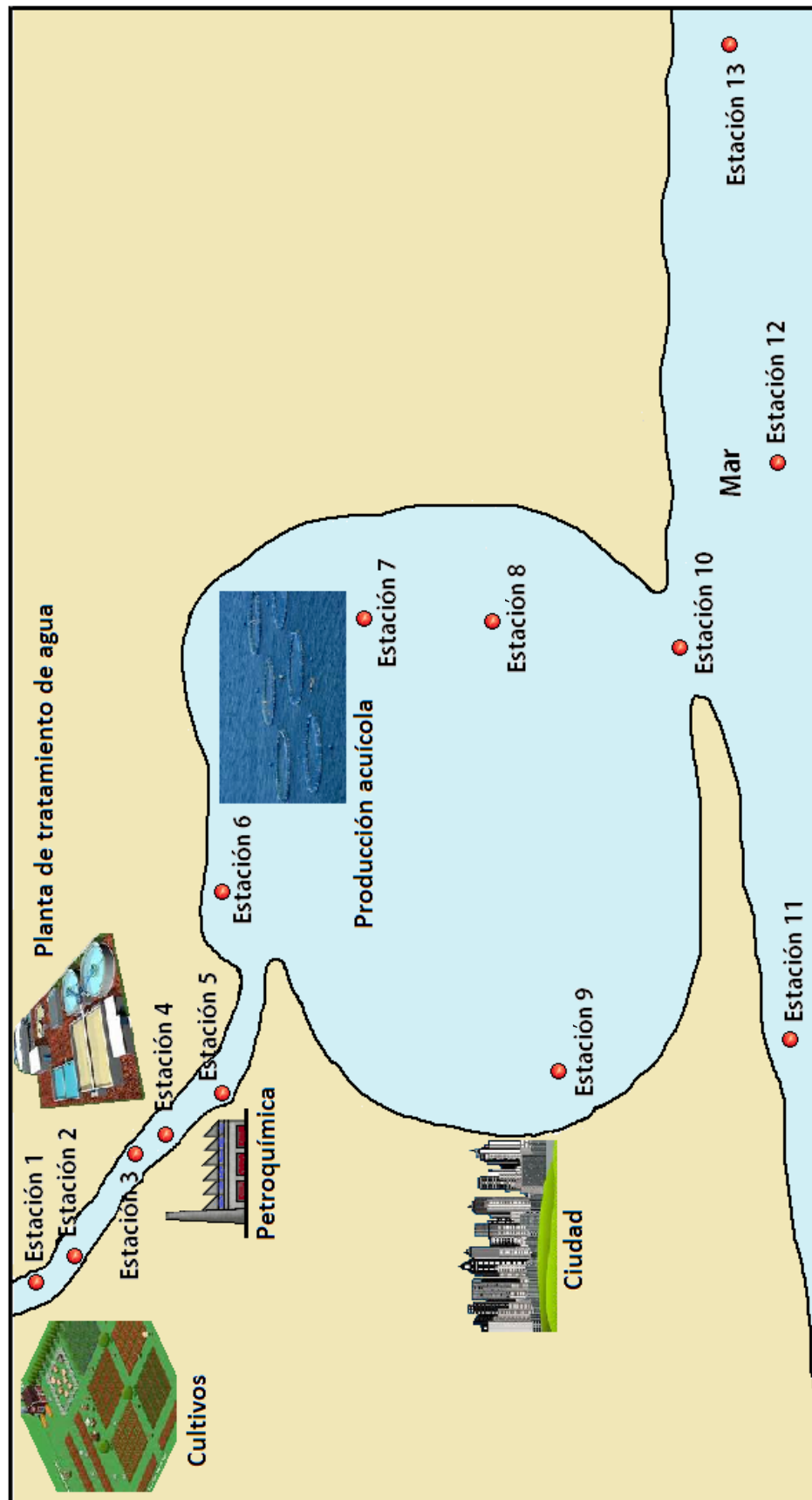


Figura 1. Sistema Ambiental de Usos Múltiples "Escalante Salgado".

Tabla 1. Monitoreo de agua en época de lluvias

ESTACION	T°C	OD	pH	Salinidad	PPO ₂ mg/L	NNH ₄ mg/L	NN-NO ₃ mg/L	∕N-NO ₂ mg/L	DEBBO ₅ (mg/L)	Coliformes (NMP/100 ml)	Cu (ppm)	Cr VI (ppm)	Hg (ppm)
Estación 1	18.4	6	7	0	0.2	0.055	0.02	0.002	110	156	0.003	0.051	0.1
Estación 2	18.8	5.3	7.8	0	4.8	2.15	0.23	0.036	365	163	0.004	0.055	0.5
Estación 3	20.2	4	7.3	0	5.3	2.5	0.25	0.038	210	243	0.015	0.06	0.3
Estación 4	19	5.1	7.5	0	2.3	2.2	0.18	0.012	189	134	0.009	0.05	0.2
Estación 5	21.6	3.7	6.3	0	1.8	1.8	0.14	0.009	500	119	0.134	1.39	1.3
Estación 6	19.6	4	7.4	0	1.5	1.3	0.11	0.004	163	104	0.011	0.08	0.9
Estación 7	19.9	3.8	7.7	0	2.3	2.1	0.18	0.021	366	99	0.008	0.06	0.4
Estación 8	18.9	4.1	7.5	0	1.9	1.4	0.13	0.013	178	96	0.005	0.05	0.5
Estación 9	20	3.2	8	0	2.7	2.8	0.21	0.019	265	269	0.018	0.071	0.7
Estación 10	19.5	4.7	8.3	6	1.02	0.5	0.18	0.011	199	141	0.006	0.05	0.3
Estación 11	19	5.8	8	36	0.015	0.01	0.04	0.002	80	95	0.002	0.03	<LD
Estación 12	19.4	5.2	8.2	32	0.07	0.3	0.11	0.008	131	134	0.004	0.04	<LD
Estación 13	19	6	8.2	36	0.02	0.025	0.05	0.004	95	123	0.003	0.04	<LD

Tabla 2. Monitoreo de agua en época de secas

ESTACION	T°C	OD	pH	Salinidad	PPO ₂ mg/L	NNH ₄ mg/L	NN-NO ₃ mg/L	∕N-NO ₂ mg/L	DEBBO ₅ (mg/L)	Coliformes	Cu (ppm)	Cr (ppm)	Hg (ppm)
Estación 1	25.6	0.6	7.4	0	0.26	0.062	0.031	0.004	110	163	0.008	0.076	0.3
Estación 2	25.7	2	7.9	0	5.6	2.36	0.45	0.051	497	176	0.01	0.089	0.6
Estación 3	25.8	3.1	7.6	0	5.48	2.9	0.41	0.062	289	297	0.023	0.075	0.5
Estación 4	26	1.5	7	0	2.64	2.6	0.31	0.024	189	154	0.016	0.069	0.1
Estación 5	26.4	1.3	7	0	2.11	2.01	0.24	0.016	511	136	0.364	1.65	1.8
Estación 6	25	0.7	7.2	0	1.9	1.51	0.16	0.009	178	144	0.026	0.12	1
Estación 7	25	1.9	7.4	0	2.59	2.31	0.31	0.036	374	125	0.016	0.09	0.6
Estación 8	25.4	0.8	7.2	0	2.03	1.6	0.18	0.021	178	90	0.011	0.07	0.4
Estación 9	26.4	3.6	8	2	2.93	3.02	0.43	0.032	291	401	0.039	0.104	0.9
Estación 10	25.6	0.9	7.3	10	1.63	0.68	0.23	0.019	190	135	0.013	0.09	0.5
Estación 11	24	0.5	7.3	36	0.02	0.023	0.08	0.005	44	104	0.003	0.04	0.1
Estación 12	25	0.6	7.5	35	0.15	0.45	0.18	0.011	114	134	0.01	0.07	0.3
Estación 13	25	0.5	7.2	36	0.08	0.043	0.11	0.007	86	126	0.007	0.06	0.1

Tabla 3. Monitoreo de sedimentos superficiales en lluvias y secas.

ESTACIÓN	N-NO ₂ (mg/L)		N-NO ₃ (mg/L)		PO ₄ (mg/L)		Hg (mg/L)		Cu (mg/L)		Cr (ppm)	
	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
Estación 1	9	36	1.6	4.3	0.18	0.75	ND	0.1	5.1	7.3	10.6	17.9
Estación 2	10	12	8.7	6.7	0.41	0.65	0.1	0.3	5.3	8.2	16.2	21.3
Estación 3	12	39	1.9	6	0.19	0.78	0.1	0.3	26.4	51.4	34.9	48.7
Estación 4	15	59	1.1	4.1	0.09	0.32	0.2	0.2	17.6	39.2	25.1	31.6
Estación 5	17	70	1.6	4.4	1.01	2.17	64	115.7	45.3	68.4	75.6	94.8
Estación 6	8	13	1.3	3.8	0.12	0.21	0.5	0.5	34.9	49.4	49.1	67.3
Estación 7	34	47	8.5	6.3	0.99	2.94	0.1	0.2	27.1	36.4	26.3	46.2
Estación 8	13	9	1.1	3.3	0.1	0.16	0.1	0.3	19.3	27.1	19.3	37.9
Estación 9	19	26	2.9	5.2	0.34	0.89	0.6	0.8	21.3	34.1	29.1	32.4
Estación 10	11	16	1	3.1	0.11	0.24	0.1	0.1	14.3	24.8	16.4	24.3
Estación 11	4	3	0.7	1.3	0.01	0.03	>LD	0.1	4.1	5.3	6.3	9.4
Estación 12	9	9	0.8	2.4	0.08	0.14	0.1	0.1	8.4	13.9	11.9	18.4
Estación 13	6	3	0.7	1.6	0.04	0.06	>LD	0.1	5.3	8.4	9.4	12.3

Tabla 4. Concentración de metales en peces del sistema en lluvias y secas

ESTACIÓN	Cd (ppm)		Pb (ppm)		Hg (mg/L)	
	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
Estación 1	0.007	0.01	0.000	0.065	0.002	0.007
Estación 2	0.005	0.013	0.002	0.053	0.004	0.009
Estación 3	0.006	0.018	0.005	0.094	0.006	0.009
Estación 4	0.007	0.012	0.011	0.041	0.006	0.008
Estación 5	1.361	3.263	1.004	1.327	1.891	2.698
Estación 6	0.006	0.019	0.008	0.033	0.015	0.245
Estación 7	0.006	0.01	0.005	0.046	0.018	0.126
Estación 8	0.004	0.12	0.005	0.036	0.018	0.095
Estación 9	0.008	0.035	0.041	0.021	0.013	0.087
Estación 10	0.006	0.013	0.060	1.03	0.080	0.014
Estación 11	0.003	0.01	ND	0.005	0.000	ND
Estación 12	0.005	0.01	0.000	0.011	0.006	0.010
Estación 13	0.003	0.01	0.000	0.009	0.004	0.001

Tabla 5. Concentración de metales en moluscos del sistema en lluvias y secas

ESTACIÓN	Cd (ppm)		Pb (ppm)		Hg (mg/L)	
	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
Estación 1	0.13	0.41	0.86	1.05	0.97	1.64
Estación 2	0.41	0.82	1.09	1.54	1.32	1.85
Estación 3	0.56	1.09	1.78	3.61	1.96	2.39
Estación 4	0.23	0.59	1.36	2.78	2.03	3.54
Estación 5	2.68	5.06	4.69	9.34	6.79	8.66
Estación 6	1.32	3.54	3.05	7.35	4.31	5.84
Estación 7	0.86	2.31	2.13	5.63	2.06	3.96
Estación 8	0.46	1.06	1.58	3.21	1.69	2.98
Estación 9	0.31	0.74	1.21	2.14	1.31	1.87
Estación 10	0.14	0.49	0.98	1.58	0.98	1.15
Estación 11	0.02	0.05	0.24	0.55	0.16	0.23
Estación 12	0.06	0.21	0.73	1.03	0.64	0.93
Estación 13	0.04	0.11	0.53	0.91	0.53	0.54

Ejercicio 6

El concepto de riesgo y de evaluación del riesgo ecológico

Introducción

Riesgo: es la probabilidad de que ocurra algo dañino como resultado de una acción y está en función del peligro y la probabilidad de que este peligro ocurra. La probabilidad se expresa usualmente como una fracción, mayor que cero y menor que uno. Aunque en ocasiones el riesgo puede expresarse sin cifras. Existe un riesgo cuando se presentan agentes estresores, los cuales pueden ser sustancias o condiciones que representen un peligro por exposición.

Un riesgo no existe a menos que dos condiciones estén presentes:

- a) cuando el estresor tiene la habilidad inherente de causar efectos adversos.
- b) cuando el estresor ocurre junto con un componente ecológico o humano con duración y magnitud suficiente para provocar el efecto adverso identificado.

Peligro: es el grado de daño (una medida de la magnitud del efecto nocivo). El peligro que representa una sustancia depende de la toxicidad de la misma y de la dosis o exposición recibida. Es una propiedad intrínseca de la sustancia.

Exposición: es el contacto entre la sustancia y un individuo o grupo. Ésta puede ocurrir cuando un individuo o grupo han tocado, respirado o ingerido el material en cuestión. La parte que se introduce en el cuerpo es la **dosis**.

Toxicidad: es la capacidad de una sustancia de dañar un organismo.

Evaluación del Riesgo Ecológico (ERE). Es un procedimiento científico, que se aplica para la toma de decisiones en materia ambiental, a través del cual se evalúa y asigna probabilidades a los posibles efectos de las actividades humanas sobre el medio ambiente.

Objetivo

El estudiante se familiarizará con el concepto de riesgo y de Evaluación del Riesgo Ecológico a través del manejo de datos.

Método

Procedimiento

1. Análisis del concepto de Riesgo. En la tabla 1 se presenta el riesgo asociado a varias actividades cotidianas. Éste se expresa como el número promedio de personas que morirán por cada 1 000 000 de individuos que participan regularmente en la actividad descrita.

El alumno marcará con una "X" si el riesgo de muerte asociado a cada actividad es voluntario o involuntario, y si aceptaría o no llevar a cabo dicha actividad una vez que ha conocido el riesgo que representa para su vida.

Tabla 1. Riesgo de muerte en actividades cotidianas y deportivas por cada millón de individuos.

Actividad	Riesgo	Voluntario	Involuntario	Aceptado	Rechazado
Andar en motocicleta	20,000				
Paracaidismo	2,000				
Cáncer por fumar	1,200				
Trabajar de bombero	800				
Volar en parapente	800				
Jugar futbol americano profesional	800				
Minero de carbón	630				
Trabajar en una granja	360				
Accidentes en automotores	240				
Homicidios	93				
Nadar	32				
Cazar	30				
Incendios	28				
Jugar futbol americano colegial	10				
Vivir con un fumador	10				
Comer 4 cucharadas diarias de mantequilla de maní	8				
Beber agua clorinada	8				
Comer 100 carnes asadas al carbón	1				
Ser alcanzado por un rayo	0.5				

2. Evaluación de Riesgo Ecológico (ERE). Una de las formas más sencillas de caracterizar el riesgo que una sustancia representa es a través del cociente de Riesgo (CR) el cual es igual a la concentración ambiental esperada (CEE), dividida entre la toxicidad (T) del compuesto. Valores mayores a 1 señalan que existe Riesgo de toxicidad.

$$CR = CEE / T$$

La tabla 2 presenta valores de toxicidad y las concentraciones esperadas de un molusquicida que se piensa aplicar en los ecosistemas acuáticos. Calcule el CR para los artrópodos terrestres y acuáticos.

Tabla 2. Toxicidad y exposición de tres artrópodos expuestos a un molusquicida.

Artrópodos	Tipo	Efecto agudo	Toxicidad (48 h)	Exposición
Porcellio laevis	Terrestre	DL50 (mg /L)	42.15	0.44
Moina macrocopa	Acuático	CL50 (mg /L)	0.00002	0.33
Muscidifurax raptorellus	Aéreo	CL50 (mg /L)	10.32	0.10





*Tomado de Iannacone y Alvarino (2002).

Explique qué especie está en mayor riesgo y por qué.

Cuestionario

1. ¿Es posible que el riesgo de una actividad sea igual a cero? Explique su respuesta.
2. Enliste algunos de los riesgos que toma a diario.
3. ¿Cuál es la diferencia entre riesgo voluntario e involuntario?
4. ¿Cuál es el papel de los medios de comunicación en nuestra percepción de los riesgos?
5. Enliste otros factores que influyen en la percepción de riesgo y dé un ejemplo de cómo cada factor influye en esta percepción.
6. ¿Es la vida más arriesgada que hace cien años? Explique por qué.
7. ¿Por qué es importante tomarnos el tiempo para estar informados sobre los riesgos?

Bibliografía

-  Gallivan, G. J., G. A. Surgeonery J. Kovach. 2001. Ecological Risk Assessment. Pesticide Risk Reduction on Crops in the Province of Ontario. *J. Environ. Qual.* 30:798–813.
-  Iannacone, O. J. & F.L. Alvariño. 2002. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida cartap en bioensayos con tres invertebrados. *Agricultura Técnica*, 62(3), 366-374.
-  Ize, I. & M. Zuk. 2010. Conceptos básicos del análisis de riesgos ambientales. En: Ize, I., M. Zul & L. Rojas-Bracho. (Eds.). *Introducción al análisis de riesgos ambientales. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos naturales*. INE, México: 21-28.
-  Ramírez-Romero, P. & A. Mendoza Cantú. 2008. Fundamentos de la evaluación de riesgo ecológico. En: Evans, J. & L. Roja (Eds.). *Introducción al Análisis de Riesgos Ambientales*. SEMARNAT-INE. México. 125-147.

Ejercicio 7

Sentido de identidad

Introducción

El ser humano ha modificado el ambiente por décadas y en la actualidad no tiene un contacto directo con la naturaleza, lo que ha generado una desconexión muy profunda que afecta su sentido de identidad, ya que no se identifica como parte del ecosistema. Así, se hace necesaria una reflexión acerca de la percepción del ambiente, del uso de los recursos y de lo que significa el concepto de calidad ambiental. Para ello se necesita conocer los siguientes conceptos:

Identidad: Conjunto de rasgos o informaciones que individualizan o distinguen algo y confirman que es realmente lo que se dice que es.

Identificarse: Llegar a sentir algo ajeno como propio, estar totalmente de acuerdo con las creencias o propósitos de alguien.

Objetivo

Que el estudiante reflexione sobre el conocimiento y la relación que tiene con el ambiente en el que vive y cómo esta relación afecta su percepción de la calidad del ambiente.

Método

Procedimiento

A continuación se presenta una serie de preguntas que deberán ser respondidas de manera individual para llevar a cabo una reflexión.

País donde nació:

Estado donde nació:

Ciudad donde nació:

Descripción del lugar donde actualmente vivo:

1. ¿Qué especies vegetales existen en donde vivo?
2. ¿Qué especies animales existen en donde vivo?
3. ¿Qué ecosistemas, hábitats, etc., existen en donde vivo?
4. ¿Cómo es la calidad del agua que consumo y uso en casa?
5. ¿De dónde proviene el agua que tomo?
6. ¿A dónde va a dar el agua que ya use y que desecho?
7. ¿A dónde va a dar la basura que genero?
8. ¿Cómo es la calidad del aire que respiro?

9. ¿Qué sentimientos despierta en mí el lugar donde vivo?




10. ¿Qué puedo hacer para mejorar mi entorno?

Ahora conteste las mismas preguntas para su lugar favorito.

Si no conoce la respuesta a alguna de estas preguntas, lleve a cabo una investigación para obtener la información.

Las respuestas individuales deberán ser analizadas en equipo y se deberá entregar un reporte que incluya los cuestionarios individuales de los miembros del equipo y la reflexión colectiva acerca de la percepción que se tiene del ambiente, la calidad del mismo y el sentido de identidad.

Bibliografía

-  Davis, P. 2011. *Ecomuseums: A Sense of Place*. 2nd Edition. Continuum Int. Pub. Group. New York, NY. 300 p.
-  Kudryavtseva, A., R. C. Stedman & M. E. Krasny. 2012. Sense of place in environmental education. *Environmental Education Research*. 18(2): 229-250.
-  Western Regional Environmental Education Council. 1992. *Project Wild. Activity Guide*. Western Regional Environmental Education Council, Bethesda U.S.A., 386 p.

Cuestionarios

Cuestionario 1

Del documental “Chapala: en lucha contra la extinción”

1. ¿Qué tipos de problemas presenta el Lago de Chapala?
2. ¿Cuál es el origen de los problemas del Lago de Chapala?
3. ¿En dónde se encuentra ubicado el Lago de Chapala?
4. Describa la cuenca hidrológica a la que pertenece y la importancia de la misma.
5. ¿Ha cambiado la situación del Lago de Chapala en los últimos 10 años? Explique su respuesta.
6. Si usted fuera contratado por el gobierno federal para mejorar la situación global del Lago de Chapala, qué tipos de profesionistas/especialistas contrataría y para qué?
7. Proponga un proyecto para la investigación de alguno de los problemas del Lago de Chapala. Esto deberá incluir una breve introducción al problema que se estudiará, una propuesta de método y bibliografía.

Cuestionario 2

Del video “Contaminación Lumínica”

Este video se puede ver en youtube: <http://www.youtube.com/watch?v=bT5IVpww9Lk>

1. ¿Qué es la contaminación lumínica?
2. ¿Qué efectos negativos tiene la contaminación lumínica?
3. ¿Qué genera el halo luminoso de las ciudades?
4. ¿Por qué es importante conservar la calidad del cielo nocturno?
5. ¿Cuáles son los riesgos del deslumbramiento?
6. ¿Qué es la intrusión lumínica y cuáles son sus consecuencias?
7. ¿Cómo deberían ser las luminarias públicas?
8. ¿Qué medidas pueden tomar los ciudadanos para disminuir la contaminación lumínica?
9. ¿Qué medidas pueden tomar las autoridades para disminuir la contaminación lumínica?

Cuestionario 3

Del video “Plastic Planet”

1. ¿Qué compuestos contienen los plásticos que se consideran tóxicos?
2. ¿Cuáles son los efectos del contacto de estos compuestos con el ser humano?
3. ¿Cuáles son los efectos de la ingestión de estos compuestos por vía oral?
4. ¿Cuál es la principal vía de entrada de estos compuestos?
5. ¿Cuáles son las poblaciones humanas más expuestas al plástico como contaminante?
6. ¿Qué tipo de los materiales presentados maneja usted cotidianamente?
7. ¿Qué implicaciones tiene el aporte de materiales plásticos de pequeño tamaño?
8. ¿Qué consecuencias ecológicas podría tener el traslado de plásticos particulados a través de las corrientes oceánicas?
9. ¿Qué son las islas de plástico?
10. ¿Existe alguna solución para el manejo de desechos de plástico que disminuya su impacto en el ambiente?
11. ¿Qué propondría usted para hacer más amigable el manejo de plásticos en el ambiente?

Cuestionario 4

De la película “Erin Brockovich”

1. ¿Cuáles son los efectos del Cromo (3+ y 6+) en la salud humana y en los ecosistemas?
2. ¿Qué orígenes tiene la contaminación por este metal?
3. ¿Qué otros metales pueden llegar a causar problemas de contaminación?
4. ¿Qué se puede hacer para remediar un ecosistema terrestre contaminado con metales?
5. ¿Qué se puede hacer para remediar un ecosistema acuático (agua y sedimentos) contaminado con metales?
6. ¿Para qué metales existe en México normatividad con respecto al medio ambiente?
7. Describa en una cuartilla máximo el caso de Cromatos de México.
8. Describa en una cuartilla máximo el caso de Minamata, Japón.
9. ¿Qué es, cuál es el origen y cuáles son los síntomas de la enfermedad Itai Itai?
10. ¿A qué padecimiento se le llama “enfermedad del sombrerero loco” (haciendo referencia al personaje de Alicia en el país de las maravillas), qué la causa, cuáles son sus síntomas y que problemas causa este metal en el desarrollo infantil?

Cuestionario 5

Del documental “Huicholes y Plaguicidas”

1. ¿Quiénes están expuestos a los efectos de los plaguicidas?
2. ¿Qué efectos tiene el uso de los plaguicidas en el medio ambiente?
3. ¿Cuáles son las empresas más importantes que producen y venden plaguicidas en México?
4. ¿Qué condiciones obligan a los Huicholes a emigrar de su territorio para ir a trabajar como jornaleros?
5. ¿Cuáles son las medidas de seguridad que deberían tener las personas que aplican plaguicidas para disminuir su exposición a dichas sustancias?
6. ¿Cuál es el número promedio de personas intoxicadas por contacto con plaguicidas en México y en el mundo?
7. ¿Quién autoriza la producción, la importación y la venta de plaguicidas en México?
8. ¿Qué información debe contener la etiqueta de los plaguicidas?
9. ¿Por qué se menciona que la información de las etiquetas no es suficiente para garantizar la salud de los trabajadores?
10. ¿Cuáles son las enfermedades relacionadas con el contacto con los plaguicidas?
11. ¿En qué tejidos se deposita el DDT y cuál es su relación con la lactancia?
12. ¿Qué condiciones y enfermedades han sido relacionadas con la exposición a plaguicidas en países desarrollados donde los trabajadores usan protección adecuada?

Cuestionario 6

Del video “Tragedia en Valdez”

1. ¿Cuándo y dónde ocurrió el derrame de petróleo del buque Exxon Valdez?
2. ¿Cuál fue la causa del accidente?
3. ¿Qué condiciones ambientales complicaron el control de este derrame?
4. ¿Qué medidas de mitigación y de limpieza ambiental se llevaron a cabo?
5. ¿Cuáles de estas medidas fueron efectivas y cuáles tuvieron efectos negativos sobre el ecosistema?
6. ¿Qué efectos tuvo este derrame en la fauna y la economía del lugar?
7. ¿Cuál es la situación actual del ecosistema?
8. ¿Qué similitudes y qué diferencias tiene este caso con el derrame del pozo Deep Horizon de British Petroleum de 2010?

9. ¿Es adecuado usar dispersantes para tratar de controlar el petróleo derramado?
10. ¿Cuál ha sido el derrame de petróleo más importante en nuestro país?

Cuestionario 7

De la película “Una Acción Civil”

1. ¿Dónde ocurrió el caso de contaminación que describe la película?
2. ¿Qué efectos en la salud presentó la población humana expuesta a la contaminación?
3. ¿Qué contaminantes fueron detectados?
4. ¿Qué tipo de empresas fueron relacionadas con la contaminación?
5. ¿Qué evidencias presentaron los demandantes para tratar de probar su caso?
6. ¿Qué argumentos uso la defensa para negar la responsabilidad de las empresas?
7. ¿Para qué se hicieron estudios geológicos del lugar?
8. ¿Por qué se incendió el agua del río al caer los fuegos artificiales?
9. ¿Qué es la EPA y por qué decide este organismo retomar el caso?
10. En su opinión ¿cuál debió haber sido el veredicto de la corte y qué gastos deberían haber pagado?

Contaminación acuática.

Se terminó de imprimir en noviembre de 2015,
con un tiraje de 200 ejemplares, más sobrantes para reposición.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Av. San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina
C.P. 09340, Del. Iztapalapa, México D.F.
Tel.: (01) 58044600