



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**INACTIVACIÓN DE HUEVOS DE *Ascaris suum*
PRESENTES EN AGUA UTILIZANDO ESCORIA
DE COBRE COMO CATALIZADOR EN LA
REACCIÓN DE FENTON**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

VANESSA ESMERALDA REDONDO CAMACHO



2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado

Presidente: Q.F.B. Abel Gutiérrez Ramos
Secretario: Q.F.B. Eduardo Bonilla Espinosa
Vocal: Dra. Rosa María Ramírez Zamora
1^{er} Suplente: Q.F.B. Norma Angélica Castellanos Chávez
2^{do} Suplente: Q.F.B. José Cordero Hernández

Lugar donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería, Edificio 5, Laboratorio de Bioprocesos e Ingeniería Ambiental, UNAM

TUTORA DE TESIS:

DRA. ROSA MARÍA RAMÍREZ ZAMORA

SUSTENTANTE:

VANESSA ESMERALDA REDONDO CAMACHO

Dedicatorias

A mis padres: Margarita y Eusebio con todo mi amor por su paciencia y por todos sus esfuerzos y sacrificios para que pudiera alcanzar esta meta tan importante para mi.

A mi hermano Gabriel que ilumina cada día de mi vida con su forma de ser. Te quiero mucho Cone.

A esos seres que me dan tanta alegría : Rubidia (Ligre), Renia (Gona), Nitrosa (Osa), Galio (Gono), Rutenia (Tlacuache), Aura (Loqui) y Antimonia (Monis).....Y a la memoria de los que ya se fueron: Pelucho, Corina, Chato, Zorrita, Picuda, Negra, Sofo, Nuboso, Tostado, Gervasia, Ruper, Trini, Tungsty, Lobo, Wolfy, Rute, Pelucha, Borre Yoda, Panter, Polar, Prince, Pasto.....Siempre vivirán en mi corazón.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México. La máxima casa de estudios por darme la oportunidad de formarme como profesionalista.

A la Facultad de Química por permitirme ocupar sus instalaciones para darme las bases como Q.F.B.

A todos los profesores que compartieron sus conocimientos con dedicación y paciencia.

Al Instituto de Ingeniería por el apoyo económico y de sus instalaciones para la realización de este trabajo.

A la Dra. Rosa María Ramírez Zamora por su paciencia, confianza, apoyo, consejos y amistad. Gracias.

Al M. en I. Victor Franco por sus consejos, amistad y apoyo incondicional. Muchas gracias.

A mi jurado : Q.F.B. Abel Gutiérrez Ramos , Q.F.B. Eduardo Bonilla Espinosa ,Dra. Rosa María Ramírez Zamora, Q.F.B. Norma Angélica Castellanos Chávez y Q.F.B. José Cordero Hernández por sus valiosas aportaciones a mi trabajo de tesis.

A mi familia: Mis padres y hermano por creer en mí, y por apoyarme incondicionalmente en todo momento. ¡¡ Los amo!!.

A mis abuelitos: Tayde y Margarito, así como mis tíos: Ernestina, Carmen y Eduardo. Un agradecimiento muy especial.

A mis amigos: Alma, Bertha, Daniel, Esperanza, Fabricio, Kitzia, Marcelino, Myriam, Olga, Oswaldo, Ricardo Victor y Thalia. Cada uno fue llegando a mi vida ocupando un lugar muy especial en mi corazón. Los quiero mucho y deseo que nuestra amistad se siga cultivando más y más por siempre.

Al Dr. David y el Dr. Clemente por apoyar mi causa y brindarme ánimos. ¡¡Gracias!!

A Dios por permitirme regresar a mis actividades y por todas las bendiciones que brinda día con día a mi vida y a mi ser.

Contenido

<i>Resumen</i>	1
<i>Capítulo 1 Introducción</i>	3
<i>Hipótesis</i>	7
<i>Objetivo General</i>	7
<i>Objetivos específicos</i>	7
<i>Capítulo 2 Marco Teórico</i>	8
2.1 Problemas sanitarios por el reúso de aguas residuales en México	8
2.1.1 Helmintos de mayor importancia sanitaria reconocidos en México	10
2.1.2 Generalidades de <i>Ascaris lumbricoides</i> y <i>Ascaris suum</i>	11
2.1.2.1 Morfología y diferencia de <i>A. lumbricoides</i> y <i>A. suum</i>	12
2.1.2.2 Estructura y características de los huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i> y <i>Ascaris suum</i>	14
2.1.2.3 Ciclo de vida	16
2.1.2.4 Cuadro clínico	18
2.1.2.5 Distribución de ascariosis en México y en el mundo	18
2.1.3 Legislación del agua residual tratada con fines de reúso	20
2.1.3.1 Técnicas analíticas aplicadas para la cuantificación y viabilidad de huevos de helmintos	20
2.1.3.1.1 Técnicas cualitativas para la detección de parásitos	22
2.1.3.1.2 Técnicas cuantitativas para la detección de parásitos	23
2.1.3.2 Procesos de remoción e inactivación de huevos de helmintos	25
2.2 Proceso de Fenton	28
2.2.1 Antecedentes del reactivo de Fenton	28
2.2.2 Mecanismos de la reacción de Fenton	29
2.2.3 Factores que influyen en la reacción de Fenton	30
2.2.3.1 Efecto del pH	30
2.2.3.2 Concentración de hierro	31
2.2.3.3 Concentración de peróxido de hidrógeno	31
2.2.3.4 Efecto de la temperatura	32
2.2.3.5 Tiempo de reacción	32
2.2.3.6 Influencia de la luz UV y luz visible	33
2.2.4 Aplicaciones del proceso de Fenton	33
2.2.4.1 Tipos de proceso Fenton	35
2.2.4.2 Fenton clásico	35
2.2.4.3 Electro Fenton	35
2.2.4.4 Fenton asistido con luz UV y solar	36
2.2.4.5 Fenton heterogéneo	36
2.3 Generalidades de las escorias de cobre	37
2.3.1 Definición	37
2.3.2 Contenido de óxidos en escorias	38
2.3.3 Fases mineralógicas presentes en las escorias	38
2.3.4 Legislación	40
2.3.5 Aprovechamiento y reutilización de las escorias de cobre	41
<i>Capítulo 3 Metodología</i>	44

3.1 Materiales y reactivos.....	45
3.1.1 Selección de la escoria a utilizar en las pruebas de oxidación para la inactivación de huevos de <i>Ascaris suum</i>	45
3.1.2 Pruebas preliminares para definir la dosis de escoria a evaluar en el diseño de experimentos	46
3.1.3 Preparación de la suspensión stock de huevos de <i>Ascaris suum</i> (Galván, 2003).....	47
3.1.4 Monitoreo de la concentración y viabilidad de huevos de <i>Ascaris suum</i>	51
3.1.5 Preparación de las muestras de agua dopadas con huevos de <i>A. suum</i> utilizadas en las pruebas de oxidación	51
3.2 Diseño experimental de las pruebas de oxidación de huevos de <i>Ascaris suum</i>.....	52
3.3 Técnica experimental	55
3.3.1 Pruebas de oxidación	55
3.4 Parámetros fisicoquímicos.....	57
3.4.1 Conteo y determinación de la viabilidad de huevos de <i>Ascaris suum</i>	57
Capítulo 4 Resultados y discusión	61
4.1 Resultados de pruebas preliminares para determinar la dosis de escoria a evaluar en las pruebas de oxidación de huevos de <i>A. suum</i>	61
4.2 Pruebas de oxidación de huevos de <i>Ascaris suum</i>	62
4.3 Resultados de parámetros fisicoquímicos	63
4.4 Análisis estadístico de los resultados.....	69
4.5 Comparación de las técnicas de tinción e incubación para determinar la viabilidad de huevos de <i>Ascaris suum</i>, bajo condiciones óptimas, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo Fenton.....	77
4.6 Análisis estadístico de los resultados para determinar la variación entre la técnica de tinción e incubación	79
Capítulo 5 Conclusiones y recomendaciones	81
Recomendaciones	82
Glosario	83
Referencias	87
Anexos	93
Anexo I Cuantificación y determinación de la viabilidad de los huevos de <i>Ascaris suum</i> en la suspensión stock	93
Anexo II Preparación de la suspensión intermedia de huevos de <i>Ascaris suum</i> para las pruebas de oxidación	95
Anexo III Técnicas analíticas	96
1. Determinación de la concentración de la solución madre de peróxido de hidrógeno ..	96
Método iodométrico (concentración > 10⁻³ m) (34 mg/l)	96
2. Preparación de solución de almidón como indicador (Estandar Methods).....	97
3. Determinación de las concentraciones inicial y residual de soluciones de peróxido de hidrógeno.....	97
4. Preparación del sulfato de titanio (TiSO₄) para la determinación del peróxido de hidrógeno	99
5. Determinación de la concentración de hierro en solución.....	99
6. Determinación de la concentración de cobre en solución.....	100
Anexo IV Pruebas de oxidación	102
b)Segunda replica.....	105

<i>Anexo V Determinación de la viabilidad de huevos de helmintos por incubación</i>	108
<i>Anexo VI Técnicas analíticas para identificar y cuantificar parásitos en agua</i>	109

Índice de tablas

Tabla 2. 1 Helmintiasis de mayor incidencia en México (Jiménez, 2001)	11
Tabla 2.2 Ascaris lumbricoides	12
Tabla 2. 3 Composición de las capas de los huevos de helmintos	15
Tabla 2.4 Límites máximos permisibles del contenido de huevos de helmintos en aguas de riego (NOM-003-SEMARNAT-1997)	20
Tabla 2.5 Comparación de técnicas analíticas para la cuantificación de huevos de helmintos en agua y agua residual (Maya et al., 2006)	24
Tabla 2.6 Aplicación de los procesos de remoción	26
Tabla 2.7 Contaminantes removidos mediante proceso de Fenton	34
Tabla 2.8 Comparación de contenido de óxidos en la escoria de cobre en diversos estudios	38
Tabla 2.9 Fases mineralógicas identificadas de los picos en escorias de cobre, hierro y acero	39
Tabla 2.10 Límites máximos permisibles de metales en residuos	41
Tabla 3.1 Características de la escoria de cobre utilizada en las pruebas de inactivación de huevos de Ascaris suum	45
Tabla 3.2 Factores de influencia a evaluar en pruebas de oxidación avanzada de huevos de Ascaris suum	53
Tabla 3.3 Matriz de diseño de experimentos para inactivación de huevos de A. suum utilizando escoria de cobre como catalizador en el proceso de Fenton	54
Tabla 4.1 Pruebas preliminares para determinar dosis de escoria a evaluar	61
Tabla 4.2 Resultados de las pruebas de oxidación de huevos de Ascaris suum aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno	62
Tabla 4.3 Parámetros fisicoquímicos de las suspensiones de huevos de Ascaris suum tratadas con escorias de cobre y peróxido de hidrógeno	63
Tabla 4.4 Expresiones empleadas en la tabla de análisis de varianza (Humberto et al., 2008)	70
Tabla 4.5 Análisis de varianza de los datos de las pruebas inactivación de huevos de Ascaris suum, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton	71
Tabla 4.6 Valores óptimos calculados de las variables evaluadas para obtener el máximo % de inactivación (87.26%) de huevos de Ascaris suum, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton	76
Tabla 4.7 Efecto de la viabilidad de los huevos de helminto	77
Tabla 4.8 Comparación del por ciento de inactivación de huevos de Ascaris suum obtenido en las técnicas de tinción e incubación	78
Tabla 4.9 Resultados de la prueba F	79

Índice de figuras

<i>Fig. 2. 1 Porcentaje de huevos de helminto encontrados en aguas residuales (Maya et al., 2006).</i>	9
<i>Fig. 2. 2 Ciclo de Ascaris lumbricoides. Comisión Nacional del Agua, 2001 (CNA)</i>	17
<i>Fig. 2. 3 Efecto del pH en la reacción de Fenton (Waite, 2002)</i>	31
<i>Figura 3.1 Diagrama de la Metodología Experimental</i>	44
<i>Fig. 4.5 Gráfico de Pareto estandarizado para % de Inactivación de huevos de Ascaris suum, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton</i>	74
<i>Fig. 4.6 Superficie de respuesta estimada para el % de inactivación de huevos de Ascaris suum, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton</i>	75

Índice de fotos

Foto 2.1 Ascaris lumbricoides (http://www.dp.cdc.gov/dpdx)	13
Foto 2.2 Huevo fértil de A. lumbricoides (http://www.dp.cdc.gov/dpdx)	14
Foto 2.3 Huevo infértil de A. lumbricoides (http://www.dp.cdc.gov/dpdx)	15
Foto 3.1 Dosis de escorias a evaluar	46
Foto 3.2 Ejemplares adultos de Ascaris suum	47
Foto 3.3 Adultos machos de A. suum (extremos curvos)	47
Foto 3.4 Fijación de Ascaris suum con alfileres e inicio de la disección	48
Foto 3.5 Sistemas reproductor y digestivo de Ascaris suum	48
Foto 3.6 Extracción de órganos reproductivos de Ascaris suum	49
Foto 3.7 Filtración de suspensión de huevos de Ascaris suum	49
Foto 3.8 Homogenizador de tejidos	50
Foto 3.9 Suspensión stock de huevos de Ascaris suum	50
Foto 3.10 Swinnex de 2.5 de diámetro	57
Foto 3.11 Lavado de membranas	58
Foto 3.12 Aplicación de Azul de Tripán	58
Foto 3.13 Lavado de membranas con alcohol	59
Foto 3.14 Colocación de membranas en portaobjetos	59
Foto 3.15 Cuantificación de huevos de Ascaris suum	60

Nomenclatura

<i>A. lumbricoides</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>
<i>A. suum</i>	<i>Ascaris suum</i>
ANOVA	Análisis de varianza
Ec	Ecuación
<i>et al.</i>	y colaboradores
Fig.	Figura
g	gramos
HH	Huevos de helminto
HH/L	Huevos de helminto por litro
HH/mL	Huevos de helminto por mililitro
L	litro
m ³ /s	metros cúbicos por segundo
mg	miligramos
nm	nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORP	Potencial oxido reducción
P	coeficiente de Pareto (valor estadístico)
POA	Procesos de oxidación avanzada
R ²	Coefficiente de correlación lineal
SINAIS	Sistema Nacional de Información de Salud
SS	Secretaría de Salud
TOA	Tecnologías de oxidación avanzada
TPA	Tratamiento Primario Avanzado
UV	Radiación ultra violeta
µm	micrómetros
%	por ciento

Resumen

El objetivo del presente trabajo es determinar, con base en pruebas de laboratorio, la factibilidad de utilizar escoria de cobre como catalizador en el proceso tipo Fenton para inactivar huevos de *Ascaris suum* presentes en agua destilada.

En el Capítulo 1 se plantea la problemática que existe en la actualidad con respecto a la escasez de agua y el uso de aguas residuales contaminadas con huevos de helmintos. Así mismo se resume la información bibliográfica encontrada sobre las generalidades más importantes del nemátodo *Ascaris lumbricoides* y su diferencia con *Ascaris suum*; así como las características del proceso de Fenton y de las escorias de cobre.

En el Capítulo 2 se establece, con base en la información reportada, el estado del conocimiento científico y tecnológico de la información de *Ascaris*, las características de los huevos de helmintos, su persistencia en el medio ambiente, su problemática a nivel mundial y en el país, los procesos que se aplican actualmente para remover y/o inactivar huevos de helmintos en aguas residuales y las técnicas analíticas para la identificación y cuantificación de huevos de helminto. También se expone lo más importante sobre el proceso de Fenton y algunas características y aplicaciones que se les ha dado a las escorias.

El Capítulo 3 describe la metodología experimental que se siguió a lo largo del trabajo, la cual se divide en: a) Pruebas preliminares para definir los límites máximo y mínimo de la dosis de escoria a evaluar en el diseño de experimentos b) Realización de las pruebas de oxidación de huevos de *A. suum* con agua sintética c) Análisis de los resultados y cálculo de la condiciones teóricas óptimas para la máxima inactivación de huevos de *A. suum* y d) Evaluación de las condiciones teóricas óptimas calculadas en el laboratorio utilizando agua sintética. Para disminuir el riesgo de infección durante las pruebas se decidió utilizar a la especie *Ascaris suum*, parásito casi exclusivo de cerdos y que es morfológicamente indistinguible de *A. lumbricoides* de humanos. Las pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum* se realizaron aplicando un diseño factorial 2^4 , con ayuda del programa estadístico computacional Statgraphics versión 5.1. Se utilizó una concentración inicial de 2HH/mL, con la finalidad de recuperar aproximadamente 100 huevos de *Ascaris suum* en cada toma de muestra, y de esa forma poder visualizar y cuantificar los huevos viables y

huevos no viables al microscopio. Para determinar la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum* se utilizó un método de tinción con Azul de Tripán, el cual es una técnica confiable que permite realizar el conteo y determinar la viabilidad de los huevos de *A. suum*.

El Capítulo 4 presenta los resultados y la discusión de los mismos. Experimentalmente, el mayor porcentaje de inactivación alcanzado fue de 88.86%. Después de realizar el análisis estadístico de los resultados se determinó que los factores que influyen significativamente en la inactivación de huevos, mediante el proceso Fenton, fueron el pH, la dosis de peróxido de hidrógeno y el tiempo. Mediante el modelo matemático se calcularon las condiciones óptimas teóricas de operación para la máxima inactivación de huevos de *A. suum* (87.26%) con un nivel de confianza del 95 % dichas condiciones fueron: pH de 3, dosis de peróxido de hidrógeno de 1000 mg/L, dosis de escoria de 0.5 g/L y un tiempo de contacto de 180 minutos. Al evaluar estas condiciones en el laboratorio, se obtuvo un 88.89 %, por lo tanto, el modelo permitió predecir aceptablemente el por ciento de inactivación obtenido en el laboratorio. Así mismo, en esta prueba se comparó la técnica de tinción con Azul de Tripán (Galván, 2003), con la técnica de incubación *in vitro* (Ayres, 1989; NOM-004-SEMARNAT-2002), obteniéndose resultados similares en el por ciento de inactivación por lo que se puede decir, que la técnica de tinción con Azul de Tripán permitió cuantificar adecuadamente los huevos viables y no viables de *Ascaris suum*. El Capítulo 5 presenta las conclusiones y recomendaciones. Con base en los resultados se determinó que puede ser factible el uso de escoria de cobre como catalizador en la reacción de Fenton para inactivar huevos de *Ascaris suum* presentes en agua sintética. Al comparar el pH y la dosis de oxidante óptimos obtenidos, con el estudio realizado por Solís (2009), aplicando una sal férrica y peróxido de hidrógeno, se observa que la mejor dosis de peróxido de hidrógeno (1000mg/L) obtenido en este trabajo fue significativamente superior al valor reportado en el mencionado estudio (aproximadamente 40 veces más) y el pH fue similar. Aunque la dosis de peróxido utilizada fue alta, el 81.60% se consumió. Para aprovechar más el peróxido de hidrógeno en la reacción de inactivación de huevos de *Ascaris suum* se recomienda aplicar otros oxidantes adicionales, por ejemplo con UV, para mejorar la eficiencia del proceso de inactivación de huevos de estos parásitos, utilizando escoria de cobre como catalizador.

Capítulo 1 Introducción

En la actualidad el aumento de la población, el desarrollo industrial y agrícola, han dado origen a la contaminación y escasez del agua, por lo que una alternativa para evitar el desabasto de tan vital líquido es el reúso del agua residual (Peassey 2000; Méndez *et al.*, 2002; Campos, 2008). En México, de los 187 m³/s de aguas residuales municipales que se generan, el 87% se emplea para riego agrícola. El inconveniente es que sólo el 8.2% recibe algún tipo de tratamiento (Peassey 2000; Méndez *et al.*, 2002; Mara *et al.*, 2007; Bastos *et al.*, 2008; Campos, 2008), siendo esto un riesgo a la salud pública debido a que la mayor parte del agua residual supera los lineamientos de contaminación microbiana que establece la Norma oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997 (que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público). Debido a esto el uso de las aguas residuales es un factor de riesgo para la transmisión de enfermedades gastrointestinales como las helmintiasis (Mireya *et al.*, 2005; Campos, 2008).

Una de las helmintiasis de mayor incidencia en el ser humano es la ascariosis, la cual es una enfermedad parasitaria intestinal causada por *Ascaris lumbricoides*, parásito cosmopolita de mayor incidencia en zonas tropicales y templadas del mundo, pero sobre todo en comunidades rurales donde las condiciones socioeconómicas e higiénicas son deficientes (Jiménez, 2001; Tay *et al.*, 2002). En México se estima que el 33% de la población está parasitada por *Ascaris*, y el 6% de los infectados presenta parasitosis masiva. La ascariosis se presenta en todas las edades, pero es más frecuente en los niños debido a factores como hábitos de juego a nivel de suelo, por el consumo de cultivos, hortalizas y alimentos contaminados con la forma infectante (huevos embrionados), contacto directo con heces contaminadas, o con agua residual (Murray, 1999; Cabello, 2001; Jiménez, 2001; Tay *et al.*, 2002; Dawson, 2005; Jiménez *et al.*, 2007).

Dentro de los tipos de helmintiasis que existen, la ascariosis es la más común y es endémica en África, Latinoamérica y Lejano Oriente (Holland *et al.*, 1996; Chan, 1997; Kyu *et al.*,

2002; Javad *et al.*, 2004; Adams *et al.*, 2005) La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2000) ha estimado que cerca de 3,500 billones de personas están afectadas por algún tipo de infección vía gastrointestinal, de las cuales alrededor de 1,273 billones de personas en todo el mundo están infectadas por *Ascaris lumbricoides*.

De acuerdo con el Sistema Nacional de Información de Salud (SINAIS) de la Secretaría de Salud (SSA), en 2003, la ascariosis ocupó la decimoctava causa de muerte en la población a nivel nacional con 4,561 casos y la primera entre la población infantil preescolar (1 a 4 años) con 648 casos. Para el 2006 aumentaron los casos de mortalidad a 147,420 con un mayor índice en niños de 5 a 9 años (Mireya *et al* 2005; Gallardo, 2006; Sistema Único para la Vigilancia Epidemiológica/ Dirección General de Epidemiología/ SSA 2006)

Diversos estudios de investigación que se han realizado en México (Fernández *et al.*, 1997; Rojas *et al.*, 1998; Sánchez *et al.*, 2000; Chable, 2001; Gómez *et al.*, 2001; Aguilar, 2002; Martínez, 2002; Salas *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2004), para observar la prevalencia de las parasitosis intestinales, indican el alto riesgo en la salud pública a infecciones gastrointestinales, ocasionadas por parásitos, dentro de las que destaca la ascariosis en primer lugar dentro de las helmintiasis. Así mismo relacionan directamente este tipo de infecciones con las condiciones sanitarias ambientales (polvo), uso de agua residual para riego, falta de agua potable, uso de letrinas, es decir condiciones de vivienda inadecuadas; dentro de las cuales específicamente el uso de agua residual es un factor muy importante que hoy en día está generando mayor índice de infecciones gastrointestinales en zonas rurales, destacando la ascariosis. Debido a esta problemática hoy en día existe la necesidad de buscar nuevas técnicas eficientes y económicas y que no afecten al medio ambiente para controlar la cantidad de huevos de helminto presentes en aguas residuales empleadas para riego y abastecer agua de calidad a la población.

Por tal motivo, se han realizado diversos estudios para la remoción de huevos de helmintos en aguas residuales, utilizando procesos físicos y químicos, por ejemplo: embalses, coagulación-floculación, uso de reactores biológicos, sedimentadores, entre otros (Méndez *et al.*, 2002; Barrios *et al.*, 2004; Aguilar *et al.*, 2006). Sin embargo la mayoría de estos procesos sólo transfieren los huevos de helminto de la fase líquida a una fase sólida, sin

destruirlos ni afectar su viabilidad, es decir la capacidad de desarrollarse hasta la etapa infectiva.

Otras investigaciones se han enfocado en la inactivación de huevos de helminto en agua, tal es el caso de los procesos de oxidación avanzada ($O_3 + UV$, $O_3 + H_2O_2$, $H_2O_2 + UV$, Reactivo de Fenton, etc.). Por ejemplo: el trabajo realizado por Orta De Velásquez *et al.*, (2002), en el cual mediante un reactor utilizaron ozono para la inactivación de huevos de helminto, observaron que utilizando una concentración inicial de 1×10^6 huevos/L, con una dosis de 18.4 mg O_3 /min, a pH menores de 5, se presentó una inactivación del 94 %.

Posteriormente, con la misma dosis de huevos de *Ascaris suum*, utilizaron pH de 3 con la dosis de 18.4 mg O_3 /min durante una hora, el 96.7 % de los huevos mostraron daños en su capa externa. En el 2004, Orta De Velásquez *et al.*, utilizaron muestras sintéticas aplicando ozono en fase líquida y observaron que utilizando una suspensión de 500 huevos /L con una dosis de 4.7 mg/min/L y un valor de pH 5.9, se obtuvo una inactivación de huevos de helminto del 99 % en 120 min.

En cuanto al reactivo de Fenton, es una opción viable desde el punto de vista económico, ya que el peróxido de hidrógeno usado como oxidante es más barato que otros oxidantes y en el caso del hierro usado como catalizador, es el segundo metal más abundante y el cuarto elemento más abundante en la tierra (Rodríguez, 2003). Para la inactivación de huevos de helminto actualmente se está comenzando a utilizar el reactivo de Fenton conjuntamente con radiación ultravioleta para aumentar su eficiencia. Tal es el caso del trabajo realizado recientemente por Solís, (2009), en el cual utilizó Fenton clásico y Fenton asistido con luz UV para la inactivación de huevos de helminto. Para Fenton clásico observó que con una dosis de peróxido de 28.64 mg/L, un tiempo de 58.45 min y una relación másica de 11.24 (Fe^{3+}/H_2O_2), se obtuvo una inactivación del 89.19% de los huevos de helminto. Mientras que para el proceso de Fenton asistido con luz UV utilizando una dosis de peróxido de 21.90 mg/L, un tiempo de 21.28 min (menos de la mitad que el dato anterior) y una relación másica de 0.07 (Fe^{3+}/H_2O_2), la inactivación fue de 88.04 %.

El proceso de Fenton consiste en una mezcla de peróxido de hidrógeno y sales de hierro, que al reaccionar, producen radicales $\cdot OH$. Estas especies transitorias ($\cdot OH$) tienen un alto

potencial de oxidación, por lo que podrían realizar una inactivación eficiente de los huevos de *Ascaris* (Yuan- Shen Li 1999; Centi, G *et al.*, 2000). Sin embargo, uno de los mayores inconvenientes del proceso Fenton es que requiere de medios ácidos ($2 < \text{pH} < 4$) para llevarse a cabo de manera eficiente. Por ello, se han evaluado diferentes modificaciones del proceso que permitan operar el sistema a pH cercanos a la neutralidad, como es el caso de Fenton modificado con complejos (con ligando polidentados orgánicos e inorgánicos) y Fenton heterogéneo (con hierro en soportes, membranas nafion, zeolitas, etc.). Sin embargo, estos materiales o fuente de hierro son costosos.

En estudios recientes sobre el aprovechamiento de las escorias, sugieren que las escorias de cobre, hierro y acero se pueden considerar como una opción viable para participar en la reacción tipo Fenton, debido a que su composición presenta altos contenidos de óxidos de hierro, así como óxido de cobre y manganeso, los cuales son metales de transición necesarios para llevar a cabo el proceso de Fenton (Yuan-Shen, 1999; Chiou-San *et al.*, 2006; Chyow-San 2007, Huanosta, 2009).

De acuerdo a la bibliografía reportada, no existe hasta el momento ningún estudio que aplique las escorias como catalizador en la reacción de Fenton para la inactivación de huevos de helminto en aguas residuales. Por tal razón y viendo la efectividad que ha tenido el proceso de Fenton en diversos estudios así mismo por el fácil acceso a la escoria de cobre y por sus características, se optó por utilizar este material como catalizador en el proceso de Fenton para la inactivación de huevos de *Ascaris suum* en el presente trabajo.

Hipótesis

La presencia de óxidos de hierro en la escoria de cobre harán posible su aplicación como catalizador en el proceso tipo Fenton para la inactivación eficiente de huevos de *Ascaris suum*.

Objetivo General

Determinar la factibilidad, con base en pruebas de laboratorio, de utilizar escoria de cobre como catalizador en el proceso tipo Fenton para la inactivación de huevos de *Ascaris suum* presentes en agua sintética.

Objetivos específicos

- Evaluar la influencia del pH, la dosis de peróxido, la dosis de escoria y el tiempo de contacto del proceso tipo Fenton sobre el porcentaje de inactivación de huevos de *Ascaris suum*, mediante pruebas de laboratorio basadas en un diseño experimental y utilizando suspensiones sintéticas preparadas con agua destilada.
- Calcular las condiciones óptimas teóricas de máxima inactivación de huevos de *Ascaris suum* por el proceso de Fenton, mediante un modelo matemático desarrollado en función de: pH, dosis de peróxido, dosis de escoria y tiempo de contacto.
- Evaluar la eficiencia de inactivación de huevos de *Ascaris suum* por el proceso tipo Fenton, bajo condiciones óptimas teóricas de máxima inactivación del modelo experimental planteado.
- Comparar las técnicas de tinción y de incubación para la determinación de la viabilidad de huevos de *Ascaris suum* tratados aplicando los valores óptimos de pH, dosis de peróxido, dosis de escoria y tiempo de contacto, determinados en este estudio.

Capítulo 2 Marco Teórico

2.1 Problemas sanitarios por el reúso de aguas residuales en México

El crecimiento de la población a nivel mundial y el aumento del uso del agua potable para diferentes actividades han incrementado la contaminación y desabasto de tan vital líquido, por lo que el reúso de agua residual representa una atractiva alternativa para solucionar este problema; el inconveniente es que en México sólo el 8.2% recibe algún tipo de proceso de tratamiento (Peassey, 2000; Méndez *et al.*, 2002; Mara *et al.*, 2007; Bastos *et al.*, 2008; Campos, 2008). A lo largo del territorio nacional, cerca de 350 000 hectáreas son regadas con agua residual, las cuales se distribuyen en 30 distritos de riego. De estos distritos de riego destacan los emplazados en el Valle de Tula, Hidalgo, los cuales representan cerca del 43% de la demanda total de agua residual para riego, y el 33% del área total irrigada en el país (CONAGUA, 2007).

El reúso de aguas residuales en el riego agrícola ofrece ciertas ventajas, tales como el aumento de la productividad por el aporte de nutrientes y de materia orgánica, así como la recarga de acuíferos. Sin embargo, la principal desventaja es la presencia de contaminantes como son: metales pesados, compuestos orgánicos e inorgánicos y la presencia de microorganismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales. (Frers, 2005; Maya *et al.*, 2006). Se estima que el 80% de las enfermedades antes mencionadas, y más de un tercio de las defunciones en los países en desarrollo, están asociadas con el uso de agua contaminada. El impacto de las enfermedades asociadas con el agua es importante; todos los años gran número de individuos se enferman y mueren de infecciones gastrointestinales ocasionadas por el consumo de agua contaminada (Flores, 2002; Rodríguez *et al.*, 2004; Mireya *et al.*, 2005).

En países en vías de desarrollo como el nuestro, existen zonas rurales en extrema pobreza, factor que no permite a la población tener acceso a los más elementales servicios públicos como drenaje, agua potable, asfalto, etc. Esto aunado a la ignorancia, propicia deficientes prácticas de higiene, tales como el empleo de heces humanas utilizadas como

fertilizantes, fecalismo al aire libre, la cría descuidada de animales domésticos y uso de aguas residuales para el riego de hortalizas. Debido a estos factores, la contaminación biológica representa un serio problema en la salud pública, por sus altos contenidos de huevos de helmintos y microorganismos patógenos como son bacterias, protozoarios encontrados en aguas residuales (fig. 2.1), los cuales provienen de animales o individuos infectados (Blumental *et al.*, 2001; Tay *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2004; Salas *et al.*, 2004; Bastos *et al.*, 2008). Motivos por los cuales el uso de agua residual pone en riesgo a los agricultores y consumidores de contraer enfermedades gastrointestinales como las helmintiasis.

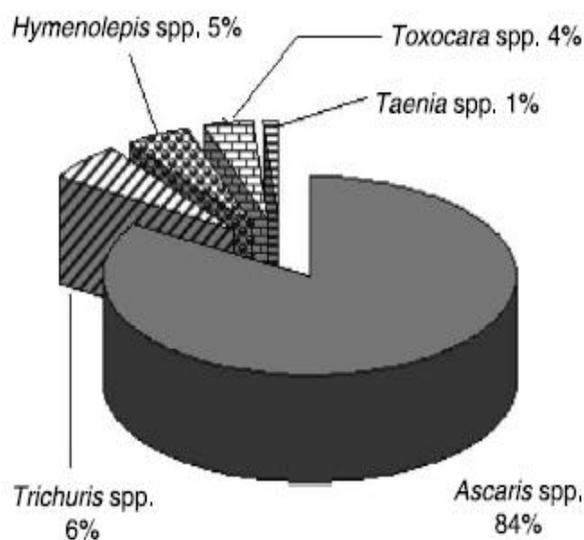


Fig. 2. 1 Porcentaje de huevos de helminto encontrados en aguas residuales (Maya *et al.*, 2006).

En conjunto las helmintiasis son causa de muerte de alrededor de 100,000 individuos por año a nivel mundial (Sánchez *et al.*, 2000), siendo la ascariosis la helmintiasis de mayor incidencia, causada por *Ascaris lumbricoides* (helminto nemátodo). En comunidades rurales y zonas tropicales, se ha encontrado más del 90% de la población infectada entre enfermos y portadores. La morbilidad promedio en México es de 33% (Jiménez, 2001; Tay *et al.*, 2002).

2.1.1 Helmintos de mayor importancia sanitaria reconocidos en México

El término helminto deriva del griego *helmins* = “gusano”, es aplicado a todos aquellos organismos invertebrados de vida libre y parásitos con forma de gusano, dentro de los cuales se encuentra el phylum de los Platyhelminthes (gusanos aplanados) que incluyen los tremátodos y céstodos y el phylum *Nematoda* (gusanos redondos) que corresponde a los nemátodos (Beaver, 1994; Lorcaín *et al.*, 2000; Jiménez 2001; Vázquez, 2003). Estas tres clases de helmintos (tremátodos, céstodos y nemátodos), son las de mayor interés sanitario así como las más reconocidas en México por ser las que parasitan al hombre (ver tabla 2.1).

En México los huevos de helmintos presentes en las aguas residuales son: *Ascaris lumbricoides* (nemátodo 86.7%), *Hymenolepis diminuta* (céstodo 5.9%), *Trichuris trichiura* (nemátodo 4.8%), *Toxocara canis* (nemátodo 2.2%), *Necator americanus* (nemátodo 0.4%), *Taenia solium* (cestodo 0.05%) y *Enterobius vermicularis* (nemátodo 0.04%) (Rojas *et al.*, 2004; Bastos *et al.*, 2008). Siendo *Ascaris lumbricoides* el helminto nemátodo de mayor incidencia (Blumental *et al.*, 2001; Jiménez, 2001; Jiménez *et al.*, 2002; Mara *et al.*, 2007; Jatinder, 2009).

Su alto riesgo a la salud se debe principalmente a que sus estadios presentan una alta persistencia en el ambiente, su dosis mínima infectiva es de un huevo, no existe inmunidad en los humanos, su período de latencia es largo (meses), son resistentes a los procedimientos convencionales de desinfección en aguas (Comisión Nacional del Agua, 2001; Maya *et al.*, 2005). Además es importante mencionar la altísima capacidad de ovoposición (huevos puestos en un día) durante los 10 ó 24 meses que tienen de vida (Maya *et al.*, 2000).

Tabla 2. 1 Helmintiasis de mayor incidencia en México (Jiménez, 2001)

NOMBRE DEL PARÁSITO	CLASE	ENFERMEDAD	FORMA INFECTANTE*	CICLO DE VIDA (DÍAS)**	MORBILIDAD %
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Nemátodo	Ascariasis	Huevos (45-75 x 33-55 µm)	60	33-90
<i>Trichuris trichiuria</i>	Nemátodo	Tricuriasis (Tricocefalosis)	Huevos (50-54 x 23 µm)	90	28-81
<i>Enterobius vermicularis</i>	Nemátodo	Enterobiasis (Oxiuriasis)	Huevos (55-30 µm)	14-28	40-66
<i>Taenia solium</i>	Céstodo	Teniasis (Cisticercosis)	Larvas enquistadas (cisticercos)	35-84	8
<i>T. saginata</i>	Céstodo	Teniasis (Cisticercosis)	Larvas enquistadas (cisticercos)	35-84	3
<i>Hymenolepis nana</i>	Céstodo	Teniasis	Huevos (47 x 37 µm)	30	8
<i>H. diminuta</i>	Céstodo		Huevos (47 x 37 µm)	30	8
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Nemátodo	Strongyloidosis (Estroniloidiasis)	Larvas filariformes	28	3
<i>Necator americanus</i>	Nemátodo	Uncinariasis	Larvas filariformes	35-42	26
<i>Ancylostoma duodenale</i>	Nemátodo	Uncinariasis	Larvas filariformes	35-42	26

* Para el humano, ** Desde el contacto con la forma infectante hasta la etapa adulta y la ovoposición (Jiménez, 2001).

2.1.2 Generalidades de *Ascaris lumbricoides* y *Ascaris suum*

En México y a nivel mundial la ascariosis producida por el nemátodo *A. lumbricoides* (tabla 2.2), es la parasitosis con mayor incidencia. La presencia de esta especie es uno de los indicadores por contaminación de huevos de helmintos, se considera que se infecta uno de cada tres individuos en el mundo, tiene distribución cosmopolita y formas infectivas sumamente resistentes (Ayres, 1992; Solís, 2001; Vázquez, 2003; Mireya *et al.*, 2005). Se localiza en el intestino delgado donde puede permanecer en forma asintomática, o bien producir cuadros digestivos inespecíficos, tales como alteraciones de la nutrición (deficiencia de vitaminas, anemia) y también graves complicaciones con riesgo vital como apendicitis agudas que pueden llegar a la perforación (Aguilar, 2002; Gallardo, 2006).

Existe una especie parásita del cerdo que es *Ascaris suum*. La hembra llega a los 30 cm de longitud y tiene la cola recta, el macho mide solamente unos 20 cm y su cola se curva ventralmente. *Ascaris suum* vive libremente en el lumen del intestino delgado del cerdo, jabalíes, a veces parasita ovejas, vacunos y roedores. Las fases juveniles pueden causar daños severos en el hígado y pulmones del huésped.

Tabla 2.2 *Ascaris lumbricoides*

Phylum	<i>Aschelminthes</i>
Clase	<i>Nematodo</i>
Superfamilia	<i>Ascaridoidea (Railliet, Henry, 1915)</i>
Género	<i>Ascaris</i>
Especie	<i>lumbricoides</i>

Tay *et al.*, 2002

2.1.2.1 Morfología y diferencia de *A. lumbricoides* y *A. suum*

En estado adulto *A. lumbricoides* es alargado, cilíndrico, blanco o rosado y presenta el extremo anterior romo y el posterior agudo. La cola se encuentra curvada en los machos de manera ventral (Fig. 2.1). El macho posee numerosos grupos de papilas preanales y postanales. El dimorfismo sexual entre machos y hembras se encuentra bien diferenciado, la hembra mide de 20 a 49 cm de largo y 3 a 6 mm de diámetro, y el macho de 15 a 30 cm de largo y 2 a 4 mm de diámetro (Lorcain, 2000; Tay *et al.*, 2002; Nelson, 2003; Vázquez, 2003; Gallardo, 2006). Todos sus órganos, incluyendo el sistema digestivo, el sistema excretor, sistema nervioso y reproductivo, se encuentran suspendidos en la cavidad corporal o pseudoceloma. *A. lumbricoides* carece de sistema circulatorio (Tay *et al.*, 2002).

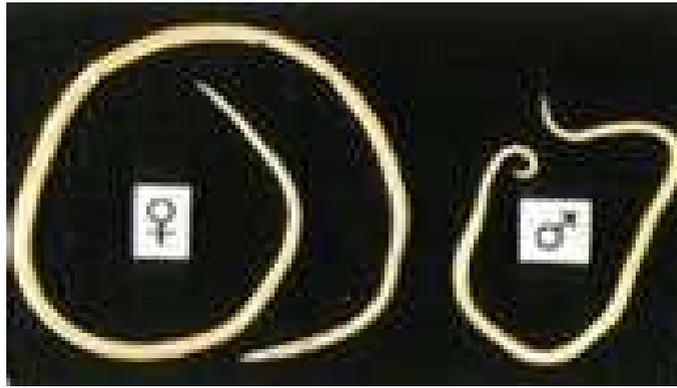


Foto 2.1 *Ascaris lumbricoides* (<http://www.dp.cdc.gov/dpdx>)

Su canal alimentario es una estructura longitudinal, consistente en boca, cavidad faríngea, esófago, intestino medio, recto y cloaca. La vida media del gusano adulto es de 6 a 18 meses. La hembra libera 200,000 huevos por gusano al día con las heces. Los huevos de *A. lumbricoides* pueden ser fecundados y no fecundados (Ayres, 1992; Cabello 2001; Tay *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2004).

Durante mucho tiempo, el ascárido del cerdo (*Ascaris suum*) estuvo considerado como sinónimo de *A. lumbricoides* dada la gran similitud morfológica y bioquímica que presentan. Es probable que *A. lumbricoides* fuera originalmente un parásito de cerdos que se adaptó al hombre cuando el cerdo fue domesticado y empezó a vivir en contacto estrecho con los seres humanos, o quizá fue un parásito del hombre que pasó a los cerdos, porque la fisiología de las personas y de los cerdos son similares (Ayres, 1992; Rojas, 1998; Cabello 2001; Vázquez, 2003; Akio *et al.*, 2006).

En la actualidad existen las dos especies separadas. Se diferencian con base en su composición de hidratos de carbono, que los diferencia por la formación de anticuerpos, y porque en el extremo anterior de *Ascaris lumbricoides* se encuentra la boca provista de tres labios salientes con bordes dentados y bien diferenciados (Fig. 2.3), que lo hacen distinto de *A. suum* ya que este último no presenta estas características (Haruhiko *et al.*, 1997).

También existen reportes los cuales mencionan que cuando una especie infecta al hospedero de la otra, ocurre una migración incompleta. Es decir que si *A. suum* infecta al

humano, o *A lumbricoides* al cerdo, ocurre una migración incompleta (Ayres, 1992; Cabello 2001; Gallardo, 2006). Aunque en la actualidad todavía esto se encuentra en discusión y estudio.

2.1.2.2 Estructura y características de los huevos de Ascaris lumbricoides y Ascaris suum

Los huevos fecundados de *Ascaris lumbricoides* y *Ascaris suum*, son ovalados, tienen un caparazón o cápsula gruesa transparente, formada por cuatro capas, siendo la exterior irregular (mamelonada), algunos huevos no presentan esta capa y se les denominan huevos decorticados. Estas capas hacen muy resistentes a los huevos de helminto, por la composición que tiene cada una de ellas. En el interior del huevo se presenta una capa amorfa de citoplasma, siendo la evidencia del desarrollo embrionario (figura 2.1). Los huevos miden de 40 a 80 micrómetros de largo por 25 a 50 micrómetros de ancho (Fernández *et al.*, 1997; Maya *et al.*, 2000; Cabello 2001; Akio *et al.*, 2006).

Los huevos no fecundados son depositados por hembras que no se aparearon con machos, son más largos y estrechos, la cubierta es muy delgada y casi siempre carecen de mamelones, la estructura interna está compuesta de gránulos retráctiles de tamaño variable (figura 2.2). Miden de 80 a 90 micrómetros de largo por 30 a 40 micrómetros de ancho (Fernández *et al.*, 1997; Maya *et al.*, 2000; Cabello 2001; Akio *et al.*, 2006).



Foto 2.2 Huevo fértil de *A. lumbricoides* (<http://www.dp.cdc.gov/dpdx>)



Foto 2.3 Huevo infértil de *A. lumbricoides* (<http://www.dp.cdc.gov/dpdx>)

Los huevos de *A. lumbricoides* son muy resistentes, pueden soportar temperaturas extremas (-10°C- 45°C) y pueden sobrevivir durante meses en las heces y las aguas residuales. La composición química de cada una de las capas que conforman el caparazón del huevo es la que confiere resistencia a los huevos a las condiciones geoclimáticas en donde éstos se desarrollan y a los tratamientos convencionales que recibe el agua residual. La tabla 2.2 señala la composición y la función de cada una de ellas.

Tabla 2. 3 Composición de las capas de los huevos de helmintos

PARED	COMPOSICIÓN	FUNCIÓN
Capa interna lipídica	<ul style="list-style-type: none"> ❖ (75 %) ascarósidos (3,6 dideoxi-L-arabinohexosa vinculado a una larga cadena de alcohol (manoles y dioles secundarios que contienen de 22 a 37 átomos de carbono) por un enlace glucosídico). ❖ (25 %) Proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Permeabilidad selectiva (evita la penetración de sustancias polares). ❖ Cambio con el ambiente (resistencia a la desecación)
Capa quitinosa	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Microfibras de quitina (un homopolímero de N-acetil-D-glucosamina unido por enlaces β (1→4) dentro de una matriz proteica 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Resistencia estructural
Capa vitelina	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Lipoproteínas 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Adhesión
Capa externa o uterina	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Mucopolisacáridos ❖ Proteínas ❖ Lípidos 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Adhesión ❖ Casi impermeable (excepto a gases y solventes de lípidos)

Gaspard, (1995); Brownell y Nelson, (2006)

2.1.2.3 Ciclo de vida

La hembra fecundada que se encuentra en el intestino delgado deposita sus huevos que son eliminados junto con la materia fecal, éstos no son infectantes ya que para serlo deben embrionar a nivel del suelo. En tres semanas se desarrolla el embrión que se transforma en larva móvil del primer y posteriormente del segundo estadio, este último es la forma infectante. Los huevos infectantes al ser ingeridos alcanzan la segunda porción del duodeno, la larva de 200 a 300 micrómetros perfora la membrana y eclosiona, penetra la pared intestinal alcanzando los vasos mesentéricos y en 24 horas por vía porta llega la larva al hígado donde permanece de 3 a 5 días y aumenta su tamaño hasta alcanzar los 900 micrómetros (tercer estadio), sigue su migración por venas suprahepáticas, vena cava inferior, corazón, arterias pulmonares, atraviesa la membrana alveolo capilar y cae en los alvéolos donde muda y se transforma en larva de cuarto estadio, llegando a medir hasta 1.5 cm de largo, después asciende por bronquiolos, traquea, laringe y es deglutida, pasando a esófago y estómago, y finalmente al intestino delgado, donde se convierten en larvas de quinto estadio, desarrollando su madurez sexual (2 a 3 meses), produciéndose la fecundación y cerrándose el ciclo con la presencia de huevos en la materia fecal (figura 2.3) (Beaver *et al.*, 1994; Chable, 2001; Tay *et al.*, 2002; Salas *et al.*, 2004; Gallardo, 2006).

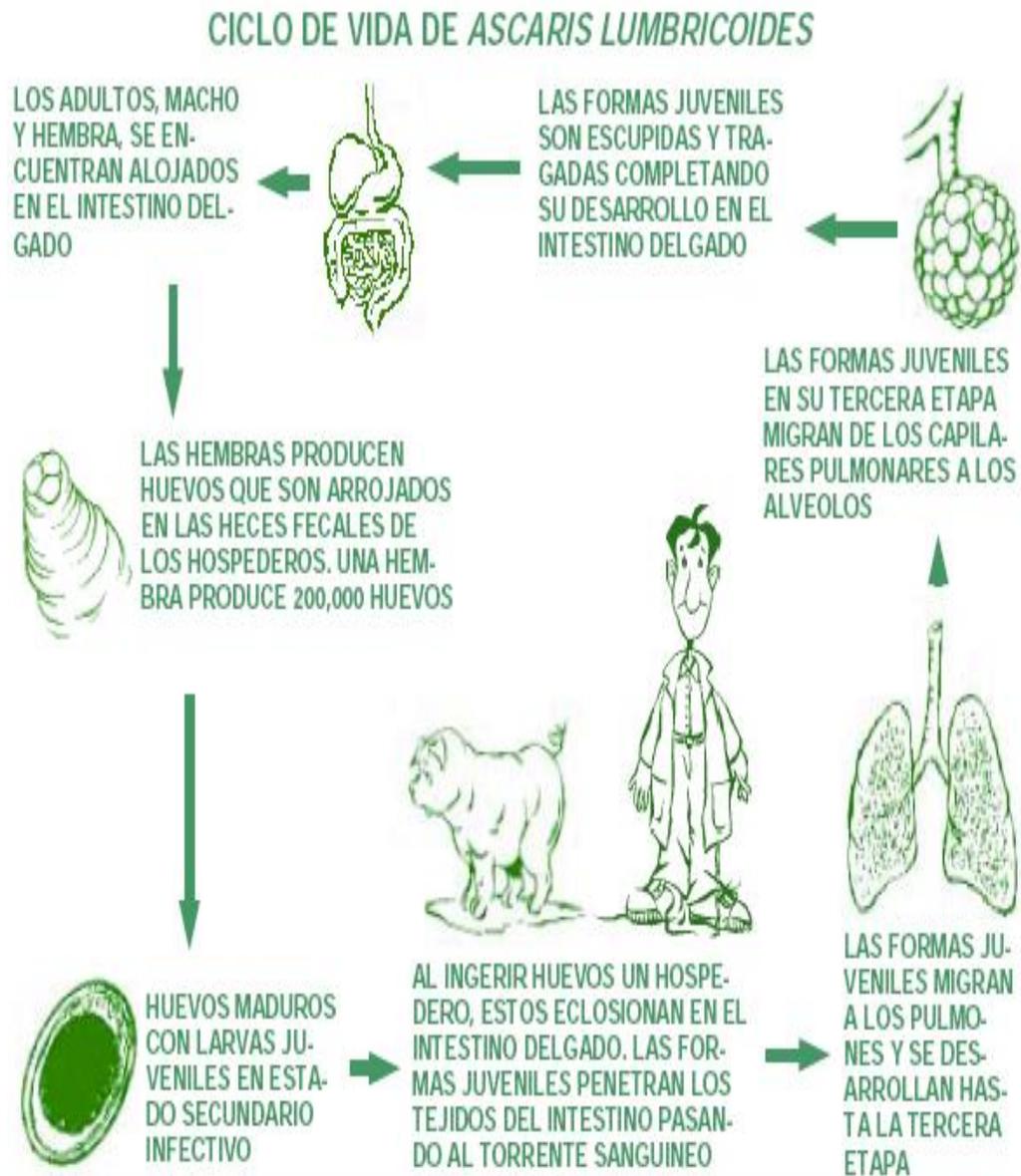


Fig. 2. 2 Ciclo de *Ascaris lumbricoides*. Comisión Nacional del Agua, 2001 (CNA)

2.1.2.4 Cuadro clínico

La ascariosis presenta diversos cuadros clínicos, el daño se relaciona con la intensidad de la infestación y las condiciones del paciente (edad, estado nutricional), así como la fase y lugar anatómico en la que se encuentre la larva de *A. lumbricoides*. En el período larvario, la larva pasa por pulmones, produciendo procesos inflamatorios, fiebre elevada, tos, disnea, eosinofilia transitoria; a este cuadro se le conoce como síndrome de Löeffler o neumonía eosinofílica que dura alrededor de una semana. Si la larva se encuentra en el intestino delgado (quinto estadio) y dependiendo del número de larvas, se producen náuseas, vómitos, diarrea, pérdida de peso, dolor abdominal tipo cólico (Lorcaín, 2000; Cabello 2001; Tay *et al.*, 2002; Vázquez, 2003).

La obstrucción intestinal por *Ascaris* es una complicación frecuente de los niños con alta carga de parásitos de zonas endémicas (Chable, 2001). Entre un 5 y 35% de niños lactantes y hasta 5 años de edad presentan este tipo de complicación (Salas *et al.*, 2004). La obstrucción es una masa agregada de gusanos que bloquea el lumen intestinal, especialmente a nivel de íleon terminal. La obstrucción usualmente es parcial, y si se prolonga se puede convertir en completa. La obstrucción prolongada puede complicarse con infarto hemorrágico, intestinal o perforación. La sintomatología comienza con dolor abdominal, cólico, vómitos y constipación (Villamizar *et al.*, 1997; Tay *et al.*, 2002).

En las reinfecciones continuas, que por lo general se observa en los niños, además del síndrome de Löeffler, se produce sensibilización con manifestaciones alérgicas, infiltración pulmonar, ataques asmáticos y edema de labios (Cabello, 2001).

2.1.2.5 Distribución de ascariosis en México y en el mundo

La OMS señala que las áreas rurales de Latinoamérica, Lejano Oriente y África, reciben un servicio muy deficiente de saneamiento y que sólo uno de cada cinco pobladores tienen acceso al agua potable, lo que propicia que la población adopte una conducta higiénica inadecuada, entre ellas el uso de agua residual (citado por Habarri *et al.*, 2000; Aguilar,

2002). Por esta razón es frecuente encontrar, en comunidades socio económicamente pobres, una frecuencia de parasitosis que rebasan el 50% y en ocasiones llegan al 100%. Siendo la población infantil la más afectada, calculándose que el 90% de los niños de nuestro país son portadores de diversas parasitosis. Siendo *Ascaris lumbricoides* el nemátodo de mayor incidencia en cuanto a parasitosis causadas por helmintos (Solís, 2001; Rodríguez *et al.*, 2004; Gallardo, 2006).

Ascaris lumbricoides es un parásito cosmopolita, se distribuye principalmente en climas húmedos, templados o cálidos. Afecta a 25% de la población mundial y a 45% del continente americano (Jiménez, 2007). *A. lumbricoides* es frecuente en zonas con condiciones sanitarias deficientes, condiciones de vivienda precaria, en donde existe la falta de agua potable, hay falta de letrinas, deficiencia en el alcantarillado, etc. (Mireya *et al.*, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que cerca de 3,500 millones de personas están afectadas por algún tipo de infección vía gastrointestinal, de las cuales alrededor de 1'273,000 personas en todo el mundo están infectadas por *Ascaris lumbricoides* (en Martínez, 2002; en Jiménez, 2007).

En México, la ascariosis es la parasitosis que se presenta con mayor frecuencia en niños que tienen de 2 a 15 años de edad, que viven en regiones donde la higiene es deficiente, y que el nivel socioeconómico de su región es muy bajo, así como el nivel de educación. La falta de instalaciones sanitarias conduce a que se contaminen los suelos propagándose la ascariosis por la contaminación fecal. Por esa razón los niños se infectan, en mayor porcentaje que los adultos (79% contra 49%) al jugar con la tierra contaminada de huevos infectantes de *A. lumbricoides*, por no lavarse las manos (ciclo fecal- oral), por ingesta de alimentos crudos mal lavados o lavados con agua contaminada, (Sánchez *et al.*, 2000; Tay *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2004).

De acuerdo con el Sistema Nacional de Información de Salud (SINAIS) de la Secretaría de Salud (SSA), en 2003, la ascariosis ocupó la decimoctava causa de muerte en la población a nivel nacional con 4,561 casos y la primera entre la población infantil preescolar (1 a 4

años) con 648 casos. Para el 2006 aumentaron los casos a 147,420 con un mayor índice en niños de 5 a 9 años (Mireya *et al* 2005; Gallardo, 2006; Sistema Único para la Vigilancia Epidemiológica/ Dirección General de Epidemiología/ SSA 2006).

2.1.3 Legislación del agua residual tratada con fines de reúso

Es evidente que el agua residual tratada para riego aporta varios nutrientes al suelo, esto se debe a la materia orgánica que contiene, mejorando así las cosechas y la calidad de las hortalizas, al mismo tiempo de que se reducen costos por no utilizar fertilizantes en la agricultura (Peassey, 2000; Frers, 2005; Campos, 2008). Sin embargo, de acuerdo a reportes de diversos estudios epidemiológicos (López *et al.*, 2001; Flores, 2002; Maya *et al.*, 2005; Mireya *et al.*, 2005; Bastos *et al.*, 2008) el uso del agua residual sin tratamiento para el riego agrícola pone en riesgo la salud pública, ya que los consumidores de los productos así regados, podrían contraer helmintiasis y otra enfermedades intestinales. (Braton, 1993; Lorcaín, 2000; Nelson, 2003; Rojas *et al.*, 2004; Bastos *et al.*, 2008). Por esta razón la Norma oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997 establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público (tabla 2.3), con el fin de proteger a la salud pública.

Tabla 2.4 Límites máximos permisibles del contenido de huevos de helmintos en aguas de riego (NOM-003-SEMARNAT-1997)

TIPO DE REÚSO	HUEVOS DE HELMINTO (HH/L)
Servicios al público con contacto directo	1
Servicios al público con contacto indirecto	5

NOM-003-SEMARNAT-1997

2.1.3.1 Técnicas analíticas aplicadas para la cuantificación y viabilidad de huevos de helmintos

En el ámbito internacional existe una gran variedad de procedimientos para la cuantificación de parásitos en agua, sin embargo, dentro de las metodologías que se emplean a nivel mundial para determinar el número de huevos de helminto, destaca el método de Bailenger modificado, recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los métodos Leeds I y Leeds II (de la universidad de Leeds, del Reino Unido). En general todas las metodologías que existen, incluyen en su procedimiento los pasos de concentración (mediante sedimentación, filtración o centrifugación), extracción (flotación o sedimentación) empleando sustancias químicas, y como paso final la observación y recuento de huevos de helmintos utilizando el microscopio. Sin embargo diversos estudios (Torres *et al.*, 2001; Galván *et al.*, 2002; Jiménez *et al.*, 2002; Maya *et al.*, 2006; Jiménez *et al.*, 2007) reportan que aún con estas similitudes, los resultados varían con el tipo de agua residual, el tipo y número de huevos de helmintos, el método de concentración de la muestra y el método para la lectura final. Por esta razón no es posible tener un método universal, el cual se aplique a todo tipo de muestras y con el cual se obtengan todos los tipos y cantidades de huevos de helmintos de importancia sanitaria y por lo tanto que sea adecuado para su uso en cualquier laboratorio, sobre todo en países en desarrollo.

En México es de suma importancia la necesidad de contar con metodologías cuyo tiempo de respuesta sea el menor posible, dado que el uso de aguas residuales en el riego agrícola se ha extendido en los últimos años. Por lo que la legislación mexicana ha fijado normas en las que se ha establecido un método de evaluación de calidad parasitológica. Sin embargo el método tiene un tiempo de respuesta demasiado largo y por lo tanto hay que esperar los resultados para disponer de las aguas, esto crea un problema de su almacenamiento antes de confirmar que se cumplen con las normas de calidad establecidas. Por esta razón en la búsqueda de nuevas técnicas que sean sencillas, eficaces y de fácil manipulación, para la cuantificación de parásitos en agua y agua residual, se han planteado técnicas con las que se obtienen buenos resultados en poco tiempo (Galván *et al.*, 2002; Reinoso *et al.*, 2008).

En general las técnicas analíticas se clasifican en cualitativas y cuantitativas. A continuación se describen cada una de ellas.

2.1.3.1.1 Técnicas cualitativas para la detección de parásitos

Estos procedimientos se utilizan para identificar parásitos o algunos de sus estadios a partir de muestras de materia fecal y se pueden incluir como pasos a seguir en las técnicas que se aplican para la identificación de huevos de helmintos en agua. Se clasifican según los principios físicos aplicados para separar a los organismos (Markell, 2000).

1. Técnica de flotación: Se emplea para aislar quistes, ooquistes y huevos de la materia fecal; estos procedimientos son sencillos y rápidos, se basan en utilizar soluciones que tienen mayor densidad que los organismos que contienen las muestras; es decir, se busca que floten mientras los restos de materia fecal se van al fondo. Los huevos y quistes suelen tener una densidad entre 1.05 y 1.15, aunque algunos como los huevos operculados (*Schistosoma spp.*, *Paragonimus mexicanus*, *Fasciola hepatica*) no se pueden concentrar en la superficie del recipiente utilizado debido a que tienen densidades superiores a 1.20 (Madigan *et al.*, 2000; Cabello, 2001).

La técnica de flotación más conocida la desarrolló Willis en 1921. En esta técnica se utiliza una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. También se pueden utilizar soluciones saturadas de sulfato de magnesio y azúcar común refinada, esta última con una densidad de 1.2 Otra técnica de flotación es la de Faust, la cual utiliza sulfato de zinc pero con una densidad de 1.18 para muestras frescas y 1.20 para muestras fijadas, la flotación se acelera mediante centrifugación (Madigan *et al.*, 2000; Cabello, 2001).

2. La técnica de McMaster : Es cuantitativa de amplio uso en parasitología y veterinaria, la solución saturada que se utiliza es cloruro de sodio, se pesan tres gramos de heces y se utiliza una cámara de acrílico con una cuadrícula (disponible comercialmente) del tamaño de un portaobjetos; el número de quistes, huevos o larvas, se multiplica por el factor de corrección para obtener el número de éstos por gramo de heces. De cualquier solución que se utilice debe verificarse la densidad periódicamente; una vez realizadas las preparaciones entre porta y cubre objetos, se recomienda revisarlas a la brevedad posible, ya que los huevos, quistes y larvas se deforman en poco tiempo (Murray *et al.*, 1999; Markell, 2000).

3. Técnica de sedimentación: En esta técnica los huevos y quistes se depositan por gravedad en el fondo del recipiente que se utilice. Consiste en disolver cierta cantidad de materia fecal en agua de llave. Después de varias decantaciones se toma una muestra del sedimento y se observa con una gota de Lugol para tinción y contraste. Esta es la técnica de elección para la búsqueda de huevos de *F. hepática*, *Cotilophorom spp.* y otros tremátodos (Cabello, 2001; Markell, 2000).

4. Método de concentración: Las dos técnicas más usuales por este método son la de Faust (sulfato de zinc) modificada por varios especialistas y la de Ritchie (formol-éter), en la que se utiliza la centrifugación para acelerar la flotación y obtener un sedimento; cabe mencionar que mediante estas dos técnicas en comparación con las otras, los huevos y quistes se distorsionan menos. En la técnica de Ritchie el acetato de etilo puede sustituir al éter como medida de seguridad, esto, ante el riesgo del éter que es altamente inflamable (Madigan *et al.*, 2000).

2.1.3.1.2 Técnicas cuantitativas para la detección de parásitos

Las técnicas cuantitativas fueron diseñadas para identificar parásitos en heces fecales y a la vez cuantificarlos para determinar en algunos casos la carga parasitaria. Son numerosas y variadas las técnicas. Dentro las que más se utilizan están la técnica de McMaster que es directa por flotación, la de frotis grueso diseñada por Kato y Miura en 1954, evaluada por Martin y Beaver en 1968 y modificada por Katz en 1972 y la de Stoll y Hausheer, desarrollada en 1926. La técnica de Stoll es la que más se aplica en laboratorios de análisis. Utiliza hidróxido de sodio para ablandar las heces, disolverlas y poder tener una solución homogénea (0.15mL) de esa forma se puede realizar el conteo de huevos al tomar una muestra (0.075mL) en un portaobjetos (Markell, 2000).

En cuanto al análisis de agua (residual, superficial, subterránea, potable) destacan la técnica de Bailenger (OMS), Filtración por membrana, Técnica de concentración y lavado cuantitativo (U.S. EPA), Leeds (Universidad de Reino Unido), y la técnica de Faust. Estos métodos emplean en su procedimiento las técnicas analíticas cualitativas ya mencionadas (inciso 2.1.3.1.1), pero de forma diferente lo cual hace que también sea diferente, o se distinga un método del otro (Galván *et al.*, 2002).

En un estudio reciente por Maya *et al.*, (2006), compararon los métodos de la U.S. EPA, Filtración por membrana, Leeds I y el de Faust para ver su eficiencia, sensibilidad y precisión, en la recuperación y cuantificación de huevos de helmintos. Encontraron que el método de la U.S. EPA y el método de filtración por membrana tuvieron mejores resultados como se puede ver en la tabla 2.5.

Tabla 2.5 Comparación de técnicas analíticas para la cuantificación de huevos de helmintos en agua y agua residual (Maya et al., 2006)

MÉTODO	SENSIBILIDAD	PRECISIÓN	EFICIENCIA
U.S. EPA	75%	0.69%	82%
Filtración por membrana	72%	0.71%	79%
Leed I	1.3%	0.42%	24%
Faust	2.0%	2.01%	51%

En la búsqueda de nuevas técnicas que sean sencillas, eficaces y de fácil manipulación, para la cuantificación de huevos de helmintos, en 2000 Galván y colaboradores evaluaron la viabilidad de huevos de *Ascaris suum* utilizando colorantes biológicos: azul tripán, rojo congo, eosina “Y”, solución lugol, hetoxilina, safranina, verde de metilo, en combinación con el método de concentración por filtración y transparentación de la membrana (F/TM). Los resultados en el laboratorio mostraron que los huevos potencialmente viables, son impermeables a cualquiera de los colorantes viables, mientras que los huevos no viables

fijaron el colorante. Los colorantes que resultaron ser mejores en cuanto a costo y tinción (visibilidad del huevo) fueron el Azul de Tripán y el Rojo Congo.

En una segunda etapa del estudio, evaluaron muestras de aguas residuales domésticas crudas, y de sus efluentes tratados por lodos activados de la Planta de Tratamientos de la Universidad Nacional Autónoma de México. A las muestras de agua se les aplicó la técnica de tinción con los colorantes mencionados, teniendo muy buenos resultados en la identificación y cuantificación de huevos de helminto.

Como tercera parte del estudio, consistió comparar la técnica de incubación *in vitro* (Ayres, 1989; NOM-004-SEMARNAT-2002) con la técnica de tinción con colorantes. Encontraron que aunque el estudio se realizó para la detección de *Ascaris*, la técnica de tinción sirvió también para detectar otras especies encontradas en las muestras de agua como fueron *Trichuris trichiura* y en ocasiones *Enterobius vermicularis*. En cuanto a la técnica de incubación *in vitro*, reportaron que es una técnica confiable para determinar la viabilidad en huevos de helminto, siendo el único inconveniente que los resultados se obtiene en cuatro semanas, ya que es una técnica que se basa en la observación del embrionamiento y eclosión de la larva.

Con base en la bibliografía, en el presente trabajo se utilizará la técnica de concentración por filtración y transparentación por la membrana, así como la técnica de tinción con Azul de Tripán para la cuantificación y viabilidad de huevos de *Ascaris suum*.

2.1.3.2 Procesos de remoción e inactivación de huevos de helmintos

Los procesos de remoción de huevos de helminto se dividen en biológicos y fisicoquímicos. Dentro de los procesos biológicos se encuentran: las lagunas de estabilización, los humedales artificiales y los reactores anaerobios. En el grupo de los procesos fisicoquímicos esta la filtración rápida, embalses, coagulación- floculación y radiación con luz UV (tabla 2.4) (Méndez *et al.*, 2002; Barrios *et al.*, 2004; Aguilar *et al.*, 2006; Jatinder, 2009). Sin embargo, estos procesos solo transfieren los huevos de helminto

de la fase líquida a una fase sólida, sin destruirlos ni afectar su viabilidad, es decir, la capacidad de desarrollarse hasta la etapa infectiva.

En cuanto a la inactivación de huevos de helminto se encuentran los procesos químicos, dentro de los cuales destacan los procesos de oxidación avanzada que además de remover inactivan en los que se pueden señalar: el ozono y el reactivo de Fenton.

Tabla 2.6 Aplicación de los procesos de remoción

REFERENCIA	PROCESO	TIPO	REMOCIÓN	DESVENTAJA
Mara, 2003; Figueroa, et al., 2004	Lagunas de estabilización		1) 95% en bacterias 2) 98% unidades log en virus 3) 100% en protozoarios y huevos de helmintos	1) Tiempos de retención de 5 a 20 días para disminuir la concentración de microorganismos 2) Los huevos de helminto se sedimentan
Goodfree, A, 1984; Jiménez, 2003	Humedales artificiales	Biológico	1) 90 % de conformes termotolerables 2) 64 a 67% de bacteriofagos 3) 60 a 100% de protozoarios	1) Los tiempos de retención son de 4 días 2) La remoción de patógenos depende del clima y tipo del humedal
Torres, L et al., 2005; Cortés, J, 2006	Reactores (sistemas anaerobios)	Biológico	90 -96% en huevos de helmintos	Tiempos de retención de 5.5 horas
Jiménez et al., 2001	Filtración rápida	Fisicoquímico	1) 90% coliformes fecales 2) 90 a 99% huevos de helmintos 3) 50 a 80% protozoarios	Solo para ciertos efluentes
Juanicó y Milstein, 2004	Embalses	Fisicoquímico	100% huevos de helmintos	Aplica solo para sistemas por lotes
Bratby, J, 1981; Aguilar et al., 2006	Coagulación-floculación	Fisicoquímico	1) 80-95% de conformes fecales 2) 70% de huevos de helmintos	1) Tiempos de retención de 9 a 12 horas 2) Los huevos de helmintos solo pasan de la fase líquida a la sólida sin afectar en su viabilidad
Brownell et al., 2006	Radiación UV (se ha encontrado inactivación de huevos de	Físico	1) 60 a 65% huevos de helmintos en célula única 2) 9 a 10%	1) La efectividad del proceso depende de la longitud de onda 2) El costo es alto

	helminto)		desarrollo de larva móvil	
--	-----------	--	---------------------------	--

Estos procesos de oxidación son una alternativa para inactivar huevos de helmintos, ya que por la oxidación que se lleva a cabo pueden dañar o atravesar las capas del huevo de helminto que por su composición (Gaspard, 1995; Brownell y Nelson, 2006) los hacen resistente a los tratamientos convencionales de desinfección.

Dentro de los trabajos realizados para inactivación de huevos de helmintos destaca el estudio realizado por Orta De Velásquez *et al.*, (2002), en el cual mediante un reactor utilizaron ozono para la inactivación de huevos de helminto, observaron que con una dosis de 18.4 mg O₃/ min, a pH menores de 5 y utilizando una concentración de 1x10⁶ huevos/L, se presentó una inactivación del 94 %.

Posteriormente, con la misma concentración de huevos de *A. suum* , utilizaron pH de 3 con la dosis de 18.4 mg O₃/min durante una hora, y el 96.7 % de los huevos mostraron daños en su capa externa. En el 2004, Orta De Velásquez *et al.*, utilizaron muestras aplicando ozono en fase líquida y observaron que utilizando una dosis de 4.7 mg/min/L, una concentración de 500 huevos/L y un valor de pH 5.9, se presento una inactivación de huevos de helminto del 99 % en 120 min.

Sin embargo, la desventaja de utilizar ozono, es el alto costo para poder llevar a cabo el proceso de oxidación avanzada, ya que se necesita de un equipo especializado para su generación e inyección, comparado al reactivo de Fenton, el cual puede ser una opción viable desde el punto de vista económico, para la inactivación de huevos de helminto.

En cuanto al uso del reactivo de Fenton, la mayoría de los estudios en agua residual se enfocan en la eliminación de compuestos orgánicos e inorgánicos, en los cuales se han obtenido muy buenos resultados (Bigda, 1995; Chamarro, 2001; Waite, 2002; Arslan, 2007).

Existen pocos estudios sobre la inactivación de huevos de helmintos utilizando el proceso de Fenton. Tal es el caso del trabajo realizado recientemente por Solís, (2009), en el cual utilizó Fenton clásico y Fenton asistido con luz UV para la inactivación de huevos de helminto. Para Fenton clásico observó que con una dosis de peróxido de 28.64 mg/L, un tiempo de 58.45 min y una relación másica de 11.24 ($\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$), se obtuvo una inactivación del 89.19% en los huevos de helminto. Mientras que para Fenton asistido con luz UV utilizando una dosis de peróxido de 21.90 mg/L, un tiempo de 21.28 min (menos de la mitad que el dato anterior) y una relación másica de 0.07 ($\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$), la inactivación fue de 88.04 %.

2.2 Proceso de Fenton

La reacción de Fenton se define como un proceso de oxidación avanzada (POA) o tecnología de oxidación avanzada (TOA), que involucra la generación y uso de especies transitorias altamente reactivas, en el cual los radicales hidroxilos ($\bullet\text{OH}$) son los principales oxidantes implicados que reaccionan con los compuestos orgánicos e inorgánicos (Bigda, 1995; Whang, 2000).

2.2.1 Antecedentes del reactivo de Fenton

En 1894 el químico Henry J. Fenton descubrió la oxidación de muchas moléculas orgánicas en solución acuosa agregando simultáneamente un catalizador de hierro soluble en agua y peróxido de hidrógeno. La oxidación se comprobó en intervalos de pH ácido, sin necesidad de recurrir a altas presiones o temperaturas, y utilizando equipamiento convencional. Por años el descubrimiento de Fenton sólo atrajo el interés por descifrar el mecanismo detallado por el cuál tiene lugar la oxidación. Fue hasta 1930 cuando se identificó el mecanismo de reacción del reactivo de Fenton suscitando un gran interés en áreas como bioquímica, síntesis, química del agua natural y tratamiento de residuos peligrosos (Bigda, 1995; Kang, 2000).

El reactivo clásico de Fenton se compone de una mezcla de dos soluciones, una de un metal reductor de transición (Fe^{2+} , Cu^+ , Co^{2+} , Mn^{3+}) y otra de peróxido de hidrógeno. Comúnmente se utilizan por su costo, disponibilidad y eficiencia las sales de hierro, en particular el sulfato ferroso. La mezcla de ión ferroso y peróxido de hidrógeno es llamada reactivo Fenton tradicional (clásico). Si se reemplaza el ión ferroso por ión férrico se denomina reactivo tipo Fenton (Barb, 1951; Kang, 2000).

2.2.2 Mecanismos de la reacción de Fenton

El principio de la reacción de Fenton es la formación de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). La velocidad de reacción del reactivo Fenton está generalmente limitada por la velocidad de generación de radicales $\bullet\text{OH}$.

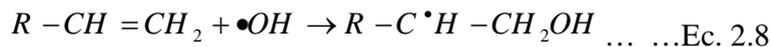
El mecanismo de reacción para la descomposición de peróxido de hidrógeno en solución ácida y en ausencia de compuestos orgánicos es el siguiente (Sawyer, 1997; Rodríguez, 2004):



Si hay sustancias orgánicas en el sistema Fe^{2+} , Fe^{3+} , H_2O_2 , el sistema reacciona de muchas maneras generando radicales hidroxilo como se muestra a continuación:

- Extracción de hidrógeno de átomos de carbono alifáticos
 - $\bullet\text{OH} + \text{RH} \rightarrow \text{R}^\bullet + \text{H}_2\text{O} \dots\dots\dots \text{Ec. 2.7}$

- Adición electrofílica a dobles enlaces o anillos aromáticos



➤ Reacciones de transferencia de electrones



2.2.3 Factores que influyen en la reacción de Fenton

Los principales factores que tienen influencia en la eficiencia de tratamiento de aguas al aplicar la reacción de Fenton son: pH, concentración de hierro, concentración de peróxido, temperatura, tiempo de reacción y luz UV/visible, los cuales deben ser controlados para obtener condiciones óptimas del proceso. A continuación se describe cada uno de ellos (Bigda, 1995; Chamarro, 2001; Waite, 2002; Arslan, 2007).

2.2.3.1 Efecto del pH

El pH óptimo se sitúa entre un intervalo de 3 a 6 y la pérdida de eficacia en medio básico se relaciona con la transición del hierro de la forma ferrosa hidratada a especies férricas coloidales, bajo las cuales el hierro descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, pero sin promover la formación de radicales (Waite, 2002). Como se puede observar en la fig 2.4 el pH de agua residual con un pH inicial de 6, disminuye conforme avanza la reacción de Fenton. Esto se atribuye a la fragmentación de la materia orgánica en ácidos orgánicos. El monitoreo del pH asegura que la reacción se lleva a cabo, por lo que si el pH deja de disminuir, puede significar que la reacción se ha inhibido y que la concentración de peróxido está aumentando, lo cual puede ser un peligro potencial (Malpica de la Torre, 2002; Arslan, 2007).

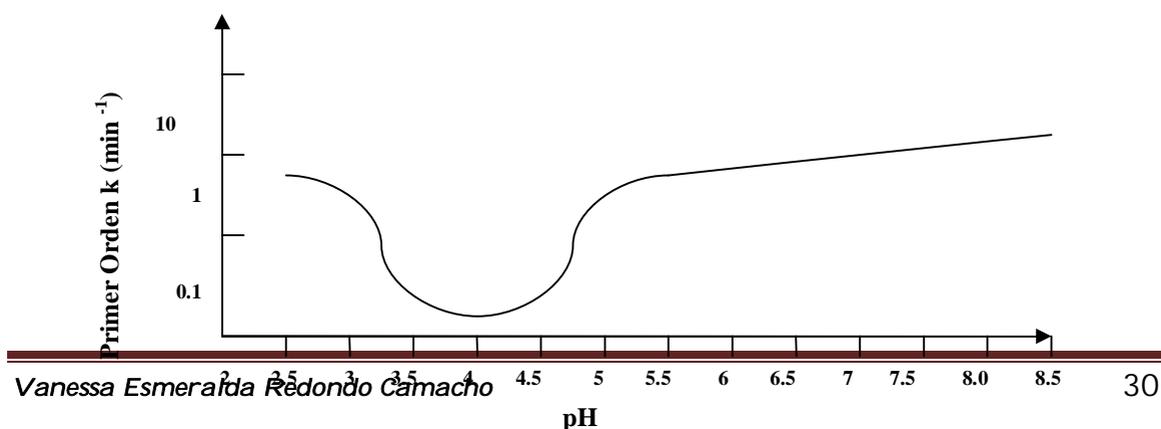


Fig. 2. 3 Efecto del pH en la reacción de Fenton (Waite, 2002)

2.2.3.2 Concentración de hierro

Existe un intervalo de dosis en la adición de hierro, debido a que un incremento en la concentración de iones ferroso provoca un aumento en la cantidad de sales de hierro no útil para la reacción de Fenton y, una baja cantidad de hierro no provoca la eficiencia que se requiere para que se lleve a cabo en el proceso (Chamarro *et al.*, 1999; Rivas *et al.*, 2001). Por lo tanto la presencia del catalizador es básica a fin de que se lleve a cabo la reacción de Fenton, en ausencia de éste, no existe evidencia de la formación de radicales hidroxilos.

La dosis de hierro puede ser expresada como una relación con respecto a la dosis de peróxido de hidrógeno y el intervalo típico es de una parte de hierro por 5-25 partes de peróxido de hidrógeno en peso (González, 2001).

2.2.3.3 Concentración de peróxido de hidrógeno

En algunos estudios se ha reportado que el porcentaje de degradación de los contaminantes se incrementa con un aumento de la dosificación de peróxido de hidrógeno. Todo depende de la carga de contaminante a tratar. Sin embargo no se recomienda utilizar cantidades en exceso ya que el peróxido de hidrógeno residual contribuye a la demanda química de oxígeno (Lin y Lo, 1997; González, 2001; Rivas *et al.*, 2001). La presencia de peróxido de hidrógeno es perjudicial para muchos microorganismos un ejemplo es el uso de peróxido en procesos como tratamiento previo a la oxidación biológica usando Fenton. Por lo anterior es importante ajustar la carga o dosis de peróxido de hidrógeno de tal modo que sea utilizada completamente en el estudio a realizar (Rivas *et al.*, 2001; Aguilar *et al.*, 2006).

La concentración de peróxido de hidrógeno depende de la cantidad de hierro que se utilice. Al aumentar la concentración de hierro la velocidad de oxidación de compuestos orgánicos

aumenta, hasta un punto en el cual un aumento adicional de dicha concentración de sal es ineficaz. Este factor es característico del reactivo de Fenton, aunque dicho rango varía según el tipo de agua residual (Centi *et al.*, 2000; Chamarro *et al.*, 2001). La concentración umbral mínima que se recomienda usar es de 3 a 15 mg/L, de esta forma se permite el curso de la reacción en un período razonable de tiempo, sin tener en cuenta la concentración de material orgánico. Así mismo se debe tomar en cuenta la relación hierro-peróxido, con el fin de obtener una mayor eficiencia. La relación que se recomienda de Fe:H₂O₂ (masa/masa) se encuentra entre 1:5, 1:10, 1:25 (González, 2001; Arslan, 2007).

2.2.3.4 Efecto de la temperatura

La velocidad de reacción del proceso de Fenton se incrementa con la temperatura, siendo el efecto más pronunciado a temperaturas menores de 20 °C. Sin embargo, cuando la temperatura aumenta arriba de 40 ó 50 °C la eficiencia decrece. Lo anterior se debe a que se acelera la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. La aplicación comercial del reactivo de Fenton ocurre a temperaturas entre 20-40 °C (Arslan, 2007). La aplicación de reactivo de Fenton para el pre-tratamiento de aguas residuales altamente concentradas puede requerir una adición secuencial o controlada del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para moderar el aumento de la temperatura como resultado de la reacción.

Cuando la dosis de H₂O₂ excede de 10-20 g/L se debe moderar la temperatura no sólo por razones económicas sino también por razones de seguridad (Kang, 2000; Malpica de la Torre, 2002).

2.2.3.5 Tiempo de reacción

El tiempo de reacción depende de la dosis del catalizador, dosis de peróxido y de las características del agua residual ya que en base a estas se determinará la forma de aplicar dichos reactivos. Por ejemplo, para una oxidación simple de un agua con fenol (menos de

250 mg/L) el tiempo de reacción es de 30-60 min. Para aguas más concentradas y complejas la reacción puede tomar varias horas. En tales casos la adición de reactivos es mejor por pasos para que se lleve a cabo la reacción de una forma eficaz, que adicionando catalizador y oxidante juntos al inicio (Kang, 2000; Arslan, 2007).

2.2.3.6 Influencia de la luz UV y luz visible

Diversos estudios han demostrado que la fuente de irradiación presenta una gran influencia en el proceso de mineralización de compuestos orgánicos, como el caso del fenol y el nitrobenceno. Rodríguez (2003) reporta que para estos compuestos la lámpara UV a 254 nm es más eficiente en comparación con la lámpara negra policromática (300-400 nm) y con una lámpara de xenón (300-560 nm).

Por otro lado, el uso de luz UV/visible en los sistemas $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ o $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ incrementa significativamente la velocidad de degradación de algunas sustancias orgánicas (Oliveros *et al.* (1997; Koivonen, 2005).

La irradiación de luz visible en el proceso de Fenton, aplicada en la degradación de colorantes, incrementa la eficacia (Anipsitakis *et al.*, 2004). El efecto benéfico de la luz UV se atribuye a la formación directa del radical hidroxilo y a la generación de Fe^{2+} (Chen *et al.*, 2001).

2.2.4 Aplicaciones del proceso de Fenton

Se ha demostrado que el reactivo de Fenton es muy efectivo en la remoción de contaminantes orgánicos (tabla 2.5) presentes en aguas residuales de origen municipal (Bishop *et al.*, 1980), en lixiviados de rellenos sanitarios (Yoon *et al.*, 1998; Ramírez Zamora *et al.*, 2000), en industria química, refinerías, limpieza de motores y metales (Rivas *et al.*, 2001). Sin embargo hay especies resistentes a la oxidación con este reactivo, por

ejemplo tetracloroetano (alcano clorado), y los ácidos carboxílicos de cadena corta (Chamarro *et al.*, 2001).

El proceso de oxidación de Fenton, además de eficiente tiene otra ventaja importante, no genera ningún subproducto peligroso o persistente como consecuencia de la reducción del agente que oxida (Chung-Ping y Yao-Hui, 2008).

Tabla 2.7 Contaminantes removidos mediante proceso de Fenton

PARÁMETRO	CONTAMINANTE	TIPO DE PROCESO FENTON	REFERENCIA
Color y carbono orgánico total	Ácido rojo 14 (AR14)	Electro Fenton	Aiming W. <i>et al.</i> , 2004
Cloruros orgánicos (TOX)	4-cloro-3-metil fenol	Fenton clásico	Lopez <i>et al.</i> , 2004
Plaguicidas	Tebutiurón, diurón y 2,4-D	Foto- Fenton	Paterlini W. <i>et al.</i> , 2004
	Fenitrotión	Foto Fenton	Derbala A. <i>et al.</i> , 2004
	Atrazina	Fenton clásico	Chan <i>et al.</i> , 2002
	Diuron, Formatanato y Metomilo	Foto-Fenton	Malato S. <i>et al.</i> , 2002
Fenoles residuos de la agricultura (Herbicidas)	Clorofenóxidos (4-clorofenol; 4-cloro o-cresol; 2,4-diclorofenol; 2,4,5-triclorofenol)	Electro-Fenton	Brillas E. <i>et al.</i> , 2004
Fenoles	Fenol	Fenton y Foto Fenton	Maciel R., <i>et al.</i> , 2004; Cavita V. <i>et al.</i> , 2003.
Ácidos complejos	Ácido 2,4,5-triclorofenoxiácetico	Electro Fenton y Foto electro-Fenton	Boye B. <i>et al.</i> , 2003

2.2.4.1 Tipos de proceso Fenton

El proceso Fenton se clasifica de acuerdo a su aplicación: en fase homogénea (Fenton clásico) y en fase heterogénea que utiliza como catalizadores soportes de hierro, zeolitas, resinas etc. Así mismo existen variantes o modificaciones del proceso Fenton como son foto Fenton, Fenton foto-asistido con luz ultravioleta (UV), y Electro Fenton, (Chamarro, *et al.*, 2001; Chu, 2007).

2.2.4.2 Fenton clásico

El proceso Fenton en fase homogénea consiste en la producción de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) mediante la reacción del peróxido de hidrógeno en presencia de una sal de un metal de transición que actúa como catalizador (Sawyer, 1997). Por lo general se utiliza una sal de hierro (cloruro férrico o sulfato ferroso) debido a que es el segundo metal y cuarto elemento más abundante en la tierra (Rodríguez, 2004). Aunque también se pueden usar sales de Cu (I), Co (II) y Mn (III) al ser metales de transición.

Una desventaja de este proceso es que se producen una cantidad considerable de lodos (Zhimin Qiang, *et al.*, 2003). Por esta razón, en las plantas de tratamiento de agua residuales se requiere de un proceso de separación y un sistema de disposición final de lodos, lo cual aumenta los costos de tratamiento (Chung-Ping y Yao-Hui, 2008).

2.2.4.3 Electro Fenton

Este proceso es una variante que se basa en la electro generación de peróxido de hidrógeno o de Fe^{2+} , en presencia del ión hierro y un medio acuoso ácido. Los reactivos generados van a depender de la potencia de la celda, condiciones de la solución y de la naturaleza de los electrodos (Beltrán *et al.*, 2001)

Existen diferentes tipos de reacciones electro-Fenton, el que más se utiliza es realizando una reducción de una sal de Fe^{3+} a Fe^{2+} en presencia de una corriente eléctrica. A este fenómeno se le llama Electro Fenton- Reducción de hierro (Zhimin Qiang, *et al.*, 2003).

2.2.4.4 Fenton asistido con luz UV y solar

Durante la radiación de luz UV y aplicando paralelamente un proceso de oxidación avanzada (POA), se aumenta la generación de radicales $\bullet\text{OH}$. En la reacción de Fenton asistido con luz UV, la radiación ultravioleta (300-400 nm) genera simultáneamente Fe^{2+} y $\bullet\text{OH}$, lo que aumenta la velocidad de la reacción (Zhimin *et al.*, 2003).

Aunque la radiación solar (rayos UV) ataca y descompone moléculas orgánicas rompiendo enlaces y generando radicales libres, usualmente se requieren tiempos muy largos, por lo que para mejorar los tiempos de descomposición, se aplican los rayos UV en fase homogénea o heterogénea (Chu, *et al.*, 2004).

El proceso homogéneo asistido con luz UV tiene la ventaja de su costo que es relativamente bajo y tiene alto rendimiento en la generación de los radicales del $\bullet\text{OH}$ para la descomposición de los compuestos orgánicos refractarios. Sin embargo, produce lodos durante el tratamiento, lo cual limita su uso amplio en el tratamiento de aguas residuales (Koivonen, 2005).

2.2.4.5 Fenton heterogéneo

Debido a la producción de lodos en el proceso de Fenton homogéneo, se desarrolló el proceso de Fenton heterogéneo con soportes catalíticos que presenta la ventaja de no formar lodos (Kavitha, *et al.*, 2004), y puede usarse a pH neutro (Moura *et al.*, 2004). Este

tipo de catalizadores han resultado ser más económicos y eficientes debido al bajo costo del hierro (Ramírez *et al.*, 2004).

De acuerdo con diversos estudios, los soportes que se pueden utilizar en la reacción de Fenton son orgánicos como el carbón activado e inorgánicos como la sílice, las zeolitas, la alúmina, el vidrio, arcillas naturales (Chamarro *et al.*, 2001; Gorai *et al.*, 2003; Centi *et al.*, 2004; Ríos *et al.*, 2004; Aguilar *et al.*, 2006) y recientemente en el área de ingeniería ambiental el uso de escorias por su alto contenido de óxidos de hierro, óxido de cobre y manganeso, los cuales son metales de transición que se aplican en la reacción de Fenton (Liang *et al.*, 2006 ; Huanosta, 2009). Por ejemplo, en Taiwán y Japón las escorias se están empleando como catalizadores de hierro y cobre en la reacción de Fenton para remover compuestos orgánicos de soluciones acuosas, obteniendo buenos resultados (Li, 1999; Chiou *et al.*, 2005; Liang *et al.*, 2006).

2.3 Generalidades de las escorias de cobre

Las escorias son un subproducto de menor valor que se genera en los procesos metalúrgicos de obtención y purificación de metales. Son extraídas de los hornos de fundición, se encuentran compuestas de una combinación de óxidos y son generadas en miles de toneladas cada año. En estudios recientes sobre el aprovechamiento de las escorias en el campo de la Ingeniería Ambiental, se sugiere que las escorias de cobre, hierro y acero se pueden considerar como una opción viable para participar en la reacción tipo Fenton, debido a que su composición mineralógica presenta altos contenidos de óxidos de hierro, así como óxido de cobre y manganeso, los cuales son metales de transición necesarios para llevar a cabo el proceso de Fenton (Yuan-Shen, 1999; Chiou-San *et al.*, 2006; Chyow-San 2007).

2.3.1 Definición

Una escoria es una mezcla de óxidos metálicos fundidos (SiO_2 , CaO , MgO , Al_2O_3 , FeO , Fe_2O_3 , $\text{Na}_2\text{O}/\text{K}_2\text{O}$) con pequeñas proporciones de algunos de los siguientes compuestos:

sulfuros, fluoruros, fosfatos, carburos, boratos o nitratos (Ballester *et al.*, 2003; Sancho *et al.*, 2003).

2.3.2 Contenido de óxidos en escorias

Dependiendo del proceso de producción que se realice, las escorias presentan ciertas características físicas y mecánicas como apariencia, dureza, densidad, entre otras, así mismo, su composición de óxidos de metales fundidos (SiO_2 , CaO , MgO , Al_2O_3 , FeO , Fe_2O_3 , $\text{Na}_2\text{O}/\text{K}_2\text{O}$) le da a cada escoria características específicas para su uso y aplicación (Gorai *et al.*, 2003; Medina *et al.*, 2006; Carranza *et al.*, 2008).

De acuerdo con esta información, y según lo reportado por Chiou *et al.*, (2005), Chiou (2006) y Li (1999); la composición química de la escoria de acero varía significativamente con la composición de la escoria de cobre empleada en estos reportes científico-tecnológicos (tabla 2.4).

Tabla 2.8 Comparación de contenido de óxidos en la escoria de cobre en diversos estudios

MUESTRA	SiO_2 (%)	TiO_2 (%)	Al_2O_3 (%)	Fe_2O_3 (%)	MnO (%)	MgO (%)	CaO (%)	Na_2O (%)	K_2O (%)	P_2O_5 (%)
Ramírez <i>et al.</i> , (2008)	29.74	0.339	5.80	61.57	0.14	0.21	0.60	0.59	1.10	0.11
Shi <i>et al.</i> , (2008)	25-40	-	3-15	35-60	-	0.7-3.5	2-10	-	-	-
Medina <i>et al.</i> , (2006)	23.95	0.22	1.89	40.25	-	-	0.74	-	-	-

Ramírez *et al.*, (2008)

2.3.3 Fases mineralógicas presentes en las escorias

En un estudio reciente por Huanosta , (2009), mediante la técnica de difracción de rayos X (DRX) aplicada en diferentes escorias (cobre, hierro y acero), identificó las fases mineralógicas presentes, con la finalidad de ser asociadas a procesos de adsorción o catálisis, según su composición (tabla 2.8).

Tabla 2.9 Fases mineralógicas identificadas de los picos en escorias de cobre, hierro y acero

CLAVE Y TIPO DE HORNO	TIPO	FASES DE METALES DE TRANSICIÓN	OTRAS FASES
		Asociadas a catálisis	Asociadas adsorción
AH (AH)	Hierro	Hierro vítreo	Ca ₂ MgSi ₂ O ₇ , akermanita γ-Al ₂ O ₃ alúmina
MIT (HAE)	Hierro	Fe ₂ O ₃ hematita, FeO wuestita	CaMn ₁₄ SiO ₂₄ braunita, Ca ₃ Mg(SiO ₄) ₂ merwinita, Ca ₂ Al ₂ SiO ₇ gehlenita, SiO ₂ cuarzo MgO periclase
Hacer (HBO)	Acero	Fe ₂ O ₃ hematita, FeO wuestita, FeFe ₂ O ₄ magnetita, Ca ₂ Mg _{0.2} AlFe _{0.6} Si _{0.2} O ₅ silicato de calcio magnesio aluminio y hierro	Ca(OH) ₂ hidróxido de calcio CaCO ₃ calcita, SiO ₂ cuarzo γ-Al ₂ O ₃ alúmina, Al(OH) ₃ nordstrandita, Al(OH) ₃ gibbsita, portlandita, P ₂ O ₅ óxido de fósforo
CR (HAE)	Acero	Fe ₂ O ₃ hematita, FeO wuestita, Ca ₂ (Al, Fe) ₂ O ₅ brownmilleritamagnesio ^a Mg ₂ TiO ₄ óxido de titanio-magnesio	Ca ₂ SiO ₄ larnita, CaCO ₃ calcita, γ - Al ₂ O ₃ alúmina, SiO ₂ cuarzo, Cr ₂ O ₃ eskolaita,
ND (HEI)	Acero	Fe ₂ O ₃ hematite, Fe ₂ O ₃ maghemita, Fe ₃ O ₄ óxido de hierro, Fe hierro, Ca ₂ (Al, Fe) ₂ O ₅ brownmillerita	SiO ₂ cuarzo, CaSiO ₃ wolastonita, Ca ₂ MgSi ₂ O ₇ akermanita, Ca ₃ Al ₂ O ₆ aluminato tricálcico, CaMg(SiO ₃) ₂ diopside, CaCO ₃ calcita
CU (AH)	Cobre	Fe ₂ SiO ₄ fayalita, FeCr ₂ O ₄ cromita, LiCuFe ₂ O ₄ óxido de litio cobre hierro	K ₂ MgSi ₅ O ₁₂ silicato de potasio magnesio

^a Metal de transición, con propiedades catalíticas; Huanosta, (2009)

Huanosta (2009) observó que las escorias estudiadas contienen Fe (III) en forma de hematita (Fe_2O_3), con excepción de AH y CU. En cuanto a las escorias de ACER, MIT, CR contienen FeO wuestita (Fe II) como fuente de hierro. Con base en los resultados obtenidos, reportó que las escorias con clave AH, CU, HACER y MIT, podrían tener un alto potencial de ser evaluadas como catalizadores para descomponer peróxido de hidrógeno en radicales hidroxilo.

También encontró las siguientes fases en las escorias: Fe_2O_3 maghemita, Fe_3O_4 óxido de hierro, FeFe_2O_4 magnetita, $\text{Ca}_2\text{Mg}_{0.2}\text{AlFe}_{0.6}\text{Si}_{0.2}\text{O}_5$ silicato de calcio magnesio aluminio y hierro, $\text{Ca}_2(\text{Al}, \text{Fe})_2\text{O}_5$ brownmillerita, Fe_2SiO_4 fayalita, $\text{LiCuFe}_2\text{O}_4$ óxido de litio cobre hierro. Ya que estas fases mineralógicas contienen metales de transición, podrían participar en la reacción de Fenton.

Al revisar otros estudios (Sabhi *et al.*, 2001; Noorjahan *et al.*, 2005; Chung *et al.*, 2008), se reafirma que las escorias de cobre, hierro y acero pueden ser aplicadas como catalizadores en la reacción de Fenton debido a la composición mineralógica que presenta.n

Como se ha mencionado antes (inciso 2.3.2), las escorias presentan ciertas características (físicas, químicas y mecánicas) que son de importancia conocer de acuerdo al uso que se les dé. En el presente trabajo sólo se menciona la composición de óxidos, así como las fases mineralógicas reportadas en estudios recientes, debido a que la aplicación de la escoria será en la reacción de Fenton y como ya se explicó, para que se lleve a cabo la reacción de Fenton es importante saber la cantidad de hierro (catalizador) presente en el soporte, en este caso en la escoria para poder tener resultados satisfactorios al realizar las pruebas de oxidación.

2.3.4 Legislación

En la actualidad la legislación ambiental en materia del manejo y disposición de escorias está enfocada básicamente a la disposición final y aprovechamiento de las escorias que no representan un riesgo al ambiente. Estas regulaciones marcan como objetivo promover la

valoración y reciclamiento basados en la caracterización fisicoquímica de las escorias (Riveros *et al.*, 2000).

La Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005 establece las características que hacen que un residuo se considere como peligroso, así como el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos identificados. De acuerdo con esta norma, un residuo es peligroso si presenta entre sus características el ser corrosivo, reactivo, explosivo, tóxico, inflamable o biológico-infeccioso.

En un estudio por Ramírez *et al.*, en 2008 mostró que la composición química total de las escorias de cobre presenta un contenido muy bajo de metales pesados que no rebasan los límites máximos permisibles que señala la norma y que son lixiviados en cantidades no significativas en pruebas a nivel laboratorio (ver tabla 2.5). De acuerdo con estos resultados, se determinó que las escorias de cobre no son un residuo peligroso.

Tabla 2.10 Límites máximos permisibles de metales en residuos

CONTAMINANTE	LMP (mg/L)	COMPOSICIÓN REPORTADA
Arsénico	5.0	0.18 ± 0.14
Bismuto	100.0	0.01 ± 0.002
Cadmio	1.0	0.002 ± 0.0012
Cromo	5.0	0.08 ± 0.04
Plomo	5.0	0.27 ± 0.13

LMP es límite máximo permisible por la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005; Ramírez *et al.*, (2008)

2.3.5 Aprovechamiento y reutilización de las escorias de cobre

Hasta hace unos años las escorias eran confinadas y desechadas en rellenos sanitarios y tiraderos a cielo abierto. De acuerdo a diversos estudios realizados con escorias, se encontró que estos subproductos pueden ser reutilizados (Riveros *et al.*, 2000; Shi *et al.*, 2008)

Actualmente existen líneas de investigación enfocadas a la reutilización de escorias aprovechando sus características para ser incorporadas como materia prima en la manufactura de diferentes materiales o para su aplicación como neutralizante o mejorador de suelo ácidos (Agrawal *et al.*, 2005; Shi *et al.*, 2008). Las principales alternativas son:

a) Aplicación en construcción

- Fabricación de cemento
- Material para fabricar concreto
- Fabricación de asfalto
- Fabricación de ladrillo
- Material para fabricar baldosas

b) Aplicación en la industria

- Recuperación de metales secundarios a través de procesos de flotación, piro metalúrgicos, hidrometalúrgicos y extracción con solventes
- Abrasivo de superficies
- Abrasivo en la industria textil
- Material para la producción de vidrio

c) Aplicación en el área de Ingeniería Ambiental

- Material para remediación de suelos
- Material para la depuración de agua y residuos
- Material para remover metales presentes en agua, por adsorción e intercambio iónico
- Catalizador de Fe-Cu para oxidar en conjunto con peróxido de hidrógeno compuestos orgánicos.

Existen pocos estudios del uso de escorias como catalizador, como son los realizados por Li (1999), que mediante pruebas de degradación de 4-clorofenol con escoria básica de acero y peróxido de hidrógeno en medio ácido, obtuvo resultados muy satisfactorios.

Chiou *et al.*, (2005) estudiaron la descomposición del colorante negro 5 por la reacción de Fenton empleando la escoria básica de acero como fuente de hierro. Obtuvieron remociones mayores al 50%.

Chiou (2006) observó el comportamiento de la reacción de Foto-Fenton iniciada por UV/H₂O₂/escoria básica de acero para descomponer 2-naftalensulfonato en soluciones acuosas obteniendo mineralizaciones de hasta 56% y utilizando 12.5 g/L de escoria.

En un estudio reciente de Huanosta (2009), observó que para la oxidación de fenol, se necesitó aplicar 2.47g/L de escoria de cobre para obtener 98.53% de degradación de este compuesto.

De acuerdo a la información encontrada no existe hasta el momento ningún estudio que aplique las escorias como catalizador en la reacción de Fenton para la inactivación de huevos de helminto en aguas residuales. Es por eso que en el presente trabajo aprovechando las características de la escoria de cobre se optó por utilizarla en pruebas de oxidación avanzada basadas en la reacción de Fenton para la inactivación de huevos de *Ascaris suum*.

Capítulo 3 Metodología

El estudio experimental de este trabajo de tesis se dividió en cuatro etapas: a) Realización de pruebas preliminares para definir el intervalo de dosis de escoria de cobre a evaluar en los experimentos, b) Realización de las pruebas de oxidación de huevos de *A. suum* con agua sintética, aplicando un diseño de experimentos, c) Análisis de los resultados y cálculo de los valores teóricos óptimos de las variables evaluadas en este estudio (pH, dosis de reactivos y tiempo de contacto) para la máxima inactivación de huevos de *A. suum* y d) Ensayo en el laboratorio, aplicando las condiciones teóricas óptimas calculadas, utilizando agua sintética para comparar en particular, dos técnicas de determinación de viabilidad de huevos de *A. suum* (la de tinción utilizada en las pruebas del diseño de experimentos y la de incubación). A lo largo del período de duración de todos los experimentos se realizó el monitoreo de la viabilidad de la suspensión de huevos de *A. suum*. A continuación se muestra el diagrama de la metodología experimental aplicada en este estudio (fig. 3.1)

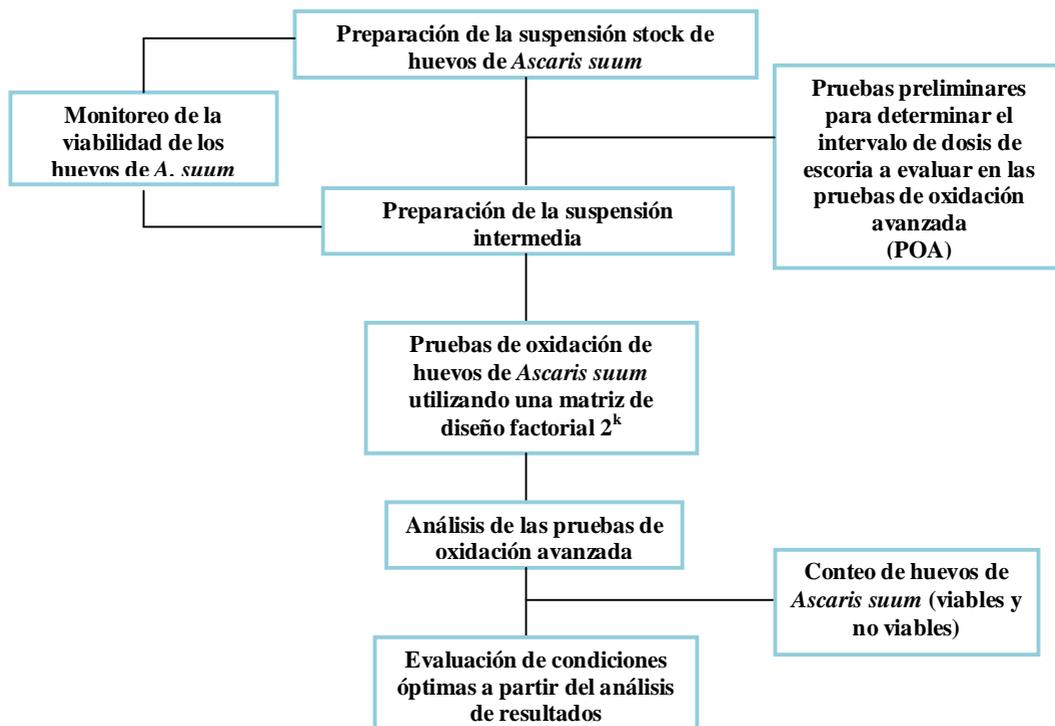


Figura 3.1 Diagrama de la Metodología Experimental

A continuación se describe cada etapa que se llevó a cabo durante el desarrollo experimental, así como los materiales, reactivos y técnicas utilizadas en las pruebas de oxidación avanzada de huevos de *Ascaris suum*.

3.1 Materiales y reactivos

3.1.1 Selección de la escoria a utilizar en las pruebas de oxidación para la inactivación de huevos de *Ascaris suum*

Para la selección de la escoria a usar en las pruebas de oxidación avanzada, se consideraron los resultados obtenidos en estudios recientes sobre caracterización de escorias (Ramírez *et al.*, 2008; Huanosta, 2009). Así mismo se tomaron en cuenta reportes anteriores (Yuan-Shen, 1999; Chiou-San *et al.*, 2006; Chyow-San, 2007) aplicando escoria en reacción de Fenton.

Con base en lo anterior se optó por utilizar una escoria de cobre para participar como catalizador en la reacción de Fenton ya que presenta mayor contenido de hierro (tabla 3.4).

Tabla 3.1 Características de la escoria de cobre utilizada en las pruebas de inactivación de huevos de *Ascaris suum*

ESCORIA DE COBRE	CARACTERÍSTICAS
Fe% peso	36.02
Cu% peso	1.407
Contenido de óxidos	SiO ₂ , CaO, MgO, Al ₂ O ₃ , FeO, Fe ₂ O ₃ , Na ₂ O/K ₂ O
Fases de metales de transición asociadas a catálisis	Fe ₂ SiO ₄ fayalita, FeCr ₂ O ₄ cromita, LiCuFe ₂ O ₄ óxido de litio cobre hierro

Huanosta, 2009

3.1.2 Pruebas preliminares para definir la dosis de escoria a evaluar en el diseño de experimentos

En base a la bibliografía consultada, (Yuan-Shen 1999; Chyow-San et al. 2006; Chyow-San, 2007; Valdés, 2008; Xue et al., 2009), los valores de la dosis aplicadas de escoria como catalizador en el proceso Fenton reportados van de 1 hasta 16 g/L, dependiendo del contaminante a degradar y de las condiciones usadas en el proceso. La mayor parte de los estudios se han enfocado a la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos, ninguno en huevos de helminto.

Para el presente estudio se optó por realizar pruebas preliminares con dosis de escoria de cobre de: 1, 3, 5 y 10 g /L (foto 3.1), con el propósito de definir la dosis máxima de escoria a utilizar en los sistemas de oxidación en que las partículas de este material no interfieren con la observación en microscopio para la determinación de la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum*.

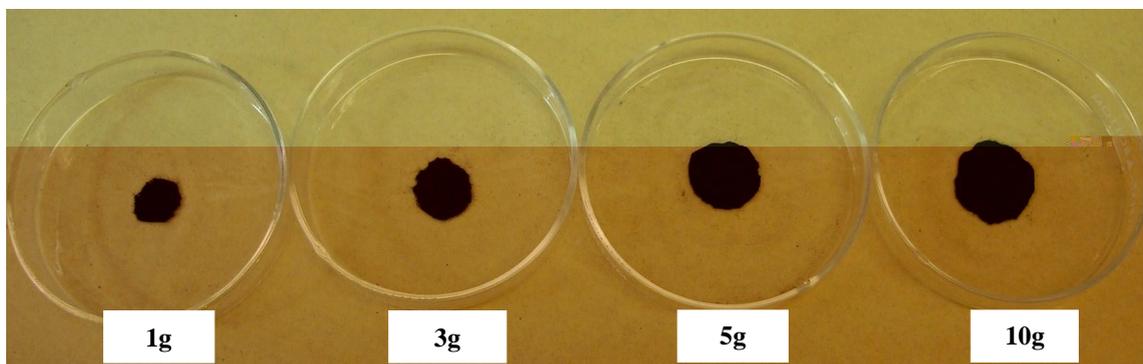


Foto 3.1 Dosis de escorias a evaluar

3.1.3 Preparación de la suspensión stock de huevos de *Ascaris suum* (Galván, 2003)

1. Para poder obtener los huevos de *Ascaris suum* se recolectaron los ejemplares adultos de cerdos sacrificados en un rastro. Las lombrices se transportaron al laboratorio en un frasco con solución salina isotónica (NaCl al 0.85%) para evitar su deshidratación (foto 3.2). Posteriormente se llevó a cabo la disección.



Foto 3.2 Ejemplares adultos de *Ascaris suum*

2. Para poder llevar a cabo la disección, primero se separan las hembras de los machos, para lo cual se colocan los especímenes sobre una lámina de unicel y se observan los extremos apicales. Si estos son curvados, los ejemplares son machos (foto 3.3) y si son rectos son hembras.



Foto 3.3 Adultos machos de *A. suum* (extremos curvos)

3. Una vez seleccionadas las hembras, se procede a hacer la disección. Para esto se extienden los ejemplares sobre la lámina de unicel, y se fijan con alfileres. Una vez fija la lombriz se comienza la disección insertando la tijera en un extremo y cortando longitudinalmente hacia el otro extremo. (foto 3.4).

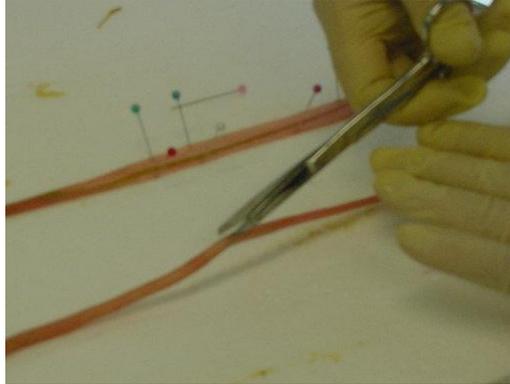


Foto 3.4 Fijación de *Ascaris suum* con alfileres e inicio de la disección

4. Una vez abierta la lombriz se observan los órganos internos, los cuales consisten en un tubo cilíndrico recto, que es el intestino, y un aparato reproductor doble consistente en largos túbulos (una parte de los cuales sirve de ovarios y la otra de conductos) cuyos extremos inferiores son finos (parecidos a hilos), que desembocan en una porción continua del mismo tubo, considerablemente mayor, que es el útero. El sistema reproductor presenta un color blanquecino a diferencia del intestino que suele ser amarillento (foto 3.5), aunque a veces no hay diferencia en el color.



Foto 3.5 Sistemas reproductor y digestivo de *Ascaris suum*

5. Con ayuda de unas pinzas se extraen los órganos reproductivos de la lombriz (foto 3.6) y se colocan en un mortero adicionando un poco de solución salina isotónica (NaCl al 0.85%), después con el pistilo se tritura hasta formar una suspensión espesa, la cual se filtra a través de un trozo de manta de cielo (foto 3.7).



Foto 3.6 Extracción de órganos reproductivos de *Ascaris suum*



Foto 3.7 Filtración de suspensión de huevos de *Ascaris suum*

6. Con el fin de asegurar que los huevos queden lo más libre posible de materia adherida en la suspensión, se emplea un homogenizador de tejidos (marca Ten Broeck Pirex de 15 mL de capacidad), de esta manera los huevos son liberados sin sufrir daños (foto 3.8).



Foto 3.8 Homogenizador de tejidos

Para remover los materiales adheridos, la suspensión se coloca en los tubos de centrifuga (marca Solbac, modelo C-600) de 50 mL y se centrifuga a 2,000 rpm durante 5 minutos; se decanta el sobrenadante y el sedimento se resuspende con solución de Tritón X-100 al 0.1 %; se centrifuga de nuevo y se resuspende el sedimento con solución salina isotónica; se repite este procedimiento dos veces más.

7. Finalmente, el sedimento se resuspende en una solución de formaldehído al 2 % y se guarda en un frasco de plástico bien identificado (foto 3.9), en refrigeración (5 °C) para que no se afecte su viabilidad. Esta será la suspensión stock.



Foto 3.9 Suspensión stock de huevos de Ascaris suum

3.1.4 Monitoreo de la concentración y viabilidad de huevos de *Ascaris suum*

La determinación de la concentración y el por ciento de viabilidad de la suspensión de huevos de *A. suum* se realizó de dos formas: para la suspensión madre, se empleó una cámara de Neubauer (de 0.1 μL de capacidad), y una solución de Azul de tripán al 0.1 % (colorante biológico marca Sigma) y se observó en un microscopio binocular de campo claro (marca Leica Microscopy, Leitz, modelo Laborlux S); para la suspensión intermedia se prepararon muestras por quintuplicado y se aplicó la técnica de tinción de membranas (Galván, 2003) para realizar dicha técnica se utilizaron jeringas de plástico de 50 mL HB, swinex de plástico, filtros de 8 μm (Millipore), una solución de Azul de tripán al 0.1 % (colorante biológico marca Sigma) y soluciones de alcohol etílico al 80 y 100 % (marca Baker). Estas técnicas se describen en el inciso 3.4.1.

3.1.5 Preparación de las muestras de agua dopadas con huevos de *A. suum* utilizadas en las pruebas de oxidación

Debido a que la concentración de la suspensión stock es muy alta (200,000 HH/mL), se preparó una suspensión intermedia con una concentración de 2,000 HH/mL con la finalidad de tener tomar un volumen de suspensión de HH que pudiera ser medido con precisión para la preparación de muestras.

Para preparar las muestras sintéticas se utilizó un matraz aforado de 500 mL, y un matraz aforado de 100 mL, pipetas automáticas, agua destilada y la suspensión de huevos de *Ascaris suum*.

Las pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum* se llevaron a cabo utilizando peróxido de hidrógeno al 30 % marca Merck y escoria de cobre como catalizador, para poder realizar el proceso de Fenton.

El pH se ajustó empleando una solución 1N de ácido sulfúrico (preparada con ácido sulfúrico con 97.3 % de pureza, marca Baker) y con una solución de hidróxido de sodio 0.1N (preparada a partir de perlas con un grado de pureza del 98.2 %, marca Baker).

Para detener la reacción se utilizó una solución al 10 % de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) preparada a partir de una solución con 99 % de pureza, marca Reasol.

El diseño experimental y el análisis estadístico de los resultados, se realizaron empleando el programa de estadística de cómputo Statgraphics Plus versión 5.1

3.2 Diseño experimental de las pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum*

El objetivo de un diseño factorial es analizar el estudio de varios factores sobre una o varias respuestas. Para estudiar la manera en que influye cada factor sobre la variable de respuesta es necesario elegir al menos dos niveles de prueba para cada uno de ellos. Con el diseño factorial completo se corren aleatoriamente todas las posibles combinaciones que pueden formarse con los niveles de los factores a investigar (Humberto *et al.*, 2008).

El diseño factorial 2^k (k factores con dos niveles de prueba cada uno) se utiliza mucho en la industria y en la investigación, debido a su eficacia y versatilidad. Los factoriales 2^k completos son útiles principalmente cuando el número de factores a estudiar está entre dos y cinco ($2 \leq k \leq 5$), rango en el cual su tamaño se encuentra entre 4 y 32 tratamientos; esta cantidad es manejable en muchas situaciones experimentales. En general, los factoriales en dos niveles, sean completos o fraccionados constituyen el conjunto de diseños de mayor impacto en las aplicaciones a nivel industrial y en investigación (Humberto *et al.*, 2008).

Al aumentar el número de factores en un diseño factorial 2^k crece rápidamente el número de tratamientos y, por lo tanto, el número de corridas experimentales. El diseño factorial 2^4 es quizás el factorial más grande que todavía se puede correr con dos réplicas, lo que implica hacer 32 corridas, pero incluso con una réplica (16 pruebas) de este diseño muchas

veces es suficiente para estudiar los 4 efectos de interés (Humberto *et al.*, 2008; Zamora *et al.*, 2009).

Para un estudio 2^4 , $k = 4$ factores con dos niveles cada uno, los cuales se denominan nivel alto y nivel bajo, se utiliza una notación codificada para cada factor, en la cual se asigna un valor -1 al nivel inferior y un valor +1 al nivel superior. La notación codificada permite entender el modelo y es de gran utilidad en las matrices pues de una forma simplificada se puede aplicar a cada problema concreto (Zamora *et al.*, 2009).

Para seleccionar los niveles de cada factor, se deben seleccionar factores que se consideran con base en estudios relacionados, que pueden tener efecto sobre la respuesta de interés. Así mismo se deben de realizar pruebas preliminares para determinar en base a los resultados obtenidos el valor de cada nivel de cada factor para realizar el estudio. Para generar la matriz de experimentos se van combinando los niveles, en las filas se ponen los experimentos ($2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ experimentos) y en las columnas los factores en estudio, cada columna empieza con el signo - (nivel bajo) y se alternan los signos - y + con frecuencia 2^0 para x_1 , 2^1 para x_2 , 2^2 para x_3 , y así sucesivamente hasta x_k , donde los signos se alternan con frecuencia 2^{k-1} (Zamora *et al.*, 2009).

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se realizó un diseño factorial 2^k con ayuda del programa estadístico Statgraphics versión 5.1. Se evaluaron cuatro factores con dos niveles cada uno (tabla 3.2), para la inactivación de huevos de *A. suum*.

Tabla 3.2 Factores de influencia a evaluar en pruebas de oxidación avanzada de huevos de *Ascaris suum*

FACTOR	NIVEL MÍNIMO	NIVEL MÁXIMO
A: pH	3	6
B: Dosis de peróxido (mg/L)	100	1000
C: Dosis de escoria (g/L)	0.5	1
D: Tiempo de contacto (min)	60	180

Statgraphics versión 5.1

Por lo que el número de corridas fueron 16 (2^4), y se realizaron por duplicado dando un total de 32 experimentos. La experimentación se realizó por triplicado para cada problema y por duplicado para cada blanco.

Al ejecutar el programa de Statgraphics, se generan las combinaciones de los niveles, obteniéndose la matriz de diseño experimental (tabla 3.3)

Tabla 3.3 Matriz de diseño de experimentos para inactivación de huevos de *A. suum* utilizando escoria de cobre como catalizador en el proceso de Fenton

N ^o DE EXPERIMENTO	VALORES CODIFICADOS				VALORES REALES			
	A	B	C	D	pH	Dosis de peróxido (mg/L)	Dosis de escoria (g/L)	Tiempo de contacto (min)
1	-1	-1	-1	-1	3	100	0.5	60
2	+1	-1	-1	-1	6	100	0.5	60
3	-1	+1	-1	-1	3	1000	0.5	60
4	+1	+1	-1	-1	6	1000	0.5	60
5	-1	-1	+1	-1	3	100	1.0	60
6	+1	-1	+1	-1	6	100	1.0	60
7	-1	+1	+1	-1	3	1000	1.0	60
8	+1	+1	+1	-1	6	1000	1.0	60
9	-1	-1	-1	+1	3	100	0.5	180
10	+1	-1	-1	+1	6	100	0.5	180
11	-1	+1	-1	+1	3	1000	0.5	180
12	+1	+1	-1	+1	6	1000	0.5	180
13	-1	-1	+1	+1	3	100	1	180
14	+1	-1	+1	+1	6	100	1	180
15	-1	+1	+1	+1	3	1000	1	180
16	+1	+1	+1	+1	6	1000	1	180

Statgraphics versión 5.1

3.3 Técnica experimental

A continuación se describen los pasos para llevar a cabo las pruebas de oxidación avanzada (POA).

3.3.1 Pruebas de oxidación

1. Se forraron con papel aluminio los contenedores (vasos de precipitados de plástico) para evitar el paso de la luz. Se adicionaron 500 mL de agua destilada y para asegurar la homogenización del sistema de reacción, cada contenedor se mezcló con agitación magnética.

2. Se adicionaron 0.5 mL de la suspensión intermedia de huevos de *Ascaris suum* para tener en cada contenedor una concentración de 2 HH/mL.

3. Se dejó 5 minutos en agitación para que se homogenizara. Posteriormente se tomaron 2 muestras de 50 mL (blancos) con ayuda de jeringas, las cuales se hicieron pasar por membranas de nitrocelulosa de 8.0 μm contenidas en un swinnex. A los cuales se les realizó la técnica de tinción (inciso 3.4.2).

4. Se ajustó el pH, con el potenciómetro utilizando soluciones de H_2SO_4 1N y de NaOH 0.1 N (dependiendo el valor de pH a evaluar en el experimento) y se midieron los parámetros iniciales de pH, ORP y temperatura.

5. Una vez ajustado el pH, se adicionó la cantidad correspondiente de escoria de acuerdo al diseño experimental (0.5 ó 1 g/L) e inmediatamente se adicionó la solución de peróxido de

hidrógeno a la dosis establecida para cada experimento de acuerdo al diseño experimental (Tabla 3.2) y se taparon los contenedores.

6. Se dejó el tiempo de reacción establecido para cada experimento, de acuerdo al diseño experimental.

7. Al término de la reacción, se filtró la muestra de cada contenedor utilizando un tamiz de malla No. 100, con el fin de separar las partículas de escorias y evitar interferencias en la cuantificación de hierro y en la lectura de las placas para los huevos de *Ascaris summ*.

8. Posteriormente, se tomaron lo más rápidamente posible 3 muestras de 10 mL cada una con una jeringa, para determinar el peróxido de hidrógeno residual. La determinación de peróxido de hidrógeno se realizó mediante una técnica colorimétrica con sulfato de titanio (ver anexo V). Al mismo tiempo, se midieron los parámetros finales de pH, ORP, y temperatura.

9. Para detener la reacción se adicionó 0.5 mL de una solución de tiosulfato de sodio al 10% y se tomaron las muestras correspondientes para medir la concentración de hierro y de cobre residual (metales de transición o catalizadores de la reacción de descomposición de peróxido de hidrógeno), con una técnica colorimétrica.

10. Finalmente, se tomaron con diferentes jeringas 50 mL tres veces,, para determinar el por ciento de viabilidad de huevos de *Ascaris suum*.

3.4 Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos que se midieron al inicio y al final de cada prueba fueron: pH, potencial óxido-reducción (ORP), contenido residual de peróxido de hidrógeno, de hierro y de cobre.

Estos parámetros se determinaron con base en las técnicas propuestas por el *Standard Methods for the examination of water and wastewater* (APHA *et al.*, 1998), mediante los equipos de laboratorio Thermo Orion Model 555A pH/ORP/Conductivity Meter, y el espectrofotómetro Spectroquant Nova 60 de Merck.

3.4.1 Conteo y determinación de la viabilidad de huevos de *Ascaris suum*

Para poder determinar y cuantificar el efecto de las pruebas de oxidación avanzada en la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum* se realizó la técnica de tinción con Azul de Tripán (Galván, 2003). A continuación se indica el procedimiento:

Las 3 muestras problema que se tomaron de las pruebas de oxidación de 50mL cada una, se filtraron a través de membranas de nitrocelulosa de 8.0 μm de diámetro de poro, colocadas dentro de swinnex de 2.5cm de diámetro (foto 3.10). Se hizo el mismo procedimiento para los blancos (los blancos se realizaron por duplicado).



Foto 3.10 Swinnex de 2.5 de diámetro

2. Se hizo un lavado con 30 mL de agua destilada (utilizando la jeringa correspondiente de cada muestra) a cada membrana, con la finalidad de quitar cualquier huevo que pudiera haber quedado en las paredes de la jeringa (foto 3.11).



Foto 3.11 Lavado de membranas

3. Se tomaron 5mL de azul de tripán al 0.1% y se hizo pasar a través de cada una de las membranas con huevos de *A. suum* (foto 3.12).



Foto 3.12 Aplicación de Azul de Tripán

4. La adición del colorante fue lenta, en forma de goteo, para llevar a cabo una adecuada tinción y así observar la viabilidad de los huevos de *Ascaris*. Se dejó actuar el colorante 5min.

5. Se filtraron 3mL de alcohol etílico al 80% y después otros 3 mL de alcohol etílico al 100% lentamente en cada membrana y se destaparon los swinnex para que se evaporara el alcohol.



Foto 3.13 Lavado de membranas con alcohol

6. Se etiquetaron portaobjetos escribiendo, en la parte inferior de cada uno, el número de experimento, la fecha y el tipo de muestra y se colocaron las membranas en los portaobjetos etiquetados, a los cuales previamente se les adicionó una gota de glicerina con la finalidad de aclarar la membrana para poder observarla al microscopio. Posteriormente, se colocó el cubreobjetos.

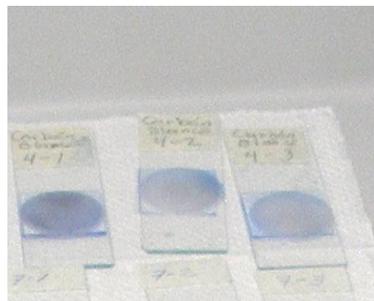


Foto 3.14 Colocación de membranas en portaobjetos

7. Finalmente, las membranas contenidas en los portaobjetos, se llevaron al área de microscopía y se cuantificó la cantidad y viabilidad de los huevos de *Ascaris suum* presentes en cada muestra.



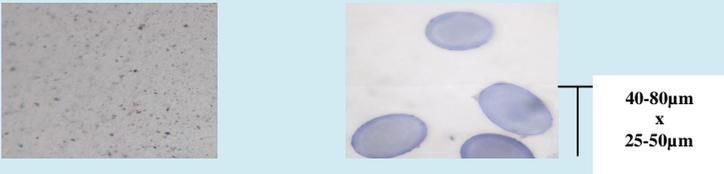
Foto 3.15 Cuantificación de huevos de *Ascaris suum*

Capítulo 4 Resultados y discusión

4.1 Resultados de pruebas preliminares para determinar la dosis de escoria a evaluar en las pruebas de oxidación de huevos de *A. suum*

Como se puede observar en los resultados de la tabla 4.1, utilizando la dosis de 1g/L de escoria, se pueden ver sin dificultad los huevos de *Ascaris suum*. En el caso de dosis mayores, la presencia de escorias, enmascaraba a los huevos. Por lo anterior se estableció como el límite mínimo de dosis de escoria 0.5 g/L y como límite máximo 1 g/L de escoria a utilizar como catalizador en las pruebas de oxidación avanzada.

Tabla 4.1 Pruebas preliminares para determinar dosis de escoria a evaluar

Dosis de escoria (g/L)	Vista al microscopio (40 X)
1	 <p>Huevos de <i>Ascaris suum</i></p>
3	
5	
10	

4.2 Pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum*

La siguiente tabla presenta el diseño experimental y el promedio del porcentaje de inactivación de huevos de *A. suum* de cada prueba en el proceso de Fenton.

Tabla 4.2 Resultados de las pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum* aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno

No. DE EXPERIMENTO	VALORES CODIFICADOS				VALORES REALES				VARIABLE DE RESPUESTA
	A	B	C	D	pH	Dosis de Peróxido (mg/L)	Dosis de escoria (g/L)	Tiempo (min)	% de inactivación
1	-1	-1	-1	-1	3	100	0.5	60	41.70
2	+1	-1	-1	-1	6	100	0.5	60	2.28
3	-1	+1	-1	-1	3	1000	0.5	60	75.40
4	+1	+1	-1	-1	6	1000	0.5	60	2.94
5	-1	-1	+1	-1	3	100	1.0	60	35.75
6	+1	-1	+1	-1	6	100	1.0	60	4.33
7	-1	+1	+1	-1	3	1000	1.0	60	55.21
8	+1	+1	+1	-1	6	1000	1.0	60	5.02
9	-1	-1	-1	+1	3	100	0.5	180	65.61
10	+1	-1	-1	+1	6	100	0.5	180	2.47
11	-1	+1	-1	+1	3	1000	0.5	180	88.86
12	+1	+1	-1	+1	6	1000	0.5	180	3.18
13	-1	-1	+1	+1	3	100	1	180	59.56
14	+1	-1	+1	+1	6	100	1	180	4.98
15	-1	+1	+1	+1	3	1000	1	180	62.88
16	+1	+1	+1	+1	6	1000	1	180	5.52

Como se puede observar, el mayor porcentaje de inactivación de los huevos de *Ascaris suum* se obtuvieron con las condiciones de la prueba 11 donde se alcanza un 88.86 % al utilizar un pH de 3, una dosis de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) de 1000 mg/L, una dosis de escoria de 0.5 g/L, con un tiempo de reacción de 180 min.

También se puede observar en los resultados que el porcentaje de inactivación es mayor utilizando un pH de 3, ya que utilizando pH igual a 6 sólo se alcanza un 5.52% de inactivación como máximo.

4.3 Resultados de parámetros fisicoquímicos

Al inicio y final de cada reacción se midió pH y ORP (mV), Así mismo se midió el Fe (mg/L) y Cu (mg/L) al término de cada reacción. En la tabla 4.6 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 4.3 Parámetros fisicoquímicos de las suspensiones de huevos de *Ascaris suum* tratadas con escorias de cobre y peróxido de hidrógeno

No. de experimento	PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS INICIALES		PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS FINALES				OXIDANTE		VARIABLE DE RESPUESTA
	pH	ORP (mV)	pH	ORP (mV)	Fe (mg/L)	Cu (mg/L)	H ₂ O ₂ residual (mg/L)	%H ₂ O ₂ consumido	% de inactivación
1	3.02	342.73	3.00	525.74	0.58	0.24	48.84	51.16	41.70
2	6.03	218.10	6.00	315.20	0.55	0.23	79.22	20.78	2.28
3	3.05	330.02	2.98	579.12	0.65	0.22	293.33	70.67	75.40
4	6.03	210.11	6.00	312.3	0.50	0.23	768.84	23.12	2.94
5	3.04	336.52	2.97	577.62	0.54	0.24	51.78	48.22	35.75
6	6.01	221.11	6.00	317.18	0.60	0.22	76.74	23.26	4.33
7	3.02	345.43	2.98	558.32	0.64	0.24	391.16	60.88	55.21
8	6.03	215.61	6.00	320.12	0.53	0.22	766.20	23.38	5.02
9	3.02	342.25	3.00	570.61	0.59	0.23	32.09	67.91	65.61
10	6.00	207.70	6.00	310.20	0.52	0.21	78.14	21.86	2.47
11	2.98	346.22	2.97	588.82	0.66	0.25	184.03	81.60	88.86
12	6.00	225.23	5.98	316.18	0.52	0.24	766.98	23.30	3.18
13	3.02	343.15	2.97	572.12	0.63	0.25	33.02	66.98	59.56
14	6.00	208.73	6.00	310.23	0.54	0.22	76.59	23.41	4.98
15	2.97	342.20	2.95	556.20	0.61	0.24	321.40	67.86	62.88
16	6.00	221.13	5.98	322.15	0.52	0.23	764.81	23.52	5.52

Cabe señalar que también se midió hierro y cobre al inicio de las pruebas de oxidación siendo su valor menor al límite de detección (LD). La NOM- 001-SEMARNAT-1996 establece para cobre 6 mg/L como límite máximo permisible y la directiva de la Comunidad Europea para aguas residuales tratadas y descargas en aguas y bienes naturales (EEC, 1982) establece que. el límite máximo permisible aceptado para hierro es de 2mg/L

El valor del ORP está directamente relacionado con el tipo de contaminantes en el agua o corriente a tratar (Arslan, 2007). Es un parámetro que indica la eficiencia de la reacción del proceso de Fenton. Típicamente una corriente antes de ser tratada indica una medida de ORP inicial en un rango de 150 a 250mV, dependiendo de la naturaleza y concentración del contaminante (Arslan, 2007). Aunque en algunos casos el ORP indica hasta 400mV, esto es función del tipo de agua (agua destilada, agua residual, agua potable, etc.). Una oxidación casi total de la carga orgánica debería dar una lectura no menos de 550mV (Arslan, 2007). De aquí que un efectivo control del tratamiento debe garantizar una medida de ORP en un rango de entre 550mV y 585mV.

Lecturas que se encuentran en este rango (550 a 585 mV), en una reacción tipo Fenton indican que la reacción aún no concluyó por la presencia de las especies de hierro que predominan en el equilibrio $Fe^{2+}/FeOH^{+2}$, $Fe^{3+}/FeOH^{+2}$ en medios ácidos. Por lo que el proceso de Fenton puede seguir llevándose a cabo sin inconvenientes (Martínez *et al.*, 2001; Abia *et al.*, 2002). Así mismo existen especies como $Fe(OH)^{2+}$, $Fe^2(OH)_2^{4+}$, y $Fe(OH)_2^+$ que estando en medios alcalinos pueden precipitar como sales básicas si se llegan a lecturas de ORP mayores de 590mV (Rodríguez, 2003).

Sólo en aquellos casos en los que el volumen a tratar es pequeño como por ejemplo en solventes y mezclas procedentes de la industria farmacéutica, si el ORP se mantiene entre 350 y 400 mV en una operación por lotes, puede interrumpirse la adición de H_2O_2 y considerar que el proceso ha concluido (López et al., 2000; Abia et al., 2002).

Como se puede observar en la figura 4.1, las pruebas en las que el valor de ORP permanece por encima del intervalo señalado de ORP, fueron aquellas en las que el porcentaje de inactivación aumenta significativamente (más de 80%). Es decir que se

refiere a las pruebas en las que se utilizó pH 3 como se puede corroborar en la tabla 4.3, lo que sugiere que se llevó a cabo una oxidación casi total (88.86%) en los huevos de *Ascaris suum*, y que la reacción de Fenton puede continuar.

En cuanto a las pruebas que tuvieron un porcentaje bajo de inactivación (2- 5 %) se puede observar que el ORP inicial estuvo en un rango de 200 mV y el ORP final queda en el rango de 300 mV. Al revisar las tablas de resultados finales podemos corroborar que son las pruebas en las que se utilizó pH 6.

Al analizar los valores de hierro, cobre y peróxido residual (fig. 4.2), se puede observar que en las pruebas que se realizaron utilizando un pH de 3 las cuales son en las que el porcentaje de inactivación va aumentando o es más significativo en comparación de las pruebas realizadas a pH 6, el valor promedio de hierro residual oscila alrededor de 0.65 mg/L mientras que en las pruebas realizadas a pH 6 el valor se encuentra alrededor de 0.55 mg/L. por lo que de acuerdo a la propuesta por la directiva de la Comunidad Europea para aguas residuales tratadas y descargas en aguas y bienes naturales (EEC, 1982), la concentración de hierro no debe de sobrepasar los 2mg/L, y en los resultados obtenidos lo máximo que se obtiene como lixiviación de hierro son 0.65mg/L. Se puede decir que se verificaron tanto el proceso de Fenton homogéneo como el proceso de Fenton heterogéneo en las pruebas de oxidación debido a que se obtuvieron los mejores resultados a pH 3, en el cual se favorece la reacción de Fenton homogéneo (Chamarro *et al.*, 2001), pero la lixiviación de hierro fue mínima (menor a 2mg/L) en fase heterogénea en un catalizador (Chen *et al.*, 2001). La baja lixiviación de hierro que se obtuvo, también indica que el uso de la escoria no generaría problemas en cuanto a la remoción de hierro en efluentes tratados (Guiselli *et al.*, 2004).

En cuanto al cobre, la lixiviación obtenida, se encuentra en un intervalo de 0.22 a 0.25 mg/L. Por lo que de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996, estipula un límite superior del ión metálico cobre en descarga de aguas residuales a ríos de 6 mg/L como promedio diario para la protección de la vida acuática, uso de riego agrícola y uso público urbano, y

la cantidad de cobre lixiviado por la escoria es mucho menor, razón por la cual no se afectaría a la vida acuática.

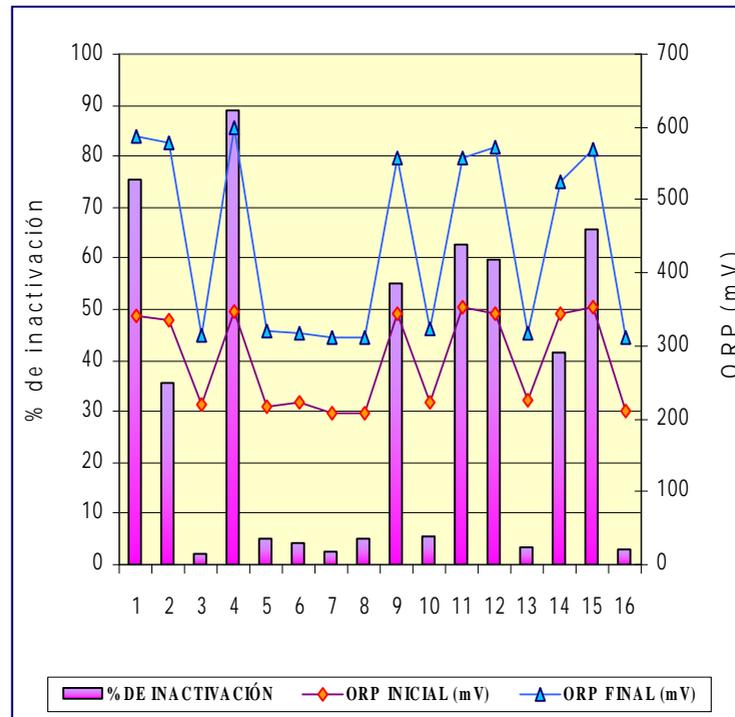


Fig. 4.1 Variación del potencial redox (ORP) en las pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum* con escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo Fenton

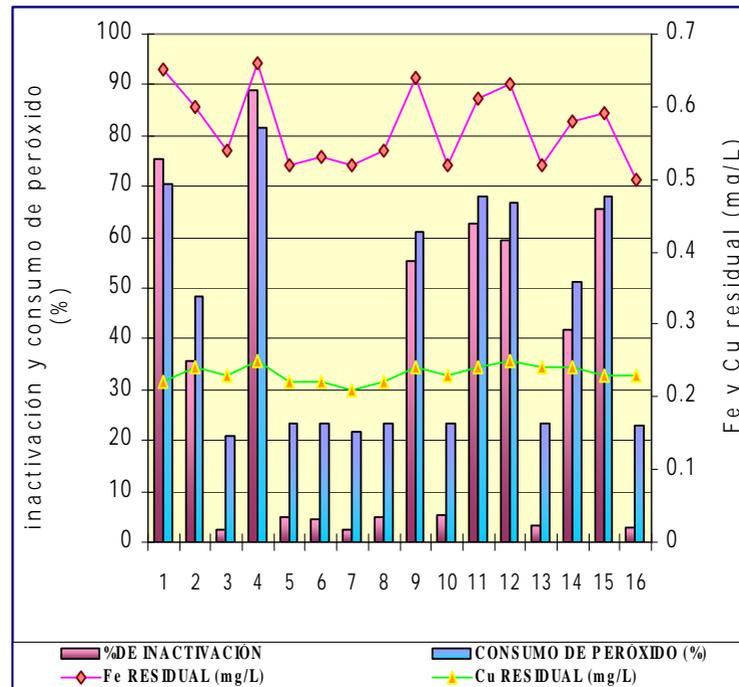


Fig. 4.2 *Peróxido, Fe y Cu residual en las pruebas de oxidación de huevos de *Ascaris suum* con escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo Fenton*

El siguiente parámetro que se midió, fue el pH. Como se puede observar se mantuvo constante en todos los casos, tanto en las pruebas a pH 3 como en las pruebas a pH 6 (figura 4.3).

Al analizar el por ciento de inactivación obtenido en las 16 pruebas realizadas en función del consumo de peróxido (fig. 4.4), se puede observar que el consumo de peróxido fue mayor y varió más significativamente (50-81%) en las pruebas realizadas a pH 3, las cuales tuvieron por cientos de inactivación de huevos de *Ascaris suum* mayores que las pruebas realizadas a pH 6.

En las pruebas de oxidación avanzada a pH 6, se puede observar que el consumo de peróxido osciló en un intervalo del 20-22% y el por ciento de inactivación fue muy bajo en comparación con el obtenido a pH 3.

En cuanto a los resultados de la prueba 11, en la cual se obtuvo el mayor por ciento de inactivación, el consumo de peróxido de hidrógeno también fue el mayor (81.60%), por lo que la eficiencia fue adecuada. Por esa razón en estudios posteriores se sugiere dosificar a la largo de la prueba, la cantidad de oxidante para lograr que se consuma casi el 100% y posiblemente se pueda mejorar la eficiencia del proceso, de tal modo que el por ciento de inactivación en huevos de helminto mejore.

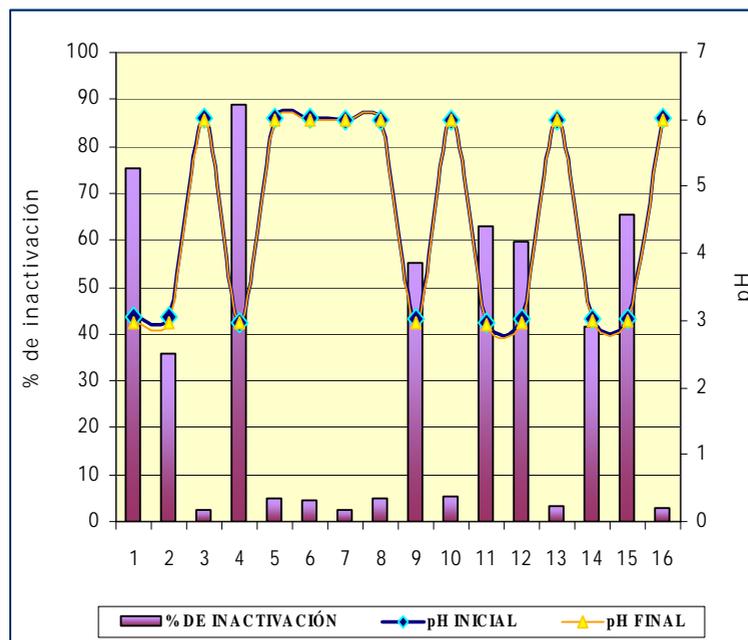


Fig. 4.3 Variación del pH en las pruebas de oxidación de huevos de *Áscaris suum* con escoria de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo Fenton

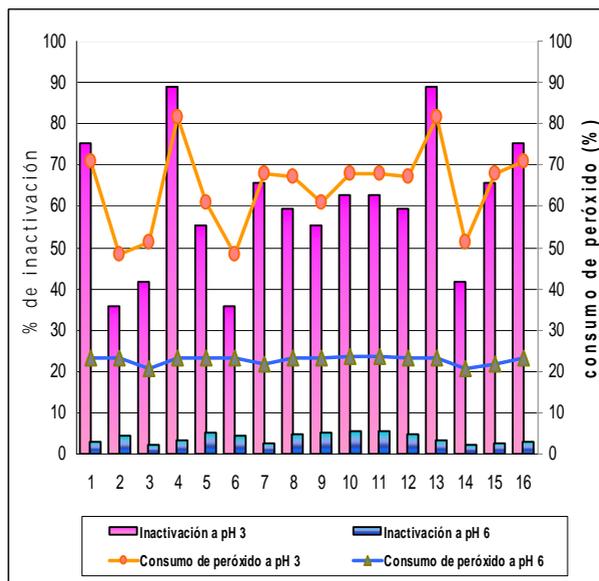


Fig. 4.4 Por ciento de inactivación de huevos de *Ascaris suum* en función del peróxido, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo

4.4 Análisis estadístico de los resultados

El análisis estadístico que se realizó fue un análisis de varianza (ANOVA). Este tipo de análisis ofrece un modo objetivo de determinar si el conjunto de resultados obtenidos de las pruebas realizados en el experimento, y sujeto a errores, es válido. Así mismo, sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar (Humberto *et al.*, 2008).

El análisis de varianza se puede realizar manualmente o empleando un programa estadístico computacional como Statgraphics. Hoy en día se utilizan con mayor frecuencia este tipo de programas para análisis estadísticos, ya que ofrecen de una forma sencilla la obtención de diversos parámetros. Así mismo se ahorra tiempo en la obtención de resultados (Zamora *et*

al., 2009). En la tabla 4.4 se muestran la forma de obtención de las distintas expresiones que se emplean en el análisis de varianza (ANOVA).

Tabla 4.4 Expresiones empleadas en la tabla de análisis de varianza (Humberto et al., 2008)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrada	F ₀
Entre factores	$SS_F = n \sum_{i=1}^{\alpha} (y_{i.} - y_{..})^2$	$\alpha - 1$	$MS_F = \frac{SS_F}{\alpha - 1}$	$F_0 = \frac{MS_F}{MS_E}$
Error total	$SS_E = SS_T - SS_F$	$N - \alpha$	$MS_E = \frac{SS_E}{N - \alpha}$	
Total	$SS_T = \sum_{i=1}^{\alpha} \sum_{j=1}^n (y_{ij} - y_{..})^2$	$N - 1$		

Donde:

SS= suma de cuadrados

MS= media cuadrada

a = niveles

$y_{i.}$ = total de datos de las observaciones bajo las condiciones del factor i

$y_{..}$ = total de datos de las observaciones bajo todas las condiciones de los diferentes factores

n = número total de observaciones experimentales bajo las condiciones del factor i

N= número total de observaciones bajo todas las condiciones de los diferentes factores

El valor P se obtiene a partir de la prueba de Grubb también llamada en inglés como prueba de “Extreme Studentized Derivate”.

La aproximación del valor P como ayuda en la toma de decisiones se utiliza mucho, y en casi todos los paquetes estadísticos de computadora se proporciona el cálculo junto con valores de la prueba apropiada, como es el caso del paquete estadístico computacional Statgraphics. Por generaciones enteras de análisis estadístico, se ha hecho costumbre elegir un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$ (95% de confianza) ó $\alpha= 0.01$ (99% de confianza)

(Humberto *et al.*, 2008). Estadísticamente se puede decir que:

- Un valor P es el nivel (de significancia) más bajo en el que el valor observado de la estadística de prueba es significativo.
- El valor P es el nivel de significancia más pequeño que conduce al rechazo de la hipótesis nula H_0 .
- El valor P es el mínimo nivel de significancia en el cual H_0 (hipótesis nula) sería rechazada cuando se utiliza un procedimiento de prueba especificado con un conjunto dado de información. Una vez que el valor P se haya determinado, la conclusión en cualquier nivel α resulta de comparar el valor P con α .

En la tabla 4.5 se muestra el análisis de varianza que se obtuvo con los resultados de las pruebas de oxidación. El efecto que pueden tener los factores experimentales sobre la variable de respuesta se observa al comparar el valor de P de cada factor y la interacción entre factores sobre el valor de P general. Todos los valores de los factores que estén por debajo del valor de P general, tendrán un efecto significativo sobre la variable de respuesta (% de inactivación). El valor P establecido por el programa computacional Statgraphics con el que se puede considerar a un valor P estadísticamente significativo, es todo aquel menor a 0.05 para un nivel de confianza de 95% (Humberto *et al.*, 2008).

Tabla 4.5 Análisis de varianza de los datos de las pruebas inactivación de huevos de *Ascaris suum*, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton

Factor	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Cociente F	Valor de P
A: pH	12896.4	1	12896.4	524.17	0.00
B: Dosis H_2O_2	423.63	1	423.63	17.22	0.00
C: Dosis escoria	151.22	1	151.22	6.15	0.05
D: tiempo de contacto	310.02	1	310.02	12.60	0.01
AB	371.81	1	371.81	15.11	0.01
AC	281.82	1	281.82	11.45	0.01
AD	282.82	1	282.82	11.50	0.01
BC	73.57	1	73.57	2.99	0.14
BD	44.52	1	44.52	1.81	0.23

CD	1.67	1	1.67	0.07	0.80
Error total	123.01	5	24.60		
Total	14960.6	15			

En la tabla 4.5, se puede observar que los efectos A, B y D, así como las interacciones AB, AC y AD, tienen el valor P inferior a 0.05, indicando que son significativamente diferente de cero al 95.0% de nivel de confianza, por lo que tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta (% de inactivación).

Con base en lo anterior, se puede decir que existe la posibilidad de observar un efecto estadísticamente significativo por la variación del factor pH (A). Así mismo se podrá observar un efecto estadísticamente significativo al variar la dosis del factor B (dosis de peróxido) y al variar el factor C (tiempo), sobre la variable de respuesta (% de inactivación).

Las interacciones AB (pH- dosis de peróxido), AC (pH- dosis de escoria) y AD (pH- tiempo), indican que la modificación de un factor, modifica al otro factor asociado. Lo cual sugiere una buena probabilidad de observar un efecto estadísticamente significativo, al variar alguno de los factores individuales. En cuanto al factor C se puede ver que por sí sólo no causa un efecto significativo sobre la variable de respuesta, sólo con la interacción del factor pH.

El programa estadístico de computo Statgraphics, también proporciona el valor de R^2 . Algunos autores lo denominan coeficiente de determinación o coeficiente de correlación. Esto es porque la R^2 indica el porcentaje de variabilidad; es decir, indica que tanto el modelo puede explicar a los datos que se están correlacionando. En general para fines de predicción se recomienda un coeficiente de determinación de al menos del 70%. Cuando hay muchos factores (más de 5) se prefiere el estadístico R^2_{aj} en lugar de R^2 , puesto que este último se incrementa de manera arbitraria con cada término que se agrega al modelo. En cambio R^2_{aj} baja el valor cuando el término que se agrega no aporta mucho (Humberto *et al.*, 2008). A continuación se muestran los valores obtenidos:

R-cuadrado = 99.17 por ciento

R²(ajustado para g.l.) = 97.53 por ciento

Error Estándar = 4.96

Error absoluto de la media = 2.20

La ecuación del modelo ajustado es:

% de inactivación = 32.23 - 13.34*pH + 11.81*dosis H₂O₂ -1.97*dosis escoria + 3.60*tiempo de contacto - 14.28*pH*dosisH₂O₂ - 4.49*pH*dosis escoria 5.89*pH*tiempo de contacto - 10.08*dosis H₂O₂*dosis escoria + 4.88*dosis H₂O₂*tiempo de contacto - 0.31*dosis escoria*tiempo de contacto

De acuerdo a lo mencionado, en los resultados obtenidos, el estadístico R² indica que el modelo ajustado describe tan solo el 99.17 % de la variabilidad en % de inactivación en los datos experimentales con un nivel de confianza del 95%. Así mismo con base en la bibliografía se puede decir que estadísticamente el modelo obtenido es bueno ya que el valor de R²_{aj} es de 99.53%.

La figura 4.5 muestra la gráfica de Pareto que representa la influencia de cada uno de los factores y/o sus interacciones en el proceso de inactivación de los huevos de *Ascaris suum*, en orden decreciente. La línea que se muestra en el gráfico de Pareto, indica el límite de valor del efecto estandarizado, a partir del cual, el factor o interacción se considera estadísticamente significativa. En base a eso se puede decir que los factores de pH, dosis de peróxido y tiempo ejercen una influencia significativa en el proceso. De igual forma las interacciones pH-dosis de peróxido (AB), pH- tiempo (AD) y pH – dosis de escoria (AC), ejercen una influencia significativa en el proceso de inactivación de huevos de *Ascaris suum*.

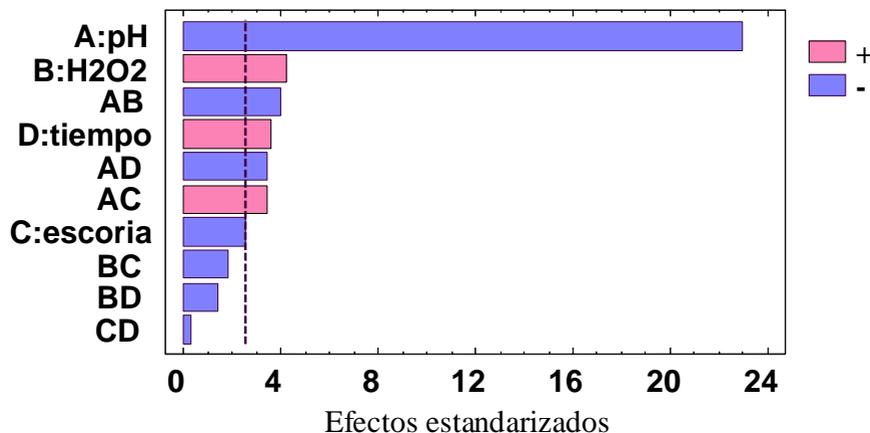


Fig. 4.5 Gráfico de Pareto estandarizado para % de Inactivación de huevos de *Ascaris suum*, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton

La gráfica de Pareto muestra también mediante los signos (+, -), si el efecto en el cambio del factor es positivo o negativo. Es decir un signo positivo indica que si se aumenta una unidad al valor del factor, el efecto será benéfico para el sistema. Igualmente para el signo negativo significa que si disminuye una unidad al valor del factor, también disminuirá la eficiencia del proceso. Por lo tanto, si se realiza lo contrario a lo que indica la gráfica de Pareto, el incremento o disminución en el valor del factor tendrá un impacto no favorable en la eficiencia del sistema.

Como se puede ver en la gráfica de Pareto, indica que utilizando valores de pH bajos mejora la eficiencia del proceso, y que al aumentar la dosis de peróxido mejora la eficiencia del proceso. Por lo tanto, la interacción entre el pH y la dosis de peróxido se ve favorecida a pH 3 ocurriendo la reacción de descomposición de peróxido de hidrógeno a radicales hidroxilo catalizada por el hierro presente en la escoria. Lo cual se puede corroborar con los resultados obtenidos en el porcentaje de inactivación.

También se puede observar que al disminuir el pH y al aumentar el tiempo de contacto en la reacción, se ve favorecido el proceso, lo cual también se confirma en los resultados obtenidos, ya que el mejor porcentaje de inactivación fue en 180 minutos.

En cuanto a la interacción pH-dosis de escoria se puede observar que si hay un aumento en alguno de los factores (pH o dosis de escoria), podría mejorar la eficiencia del proceso. Lo cual indica que en estudios posteriores se puede variar la dosis de escoria y el valor de pH, para mejorar la variable de respuesta (% de inactivación).

En los resultados obtenidos utilizando el nivel mínimo del factor C (dosis de escoria) y pH 3 se obtuvo un por ciento de inactivación de 88.86%, pero de acuerdo a la gráfica de Pareto, existe la posibilidad de mejorar la eficiencia del proceso si se varía la dosis de escoria, por lo que se sugiere que en estudios posteriores se realicen pruebas variando dichos factores para mejorar el por ciento de inactivación de huevos de *Ascaris suum*.

Al analizar la fig. 4.6 de superficie-respuesta, se puede observar cada una de las combinaciones entre el pH y dosis de peróxido, para porcentajes de inactivación que van desde 8.0 hasta 72 %, con valores fijos de dosis de escoria y de tiempo de contacto (valores codificados).

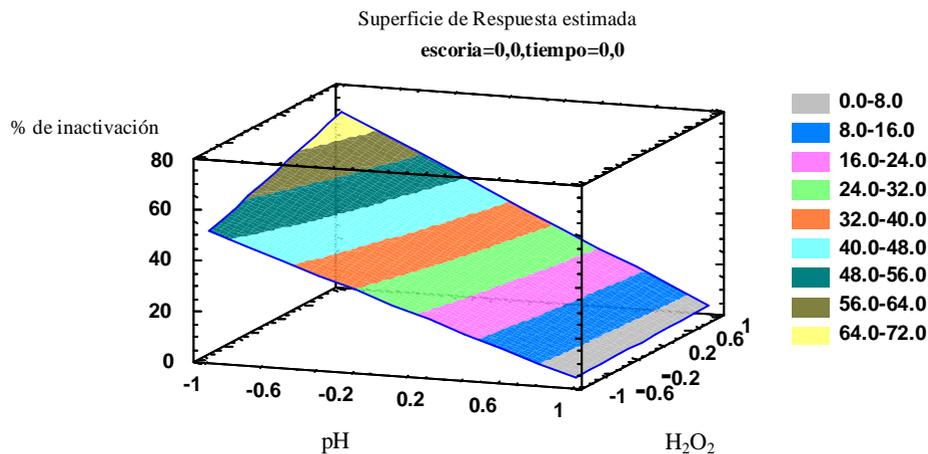


Fig. 4.6 Superficie de respuesta estimada para el % de inactivación de huevos de *Ascaris suum*, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton

De acuerdo con estos resultados se pueden determinar los valores de las cuatro factores o variables evaluados (pH, dosis de escoria, dosis de peróxido de hidrógeno y tiempo de contacto) para los que el por ciento de inactivación alcanzado sea el máximo, aplicando el modelo matemático obtenido y un método de interacción.

Los valores óptimos de las variables se presentan en la tabla 4.6, para estas condiciones el valor del factor de respuesta (% de inactivación) fue igual a 87.26 %.

Tabla 4.6 Valores óptimos calculados de las variables evaluadas para obtener el máximo % de inactivación (87.26%) de huevos de *Ascaris suum*, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción de Fenton

Variables	Valor codificado	Valor real
pH	-1	3
Dosis de peróxido	1	1000 (mg/L)
Dosis de escoria	-1	0.5 (g/L)
Tiempo de contacto	1	180 (min)

Aplicando las condiciones mencionadas, se realizaron por quintuplicado pruebas de oxidación en huevos de *Ascaris suum*. El valor teórico como ya se mencionó fue de 87.26% y se obtuvo experimentalmente un valor de 88.89% de inactivación de huevos de *Ascaris suum*.

Como se puede observar el valor del porcentaje de inactivación máximo de huevos de *Ascaris* obtenido en las pruebas experimentales redondeado queda en 89% de inactivación y el valor teórico esperado (obtenido del modelo) fue de 87% por lo que se puede decir que el modelo experimental predijo adecuadamente el valor de este factor, ya que el porcentaje de inactivación experimental obtenido queda dentro de lo que establece el modelo con un nivel de confianza al 95% y una variabilidad del 99.17%.

Adicionalmente se determinó el efecto por separado de pH 3, dosis de peróxido (1000 mg/L), dosis de escoria (0.5 g/L), y dosis de peróxido (1000 mg/L)-pH 3 sobre la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum*. Los resultados se muestran en la tabla 4.7.

Tabla 4.7 Efecto de la viabilidad de los huevos de helminto

Factor	Tiempo de contacto (min)	Muestra a % de viabilidad de HH	Muestra b % de viabilidad de HH	Muestra c % de viabilidad de HH
pH 3	180	90.12	89.93	89.97
pH 6	180	89.89	90.10	89.96
Dosis peróxido (1000 mg/L)	180	89.96	89.88	90.14
Dosis escoria (0.5 g/L)	180	90.14	89.95	89.89
Dosis de peróxido (1000 mg/L) – pH3	180	89.88	89.90	89.92

Se puede apreciar en los resultados obtenidos que no existe efecto sobre la viabilidad (capacidad de infectar) de los huevos de helminto (*A. suum*) por la acción de los factores evaluados individualmente, debido a que la viabilidad se mantiene aún después de someterlos a las condiciones mencionadas. La prueba sirve para corroborar y garantizar que la inactivación de los huevos de *Ascaris suum* es consecuencia de la reacción de Fenton.

4.5 Comparación de las técnicas de tinción e incubación para determinar la viabilidad de huevos de *Ascaris suum*, bajo condiciones óptimas, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo Fenton

Se hicieron por quintuplicado pruebas de oxidación en huevos de *Ascaris suum*, utilizando las condiciones óptimas de operación, aplicando escorias de cobre y peróxido de hidrógeno, vía reacción tipo Fenton.

Posteriormente, se aplicaron la técnica de tinción y la de incubación para determinar la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum*. En la técnica de incubación se puede observar el fenómeno de embrionamiento y eclosión de la larva *in vitro* (Ayres, 1989; NOM-004-SEMARNAT-2002). Se ha utilizado con éxito para *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum*,

Trichuris spp., *Toxocara spp.*, e *Hymenolepis diminuta*. El inconveniente de este método es que toma cuatro semanas para completarse (De Victoria J. y Galván 2002).

En la tabla 4.8 se observan los resultados del por ciento de inactivación de las técnicas de tinción e incubación. Los resultados son el promedio de las 3 lecturas que se realizaron por prueba, siendo un total de 15 lecturas de cinco réplicas. Al comparar los resultados de la técnica de tinción con la de incubación, se aprecia que los valores del por ciento de inactivación varían, pero aún así se puede ver que existe una similitud o cercanía en los porcentajes obtenidos.

Se puede observar que el coeficiente de variación (definido como la relación entre la desviación estándar y la media, expresada en porcentaje) es aproximadamente el doble en la técnica de incubación (0.49) en comparación con el método de tinción (0.26), pero de acuerdo a los valores estadísticos si un coeficiente de variación es menor a 1, lo cual también se verá reflejado en la desviación estándar en cierto modo, indica en este caso que las variaciones observadas no son muy significativas y por lo tanto se puede confiar en la recolección de los resultados individuales obtenidos en cada técnica. Cabe señalar, que es conveniente determinar las posibles causas de las variaciones observadas en los resultados obtenidos de las técnicas aplicadas, las cuales pueden deberse a diversos factores, por ejemplo a la toma de muestra, tiempo de lavado, decantado, error del experimentador, etc.

Tabla 4.8 Comparación del por ciento de inactivación de huevos de *Ascaris suum* obtenido en las técnicas de tinción e incubación

Prueba	Método de tinción (% de inactivación)	Método de incubación (% de inactivación)
1	88.84	86.26
2	89.40	87.16
3	88.94	86.38
4	88.86	87.15
5	88.88	86.58
Σ	444.92	433.53
X	88.98	86.70
S	0.23	0.42
CV%	0.26	0.49

Σ = sumatoria; X= media; S= desviación estándar; CV= coeficiente de variación

4.6 Análisis estadístico de los resultados para determinar la variación entre la técnica de tinción e incubación

Con el fin de establecer un mejor análisis de resultados y ver la significancia de las variaciones observadas en los resultados de cada técnica empleada en el por ciento de inactivación de huevos de *Ascaris suum* se aplicó la prueba F o relación de varianzas simple (Prueba de Fisher).

Tabla 4.9 Resultados de la prueba F

Causas	grados de libertad (g.l)	Suma de cuadrados (sc)	cuadrado medio (cm)	F	FT
Huevos teñidos o no teñidos	(a-1)	20384.13	20384.13	3.10	3.68
Error	a(n-1)	28			
Total	(an-1)	16			

a= número de muestras (3); n= número de replicas por cada tratamiento (5); na= número total de observaciones (15); GL= Grados de libertad; SC= Suma de cuadrados; CM= Cuadrado medio; F= Fcalculada; FT =F de tablas

Las hipótesis que se plantearon fueron para determinar la variación entre el número de huevos viables y no viables obtenidos en cada técnica: H_0) No existe diferencia significativa en cuanto a la cuantificación de los huevos viables y no viables en la técnica de tinción e incubación, H_a) Se presenta diferencia significativa en la cuantificación de huevos viables y no viables.

Como se puede ver en la tabla 4.9 el resultado de la F calculada (3.1) es menor que la F de tablas ($F_{0.05,(2,15)}$ 3.68). Esto significa que no existe diferencia significativa para la cuantificación de huevos de *Ascaris suum* utilizando la técnica de tinción y la de incubación *in vitro*; es decir, que se puede utilizar cualquiera de los dos métodos para determinar la viabilidad de los huevos de helminto, siendo el método de tinción el más rápido ya que los

resultados se obtienen en horas mientras que el método de incubación *in vitro* tarda cuatro semanas para la obtención de resultados.

Además de la prueba de F, se aplicó la prueba t de Student para corroborar los resultados ya que :

$$t_{\text{calculada}} = \sqrt{F_{\text{calculada}}}$$

O bien,

$$t^2 = F$$

El valor de la $t_{\text{calculada}} = 1.76$, por lo tanto $t^2 = 3.09$. Este valor es prácticamente igual al de $F_{\text{calculada}} = 3.1$.Por lo tanto se cumple la igualdad y se llega a la misma conclusión.

Capítulo 5 Conclusiones y recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se determinó que puede ser factible el uso de escoria de cobre como catalizador en la reacción de Fenton para inactivar huevos de *Ascaris suum* presentes en agua.

El análisis estadístico realizado a los resultados de las pruebas de inactivación de huevos de *Ascaris suum*, indica que el pH, la dosis de peróxido de hidrógeno y tiempo presentan una influencia significativa sobre el por ciento de inactivación de huevos de *Ascaris suum*, obteniéndose el 88.86% de inactivación de huevos de *Ascaris suum*.

Los valores óptimos calculados de las cuatro variables evaluadas para obtener el máximo por ciento de inactivación de huevos de *Ascaris suum*, vía la reacción de Fenton utilizando escoria de cobre y peróxido de hidrógeno, fueron las siguientes: pH igual a 3, dosis de peróxido de 1000 mg/L, dosis de escoria de 0.5 g/L y tiempo de contacto de 180 min.

Al evaluar las condiciones óptimas se obtuvo el 89% de inactivación, lo cual indica que el modelo experimental es confiable y preciso.

Se determinó que el método de tinción es más rápido para la obtención de la viabilidad de huevos de *Ascaris suum* en comparación con el método de incubación *in vitro*, el cual tarda cuatro semanas para la obtención de resultados. Ambos métodos son confiables ya que aunque se obtienen diferencias en los resultados de viabilidad de las muestras, éstos no son significativos de acuerdo al análisis estadístico, por lo que se puede aplicar cualquiera de las dos técnicas para saber la viabilidad de huevos de *Ascaris suum*. después de realizar las pruebas de oxidación avanzada.

Recomendaciones

- Realizar pruebas de oxidación avanzada, utilizando otras escorias que contengan óxidos de hierro, para comparar su eficiencia en la inactivación de huevos de *Ascaris suum*, contra los resultados obtenidos con la escoria de cobre en el presente trabajo.
- Realizar pruebas de oxidación avanzada de huevos de *Ascaris suum*, utilizando el sistema Escoria/H₂O₂/UV, para observar si el por ciento de inactivación de huevos de helminto se mantiene cercano al 90% o aumenta, para obtener mejores valores de tiempo (más corto) y de pH (cercano a la neutralidad).
- Evaluar el proceso de inactivación de huevos de *Ascaris suum*, utilizando agua residual mediante un diseño experimental para determinar las condiciones óptimas de operación. Esto servirá para verificar que tanto influye la presencia de contaminantes en el proceso de inactivación de los huevos de helminto.

Glosario

Ascariosis: Infección causada por el parásito nematelminto *Ascaris lumbricoides*

Ascaridia: Orden de nemátodos

Ascaris lumbricoides: Parásito nemátodo del intestino delgado del hombre.

Ascaris suum: Parásito nemátodo del intestino delgado del cerdo.

Asintomático: adj. *Med.* Que no presenta síntomas de la enfermedad

Cloaca sexual: Porción final, ensanchada y dilatada, del intestino en la cual desembocan los conductos genitales.

Colédoco: adj. *Anat.* Se dice del conducto formado por la unión de los conductos cístico y hepático, procedentes de la vesícula biliar y del hígado, respectivamente, y que desemboca en el duodeno.

Coliformes: La denominación genérica de coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Comprende a todos los bacilos aerobios o anaerobios facultativos Gram negativos, no esporulados que fermentan lactosa a 35-37 °C con producción de gas y ácido en un periodo de 24 a 48 horas.

Coliformes fecales (termotolerantes): Comprende todos los bacilos aerobios o anaerobios facultativos, Gram negativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 44 ± 1 °C en un plazo de 24 horas.

Dentículas: Se refiere a los elementos individuales (uno o más) cuyo conjunto (o unidad) construyen el filo o borde denticulado.

Denticulado: Nombre asignado a la pieza que posee una forma de retoque elaborado mediante muescas consecutivas que dejan entre una y otra una pequeña punta y que en conjunto, semejan un borde serrado o dentado.

División blastomérica: Duodeno *Anat.* Primera porción del intestino delgado de los mamíferos, que comunica directamente con el estómago y remata en el yeyuno.

Embrionados: huevos fecundados, que presentan desarrollo de embrión

Endemia: f. *Med.* Enfermedad que predomina habitualmente, o en épocas fijas o en un país o comarca

Endémico :*adj.* Relativo a la endemia

Eosinofilia: Incremento anormal en la cantidad de eosinófilos (500 células por mm³) circulantes en la sangre (valor normal: 0 a 35 células por mm³, es decir del 1 al 4 % del total de leucocitos en humanos). Comúnmente asociada con el inicio de infecciones parasitarias crónicas o estados alérgicos. Generalmente sucede cuando los helmintos parásitos invaden tejidos por migración normal o errática.

Espículas: Unidades esqueléticas calcáreas o silíceas que forman parte de un esqueleto.

Fisiológica: f. Ciencia que tiene por objeto el estudio de las funciones de los seres vivos.

Geohelmintiasis: Infección ocasionada por nematodos de ciclo de vida directo, cuyos huevos requieren de ciertas características del suelo y del ambiente (humedad, temperatura e intensidad luminosa) para el desarrollo, ya sea huevo embrionado o larva infectante L₃. Ejemplos: ascariosis, tricuriasis, uncinariosis.

Hacinamiento Aglomeración en un mismo lugar de un número de personas o animales que se considera excesivo y sin orden

Helminthiasis o *Verminosis*. Infección producida por helmintos, gusanos que residen o migran a los tejidos, órganos o cavidades del hospedador, en estadio juvenil o adulto. Dichas parasitosis generalmente producen eosinofilia local en tejidos, en sangre o en ambos. Las principales alteraciones en humanos en orden de frecuencia e importancia además de la hipereosinofilia (eosinofilia) son: hepatomegalia, síndrome de Löeffler, asma bronquial, urticaria, estados alérgicos, formación de quistes o tumores, trastornos neurológicos y alteraciones del comportamiento, retardo en el crecimiento corporal, y disminución de la capacidad de aprendizaje.

Helmintos: Vermes, “gusanos”. Del griego *elmins* o *helmins*: gusano, en sentido estricto, “gusano parásito”. Nombre genérico que se aplica a organismos invertebrados de vida libre y parásitos.

Hospedador : Hospedero, huésped, mesonero Organismo vivo, planta o animal que tiene, recibe o proporciona condiciones de subsistencia para un parásito, como puede ser: alimento, estímulo en el crecimiento o simple protección. Los tipos de hospedador son: anormal, anfitriónico, definitivo, terminal o final, específico, facticio, heterólogo, intermediario, normal, natural, homólogo o típico, paratónico o de transporte.

Íleos: Del latín *ileus*, cólico violento. Detención de la progresión del contenido intestinal, gas, líquidos y sólidos.

Incidencia: Término epidemiológico, que denota cantidad de nuevos casos de una enfermedad (parasitosis) dividido entre la población de una comunidad, zona geográfica o grupo de edad por unidad de tiempo. La incidencia es una medida para conocer los factores

etiológicos de un padecimiento, tanto en casos agudos como crónicos. Ver tasa de incidencia

Lumen: *Anat.* Espacio libre o vacío de una cavidad u órgano del cuerpo, por el cual puede circular gases o líquidos. Ejemplo, el lumen del intestino delgado

Morbilidad: f. Grupo de personas que enferman en un sitio y tiempo determinado.

Morfología: f. Parte de la biología que trata de la forma de los seres vivos y de las modificaciones o transformaciones que experimenta.

Morfológica: adj. Perteneciente o relativo a la morfología.

Mortalidad : Tasa de muertes producidas en una población durante un tiempo dado, en general por una causa determinada.

Nemátodos: Nematelminthos, Nematoda (del griego nema, “hilo”, eídés, “con aspecto de”) Son uno de los filo más comunes de animales, se conocen como gusanos redondos, debido a la forma de su cuerpo en un corte transversal. Existen muchas especies parasitarias de plantas y animales, incluyendo el hombre. Los nemátodos incluyen también especies de vida libre.

Papilas: f. *Anat.* y *Bot.* Cada una de las pequeñas prominencias cónicas de la piel, las mucosas y ciertos órganos de algunos vegetales y, en especial, las que existen en la lengua, a través de las cuales captamos el sentido del gusto: papila olfativa, gustativa.

Parásito: Del griego *parasito*: el que vive o come a expensa de otro. Organismo que habita y se alimenta de su hospedador durante toda o parte de su vida.

Parasitismo: Estado de simbiosis en el cual el simbiote se beneficia de la asociación, y el hospedador es dañado de manera “metabólica” y/o “ecológica”. Proceso donde un organismo vive un estadio o todo su ciclo de vida sobre o dentro del hospedador, del cual obtiene energía; es decir, existe una interacción bioquímica o molecular en la relación hospedador-parásito.

Parasitismo errático: Ocurre cuando el parásito se sitúa en sitio ectópico: órgano o tejido no habitual.

Parasitosis: Parasitiasis. Acción entre dos organismos (hospedador- parásito) en la que el parásito es potencialmente patogénico y puede dañar al hospedador (humanos, animales domésticos y silvestres), causándoles signos y síntomas de enfermedad.

Recalcitrante: adj. Terco, reacio, reincidente, obstinado, aferrado a una opinión o conducta.

Romo: adj. Obtuso y sin punta.

Tasa de incidencia: Se denomina la razón entre el número de nuevos casos de una enfermedad o padecimiento específico, diagnosticado o notificados en el curso de un periodo (numerador), y el número de individuos en la población en que ocurre (denominador). Generalmente se expresa en términos del número de casos por 1000, 10 000 ó 100 000 habitantes por año. Esta tasa puede ser específica por edad, sexo, o bien por cualquier otra característica o subdivisión de la población.

Tasa de prevalencia: Es el número de personas que tiene una enfermedad específica en un momento determinado por 1000 habitantes expuestos. Esta tasa comprende todos los casos existentes con anterioridad, así como los casos nuevos que se presenten durante el periodo especificado.

Trompa de Eustaquio: *Anat.* Es el tubo medio que se extiende entre el oído medio y la faringe y que regula la presión del oído alrededor del tímpano.

Vena cava: *Anat.* La mayor del cuerpo, una superior que recoge la sangre de la mitad superior del cuerpo, y otra inferior que la recoge de los órganos situados debajo del diafragma.

Yeyuno: *m. Anat.* Segunda porción del intestino delgado de los mamíferos, situada entre el duodeno y el íleon.

Referencias

- Adams V., Markus M., Jordaan E., Curtis B., Dhansay M., (2005). Paradoxical helminthiasis and Giardiasis in Cape Town, South Africa: Epidemiology and control. *Health Sci.* 5(2): 131- 136.
- Aguilar, P., Jiménez, B., Maya, C., Orta, T. y Luna, V. (2006). Disinfection of sludge with high pathogenic content using silver and other compounds. *Water Sci. Technol.*, 54(5)179-187.
- Akio K., Takaaki H., Junko y Junko K. (2006). Historical aspects for the control of soil-transmitted helminthiasis. *Parasitology International.* 55(5) S289-S29.
- Alp I., Deveci H. y Süngün H. (2008). Utilization of flotation wastes of copper slag as raw material in cement production. *Journal of hazardous materials.* pp 225-227.
- Alter H. (2004). The composition and environmental hazard of copper slags in the context of the Basel Convention. *Resources, conservation and recycling.* pp 43, 353-360.
- Arslan A. (2007). Acid dye bath effluent pretreatment using Fenton's reagent: Process optimization, reaction kinetics and effects on acute toxicity, *Dyes and Pigments.* pp73, 31-39
- Ayres R., Alabaster G., Mara D. y Lee D. (1992). A design equation for human intestinal nematode egg removal in waste stabilization ponds. *Water Res.*, 26(6), pp 863-886.
- Barb W., Baxendale J., George P. y Hardgrace K. (1951). Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part 1 : The ferrous ion reaction. *Trans Faraday Soc.* 47.
- Bastos R., Bevilacqua P., Silva C. A. y Silva C. (2008). Waster irrigation of salad crops: further evidence for evaluation of the WHO guidelines. *Water Sci. Technol.* 57(8): 1213-1219.
- Barrios J., Jiménez B. y Maya C. (2004). Treatment of sludge with peracetic acid to reduce the microbial content. *J. Residuals Sci. Technol.* 1(1): 69-74.
- Beaver P. C., Jung R. C. y Cupp E. W.(1994). *Parasitología Clínica.* 3ª , Ed. México, Salvat, pp. 882-885.
- Bigda R. (1995). Consider Fenton's Chemistry for Wastewater Treatment., *Chem. Eng. Prog.* 91, pp 62-66.
- Bishop D., Stern G., Fleschman M. y Warshall L. S. (1968). Hydrogen peroxide catalytic oxidation of refractory municipal waste waters. *IE-EC Proc. Design Dev.* 7: 110-117.

- Blumental U., Cifuentes E., Bennett S., Quigley M. y Ruiz-Palacios G. (2001). The risk of enteric infections associated with wastewater reuse: the effect of season and degree of storage of wastewater. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 95: 131-137.
- Braton R. y Nesse R. (1993). Ascaris: An infection to watch for in immigrants. *Postgraduate Med.*, 93: 171-178.
- Brownell S. A. y Nelson K. L. (2006). Inactivation of Single-Celled *Ascaris suum* Eggs by Low-Pressure UV Radiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 2178-2184.
- Cabello Romero Raúl.(2001). Microbiología y Parasitología Humana: *Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas*. 2ªEd. México, Editorial Médica Panamericana. pp. 873.
- Campos C. (2008). New perspectives on microbiological water control for wastewater reuse. *Desalination* 218: 34-42.
- Capizzi S., Deloge M., Perry M., Schwartzbrod J., (2004). Liming and advanced treatment for sludge sanitization: helminth eggs elimination- *Ascaris* eggs as model. *Water research* (38): 3251-3258.
- Centi G., Perathoner S., Torre T., Verdena M., (2000). Catalytic wet oxidation with H₂O₂ of carboxylic acids on homogeneous and heterogeneous Fenton type catalysts. *Catalysis Today*. 55. pp. 61-69.
- Chamarro E., Marco A. y Esplugas. S. (2001). Use of fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. *Water Research* Vol. 35 N. 4 . pp 1047-1051.
- Chan-Li H., Yao-Hui H., Cheng-Chien W. y Chuh-Yung H. (2006). Photo assisted fenton degradation on nonbiodegradable azo-dye (Reactive Black 5) over a novel supported iron oxide catalyst at neutral pH, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 245, (78-86).
- Chu W., Chan K., Kwan C., Choi K., (2007). Degradation of atrazine by modified stepwise- Fenton's processes. *Chemosphere*. 67: 755-761.
- Chyow-San Chiou., (2007). Application of steel waste with UV/H₂O₂ to mineralize 2-naphthalenesulfonate in aqueous solution. *Separation and Purification Technology*, 55, (1), (110-116).
- Carranza F., Iglesias N., Mazuelos A., Romero R. y Forcat O. (2008). Ferric leaching of copper slag flotation tailings. *Minerals Engineering*.
- CONAGUA. Estadísticas del agua en México. Edición 2007. SEMARNAT
- Cruz-Reyes A. y Camargo-Camargo B. (2001). Glosario de términos en parasitología y ciencias afines. Instituto de Biología, Programa Universitario de Investigación en Salud,

Universidad Nacional Autónoma de México, y Plaza y Valdés Editores. México, D.F. 347pp.

Dawson B. y Robert G. (2005). Bioestadística Médica. 4ª Ed. México. Manual Moderno. 392pp.

Doulaye K., Olufunke C., Chistian Z., Katharina G., Daya M., Silke D., Martin S., (2007). Helminth eggs inactivation efficiency by faecal sludge dewatering and co-composting in tropical climates. *Water research*, 41: 4397-4402.

EEC List of Council Directives 76/4647 European Economic Community Brussels, Belgium, 1982.

Gaspard P., Wiart J. y Schwartzbrod J. (1994). Experimental study of the helminth eggs adhesion (*Ascaris suum*): analysis of the environmental implications. *Rev. Sci. Eau*. 7(4): 367-376.

Gorai B., Jana R.K. y Premchand. (2003). Characteristics and utilization of copper slag a review. *Resources, conservation and recycling*. 39. pp. 299-313.

Habbari K., Tifnouti A., Bitton G. y Mandil A. (2000). Helminthic infections associated with the use of wastewater for agricultural purposes in Beni Mallal. Morocco. *East. Mediterr. Health J*. 5: 912-921.

Huanosta, T. (2009). Aprovechamiento de escorias como adsorbentes y catalizadores para remover fenol. Tesis de Maestría. UNAM

Jatinder P., Simon G., (2009). Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. *Enviroment international*. (35) 187-201.

Jiménez B. (2007) Helminth ova removal from wastewater for agriculture and aquaculture reuse. *Water Sci. Technol.*, 55(1-2): 485-493.

Jiménez B., Maya C., Sánchez, E. Romero., Lira A., Barrios A. (2002). Comparison of the quantity and quality of the microbiological content of sludge in countries with low and high content of pathogens. *Water Sci. Technol*. 46(10): 17-24.

Jiménez B., Maya C., y Salgado G. (2001). The elimination of helminth ova, fecal coliforms, salmonella and protozoan cyst by various physicochemical processes in water and sludge. *Water Sci. Technol*. 43(12): 179-182.

Kang Y., Hwang K., (2000). Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the Fenton process. *Water research*. (34): 2786-2790.

Koivonen J., Heinonen H., (2005). Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments. *Water research* (39): 1519-1526.

- Lambert, R. A. (1975). Identificación de helmintos. Guías de Laboratorio . Ed. Manual Moderno, S.A. 45pp.
- Lin S. H. y Lo C. C. (1997). Fenton process for treatment of desizing wastewater. *Water Res.* 31(8): 2050-2056.
- Lorcain P., Holland V. (2000). The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. *Parasitolog.* 121:S51-S71.
- Madigan T., Martinko J., Parker J., (2000). Brock, Biología de los Microorganismos. 8ª edición revisada. Edi. Prentice Hall. pp. 904-921, 971-980.
- Malpica de la Torre J. (2002). Evaluación del método Fenton para producir aguas y lodos con fines de reúso. Fac. Química, UNAM.
- Mara D., Sleigh P., Blumenthal U. y Carr R. (2007). Health risks in wastewater irrigation: Comparing estimates from quantitative microbial risk analyses and epidemiological studies. *Journal of Water and Health.* 5(1): 39-50.
- Rojas M. N., Orta De Velásquez M. T., V. y Franco V. (2008). Comparación de mecanismos de acción de desinfectantes aplicados en aguas residuales. Año 12 N. 49
- Maya C., Salgado G. y Jiménez B. (2000). Frecuencia y variación estacional de los géneros de huevos de helminto más comunes encontrados en aguas residuales en México. Congreso Nacional. Ciencia y Conciencia. Compromiso Nacional con el Medio Ambiente. Memorias. Tomo 1, Año1, N1.
- Medina L.E., Borunda E.O. y Aguilar A. (2006). Uso de la escoria de cobre en el proceso de fabricación de clínker para cemento Portland. *Materiales de construcción.* 56, 281. pp. 31-40.
- Mendez J.M., Jimenez B.E. y Barrios J.A. (2002). Improved alkaline stabilization of municipal wastewater sludge, *Water Sci. Technol.* 46 (10): 139–146.
- Meyer Y. B. (1978). Recovery of *Ascaris* eggs form sludge. *Journal of Parasitology.* 64 (2): 380-383.
- Murray,P.R., Lawrence D., L., Kobayashi, G.S. and Thompson, J.H. (1999). Microbiología Médica. Ed. Mosby. pp. 32-36, 125-130.
- Nelson K. (2003). Concentrations and inactivation of *Ascaris* eggs and pathogen indicator organisms in wastewater stabilization pond sludge. *Water Sci. Technol.*48: 89-95.
- Nesheiwat., Fares ., Swanson., Ady ., (2000). Clean contaminated sited using Fenton`s Reagent. *Chemical Engineering Progress.*

NOM-003-SEMARNAT-1993 y la Norma vigente NOM-001-SEMARNAT-1997, establecen los límites permisibles del contenido de huevos de helmintos en aguas para riego tratadas que se reusen en servicios al público.

NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental, lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.

NOM-054-SEMARNAT-lixiviados

NOM-052-SEMARNAT-1993, Características de los residuos peligrosos, límites de un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

Orta De Velásquez, M. T., Martínez, J.L., Monje, I., y Rojas, M. N. (2004). Destruction of helminth (*Ascaris suum*) eggs by ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 26 (4):359 – 366.

Orta De Velásquez, M. T., Rojas, M. N., y Vaca-Mie, M. (2002). Destruction of helminth eggs (*Ascaris suum*) by ozone: Second stage. *Water Sci. Technol.* 2: 227 – 233.

Peassey A., Blumenthal U., Duncan M., Ruíz- Palacios G. (2000). A review of policy and standards for waste water reuse in agriculture: A Latin America perspective. *Well study task*. N. 68 Part II. June.

Ramírez, R.M., Galván, M., Retama, I., Rigas, F. y Durán, A. (2006). Viability reduction of parasites (*Ascaris spp.*) in water with photo-Fenton reaction via response surface methodology. *Water Practice & Technol.*, 1(2) doi:10.2166/WPT.2006043.

Rivas, F.J., Beltran, F.J., Frades, J., Buzeda, P., (2001). *Oxidation of p-hydroxybenzoic acid by Fenton's reagent*. *Water Res.* 35(2): 387.

Rojas, V.N; Galván M. y de Victoria J. (1998). Aplicación de colorantes biológicos para determinar la viabilidad de huevos de *Ascaris suum* (helminto). *Revista Ingeniería y Ciencias Ambientales*. Año 10. N. 35. Marzo-Abril: pp 22-27.

Silva de, N. R., Chan, M. and Bundy, A. (1997). Morbidity and mortality due to ascariasis: re-estimation and sensitivity analysis of global numbers at risk. *Trop. Med. & Int. Health*, vol. 2, 6, 519-528.

Sistema único de información para la vigilancia epidemiológica. Dirección General de Epidemiología/ SSA .(2004).

Solís L. M. (2009). Inactivación de huevos de *Ascaris suum* presentes en agua mediante el proceso de Fenton y con luz UV. Tesis de Maestría. UNAM.

Soulsby, E.J. (1987). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª Ed. Editorial Interamericana. México. D.F., pp 142-148

Tay, Z., Lara, A., Velasco, O., y Gutiérrez, Q., (2002). Parasitología médica. Mendez Editores pp. 309-320.

Vázquez, O., Martínez, I. y Campos, T. (2003). Ascariosis. Review of the literatura. *Acta Pediatr. Méx.* 24(2): 100-107.

Wang, A., Qu, J., Liu, H. y Ru, J. (2008). Mineralization of an azo dye Acid Red 14 by photoelectro-Fenton process using an activated carbon fiber cathode. *Appl. Catal. B.* doi:10.1016/j.apcatb.2008.04.016.

World Health Organization (2006). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater, Vol.2: *Wastewater use in agriculture*. pp 60-70. WHO web, http://www.who.int/water-sanitation_health/wastewater/gsuwegz/en/index.html.

World Health Organization (1986). Parasitic Diseases Programme. Major Parasitic Infections: a global view. *World Health Stat Q.* pp. 39,145-160

Yuan-Shen Li, (1999). *The use of waste basic oxygen furnace slag and hydrogen peroxide to degrade 4-chlorophenol*. *Waste Management.* 19 (7-8), (495-502).

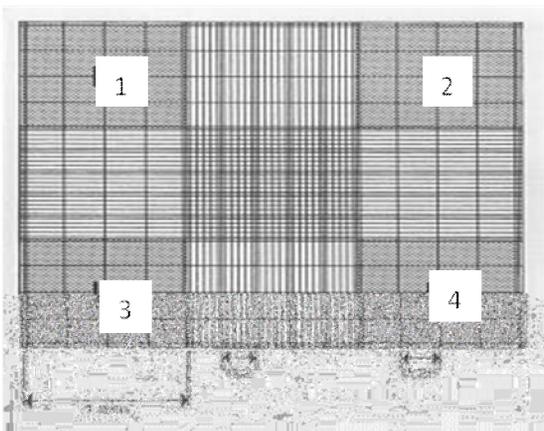
Anexos

Anexo I Cuantificación y determinación de la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum* en la suspensión stock

El conteo se realizó en una cámara de Neubauer, en la cual se colocó un volumen conocido de muestra de la suspensión stock y, se contaron los huevos de *Ascaris* en un microscopio binocular de campo claro. Se cuantificaron los huevos en los cuadros de los extremos (área sombreada y marcada con una L), que corresponden a un milímetro cúbico ó 0.1 microlitro. A continuación se da un ejemplo de cómo se determina la concentración y la viabilidad de la suspensión.

Determinación de la concentración de la suspensión Stock de HH

L1= 1er cuadrante
 L2= 2do cuadrante
 L3= 3er cuadrante
 L4= 4to cuadrante



cuadrante	Primera cámara		Segunda cámara	
	viables	no viables	viables	no viables
1	20	1	20	2
2	23	1	23	2
3	18	2	17	3
4	24	0	16	3
subtotal	85	4	76	10
		89		86

cuadrante	Primera cámara		Segunda cámara	
	viables	no viables	viables	no viables
1	20	3	19	0
2	18	2	20	1
3	23	2	21	2
4	18	3	20	0
subtotal	79	10	80	3
		89		83

cuadrante	Primera cámara		Segunda cámara	
	viables	no viables	viables	no viables
1	16	2	19	6
2	21	1	19	3
3	15	0	22	0
4	17	3	24	0
subtotal	69	6	26	9
total	75		35	

cuadrante	Primera cámara		Segunda cámara	
	viables	no viables	viables	no viables
1	22	1	21	0
2	18	3	15	3
3	26	0	17	2
4	12	2	24	0
subtotal	78	6	77	5
	84		82	

cuadrante	Primera cámara		Segunda cámara	
	viables	no viables	viables	no viables
1	18	2	17	3
2	18	3	19	3
3	24	0	24	0
4	21	2	21	2
subtotal	81	7	81	8
	88		89	

Por ciento de viabilidad:	
No promedio de HH (x)	80
No promedio de HH viables	73,2
No promedio de HH no viables	6,8
% Viabilidad	91,5

Concentración de la suspensión stock (HH/mL)		
[HH/mL]=	10000 (x/4)=	200,000

Anexo II Preparación de la suspensión intermedia de huevos de *Ascaris suum* para las pruebas de oxidación

La suspensión sintética utilizada en las pruebas de oxidación debe tener una concentración inicial de 2000HH/mL y debido a que la concentración de la suspensión stock es muy alta (200,000 HH/mL), se realiza una dilución para poder llegar a la concentración deseada.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(200,000HH / mL)(V_1) = (2000HH / mL)(100mL)$$

Sustituyendo:

$$\frac{2000HH / mL * 100mL}{200,000HH / mL} = 1,00mL$$

Se toma 1 mL de la suspensión concentrada de huevos de *Ascaris suum* y se aforan en 100 mL con NaCl al 0.85% como conservador.

A partir de la suspensión de 2000HH/mL se realizan las pruebas de oxidación avanzada de huevos de *Ascaris suum* tomando en cuenta que los contenedores deben contener 500 mL de una solución de 2 HH/mL, (400mL son para las pruebas de oxidación y 100 mL para usarlos como blanco), por lo que a 500 mL de agua destilada se adicionaron 0.5 mL de la suspensión de concentración intermedia como se indica en la ecuación.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(2000HH / mL)(V_1) = (2HH / mL)(500mL)$$

$$V_2 = 0.5mL$$

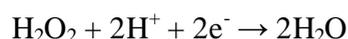
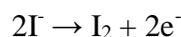
Anexo III Técnicas analíticas

1. Determinación de la concentración de la solución madre de peróxido de hidrógeno

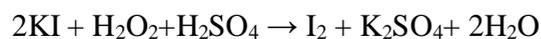
Método iodométrico (concentración $> 10^{-3}$ m) (34 mg/l)

Las soluciones madres de peróxido de hidrógeno pueden cuantificarse por este método. En medio ácido, la reacción de oxidación del yoduro a yodo es catalizada por la presencia de molibdato de amonio.

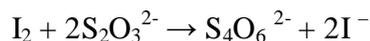
Las semi- reacciones son:



La reacción completa es:



La reacción de yodo con los iones tiosulfato es:



Para conocer la concentración de una solución madre de peróxido con una concentración teórica de aproximadamente 300g/L hay que hacer una dilución 1:500 y determinar mediante este método.

Para la determinación se introducen sucesivamente en un matraz Erlenmeyer:

- 0.162 g de KI
- 2 mL de una solución de H_2SO_4 1N,
- 50 mL de la solución a cuantificar,
- 0.1 g de molibdato de amonio.

El yodo se forma a partir de una solución de tiosulfato de sodio 0.1N, en presencia de tiodeno o de una solución de almidón como indicador. Para la determinación, hay que titular con la solución de tiosulfato hasta que el color castaño de la mezcla contenida en el matraz cambie a color amarillo pálido. En ese momento hay que adicionar con la espátula una pequeña cantidad de tiodeno o 1 mL del indicador de almidón; la mezcla tomará una coloración azul intenso y se continúa titulado hasta que el color azul desaparezca.

La concentración de peróxido se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] \text{ (mg/L)} = (V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} * N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} * 34) / (VE * 2)$$

Donde:

$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ = Volumen de solución titulante (L)

$N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ = Normalidad de la solución titulante (0.1 mol/L)

34 = Peso molecular del H_2O_2

VE = Volumen total de muestra (L)

2. Preparación de solución de almidón como indicador (Estandar Methods)

Para 5g de almidón, adicionar una pequeña cantidad de agua fría y triturar en el mortero hasta obtener una pasta suave. Poner en un matraz de 1L con agua destilada hirviendo, agitar y dejar que sedimente durante toda la noche. Se utiliza el sobrenadante. Conservar con 1.25g de ácido salicílico, 4g de cloruro de zinc o con una combinación de 4g de propionato de sodio y 2g de azida de sodio por litro de solución de almidón.

3. Determinación de las concentraciones inicial y residual de soluciones de peróxido de hidrógeno.

Una vez confirmada la concentración de la solución madre de peróxido de hidrógeno, el siguiente procedimiento se utiliza para determinar la concentración de soluciones de peróxido que se adicionan al inicio del experimento, así como la concentración residual al final del mismo.

Método colorimétrico: ($6 \cdot 10^{-5} \text{ m} < \text{concentración} < 10^{-3} \text{ m} = 2.04 < \text{concentración} < 34 \text{ mg/l}$)

El principio de este método es la medida espectrofotométrica de un complejo formado por la reacción selectiva de los iones Ti(V) con el peróxido de hidrógeno en medio ácido (Eisenberg, 1943).



La medición se realiza en un matraz aforado de 10 mL con un contenido de 0.5 mL de una solución de $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ la cual se completa hasta la línea de aforo con la solución a medir. Después de la homogeneización de la mezcla se forma un complejo color amarillo que es estable por seis horas a la oscuridad. Para hacer la determinación se prepara un blanco con agua destilada. La medición de la densidad óptica a 410 nm se realiza en un espectrofotómetro con cubetas de 1cm de trayectoria óptica. Las concentraciones de H_2O_2 son calculadas como sigue:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] \text{ (mg/L)} = (\Delta\text{D.O.}_{410\text{nm}} \text{VT } 34) / \epsilon \text{VE}$$

Donde:

$\Delta\text{DO}_{410\text{nm}}$ = (densidad óptica de la muestra - densidad del banco) a 410 nm

VT = volumen total de mezcla (10 mL)

ϵ = coeficiente de extinción molar ($790.32 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

VE = volumen de muestra dosificado

Otra forma de determinar la concentración de peróxido y el coeficiente de extinción molar es mediante una curva de calibración de la siguiente manera:

Preparar muestras de H_2O_2 de concentraciones conocidas: 0.5, 1, 2, 2.5, 5, 10, 20, 30 y 40 mg/L.

En un matraz aforado de 10 mL, agregar 0.5 mL de sulfato de titanio en y llenar hasta la marca del aforo con la solución de peróxido de hidrógeno.

Preparar un matraz con 0.5 mL de sulfato de titanio y llenar con agua destilada a fin de usarlo como blanco.

Medir la absorbancia a la longitud de onda máxima ($\lambda=410 \text{ nm}$) para las distintas concentraciones.

Construir una curva de calibración Absorbancia vs Concentración.

Las soluciones anteriores deben prepararse a partir de una solución de H_2O_2 de la cual se conoce perfectamente la concentración o con una solución de H_2O_2 normalizada con permanganato de potasio (patrón secundario), la cual debe normalizarse con oxalato de

sodio (patrón primario). (ASTM, Designation: E 200-86, Preparation, standardization and storage of standard solutions for chemical analysis).

Se recomienda que las soluciones de peróxido de hidrógeno a adicionar en el experimento se preparen el mismo día para evitar su degradación.

4. Preparación del sulfato de titanio (TiSO_4) para la determinación del peróxido de hidrógeno

Pesar 1 g de TiO_2 y disolver en 100 mL de H_2SO_4 concentrado.

Dejar en digestión a 180°C durante 72 h para la disolución total.

Ya disuelto el TiO_2 , dejar enfriar.

Aforar la solución obtenida a 500 mL con agua destilada. (Agregar lentamente el agua – reacción exotérmica -)

Filtrar con fibra de vidrio de ser necesario. Lavar previamente la fibra de vidrio con agua destilada

5. Determinación de la concentración de hierro en solución

Para determinar la concentración de hierro en la solución que se adiciona al inicio del experimento, así como la concentración residual al final del mismo, se utilizó un método colorimétrico Ferrospectral® de Merck en donde el hierro reacciona sólo en forma iónica divalente. Esto se consigue por la adición de un reactivo que contiene tioglicolato amónico (Fe-AN), el cual mineraliza complejos de hierro débiles y reduce hierro (III), mostrando una coloración violeta azulado. Al mismo tiempo sirve como tampón de pH.

La reacción de color no muestra prácticamente ninguna influencia de la temperatura.

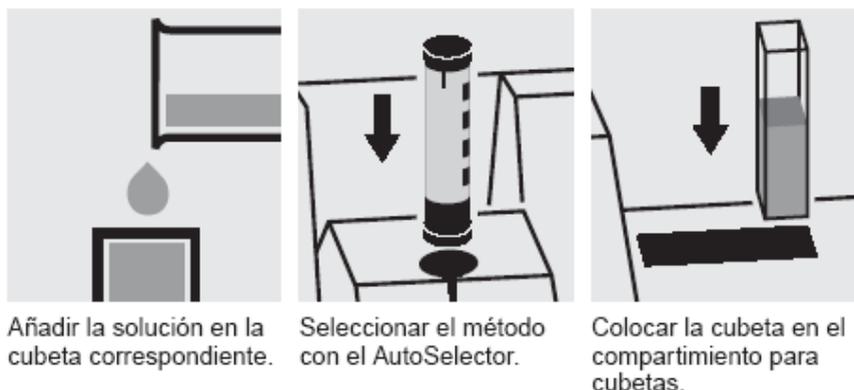
Intervalo de medida: 0.010 – 5.0 mg/L en cubeta de 10 mm

El procedimiento es el siguiente:

- 1) Tomar 10 ó 20 mL de la muestra a analizar.
- 2) Adicionar 5 gotas de Fe:AN y mezclar.
- 3) Esperar a que reaccione durante 3 minutos.
- 4) Medir frente a la muestra en blanco a 565 nm

Tratándose de cubetas rectangulares, se prepara la muestra primero en tubos de ensayo, mientras que en el caso de cubetas frasco y redondas se hace la mezcla directamente en éstas, comprobando que el volumen de muestra es suficiente para cubrir el camino de los rayos del fotómetro.

La medición se hace en el espectrofotómetro Nova-60 introduciendo el tubo autoselector de acuerdo al esquema abajo mostrado. La lectura se da directamente en mg/L de Fe.



Estabilidad con el tiempo: Si el hierro está presente en forma ionógena, el complejo de color prácticamente se desarrolla inmediatamente después de la adición de reactivos, y al cabo de 10 horas, disminuye solamente en un 1%, ya que el ácido tioglicólico solo disgrega lentamente el hierro hidrolizado. En la práctica se utilizan tiempos estándar de 3 a 30 minutos. Un aumento del color creciente indica siempre hierro en esta forma.

6. Determinación de la concentración de cobre en solución

La determinación del ion cobre se realiza empleando una técnica colorimétrica utilizando un Kit Spectroquant de cobre marca Merck. (mide la cantidad de iones de Cu. con un intervalo de medición de 0.02-6.00 mg/L de Cu) El material y técnica se describen a continuación:

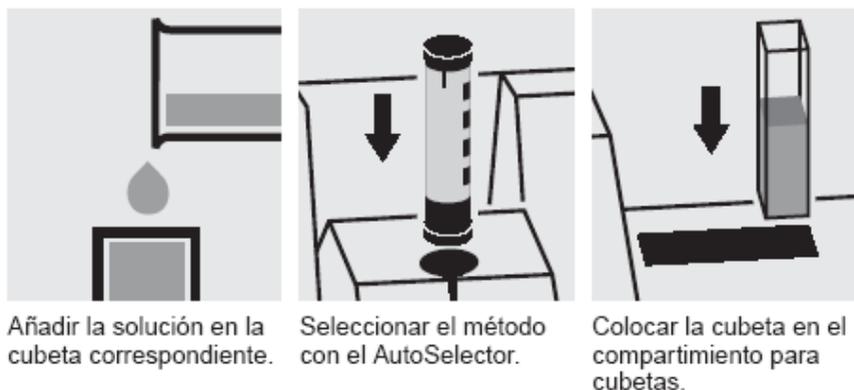
Material:

- Kit de determinación de cobre
 - a. Reactivo 1 Cu 1.
 - b. Reactivo 2 Cu 2.
- Equipo Espectroquant NOVA 60 marca Merck.

Técnica:

1. Tomar 5.0 mL de la muestra en un tubo de ensayo.
2. Añadir 1 cuchara de medición de Cu-1 y disolver la sustancia sólida.
3. Comprobar el rango específico de pH: 7.0-9.5.
4. De ser necesario añadir solución de hidróxido de sodio diluido o ácido sulfúrico gota a gota para ajustar el pH.
5. Agregar 5 gotas de Cu-2 y mezclar.
6. Tiempo de reacción de 5 minutos.
7. Transferencia de la solución en una celda.
8. Seleccionar método.
9. Colocar celda en el compartimento del fotómetro y tomar medición.

La medición se hace en el espectrofotómetro Nova-60 introduciendo el tubo autoselector de acuerdo al esquema abajo mostrado. La lectura se da directamente en mg/L de Cu.



Anexo IV Pruebas de oxidación

a) Primera replica

INFLUENTE

Pruebas de oxidación de huevos de <i>Ascaris suum</i> , utilizando escoria de cobre como catalizador, vía reacción Fenton									
Experimentos	HH v B1	HH nv B1	Total	% viabilidad 1	HH v B2	HH nv B2	Total	% viabilidad 2	% v inicial
1	95.00	10.00	105.00	90.47	94.00	8.00	102.00	92.15	91.30
2	95.00	13.00	108.00	87.96	94.00	13.00	107.00	87.85	87.90
3	92.00	10.00	102.00	90.19	92.00	9.00	101.00	91.08	90.64
4	89.00	12.00	101.00	88.11	89.00	11.00	100.00	89.00	88.55
5	87.00	10.00	97.00	89.69	89.00	9.00	98.00	90.81	90.25
6	90.00	10.00	100.00	90.00	89.00	10.00	99.00	89.89	89.94
7	97.00	10.00	103.00	90.17	96.00	10.00	102.00	90.11	90.61
8	88.00	11.00	99.00	88.89	87.00	11.00	98.00	88.77	88.83
9	86.00	11.00	97.00	88.65	86.00	8.00	94.00	91.48	90.05
10	89.00	8.00	97.00	91.75	89.00	10.00	99.00	89.89	90.81
11	90.00	15.00	105.00	85.71	91.00	12.00	103.00	88.34	87.01
12	83.00	12.00	100.00	88.00	82.00	13.00	95.00	86.31	86.84
13	92.00	12.00	104.00	88.46	88.00	10.00	98.00	89.79	89.42
14	89.00	10.00	99.00	89.89	86.00	12.00	98.00	87.75	88.83
15	87.00	10.00	97.00	89.69	86.00	10.00	96.00	89.58	89.63
16	88.00	13.00	101.00	87.12	88.00	12.00	100.00	88.00	87.56
Promedio			100.93	89.04			99.37	89.42	89.26

EFLUENTE

Pruebas de oxidación de huevos de <i>Ascaris suum</i> , utilizando escoria de cobre como catalizador, vía reacción Fenton										
Experimentos	HH v P1	HH nv P1	Total	% viabilidad P 1	% de inactivación P1	HH v P2	HH nv P2	Total	% viabilidad P2	% de inactivación P2
1	52.00	61.00	113.00	46.83	41.80	36.00	62.00	111.00	45.23	41.72
2	80.00	13.00	93.00	86.02	2.28	81.00	14.00	95.00	85.26	2.29
3	24.00	86.00	110.00	21.81	75.38	25.00	86.00	111.00	22.52	74.37
4	88.00	15.00	104.00	84.61	2.90	85.00	13.00	98.00	82.13	2.93
5	56.00	45.00	101.00	55.44	35.74	55.00	44.00	99.00	55.55	35.73
6	79.00	15.00	94.00	84.02	4.34	78.00	14.00	92.00	84.78	4.33
7	44.00	66.00	110.00	40.00	54.99	40.00	63.00	103.00	38.83	55.82
8	80.00	16.00	96.00	83.00	5.02	81.00	16.00	97.00	83.50	5.05
9	33.00	76.00	109.00	30.27	65.55	33.00	75.00	108.00	30.25	65.54
10	77.00	13.00	90.00	85.55	2.67	78.00	13.00	91.00	85.71	2.49
11	10.00	93.00	103.00	9.70	88.87	10.00	93.00	103.00	9.70	88.87
12	79.00	14.00	93.00	84.94	3.19	79.00	14.00	93.00	84.94	3.19
13	33.00	65.00	101.00	35.64	59.55	37.00	65.00	102.00	36.27	58.73
14	80.00	15.00	95.00	84.21	4.98	80.00	15.00	95.00	84.21	4.98
15	35.00	72.00	107.00	32.71	62.86	35.00	73.00	108.00	32.70	62.87
16	78.00	15.00	93.00	83.87	5.54	78.00	15.00	93.00	83.87	5.54
Promedio			100.93					99.93		

EFLUENTE

HH v P3	HH nv P3	Total	% viabilidad P 3	% de inactivación P3	% viabilidad final	% de inactivación final
54.00	59.00	113.00	44.02	41.72	45.36	41.70
80.00	14.00	94.00	85.10	2.28	85.46	2.28
25.00	88.00	113.00	22.82	75.40	22.38	75.40
87.00	13.00	100.00	83.00	2.95	83.24	2.94
57.00	44.00	101.00	56.43	35.75	55.80	35.75
80.00	15.00	95.00	84.21	4.30	84.33	4.33
39.00	62.00	101.00	38.61	55.19	39.14	55.21
79.00	16.00	95.00	83.15	5.04	83.21	5.02
33.00	77.00	110.00	34.39	65.61	31.63	65.61
78.00	14.00	92.00	85.70	2.47	85.65	2.47
10.00	92.00	102.00	9.80	88.84	9.73	88.86
80.00	14.00	94.00	85.10	3.18	84.99	3.18
37.00	67.00	104.00	35.57	59.56	35.82	59.56
80.00	16.00	96.00	83.33	5.02	83.91	4.98
34.00	73.00	107.00	31.77	62.88	32.39	62.88
78.00	11.00	94.00	82.97	5.56	83.57	5.52
		100.68				

b) Segunda replica

INFLUENTE

Pruebas de oxidación de huevos de <i>Ascaris suum</i> , utilizando escoria de cobre como catalizador, vía reacción Fenton									
Experimentos	HH v B1	HH nv B1	Total	% viabilidad 1	HH v B2	HH nv B2	Total	% viabilidad 2	% v inicial
1	95.00	10.00	105.00	90.47	95.00	8.00	103.00	92.23	91.35
2	93.00	13.00	106.00	87.73	94.00	13.00	107.00	87.85	87.79
3	90.00	10.00	100.00	90.00	92.00	9.00	101.00	91.08	90.54
4	90.00	12.00	102.00	88.23	89.00	11.00	100.00	89.00	88.61
5	87.00	10.00	97.00	89.69	91.00	12.00	103.00	88.34	89.01
6	90.00	10.00	100.00	90.00	89.00	10.00	99.00	89.89	89.94
7	97.00	11.00	108.00	89.81	96.00	10.00	102.00	90.11	89.96
8	89.00	11.00	100.00	89.00	85.00	1.00	98.00	88.77	88.88
9	86.00	11.00	97.00	88.65	86.00	80.00	95.00	89.47	89.86
10	89.00	8.00	97.00	91.75	88.00	10.00	98.00	89.79	90.77
11	90.00	10.00	100.00	90.00	91.00	11.00	102.00	89.21	89.60
12	85.00	12.00	97.00	87.62	82.00	13.00	92.00	89.13	88.37
13	88.00	10.00	98.00	89.79	89.00	11.00	100.00	89.00	89.39
14	90.00	10.00	100.00	90.00	87.00	10.00	97.00	89.69	89.84
15	89.00	10.00	99.00	89.89	86.00	10.00	96.00	89.58	89.73
16	88.00	13.00	101.00	87.12	90.00	10.00	100.00	90.00	88.56
Promedio			100.43	89.35			99.87	89.48	89.31

EFLUENTE

Pruebas de oxidación de huevos de <i>Ascaris suum</i> , utilizando escoria de cobre como catalizador , vía reacción Fenton										
Experimentos	HH v P1	HH nv P1	Total	% viabilidad P 1	% de inactivación P1	HH v P2	HH nv P2	Total	% viabilidad P2	% de inactivación P2
1	51.00	59.00	110.00	46.53	41.80	35.00	62.00	97.00	40.83	4.72
2	80.00	15.00	95.00	85.82	2.28	81.00	13.00	94.00	85.25	2.27
3	25.00	85.00	110.00	21.80	75.38	25.00	87.00	112.00	22.54	74.37
4	87.00	12.00	99.00	84.58	2.91	84.00	12.00	96.00	82.10	2.93
5	54.00	47.00	101.00	55.46	35.76	54.00	45.00	99.00	55.56	35.73
6	79.00	15.00	94.00	84.02	4.34	79.00	13.00	92.00	84.77	4.33
7	42.00	68.00	110.00	40.03	55.01	40.00	62.00	102.00	38.80	55.82
8	80.00	14.00	94.00	80.00	5.00	81.00	15.00	96.00	83.48	5.05
9	32.00	75.00	107.00	30.24	65.53	32.00	74.00	106.00	30.22	65.54
10	87.00	10.00	97.00	85.50	2.62	79.00	14.00	91.00	85.71	2.49
11	11.00	96.00	107.00	9.00	88.88	10.00	95.00	105.00	9.70	88.87
12	78.00	13.00	91.00	84.91	3.18	79.00	15.00	94.00	84.95	3.19
13	35.00	63.00	101.00	35.64	59.55	38.00	65.00	103.00	36.28	58.73
14	80.00	14.00	94.00	84.20	4.96	80.00	15.00	95.00	84.21	4.97
15	34.00	71.00	105.00	32.69	62.85	35.00	73.00	108.00	32.70	62.87
16	77.00	17.00	95.00	83.89	5.56	78.00	15.00	93.00	83.87	5.54
Promedio			100.90					99.96		

Continuación

EFLUENTE

HH v P3	HH nv P3	Total	% viabilidad P 3	% de inactivación P3	% viabilidad final	% de inactivación final
55.00	57.00	111.00	43.49	41.69	45.34	41.70
79.00	14.00	93.00	85.09	2.26	85.44	2.28
26.00	86.00	111.00	22.80	75.38	22.3	75.40
87.00	12.00	99.00	82.89	2.93	83.36	2.94
57.00	46.00	103.00	56.45	35.77	55.79	35.75
79.00	17.00	97.00	84.23	4.33	84.32	4.33
40.00	62.00	102.00	38.60	55.17	39.12	55.21
80.00	15.00	95.00	83.15	5.04	83.19	5.02
32.00	77.00	109.00	34.38	65.60	31.62	65.61
78.00	13.00	91.00	85.69	2.47	85.63	2.47
9.00	94.00	103.00	9.60	88.88	9.73	88.88
80.00	16.00	96.00	85.12	3.20	84.97	3.17
39.00	67.00	106.00	35.59	59.58	35.80	59.58
80.00	18.00	98.00	83.35	5.12	83.89	5.00
34.00	71.00	105.00	31.75	62.86	32.37	62.89
78.00	13.00	96.00	82.99	5.57	83.52	5.50
		100.70				

Anexo V Determinación de la viabilidad de huevos de helmintos por incubación

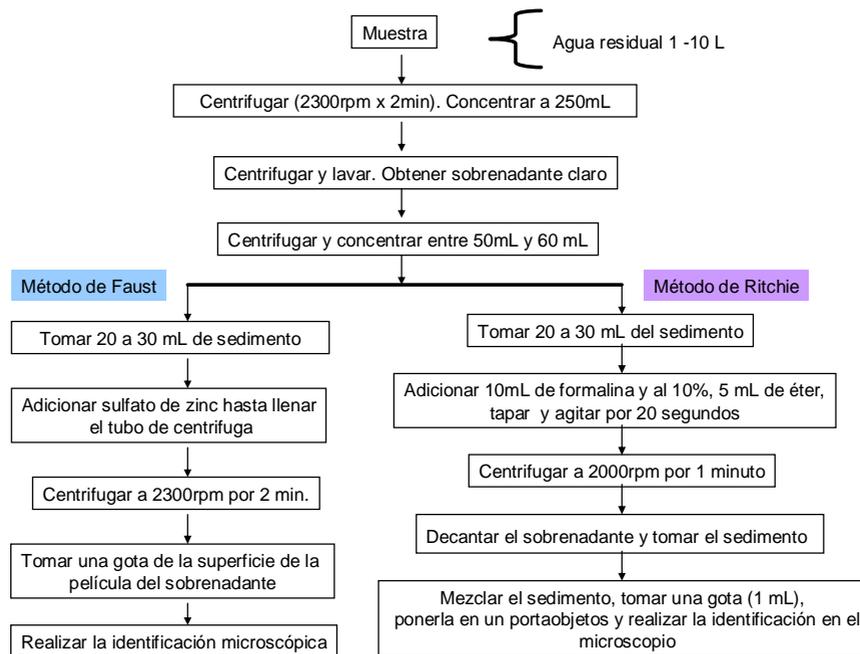
Esta técnica se ha utilizado para *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum*, *Trichuris spp.*, *Toxocara spp.* *E Hymenolepis diminuta*.

Procedimiento:

- Preparar agar bacteriológico al 2%, vaciarlo en una caja de Petri de 15cm de diámetro y permitir que solidifique (en condiciones asépticas). Añadir una cantidad conocida de huevos de helmintos (utilizar la suspensión stock). Esparcir bien la suspensión de huevos sobre la superficie del agar.
- Colocar la caja sin tapa sobre la platina del microscopio y observar con el objetivo 10X, empezando en un punto dado (marcarlo con plumón por el reverso de la caja) y recorriendo la totalidad de la superficie de izquierda a derecha y de derecha a izquierda.
- Observar las etapas de desarrollo en que se encuentran los huevos y anotar el número de huevos fértiles y no fértiles de cada etapa. En el caso de suspensiones frescas, la mayoría de los huevos fértiles estarán en etapa de una o dos células. Esta será la primera lectura. Tapar la caja y guardarla en una gaveta, en donde la temperatura sea de alrededor de 25°C.
- Hacer observaciones cada siete días, a completar 4 semanas, iniciando las lecturas siempre en el mismo punto, y anotando el número de huevos en las diferentes etapas del desarrollo embrionario (4-16 células, mórula-blástula, gástrula, larva).
- Para el recuento final, sólo se tomarán en cuenta como viables los huevos que hayan eclosionado. Reportar la viabilidad en por ciento.

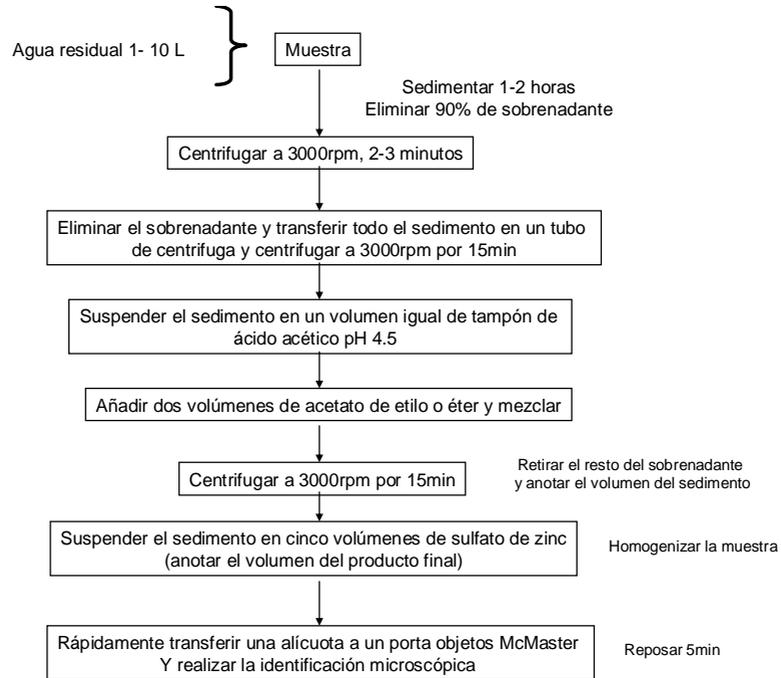
Anexo VI Técnicas analíticas para identificar y cuantificar parásitos en agua

a) Método de concentración



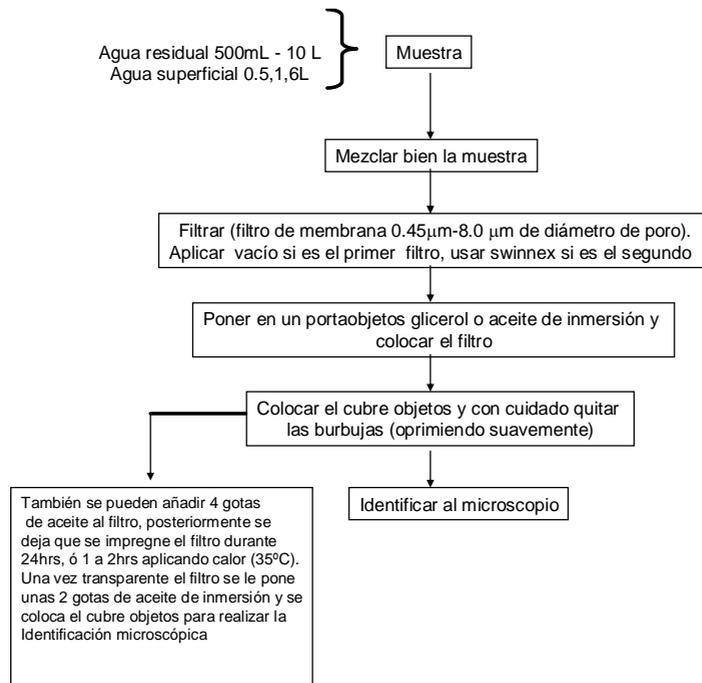
- Vargas, Carmen. Métodos simplificados de aguas residuales, CEPIS. 1983.
- Recomendado para quistes de protozoarios, huevos de nemátodos y algunos huevos de céstodos

b) Método de Bailenger Modificado



- Rachel M. Ayres y Duncan Mora. Análisis de aguas residuales para su uso en agricultura. Manual de técnicas parasitológicas y bacteriológicas de laboratorio. 1997
- Recomendado para huevos de helminto

c) Método filtración por membrana



- Standard methods for the examination of water and wastewater. 1995
- Recomendado para el estudio de algas, protozoarios y huevos de helminto