

CRITERIOS ANALITICOS DE LA POLUCION BIODEGRADABILIDAD - TOXICIDAD

por **G. Roos**

1. INTRODUCCION

La polución cualquiera que sea su origen, su naturaleza y su importancia, tiene como consecuencia una modificación más o menos importante del medio receptor.

El nivel crítico se ha conseguido ya, puesto que el vertido de las sustancias polucionantes ha llegado a una concentración tal que los microorganismos presentes en el medio receptor no pueden asegurar ya bastante rápidamente la auto-depuración natural.

De ello resulta un cambio de las condiciones de vida de los organismos presentes en el agua, incluso su destrucción completa.

Así pues, al mismo tiempo, mientras las reservas en agua de calidad se agotan, las necesidades tanto domésticas como industriales crecen sin cesar.

Es innegable que existe un problema del agua. Y esto ha conducido a la institución en casi todos los países industrializados, de leyes, de disposiciones, y de organismos administrativos y científicos especializados, con vistas a coordinar todas las acciones que tengan por efecto, la alimentación y las tomas de agua, la eliminación de aguas residuales y su depuración.

La evaluación de las modificaciones químicas y biológicas de un curso de agua, justifica pues el análisis de los manantiales y en particular la determinación de la carga polucionante.

El análisis interviene como medio de evaluación de una carga polucionante, pero hace falta aún, cuando se hace el cálculo de esta carga polucionante, cumplir tres condiciones primordiales:

- Conocimiento del caudal del manantial.
- Toma de muestras representativa.
- Parámetro representativo de la polución.

Y es este último punto el que es delicado, pues de hecho, en cada industria, existen poluciones bien específicas.

Lo interesante sería poder tener unos criterios globales que hicieran abstracción de estos criterios específicos, y que permitiesen unas comparaciones de carga polucionante incluso en el caso que los manantiales sean de origen distinto.

Existen de hecho tres grupos de polucionantes:

- Las materias orgánicas que necesitan oxígeno para su metabolización (conjunto de transformaciones) por los microorganismos.
- Las sustancias tóxicas, ya sean orgánicas o minerales.
- Las materias en suspensión.

2. CRITERIOS ANALITICOS

Los criterios más utilizados actualmente para definir una polución son:

- Las materias en suspensión (MeS).
- La demanda química en oxígeno (DCO).
- La demanda bioquímica en oxígeno (DBO).

2.1. Materias en suspensión

Las materias en suspensión pueden ser de naturaleza diversa: arena, arcilla, desperdicios de fibras, sustancias coloidales, materias grasas emulsionadas, etc.

Esta diversidad explica la existencia de una fracción mineral y de una fracción orgánica que tienen efectos diferentes sobre el medio receptor.

En primer lugar una acción mecánica debida a la suspensión: formación de sedimentos, aumento de la turbidez del agua que impide la penetración de los rayos luminosos y, debido a esto, la disminución del poder autodepurador como consecuencia de la disminución de la actividad fotoquímica.

Seguidamente una acción puramente química, debido a que las materias orgánicas necesitan oxígeno para su metabolización.

Las materias en suspensión sedimentadas constituyen una reserva de polución considerable. Los fangos, por ejemplo, son la base de una intensa actividad anaerobia produciendo compuestos muy ávidos de oxígeno como los sulfuros.

Una simple agitación de estos fangos puede conducir debido a la liberación de estos productos, a una importante demanda química de oxígeno.

La distinta naturaleza de las materias en suspensión supone un problema muy complejo para el analista.

Esto explica las dificultades encontradas para fijar las modalidades de un método universal.

Como consecuencia de las observaciones de los analistas de los numerosos ensayos interlaboratorios sobre diferentes tipos de aguas residuales, el anteproyecto de Norma establecido por la Asociación Francesa de Normalización deja la elección entre dos técnicas de determinación.

Una de estas técnicas es la centrifugación, la otra la filtración bajo depresión. Este último método es el que deberá escogerse cada vez que la naturaleza del líquido residual a analizar lo permita.

2.1.1. Método por filtración

Las materias en suspensión son separadas por filtración bajo depresión sobre una membrana filtrante de fibra de vidrio.

Las membranas filtrantes deben responder a ciertas características. Actualmente utilizamos membranas que poseen las características siguientes:

- porosidad al aire 109;
- índice de desgarró 32.

Los prefiltros milíporos AP 200 - 4700 responden a estas características.

El diámetro de los poros varía de 5 a 40 micras.

Las ventajas de este método residen en su facilidad de puesta a punto, el empleo de un equipo simple y barato y la obtención de resultados cuyo intervalo de confianza está entre $\pm 5\%$ en valor relativo.

Bien que aplicable en la mayoría de los casos este método desgraciadamente no es universal.

Si uno trata de filtrar aguas residuales muy cargadas en materias coloidales o en grasas emulsionadas las membranas se obstruyen muy rápidamente y la filtración exige tiempos excesivamente largos.

En este caso, es aconsejable el método por centrifugación.

2.1.2. *Métodos por centrifugación*

Para este método, además del material corriente de laboratorio, es necesario poseer una centrifugadora capaz de producir una aceleración de 3.000 g.

La muestra a analizar se somete durante 20 minutos a esta aceleración. El residuo de centrifugación se recupera en una cápsula tarada que se seca a peso constante.

Aparte de que el equipo de centrifugación representa un gasto importante, el intervalo de confianza es mayor que en el método por filtración y puede llegar a un 10 % en valor relativo.

En este método, es evidente que la separación no es nunca completa, pero además cuando existe presencia de materias de densidad inferior a 1, grasas por ejemplo, una parte de ellas se encuentran sobrenadando y la otra parte son absorbidas sobre las materias en suspensión de densidad inferior a 1 y se encuentran en el fondo.

2.1.3. *Materias orgánicas y minerales*

La diferenciación entre sustancias minerales y orgánicas se hace por combustión a 550°C. Esta definición de hecho, es arbitraria y, aunque tiene una base científica, no se puede considerar en todos los casos cada fracción como bien definida.

Medidas efectuadas mediante termobalanza con barros que procedían de una maqueta alimentada con agua residual urbana muestran una pérdida muy rápida hasta los 105°C que corresponden a la deshidratación casi total de la muestra (pérdida del 93 % de la masa inicial). Por programación, la temperatura se ha elevado a 230°C en 1 hora 30 minutos. La pérdida regular era del 6 % entre 105 y 230° (fig. 1).

Seguidamente la muestra se ha calentado hasta 850°C; la pérdida correspondiente era regular, sin estabilización de masa visible.

En realidad, el barro se seca hasta los 105°C muy rápidamente hasta 300°C la pérdida es aún apreciable, seguidamente ésta es más débil y baja regularmente.

Los ensayos son poco numerosos para buscar la explicación a la ruptura de la pendiente a 250°C - 300°C.

La temperatura de 550° utilizada por todos los analistas que trabajan sobre aguas residuales puede explicarse por la descomposición total de las materias orgánicas, mientras que los carbonatos alcalino-térreos no se descomponen aún y los compuestos tipo arcilla no están totalmente deshidratados.

La elección de esta temperatura es, pues, un compromiso muy aceptable.

Alguna vez se ha hablado de valorar las materias minerales por el residuo sulfatado a 800°C. Esta medida es, en efecto, más reproducible que la obtenida por calcinación a 550°C, pero tiene el inconveniente de sobreestimar la carga mineral por aporte de iones «sulfato» a compuestos minerales que no llevaban incluidos, de donde se deduce una interpretación errónea.

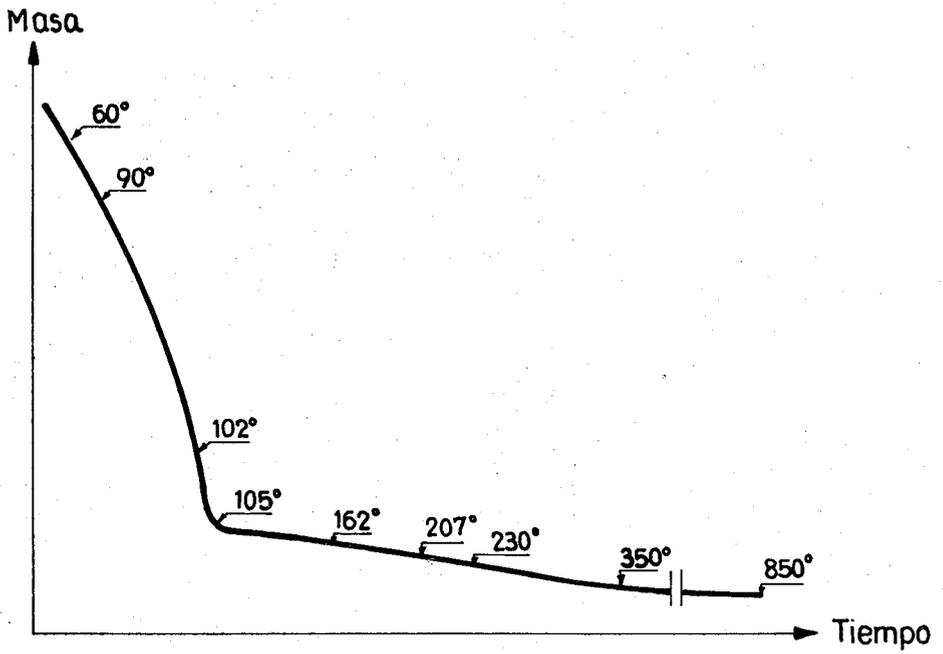


Figura 1a

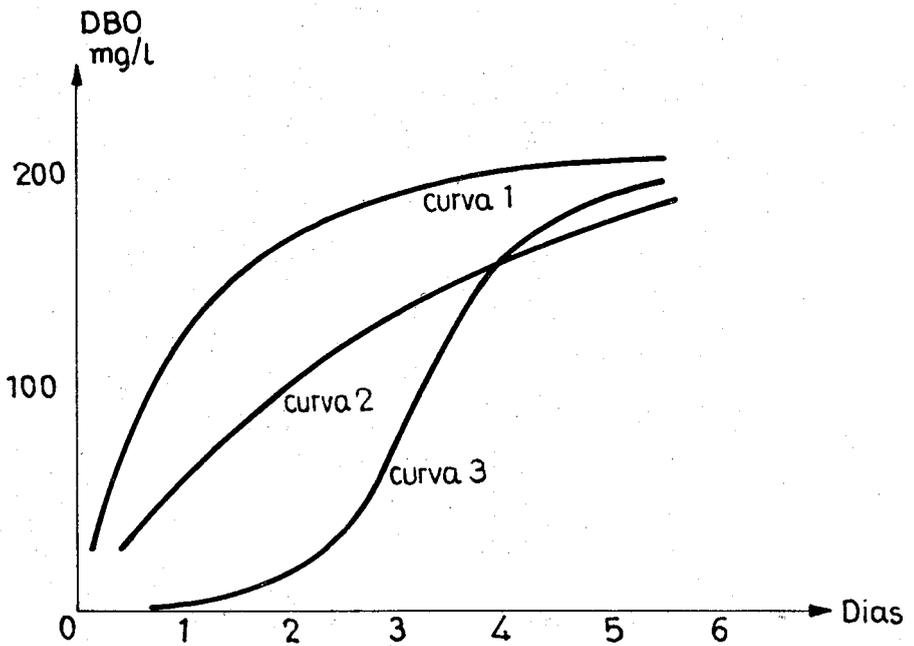


Figura 2a

Actualmente prosiguen los ensayos que pretenden determinar las materias minerales y orgánicas directamente por calcinación de las materias en suspensión de la membrana en fibra de vidrio.

Con ciertas membranas, esto es posible bajo reserva de una ligera corrección debida a una pérdida de masa del orden de 3 a 4 % de la membrana de calcinación.

2.2. La demanda química en oxígeno (DCO)

La medida de la DCO (demanda química de oxígeno) determina la cantidad de oxígeno necesaria para la descomposición de las sustancias reductoras contenidas en la muestra.

Esta definición viene a considerar la DCO como la resultante de diversas reacciones de oxidación-reducción. Así aparece el punto débil de esta medida: a igual muestra, los resultados variarán según la naturaleza del oxidante y las condiciones operatorias.

Durante varios años se han experimentado diversos oxidantes. Actualmente la Asociación Francesa de Normalización ha adoptado para la determinación de la DCO (NF T.90.101) el método del dicromato potásico. Técnicamente, la medida consiste en hacer actuar un exceso conocido de dicromato potásico en medio ácido sobre la muestra, después dosificar por medio de la sal de Mohr el exceso de dicromato potásico.

Esta oxidación es enérgica y se puede considerar que del 90 al 95 % del potencial oxidable se destruye.

La tabla I da para algunos compuestos, la cantidad teórica de oxígeno necesario para su oxidación y la cantidad realmente consumida durante su oxidación por el dicromato potásico en medio ácido.

TABLA I

<i>Sustancia orgánica</i>	<i>Oxígeno teóricamente necesario en mg/g</i>	<i>Oxígeno realmente consumido</i>
Glucosa	1060	1150
Sacarosa	1120	1111
Vanilina	1790	1700
Fenol	2380	2346

Los resultados muestran pues que el dicromato potásico permite una oxidación casi completa de los constituyentes orgánicos.

Pero volvamos, si Uds. lo desean, con más precisión sobre la forma de determinar la DCO.

El volumen de la toma para ensayo es en general de 50 ml; cuando la muestra tiene una DCO superior a 800 mg de oxígeno por litro, se procede a una dilución con agua destilada antes de sacar la toma para ensayo.

Se añade sulfato mercúrico a razón de 1 g por toma de ensayo, con el fin de enmascarar, aunque incompletamente, los cloruros. El sulfato mercúrico y los cloruros se combinan para dar el cloruro mercúrico estable y muy poco oxidable. En estas condiciones un contenido máximo de 2 a 3 g por litro de cloruro sódico es tolerable. No obstante, no se puede evitar la oxidación de los yoduros y de los bromuros.

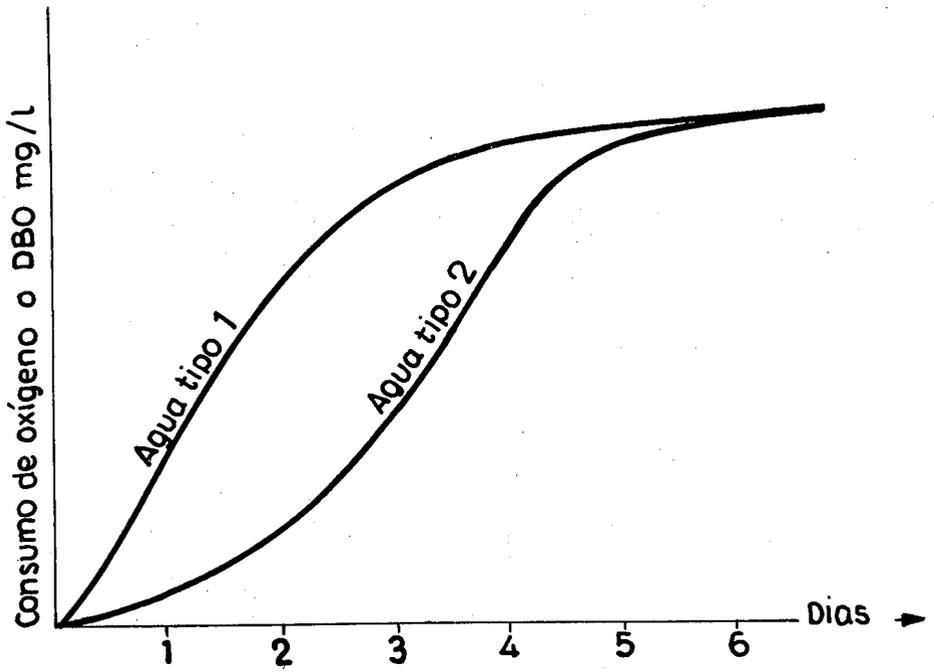


Figura 3a

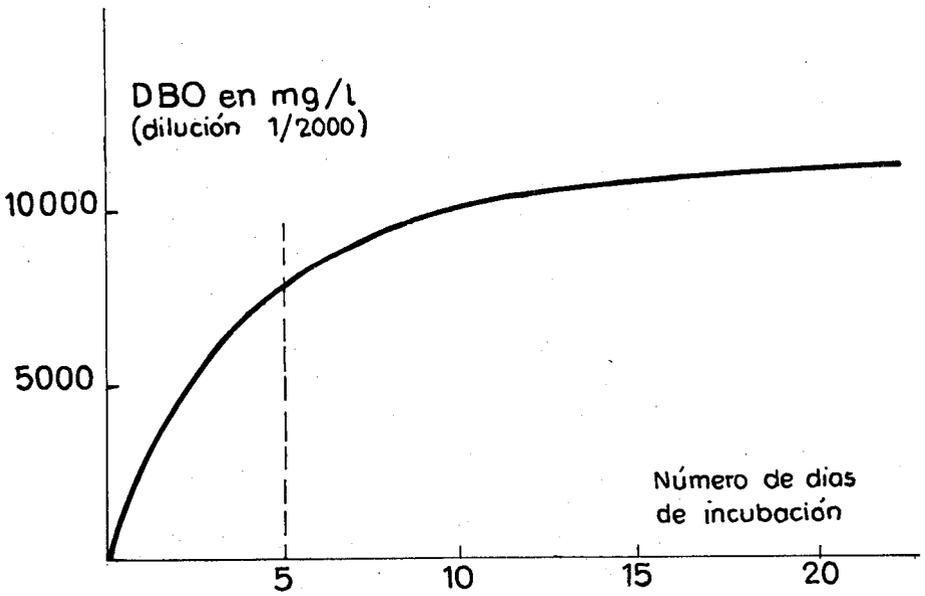


Figura 4a

A fin de asegurar una mejor oxidación de algunas sustancias orgánicas (alcoholes alifáticos ramificados y derivados de hidrocarburos aromáticos), es necesario añadir una sal de plata que hace el efecto de catalizador.

Esta sal de plata se añade bajo forma de sulfato de plata disuelta antes en ácido sulfúrico a razón de 6,6 g/litro.

La cantidad de ácido sulfúrico por ensayo es de 75 ml.

De esta forma, se tiene siempre una relación $\frac{\text{ácido}}{\text{agua}}$ igual a 1.

(75 cc de SO_4H_2 para 75 cc de agua — 50 cc de toma de ensayo + 25 cc de dicromato potásico.)

Añadamos aún que la oxidación se efectúa durante dos horas a ebullición debajo de refrigerante de reflujo.

Este método conduce a resultados de una reproductibilidad y de una repetibilidad muy satisfactorios.

La rapidez de medida es otra ventaja muy apreciada. Se pueden obtener los resultados a las 3-4 horas de la llegada de la muestra al laboratorio.

2.3. La demanda biológica en oxígeno (DBO)

Durante esta determinación, se asiste a diversas reacciones fisicoquímicas y biológicas que se traducen en una metabolización parcial de las materias orgánicas y un consumo de oxígeno.

A fin de mejor comprender la significación de este test, consideraremos las diversas reacciones que sufre un agua polucionada cuando se pone en contacto con microorganismos, oxígeno y la luz.

Si el agua contiene importantes cantidades de sustancias fuertemente reductoras (ya sean minerales u orgánicas), éstas absorben rápidamente el oxígeno aportado por el agua. Esta demanda puede ser satisfecha desde los primeros minutos, lo que corresponde a una «demanda inmediata» cuyas repercusiones se manifiestan desde el momento en que se arrojan aguas residuales a un curso de agua.

Una vez se termina esta fase, si el contacto se prolonga entre el agua residual y el agua saturada en oxígeno dos reacciones ligadas de oxidación pueden intervenir.

— Bajo el efecto del oxígeno disuelto, se produce una oxidación lenta por vía química de los compuestos minerales y orgánicos.

— Los microorganismos presentes aseguran la metabolización de las materias orgánicas asimilables en detrimento del oxígeno disuelto. De hecho, es este consumo el que representa la demanda bioquímica de oxígeno.

La DBO verdadera, imputable solamente a los microorganismos puede ser falseada por otros fenómenos, principalmente la actividad fotoquímica que puede producir oxígeno en el seno mismo de la muestra.

La DBO medida en laboratorio corresponde, pues, a la suma de la demanda biológica, más una demanda química parcial.

Parece igualmente evidente que para determinar en el laboratorio la demanda biológica en oxígeno es indispensable sembrar el medio reaccional con microorganismos.

Para el análisis de las aguas residuales urbanas, la naturaleza de estos microorganismos tiene poca importancia, puesto que estas aguas contienen materias orgánicas que son en general fácilmente asimilables.

En general, puesto que estas aguas residuales urbanas contienen cada vez más detergentes sintéticos y sustancias químicas que modifican la cinética de la evolución de laDBO.

Es por lo que se les llama también «agentes de superficie» o aun «tensio-activos».

La clasificación de los agentes de superficie se basa esencialmente en su disociación electrolítica. Así se distinguen según la naturaleza del grupo polar hidrófilo los agentes aniónicos, catiónicos y no iónicos.

La tabla 2 da para algunos países la distribución en porcentaje (aproximadamente) de los tipos de detergentes consumidos.

TABLA II

<i>Productos</i>	<i>U.S.A.</i>	<i>Francia</i>	<i>G.B.</i>	<i>Alemania P. Bajos</i>	<i>Bélgica</i>	<i>Suiza</i>
Aniónicos	67,2	93	92,3	80	84	87
No iónicos	29,8	7	7,2	15	15	13
Catiónicos	3	0	0,5	5	1	0

Hay que precisar, no obstante, que estas cifras datan de 1961.

No obstante, se puede observar que los detergentes catiónicos prácticamente no se utilizan, razón por la cual no serán mencionados de aquí en adelante.

3.2. Biodegradabilidad

¿Qué significa el término biodegradabilidad?

Se llama biodegradabilidad la aptitud de una materia orgánica a sufrir la biodegradación, es decir, la degradación de una materia orgánica bajo la acción de los microorganismos que viven en el medio receptor de esta materia.

Después de usados, los agentes de superficie entran en el ciclo volviendo a la tierra y al agua.

En efecto, estos productos después de utilizados, en general, no han sufrido modificaciones cuando se encuentran situados en un medio viviente.

Ya sean algas, bacterias, champiñones, etc., los microorganismos presentes en el medio receptor utilizarán los agentes de superficie como alimento.

Esta metabolización lleva consigo una demolición de las estructuras más complejas y constituye, pues, la biodegradación.

En principio es, pues, muy simple.

No obstante, las aguas naturales están polucionadas, de esto no hay ninguna duda. El efecto más visible ha sido la aparición de espuma, en cantidad algunas veces muy importante, sobre los ríos de numerosos países.

Parece sorprendente que después de diluidos en el río los detergentes sean aún capaces de producir tales efectos.

Esto hace suponer que escapan a la destrucción en la estación depuradora, cuando ésta existe, o a la destrucción biológica en la corriente de agua.

En resumen, ciertos detergentes no serían biodegradables.

3.3. Influencia de la estructura

En realidad, prácticamente todos los detergentes propuestos en el comercio pueden ser atacados por los microorganismos de los ríos y los barros de alcantarillas.

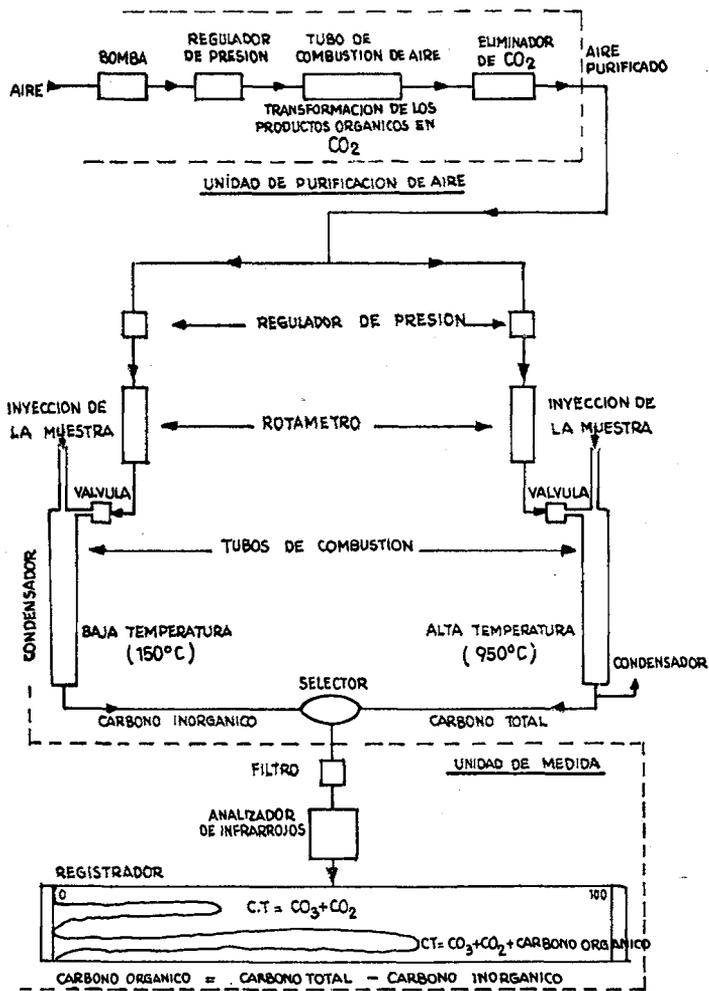


Figura 5a

Esta degradación depende de la duración de la estancia en las instalaciones de depuración. En consecuencia, un detergente calificado de «duro» (dificilmente biodegradable) pasará a través de una estación de depuración sin ser descompuesto, las bacterias de los cursos de agua no tendrán mucho más efecto.

Con los detergentes «dulces» en estación de depuración, la degradación es fácil. No obstante, en río, si las aguas están aireadas o ya polucionadas, se encuentran aún ciertas dificultades.

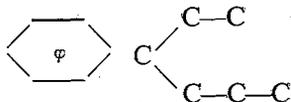
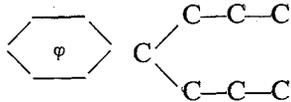
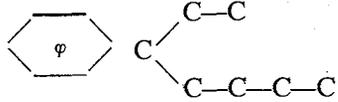
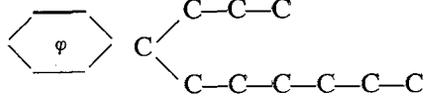
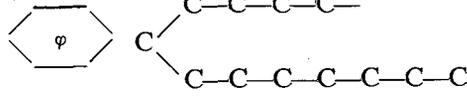
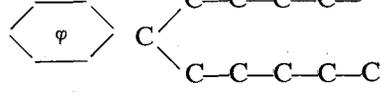
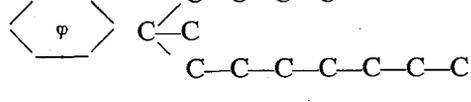
No se trata pues de buscar exclusivamente detergentes que se degraden, sino que se degraden rápidamente.

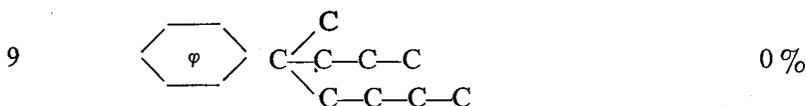
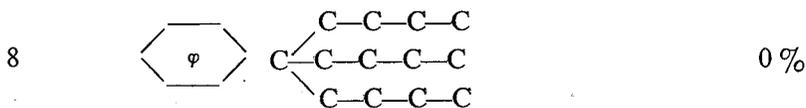
La biodegradación no está ligada directamente a la naturaleza aniónica, catiónica o no iónica de los detergentes, pero sí a la estructura de su molécula.

Si la cadena hidrocarbonada está ramificada la biodegradabilidad se retrasa considerablemente; incluso puede llegar a ser prácticamente nula cuando la cadena contiene un carbono terciario.

Una ramificación en extremo de cadena impide toda biodegradación.

Un ejemplo viene dado por la tabla que sigue para diversos tensioactivos del tipo alquil benceno sulfonado.

<u>Referencia</u>	<u>Representación esquemática</u>	<u>Oxidada en 7 días</u>
1		0 %
2		50 %
3		100 %
4		100 %
5		100 %
6		50 %
7		100 %



Se ve pues que son necesarios 5 carbones en línea por lo menos (3-4-5-7) para obtener una degradación del 100 % en 7 días.

Un carbono cuaternario impide la biodegradación (8.9) pero no si la cadena es suficientemente larga (7). Un aumento de la simetría (4 y 6) provoca una disminución de 100 a 50 % de degradación. Una cadena corta (1) no se degrada.

3.4. Legislación

En numerosos países, varias medidas han sido tomadas, o están a punto de serlo, por los Poderes Públicos, con vistas a limitar el empleo de los agentes de superficie «duros».

En general, estas medidas han consistido en la conclusión de acuerdos entre la administración y los fabricantes de detergentes.

Cierto países se orientan, no obstante, hacia una verdadera reglamentación o legislación que prohíbe la fabricación, importación y utilización de agentes de superficie que no presentan una tasa de biodegradación suficiente.

Una legislación tal, que precise la tasa de biodegradación aceptable (80 %) y el procedimiento de control a utilizar está en vigor en Alemania desde 1964.

En el plano internacional, un «acuerdo europeo sobre la limitación de empleo de ciertos detergentes en los productos de lavado y limpieza», fue concluido en 1968 en el marco del Consejo de Europa.

Este acuerdo, que entró en vigor el 16 de febrero de 1971, indica como mínimo aceptable, una tasa de biodegradación del 80 %, permaneciendo cada país firmante libre de fijar la tasa exacta de biodegradación requerida, 80 % o superior, en función de las condiciones particulares que prevalezcan en su territorio.

En Francia, donde la tasa de fijó en 80 %, existe un método en curso de normalización, pero se refiere únicamente a los tensoactivos aniónicos (actualmente, en el conjunto de la producción mundial de agentes de superficie sintéticos alrededor de un 80 % son del tipo aniónico).

3.5. Determinación de la biodegradabilidad

Sería muy largo y fastidioso entrar en detalles, por ello aquí sólo trataremos los principios del método que hacen objeto de la NORMA experimental T-73.260 que trata sobre «la determinación de la biodegradabilidad de los detergentes que continen agentes de superficie aniónicos.»

Principio del método

Se procede primeramente a una preparación del producto; según que éste se presente en forma líquida o en polvo la preparación es diferente.

El producto se extrae con alcohol etílico bajo refrigerante de reflujo, se recupera el extracto obtenido en una ampolla y se completa hasta 1.000 cm³ con etanol.

Sea L_1 esta solución.

Si el producto contiene jabón, hay que determinar su contenido. Esto se hace operando sobre la solución L_1 : los ácidos grasos se extraen por medio de exano en medio ácido y valorados.

Para la determinación del contenido en aniónicos además del jabón, se evapora el resto de la solución etanólica L_1 .

El residuo seco obtenido se pone en solución acuosa L_2 .

La valoración de los aniónicos se efectúa sobre esta solución.

Conociendo los porcentajes en masa de jabón y de agentes de superficie aniónicos, se puede proceder al ensayo biológico.

Para el ensayo biológico, es necesario preparar:

— un caldo de cultivo, que se obtiene a partir de un agua de cloaca naturalmente polucionada con microorganismos a la que se añade 0,5 g/litro de extracto de carne y 10 g/litro de peptona. Esta preparación se pone bajo aireación y en recinto a 25°C. Después de 2 a 4 días se efectúa un recuento bacteriano. El caldo debe contener de 10^6 a 10^7 microorganismos por mm.³

— Un agua sintética preparada a partir de un agua destilada aireada, revitalizada en sales minerales y conteniendo 0,5 g/litro de una solución de oligo-elementos preparados separadamente.

Esta agua se ajusta a pH 7, se filtra y conserva a 25°C.

— Una solución contraste de biodegradabilidad: se trata de una solución con 400 mg/litro de producto «expresado en producto 100 %» en agua destilada.

— Un agente antiespumante no bactericida.

Primer período de incubación (7 días).

La solución L_2 anteriormente obtenida se diluye con agua destilada de manera a obtener una concentración en agente de superficie aniónico de 400 mg/l.

Sea L_3 esta solución.

En tres bombonas de 20 litros, se prepara un testigo de agua de cloaca (T_1), el ensayo propiamente dicho (E) y, el testigo de biodegradabilidad (T_2) como se describe más abajo.

	<u>T_1</u>	<u>E</u>	<u>T_2</u>
Agua sintética	8 litros	8 litros	8 litros
Caldo de cultivo	1 litro	1 litro	1 litro
Agua destilada	500 ml		
Solución de ensayo (L_3)		500 ml	
Solución contraste			500 ml
Agua destilada	500 ml	500 ml	500 ml

Se obtienen así tres bombonas conteniendo 10 litros de una solución sembrada; las bombonas E y T_2 contienen 200 mg de agente de superficie aniónico.

Estas bombonas se colocan en un recinto a 25°C y aireadas a razón de 0,5 litro de aire por minuto y por bombona.

Se añade sistemáticamente una cantidad mínima de agente antiespumante.

Después de 7 días de incubación, se sacan 500 ml de cada bombona con vistas a su dosificación.

Segundo período de incubación (10 días).

Después de las tomas de muestra se añade:

en T_1 : 500 ml de agua destilada

en E: 500 ml de solución L_3

en T_2 : 500 ml de la solución contraste biodegradabilidad.

Después de la homogeneización, se prosigue la incubación y la aireación.

Al décimo día de incubación, se sacan 500 ml de cada bombona con vistas a la dosificación.

Dosificación

El principio de la dosificación (método de Longwell y Maniece) consiste en formar un complejo coloreado con el azul metileno y los sulfatos y sulfonatos activos.

Este complejo se extrae en ampolla por el cloroformo, y se mide colorimétricamente la solución clorofórmica.

La densidad óptica obtenida se compara a una curva de calibración trazada a partir de concentraciones conocidas de la solución de referencia.

Así se obtiene el contenido en sulfatos y sulfonatos activos al azul de metileno.

Las tasas de biodegradación para el producto sometido al ensayo y para la solución contraste de biodegradabilidad se calcula para el primer período (7 días) de una parte, y, para el primer y segundo período (10 días) de otra parte.

Se calcula entonces la tasa de biodegradación ponderada «DE» de los agentes de superficie aniónicos contenido en el producto sometido a ensayo. Al mismo tiempo se calcula la tasa de biodegradación ponderada «DZ» del producto contraste.

La biodegradabilidad D de los agentes de superficie aniónicos en la muestra es igual a:

$$D = \frac{DE \times DZ, o}{DZ}$$

DE es la tasa de biodegradación ponderada de los agentes de superficie aniónicos.

DZ es la tasa de biodegradación del producto contraste.

DZ, o es la tasa de biodegradación ponderada teórica del agente de superficie que se utiliza en la solución contraste de biodegradabilidad.

La tabla 3 esquematiza el conjunto del proceso.

3.6. *Los detergentes no iónicos*

En lo que se refiere a la categoría de los detergentes no iónicos, no existe actualmente método de dosificación oficial, ni norma experimental.

L'IRCHA (Instituto Nacional de Investigación Química aplicada) estudia actualmente los métodos para Francia; estos estudios se ocupan solamente de los productos oxietilenados.

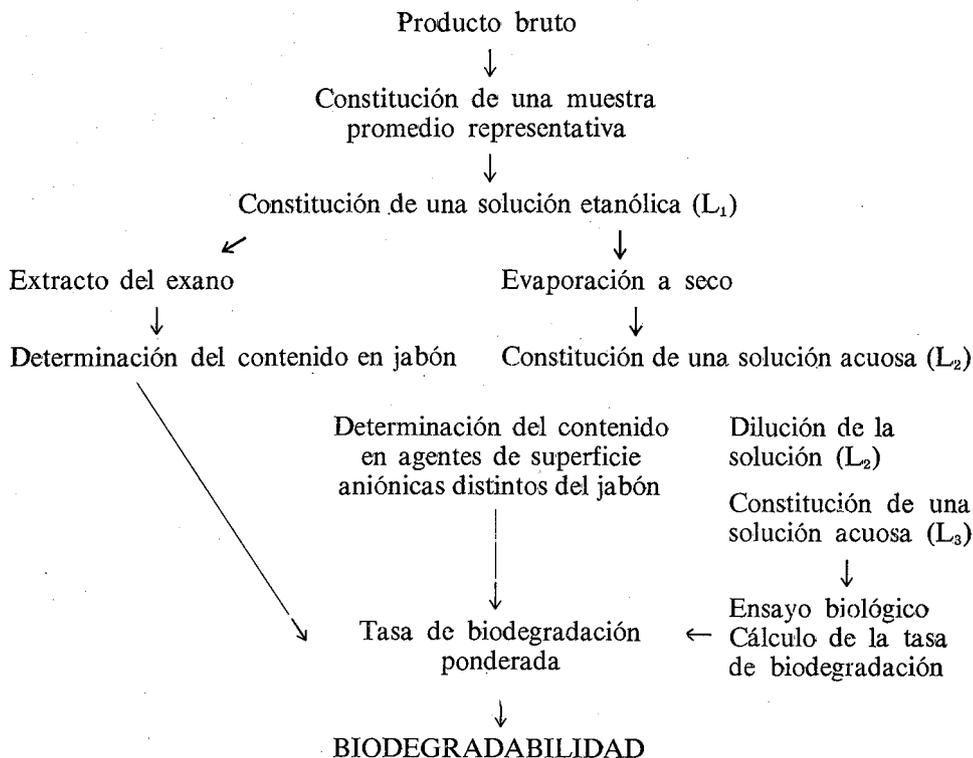
Se considera, en el caso de los detergentes oxietilenados, que la biodegradación se obtiene cuando la cadena oxietilenada se acorta, lo que conduce a la supresión del poder tensoactivo o incluso cuando hay rotura en la molécula entre las partes lipófila e hidrófila.

El bioquímico, prefiere como definición de la biodegradación la transformación total en CO₂, H₂O y calorías.

Digamos más simplemente que la biodegradación se obtiene cuando el producto ha perdido sus propiedades responsables de perjuicios. Pues si se admite que todo producto es biodegradable lo es dentro de intervalos de tiempo muy variables: tal producto habrá perdido todo poder tensoactivo en 24 horas, mientras que otro poseerá aún un 70 % de este poder más allá de 10 días después de echarlo al medio natural.

TABLA III

Esquema general de la determinación de la biodegradabilidad



En el caso de los no iónicos, la estructura posee igualmente una influencia sobre la biodegradabilidad.

Para los alquifenoles etoxilados o los alcoholes etoxilados, la biodegradabilidad depende siempre de la cadena alquil que debe ser suficientemente larga y no ramificada. Aquí también un aumento de la simetría perjudica a la biodegradabilidad.

Una cierta longitud de la cadena favorece igualmente a la biodegradabilidad de los alquil fenoles etoxilados: con 9 ó 10 DE el compuesto será menos biodegradable que con 12 ó 14 DE.

Para las cadenas alquil de 12C a 16C, las moléculas que contienen de 6 a 10 DE son más fácilmente biodegradables que las que contienen de 20 a 30 DE.

Un método para la determinación de la biodegradabilidad de los detergentes no iónicos no estará a punto antes de un año después de las últimas aproximaciones de los investigadores.

Los métodos propuestos se pueden clasificar en tres categorías:

- Métodos estáticos.
- Métodos semidinámicos.
- Métodos dinámicos.

3.6.1. *Métodos estáticos*

Métodos sin aporte de oxígeno.

Estos métodos recuerdan la determinación de la DBO.

Se puede seguir, en efecto, la oxidación biológica de los detergentes en solución en agua por la dosificación periódica del oxígeno disuelto ya sea por el método químico de WINKLER, ya sea por el método polarográfico.

Por comparación con un testigo que no contenga detergente, se determina la cantidad de oxígeno utilizada para oxidar el detergente; los resultados se expresan en porcentaje del oxígeno teóricamente necesario para la oxidación completa en CO_2 y H_2O .

Estos métodos, seductores a primera vista por su simplicidad y su rapidez, no dan desgraciadamente más que indicaciones demasiado imprecisas.

En efecto, en el caso por ejemplo de un consumo en oxígeno disuelto alrededor de la mitad del oxígeno teórico necesario para la oxidación completa del detergente, se debe pensar que se ha obtenido la oxidación completa de la mitad del detergente en solución o, por el contrario, la oxidación parcial de todo el detergente.

Ciertos métodos que se acercan a la medida de la DBO asociada a otras dosificaciones, se utilizan para determinar la degradabilidad del detergente en solución. La solución del detergente se hace con agua destilada. Se siembra con agua que provenga de una estación de lodos activos. El test dura tres días y se determina periódicamente:

- La disminución del detergente en solución.
- El consumo de oxígeno.
- El pH y el número de bacterias por mm^3 .

El método Henkel se basa en este principio.

Se puede igualmente determinar el oxígeno consumido y el detergente que queda por el método de Longwell y Maniece.

Pero estos métodos sólo permiten comparaciones de biodegradabilidad de los detergentes, no pueden ser extrapolados en el comportamiento de estos detergentes en ríos o estaciones depuradoras.

Métodos con aporte de oxígeno.

El principio de estos métodos consiste en preparar soluciones de sales minerales nutritivas y una suspensión bacteriana, reunir en proporciones determinadas estas dos soluciones y añadir el detergente a examinar, después a intervalos regulares hacer dosificaciones de este detergente.

Algunas veces, no se ha previsto ningún dispositivo especial de aireación, otras se ha realizado una aireación preliminar. Finalmente, algunos investigadores mantienen una aireación más o menos fuerte durante el ensayo, lo que tiene por efecto mantener los lodos en suspensión.

3.6.2. *Métodos semi-dinámicos*

Método de los lodos activados.

Es necesario, para comprender bien este método, tener una visión muy general del funcionamiento de una instalación depuradora de lodos activados (Fig. 6).

El agua residual primeramente se filtra, después se envía a un decantador primario (A). Los sólidos que se depositan en este decantador se envían a un depósito de digestión en anaerobiosis, D; el agua decantada, o emanación primaria pasa a un estanque de aireación donde sufre la acción del barro activado.

En este estanque, se efectúa la conversión de los polucionantes orgánicos disueltos o en suspensiones coloidales en barro decantables en el decantador C. El barro decantado se recicla al estanque de aireación, y eventualmente, el exceso de barro se dirige al digestor D.

El método relativamente simple inspirado en este principio utiliza no obstante unas condiciones de marcha discontinua.

Se emplea como aparato un cilindro recto de plexiglas con una base cónica; el aire se suministra por medio de un tubo interior que se sumerge hasta 1,5 cm de fondo.

La alimentación consiste en un medio sintético que contiene por litro de agua del grifo:

- 130 mg de glucosa.
- 130 mg de extracto de buey.
- 130 mg de extracto seco de caldo.
- 130 mg de fosfato ácido de potasio.
- 25 mg de sulfato de amonio.

Una unidad de trabajo se carga con 1,5 litros de medio inoculado con 3,75 g de barro activado fresco, después se airea a temperatura ambiente a razón de 0,5 litros de aire por minuto, lo que dispersa el aglomerado.

Durante los cinco primeros días se aumenta progresivamente la concentración de agente de superficie hasta llegar a los 20 g/litro; las añadidas sucesivas de medio se mantienen a 20 g/litro.

En marcha normal, se airea durante 23 horas, después se deja reposar una hora lo que permite la decantación. Se saca para dos análisis un litro de agua decantada que se reemplaza por un litro de medio fresco y con el agente de superficie, el ciclo vuelve a empezarse.

Los análisis: colorimetría DCO, pH, MeS, se efectúan durante un período suficientemente largo para que se puedan obtener medias válidas.

A este procedimiento se le puede reprochar sobre todo, el ser verdaderamente discontinuo, y sin una relación estrecha con las estaciones de depuración industrial. Además, no se tiene en cuenta la cantidad de agente de superficie adsorbido por los barro.

Test del Cebedeau

El método consiste en seguir el agotamiento de un agua de alcantarilla sintética cargada de detergente girando en circuito cerrado sobre un lecho bacteriano. El ensayo dura 7 días.

El aparato (figura 7) se compone:

- de una columna en vidrio opaco de 14 cm. de diámetro y de 1,24 m. de altura rellena en 1,10 m. de grava de gres triturada y calibrada de 10-30 mm;
- de una bomba peristáltica que permite asegurar un caudal regular;
- de un sistema de toma de muestra automático.

La composición del agua es la siguiente:

156,2	mg/l	peptona de caseína
104,2	mg/l	peptona de carne
6,25	mg/l	cloruro sódico
4,20	mg/l	cloruro de calcio
2,0	mg/l	sulfato de magnesio

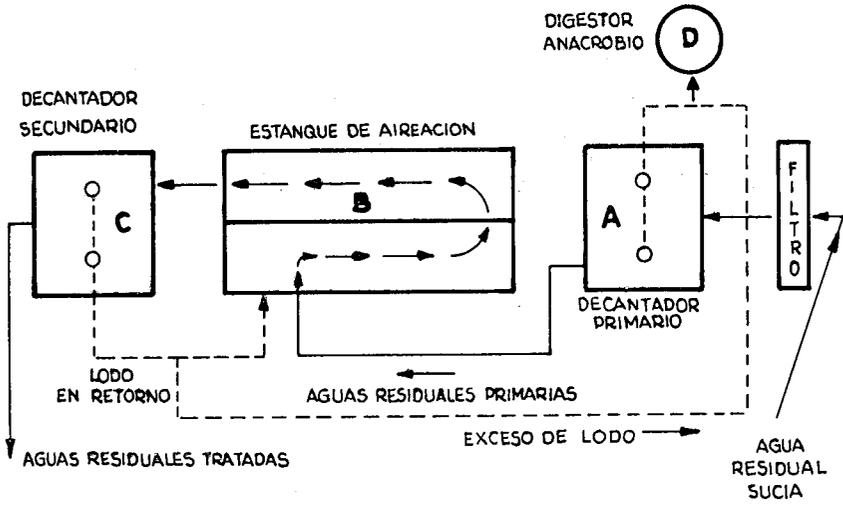


Figura 6

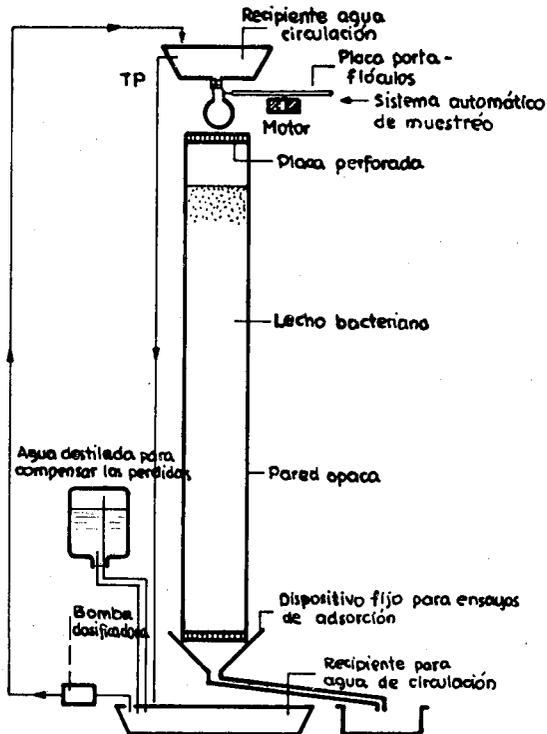
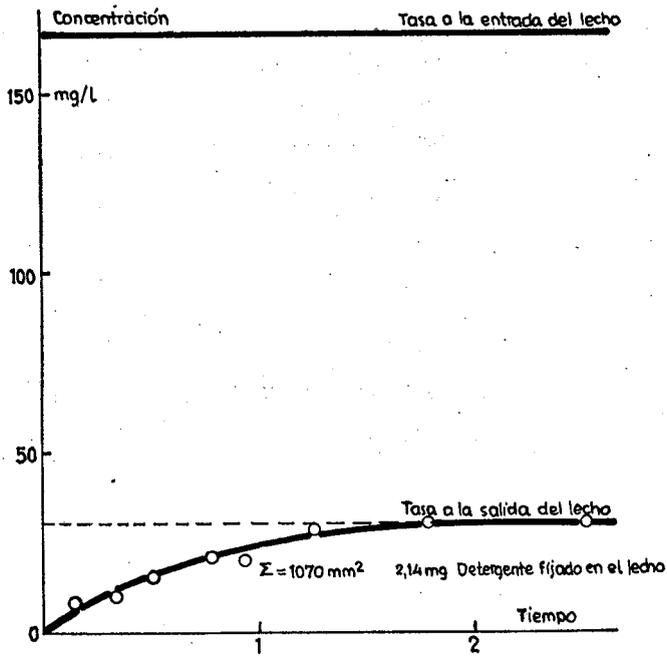
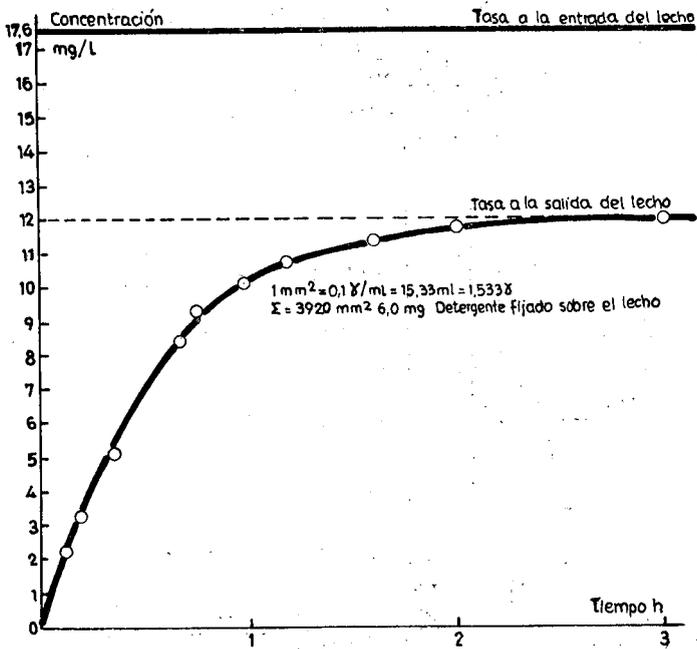


Figura 7



a)

Figura 8



b)

Figura 9

Se preparan pues 6 litros de agua de alcantarilla sintética a la que se añaden unos 20 mg/l de detergente.

Cinco litros se echan en la cubeta inferior del lecho bacteriano y se someten al ensayo de biodegradabilidad.

El litro restante se reserva para los diversos añadidos que se hacen al principio.

Se practica un ensayo en blanco con un agua sintética de la misma composición pero que no contenga detergente.

La DBO/5 se realiza sobre el ensayo en blanco, al principio y al final. Esta DBO/5 pasa de 230 mg/l O₂ al principio a una cantidad del orden de 2 a 5 después de 7 días.

Se realiza igualmente un ensayo con un detergente fácilmente biodegradable y otro con detergente difícilmente biodegradable.

Este método presenta la ventaja de poder determinar la cantidad de detergente absorbido por los microorganismos, este factor es importante pues el detergente así fijado desaparece de la solución sin ser degradado.

Al principio, no existe traza de detergente, ya que el aparato ha sido lavado por circulación de suero fisiológico (9 g/l de CLNa) durante 1 a 2 días.

Recibiendo durante 1 ó 2 horas un líquido invariable conteniendo alrededor de 20 mg/l de detergente, el conjunto de bacterias empieza por absorber el producto, después a degradarlo.

Si en este momento se coge flujo del lecho a intervalos próximos, se puede seguir la variación de su contenido en detergente en función del tiempo.

En la práctica, ésta parte de cero hasta alcanzar un valor constante después de 1 a 2 horas (figs. 8 y 9).

La superficie comprendida entre la curva y la horizontal correspondiente a esta constante representa la cantidad de detergente absorbida por los microorganismos.

La curva de degradación obtenida en función del tiempo permite situar el producto ensayado con relación a los dos productos de referencia escogidos entre los fácilmente y difícilmente biodegradables respectivamente (fig. 10).

3.6.3. *Métodos dinámicos*

El método propuesto es el de Husmann dentro del marco de la ley alemana sobre detergente.

El aparato utilizado viene representado en la fig. 11.

El agua residual sintética se almacena en el gran recipiente A, de 24 litros de capacidad útil, en vidrio o material plástico; se envía de forma continua por medio de una bomba dosificadora B a la cubeta de aireación C. Esta cubeta, de vidrio, tiene un volumen útil de 3 litros señalado por una marca en la pared. La aireación se efectúa en el fondo de la parte cónica de este recipiente por un tubo sumergido provisto en su extremo de una pastilla porosa, y la cantidad de aire insuflada se controla por medio de un medidor de caudal. El separador D permite la floculación del barro que es reciclado por la bomba «Mammouth» E.

El agua tratada en exceso se evacúa al colector F.

El agua residual sintética de entrada se prepara a partir de un litro de solución nutritiva esterilizada conteniendo:

- 3,75 g de peptona de caseína
- 2,50 g de extracto de carne
- 0,65 g de urea
- 0,15 g de cloruro sódico

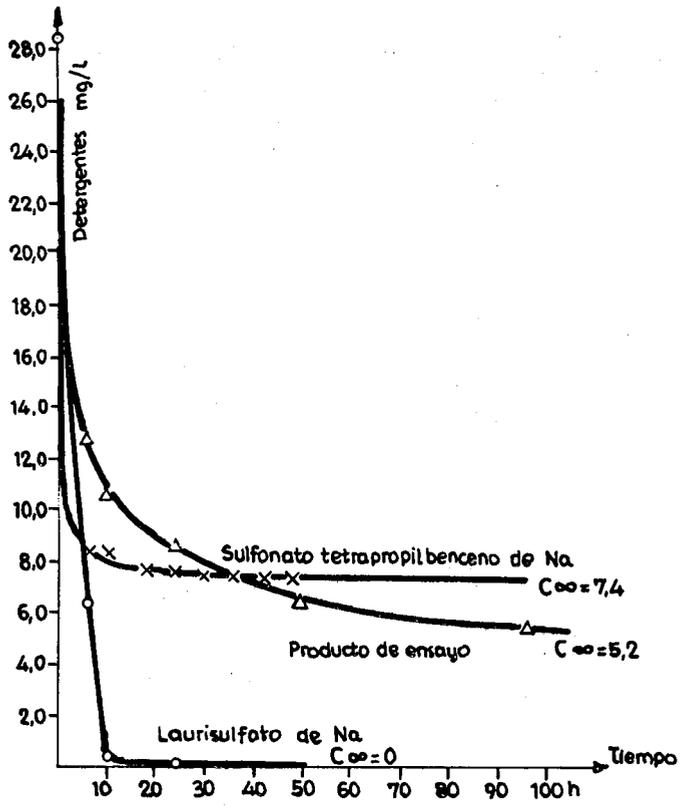


Figura 10

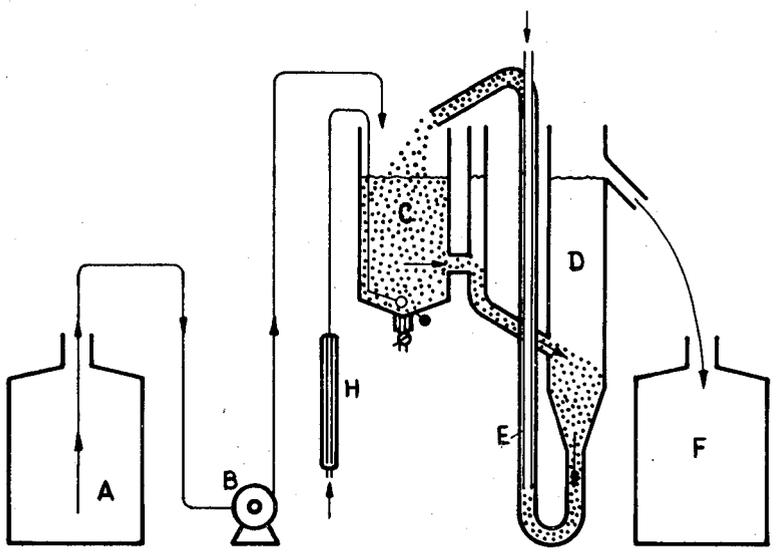


Figura 11

- 0,10 g de cloruro de calcio 2 H₂O
- 0,05 g de sulfato de magnesio 7 H₂O

Se mezcla un litro de esta solución nutritiva y la solución madre de detergente, y se completa hasta 24 litros con agua del grifo.

La velocidad de paso del medio sintético en la cubeta de aireación es de un litro/hora, lo que corresponde a un tiempo de paso de 3 horas (3 horas es el tiempo de paso en las estaciones depuradoras en Alemania).

La velocidad de aireación se regula de forma que se obtenga una tasa de oxígeno disuelto de por lo menos 2 mg/litro.

Al funcionar, primeramente se pone la instalación a régimen, lo que corresponde a un período de adaptación variable, después se efectúan 21 balances diarios de contenido en detergente, en jabón, medida de la DBO sobre el líquido que sale y el que entra; esto permite obtener un resultado medio válido.

Uno de los más graves defectos de este método es el de no tener en cuenta la materia activa absorbida en los barros, lo que puede falsear notablemente los resultados de los balances.

3.7. Método de análisis de los detergentes en las aguas

Acabamos de pasar revista a los métodos de ensayos biológicos. Las medidas de concentración en detergente que intervienen en segundo plano del análisis pertenecen al campo del análisis puro.

Estos métodos son esencialmente de 5 tipos.

Medida de la tensión superficial e interfacial de las soluciones que contienen tensoactivos, cuya principal ventaja reside en su simplicidad y su rapidez, pero parece que su sensibilidad no es suficiente para la determinación de pequeños cambios de concentración, tales como los que se observan siguiendo a intervalos regulares la degradación biológica de un detergente determinado. En fin, esta dosificación no tiene carácter específico y las medidas pueden variar fuertemente debido a sustancias extrañas.

Métodos volumétricos. Estos métodos utilizan la neutralización de los detergentes aniónicos por una solución de detergentes catiónicos.

El final de la dosificación se observa por la aparición de una coloración debida a la formación de un complejo entre el exceso de agente de superficie catiónico y el azul de bromo fenol (solución azulada en cloroformo).

Estos métodos tienen la ventaja de ser precisos y rápidos pero, desgraciadamente, sólo pueden utilizarse cuando las soluciones contienen una fuerte dosis de detergentes.

Formación de un complejo entre el detergente aniónico y un colorante apropiado.

Estos métodos son, con mucho, los más utilizados: Su principio es el siguiente: el azul de metileno, colorante catiónico, da con la sustancia aniónica en solución en el agua un complejo de coloración azulada que se extrae con cloroformo y que se puede valorar colorimétricamente comparando con cantidades conocidas de un detergente patrón.

Es el método Longwell y Maniece.

Da excelentes resultados incluso cuando las tomas de ensayo contienen muy poco detergente (óptimo 5 a 50 μ g en 100 ml de P.E.).

Espectrofotometría infrarroja.

Después de la eliminación de las sustancias interferentes presentes en la muestra, se concentran los A.B.S., se aíslan al estado de sal de la 1-metileptilamina, y la dosificación final se realiza por espectrofotometría IR.

El inconveniente de este método es la duración y el coste de la operación.

Métodos que utilizan el A.B.S. conteniendo un elemento marcado, azufre o carbono han sido utilizados igualmente.

Estos métodos, en principio, sólo se aplican a los detergentes aniónicos. Actualmente están en estudio procedimientos para dosificar los no-iónicos; ellos se basan ya sea en una dosificación física (cantidad de espuma o tensión superficial) pero hemos visto que carecen de sensibilidad, ya sea en una dosificación química:

- método al ácido fosfotúngstico
- método al tetrayodo bismutato
- método de Paterson que une al tetrayodo bismutato un análisis por cromatografía de capa fina
- método de Crabb y Persinger al cobalto tiocianato.

4. TOXICIDAD

4.1. *Definición*

En materia de polución de las aguas, se puede definir un tóxico como un compuesto que provoca una manifestación de carácter agudo, visible sobre el medio receptor, como la muerte de los peces.

De hecho, todos los productos químicos podrían ser considerados como tóxicos en la medida en que modifican poco o mucho la calidad del equilibrio biológico.

No obstante, conviene hacer la diferencia entre de una parte los efectos de polución aguda provocados por un tóxico y, de otra parte, la polución crónica provocada por las materias orgánicas o materias en suspensión, caracterizada por una disminución del estado de equilibrio biológico de un curso de agua por el hecho de falta de oxígeno.

Esta diferencia se esquematiza en la fig. 12.

En el caso de un vertido tóxico, existe una modificación muy acentuada del BIOTOP (estado de equilibrio biológico del medio receptor), las manifestaciones son visibles: mortalidad de los peces, efecto bactericida, la polución se llama aguda, pero, con la ayuda de la dilución, la concentración en tóxico disminuye muy rápidamente y el estado de equilibrio se alcanza relativamente muy pronto.

Por contra, en el caso del vertido de un polucionante orgánico, las manifestaciones son menos espectaculares, hay una disminución de la tasa de oxígeno disuelto provocando un desequilibrio biológico que será mucho más difícil de volver a alcanzar mientras los vertidos vayan repitiéndose y sean importantes.

En el límite, nos encontramos delante de un curso de agua donde unos vertidos múltiples y periódicos impedirán toda posibilidad de vida acuática y, finalmente, habremos creado un lugar de corrupción (fig. 13).

Si además se añaden, en un curso de agua donde la polución crónica ha llegado a un valor muy alto, unos vertidos de sustancias tóxicas, fácilmente podemos imaginar los efectos que esto trae consigo. Si, además, estas sustancias tóxicas llegan a una estación depuradora a unas concentraciones aún bactericidas, el efecto puede ser catastrófico, pues a veces hace falta varias semanas para reaclimatar una colo-

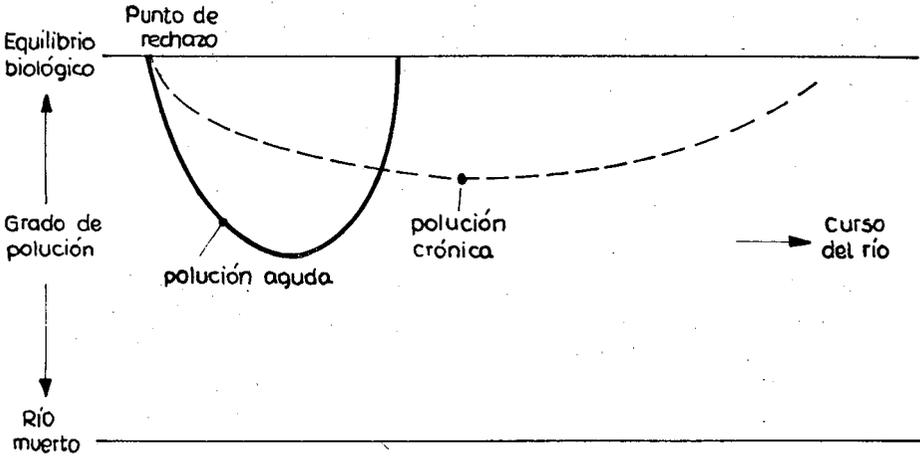


Figura 12

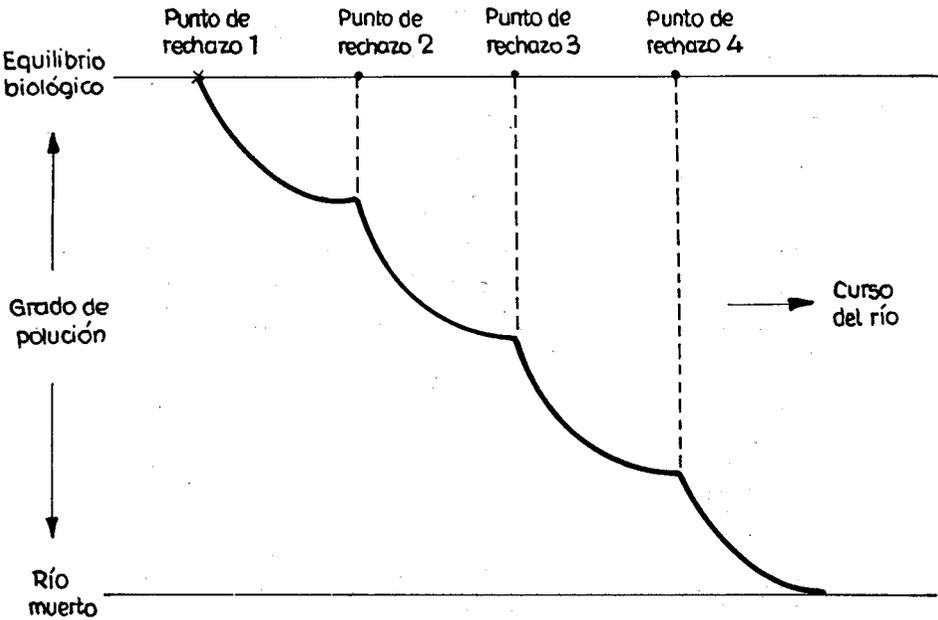


Figura 13

nia bacteriana necesaria al metabolismo de las sustancias degradables en una estación depuradora.

4.2. Clasificación

En tintura y aprestos, entre los productos tóxicos hay que citar la mayoría de los colorantes y, muy especialmente, los derivados de la anilina, todos los productos químicos considerados como indeseables: cloro libre, nitritos, fluoruros, derivados del bromo, del cromo, carriers, etc., así como los metales pesados: cobre, estaño, utilizados en los tratamientos especiales.

Una parte especial debe dedicarse a la presencia de los detergentes de síntesis, volveremos a ellos más adelante.

En los casos más graves de toxicidad se trata de venenos, por ejemplo derivados cianurados (orgánicos o minerales). El poder tóxico de estos compuestos es tal que con convertidos relativamente débiles en importancia, se puede llegar a una supresión completa de la vida acuática en toda una zona del medio receptor.

Otra forma de toxicidad viene provocada por los metales alcalinos solubles, en fase de precipitación, que precipitan al fondo del río e impiden así la reproducción de las algas y la nidificación de los peces.

Citemos igualmente:

- los compuestos químicos que mineralizan los cursos de agua;
- los productos formadores de complejos que actúan sobre los minerales o los vegetales indispensables para la vida;
- una temperatura demasiado elevada de un vertido.

Todo esto corresponde a unos grados de toxicidad variables según la concentración y el volumen de los vertidos.

4.3. Acción sobre el hombre

Es muy difícil definir las dosis convenientes y las dosis límites de los elementos que se encuentran corrientemente en el agua como el calcio, el magnesio, el hierro, los cloruros, los sulfatos, etc.

El sulfato de magnesio, en particular, puede provocar perturbaciones intestinales que desaparecen al cabo de un cierto tiempo por adaptación a esta sal.

La toxicidad característica de ciertos elementos permite definir dosis límites algunas veces precisadas en los reglamentos sanitarios.

Los elementos tóxicos que vienen a continuación no se encuentran corrientemente en las aguas, pero pueden encontrarse después de verter aguas residuales industriales.

Las cifras que se citan se refieren al hombre.

Cromo hexavalente (o cromo 6)

Una dosis de 250 mg es mortal.

El contenido límite para el agua debe ser inferior al *umbral* de determinación analítica.

El cromo trivalente (cromo 3) se considera inofensivo.

Cianuros

Una dosis de 200 mg de ácido cianhídrico es mortal en 30 minutos.

Aquí también la concentración límite en el agua debe ser inferior a la medible por determinación analítica.

4.4. *Enmascaramiento*

Un vertido tóxico se hará notar solamente en un curso de agua de polución muy débil. En un curso de agua donde el estado de polución estará muy avanzada y donde la vida acuática ha sido muy reducida, la manifestación de una polución aguda como la que se ha descrito anteriormente no será tan evidente como parece.

El problema se vuelve más grave cuando el daño es aún menos visible, en el caso en que los microorganismos que viven en el río llegan a aclimatarse y acumulan el tóxico en cuestión, por el juego de la cadena alimentaria, llega hasta el hombre.

Es por ello que hay que evitar en la medida de lo posible que el particular, vierta sustancias tóxicas en los cursos de agua. Para el industrial, es un deber eliminarlos «in situ» con el mínimo volumen de agua posible y esto con un doble fin: coste y calidad del agua tratada.

4.5. *Legislación*

Actualmente no existen en Francia, criterios de tasación propios de la toxicidad.

En Alemania, la solución adoptada es el cobro de una cuota por todos los productos que entran en la empresa, bien entendido, que cada producto está afectado de un coeficiente que varía según su propia toxicidad.

En Francia, se busca sobre todo medir el impacto que un vertido tóxico podría tener en un curso de agua.

Las investigaciones se han orientado hacia la medida de la toxicidad para con un organismo vivo presente en el curso de agua y que, además, constituye un eslabón de la cadena alimentaria.

Una dafnia (pulga de agua), la *Daphnia magna*, corresponde bien a esta definición.

Los grandes principios del método que, recordémoslo, están aún en fase experimental, son los siguientes:

Se prepara, a partir de una muestra representativa y de un agua de río sintética, una amplia gama de disoluciones a las que se reduce progresivamente la diferencia de concentraciones hasta llegar a determinar con precisión la dilución que provoca la muerte del 50 % de las dafnias en 24 horas en las condiciones del ensayo (baño-maría, iluminación normal, temperatura que puede ser variada).

Esta dilución se llama *dosis letal*: DL: 50 %/24 h.

Es a partir de la dosis letal que se determina la concentración en tóxicos.

4.6. *Los detergentes*

La acción de los detergentes debe ser examinada bajo dos puntos de vista:

- la toxicidad propia del detergente;
- las acciones indirectas.

Por lo que se refiere a la toxicidad de los detergentes, de un estudio sobre los peces, se ha llegado a la conclusión que las dosis letales generalmente admitidas son de 6 a 7 ppm para el ABS (caso típico de los aniónicos) y de 2 a 3 ppm para ciertos no iónicos.

Los controles verificados en Francia en los grandes ríos muestran que durante ciertos períodos del verano esta concentración se logra en ciertas partes de los cursos de agua.

Aparte de su acción puramente tóxica sobre los peces, los detergentes podrán perjudicar indirectamente por entorpecer la reaireación, o sea la oxigenación del medio (los peces tienen necesidad de 7 a 9 mg de oxígeno por litro de agua).

En este caso es preciso la acción indirecta donde interviene el término inhibitor. Esta forma de nocividad podrá manifestarse de dos formas:

— sin presencia de espuma: es el caso cuando hay solamente presencia de detergente en el río a una tasa actualmente en Francia de 0,5 ppm. En este caso el coeficiente de intercambio con el aire, o sea la oxigenación del agua, bajará de 20 a 30 %;

— con presencia de espuma la aireación del medio puede pararse completamente. Además, la claridad disminuirá y el fenómeno de fotosíntesis también se parará. Pues, en ciertos casos, más de la mitad del oxígeno disuelto proviene de esta forma durante las horas de claridad.

Es evidente que la toxicidad de los detergentes empleados debe ser examinada igualmente vis-a-vis de las plantas acuáticas para evitar un daño indirecto.

Siempre por lo que concierne a los detergentes, es importante hacer notar que numerosos factores pueden hacer variar la toxicidad notablemente:

- la temperatura;
- la calidad y cantidad de las sales presentes con el agente de superficie;
- el pH.

Las cifras que siguen y que ilustran estos tres puntos tienen como base la toxicidad frente a los peces.

La figura 14 muestra para animales aclimatados a 15°C el desplazamiento del umbral de toxicidad del ABS en función de la temperatura y de la concentración.

Hay que hacer notar que a la temperatura de 28,2°C, el efecto del choque térmico se superpone al del agente de superficie, por sí solo el choque térmico provoca la muerte en un tiempo medio de 193 minutos (Marchetti).

Por lo que se refiere a la influencia de ciertos iones sobre la toxicidad de los agentes de superficie, Marchetti puso ya en evidencia un fenómeno de toxicidad bastante marcado que resulta del empleo como líquido diluyente, de agua de distinta dureza.

Se puede observar fácilmente que la presencia de carbonatos aumenta algunas veces fuertemente la toxicidad de un compuesto aniónico (tipo ABS), reduce la de un catiónico (cloruro de lauril bencil aniónico), no modifica la de un no iónico (nonil-fenol oxietileno).

Investigaciones más profundas sobre un aniónico (ABS) han permitido poner en evidencia la sola influencia del ion calcio sobre el aumento de toxicidad. (El ion cloro por contra no tiene ningún efecto.)

A fin de verificar si este fenómeno se debe exclusivamente al calcio, se han efectuado unos ensayos con cloruros de magnesio y de bario (iones bivalentes) cuyos resultados se exponen en la figura 15.

Hay que señalar que los iones normalmente monovalentes Na y K (presentes como cloruros) incluso a concentraciones del orden de 400 mg/l no ejercen efecto alguno.

La influencia del pH sobre la toxicidad se ilustra en la tabla 4 (el pez se aclimata a pH 7.35).

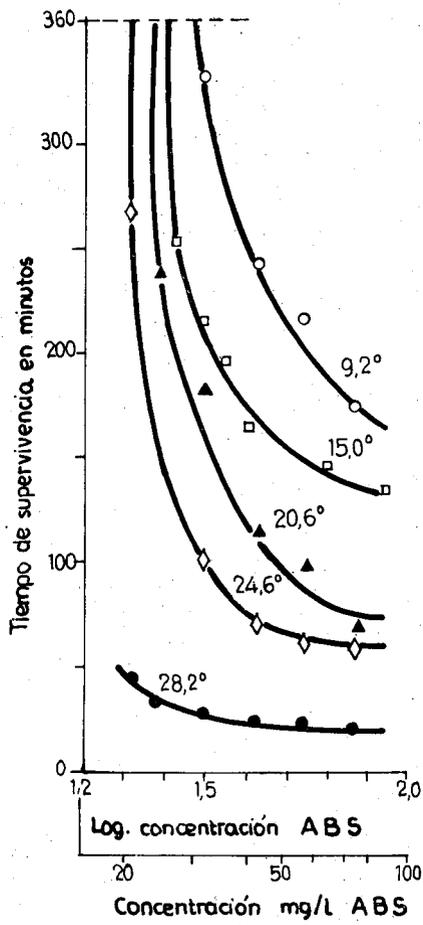


Figura 14

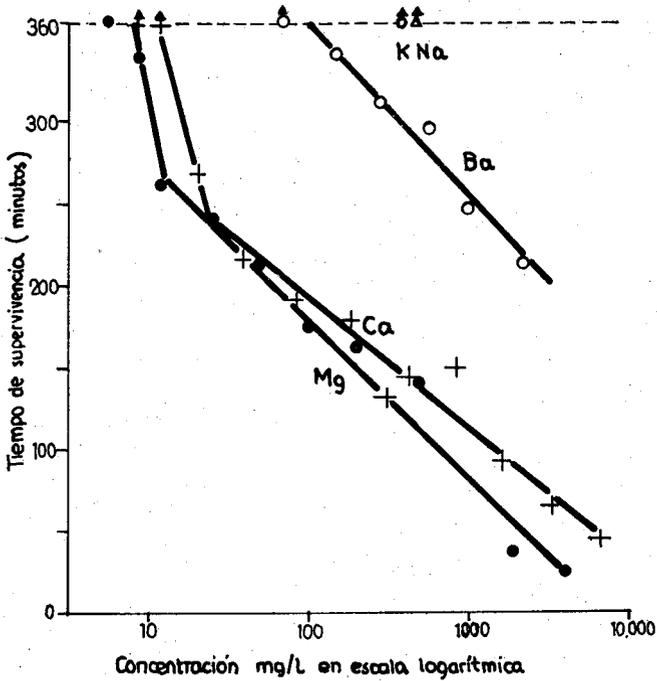


Figura 15

TABLA IV

<i>pH</i>	<i>Tiempo de supervivencia en minutos</i>	
	<i>43 mg/l ABS en un agua dura</i>	<i>86 mg/l ABS en un agua destilada</i>
3,10	89	83
3,90	136	106
5,60	189	211
6,30	196	225
7,40	181	228
8,50	187	231
9,90	∞	180
10,70	291	152

De una manera muy general, de todos los trabajos efectuados sobre la cuestión, se deduce que desde el punto de vista piscícola el peligro es muy limitado si la concentración en detergentes aniónicos en las aguas de río no sobrepasa los 3 mg/l.