

# Cómo realizar una Evaluación de la Reducción de la Toxicidad (ERT) con la prueba de toxicidad aguda Microtox®



**MODERN WATER**

A Deepvege Company

## Resumen

Esta guía describe un método práctico para llevar a cabo la Evaluación de la Reducción de la Microtoxicidad (ERT) económicas y no obligatorias en plantas de tratamiento de aguas residuales. Los estudios producen información que puede utilizarse para mantener los niveles de toxicidad por debajo de los límites reglamentarios, evitando las costosas y perjudiciales ERT obligatorias.

Dado que cada planta es diferente de las demás, es necesario medir primero la toxicidad en los flujos afluente y efluente en el emplazamiento durante un periodo de 30-60 días. Cuando se representa gráficamente, esta información muestra las líneas de base de toxicidad "normales" en puntos clave, de modo que se puede determinar la importancia de las variaciones de toxicidad.

La prueba Microtox Basic se utiliza para medir la toxicidad en flujos afluentes y flujos de proceso en planta, en los que los niveles de toxicidad son lo suficientemente altos como para calcular los EC50.

La prueba de comparación Microtox (o prueba de cribado) se utiliza para los efluentes en los que los niveles de toxicidad son demasiado bajos para el cálculo de los EC50.

Una vez establecidas las líneas de base normales y las variaciones de toxicidad, es posible relacionar las variaciones del influente y el efluente, localizar las fuentes de toxicidad y desarrollar formas prácticas de tratarlas. Una vez caracterizado y optimizado el sistema de tratamiento, deben realizarse periódicamente pruebas de comparación Microtox para aumentar la seguridad de que el efluente final cumplirá la normativa.

## Resumen

Microtox es un método estándar ASTM (D5660-96, 2009) para determinar la toxicidad de los residuos acuosos antes y después del tratamiento biológico.

Desde 1979, las depuradoras de aguas residuales (EDAR) han utilizado los resultados del ensayo de toxicidad aguda Microtox para:

- Ayudar a garantizar el cumplimiento de los límites de toxicidad NPDES
- Medir la toxicidad en las corrientes afluentes
- Determinar la eficacia del tratamiento en las depuradoras de aguas residuales industriales y municipales
- Supervisar los procesos de tratamiento desde el afluente bruto hasta el efluente final

Con suficientes datos históricos, es posible desarrollar una correlación entre Microtox y la agencia reguladora. Si no se logra o mantiene el cumplimiento de los límites de toxicidad puede desencadenarse una ERT ordenada por la entidad competente para identificar la fuente del problema de toxicidad, y proporcionar una base para una solución recomendada.

Las medidas correctoras pueden ser tan sencillas como unos procedimientos de "limpieza mejorada" o tan complicadas y costosas como la modificación física de una planta de tratamiento de aguas residuales. En instalaciones complejas con numerosos flujos de entrada, la calidad y cantidad de las aguas residuales pueden variar de forma impredecible.

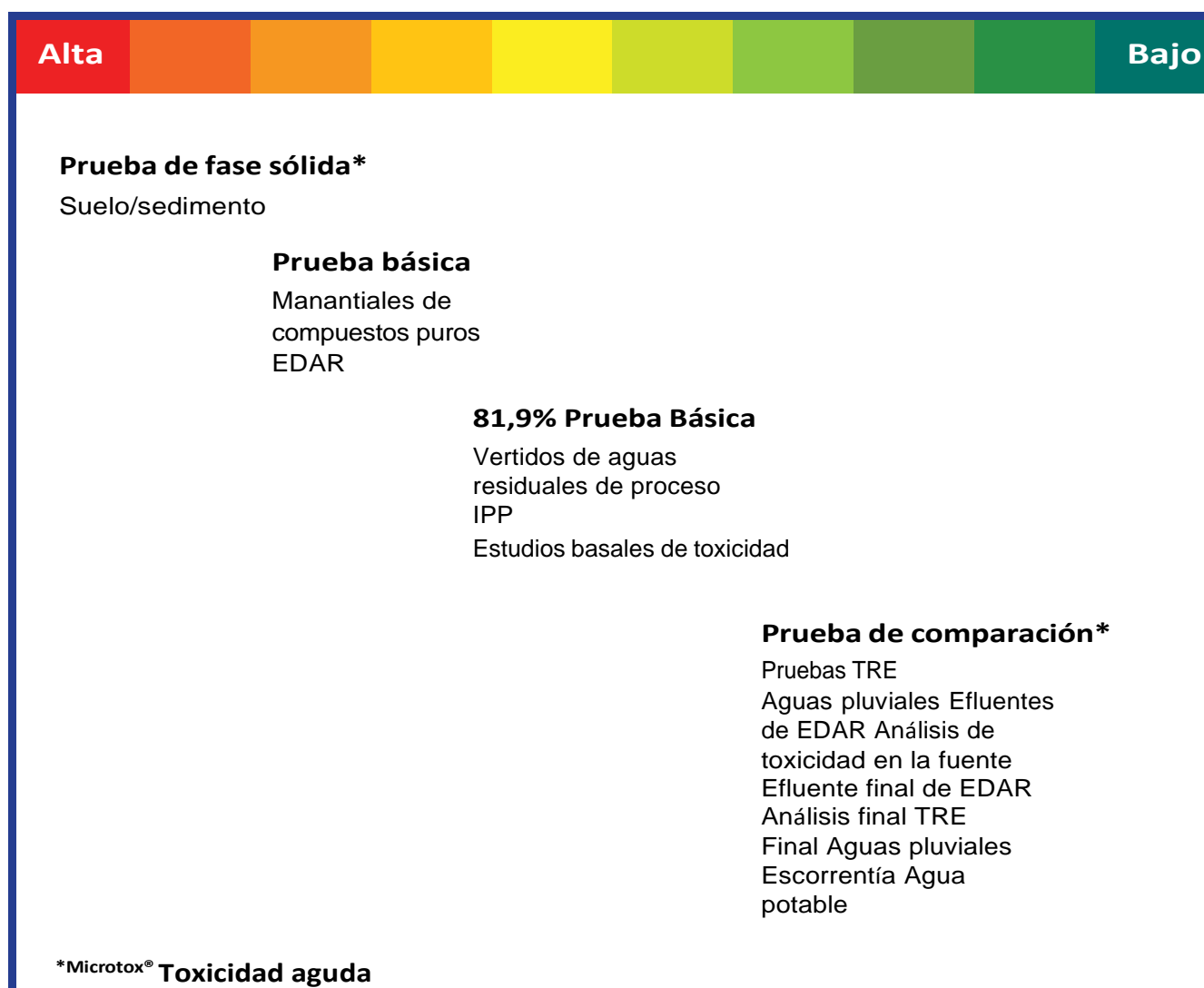
En consecuencia, una ERT oficial puede implicar una investigación exhaustiva para identificar los tóxicos y/o las opciones rentables de tratamiento o de corrección en origen. El coste del incumplimiento puede ser elevado en esta guía se sugiere que protocolos Microtox son apropiados para:

- Determinar la toxicidad de los flujos de influentes individuales y su impacto potencial en la biomasa de una planta (¿Cómo afecta cada flujo individual a la planta?)
- Determinar la eficacia del tratamiento en cada etapa del sistema de tratamiento de aguas. (¿Cómo afectan diariamente las corrientes combinadas a cada etapa del proceso de tratamiento de la planta?)
- Determinar la calidad del efluente final. Esto proporciona datos indicativos de los resultados de las pruebas de biomonitorización. (¿En qué medida trató la planta los residuos combinados?)

Este programa parte de la base de que la iniciativa para el control de la toxicidad puede y debe proceder de la propia instalación autorizada. Una ERT interna tiene sentido desde el punto de vista económico. Se basa en la comprensión de la dinámica de cómo la variación de la toxicidad afecta al rendimiento de la planta de tratamiento de aguas residuales, **incluso cuando no se prevé una ERT obligatoria.**

## Ensayo Microtox

Los diferentes protocolos Microtox son apropiados para su uso con muestras en diferentes rangos de toxicidad.



### Fase I de la ERT interna

Elabore un perfil de la calidad diaria del afluente y el efluente de la planta realizando y registrando diariamente mediciones clave. De este modo se establece una línea de base de los niveles "normales" de toxicidad en la planta, y a menudo se revelan ciclos insospechados de toxicidad que pueden influir considerablemente en los resultados de las pruebas de conformidad.

Desarrollar el perfil

## 1. Prueba básica Microtox

Realice una prueba Microtox® Basic, calcule una EC50 diariamente en cada corriente afluente.

## 2. Prueba básica Microtox

Realice una prueba Microtox® Basic, calcule una EC50 diaria en todo el afluente combinado.

NOTA: Para pruebas iniciales y corrientes de influente de alta toxicidad, use la **Prueba Básica ASTM**. Para las corrientes afluentes de toxicidad más baja, utilice la prueba básica del **81,9%**.

## 3. Prueba de comparación

Realice diariamente una prueba de comparación Microtox en todo el efluente combinado. Si se observan efectos de toxicidad superiores al 5% (ya sea inhibición o estimulación), y si el bioensayo de conformidad es una prueba crónica, iniciar una investigación sobre las posibles causas. Esta investigación de la Etapa II se analiza más adelante. La monitorización rutinaria, una vez establecidas las líneas de base, se consigue mejor en el ensayo de comparación Microtox.

Tenga en cuenta que los ejemplos que se muestran aquí son cualitativos, no cuantitativos, el factor clave es el cambio.

Cómo son los perfiles típicos de toxicidad del afluente: Los tres gráficos siguientes muestran ejemplos típicos de la toxicidad del afluente de una EDAR cuando se representan los EC50 de las pruebas básicas diarias a lo largo de un mes. Es posible que en su instalación haya muchas corrientes individuales que se analizarán inicialmente a diario. Una vez determinada su toxicidad relativa, pueden ponderarse por caudales, y el efecto total de cada corriente sobre la planta de tratamiento puede clasificarse de "mejor a peor". Obviamente, el perfil de su instalación no será exactamente igual al que se muestra aquí, ya que la toxicidad de las corrientes afluentes es siempre específica de cada emplazamiento. (El usuario de Microtox también puede probar cada etapa del proceso de tratamiento de la EDAR para calificar la cantidad real de reducción de la toxicidad en cada etapa y, por tanto, la eficacia de la eliminación de compuestos tóxicos por parte de la planta). Obsérvese también que es muy probable que los cambios estacionales en la línea de base aparezcan en los gráficos a largo plazo.

## Ejemplo 1

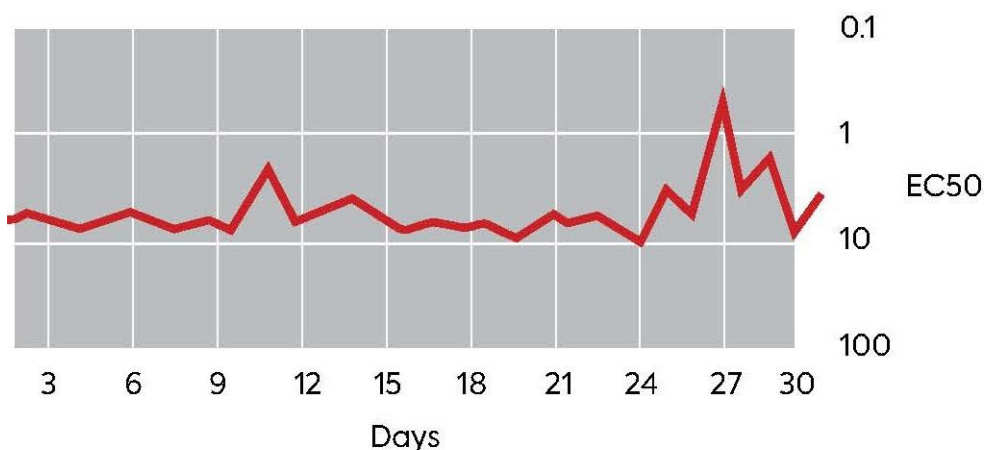
Este es un perfil de toxicidad de un mes de una corriente de influente individual. La prueba Microtox Basic es adecuada para su uso con esta corriente relativamente tóxica, sin tratar, calculando fácilmente los EC5





## Ejemplo 2

Se trata de un perfil de toxicidad de un mes de toda la corriente influente combinada de una planta de tratamiento. Una vez más, la prueba Microtox Basic es adecuada porque puede calcular fácilmente los EC50 a partir de las muestras relativamente tóxicas.



## Ejemplo 3

Este es un perfil de toxicidad de un mes para una etapa de tratamiento intermedio, utilizando datos de la prueba básica Microtox.

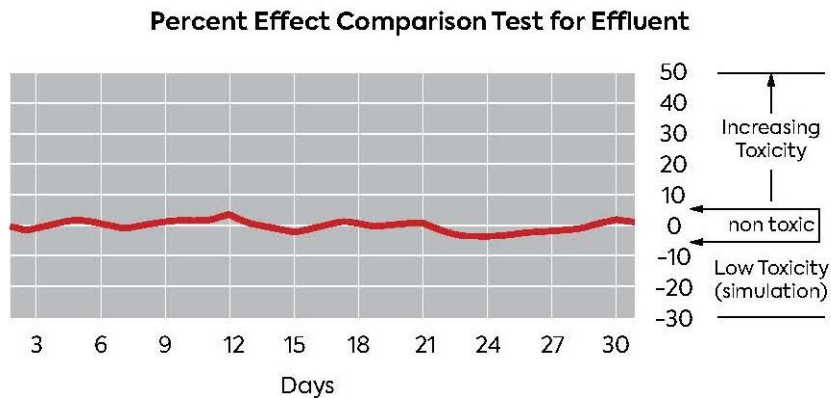


### Cómo son los perfiles típicos de toxicidad de los efluentes:

Los siguientes gráficos muestran tres ejemplos diferentes, pero típicos, de gráficos trazados con datos de la prueba Microtox.

## Ejemplo 4

**Perfil de efluentes de baja toxicidad. (Trazado a lo largo de un mes con la prueba de comparación Microtox®).**



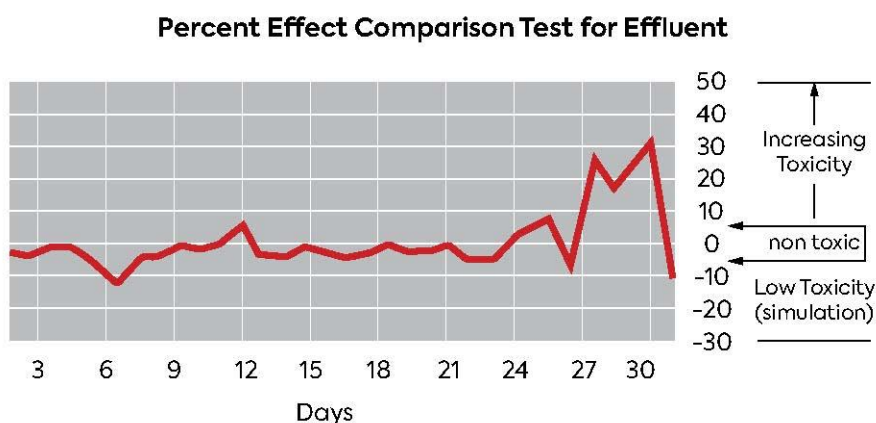
Dado que la toxicidad del efluente es demasiado baja para calcular los EC50, se utilizan las Pruebas de Comparación. Los datos aparecen en la parte inferior de la Tabla de Toxicidad Diaria. Los valores indican la "diferencia porcentual" de la biorreactividad de la muestra (ya sea inhibición o estimulación de bajo nivel, que suele ser una expresión de toxicidad de bajo nivel) con respecto a la biorreactividad de un control no tóxico. Las diferencias inferiores al 5% se consideran insignificantes e indican un cumplimiento probable, aunque no seguro. Si la instalación no superara una prueba crónica de Ceriodaphnia durante el perfil descrito aquí, indicaría que la planta está experimentando toxicidad crónica pasante. No se observó toxicidad aguda.

Esto es típico de una EDAR municipal sin usuarios industriales significativos, o con una industria que no genera residuos tóxicos significativos. Los vertederos con este perfil son candidatos de bajo riesgo a participar en la ERT.

## Ejemplo 5

**Un perfil intermitente de toxicidad de los efluentes (trazado a lo largo de un mes con la prueba de comparación Microtox®).**

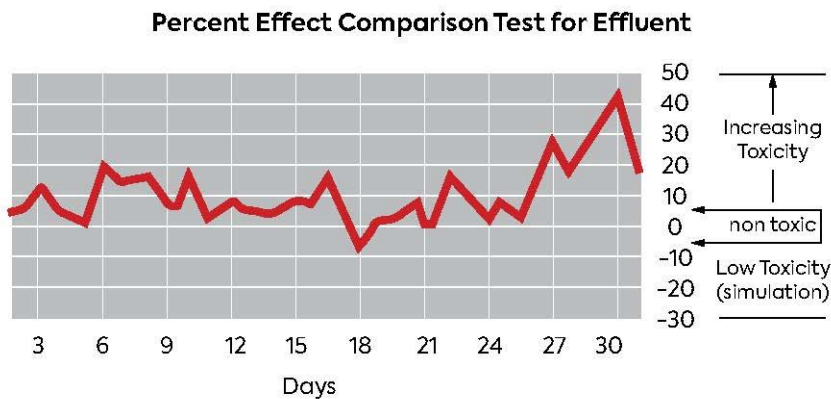
Esto es típico de una EDAR municipal con algunos contribuyentes industriales significativos, o contribuyentes que generan contaminantes que son difíciles de tratar, o una planta de tratamiento que recibe toxicidad en babosas. Los vertidos con este perfil son candidatos a verse implicados en un ERT, debido a excursiones intermitentes de toxicidad en su efluente.



## Ejemplo 6

### Perfil de efluentes de alta toxicidad (trazado a lo largo de un mes con la prueba de comparación Microtox®).

Este perfil es característico de una EDAR anticuada, con exceso de trabajo o difícil de operar. Con una toxicidad aguda continua, es probable que esta planta ya esté implicada en una ERT.



### Revisión de los perfiles de toxicidad de los efluentes

Las instalaciones con perfiles como el del Ejemplo 6 necesitan obviamente una identificación interna de la toxicidad para el control del proceso y la protección de la biomasa. Los perfiles de toxicidad de los efluentes de los Ejemplos 4 y 5 presentan los problemas más difíciles en la identificación y reducción de la toxicidad en los efluentes. Los niveles de toxinas en efluente del Ejemplo 4 son tan bajos en esemomento que su detección e identificaciónson difíciles.

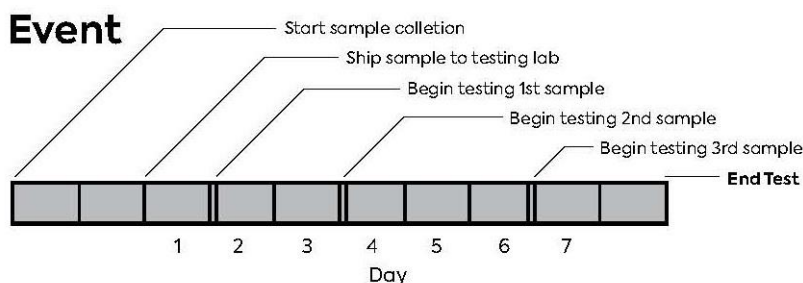
Los plaguicidas pueden causar este tipo de perfil. El ejemplo 5 no es tan difícil, porque se observó fácilmente una toxicidad aguda intermitente, suficiente para provocar el fallo de una prueba crónica de Ceriodaphnia. Cuando una instalación no supera una prueba de Ceriodaphnia, a menudo se asume falsamente que la plantaestá experimentando un traspaso de toxicidad crónica. La toxicidad crónica puede haber desempeñado un papel en el fallo, pero es incluso más probable en este ejemplo que el fallo fuera causado por toxicidad aguda intermitente.

### Revisión de los procedimientos de prueba de conformidad

Las pruebas TRE revelan cómo una instalación que experimenta toxicidad aguda intermitente, como en el ejemplo 5, puede elegir fácilmente un momento inoportuno para iniciar una prueba de conformidad, fallarla y quedar fuera de conformidad. Se expone una muestra compuesta de 24 horas al organismo de ensayo durante dos días. A continuación, setoma otra muestra compuesta y se exponen los mismos organismos

a ella durante dos días. A continuación, se toma una muestra compuesta final y se expone a los organismos a la muestra duranteel resto de la prueba. Cada día se vierte entre el 80 y el 95% de la muestra que se está analizando y se toma una muestra nueva.

. Los organismos se exponen a tres muestras compuestas separadas durante un período de una semana. El siguiente ejemplo se refiere al protocolo más utilizado en los ensayos de efluentes NPDES en los que intervienen múltiples muestras y renovaciones. He aquí un histograma de una secuencia de ensayo de muestras compuestas:





No es necesaria la correlación interespecies antes de utilizar Microtox®. Se puede iniciar un programa interno de reducción de toxicidad simplemente desarrollando Perfiles de Toxicidad Diarios del afluente y efluente de la planta de aguas residuales. La mayoría de los usuarios de Microtox® nunca intentan determinar la correlación interespecies. Para el control del proceso de la planta de aguas residuales, una relación de respuesta razonable entre Microtox® y la biomasa es más relevante que gastar tiempo y esfuerzo en desarrollar una correlación numérica interespecies. Incluso si Microtox® pudiera decirle cuáles serían los resultados finales de la prueba de conformidad, una vez que la prueba comienza, debe continuar. Una gran cantidad de literatura documenta la correlación interespecies de Microtox®. Para aquellos que sientan la necesidad, se proporcionan algunas referencias útiles y técnicas de comparación en un apéndice.

## Fase II de la ERT interna

Si las pruebas de detección o comparación de efluentes muestran una toxicidad mensurable y si la batería de pruebas de conformidad incluye pruebas crónicas, es aconsejable realizar una investigación de la fase II. Deberá realizar una investigación de sentido común de las posibles fuentes de contaminación tóxica.

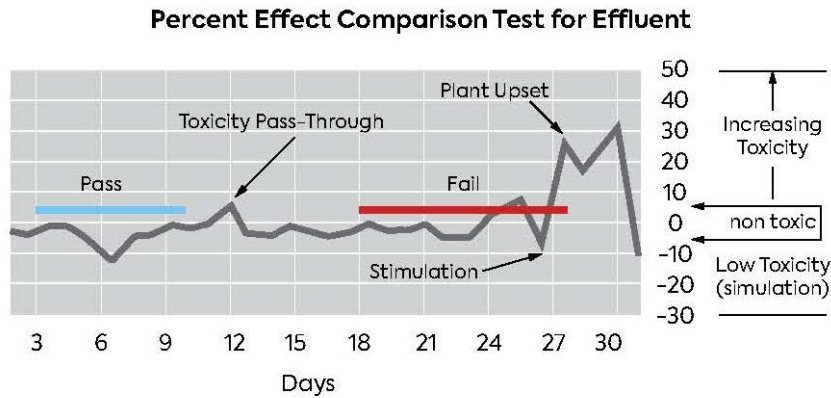
- ¿Se limpiaba algún equipo en las instalaciones?
- ¿Se estaba pintando?
- ¿Se produjo un vertido no notificado que llegó al sistema de aguas residuales?
- ¿Se ha modificado algún proceso en la planta de aguas residuales?
- ¿El decolorador está fuera de servicio?
- ¿Fue la lluvia un factor?
- ¿Cómo fueron las demás pruebas de calidad del agua y químicas específicas?
- ¿La toxicidad elevada está relacionada con una actividad inusual aguas arriba; por ejemplo, un contribuyente que libera materiales que pasan por el tratamiento sin reducción de la toxicidad?

## Fase III de la ERT interna

Una vez que la investigación haya dado respuesta a estas preguntas, se hayan identificado los problemas y se hayan desarrollado las soluciones, deberá iniciarse un programa de control rutinario para detectar futuros problemas cuando aún son menores. El programa de control rutinario variará en función de la instalación, la industria y la ciudad. Debe diseñarse para controlar situaciones que puedan preverse a partir de los perfiles de afluente y efluente de la planta previamente desarrollados.

No es infrecuente observar toxicidad en una de las muestras, pero no en las demás. Hay muchos otros pasos, como el almacenamiento, el envío y la renovación, y en teoría su ejecución está controlada por directrices estrictas. En la práctica, las directrices no siempre pueden seguirse, lo que añade un elemento de variabilidad a los resultados.

## Ejemplo 7 con histogramas superpuestos de la prueba de Ceriodaphnia



Los resultados finales pueden depender del día en que comience la prueba. La prueba realizada a principios de mes habría arrojado un aprobado, y la realizada más tarde, un suspenso. Para dar sentido a los resultados de las pruebas de conformidad, especialmente cuando se trata de toxicidad intermitente, es claramente importante saber cuál es la situación general.

Las EDAR suelen realizar varias pruebas diferentes, como el pH, SST, nitrógeno total, amoníaco, etc., generando datos útiles. Cuando los resultados de estas pruebas se tabulan y se muestran en una matriz que incluye los resultados de las pruebas de conformidad, como la que se muestra a continuación, pueden aparecer patrones para el ojo experimentado, que se correlacionan con los resultados de las pruebas de conformidad.

### Características de toxicidad de los efluentes

Pruebas específicas	Muestras									
pH	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○
TDS	●	○	○	○	●	●	○	○	○	○
DQ	●	○	○	○	○	○	○	○	●	○
o	○	○	○	○	○	○	○	●	○	○
Nitratos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
totales	●	○	●	○	○	○	○	○	○	○
Amoníaco	●	○	○	○	○	○	●	○	●	●
Salinidad	●	○	○	○	○	●	●	○	●	●
DBO	falla	pase	pase	pase	pase	pase	falla	pase	falla	pase
Microtox®										
Resultados de la prueba crónica										

○ - Dentro de los límites predeterminados  
 ● - Fuera de los límites predeterminados

## Resumen paso a paso para llevar a cabo un plan interno de perfil de toxicidad diario TRE

### Fase I

1. Empezar a analizar tanto el afluente como el efluente al menos una vez al día.
  - a) Realice una Prueba Básica Microtox diaria en el afluente combinado. Utilice estos datos para iniciar un perfil diario del afluente.
  - b) Pruebe cada corriente de afluente individual con la prueba básica si el tiempo lo permite.
  - c) Realice una prueba de comparación diaria del efluente. Grafique los datos para crear el perfil del efluente. Una toxicidad elevada del efluente suele ir precedida de una toxicidad elevada del afluente. Si no es así, el proceso de tratamiento puede necesitar un escrutinio.
2. Después de realizar un número suficiente (30-60 días) de Pruebas de Comparación diarias en el efluente, y Pruebas Básicas en el afluente, grafique los resultados y revíselos, buscando patrones y fenómenos que puedan causar cambios en la toxicidad. En este punto, será probablemente evidente qué corrientes introducen la mayor toxicidad a su planta y si su efluente tiene o no toxicidad. Modern Water Inc (MWI) puede asesorarle en esta interpretación inicial de los datos.
3. Tras analizar el efluente y trazar la inhibición durante 30 a 60 días, revise los resultados. Los datos de inhibición por sí solos pueden ser todo lo que necesita para determinar con qué frecuencia y cuánta toxicidad está presente en el efluente. Los picos de toxicidad en el efluente deben corresponderse directamente con los efectos detectados en las pruebas de conformidad utilizando otra especie. Una gran cantidad de toxicidad mostrada por Microtox puede correlacionarse con letalidad en otras especies. Una pequeña cantidad de toxicidad mostrada por Microtox puede correlacionarse con problemas de reproducción o crecimiento en las otras especies. Si el objetivo de los ensayos de efluentes es determinar una correlación entre especies (no siempre es el caso), será necesario realizar un bioensayo Microtox completo, utilizando uno de los protocolos diseñados para analizar muestras con baja toxicidad cada día.

### Fase II

4. Continuar las pruebas y la investigación si se observa una toxicidad elevada. Seguir realizando pruebas básicas Microtox en el afluente combinado y en cualquier corriente individual que pueda contribuir con altos niveles de toxicidad, hasta que se puedan identificar las fuentes del problema y desarrollar soluciones.

### Fase III

5. Iniciar un programa de mantenimiento y alerta temprana de Pruebas de Comparación programadas periódicamente para controlar el efluente final una vez que la toxicidad esté bajo control.

## Apéndice A

### Referencias sobre Microtox® Interspecies Correlation

Los siguientes puntos se encuentran en publicaciones a las que se hace referencia en la Bibliografía Microtox. Se encuentran en las guías de protocolo TRE publicadas por la USEPA. Sitúan a Microtox en perspectiva como organismo sustituto y, por tanto, como criba para analizar determinadas especies para las que la USEPA recomienda actualmente permisos NPDES.

#### **Protocolo de Evaluación de la Reducción de la Toxicidad en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales. EPA Doc. EPA/600/2-88/062,pg.12-2.**

*"Dependiendo de la especie que se vaya a utilizar, puede resultar más económico cultivar los organismos de la prueba que comprarlos. En algunos casos puede ser necesario utilizar una prueba de detección rápida, COMO UNA prueba de BIOLUMINISCENCIA bacteriana, por ejemplo Microtox®".*

#### **Generalized Methodology for Conducting Industrial Toxicity Reduction Evaluations, EPA,Doc. EPA/600/2-88/070. pg.A-10.**

*"Aunque el punto final de la prueba Microtox® (20 MINUTOS) no era un predictor exacto del punto final del bioensayo con peces (96 horas), se consideró que Microtox® era adecuado para la detección rentable de la toxicidad de los EFLUENTES por las siguientes razones: En todos los casos probados, si el bioensayo en peces identificaba toxicidad, Microtox® también la identificaba. Microtox® siempre indicaba al menos TANTA TOXICIDAD como el bioensayo en peces, y a menudo más, eliminando la posibilidad de un resultado falso negativo."*

## Apéndice B

### Métodos de comparación de datos de pruebas entre especies

La Bibliografía Microtox contiene otras referencias a estudios comparativos entre especies. Los datos indican que cuanto más compleja es la muestra, mayor es el índice de correlación entre las especies de ensayo comunes. También indican que hay algo fundamental en la toxicidad. Salvo cierta variabilidad esperada en el efecto de la dosis, ninguna de las especies de ensayo comunes que se encuentran en la cadena alimentaria tolera muy bien los tóxicos. El organismo Microtox, *Vibrio fischeri* (*P. phosphoreum*), fue seleccionado de entre unos 70 organismos bioluminiscentes por MWI porque demostró la mayor sensibilidad en una amplia gama de tóxicos. Las siguientes comparaciones ponen de relieve estas observaciones:

Organism Compared with Microtox®	Results of Study	Author, Date and MWI Reference No.
Fathead Minnow EC50	r = 1.0 r = 0.9	Chang et al, 1987 #5
Selenastrum Rainbow trout	90% agreement 84% agreement	Blaise et al, 1987, #75
Oyster Embryo Amphipod	r = 0.62 r = 0.48	Williams et al, 1986, #63
Daphnia Magna	86% agreement	Vassuer et al, 1984, #24
0.09% Daphnia Magna	Good agreement for 162 wastewater samples	Vassuer et al, 1983, #127
Guppies, Brown trout, Sheephead minnow, Bluegill, Rainbow trout, Daphnia Magna and Shrimp	Respective R = 0.89, 0.92, 0.80, 0.77, 0.74, 0.87, and 0.68	Ribo et al, 1983, #20
Fathead Minnow	r = 0.91	Indorato et al, 1983, #10



**DISTRIBUIDOR EXCLUSIVO**

**instrumentación analítica, s.a.**

Tel.: 934787161 | [barcelona@instru.es](mailto:barcelona@instru.es)

Tel.: 913588879 | [madrid@instru.es](mailto:madrid@instru.es)

**Más información en nuestra web: [www.instru.es](http://www.instru.es)**





**MODERN WATER**

[www.modernwater.com](http://www.modernwater.com)