

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAestrÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ÁREA TEMÁTICA: BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA

FACULTAD DE QUÍMICO-FARMACOBIOLOGÍA

DPTO. DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



EVALUACIÓN DEL RIESGO TÓXICO DERIVADO DE LA PUESTA EN MARCHA DE DESALADORAS SOBRE ECOSISTEMAS MARINOS A TRAVÉS DEL PLANCTON

TESIS PARA LA OBTENCIÓN DE GRADO EN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Q.F.B. ALONDRA ALELIE CORTÉS TÉLLEZ

ASESORÍA: **D.C. MARÍA CARMEN BARTOLOMÉ CAMACHO¹**

CO-ASESORÍA: **D.C. SEBASTIÁN SÁNCHEZ-FORTÚN RODRÍGUEZ²**

COMITÉ TUTORAL:

D.C. BERENICE YAHUACA JUÁREZ³

M.C. BLANCA NATERAS MARÍN⁴

D.C. CONSUELO DE JESÚS CORTÉS PENAGOS⁵

Morelia, Michoacán, Marzo del 2015.

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	iv
I. GLOSARIO	III
II. SIGLAS	VIII
III. RESUMEN	X
IV. ABSTRACT	XII
V. INTRODUCCIÓN.....	XIV
1. MARCO TEÓRICO	17
1.1. Desalación	17
1.2. Proceso de la desalación	2
1.3. Constituyentes del agua salobre y salina.....	3
1.4. Desalación por Ósmosis Inversa	7
1.5. Sistemas de tratamiento para el acondicionamiento del agua antes y después de la desalación por OI	9
1.6. Tratamiento.....	11
1.7. Post-tratamiento químico	12
1.8. Mantenimiento y limpieza de membranas	15
1.9. Situación de la Desalación en México	17
2. Toxicidad acuática de la salmuera resultante y de los productos químicos dosificados durante el proceso por ósmosis inversa.....	22
2.1. Utilización y efectos tóxicos de los distintos productos químicos dosificados en la OI sobre el ecosistema marino	25
2.2. Desinfectantes.....	26
2.3. Alguicidas	32
2.4. Coagulantes-floculantes metálicos.....	38
2.5. Agentes oxidantes	41
2.6. Agentes de limpieza y mantenimiento de las membranas.....	44

3.	Importancia de la implementación de un modelo bioindicador para evaluar la toxicidad de sustancias químicas	48
3.1.	Tetraselmis suecica	53
3.2.	Artemia franciscana	56
4.	JUSTIFICACIÓN	61
4.1.	HIPÓTESIS	63
4.2.	OBJETIVO GENERAL	64
4.2.1.	OBJETIVOS PARTICULARES	64
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	66
5.1.	Sustancias químicas a estimar	66
5.2.	Determinación de CL ₅₀ y NOEC (Concentración de Efecto no Observado) en Artemia franciscana	67
5.3.	Material biológico	67
5.4.	Determinación de la CI ₅₀₍₇₂₎ sobre Tetraselmis suecica	69
6.	ANÁLISIS DE DATOS	71
6.1.	Determinación de los valores de CL ₅₀₍₂₄₎ sobre Artemia franciscana	71
7.	RESULTADOS. Exposición en forma individual	76
7.1.	Exposición sobre Artemia franciscana de los xenobióticos en forma individual	76
8.	Exposición sobre Tetraselmis suecica de los xenobióticos en forma individual	84
8.1.	Determinación de la CI ₅₀₍₇₂₎ del CuSO ₄ ·5H ₂ O sobre Tetraselmis suecica	84
9.	Efecto de las distintas combinaciones de los 5 agentes químicos ensayados sobre Artemia franciscana	99
10.	Estimación de las combinaciones ensayadas de los 5 agentes químicos sobre Tetraselmis suecica	114
11.	DISCUSIÓN	129
11.1.	Comparación de la toxicidad exhibida por los agentes químicos ensayados de manera individual en Artemia franciscana y Tetraselmis suecica	130
11.2.	Determinación sobre el efecto sobre la toxicidad que presentan las distintas combinaciones de los agentes químicos ensayados en Artemia franciscana y Tetraselmis suecica	136
12.	CONCLUSIONES	140
13.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	143

CONTENIDO DE TABLAS

TABLA 1. TIPOS DE AGUA DE ACUERDO A LAS SALES DISUELTAS (IMTA, 2007)	3
TABLA 2. COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL AGUA DE MAR Y SALOBRE (IMTA, 2007; WHO, 2007)	4
TABLA 3. SUSTANCIAS UTILIZADAS EN EL PRE Y POST-TRATAMIENTO EN LA DESALACIÓN POR OI (WHO, 2007; VARÓ, ET AL., 2011).....	13
TABLA 4. SUSTANCIAS UTILIZADAS EN LA LIMPIEZA DE MEMBRANAS (OI) (VARÓ, ET AL., 2011).....	15
TABLA 5. PLANTAS DESALADORAS POR PROCESO Y POR ESTADO (IMTA, 2007; DÉVORA, ET AL., 2012) (DÉVORA, ET AL., 2012)	19
TABLA 6. CARACTERÍSTICAS DEL CONCENTRADO EN LOS DISTINTOS PROCESOS DE LA DESALACIÓN (YOUNOS, 2005) 23	
TABLA 7. RELACIÓN TEMPERATURA/SALINIDAD DE ACUERDO A LA PROFUNDIDAD DEL MAR (CIFUENTES, ET AL., 1997)	24
TABLA 8. PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS DEL SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	34
TABLA 9. PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS Y TIEMPO DE DEGRADACIÓN ACUÁTICA DEL GLUTARALDEHÍDO	45
TABLA 10. CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE BIOENSAYOS EN LABORATORIO PARA LA EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE SUSTANCIAS QUÍMICAS (RAMÍREZ & MENDOZA, 2008)	51
TABLA 11. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE TETRASELMIS SUECICA (WENDY GUIRY IN GUIRY & GUIRY, 2015)	54
TABLA 12. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ARTEMIA FRANCISCANA	56
TABLA 13. PRODUCTOS DEL PRE-TRATAMIENTO, POST-TRATAMIENTO Y LIMPIEZA DE MEMBRANAS EN DESALACIÓN POR ÓSMOSIS INVERSA	66
TABLA 14. SUSTANCIA DE REFERENCIA UTILIZADA COMO CONTROL POSITIVO	67
TABLA 15. INTERPRETACIÓN SOBRE EL EFECTO SINÉRGICO, ANTAGÓNICO O ADITIVO (CHOU, ET AL., 1984; CHOU & MARTIN, 2005)	74
TABLA 16. VALORES DE LA NOEC Y CL ₅₀₍₂₄₎ DEL CU ₂ SO ₄ Y SUS LÍMITES CONFIANZA DEL 95%.....	76
TABLA 17. VALORES DE LA NOEC Y CL ₅₀₍₂₄₎ DEL KMNO ₄ Y SUS LÍMITES CONFIANZA DEL 95%	77
TABLA 18. VALORES DE LA NOEC Y CL ₅₀₍₂₄₎ DEL NACLO Y SUS LÍMITES CONFIANZA DEL 95%	78
TABLA 19. VALORES DE LA NOEC Y CL ₅₀₍₂₄₎ DEL FECL ₃ Y SUS LÍMITES CONFIANZA DEL 95%.....	79
TABLA 20. VALORES DE LA CL ₅₀₍₂₄₎ Y 24H-NOEC DEL FECL ₃ Y SUS LÍMITES CONFIANZA DEL 95%	80
TABLA 21. VALORES DE REFERENCIA DEL CL ₅₀₍₂₄₎ Y 24H-NOEC DEL DICROMATO POTÁSICO SOBRE NAUPLIOS DE 24H DE ARTEMIA FRANCISCANA CON SUS RESPECTIVOS LÍMITES DE CONFIANZA AL 95%.....	81
TABLA 22. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL EFECTO DE LETALIDAD DEL CU ₂ SO ₄ , KMNO ₄ , NACLO, FECL ₃ Y C ₅ H ₈ O ₂	81
TABLA 23. TEST DE TUKEY DE LA COMPARACIÓN DE LOS 5 AGENTES QUÍMICOS ENSAYADOS.....	82

TABLA 24. TEST DE DUNNETT EN LA COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE LOS 5 AGENTES QUÍMICOS CON RESPECTO AL $K_2Cr_2O_7$ COMO SUSTANCIA DE REFERENCIA	82
TABLA 25. DETERMINACIÓN DE LA $CI_{50(72)}$ LC 95% SOBRE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO, FOTOSISTEMA II Φ_{PSII} Y PRODUCCIÓN DE O ₂ EN PG EN TETRASELMIS SUECICA.....	84
TABLA 26. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA COMPARACIÓN MÚLTIPLE) POR TEST DE TUKEY SOBRE TETRASELMIS SUECICA	84
TABLA 27. COMPARACIÓN DE PN/R POR EXPOSICIÓN DE $CuSO_4$ EN T. SUECICA.....	86
TABLA 28. DETERMINACIÓN DE LAS $CI_{50(72)}$ SOBRE LA MICROALGA TETRASELMIS SUECICA.....	87
TABLA 29. TEST DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE TUKEY SOBRE TETRASELMIS SUECICA.....	88
TABLA 30. COMPARACIÓN DE PN VS. R DEL $KMnO_4$ POR TEST T-STUDENT PAREADA EN T. SUECICA.....	89
TABLA 31. DETERMINACIÓN DE $IC_{50(72)}$ DEL $NaClO$ SOBRE T. SUECICA	89
TABLA 32. COMPARACIÓN DE LOS 3 PARÁMETROS POR TEST DE TUKEY DEL $NaClO$ SOBRE T. SUECICA.....	90
TABLA 33. COMPARACIÓN DE PN VS. R DEL $NaClO$ POR TEST T-STUDENT PAREADA EN T. SUECICA.....	91
TABLA 34. VALORES DE $IC_{50(72)}$ DEL $FeCl_3$ SOBRE T. SUECICA.....	92
TABLA 35. TEST DE TUKEY DEL $FeCl_3$ SOBRE LAS $IC_{50(72)}$ EN T. SUECICA.....	93
TABLA 36. COMPARACIÓN DE PN VS. R POR TEST T-STUDENT PAREADA EN T. SUECICA	93
TABLA 37. VALORES DE $IC_{50(72)}$ DEL GA SOBRE T. SUECICA	94
TABLA 38. COMPARACIÓN MÚLTIPLE (TEST DE TUKEY) ENTRE LAS TRES VARIABLES ESTUDIADAS DE T. SUECICA DEBIDO AL GA	95
TABLA 39. COMPARACIÓN DE PN VS. R POR TEST T-STUDENT PAREADA EN T. SUECICA	96
TABLA 40. ANOVA DEL EFECTO EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO (G), FOTOSÍNTESIS BRUTA (PG), RENDIMIENTO CUÁNTICO FOTOSINTÉTICO (Φ_{PSII}), FOTOSÍNTESIS NETA (PN) Y RESPIRACIÓN (R) SOBRE T. SUECICA	96
TABLA 41. TEST DE TUKEY SOBRE EL EFECTO EN LOS 5 PARÁMETROS ENSAYADOS EN T. SUECICA ($CuSO_4$, $KMnO_4$, $NaClO$, $FeCl_3$ Y $C_5H_8O_2$).....	97
TABLA 42. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO $CuSO_4/KMnO_4$ (FA), ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC) SOBRE A. FRANCISCANA	100
TABLA 43. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO $NaClO/KMnO_4$ (FA), ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC) SOBRE A. FRANCISCANA	101
TABLA 44. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO $FeCl_3/KMnO_4$ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC).....	102
TABLA 45. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO $GA/KMnO_4$ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC).....	103
TABLA 46. RESPUESTA DE LA COMBINACIÓN DE $C_5H_8O_2/KMnO_4$ CON RESPECTO A LAS DOSIS UTILIZADAS EN LA DESALACIÓN OI	104
TABLA 47. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO $NaClO/FeCl_3$ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC).....	104

TABLA 48. RESPUESTA DE LA COMBINACIÓN DE NaClO/FeCl ₃ CON RESPECTO A LAS DOSIS UTILIZADAS EN LA DESALACIÓN OI	105
TABLA 49. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO NaClO/CuSO ₄ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC)	106
TABLA 50. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO NaClO/GA (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC)	106
TABLA 51. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO FeCl ₃ /CuSO ₄ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC)	107
TABLA 52. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO FeCl ₃ /GA (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC) EN A. FRANCISCANA	109
TABLA 53. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO CuSO ₄ /GA (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC) EN A. FRANCISCANA	110
TABLA 54. RESPUESTA DE LA COMBINACIÓN DE CuSO ₄ /GA CON RESPECTO A LAS DOSIS UTILIZADAS EN LA DESALACIÓN OI	111
TABLA 55. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO CuSO ₄ /KMnO ₄ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC) EN T. SUECICA	115
TABLA 56. FRACCIÓN AFECTADA DEBIDO AL COMBO CuSO ₄ /FeCl ₃ (FA), (DRI) Y SU RESPECTIVO ÍNDICE DE COMBINACIÓN (IC) EN T. SUECICA	116
TABLA 57. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO NaClO/KMnO ₄ (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS).....	116
TABLA 58. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO FeCl ₃ /KMnO ₄ (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS).....	118
TABLA 59. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO CuSO ₄ /NaClO (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS) SOBRE TETRASELMIS SUECICA	119
TABLA 60. RESPUESTA DEL IC A LAS DOSIS APLICADAS EN LAS DESALADORAS	120
TABLA 61. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO FeCl ₃ /NaClO (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS) SOBRE TETRASELMIS SUECICA	121
TABLA 62. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO CuSO ₄ /GA (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS) SOBRE TETRASELMIS SUECICA	122
TABLA 63. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO KMnO ₄ /GA (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS) SOBRE TETRASELMIS SUECICA	123
TABLA 64. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO FeCl ₃ /GA (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS) SOBRE TETRASELMIS SUECICA	123
TABLA 65. IC (ÍNDICE DE COMBINACIÓN) DEL COMBO NaClO/GA (FA) Y SU DRI (ÍNDICE DE REDUCCIÓN DE DOSIS) SOBRE TETRASELMIS SUECICA	125

I. GLOSARIO

Absorción (biológica). Proceso de entrada o transporte, activo o pasivo, de una sustancia al interior de un organismo; puede tener lugar a través de diferentes vías.

Absorción (en química de superficies y coloides). Proceso por el cual un componente es transferido entre dos fases en contacto integrándose en una de ellas.

Acumulación. Sucesivas retenciones de una sustancia por un organismo diana, un órgano o una parte del medio ambiente, que conducen a un aumento de la cantidad o la concentración de la sustancia en los mismos.

Adaptación. 1. Cambios en un organismo, como respuesta a variaciones de las condiciones del ambiente, que se producen sin ninguna alteración irreversible del sistema biológico y sin exceder la capacidad normal de respuesta (homeostasis). 2. Proceso por el cual un organismo estabiliza sus condiciones fisiológicas después de un cambio ambiental.

Adición. La respuesta a una combinación de dos o más productos químicos es la suma aritmética de las respuestas individuales esperadas.

Adsorción. Enriquecimiento o concentración de uno o más componentes sobre la superficie de una interfase.

Aducto. Productos formados entre un xenobiótico, o sus metabolitos activos, y una macromolécula biológica, por ejemplo, ADN.

Antagonismo. La respuesta a una combinación de dos o más productos químicos es menor que la suma de las respuestas individuales esperadas. (a) Funcional: se produce cuando dos productos químicos se contrarrestan entre sí produciendo efectos opuestos sobre la misma función fisiológica. (b) Químico: reacción entre dos compuestos que generan un producto menos tóxico. (c) Disposicional: se produce cuando el ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) de una sustancia química se altera de forma que la concentración y/o la duración de la sustancia en el órgano diana se ven disminuidos.

(d) Receptorial: ocurre cuando dos sustancias se unen al mismo receptor produciendo un efecto menor que cuando son administrados de forma individual, o una antagoniza la acción del otro.

Bioactivación. Conversión metabólica de un xenobiótico a un derivado más tóxico.

Bioacumulación. Aumento progresivo de la cantidad de una sustancia en un organismo o parte de él, como consecuencia de que el ritmo de absorción supera la capacidad del organismo para eliminar la sustancia. Las sustancias bioacumulables alcanzan concentraciones crecientes a medida que se avanza en el nivel trófico.

Bioconcentración. Proceso por el cual una sustancia alcanza en un organismo una concentración más alta que la que tiene en el ambiente a que está expuesto.

Bioensayo. Procedimiento para evaluar la actividad biológica, la presencia o la cantidad de una sustancia (tóxico, toxina, hormona, antibiótico, etc.) mediante la medida de sus efectos sobre un organismo o cultivo celular en comparación con una preparación estándar apropiada. La actividad (respuesta) se mide como una función de las diferentes condiciones de exposición.

Biomagnificación. Secuencia de procesos que conducen a aumentar la concentración de una sustancia en un organismo con respecto a la del medio que se lo ha aportado. Acumulándose de forma creciente a lo largo de la cadena trófica. Se suele aplicar a los ecosistemas más que a los individuos.

Biotransformación. Reacciones que convierten los tóxicos en especies químicas distintas que pueden ser menos o más tóxicas que el compuesto original.

Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀). Proporción de una sustancia en un medio que origina una inhibición determinada (p. ej. de crecimiento, de movimiento, etc.), en un sistema de ensayo; la CI₅₀ causa el 50% de la inhibición máxima.

Concentración Letal Media (CL₅₀). Concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que mate al 50% de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas.

Concentración sin efecto observado (NOEC). Máxima concentración en términos del porcentaje, a la cual los organismos de ensayo son expuestos y no causa un efecto adverso determinado bajo condiciones idénticas a las de exposición.

Detoxificación. Procesos de transformación química haciéndolo menos tóxico o procesos fisiológicos facilitando la excreción del xenobiótico reduciendo la permanencia del mismo dentro del organismo.

Ecotoxicología. Estudio de los efectos tóxicos de los agentes físicos y químicos sobre las poblaciones y comunidades de los ecosistemas; abarca las formas de transferencia de estos agentes y sus interacciones con el ambiente.

Efecto adverso. Cambio en la morfología, fisiología, crecimiento, desarrollo o tiempo de vida de un organismo, con afectación de su capacidad funcional o de la homeostasis, o un incremento de su susceptibilidad a los efectos dañinos de influencias ambientales.

Eficacia. Medida de la capacidad intrínseca de una sustancia para producir un efecto. Se estima midiendo la altura máxima de la curva dosis-respuesta.

Eutrofización. Cambio adverso en las características biológicas o químicas de una masa de agua por depleción del contenido en oxígeno debido a depósito de materia orgánica como resultado de una producción primaria elevada al aumentar el aporte de nutrientes.

Evaluación de peligro. Establecimiento de las relaciones cualitativas y cuantitativas entre el peligro y el beneficio, mediante un complejo proceso en que se determine el significado del peligro identificado y se enfrente al posible beneficio; puede posteriormente conducir a una evaluación del riesgo.

Evaluación del riesgo. Establecimiento de las relaciones cualitativas y cuantitativas entre riesgos y beneficios, a través de un complejo proceso de determinación de los peligros identificados y estimados para aquellos organismos o poblaciones que puedan ser afectados.

Hipoxia. Contenido, presión parcial o tensión de oxígeno anormalmente bajo.

Hormesis. 1. Fenómeno de dosis-respuesta que se caracteriza por una estimulación a baja dosis y una inhibición a dosis altas. 2. Un contaminante a bajas dosis presenta el efecto contrario al que tiene en dosis elevadas.

Nivel de contaminación máximo (MCL). Valor definido en la legislación de EE.UU. para agua de bebida, basado en dos criterios: tiene en cuenta los efectos adversos (incluidas las poblaciones susceptibles) y consideraciones técnicas (concentraciones naturales de fondo).

El segundo está basado en características organolépticas (como sabor y color) más que de salud, pero tiene en cuenta las consideraciones técnicas. Sólo para carcinógenos animales y humanos se exige total ausencia.

Nivel máximo permisible (MPL). Valor establecido normalmente como combinación de concentración y tiempo, para agentes químicos y toxicoambientales, por encima del cual la exposición es perjudicial para la salud pública.

Peligro. Capacidad de un agente químico para ocasionar un daño a causa de sus propiedades específicas y a las circunstancias y grado de la exposición.

Potencia. Rango de concentración dentro del cual una sustancia produce respuestas crecientes, está influenciada por factores como el ADME.

Potenciación. Ocurre cuando una sustancia química no presenta un efecto tóxico en un determinado tejido u organismo, pero cuando se adiciona en conjunto con otra sustancia que si presenta efecto tóxico hace que la combinación sea mucho más tóxica.

Riesgo. La probabilidad de que aparezca un efecto nocivo debido a la exposición a dosis determinada de un agente químico durante un periodo específico.

Seguridad química. Garantía práctica de que los organismos no están expuestos a cantidades tóxicas de sustancias químicas; esto implica conseguir un riesgo aceptablemente bajo de exposición a sustancias potencialmente tóxicas

Sensibilidad especie-específica. Características cualitativas y cuantitativas de respuesta a sustancias potencialmente tóxicas que son distintivas de especies particulares de organismos.

Sinergismo. Efecto que se produce cuando los efectos de la combinación de dos productos químicos son mucho mayor que la suma matemática de sus efectos en forma individual.

Toxicidad aguda. Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de un corto plazo de tiempo (usualmente hasta 14 d) después de la administración de una dosis única (o una exposición dada) o tras dosis o exposiciones múltiples en 24 h.

Toxicidad crónica. Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos consecuentes a una exposición prolongada; éstos pueden aparecer durante o después de interrumpida la exposición.

Tóxico. Cualquier agente químico o físico capaz de producir un efecto adverso para la salud. Todos los agentes físicos y químicos son tóxicos potenciales, ya que su acción depende de la dosis y de las circunstancias individuales y ambientales.

Xenobiótico. En sentido estricto, cualquier sustancia que interactúa con un organismo y que no es uno de sus componentes naturales (sustancia exógena). Es decir, son sustancias sintetizadas químicamente produciendo un efecto adverso sobre el organismo.

II. SIGLAS

ATP. Adenosine triphosphate. Adenosín trifosfato

CI₅₀₍₇₂₎. Concentración que causa el 50% de inhibición sobre la población de estudio a las 72 de exposición

CL₅₀₍₂₄₎. Concentración que causa la letalidad sobre el 50% de la población de estudio a las 24h de exposición

CNA (Conagua). Comisión Nacional del Agua

CP. Cloropicrina

DNA. Deoxyribonucleic Acid. Ácido Desoxirribonucleico

DOC. Dissolved Organic Carbon. Carbono Orgánico Disuelto

DPBs. Disinfection By-Products. Subproductos de la Desinfección

DQO. Demanda Química de Oxígeno

DRI. Dose Reduction Index. Índice de Reducción de Dosis

Fa. Fracción afectada

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura)

GA. Glutaraldehído

GEUM. Gobierno de los Estados Unidos Mexicanos

HAAs. Ácidos haloacéticos

HANs. Halocetonitritos

HKs. Halocetonas

IC. Índice de Combinación

IMTA. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua

IPCS. International Programme on Chemical Safety. Programa Internacional de Seguridad Química

MCL. Maximum Contaminant Level. Nivel de Contaminante Máximo

NOEC. Concentración Máxima sin Efecto Observado

NOM. Natural Organic Matter. Materia Orgánica Natural

OECD. The Organization for Economic Co-operation and Development. Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico

OI. Ósmosis Inversa

Pg. Gross Photosynthesis. Fotosíntesis Bruta

Pn. Net Photosynthesis. Fotosíntesis Neta

PSI. Fotosistema I asociado a clorofila que absorbe a longitudes de onda de 700nm (P700)

PSII. Fotosistema II asociado a clorofila que absorbe a longitudes de onda de 680nm (P680)

R. Respiración

RNA. Ribonucleic Acid. Ácido Ribonucleico

ROS. Reactive Oxygen Species. Especies Reactivas de Oxígeno

SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

THMs. Trihalometanos

USEPA. United States Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América)

WHO. World Health Organization. Organización Mundial de la Salud (OMS)

III. RESUMEN

La importancia de las aguas costeras es estratégica, desde el punto de vista del suministro de agua potable. Para incrementar la disponibilidad de agua se requiere la aplicación de tecnologías como lo es la desalación de aguas marinas, obteniéndose un agua con una concentración salina muy baja adecuada a las necesidades agrícolas, industriales o para el consumo humano. A pesar de los muchos beneficios que esta tecnología ofrece, las preocupaciones se elevan sobre los posibles impactos negativos en el ambiente marino. Las cuestiones clave son los concentrados salinos y químicos vertidos directamente en el mar sin una neutralización aparente. Para evaluar el potencial de los impactos ambientales asociados con los distintos productos químicos aplicados en las plantas desaladoras que operan con OI, se realizaron distintos bioensayos de toxicidad a corto plazo a exposiciones de forma individual y en combinación de los compuestos utilizando organismos planctónicos como indicadores de toxicidad.

Entre los organismos se utilizó a nauplios de 24h de *Artemia franciscana* como representante del zooplancton, y a *Tetraselmis suecica* microalga representante del fitoplancton costero. Entre los índices de toxicidad valorados en ambos bioindicadores se encuentra la letalidad sobre el microcrustáceo a través de su expresión en $CL_{50(24)}$ (Concentraciones Letales en el 50% de la población de artemia a las 24h de exposición) de cada agente químico $CuSO_4$, $KMnO_4$, $FeCl_3$,

NaClO y $C_5H_8O_2$ seleccionados como representantes de los distintos tratamientos de las desaladoras de forma individual. De acuerdo al grado de potencia en toxicidad obteniéndose las siguientes $CL_{50(24)}$: 0.97mg L^{-1} para el GA, NaClO: 5.9mg L^{-1} , del $CuSO_4$ 28.9mg L^{-1} , $KMnO_4$: 36mg L^{-1} , y el $FeCl_3$ menos tóxico con $CL_{50(24)}$ de 202.7mg L^{-1} .

Con respecto en la microalga se estimó la inhibición de la tasa de crecimiento poblacional, alteración del flujo de electrones del PSII sobre el rendimiento cuántico fotosintético Φ_{PSII} , la producción en la fotosíntesis bruta ($P_g=P_n + R$) a través de su expresión en $CI_{50(72)}$ (Concentración Inhibitoria en el 50% de la población de la microalga a las 72h de exposición).

El resultado acorde al grado de potencia tóxica se obtuvo que el $CuSO_4$ fue más potente ($CI_{50(72)} G, \Phi_{PSII}$ y P_g 2.18, 3.03 y 2.62mg L^{-1}), seguido del NaClO ($CI_{50(72)} G, \Phi_{PSII}$ y P_g 2.39, 0.89 y 1.24mg L^{-1}), > GA valores de 5.67, 5.16 y 3.58mg L^{-1} ; en el $KMnO_4$ se necesitaron concentraciones entre 15 a 35mg L^{-1} ; y el $FeCl_3$ con $CI_{50(72)}$ 231.21, 122.20 y 123.60mg L^{-1} respectivamente.

Conjuntamente el balance de oxígeno en la fase luminosa (P_n) vs. Respiración (R) de la microalga también se ha estudiado, resultando que hubo diferencias significativas sobre la respuesta ocasionada en la respiración, siendo que el NaClO su acción fue directamente a la alteración de la respiración en la mitocondria, mientras que el $FeCl_3$ actuó a las concentraciones más bajas sobre la fase lumínica de la fotosíntesis. Los demás compuestos actuaron en ambos parámetros a dosis elevadas.

La última fase de ensayos estuvieron encaminados a la evaluación de los efectos derivados por las distintas combinaciones de los 5 agentes químicos sobre ambos bioindicadores por el sistema del Índice de Combinación. El resultado de todas las mezclas posibles en *Artemia* de dosis en las desaladoras se tradujo en efectos antagónicos, excepto en la mezcla del NaClO/ $FeCl_3$ exhibiendo acción aditiva. Con respecto a los efectos mostrados en *Tetraselmis* de igual manera resultaron en respuestas antagónicas excepto en las mezclas del $FeCl_3$ con $KMnO_4$ y este mismo con el $CuSO_4$ dando lugar a efectos sinérgicos y aditivos respectivamente.

Esta evaluación ambiental permitirá reducir significativamente los riesgos sobre el concentrado tomando en cuenta el nivel de sensibilidad del ecosistema marino con la correcta operación de los sistemas de tratamiento en la aplicación de los distintos agentes químicos durante el proceso de la desalación.

Palabras clave: Desalación, Ecotoxicología, *Artemia franciscana*, *Tetraselmis suecica*, Índice de Combinación

IV. ABSTRACT

The importance of coastal waters is strategic from the point of view to supply drinking water. In order to increase water availability, is required application of technologies such as the desalination of sea water to yield water with a very low salt concentration appropriate for agricultural, industrial needs and for human consumption. Despite the many benefits that this technology offers, concerns are raised about possible negative impacts on the marine environment. The key issues are concentrate saline and chemical spills directly into the sea without neutralization. To assess the potential environmental impacts associated with the various chemicals used in desalination plants operating with the OI technology, were performed different toxicity bioassays at short-term exposures individually and in combination of the compounds using planktonic organisms as indicators of toxicity.

Among the organisms were used nauplii of 24h of *Artemia franciscana* as representative of zooplankton, and the microalgae *Tetraselmis suecica* representative of the coastal phytoplankton. Among the toxicity endpoints measured in both biomarkers is lethality on microcrustacean through its expression in LC₅₀₍₂₄₎ (Lethal Concentration in 50% of the population of shrimp at 24h of exposure) of each chemical CuSO₄, KMnO₄, FeCl₃, NaClO and C₅H₈O₂ selected as

representatives of the different treatments of desalination plants individually. According to the degree of potency of toxicity are listed the following: $LC_{50(24)}$ 0.97mg L⁻¹ for the GA, NaClO: 5.9mg L⁻¹, the CuSO₄ with a $LC_{50(24)}$ of 28.9mg L⁻¹, KMnO₄: 36mg L⁻¹, and less toxic with $LC_{50(24)}$ 202.7 mg L⁻¹ is the FeCl₃.

Regarding to the microalgae inhibition of population growth, impaired flow of electrons from PSII photosynthetic quantum yield on Φ_{PSII} , production in brute photosynthesis ($P_g = P_n + R$) were estimated through its expression in $IC_{50(72)}$ (Inhibitory Concentration 50% of the population of the microalgae at 72 h of exposure).

According to the degree of toxic potency, the CuSO₄ was obtained that was more potent with $IC_{50(72)}$ G , P_g and Φ_{PSII} of 2.18, 3.03 and 2.62mg L⁻¹ respectively, followed by NaClO ($IC_{50(72)}$ G , P_g and Φ_{PSII} 2.39, 0.89 and 1.24mg L⁻¹), for the GA values on 5.67, 5.16 and 3.58mg L⁻¹, KMnO₄ concentrations between 15 and 35mg L⁻¹ were required to affect these parameters; and FeCl₃ with $IC_{50(72)}$ 231.21, 122.20 and 123.60mg L⁻¹ respectively.

Jointly the oxygen balance in the light phase (P_n) of the photosynthesis vs. Respiration (R) of the microalgae has also studied, resulting in significant differences on the response caused on respiration, being that the NaClO his action was directly impaired respiration in mitochondria, while the FeCl₃ acted to the lowest doses tested on the light phase of photosynthesis. Other compounds acted in both parameters at high doses.

The last phase of assays were designed to evaluating the effects of the different combinations of the five chemicals on both biomarkers by the combination index system. The result of all possible mixtures in *Artemia* according to desalination plants doses, resulted in antagonistic effects, except in the mixture of NaClO/FeCl₃ exhibiting additive action. With regard to the effects shown in *Tetraselmis suecica* likewise resulted in antagonistic responses except in the mixes of FeCl₃ with KMnO₄ and this same oxidant agent with the CuSO₄ resulting in synergistic and additive effects respectively.

This environmental assessment will significantly reduce the risks to concentrate taking into account the sensitivity of the marine ecosystem with the correct operation of the treatment systems in the implementation of various chemicals in the process of desalination.

Key words: Desalination, Ecotoxicology, *Artemia franciscana*, *Tetraselmis suecica*, Combination Index

V. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la importancia de las aguas costeras es estratégica, desde el punto de vista del desarrollo económico tanto por la diversidad de actividades económicas como por la producción de energéticos y la administración de agua potable. Sin embargo, el desarrollo acelerado de estas actividades económicas, han inducido un crecimiento demográfico desordenado, con los consecuentes conflictos ambientales derivados de la competencia por el espacio, el uso de los recursos y la generación de residuos y contaminantes (SEMARNAT, 2006).

En este sentido, el crecimiento demográfico obliga a encontrar nuevas fuentes alternativas de suministro de agua potable ya que no existe la posibilidad de incrementar la sobreexplotación en la que se encuentran una gran parte de los acuíferos a nivel mundial. Por ello, desde hace unas décadas, se ha incrementado la utilización de aguas marinas para su conversión en agua potable a través de plantas industriales de potabilización, también denominadas plantas desaladoras que operan por distintas tecnologías siendo la ósmosis inversa la más utilizada a nivel mundial, en las cuales se obtiene un producto beneficioso que

es el agua potable a través de la separación de sales y materia orgánica presente, pasando por distintos tratamientos.

El propósito de este sistema de tratamientos es proteger las membranas de las incrustaciones por depósitos de suciedad, biológicas y/o químicas; posteriormente el agua desalinizada, que ha pasado a través de las membranas, a continuación, recibe un tratamiento final, que incluye el ajuste de pH, reducción de corrosividad y su desinfección, conjuntamente se incluye un sistema secundario utilizado para la limpieza química periódica de las membranas de ósmosis inversa. La salmuera resultante [70,000ppm] se devuelve luego al mar la cual puede contener residuos de los productos químicos utilizados en los sistemas de tratamiento de agua (Einav & Harussi, 2002; De la Fuente, et al., 2008).

No obstante, su aceptación está todavía sometida a una serie de condicionantes que tienen que ver con los efectos negativos que presenta sobre el ecosistema acuático marino siendo el receptor del efluente de la salmuera y los residuos químicos generados de las desaladoras (Medina, 2013). Este vertido es continuo y acumulativo en la zona de descarga (costas principalmente), por lo que se traduciría en un constante peligro de la descarga del concentrado salino y químico sobre el funcionamiento y la integridad del ecosistema costero (Lattemann & Höpner, 2008).

Para evaluar el riesgo ecotoxicológico del efluente concentrado, en el presente proyecto se planteó como objetivo general la estimación del impacto tóxico en los ecosistemas costeros sobre organismos plantónicos implementando como modelos bioindicadores a nauplios de *Artemia franciscana* y microalgas *Tetraselmis suecica* mediante la exposición a concentraciones exponenciales y a las dosis aplicadas en las desaladoras por sistemas de membranas, de los distintos compuestos químicos representantes de cada sistema de tratamiento sobre el comportamiento expresado en índices de toxicidad sobre estos organismos planctónicos.

SECCIÓN I. MARCO TEÓRICO

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Desalación

El volumen de agua en el planeta se estima en unos 1,460 millones de km³. El 97.5% es agua salada contenida en los mares y los océanos y sólo el 2.5% agua dulce, entre ellos se encuentran glaciares y capas de hielo (68.9%), también una porción importante se encuentra atrapada en depósitos subterráneos profundos (30.8%) y sólo el 0.3% de esta agua dulce se localiza en los lagos y lagunas, son los principales depósitos de agua dulce superficial en el planeta y su volumen de agua es 40 veces mayor que el de los ríos y arroyos. Las aguas subterráneas representan entre el 25 y 40% del agua potable del mundo. En nuestro país, con el agua subterránea se cubre 75% de la demanda de agua en las zonas urbanas, el 61% de la industria y 33% en la agricultura, bajo este intenso uso, un número importante de acuíferos de acuerdo con el Atlas de la Comisión Nacional del Agua (2012), el 40% de los 282 acuíferos más importantes que proveen el 66% del agua utilizada en todo el país, se encuentran actualmente sobreexplotados (UNESCO, 2000; CNA, 2012).

Acorde a esta sobreexplotación el Programa Nacional Hídrico 2007-2012 (SEMARNAT, 2007) y al Programa Nacional de Desarrollo 2007-2012 (GEUM, 2007) señalan que para incrementar la disponibilidad de agua en el país se requieren desarrollar proyectos e invertir en tecnologías que permitan hacer un mejor uso del recurso hídrico incluyendo el proceso de la desalación de aguas salobres o marinas implementando plantas desaladoras en las zonas costeras en el territorio nacional.

La tecnología de la desalación o desalinización de aguas salobres y salinas, se introdujo en el Golfo Pérsico a principios de 1960 y la implementación de las primeras plantas desaladoras fue en 1970 (FAO, 2006; WHO, 2007; Cotruvo, et al., 2011); así como la primera tecnología de desalinización de aguas marinas que se desarrolló fue la destilación térmica (FAO, 2006).

Actualmente representa una alternativa, en algunos casos única para el suministro esencial de agua en determinadas zonas del planeta (De la Fuente, et al., 2008). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la escasez de agua se estima que afecta a una de cada tres personas a nivel mundial. Se espera que esta situación se exacerbe debido al aumento del crecimiento demográfico, la urbanización, el cambio climático así como el incremento de las distintas actividades económicas (WHO, 2011).

1.2. Proceso de la desalación

Esta tecnología consiste en la separación y en la remoción de sales disueltas, turbidez, dureza, microorganismos que se encuentran presentes en el agua (bacterias, algas, protozoarios, algunos hongos y virus) materia orgánica, residuos de plaguicidas y otros contaminantes debido a los efluentes de aguas procedentes de uso industrial, agrícola o acuícola. Además corresponde en el ablandamiento del agua para convertirlas en agua potable (Ministerio de Sanidad y Política Social Española, 2009).

El proceso maneja tres flujos de acuerdo con Flores, et al., (2004), y el tipo de calidad de agua obtenida por la desalación (Figura 1, Tabla 1):

- Agua de mar o salobre a ser tratada (alimentación)
- Agua de baja concentración en sales (producto)

- Agua rechazada conteniendo alta concentración de sales (salmuera)

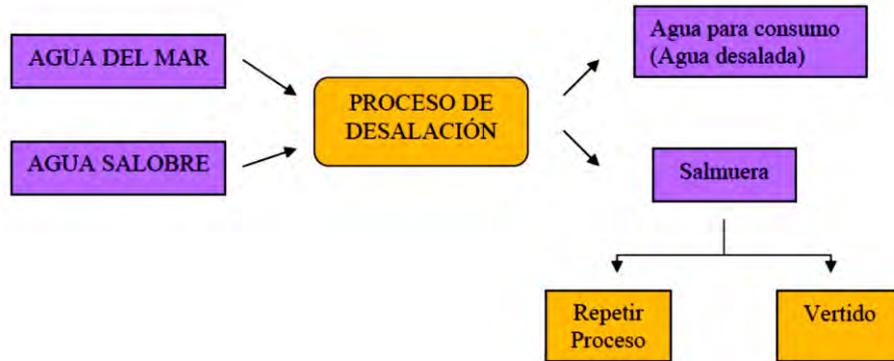


Figura 1. Proceso general de la desalación (Albaina, 2007)

Tabla 1. Tipos de agua de acuerdo a las sales disueltas (IMTA, 2007)

Tipo de agua	Salinidad (ppm de TDS*)	Sitios/Usos
Ultrapura	0.03	Aguas de abastecimiento urbano y riego
Pura	0.3	Aguas de abastecimiento urbano y riego
Desionizada	3	Aguas de abastecimiento urbano y riego
Dulce (potable)	<1000	Consumo humano
Salobre	1000-10,000	Aguas de riego- Aguas de drenaje y subterráneas
Salina	10,000-30,000	Aguas subterráneas
Marina	30,000-40,000	Agua marina
Salmuera	>50,000	-

1.3. Constituyentes del agua salobre y salina

Para llevar a cabo el sistema general de desalar, el agua presenta diferencias sobre la composición y características generales sobre el agua de mar y salobre, enlistándose en la siguiente tabla:

Tabla 2. Composición y características del agua de mar y salobre (IMTA, 2007; WHO, 2007)

Parámetro	Intervalos de referencia Agua marina	Agua salobre
Temperatura °C	15-35	18.3-29.4 °C
pH	7.9-8.1	7.8-8.3
Sales disueltas (mg/l)	30,000-45,000	2849-3450
Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 20°C	44,000-58,000	1.000-2.000
<i>Sales (mg/l)</i>		
Bicarbonatos	120-170	353-385
Sulfatos	2,425-3,000	943-1208
Cloruros	17,500-21,000	605-888
Bromuros	59-120	
Nitratos	0.001-4,0	1
Fluoruros	1	
Boro	4-6	
Amonio	0.005-0.05	
Sodio	9,600-11,700	552-739
Potasio	350-500	9
Calcio	375-525	230-272
Magnesio	1,025-1,400	86-108
Estroncio	12-14	3
Sílice	0.01-7.4	25
Carbono orgánico	1.2-3.0	
Nitrógeno orgánico	0.005-0.03	

A partir del 2011, han sido instaladas 15,300 plantas desaladoras a nivel mundial, de las cuales 11,600 están en funcionamiento con una producción neta de 68.2 millones de $\text{m}^3/\text{día}$. Alrededor del 45% de la capacidad instalada de plantas desaladoras se localizan en la región del Golfo de Asia occidental, mientras que América del Norte presenta el 12% de la capacidad instalada, Asia, aparte de la del Golfo, constituye alrededor del 9.6% y el Norte de África y Europa (principalmente España) representan el 6.5% y 12.5% respectivamente, mientras en Australia el 3,2% (WHO, 2011; Cotruvo, et al., 2011). Sin embargo, las estadísticas mostradas anteriormente están cambiando a medida que aumenta la demanda de la obtención de agua potable por esta tecnología; se espera que la capacidad llegue por lo menos a 94 millones de $\text{m}^3/\text{día}$ en el 2015 (Cotruvo, et al., 2011). Los tamaños en el diseño de una planta desaladora van desde 20-100 $\text{m}^3/\text{día}$ a más de 1, 000,000 $\text{m}^3/\text{día}$ dependiendo de la tecnología manejada (WHO, 2007).

Entre las tecnologías utilizadas para llevar a cabo el proceso de desalación de acuerdo con el IMTA, (2007) se desarrollaron las siguientes:

- A. Sistemas térmicos (destilación)
 - Evaporación de múltiple efecto
 - Evaporación instantánea multi-etapa
 - Compresión de vapor
 - Evaporación solar
- B. Sistemas de membrana
 - Ósmosis inversa
 - Electrodialisis
- C. Otros
 - Intercambio iónico
 - Congelación
 - Energía nuclear

Los procesos de destilación (térmicos) imitan el ciclo del agua, calentando el agua a desalar hasta producir vapor que posteriormente condensado forma el agua producto (Figura 2), tratan grandes volúmenes de agua 55,000 m³/día, y se construyen a menudo en conjunto con las centrales eléctricas como doble propósito. Mientras que en la evaporación solar se condensa el agua sobre una superficie más fría para formar el agua desalada, sin embargo, este proceso produce sólo una pequeña cantidad de agua (FAO, 2006).

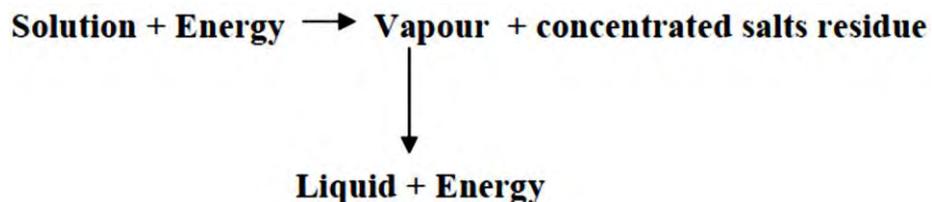


Figura 2. Representación del proceso de desalación por destilación (WHO, 2007)

Por otro lado, en los procesos de membrana, tales como la electrodiálisis y la ósmosis inversa, el agua en su tratamiento permanece en estado líquido que se hace pasar a través de una membrana semipermeable (Figura 3).

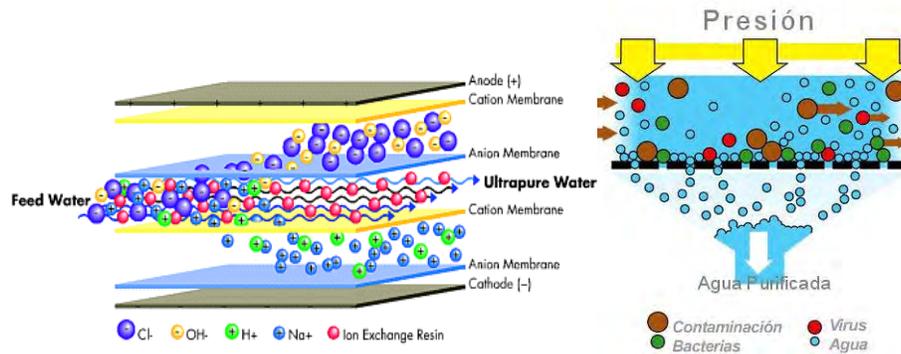


Figura 3. Electrodiálisis y Ósmosis Inversa

En los procesos por congelación, el agua pasa por una fase sólida, y el intercambio iónico con resinas cargadas para intercambiar por ejemplo, protones H⁺ por el Na⁺ contenido en el agua de mar y así generar agua con una menor concentración de sales (Figura 4).

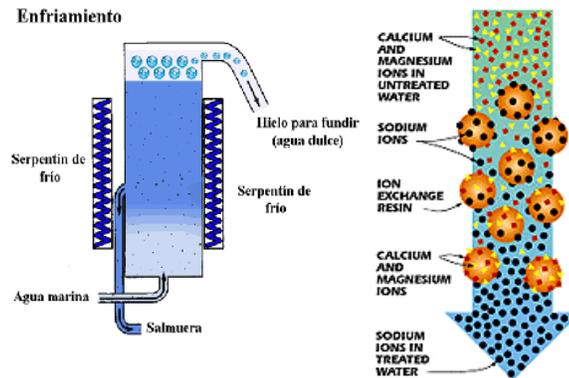


Figura 4. Desalación por congelación e intercambio iónico

El proceso de Electrodiálisis se aplica para desalar agua salobre, con concentraciones salinas menor de 10 g/litro, mientras que la Ósmosis Inversa y la Destilación se aplican para el agua de mar, con una concentración de sales superior a 30 g/litro (FAO, 2006). Sin embargo, dentro de

los procesos de desalación, la Ósmosis Inversa (OI) es uno de los más utilizados en América y Europa principalmente y se espera que para el 2016, sea la tecnología predominante a nivel mundial (Figura 5) (Cotruvo, et al., 2011). Esto debido principalmente a su bajo consumo energético y la reducción en el costo del agua potable obtenida (Fernández-Torquemada, et al., 2009).

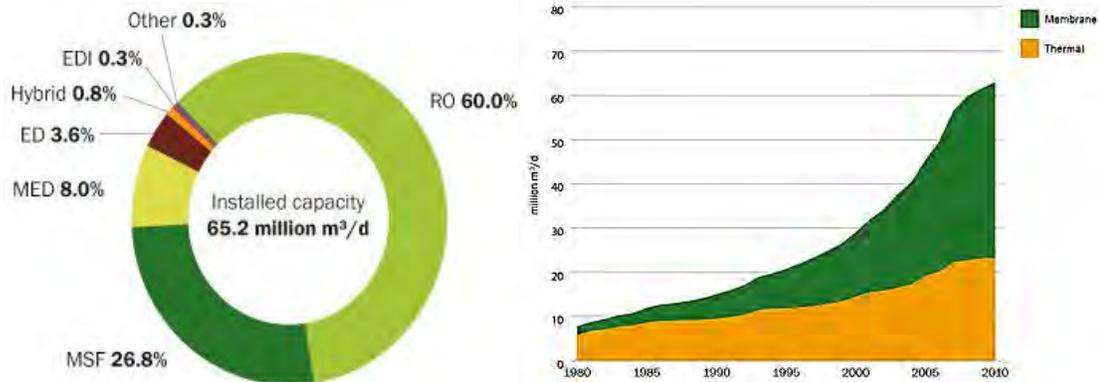


Figura 5. Capacidad total instalada y tecnología predominante en la Desalación (DesalData.com, 2012)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el proceso de desalación, logra reducir los SDT del agua de mar a un valor menor a 500 mg kg⁻¹ para utilizarla como agua potable (OMS, 2003).

1.4. Desalación por Ósmosis Inversa

Tecnología desarrollada en la década de 1950 por Loeb y Sourirajan (Cohen & Glater, 2010); consiste en utilizar una membrana semipermeable para la separación y remoción de los sólidos disueltos, orgánicos, pirogénicos, materia coloidal, microorganismos, virus y bacterias presentes en el agua. El agua fluye a través de la membrana, es forzada por presión a que pase de la parte de mayor concentración hacia la parte de menor concentración, la presión debe ser superior a la presión osmótica (Figura 6). Las partículas a retener tienen tamaños del orden de 0.0001 μm.

Cuanto mayor sea la concentración de sales en el agua a desalar (Tabla 2), mayor será la presión que se requiere. La presión requerida para la desalinización de aguas salobres se encuentra entre el intervalo de 100-270 kPa, mientras que la requerida para el agua de mar, se necesitan rangos de 550 a 1000 kPa de presión (FAO, 2006; Tarnacki, et al., 2012).

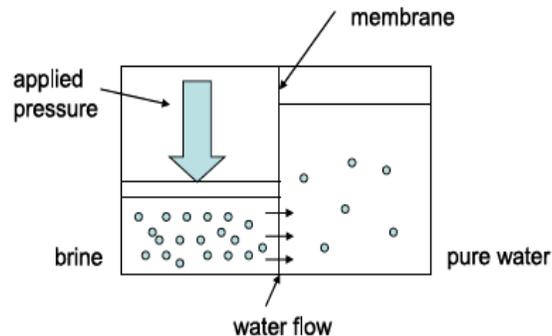


Figura 6. Sistema del proceso de desalación por Ósmosis Inversa (*WateReuses Association, 2011; Tarnacki, et al., 2012*)

La ósmosis inversa en sí no es un proceso de filtración verdadero, ya que las sales disueltas y otros componentes del agua de mar y salobre no se eliminan únicamente a causa de su tamaño; sino que se basa en la capacidad de difusión de las moléculas de agua a través de la membrana más fácilmente que las sales y compuestos de mayor peso molecular (WHO, 2007). La principal propiedad para explicar este fenómeno es que las membranas están construidas de polímeros orgánicos de cadenas largas de alto peso molecular, que tienen una afinidad por el agua. Esta característica hidrófila permite que las moléculas de agua difundan fácilmente o penetren a través de la estructura de la membrana, mientras que restringe el paso de otras sustancias de mayor tamaño (WHO, 2007; WHO, 2011), describiendo el proceso de la desalación por esta tecnología.

En general, una planta desaladora que utiliza la tecnología de OI, presenta componentes clave para llevar de forma eficiente el proceso de la desalación (WHO, 2007), en contraste con lo señalado en los 3 flujos principales en la desalación que menciona Flores, et al., (2004):

- Un sistema de captación de agua marina y salobre a desalar

- Instalaciones para el pre-tratamiento químico del agua, además de los procesos físicos para el tratamiento (ej. Sedimentación o decantadores, sistemas de filtración, torres de adsorción, etc).
- Sistemas de dosificación de las sustancias en pre, post-tratamiento y limpieza de membranas
- Bombas de alta presión
- Soportes o unidades de membranas semipermeables para la OI
- Sistema de recuperación de energía
- Sistema de acondicionamiento del agua producto
- Sistema de descarga del concentrado salino o de la salmuera
- Sistemas de tratamiento de limpieza de membranas

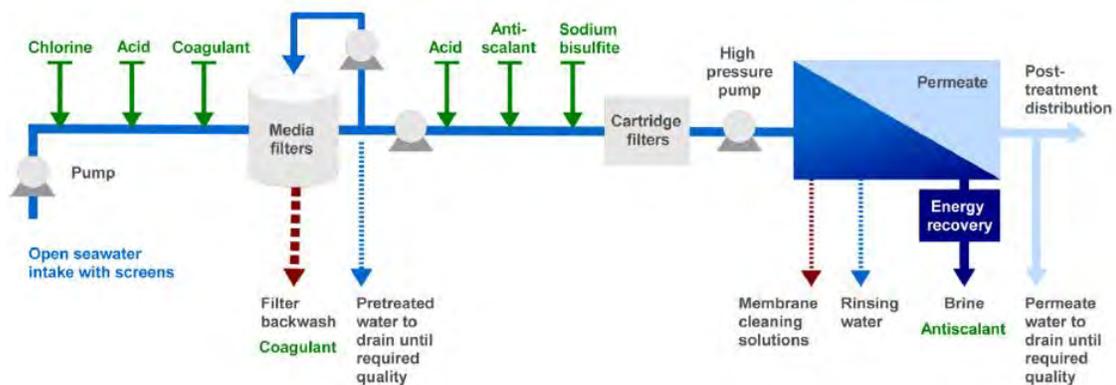


Figura 7. Proceso detallado de la desalación por OI (Lattemann, et al., 2008)

1.5. Sistemas de tratamiento para el acondicionamiento del agua antes y después de la desalación por OI

Es importante someter el agua en general antes del proceso de la desalación, a un pre-tratamiento que consiste en la desinfección, filtración, descarbonatación, desincrustación, precipitación, etc., para eliminar sólidos disueltos y en suspensión que dificultarían el proceso. Suele aplicarse también una fase de post-tratamiento que incluye principalmente una remineralización, ajuste de pH y desinfección (Diagrama 1).

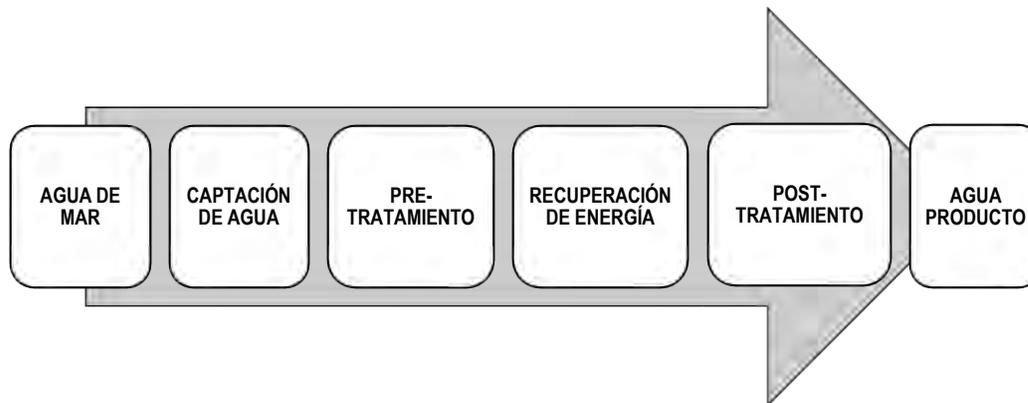


Diagrama 1. Proceso de la desalación

En la OI se emplean dos grupos principales de sustancias químicas en tres partes del proceso (Ministerio de Sanidad y Política Social Española, 2009; Varó, et al., 2011):

- Grupo A: sustancias dosificadas en el pre-tratamiento y sustancias empleadas en el post-tratamiento del agua.
- Grupo B: sustancias empleadas en el mantenimiento y la limpieza de las membranas de los bastidores de OI.

Pre-tratamiento químico

Además del tratamiento físico como la sedimentación y posterior filtración, se incluyen procesos químicos. El objetivo es acondicionar el agua evitando que se produzca el ensuciamiento o deterioro de las membranas, alargando la vida media de éstas y consecuentemente reduciendo el costo del proceso, del mantenimiento y explotación de una

planta desaladora (Ilustración 10) (Ministerio de Sanidad y Política Social Española, 2009). El ensuciamiento de la membrana provoca una disminución de la productividad de la instalación y un aumento del paso de sales a través de la membrana y seguidamente en el agua producto (Varó, et al., 2011).

Los principales problemas que se pueden producir y que se controlan mediante tratamientos químicos de acuerdo con Varó, et al., (2011) es: el ensuciamiento al producirse el crecimiento de los microorganismos en la superficie de la membrana y el deterioro o degradación de la misma. Dentro de este punto cabe señalar que también es importante controlar la presencia de materia orgánica que pudiera favorecer el crecimiento de microorganismos (formación de biopelícula) y deposición de las sales, que en un principio iban disueltas en el agua y que a lo largo del proceso precipitan.

Hydranautics, (2009) y Beery, (2012) mencionan además que el ensuciamiento de las membranas podría conducir a impactos técnicos, económicos y ambientales negativos, tales como:

- Aumento en el consumo de energía debido a las pérdidas de presión más alta
- Aumento en la dosis de productos químicos y del incremento de residuos de las sustancias debido a la limpieza frecuente de membranas
- Disminución de la vida media de la membrana (mayor tasa de reemplazo)
- Disminución de la calidad del agua producto (en términos de [] de salinidad y de sanidad por el incremento de [] en materia orgánica y de microorganismos patógenos).

1.6. Tratamiento

- *Desinfección:* Eliminación de materia orgánica, algas y de m.o. como bacterias (*Pseudomonas, Bacillus, Mycobacterium, Flavobacterium, Lactobacillus*, (Aumatell, et al., 2010)) que excretan sustancias poliméricas extracelulares (EPS) generando ensuciamiento de membranas (Arun, et al., 2013; Flemming, 2002). En la Figura 8 se

muestra la presencia de diatomeas y de otros microorganismos en la estructura de la membrana. Además, algunos desinfectantes actúan a manera de oxidantes y remueven algunas sustancias químicas como los plaguicidas fácilmente oxidables (aldicarb), y oxidan especies disueltas como el manganeso (II), y forman productos insolubles que pueden eliminarse mediante una filtración posterior (OMS, 2003).

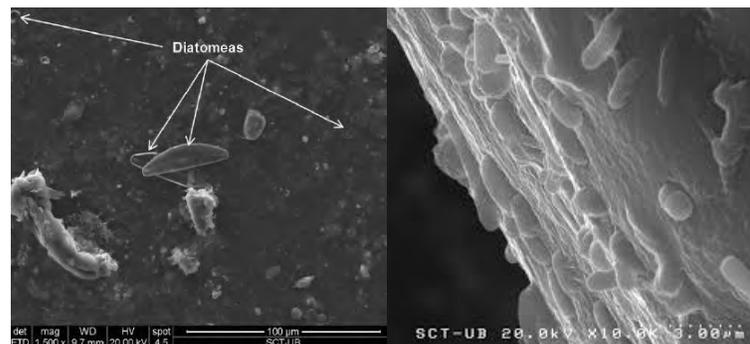


Figura 8. Presencia de Diatomeas y otros m.o. en la superficie de la membrana de OI Microfotografía obtenida por Microscopía Electrónica de Barrido (Fuente: Aumatell, et al., 2010)

- *Precipitación química:* Eliminación de la materia coloidal (coagulación-floculación).
- *Ajuste de pH:* Evita la precipitación de carbonatos sobre la superficie de la membrana.
- *Tratamiento anti-incrustante:* Frena la formación de precipitados de sulfatos, carbonatos, de sílice o de compuestos de flúor.
- *Eliminación de oxidantes:* Reducción de oxidación e hidrólisis química a través de la adición de agentes reductores.

1.7. Post-tratamiento químico

El agua producida mediante el proceso de ósmosis inversa presenta una baja concentración de sales y un pH ácido así como una descompensación iónica, mostrando mayor presencia de iones monovalentes que divalentes. En general se obtienen aguas con una concentración de sales de

100-200 mg L⁻¹ en aguas salobres y de 400-500 mg L⁻¹ en agua de mar. Dependiendo del tipo de aplicación que se le vaya a dar al agua producto, será necesario llevar a cabo un post-tratamiento del agua para acondicionarla de forma apropiada. En este caso, también es necesario llevar a cabo una desinfección, ya que el agua tratada por ósmosis inversa carece de cualquier tipo de microorganismos (que han sido eliminados por las membranas), no obstante, es necesario garantizar su salubridad frente a cualquier tipo de contaminación durante su almacenamiento y distribución.

- *Ajuste de pH:* En las aguas de consumo humano, el valor mínimo del pH es de 6.5 y el valor máximo de 9.5. Tras el tratamiento, el agua no debería ser ni agresiva ni incrustante con un Índice de Langelier comprendido entre +/- 0,5. El bajo pH del agua producto es debido al CO₂ disuelto en el agua y al que se ha generado al dosificar un ácido en el pre-tratamiento, que es muy soluble a través de la membrana, por lo que se encuentra en el agua producto.
- *Post-cloración:* El agua procedente de la ósmosis inversa no contiene contaminación microbiológica. No obstante, si el agua va a ser empleada para el consumo humano, se debe aplicar una concentración de un desinfectante residual que garantice que no se contaminará a lo largo de la red de abastecimiento. Por ejemplo, cuando las temperaturas en sistemas de distribución de agua fría o caliente no se pueden mantener entre 25 a 50°C, se requiere una mayor atención a la desinfección para evitar el desarrollo de biopelículas, incrustaciones, presencia de óxidos metálicos, algas e incluso depósitos de lodos biológicos en los sistemas de distribución de agua que favorecen el crecimiento de *Legionella spp.* (WHO, 2011).

En la Tabla 3 se enlistan las principales sustancias usadas en desalación por OI:

Tabla 3. Sustancias utilizadas en el pre y post-tratamiento en la desalación por OI (WHO, 2007; Varó, et al., 2011)

Sustancia química	Función/Dosis	No. Cas
Cloro		7782-50-5
Hipoclorito sódico	Desinfectantes	7681-52-9
Hipoclorito cálcico	Oxidantes fuertes dosis entre 1.5-2.5mg L ⁻¹	7778-54-3

<p>Ácido clorhídrico Ácido sulfúrico</p>	<p>Correctores de pH Ajuste de pH para asegurar la acción de los coagulantes Dosis 40-50mg/L para la obtención de un pH \approx 6-7</p>	<p>7647-01-0 7664-93-9</p>
<p>Ácidos fosfónicos y sales HEDP ATMP PBTC</p>	<p>Anti-incrustantes inhiben precipitación de sulfatos, carbonatos y de silicio Dosis 2-5mg L⁻¹</p>	<p>2809-21-4 6419-19-8 37971-36-1</p>
<p>Carbón activado (polvo, granulado, granulado virgen)</p>	<p>Adsorbente</p>	<p>7440-44-0</p>
<p>Sulfato de cobre</p>	<p>Alguicida-biocida dosis de 1-5mg/l - 0.025-1.00 mg_(Cu) L⁻¹</p>	<p>7758-99-7 (pentahidratado)</p>
<p>Permanganato de potasio</p>	<p>Oxidantes Control de crecimiento biológico y de su incrustación en las membranas Dosis de 3.7mg L⁻¹ para 20-120min cada 1 a 5 días</p>	<p>7722-64-7</p>
<p>Bisulfito de sodio Sulfito de sodio Tiosulfato de sodio</p>	<p>Agentes reductores Eliminación de agentes oxidantes Dosis 2 a 4 veces mayor que la dosis de agente oxidante</p>	<p>7681-57-4 7757-83-7 7772-98-7 10102-17-7</p>
<p>Sulfato de aluminio (III) Sulfato de hierro (II) Cloruro Férrico·6H₂O Cloruro de Aluminio·6H₂O</p>	<p>Coagulantes-floculantes Formación de flocs más densos que precipitan y posterior remoción por sedimentación Coagulantes 5-15mg L⁻¹ Floculantes 1-5mg L⁻¹</p>	<p>10043-01-3, 16828-11-8 7782-63-0, 7720-78-7 7705-08-0 7784-13-6</p>
<p>Cal Carbonato cálcico CO₂ NaOH</p>	<p>Correctores de pH, re-mineralización, coprecipitación, reducción de la agresividad</p>	<p>1305-62-0, 1305-78-8 1317-65-3, 497-19-8 124-38-9 1310-73-10</p>

1.8. Mantenimiento y limpieza de membranas

En general, el tipo de sustancias químicas utilizadas para la limpieza de las membranas dependen del tipo de material del que esté hecha la membrana (Younos, 2005), entre ellos se encuentran los siguientes (Tabla 4):

- Enzimas para la descomposición de lodos biológicos
- Surfactantes y detergentes para la suspensión de partículas que hayan quedado en la membrana y la disolución de materia orgánica
- Biocidas
- Quelantes
- Ácidos inorgánicos
- Alcalis o cáusticos
- Regeneradores de resinas
- Precursores de cloraminación

Tabla 4. Sustancias utilizadas en la limpieza de membranas (OI) (Varó, et al., 2011)

Sustancia química	Función	No. Cas
HCl	Corrector de pH, regenerador de resinas	7647-01-0
NaOH	Alcalinidad	1310-73-10
Ácido fosfórico	Inhibidor de corrosión	7664-38-2
Fosfato trisódico		7601-54-9
Amoniac	Precursor de la cloraminación	1336-21-6
Tiosulfato de sodio	Agente reductor	7772-98-7
		10102-17-7

Tripolifosfato de sodio	Desincrustante	7758-29-4
-------------------------	----------------	-----------

Las aguas residuales resultantes de la desalación presentan una concentración mayor de sales ($>50,000\text{mg L}^{-1}$) que las aguas de origen y se desechan en un depósito en el océano, por medio de difusores ubicados mar adentro.

En el Diagrama 2, se muestran los procesos unitarios en las plantas desaladoras que utilizan la tecnología de la ósmosis inversa.

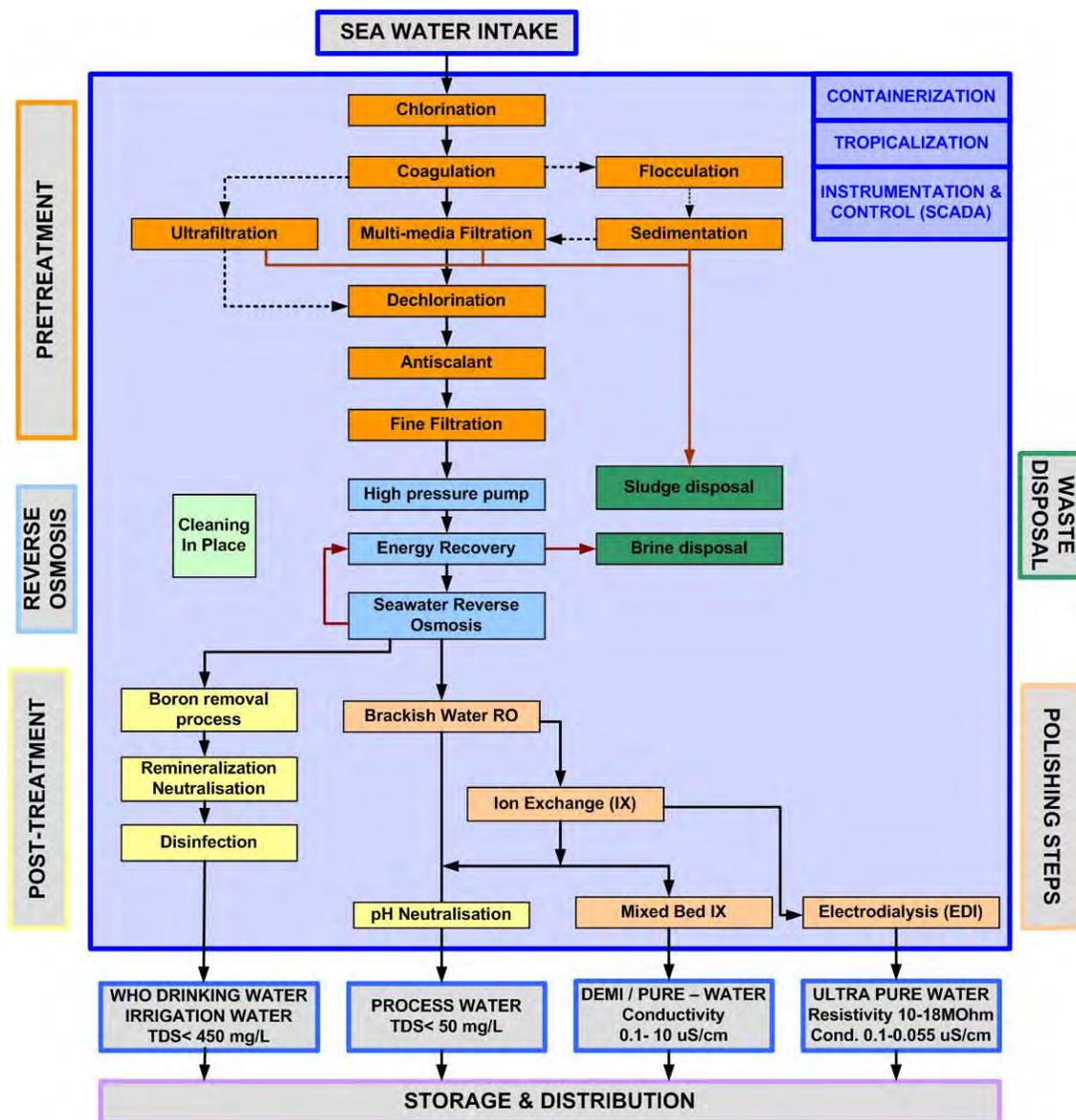


Diagrama 2. Tratamientos clave de la desalación por el método de OI (Fuente. Lenntech, 2014)

1.9. Situación de la Desalación en México

En nuestro país existen 653 acuíferos de los cuales 106 se encuentran sobreexplotados. De los acuíferos sobreexplotados se extrae el 54.72% del agua subterránea para todos los usos. La sobreexplotación ha provocado problemas de intrusión salina en 15 acuíferos y 32 bajo el fenómeno de salinización de suelos y aguas salobres (Conagua, 2013). El desequilibrio hidráulico

en México es notable y sus asentamientos humanos no corresponden a las disponibilidades de agua; la disponibilidad media anual en el país es de 471,891 millones de m³. Significa que cada habitante dispone de 944 m³/año, si existe disponibilidades menores a 1000 m³/hab/año implica un estrés hídrico que puede impedir el desarrollo. De ahí que el conocimiento y la puesta en marcha de técnicas para desalar agua de mar hayan resultado de gran importancia (CNA, 2002; IMTA, 2007; Conagua, 2013).

En el país, existen 320 sitios donde se encuentran instaladas plantas desaladoras, y en éstos hay 435 plantas. Esta infraestructura se halla distribuida en todo el país. El estado con el mayor número de desaladoras es Quintana Roo con 124 plantas; le sigue Baja California Sur, con 71 (Tabla 5) (IMTA, 2007; Dévora, et al., 2012).

Tabla 5. Plantas desaladoras por proceso y por estado (IMTA, 2007; Dévora, et al., 2012) (Dévora, et al., 2012)

Entidad Federativa	Sitios con plantas desaladoras	Número unidades	% Nacional	Operan		Proceso					Capacidad m ³ /d
				Sí	No	OI	C V	MS F	S	D	
Baja California	23	38	8.74	24	14	26	7	2	3	0	51,938
BCS	71	73	16.78	53	20	63	6	0	4	0	36,971
Campeche	8	19	4.37	14	5	16	2	0	1	0	5,456
Coahuila	31	33	7.59	23	10	30	1	0	1	1	7,668
Colima	17	18	4.14	2	16	17	1	0	0	0	2,856
Edo. México	3	4	0.92	2	2	4	0	0	0	0	7,000
D.F.	14	17	3.91	12	5	15	0	0	1	1	95,471
Durango	26	26	5.98	13	13	26	0	0	0	0	868
Guerrero	6	6	1.38	3	3	6	0	0	0	0	2,355
Jalisco	3	4	0.92	3	1	3	0	0	1	0	2,865
Morelos	2	21	4.83	21	2	20	1	0	0	0	110
Nuevo León	5	5	1.15	5	1	5	0	0	0	0	2,847
Oaxaca	1	4	0.92	4	1	4	0	0	0	0	14,256
Q. Roo	79	124	28.51	73	51	121	2	0	1	0	53,339
SLP	1	1	0.23	1	0	1	0	0	0	0	60
Sonora	16	22	5.06	15	7	17	2	0	1	2	9,349
Tamaulipas	4	4	0.92	2	2	4	0	0	0	0	5,100
Veracruz	9	15	3.45	11	4	13	1	0	0	1	12,167
Yucatán	1	1	0.23	1	2	1	0	0	0	0	700
Total Nacional	320	435	100%	282	137	392	23	2	13	5	311,377

Nomenclatura. OI: Osmosis Inversa, MVC: Compresión Mecánica de Vapor, MSF: Flash multietapa, S: Solar y D: Destilación.

El estado que cuenta con la mayor capacidad instalada y el número de plantas es Quintana Roo representando el 44 % del total nacional.

Siendo como el proceso más utilizado la ósmosis inversa en México. El 53 % de las plantas desaladoras son para uso turístico con una capacidad instalada de 26,942 m³/d, 35 % para uso municipal con una capacidad instalada de 18,403 m³/d y el 12 % son para uso industrial 22,143 m³/d. En el Gráfico 1 se muestra la capacidad instalada de las desaladoras en el país (CNA, 2002; IMTA, 2007; Dévora, et al., 2012).

Capacidad instalada en plantas desaladoras en México
(Cifras al año 2001)

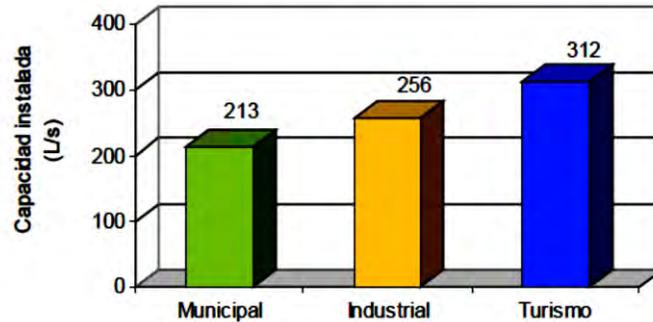


Gráfico 1. Capacidad de plantas desaladoras en el país (CNA, 2002)

En el año 2006, entró en operación la planta desalinizadora municipal más grande de México con una capacidad nominal de 200L s^{-1} , en Los Cabos, Baja California Sur. Actualmente se proyectan varias plantas desalinizadoras en el noroeste de México, principalmente en Tijuana y en Ensenada en Baja California, predominando la tecnología de OI (Dévora, et al., 2012).

La adopción de la tecnología de desalación en el país como una herramienta para resolver los problemas de escasez de agua es un hecho imparable, puesto que se ofrece como la única alternativa a la sobreexplotación de acuíferos o se encuentran contaminados por distintos efluentes industriales, urbanos, agrícola o acuícolas.

No obstante, su aceptación está todavía sometida a una serie de condicionantes que tienen que ver con la tecnología, economía y sobre los efectos negativos que presenta sobre el ecosistema acuático marino siendo como el reservorio final del efluente de la salmuera generado en las plantas desaladoras (Medina, 2013).

**SECCIÓN II. Toxicidad acuática de la
salmuera resultante y de los productos
químicos dosificados durante el proceso por
ósmosis inversa**

2. Toxicidad acuática de la salmuera resultante y de los productos químicos dosificados durante el proceso por ósmosis inversa

El medio acuático y en especial el marino es uno de los ecosistemas más expuestos a los contaminantes, debido a que es el receptor final de distintas descargas de efluentes contaminados (Acuña-González, et al., 2004; García-Céspedes, et al., 2004; Norville, 2005; Rojas de Astudillo, et al., 2005).

Entre los problemas ambientales más significativos que se genera desde el inicio de la puesta en marcha de la desalación es el pinzamiento y el arrastre de los organismos marinos. Pinzamiento se refiere a la mortalidad de la vida marina cuando el agua es succionada por el tubo en la captación del agua arrastrando a organismos más pequeños, como el plancton, huevos y larvas de peces que pasan a través de las pantallas de captación del agua y mueren durante el proceso de pre-tratamiento (Cooley, et al., 2006). Las captaciones de agua salada para las plantas desaladoras están en la franja litoral o costera que con diferencia, es la que soporta la mayor parte de la contaminación marina y contiene la mayor riqueza biológica. De hecho, el volumen más importante de biomasa en el agua de mar y costera lo compone el plancton, constituido fundamentalmente por algas (fitoplancton) y organismos microscópicos (zooplancton) (Ministerio de Sanidad y Política Social Española, 2009).

De acuerdo a informes reportados por Cooley, et al., (2006) y el Instituto del Pacífico; la salmuera resultante del proceso por ósmosis inversa produce una salmuera residual con una salinidad (>70ppt) hasta el doble de la del agua del mar (Tularam & Ilahee, 2007). Esta además contiene líquidos de lavado a contracorriente, sales de corrosión y residuos de los productos químicos usados en los distintos tratamientos condicionantes del proceso.

El vertido de rechazo de las plantas desaladoras, pueden ser descargadas directamente al mar, mezclándose con otras corrientes o aguas residuales de otras plantas potabilizadoras. Existe una amplia gama de impactos potenciales que han sido identificados debido a la descarga de salmuera; no obstante, las plantas desaladoras se han adoptado en diferentes países como alternativa para la disponibilidad de agua potable en diferentes actividades antropogénicas, existiendo poca disponibilidad de datos científicos sobre el efecto auténtico de la descarga sobre

las comunidades marinas alrededor de salidas de descarga de las plantas desaladoras (Skinner, 2008; RPS, 2009)

Esta descarga intensa constituye en una capa hipersalina que se hunde hacia el fondo del mar debido a su mayor densidad por la cantidad de sales presentando el potencial de afectar en gran medida la biota marina local (Meerganz von Medeazza, 2005). Además los cambios de salinidad influyen en la actividad de propagación de las especies marinas y consecuentemente afectan a su desarrollo y crecimiento. Las etapas larvales son periodos de transición muy importantes para las especies marinas y el aumento de la salinidad altera ese periodo significativamente (Neuparth, et al., 2002). Se ha demostrado en estudios anteriores que el aumento de la salinidad de hasta 50ppt puede presentar un grave impacto en el tamaño de los peces y de su tasa de supervivencia. Causa un reducido crecimiento incluso aumento de la mortalidad de la flora y fauna marina. Esto debido a que los organismos sufren estrés osmótico importante cuando se exponen a la elevada concentración de iones de la salmuera (Zhou, et al., 2013).

Un hecho es que el proceso de ósmosis inversa, es la tecnología que genera una mayor concentración de sales en el vertido de rechazo en comparación con las demás tecnologías utilizadas en la desalación (Tabla 6).

Tabla 6. Características del concentrado en los distintos procesos de la desalación (Younos, 2005)

Process	RO	RO	MSF/MED
Feedwater	Brackish	Seawater	Seawater
Recovery	60-85%	30-50%	15-50%
Temperature	Ambient	Ambient	10-15°F above ambient
Concentrate Blending	Possible, not typical	Possible, not typical	Typical, with cooling water
Final Concentration Factor	2.5-6.7	1.25-2.0	<1.15

Otro de los efectos de descarga de salmuera es la contaminación térmica, que puede producirse mediante el aumento de la temperatura del agua de mar. La temperatura de la salmuera descargada es obviamente mucho mayor que la temperatura ambiente del agua de mar. La temperatura del agua varía generalmente entre 10°C a 25°C y aumenta aproximadamente un 60% a 40°C cerca de la zona de salida de la salmuera (Danoun, 2007). No obstante, esta alteración térmica depende básicamente del tipo de las plantas de tratamiento; por ejemplo, las plantas de destilación aumentan la temperatura más que el proceso de ósmosis inversa, sin embargo, la distribución y extensión de la alteración de la temperatura también depende de la ubicación de la descarga de la planta. Un ejemplo es cuando se produce un mayor incremento de salinidad en sistemas limitados con una considerable evaporación, mientras que la salinidad disminuye en sistemas donde existe una importante entrada de aguas continentales y la temperatura es menor (García & Ballesteros, 2001; Ahmed & Anwar, 2012).

Esto mismo fue observado anteriormente por Cifuentes, et al., (1997), donde la relación de temperatura/salinidad en las distintas profundidades del mar se destaca en la siguiente tabla:

Tabla 7. Relación temperatura/salinidad de acuerdo a la profundidad del mar (Cifuentes, et al., 1997)

Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (g L ⁻¹)
0	26.44	37.45
50	18.21	36.02
100	13.44	35.34
500	9.46	35.11
1000	6.17	34.90
1500	5.25	34.05

El siguiente de los tantos efectos provocados por la descarga de la salmuera es sobre la disposición de oxígeno en el agua; como la cantidad de oxígeno disuelto es inversamente proporcional al nivel de salinidad; es decir un incremento en la tasa de la salinidad, el oxígeno disminuye conduciendo a hipoxia (Haurwitz, et al., 2013). Así mismo, los productos químicos

utilizados en las plantas de ósmosis inversa para impedir la corrosión y eliminar el cloro residual (agentes reductores) reducen la disolución del oxígeno (Hoepner & Lattemann, 2003). La alcalinidad de las aguas es también otro de los problemas enumerados en la descarga de la salmuera, existe un aumento anormal en las concentraciones de CaCO_3 , CaSO_4 y de otros elementos constituyentes.

2.1. Utilización y efectos tóxicos de los distintos productos químicos dosificados en la OI sobre el ecosistema marino

Para llevar a cabo de manera eficiente la desalación por la OI se acondiciona el agua a desalar y desalada, posteriormente se realiza el mantenimiento de las membranas del proceso mediante la adición de distintos agentes químicos que garanticen el sistema (mostrado anteriormente en la 1).

Sin embargo, la utilización constante de los distintos agentes químicos expuestos en las Tabla 3 y Tabla 4, determina su presencia en el vertido sin una neutralización en conjunto con la salmuera y suponen un impacto potencial sobre el ecosistema donde son descargados estableciendo su bioacumulación en la biota marina (Paquin, et al., 2000; Hoepner & Lattemann, 2003). Entre los residuos se encuentra la liberación de metales procedentes de la corrosión. Por ejemplo, en las plantas por método térmico y por OI, en el vertido de salmuera la acompaña la descarga de cobre, níquel, hierro, cromo, zinc y otros metales pesados en función de las aleaciones presentes en la línea de proceso (Schipper, 2000).

En términos de concentraciones, las de cobre y el hierro son los más altos de acuerdo con Hoepner, (1999). Además de los principales nutrientes (nitrógeno, fósforo y silicio), ciertos metales traza influyen en la composición de la productividad y de las especies de las comunidades marinas. Un número de estos como el-hierro, manganeso, zinc, cobre, cobalto, molibdeno y níquel-son importantes micronutrientes, mientras que otros, como el plomo, plata y mercurio, son inhibidores biológicos y no tienen ninguna función metabólica conocida. No obstante, al menos tres de los nutrientes traza metálicos de cobre, zinc y níquel pueden ser potentes inhibidores a concentraciones elevadas (Sunda, 1989).

Sin embargo, la eficiencia de las plantas desaladoras depende de cada unidad de proceso del tratamiento en el acondicionamiento del agua, evaluando los factores que afectan la calidad de cada corriente o agua tratada final (WHO, 2011). Dentro de los agentes químicos utilizados en el acondicionamiento del agua a desalar, se encuentran los alguicidas, coagulantes y floculantes, desinfectantes y agentes oxidantes, tiempo de vida media de la membrana, reductores (precursores de cloraminación) y oxidantes de materia orgánica, biocidas que garanticen la eficacia como representativos de los distintos tratamientos químicos. De acuerdo al orden en su utilización, en la presente tesis se explica su manejo en la desalación, dosis, y su posible toxicidad en el ecosistema costero.

2.2. Desinfectantes

La desinfección es uno de los procesos más críticos para la operación exitosa de la desalación por OI, ya que puede reducir las sustancias y bacterias que pueden causar la contaminación biológica de la membrana (Kumar, et al., 2006). Esta bioincrustación en las membranas podría inducir una disminución de flujo de membrana, reducción de la eficiencia energética, incremento de la presión diferencial, la biodegradación de la membrana, y, un incremento en dosis de biocidas. Igualmente, aumenta los costos operativos ya que es irreversible y requiere el reemplazo de membrana (Al-Ahmad, et al., 2000; Sombatsompop, et al., 2006). Otro de los principales objetivos de la desinfección es reducir el riesgo de infección patógena y proporcionar agua segura para el consumo humano durante el post-tratamiento del agua en la desalación (Al-Mudhaf, et al., 2010). Por lo tanto, la inactivación microbiana es crucial para inhibir la incrustación biológica a través de la utilización de desinfectantes (Kim, et al., 2009).

El cloro, cloraminas, el ozono y dióxido de cloro son los desinfectantes químicos que se utilizan con mayor frecuencia en el tratamiento del agua para inactivar los microorganismos patógenos, inhibir la formación de biopelículas y oxidar solutos inorgánicos reducidos, tales como sulfuro y Fe^{+2} (Agus, et al., 2009; Crittenden, et al., 2012).

Hipoclorito sódico

El cloro ha sido el desinfectante más utilizado en el tratamiento del agua por sistemas de desalinización y de efluentes de aguas residuales municipales. Para evitar la contaminación biológica, el cloro se aplica en forma de gas cloro (Cl_2) o en forma de sales como el hipoclorito de sodio (NaClO) de manera intermitente, con concentraciones iniciales entre 0,5 hasta 10 mg L^{-1} como Cl_2 y tiempos de contacto entre 15 y 30min. incluso por varios días, por dos o tres veces por día dependiendo del uso final del agua producto (Kim, et al., 2009; Agus, et al., 2009; Varó, et al., 2011).

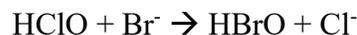
El hipoclorito sódico es uno de los agentes desinfectantes y anti-incrustantes más utilizados debido a su bajo costo y de alta eficacia por el amplio espectro que presenta. Las soluciones de NaClO son inestables y oxidantes fuertes, reacciona con el agua para formar las siguientes especies químicas (López-Galindo, et al., 2010):



El ácido hipocloroso (HClO), es la especie que presenta el poder desinfectante a pH bajos (6.5 como 90% de HClO), se trata de un ácido débil ($\text{pK}_a = 7.6$) sometiéndose a disociación parcial:



El ratio en $[\text{HClO}]/[\text{ClO}^-]$ es dependiente del pH. A de pH de 7.5, tanto el ácido hipocloroso e iones hipoclorito existen en una distribución igual en el agua; La proporción de cada especie también depende de la temperatura (Emmanuel, et al., 2004). En el agua de mar, el cloro libre reacciona con iones bromuro (Br^-), reaccionando y produciendo ácido hipobromoso (HBrO) e iones hipobromito (BrO^-) (Diagrama 3).



El ácido hipobromoso es un biocida eficaz; en este contexto la concentración de HBrO/BrO^- presentan mayor poder desinfectante que los oxidantes HClO/ClO^- (Emmanuel, et al., 2004; López-Galindo, et al., 2010). Mientras que la cloración ha proporcionado beneficios sustanciales

para la salud pública mediante el control de las enfermedades infecciosas, la interacción del cloro con la materia orgánica natural (NOM) presente en el agua genera ciertos subproductos con efectos adversos al ecosistema acuático y a la salud (Dalvi, et al., 2000; Bianchini, et al., 2004; Agus, et al., 2009; Al-Mudhaf, et al., 2010).

Entre las numerosas sustancias producidas por la química compleja del cloro en el agua de mar, se distinguen dos categorías de especies químicas: oxidantes y no oxidantes. Esta distinción es particularmente adecuada para caracterizar sus propiedades ecotoxicológicas. Los compuestos oxidantes desaparecen muy rápidamente en el agua de mar, no son bio-acumulados, pero exhiben toxicidad a corto plazo para la flora y fauna marina en un rango de concentraciones $0.05\text{-}5\text{mg L}^{-1}$. Los DBPs son mucho más persistentes, algunos se acumulan en las grasas de algunos animales, no son tóxicos a corto plazo, pero algunos producen efectos genotóxicos (Sanjeevi, et al., 2012).

1.1.1.1.1 Toxicidad

Tanto el HClO y el ClO^- como el HBrO y BrO^- reaccionan con la materia orgánica natural presente en el agua por adición, sustitución y oxidación. Estas reacciones conducen a la formación de los llamados “*Subproductos de la desinfección*” (DPBs), Estos compuestos incluyen entre los de mayor concentración a los *trihalometanos* (THMs), y otros como los haloacetoneitritos (HANs), halocetonas (HKS), cloripicrina (CP) y ácidos haloacéticos (HAAs) (Dalvi, et al., 2000; Wu, et al., 2013). Las cuatro especies químicas conocidas como trihalometanos son: el cloroformo (CHCl_3), bromodiclorometano (CHBrCl_2), dibromoclorometano (CHBr_2Cl) y bromoformo (CHBr_3) (Sorlini & Collivignarelli, 2005).

La concentración de THMs aumenta con la materia orgánica y la concentración de bromuro presente en el agua marina, asimismo es proporcional a la concentración de cloro que se administre durante el tratamiento, el tiempo de contacto, la temperatura y el pH (a incrementos de pH, aumento en THMs); mientras que disminuye con la concentración de amoníaco presente formándose cloraminas (Dalvi, et al., 2000; Sorlini & Collivignarelli, 2005). La formación de THMs en el agua de mar natural aumenta por diferentes desinfectantes como cloramina < cloro <

ozono (Kutty, et al., 1995). Debido a las concentraciones relativamente altas de bromuro encontradas en el agua de mar (es decir, 65 mg L^{-1}), el bromoformo representa más del 95% de los trihalometanos producidos durante la desinfección con cloro en un amplio intervalo de concentraciones de carbono orgánico disuelto (Sanjeevi, et al., 2012).

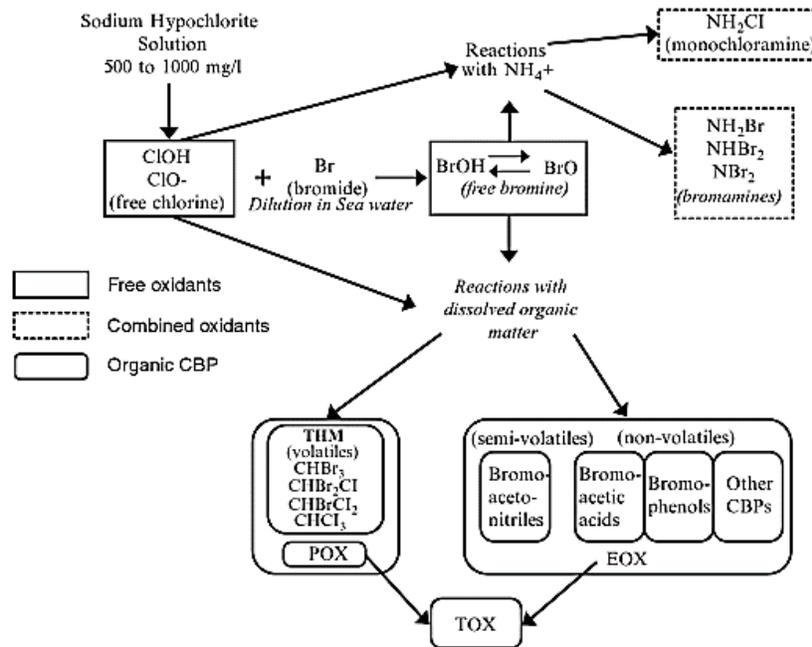


Diagrama 3. Formación de THMs durante la cloración del agua (Sanjeevi, et al., 2012)

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), clasifica a los THMs (cloroformo, bromodichlorometano y el bromoformo) como probables carcinógenos humanos, estableciendo un Nivel Máximo de Contaminante (MCL) para los trihalometanos totales de $80 \mu\text{g L}^{-1}$ en el agua tratada (USEPA, 2014). Se ha demostrado en bioensayos *in vitro* sobre la toxicidad de estos compuestos pudiendo provocar genotoxicidad y mutagenicidad, así como estrés oxidativo de acuerdo con Liviac, et al., (2010) y Farré, et al., (2013). En estudios anteriores *in vitro* sobre células bacterianas y de mamíferos de la genotoxicidad de los THMs identificados en agua potable, se encontró que los halometanos bromados y los bromoacetos son más genotóxicos que los halometanos clorados, sugiriendo una relación de estructura-actividad entre

el número de sustituyentes de bromo en las moléculas y la actividad genotóxica (Le Curieux, et al., 1996).

El mecanismo por el cual se rige su genotoxicidad es a través de su metabolismo, este se produce por al menos dos vías: una por vía oxidativa y los otros predominan en condiciones de baja tensión de oxígeno (la vía reductora). En presencia de oxígeno, el producto de reacción inicial es trihalometanol (CX_3OH), que se descompone espontáneamente para producir el correspondiente dihalocarbonil (CX_2O). Las especies de dihalocarbonil son reactivos y pueden formar aductos con el ADN. Cuando los niveles de oxígeno intracelulares son bajos, los trihalometanos se metabolizan a través de la vía reductora, lo que resulta en un radical dihalometilo altamente reactivo ($\bullet CHX_2$), que también pueden formar aductos covalentes con moléculas celulares como el ADN. Esta producción de radicales libres también puede conducir a daño celular mediante la inducción de la peroxidación de lípidos en las membranas celulares (EPA, 2005).

A pesar de que existe suficiente información sobre los efectos tóxicos que presentan los THMs sobre la salud pública, los peligros que se plantean por los THMs bromados en los ecosistemas marinos, son escasos, algunos se incluyen alta sensibilidad en las especies de fitoplancton e invertebrados (Figura 9). Para estos organismos marinos, la CL_{50} del cloroformo y bromoformo es de aproximadamente 1mg L^{-1} (Agus, et al., 2009). En estudios anteriores han demostrado que el cloro afecta el crecimiento y la productividad primaria del fitoplancton (Poornima, et al., 2006; Chuang, et al., 2009; Ebenezer, et al., 2012). A bajas dosis de cloro (0.05 a 0.15 mg L^{-1}) se traduce en cambios significativos en la composición de especies de las comunidades de fitoplancton marino de acuerdo con la EPA, (1994) y Emmanuel, et al., (2004).

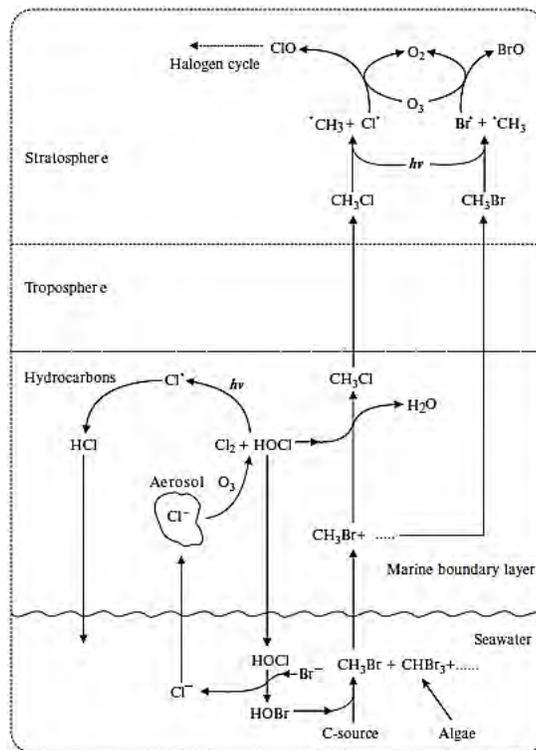


Figura 9. Ciclo de halógeno en el medio marino (Sanjeevi, et al., 2012)

También, se ha propuesto que a niveles más bajos de exposición crónica, los THMs son bioacumulables e inducen estrés sobre la biosíntesis proteica (Taylor, 2006). Este hecho resulta alarmante, debido a que niveles de THMs bromados en salmuera proveniente de la ósmosis inversa, se acercan a concentraciones preocupantes para ocasionar la bioacumulación y los efectos tóxicos crónicos en organismos acuáticos (Agus, et al., 2009).

2.3. Alguicidas

La presencia de algas en la superficie de las membranas de OI, pueden ocasionar ensuciamiento de la misma y una disminución de su rendimiento. Así mismo, interfieren en los procesos de la coagulación y floculación lo que lleva a un aumento en la turbidez en el agua, afectando la eficiencia del proceso de desinfección. Las algas presentan la capacidad de generar materia orgánica extracelular; este material mucilaginoso aumenta la resistencia del proceso y la generación de trihalometanos debido a la presencia de cloro residual derivado de la desinfección (Graham, et al., 1998; Sandhya & Satoshi, 2011; Gutiérrez, 2011). Conjuntamente, la presencia de algas residuales en el agua tratada conduce a la alteración del sabor y olor del agua. Algunas microalgas generan toxinas lo cual es importante la aplicación de determinadas sustancias químicas como los alguicidas para el control de su crecimiento poblacional (WHO, 2011).

En general, estos biocidas pueden clasificarse según en la selectividad que presenten, esta propiedad depende fundamentalmente de la especie de alga que se quiere controlar, así como de la naturaleza química del agua; de la dosis, tiempo de aplicación y de la formulación del producto (Cooke, et al., 1993). Entre los alguicidas registrados por la EPA, se encuentra al sulfato de cobre, quelatos de cobre (etanolaminas, trietanolaminas, citrato cúprico, endotal), formulaciones a base de carbonato sódico peroxihidratado, sales férricas, cloruro de benzalconio, permanganato de potasio, entre los más usados (EPA, 2007).

Sulfato de cobre

Es de las sales cúpricas más utilizadas, se ha manejado para el control de algas desde principios de 1900 y se utiliza en más m³ de agua que cualquier otro alguicida por su bajo costo y la eficacia del metal. Uno de los beneficios de este compuesto es que las microalgas verde-azules (por ejemplo algunas cianobacterias generadoras de toxinas), son más sensibles que las microalgas verdes (Gettys, et al., 2009), estableciendo niveles de tratamiento para la inhibición de microalgas tóxicas generalmente en el rango de 0.025-1.00 mg_(Cu) L⁻¹ (Hadjoudja, et al., 2009;

EPA, 2009). Este compuesto fue registrado por primera vez para su uso en Estados Unidos en 1956 y su nuevo registro se completó en el 2009 (EPA, 2009).

En el proceso de desalación de acuerdo con la OMS, (2007) y Varó, et al., (2011), se manejan dosis normalmente en un rango de 1 a 5mg L⁻¹ del compuesto metálico, para la inhibición del crecimiento de las algas en las membranas. La EPA, a través de la lista de Estándares del Reglamento Nacional Primario de Agua Potable, estableció un RMCL (Nivel Máximo de Contaminante Recomendado) para el cobre de 1.3 mg L⁻¹ en agua potable y 250 mg L⁻¹ para el sulfato (EPA, 2000).

Al mismo tiempo de ser un potente alguicida, presenta otros usos en las distintas actividades económicas como fungicida de amplio espectro, bactericida, herbicida acuático y molusquicida (EPA, 2009). Este metal es altamente reactivo, especialmente en ambientes acuáticos. Puede existir en varias formas orgánicas e inorgánicas, incluyendo el ion cúprico (Cu²⁺), ion cuproso (Cu⁺), complejos inorgánicos, complejos orgánicos y minerales (Diagrama 4) (EPA, 2009).

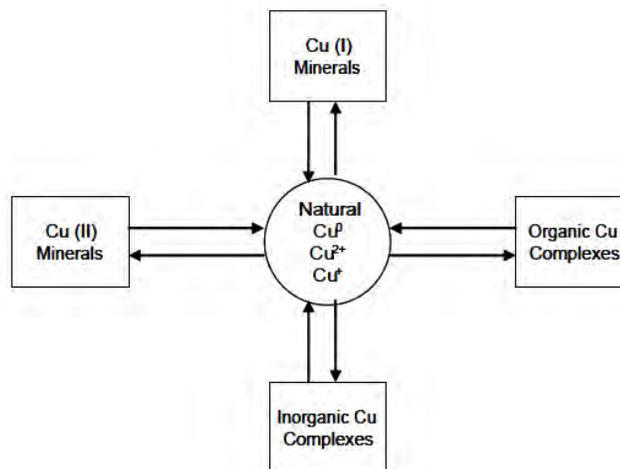


Diagrama 4. Diferentes formas del cobre en los sistemas acuáticos (EPA, 2009)

El grado de disociación de las especies de cobre es debido principalmente a la solubilidad del compuesto, que depende del pH del medio, del potencial redox, carbono orgánico disuelto (DOC) y de la competencia por los ligandos orgánicos e inorgánicos (EPA, 2009). Precisamente estas características hacen que la eficacia de los alguicidas a base de cobre puedan ser afectados en

determinadas condiciones ambientales; como por ejemplo, el cobre es menos eficaz en aguas con alta alcalinidad, con alto pH y cuando las temperaturas del agua son inferiores a 15°C (Cooke, et al., 2005). De hecho, los cambios que se producen en la química del cobre en el agua se producen en el intervalo de pH de 6.5 a 8.0, y al menos el 10% del cobre presente a pH de 8.0 se encuentra en la forma de Cu^{+2} (Raman & Cook, 1988).

Tabla 8. Propiedades fisicoquímicas del Sulfato de cobre pentahidratado

Propiedades fisicoquímicas	Valores
Fórmula molecular	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
No. CAS	7758-99-8
%Cu	25.4%
Peso Molecular	249.65 g/mol
Densidad	2.3g/cm³
Solubilidad	148g/kg (0°C)/736g/kg (100°C)

En la tabla anterior, se muestran las propiedades fisicoquímicas del sulfato cúprico, precisamente el porcentaje de Cu^{+2} le confiere la propiedad de ser un potente alguicida no solamente en las plantas desaladoras sino en el tratamiento de aguas en general.

No obstante, la aplicación de alguicidas a base de cobre de forma repetida a un mismo sistema puede ocasionar la acumulación de compuestos cúpricos en los sedimentos que podrían inhibir o afectar a muchos organismos bentónicos. El uso de estos biocidas anti-incrustantes se ha incrementado de manera espectacular conduciendo a niveles elevados de Cu en las aguas y sedimentos costeros (Schiff, et al., 2007; Bao, et al., 2008). También se ha demostrado que las algas desarrollan resistencia al cobre de modo que con el tiempo, la dosis necesaria para el control de su crecimiento puede llegar a ser tan alta provocando un alto potencial de riesgo en el medio acuático (Raman & Cook, 1988).

1.1.1.1.2 Toxicidad de cobre

Como es de conocimiento general, el cobre es un nutriente esencial, sin embargo, la toxicidad aguda de los biocidas que contienen cobre no se atribuye a la toxicidad sistémica, sino más bien al equilibrio de las concentraciones de las formas iónicas del cobre, es decir, la toxicidad depende de la concentración del metal y en especial la formación de las especies más tóxicas que es el $\text{Cu}(\text{OH})_2$ y el Cu^{+2} (Le Jeune, et al., 2006; Lee, et al., 2010; Mai, et al., 2012).

En organismos de ecosistemas acuáticos dulces, el cobre altera la absorción de sodio, por competencia iónica impidiendo el mantenimiento de la homeostasis osmótica, y por lo tanto resulta en la liberación por difusión de Na^+ hacia el medio extracelular (Grosell, et al., 2002). También como se mencionó anteriormente la eficacia del cobre como alguicida depende del pH y de la solubilidad, pues de igual manera los efectos en la exposición aguda del metal están influenciados por el pH así como la cantidad de materia orgánica disuelta (Grosell, et al., 2002).

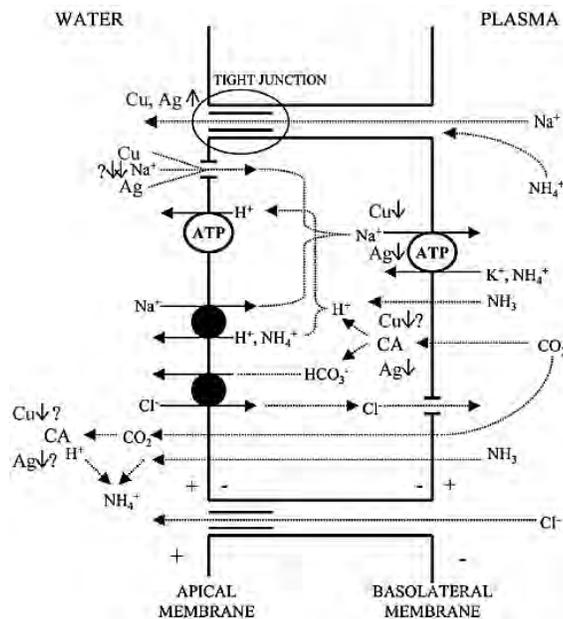


Figura 10. Mecanismo de toxicidad del Cu^{+2} en organismos acuáticos (Grosell, et al., 2002)

Conjuntamente, inhibe la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa y la anhidrasa carbónica por competencia con la unión del Mg^{+2} y otros cationes bloqueando la osmoregulación (Bianchini, et al., 2004; Martins, et al., 2011). Sin embargo, de acuerdo con Grosell, et al., (2002), estos dos sistemas de mecanismos de toxicidad del cobre dependen del tiempo de exposición del metal en los organismos acuáticos (por ejemplo, se puede presentar un primer mecanismo a las 2h o contrariamente el siguiente presentarse a las 24h de exposición).

En los ecosistemas acuáticos salobres y salinos, la toxicidad del cobre está directamente relacionada con la generación de estrés oxidativo a través de la formación de ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) por reacciones tipo Fenton (Tsung-Meng, et al., 2009); genera daño oxidativo y escisión del DNA (Lesser, 2006). Otro de los efectos es el bloqueo en la absorción de oxígeno y del transporte del mismo debido a la inhibición de proteínas como la hemocianina de ciertos organismos salinos y por lo tanto en la generación de ión superóxido (Costa, et al., 2002; Lee, et al., 2010). Se ha reportado en estudios anteriores que a concentraciones entre 3 y $10\mu\text{g L}^{-1}$ del metal puede causar embriotoxicidad en organismos marinos (Fitzpatrick, et al., 2008; Mai, et al., 2012).

Asimismo la formación de Cu^{2+} y $\text{Cu}(\text{OH})_2$ depende en gran medida de la química del agua y la concentración misma de sales. Un aumento de salinidad puede resultar en niveles más bajos de iones libres del metal, debido al aumento en la formación de cloruros metálicos y la creciente competencia por cationes como Na^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} . Este incremento de la salinidad, provoca una disminución en la tasa de absorción de Cu en algunos organismos marinos, lo que sugiere que la alta salinidad puede actuar como un factor protector contra la toxicidad del metal. No obstante, los cambios en la salinidad del agua no sólo tiene influencia en la biodisponibilidad del metal, sino también de provocar alteraciones fisiológicas en los organismos acuáticos con el fin de mantener el equilibrio iónico y osmótico. Así pues, la toxicidad de cobre en organismos de ecosistemas salinos puede variar en función de las estrategias de la osmoregulación (Martins, et al., 2011).

Su utilización inicial es el control de ciertas especies de microalgas, siendo las cianobacterias sensibles al cobre, evitando la formación de blooms de cianobacterias. Sin embargo, el amplio espectro que presenta, provoca modificaciones globales de la estructura de la comunidad

fitoplanctónica, por lo tanto, pudiendo afectar el funcionamiento del ecosistema (Le Jeune, et al., 2006).

Con respecto a la toxicidad en el fitoplancton no diana de este agente, resulta principalmente de su unión a grupos sulfhidrilo de las proteínas dando lugar a la desnaturalización (Tripathi, et al., 2006). Asimismo, el Cu^{2+} , inhibe la actividad del Fotosistema II (PSII), ocasionando alteraciones sobre el flujo de electrones en la cadena transportadora que une al PSII del PSI, y en la fijación de CO_2 durante la fase oscura de la fotosíntesis, altera la absorción de nitrato y en la síntesis de la nitrato reductasa, también reduce la generación de ATP, así como cambios morfológicos y en el volumen celular (Figura 11 y Diagrama 5) (García-Villada, et al., 2004).

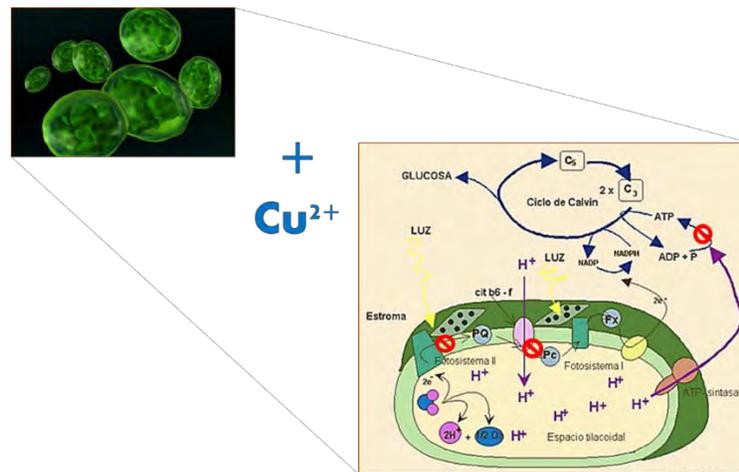


Figura 11. Mecanismo de toxicidad general en organismos fitoplanctónicos

A pesar de que existen gran variedad de estudios sobre la toxicidad del cobre en organismos acuáticos, el impacto que causa a toda la comunidad planctónica debe ser investigada para extrapolar tales efectos sobre la estructura (tamaño/clases) y la diversidad (especies sensibles/resistentes) a la cadena trófica.

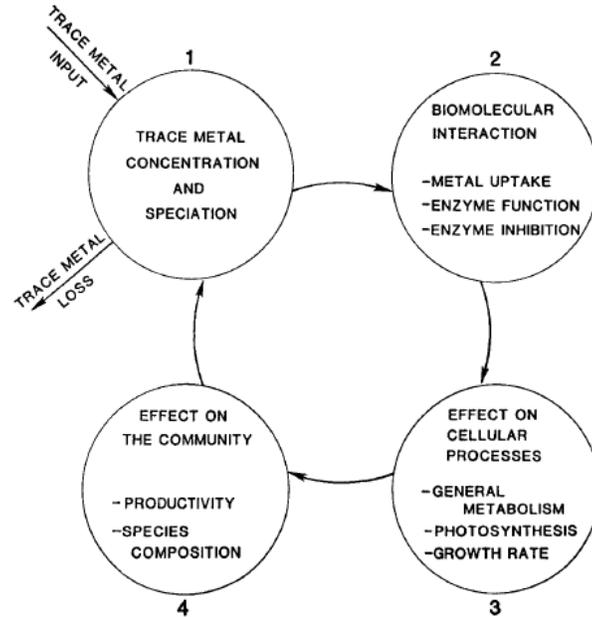


Diagrama 5. Interacción de metales traza a concentraciones elevadas sobre las comunidades fitoplanctónicas (Sunda, 1989)

2.4. Coagulantes-floculantes metálicos

Dentro del proceso de la coagulación y posterior floculación en el pre-tratamiento del agua a desalar se utilizan productos químicos a base de sales metálicas como. $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, FeCl_2 , FeSO_4 , siendo la sal férrica más usada en la desalación el $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sotero-Santos, et al., 2007).

La función del agente como coagulante es a pH entre 5-9, desestabiliza las partículas coloidales con carga negativa presentes en el agua, reduciendo las fuerzas repulsivas entre partículas. Químicamente se produce $\text{Fe}(\text{OH})_3$, posteriormente este hidróxido es hidrolizado para generar productos de hierro poliméricos con carga positiva que son adsorbidos por la superficie de los coloides; formando partículas grandes o flocs que comienzan a agrupar a más partículas y aglomerarlas. La masa resultante tiene mayor densidad que la del agua a tratar y por lo tanto pueden ser removidas por sedimentación y/o posterior filtración (Jiang & Lloyd, 2002).

Pueden utilizarse rangos de concentraciones para la remoción de lodos de 5-15mg L⁻¹. Tiene otros usos, como la remoción de fosfatos con dosis de 45-90mg L⁻¹, el abatimiento de arsénico y otros metales pesados en dosis de 6 hasta 50mg L⁻¹ (Varó, et al., 2011).

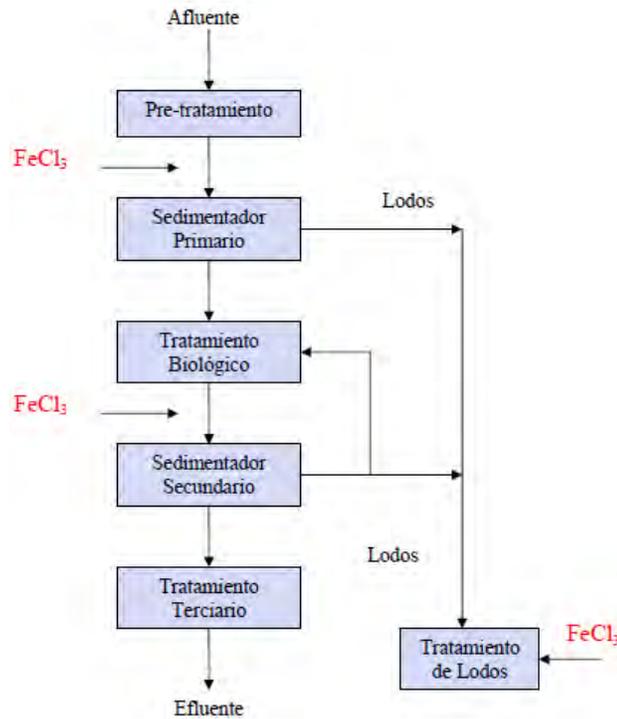


Diagrama 6. Distintas aplicaciones del FeCl₃ en el tratamiento de aguas (Desalación)

No obstante, es uno de los metales que se presenta en mayor concentración en el vertido. De manera natural, se encuentran concentraciones traza entre 0.05 a 0.5nM en el ecosistema marino, sin embargo, supera las concentraciones micromolares en algunos estuarios, alcanzando niveles que son de tres a cuatro órdenes de magnitud mayor que las concentraciones oceánicas (Sunda, 1989). El pH del agua afecta a la especiación y la solubilidad de algunos metales más que otros. El aumento de la toxicidad de hierro está inversamente proporcional a la disminución de pH (5,5) debido a cambios en la especiación de acuerdo con McDonald, et al., (1989) y Gerhardt, (1994).

1.1.1.1.3 *Toxicidad del FeCl₃*

La adición de estos productos químicos durante el tratamiento de agua puede resultar en un lodo rico en hierro. Estas concentraciones de sales metálicas pueden ser lo suficientemente altas como para ser tóxicos para la biota acuática si no son tratados antes de su eliminación. La presencia de compuestos férricos puede conducir a cambios en la dinámica de la población, con consecuencias graves para la comunidad fitoplanctónica y otros eslabones de la cadena alimenticia (Randall, et al., 1999; Sotero-Santos, et al., 2007). Aunque existe poca información sobre su toxicidad en organismos marinos, se cree que las sales férricas tienen una baja toxicidad aguda debido a su rápida oxidación a formas insolubles.

Otro de los factores de la baja toxicidad del lodo de FeCl₃, es la formación de algunos ligandos con compuestos orgánicos naturales; altas concentraciones de calcio, alta dureza, sólidos en suspensión, o de los sitios específicos del metal, los propios organismos acuáticos son competidores potenciales para los iones metálicos libres y pueden modificar la absorción de metales y la toxicidad, por lo tanto se traduce la señal a un mecanismo de protección contra la exposición a ciertos metales (Weltens, et al., 2000).

Sin embargo, varios informes toxicológicos indican que tales sales metálicas son tóxicas para algunos microcrustáceos de agua dulce y larvas de peces (Dalzell & Macfarlane, 1999; Randall, et al., 1999; van Anholt, et al., 2002). En estudios anteriores realizados por Sotero-Santos, et al., (2007) se ha demostrado que presenta toxicidad crónica a altas concentraciones resultando en una baja reproducción e incremento de mortalidad, explicando además que es posible que la toxicidad crónica de los lodos de FeCl₃ también se encuentre asociada con la presencia de otros metales tóxicos y productos químicos originarios de agua cruda o subproductos provenientes de la desinfección y el tratamiento de agua, provocando un efecto sinérgico en la toxicidad.

Aún que presente baja toxicidad aguda, se trata de un metal de transición que a bajos pH presenta la capacidad de provocar peroxidación lipídica principalmente por radicales hidroxilo, en presencia de H₂O₂ puede producir HO· a través de reacciones cíclicas redox tipo Fenton provocando alteraciones sobre la membrana celular; asimismo, causa estrés oxidativo sobre el

DNA por generación de ROS (McDonald, et al., 1989; Gerhardt, 1994; Walker, et al., 2001; Valavanidis, et al., 2006).

Sin embargo, su descarga puede provocar una intensa coloración de la corriente de rechazo generando "salmueras rojas" lo que puede aumentar la turbidez y reducir la penetración de la luz o podría enterrar organismos bénticos en el sitio de descarga (Lattemann & Höpner, 2008).

2.5. Agentes oxidantes

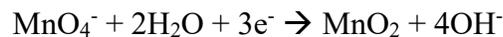
Un problema que se presenta durante el sistema de la desalación, es la presencia de algas y materia orgánica en el agua de origen. Este inconveniente puede causar alteraciones significativas sobre las membranas de OI provocando bio-incrustaciones, también se incluyen alteraciones sobre el sabor y el olor en el agua producto, la producción de subproductos de la desinfección (DBPs), una disminución de la eficacia de la coagulación y posterior floculación, la obstrucción del filtro, entre otros. Para remover la formación de biopelículas se dosifican distintos productos químicos produciendo la oxidación de la materia orgánica, entre ellos el ozono, dióxido de cloro, el cloro como tal y el permanganato potásico favoreciendo la eliminación de algas, m.o. y materia orgánica optimizando el proceso del tratamiento (Chen & Yeh, 2005)

Este tipo de pre-oxidantes se utilizan como coadyuvantes en conjunto con alguicidas y floculantes (Heng, et al., 2008). Estos agentes fragmentan las macromoléculas de la materia orgánica en compuestos orgánicos de bajo peso molecular (Lin, et al., 2012).

Permanganato de Potasio y toxicidad

Es un agente oxidante fuerte que se ha utilizado para controlar el sabor y olor del agua, eliminar el color, controlar el crecimiento biológico en las plantas de tratamiento y eliminar el hierro y el manganeso. Además, es útil en la mejora de los procesos de coagulación y filtración, y el control de la formación de trihalometanos y otros subproductos de desinfección (DBPs). En el

tratamiento de aguas y en la desalación se manejan dosis desde 0.25 hasta 20mg L⁻¹ de acuerdo con EPA, (1999) y Varó, et al., (2011). Se trata de un oxidante de acción rápida, puede oxidar compuestos orgánicos a través de varias vías de reacción incluyendo el intercambio de electrones, la abstracción de hidrógeno o donación directa de oxígeno a través de reacciones tipo Fenton (EPA, 1999; Rodríguez, et al., 2007). En aguas a pH básico, actúa como un agente oxidante poderoso, el cual se reduce a dióxido de manganeso (MnO₂) (Mn⁴⁺) que precipita produciendo la siguiente reacción (Dash, et al., 2009) :



El MnO₂, juega un papel importante en la adsorción y oxidación de la materia orgánica natural y de algunos metales (Wang, et al., 2013). El mecanismo de inactivación es la oxidación directa de material celular o destrucción enzimática específica. El MnO₂ representa un método adicional para la eliminación de los microorganismos y de biota presente en el agua. En forma coloidal, el dióxido de manganeso tiene una capa externa de grupos OH expuestos, estos grupos son capaces de adsorber partículas de especies cargadas, además de moléculas neutras, desestabilizando cargas y provocando la precipitación de estos bioelementos (EPA, 1999). Sin embargo, la inactivación del material celular depende de la concentración del permanganato, el tiempo de contacto, la temperatura, el pH y de la demanda química de oxígeno (DQO) (EPA, 1999; Urynowicz, et al., 2008). Se ha propuesto que el permanganato de potasio presenta problemas de toxicidad a pH altos debido a la precipitación del dióxido de manganeso que es adsorbido por las membranas celulares (Reardon & Harrell, 1994).

La EPA estableció un nivel de contaminante máximo (MCL) de 50 µg L⁻¹ para el MnO₂, la presencia de altas concentraciones de manganeso disueltos en el subsuelo puede ser motivo de preocupación en algunos sitios y generar perturbaciones sobre el ecosistema (EPA, 1999).

Existe poca evidencia científica sobre sus posibles efectos tóxicos como oxidante residual en organismos marinos, la mayoría de la información disponible sobre su toxicidad aguda está enfocada al impacto que producen en organismos de cuerpos de agua continentales (agua dulce en su mayoría) (Reardon & Harrell, 1994; Hobbs, et al., 2006). En estudios anteriores se ha demostrado que presenta diferencias específicas sobre sus efectos tóxicos en los distintos niveles tróficos de este agente oxidante, es decir, su toxicidad varía conforme se escala en los eslabones

de la cadena trófica acuática. Puede ser más potente provocando una alta toxicidad aguda al fitoplancton, y por el contrario, necesitarse más dosis para alterar a los niveles superiores. Una vez introducido en el sistema acuático, el ión MnO_4^- desaparece rápidamente, ya que reacciona con la materia orgánica en el agua, por lo que presenta un efecto tóxico rápido (Hobbs, et al., 2006; Kori-Siakpere, 2008).

Los fosfolípidos en la membrana celular, que contienen ácidos grasos insaturados, pueden ser susceptibles a la oxidación por MnO_4^- actuando sobre los dobles enlaces carbono-carbono resultando en la formación de α -hidroxicetonas, dioles y epóxidos. Tales reacciones pueden inducir la pérdida de la función de la membrana y conducir a la muerte celular (Chen & Yeh, 2005). Bui & Cotton, (2002) quienes estudiaron las velocidades de reacción de oxidación para MnO_4^- con las bases de nucleótidos libres del RNA, encontraron que el ion permanganato reacciona fuertemente y rápida con bases de pirimidina uracilo y timina, y débilmente de manera lenta con citosina, afectando muy poco a las bases de purina del DNA. Anteriormente, Peterson, et al., (1995), informaron que el $KMnO_4$ fue el segundo después del cloro en alta toxicidad sobre microalgas de agua dulce, describiendo que este oxidante químico es capaz de liberar cantidades significativas de componentes orgánicos celulares en concentraciones menores que las requeridas para el tratamiento del agua (Waddell & Mayer, 2003).

No obstante, en ambiente marinos presenta una moderada toxicidad debido a la presencia de sales e iones en el agua que pueden disminuir la cantidad del agente activo disponible, y por mecanismos de osmoregulación en la biota marina. Sin embargo, se puede incrementar la toxicidad conforme aumenta el pH (Reardon & Harrell, 1994).

Así pues la aplicación de agentes oxidantes durante el pre-tratamiento en el sistema de las desaladoras, se ha demostrado su eficacia durante la oxidación de materia orgánica y generar productos degradables y de fácil remoción. Sin embargo, este agente implica cambios sobre las comunidades bióticas, incluso puede causar un aumento sobre la tasa de mortalidad (Waddell & Mayer, 2003).

2.6. Agentes de limpieza y mantenimiento de las membranas

La limpieza de las membranas de ósmosis inversa es un paso esencial en el mantenimiento de la permeabilidad y selectividad perfeccionando el proceso. Este mantenimiento debe eliminar los depósitos y restaurar las características normales de la capacidad de separación y remoción del sistema. La elección del método de limpieza depende de la configuración del módulo, así como de la constitución química de la membrana, y de la naturaleza del incrustante en la misma. Las técnicas de limpieza para la restauración de las membranas se clasifican en tres tipos: (1) métodos físicos, (2) métodos químicos y (3) métodos físico-químicos. La limpieza física está basada en la remoción por tratamiento mecánico y elimina suciedades de la superficie de la membrana (Madaeni & Mansourpanah, 2004).

Con respecto a la limpieza química, esta depende puramente de reacciones químicas con los depósitos, incrustaciones, productos de corrosión y biopelículas generadas por la materia orgánica, a través de la adición de distintas sustancias para eliminar suciedades de la superficie y estructura de la membrana (Madaeni & Mansourpanah, 2004). Los factores importantes para la selección de un agente de limpieza son: la capacidad de limpieza, la facilidad con la que puede ser suspendido y de su distribución en la estructura de la membrana, su estabilidad química durante el uso, el costo y la seguridad que presente la misma (Tran-Ha & Wiley, 1998).

Estas soluciones contienen a menudo productos químicos adicionales para mejorar el proceso de limpieza, tales como detergentes (por ejemplo, dodecilsulfato, sulfonato de dodecibenceno) u oxidantes (perborato de sodio e hipoclorito sódico). Después de la limpieza o antes del almacenamiento, las membranas son desinfectadas, para este propósito, se utilizan biocidas oxidantes (cloro y peróxido de hidrógeno) o biocidas no oxidantes tales como el glutaraldehído y en menor grado el formaldehído, o el isotiazol. Además se adicionan quelantes como el EDTA, sales fosfatadas como el ATMP, ácidos inorgánicos HCl, H₃PO₄ y el H₂S y de soluciones alcalinas de NaOH (Bu-Olayan & Thomas, 2006; Fritzmann, et al., 2007; Lattemann & Höpner, 2008).

Glutaraldehído y su toxicidad

Es un biocida industrial utilizado para controlar el crecimiento de microorganismos en las membranas después del tratamiento. Se aplica en dosis que van de 10 a 100mg L⁻¹ en soluciones de 10 al 50% de glutaraldehído (GA) (OECD, 2012). Su alta actividad se debe a que posee grupos carbonilo que reaccionan fácilmente con ácidos nucleicos y proteínas por alquilación de grupos sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo, y de grupos amino. Este alto grado de reactividad permite al glutaraldehído entrecruzar los grupos amino en las paredes celulares y las membranas de bacterias y otros microorganismos (Sano, et al., 2005; Boillot & Perrodin, 2008).

Tabla 9. Propiedades fisicoquímicas y tiempo de degradación acuática del glutaraldehído

Propiedades fisicoquímicas	Valor
Fórmula molecular	C ₅ H ₈ O ₂
Peso molecular	100.11g/mol
Densidad	0.72kg/m ³
Punto de fusión	-14°C
Punto de ebullición	188°C a 1002hPa
Solubilidad	100g en 100ml de H ₂ O a 25°C
Log K_{ow}	-0.11
Biodegradación acuática (aeróbica)	T _{1/2} : 10.6h

El metabolismo del glutaraldehído es relativamente rápida bajo condiciones aeróbicas, con un tiempo de vida media de 10.6 h sobre fase acuosa (Tabla 9). Se metaboliza en última instancia en CO₂, logrando un rendimiento del 68% después de 30 días. Su metabolismo en condiciones anaeróbicas también es rápida con t_{1/2} de 7.7 h (Leung, 2001; Emmanuel, et al., 2005). No obstante, la aplicación continua del biocida y su vertido final sin tratamiento previo sobre la zona de descarga le confieren propiedades altamente tóxicas para los organismos del ecosistema acuático (Lattemann & Höpner, 2008). El GA ha sido descrito como tóxico para varios

organismos acuáticos, incluyendo algas, invertebrados y peces (Pereira, et al., 2014); incluso se ha reportado en la literatura que la presencia de otras sustancias en los efluentes pueden contribuir a una acción tóxica combinada con el biocida (Emmanuel, et al., 2005).

Se ha evaluado en estudios anteriores la toxicidad que presenta el GA sobre ecosistemas acuáticos, clasificando a este agente como de alta toxicidad a corto plazo sobre organismos de distintos niveles de la cadena trófica tanto de agua dulce pero poco se sabe sobre el ecosistema marino, siendo más sensibles el fitoplancton y los consumidores primarios de acuerdo con Leung, (2001). También este mismo investigador, explicó que presenta efectos crónicos como inhibición de reproducción en microcrustáceos de agua dulce en concentraciones alrededor de 4mg L^{-1} , disminución de crecimiento de poblaciones algales y una baja en la eclosión de larvas de peces. Dado que la toxicidad del GA también depende de su interacción con proteínas (de entrecruzamiento con grupos amino y sulfhidrilo) en la pared celular y componentes intracelulares, las diferencias en la sensibilidad a la toxicidad en distintos eslabones de la cadena se debe a la composición celular (Pereira, et al., 2014).

Sin embargo, para dar un bosquejo más amplio sobre la toxicidad de este biocida, se deben tener en cuenta las derivaciones de sensibilidad de las especies a partir de un mayor número de datos sobre toxicidad en los ecosistemas marinos que permite una mejor comprensión de los efectos de la GA en la comunidad acuática.

SECCIÓN III. Relevancia ambiental de bioensayos ecotoxicológicos a través de bioindicadores

3. Importancia de la implementación de un modelo bioindicador para evaluar la toxicidad de sustancias químicas

La seguridad química es una prioridad a nivel internacional para garantizar que el uso de productos químicos a nivel industrial, agrícola o en el tratamiento de aguas no presenten un efecto adverso sobre la salud humana o en el medio ambiente. Para determinar el destino final de la liberación de esos residuos químicos se implementa la aplicación de ensayos ecotoxicológicos a través de la utilización de bioindicadores u organismos representantes del ecosistema receptor (De Zwart, 1995).

Los bioindicadores o indicadores ecológicos tienen la propiedad de responder a cambios de un determinado factor biótico (sequía) o abiótico (contaminación) del ecosistema, de tal manera que esta respuesta quede reflejada en el cambio de un valor o más variables de cualquier nivel. El amplio desarrollo y aplicación de bioindicadores se inició principalmente desde la década de 1960 (Holt & Miller, 2010). Estos organismos tienen requerimientos físicos, químicos, de estructura del hábitat y de relaciones con otras especies. A cada especie o población le corresponden determinados límites de estas condiciones ambientales entre las cuales los organismos pueden sobrevivir (límites máximos), crecer (intermedios) y reproducirse (límites más estrechos). En general, cuanto más estenoica sea la especie en estudio, es decir, cuantos más estrechos sean sus límites de tolerancia, mayor será su utilidad como indicador ecológico (Figura 12).

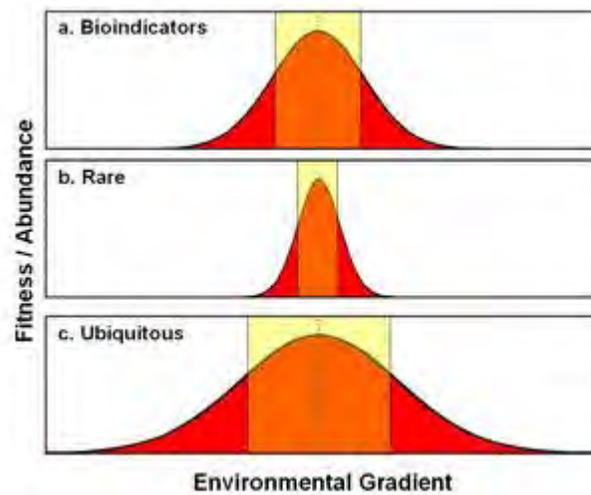


Figura 12. Comparación de las tolerancias ambientales de: (a) bioindicadores, (b) las especies raras, y (c) las especies ubicuas (Holt & Miller, 2010)

Las especies bioindicadoras deben ser, en general, abundantes, muy sensibles al medio de vida, fáciles y rápidas de identificar, bien estudiadas en su ecología y ciclo biológico, y con poca movilidad, de manera que sea posible comparar las condiciones antes y después de una perturbación ambiental (Raz-Guzmán, 2000). El uso de bioindicadores, sin embargo, no sólo se limita a una especie única con una tolerancia ambiental limitada, sino que comunidades enteras pueden ser ensayadas para evaluar la amplia gama de tolerancias ambientales, para el monitoreo del estado del ecosistema como se muestra en el Diagrama 7 (Holt & Miller, 2010).

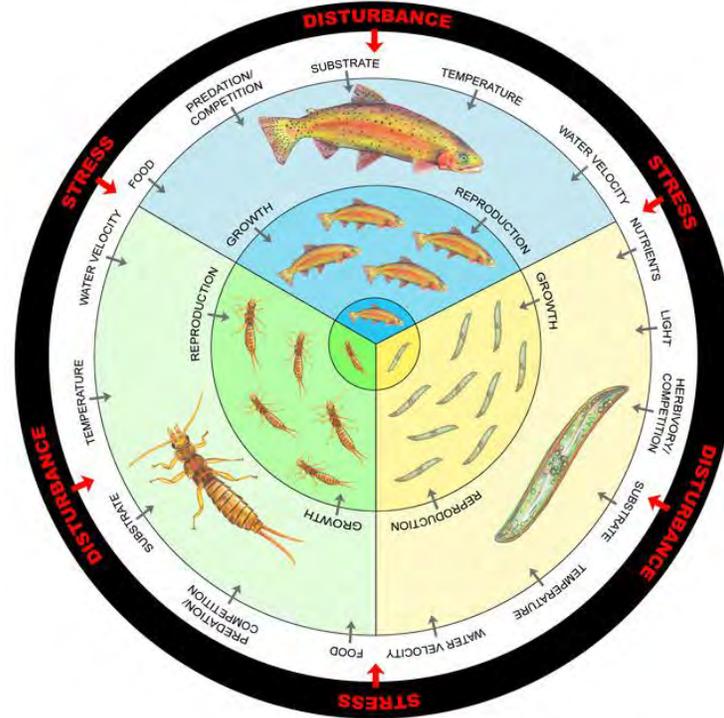


Diagrama 7. Extrapolación de alteraciones antropogénicas en los niveles jerárquicos de un ecosistema acuático (Holt & Miller, 2010)

El empleo de estos organismos está enfocado no sólo para medir el riesgo de los contaminantes químicos en el ecosistema acuático, sino también para determinar el impacto potencial al ámbito humano (Arenzon, et al., 2003).

No obstante, es necesario buscar y proponer especies alternativas debidamente sustentadas, que proporcionen información más adecuada y fácil de entender y extrapolar, de acuerdo a las condiciones ambientales de la biota acuática que prevalece en áreas geográficas que no están incluidas en las zonas templadas del mundo (Kwok, et al., 2007).

De Zwart, (1995); señaló los siguientes beneficios al utilizar bioindicadores para evaluar los riesgos de los distintos xenobióticos en el ambiente acuático:

- Los datos biológicos son fácilmente accesibles como los físico-químicos

- La respuesta biológica es integrativa y acumulativa en la naturaleza, especialmente en los niveles altos de la cadena trófica, reduciendo el número de medidas en espacio y tiempo
- Miden la bio-habilidad de los compuestos integrando concentración y su toxicidad intrínseca.

Y dependiendo del índice a medir en un indicador biológico se pueden determinar los siguientes parámetros de toxicidad en los bioindicadores mencionado también por De Zwart, (1995):

- **Nivel Bioquímico:** Concentración de hormonas y esteroides, cambios en la relación RNA/DNA, Fragilidad de la membrana lisosómica, etc.
- **Nivel Fisiológico:** Crecimiento, tasas de respiración, asimilación y alimentación, consumo de oxígeno, balance de nitrógeno
- **Nivel Poblacional:** Crecimiento poblacional, tasas de natalidad, mortalidad y de supervivencia
- **Nivel Comunitario:** Diversidad, composición, productividad y biomasa celular

Conjuntamente para la implantación de un adecuado bioensayo sobre la evaluación de toxicidad acuática en distintos bioindicadores se requieren de las siguientes características mostradas en la Tabla 10:

Tabla 10. Criterios para la selección de bioensayos en laboratorio para la evaluación toxicológica de sustancias químicas (Ramírez & Mendoza, 2008)

Factibilidad	Bajo costo, Materiales y reactivos disponibles, Tiempo corto de desarrollo y de Procedimiento de prueba simple, Facilidad en la evaluación de la respuesta a medir
De los organismos	Fácil obtención y de mantenimiento Requerimientos mínimos de supervivencia Representatividad ecológica: de un grupo funcional, taxonómico, de una ruta de exposición

	Sensibilidad a compuestos tóxicos (base de datos) y Estadio más sensible
	Condiciones presentes en los ecosistemas (temperatura, salinidad, etc. Por ej. En México) Concentraciones químicas reales en distintas actividades económicas Técnicamente seguros y no contaminantes

Se han propuesto un gran número de bioindicadores y organismos de prueba (principalmente de especies de agua dulce) para la evaluación de la ecotoxicidad de los compuestos antropogénicos en los ambientes acuáticos. Sin embargo, la propuesta de especies de agua marina como organismos de prueba son escasos, y esto puede ser muy importante para la evaluación de impacto ambiental, en particular en estuarios y las zonas costeras (Nunes, et al., 2005).

El medio acuático y en especial el marino es uno de los ecosistemas más expuestos a los contaminantes, debido a que es el receptor final de las descargas o efluentes procedentes por vía terrestre (industrial, agrícola o urbana) y acuática (acuícola, tratamiento de aguas) (Acuña-González, et al., 2004; García-Céspedes, et al., 2004; Norville, 2005; Rojas de Astudillo, et al., 2005). De hecho el ambiente costero debido a la escasa profundidad y claridad del agua soporta hábitats con la mayor productividad y con alta biodiversidad a nivel marino, siendo más cercano a las actividades antropogénicas y como tal, vulnerables a los efectos adversos de los contaminantes depositados en los sedimentos (Abdulaziz H., et al., 2008).

En estos sistemas, el plancton constituye la base que soporta la cadena trófica, de esta manera, un cambio, sea cualitativo o cuantitativo, producido por un contaminante, podría repercutir drásticamente en el ecosistema (Cordero, et al., 2005). Por lo que estas especies son adecuadas para ser utilizadas como indicadores ecológicos por la facilidad de cultivo, manejo y sobre todo por su importancia ecológica, con frecuencia se recurre a estas especies planctónicas como organismos de prueba (bioindicadores).

3.1. *Tetraselmis suecica*

Entre los organismos planctónicos se encuentra al fitoplancton, principal productor de oxígeno, constituye el primer eslabón en la cadena trófica, ocupando distintos nichos ecológicos permitiendo el desarrollo de consumidores de los niveles superiores tróficos. Por lo que es considerado como un importante indicador de la calidad del agua, por su corto ciclo de vida y su rápida respuesta a los cambios del medio ambiente. Siendo la tasa de crecimiento una respuesta sensible y fácil de monitorear, se puede evaluar la disminución de dicha respuesta como un indicador del estrés al cual están sujetas las poblaciones de microalgas a distintos xenobióticos (Ramírez & Mendoza, 2008).

Entre el fitoplancton, se presenta a *Tetraselmis suecica* (Kylin) Buctcher, microalga de ambientes acuáticos costeros. El género *Tetraselmis* corresponde a microalgas verdes marinas unicelulares móviles, debido a la presencia de clorofila *a* y *b* con longitudes de onda en el entorno de la luz azul de 400-500nm, en la zona roja del espectro de 600-700nm y correspondiente al color verde entre 500 y 600nm mostrado en la Figura 13 (Barsanti & Gualtieri, 2014).

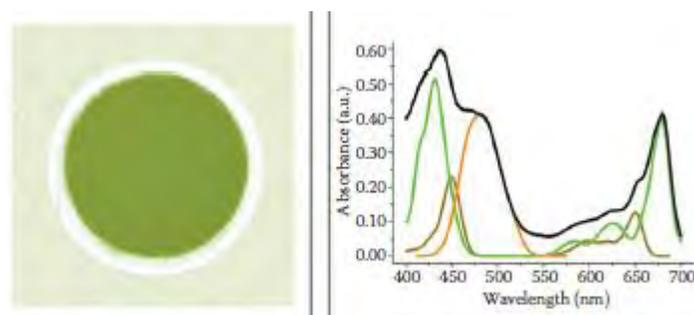


Figura 13. Espectro de absorción de *Tetraselmis*. Línea verde brillante: clorofila *a*; línea verde oliva: clorofila *b*; línea naranja: carotenoides y xantofilas (Barsanti & Gualtieri, 2014).

Se clasifica en la clase *Prasinophyceae*, dentro de la división *Clorophyta* (Tabla 11), con forma oval, presenta 4 flagelos isodinámicos que salen de una invaginación apical en la porción anterior de la célula y que está ubicada en la misma dirección en la que avanza (Figura 14).

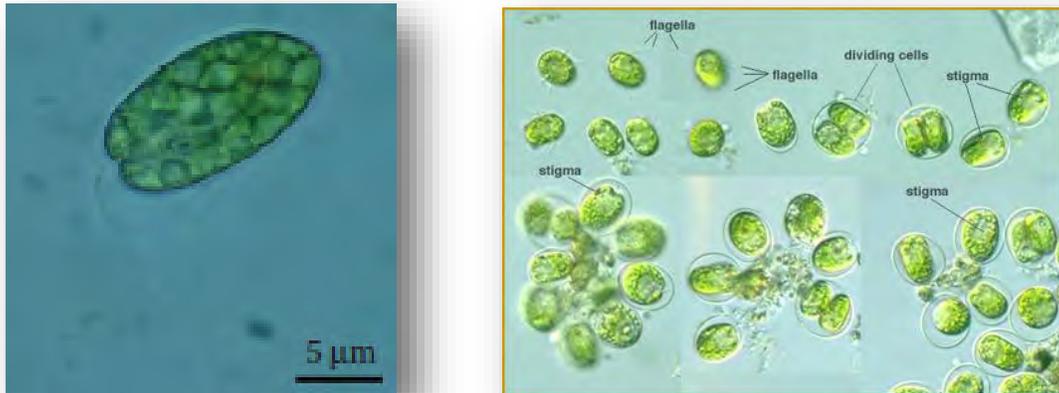


Figura 14. Célula de *Tetraselmis suecica* y componentes celulares (Barsanti & Gualtieri, 2014)

Tabla 11. Clasificación taxonómica de *Tetraselmis suecica* (Wendy Guiry in Guiry & Guiry, 2015)

Clasificación	
Imperio	<i>Eucaryota</i>
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Clorophyta</i>
Clase	<i>Prasinophyceae</i>
Orden	<i>Chlorodendrales</i>
Familia	<i>Chlorodendraceae</i>
Género	<i>Tetraselmis</i>
Especie	<i>suecica</i> (Kylin) Buctcher

Contienen de uno a dos cloroplastos presentando un pirenoide por célula, exhibe una reproducción asexual por zoosporas en estado no motil, presenta un color verde olivo (Wendy Guiry in Guiry & Guiry, 2015).

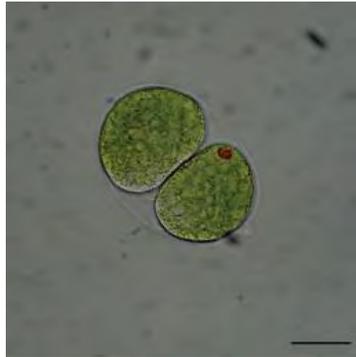


Figura 15. Zoosporas de *Tetraselmis sp.* dentro de la pared celular parental (Barsanti & Gualtieri, 2014)

Especie de fitoplancton que presenta distribución mundial, es utilizada como bioindicador en ensayos de toxicidad, para evaluar los efectos de la toxicidad de los sedimentos y en la prueba de la bioacumulación, porque es capaz de acumular grandes cantidades de metales como el cadmio del medio contaminado (Pérez-Rama, et al., 2002). Así mismo, las especies de *Tetraselmis* son comúnmente utilizadas para fines acuícolas por la facilidad de cultivo a gran escala y son consideradas como una fuente de nutrientes considerables adecuados para crustáceos para varias especies de *Artemia* (Fábregas, et al., 1996; Ulloa, 2012).

3.2. *Artemia franciscana*

Microcrustáceo perteneciente a la subclase *Branchiopoda*, y al orden *Anostraca* (Tabla 12) por la ausencia de un caparazón rígido (Vanhaecke, et al., 1984).

Tabla 12. Clasificación taxonómica de *Artemia franciscana*

<i>Clasificación</i>	
<i>Imperio</i>	<i>Eukaryota</i>
<i>Reino</i>	<i>Animalia</i>
<i>Phyllum</i>	<i>Arthropoda</i>
<i>Clase</i>	<i>Crustacea</i>
<i>Subclase</i>	<i>Branchiopoda</i>
<i>Orden</i>	<i>Anostraca</i>
<i>Familia</i>	<i>Artemiidae</i>
<i>Género</i>	<i>Artemia, Lench 1819</i>
<i>Especie</i>	<i>franciscana Kellogg (1906)</i>

Presenta una reproducción bisexual, habita en costas y sistemas estuarinos de mayor distribución mundial, por ser cosmopolita. Las especies de *Artemia* se adaptan a condiciones que oscilan dentro de un amplio margen de temperatura (6–35°C), y con una salinidad de 5-250g L⁻¹ (Vanhaecke, et al., 1984; Nunes, et al., 2006).

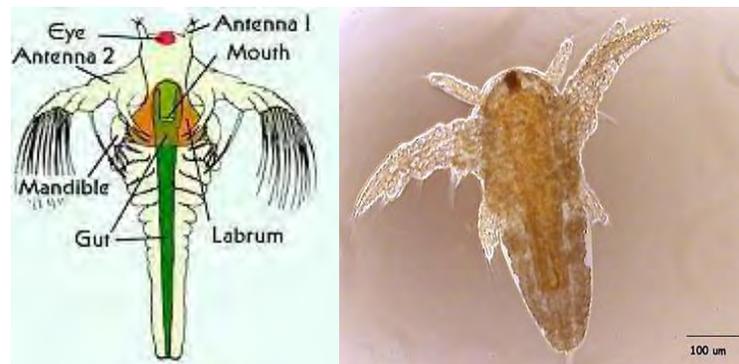


Figura 16. Morfología de un nauplio de 24h de *Artemia franciscana*

Los quistes de *Artemia* tienen forma bicóncava antes de hidratarse, después toman forma esférica al hidratarse, el embrión recobra su metabolismo reversible interrumpido. Después de 24 horas la membrana externa de los quistes se rompe y aparece el embrión rodeado de la membrana de eclosión. Durante las horas siguientes, el embrión abandona la cáscara del quiste colgando del “cascarón” vacío a la cual permanece aún unido (Criel & Macrae, 2002; Tomkins & Dann, 2009) (Figura 17).

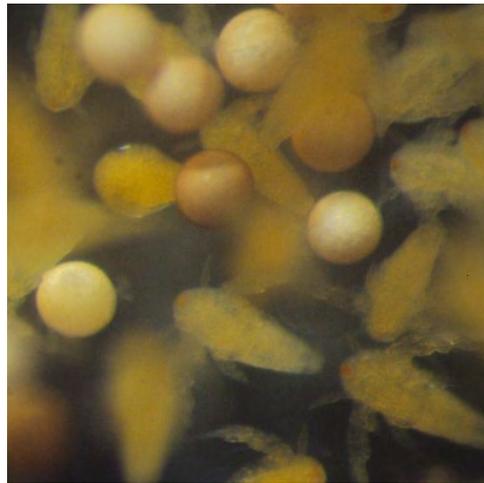


Figura 17. Eclosión de *Artemia franciscana*

En las primeras etapas de la *Artemia* tiene una longitud entre 400 y 500 micras, posee un color pardo anaranjado debido a la acumulación de reservas vitelinas y posee tres pares de apéndices (Figura 16). Presenta un ojo naupliar de color rojo, la cara ventral del nauplio se encuentra cubierta por un amplio surco que interviene en la toma de alimento. Su aparato digestivo no es todavía funcional permaneciendo aún cerrados la boca y el ano. Así el nauplio continúa su crecimiento apareciendo diferenciaciones a lo largo de las 15 mudas, hasta llegar a la etapa adulta (Criel & Macrae, 2002; Drewes, 2002; Tomkins & Dann, 2009).

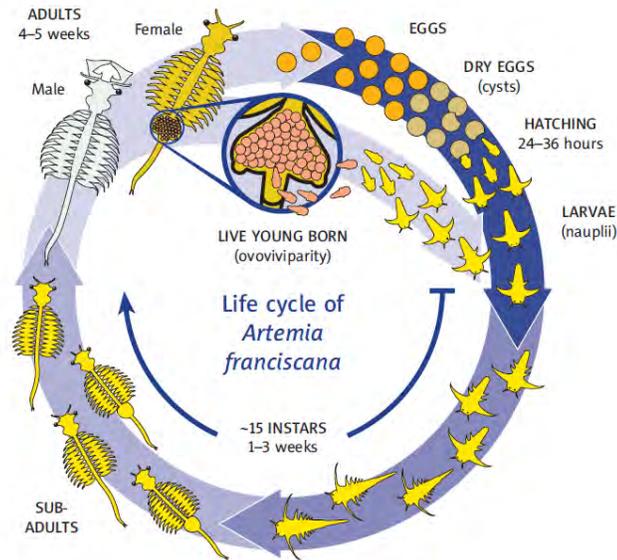


Figura 18. Ciclo biológico de *Artemia franciscana* (Tomkins & Dann, 2009)

Es dominante en el continente americano, se encuentra distribuida desde Canadá hasta la zona central de Chile. De acuerdo con Triantaphyllidis, et al., (1995) y Agh, et al., (2008), reportaron que el máximo crecimiento de *A. franciscana* en la forma juvenil fue observado a una concentración de 35g L^{-1} de salinidad, asimismo se exhibe como un organismo filtrador no selectivo, es decir, presenta una adaptabilidad a varios nutrientes y es resistente a la manipulación.

Artemia franciscana representa a los consumidores primarios lo que representa un enlace esencial entre los productores primarios y los consumidores de los niveles superiores de la cadena trófica marina. Presenta un comportamiento variable frente a la luz a lo largo de su desarrollo, muestra inicialmente un fototropismo positivo, la cual puede ser aprovechada para la estimación de su reducción de la capacidad fototáctica a través de su exposición a diferentes xenobióticos (Bowen, et al., 1978).

Pino & Jorge, (2010), determinaron que la repetitividad y reproductibilidad de los bioensayos a corto plazo con *Artemia* son al menos iguales, que los ensayos utilizando *Daphnia spp.* (Aguas dulces). Con las características intrínsecas anteriormente mencionadas, *Artemia* es un organismo

adecuado para ser utilizado como bioindicador en bioensayos de ecotoxicidad acuática, garantizando la fiabilidad, viabilidad y la relación de costo-eficacia en la investigación ecotoxicológica de xenobióticos. (Nunes, et al., 2006).

Conjuntamente la norma mexicana NMX-AA-110-1995-SCFI “Análisis de agua. Evaluación de toxicidad aguda con *Artemia franciscana Kellogg* (CRUSTACEA–ANOSTRACA). Método de prueba”; establece a *Artemia franciscana* como bioindicador para la evaluación de toxicidad aguda en cuerpos de agua salobres y marinos, efluentes residuales industriales, municipales y agrícolas, lixiviados, sustancias puras o combinadas.

SECCIÓN IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

4. JUSTIFICACIÓN

En el presente proyecto se pretende evaluar la ecotoxicidad acuática de las diferentes sustancias químicas utilizadas en el proceso de desalación por OI, el impacto sobre el comportamiento de organismos planctónicos a través de la exposición a dichas sustancias así como el riesgo que conlleva su uso al carecer de una normatividad vigente o al ser esta escasa e insuficiente en cuanto al establecimiento de las concentraciones, límites máximos permisibles o en su caso valores de referencia para tales sustancias químicas empleadas. En México, la normatividad para legislar la metodología en la desalación de aguas salobres y marinas es deficiente ya que aún se sigue obteniendo agua potable mediante la sobre explotación de acuíferos o cuerpos de aguas dulces. Sin embargo, la desalación en la actualidad está siendo una actividad en crecimiento debido a la contaminación que sufren los cuerpos de agua dulce. Así que como residuo en el vertido de rechazo deben describirse los principales efectos sobre el ecosistema marino de los componentes principales, y debe incluirse así mismo una evaluación de riesgo de la toxicidad potencial en la utilización de cada producto químico de manera individual y en combinación en los procesos anteriormente citados.

En el país todavía es primitiva la introducción de criterios biológicos en la normatividad ambiental, pues se sustenta en estándares de calidad ambiental que se basan en niveles máximos permisibles para algunos contaminantes considerados como importantes por sus efectos biológicos, pero sin que exista una evaluación biológica que permita determinar si tales estándares son en realidad efectivos para lograr la protección de la vida acuática. Esto exige el desarrollo o adaptación de una serie de pruebas biológicas para medir directamente los efectos tóxicos en los organismos y en los ecosistemas. Así surge la necesidad de aplicar bioensayos a las condiciones particulares de México, ya que la gran mayoría de las pruebas estandarizadas hoy en día han sido desarrolladas utilizando organismos y condiciones presentes en las áreas templadas del mundo o en organismos de ambientes acuáticos dulces o de baja salinidad.

Desarrollar un método de evaluación ecotoxicológica en ecosistemas acuáticos prestando especial atención a los medios marinos y estuarinos empleando sistemas que presenten una alta capacidad para detectar de forma rápida y eficaz el riesgo derivado del empleo de los distintos

productos químicos en la puesta en marcha y el mantenimiento de plantas desaladoras en México en la actualidad es una necesidad incluida en el IPCS (Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas).

4.1. HIPÓTESIS

La utilización de productos químicos de manera individual y en combinación en la puesta en marcha de desaladoras así como su presencia en el concentrado de rechazo de la desalación por Ósmosis Inversa suponen un riesgo de impacto afectando la biota de los diferentes ecosistemas marinos entre ellos a organismos planctónicos, en ciertos casos presentándose casos de hipoxia o niveles bajos de oxígeno, disminución de la capacidad fotosintética en microalgas, y mostrándose efectos de inhibición de crecimiento celular así como respuestas de letalidad.

4.2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de la presente investigación está basado en la estimación del impacto tóxico en ecosistemas acuáticos salinos derivado de los productos químicos empleados durante el proceso de desalación por el método de ósmosis inversa en el pre-tratamiento, post-tratamiento y limpieza de membranas, sobre organismos plantónicos implementando como modelos bioindicadores a nauplios de *Artemia franciscana* y microalgas de la especie *Tetraselmis suecica* mediante un bioensayo de procedimiento sencillo, rápido, bajo costo de mantenimiento y con alta confiabilidad en sus resultados.

4.2.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Estimación del impacto del riesgo tóxico a través de la determinación de la CL_{50} sobre nauplios de *Artemia franciscana* de 24h (exposiciones a corto plazo).
- Estimación de las CI_{50} sobre el crecimiento poblacional de *Tetraselmis suecica* a 72h de exposición ($CI_{50(72)}$)
- Determinación de las posibles alteraciones sobre el rendimiento cuántico fotosintético (Φ_{PSII}) de *Tetraselmis suecica*, fruto de las exposiciones a los distintos xenobióticos.
- Evaluación del balance de oxígeno en *Tetraselmis suecica* por la exposición a las diferentes sustancias químicas utilizadas en OI a través del método de oximetría por electrodo de Clark
- Determinación de sinergismo, efecto aditivo y antagonismo, según el caso, a través de combinaciones de los productos químicos utilizados en la desalación de OI por la técnica del Índice de Combinación

SECCIÓN V. MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Sustancias químicas a estimar

Para la estimación de los distintos índices de toxicidad, se realizaron distintas diluciones para la obtención de concentraciones de los distintos productos representativos de pre y post-tratamiento de desalación por OI a 1-100mg L⁻¹. Las sustancias químicas empleadas y el control de referencia fueron de grado analítico, obtenidos de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA), por lo que no se necesita de purificación y de acuerdo al no. CAS utilizadas en la desalación (Tabla 13):

Tabla 13. Productos del pre-tratamiento, post-tratamiento y limpieza de membranas en desalación por ósmosis inversa

Sustancia	Fórmula molecular	No. CAS	Solubilidad PM Densidad	Función
Hipoclorito sódico	NaClO	7681-52-9	29.3 g/100mL (0 °C) 74.44 g/mol 1,11 g/cm ³	Desinfectante, Oxidante Pre y post-tratamiento
Permanganato de potasio	KMnO ₄	7722-64-7	6.38g/100 ml a 20 °C 158.03g/mol 2.703g/ml	Oxidante Pre-tratamiento
Cloruro Férrico Hexahidratado	FeCl ₃ ·6H ₂ O	10025-77-1	92 g/100 ml a 20 °C 270.30g/mol 1.82 kg/L a 20°C	Coagulante Pre-tratamiento
Sulfato de Cobre pentahidratado	CuSO ₄ ·5H ₂ O	7758-99-8	31.7g/100ml a 0°C 249,7g/mol 2.3g/ml	Alguicida Pre-tratamiento y limpieza de membranas
Glutaraldehído	C ₅ H ₈ O ₂	111-30-8	100% a 20°C 100.11g/mol 1.06kg/m ³	Biocida no oxidante en limpieza de membranas

Tabla 14. Sustancia de referencia utilizada como control positivo

Sustancia de referencia	Fórmula molecular	Solubilidad PM Densidad	No. CAS
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₇	130g/l a 20°C 294.18g/mol 2.68g/cm ³	7778-50-9

5.2. Determinación de CL₅₀ y NOEC (Concentración de Efecto no Observado) en *Artemia franciscana*

5.3. Material biológico

Nauplios de 24h de *Artemia franciscana* fueron obtenidos a partir de la hidratación de quistes (Argent Chemical Laboratories, Washington, USA) a 4°C por 12h y posterior incubación a 28°C en agua marina (Sera Premium, Germany) a 34ppt de salinidad pH de 8.4±0.2 a 24h a una intensidad de fotones de 18.5-20µmol/m²s.

La metodología para la determinación de las Concentraciones Letales 50% (CL₅₀) se basa en la descrita por Persoone *et al.*, 1989 y por Sánchez-Fortún *et al.*, 1994, que consiste en la determinación de la concentración que causa la muerte del 50% de nauplios de *Artemia* de 24h mediante un ensayo estático a través de distintas concentraciones de los xenobióticos a ensayar.

Sobre placas de cultivo celular de 24 pocillos (Sarstedt Inc., USA), en cada pocillo se incluían 10 nauplios de *Artemia* los cuales fueron expuestos a las distintas concentraciones de cada uno de los agentes químicos utilizados en los diferentes tratamientos de la desalación en un volumen total de 1ml. Para cada concentración del agente químico se estableció un control y cuatro repeticiones, se realizó la incubación de las placas a 28°C por 24h. Para un control de calidad interno, también se realizaron bioensayos con K₂Cr₂O₇ como sustancia de referencia. Para estimar el número de nauplios muertos en cada pocillo de cada concentración ensayada,

se realizó la lectura a través de estereoscopio (Zeiss, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) a las 24h de incubación.

En el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestra la metodología para la obtención de las CL₅₀ de cada producto.

Metodología para la determinación de CL₅₀ y NOEC sobre nauplios de 24h de *Artemia franciscana*

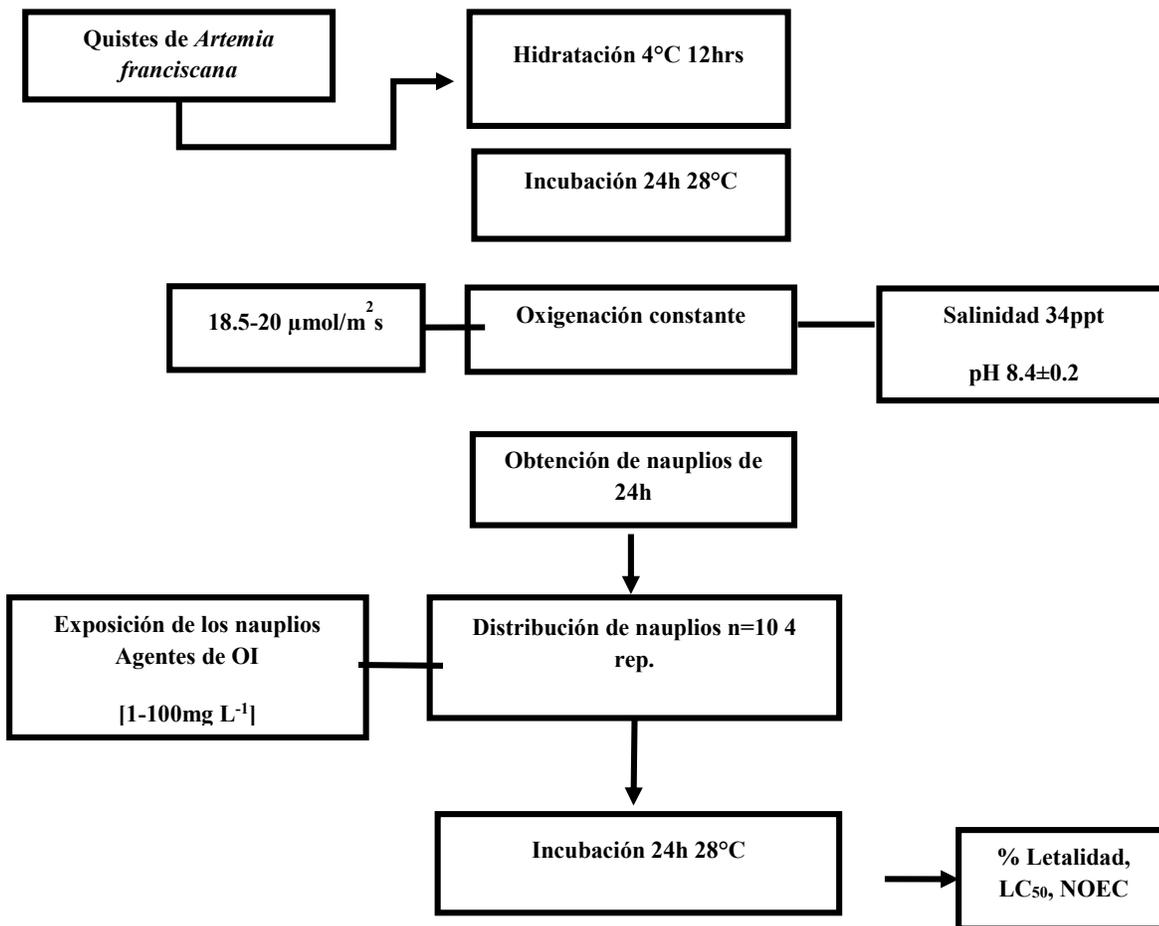


Diagrama 8. Metodología para la determinación de las CL₅₀ y NOEC de cada xenobiótico en *Artemia franciscana* a las 24h

5.4. Determinación de la $CI_{50(72)}$ sobre *Tetraselmis suecica*

El propósito de este ensayo es la determinación de los efectos de una sustancia química sobre el crecimiento del alga verde unicelular *Tetraselmis suecica*. La determinación de la $CI_{50(72)}$ de *Tetraselmis suecica* se basa de acuerdo con la directriz (201) de la OECD (OCDE, 1992) “Bioensayo de Inhibición de crecimiento de algas de sustancias químicas”.

Los ensayos han sido realizados sobre una especie fitoplanctónica *Tetraselmis suecica* representante del ecosistema costero. Especie obtenida del Laboratorio de Toxicología Ambiental en el Dpto. de Toxicología y Farmacología, de la Facultad de Veterinaria, en la Universidad Complutense de Madrid, (España). Las células fueron mantenidas en cultivo axénico a 21°C y periodo de luz-oscuridad de 16:8 a una intensidad de $60\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, en matraces de cultivo (Greiner Bio-One GmbH, Germany), con 20ml de medio de cultivo Guillard's (F-2) marine water (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA).

Los cultivos de crecimiento de manera exponencial de microalgas verdes de *Tetraselmis suecica* están expuestos a diferentes concentraciones de las sustancias químicas de ensayo. Se establecieron 6 sets correspondiente a cada xenobiótico ensayado con el respectivo control de calidad interno con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ como sustancia de referencia, cada ensayo se repitió ocho veces ($n=8$). Con tubos de doble cierre estériles y de poliestireno (Sarstedt AG & Co. Germany), correspondiendo a exposiciones individuales de cada una de las sustancias químicas.

Inicialmente, en cada tubo se incluyó una concentración de 10^4 cel/ml con ajuste por recuento sobre cámara de Neubauer (Brand GmbH + CO KG, Germany) en microscopio óptico (Zeiss, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) en volumen total de 3ml medio F-2. Los sets fueron expuestos a las distintas sustancias químicas en concentraciones crecientes. La inhibición del crecimiento en relación con un cultivo de control está determinado a lo largo de un periodo fijo de 72h en un ciclo de luz-oscuridad 16:8h a una temperatura de 21°C. En el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestra el procedimiento de forma general a seguir.

Determinación de la CI_{50} sobre *Tetraselmis suecica*

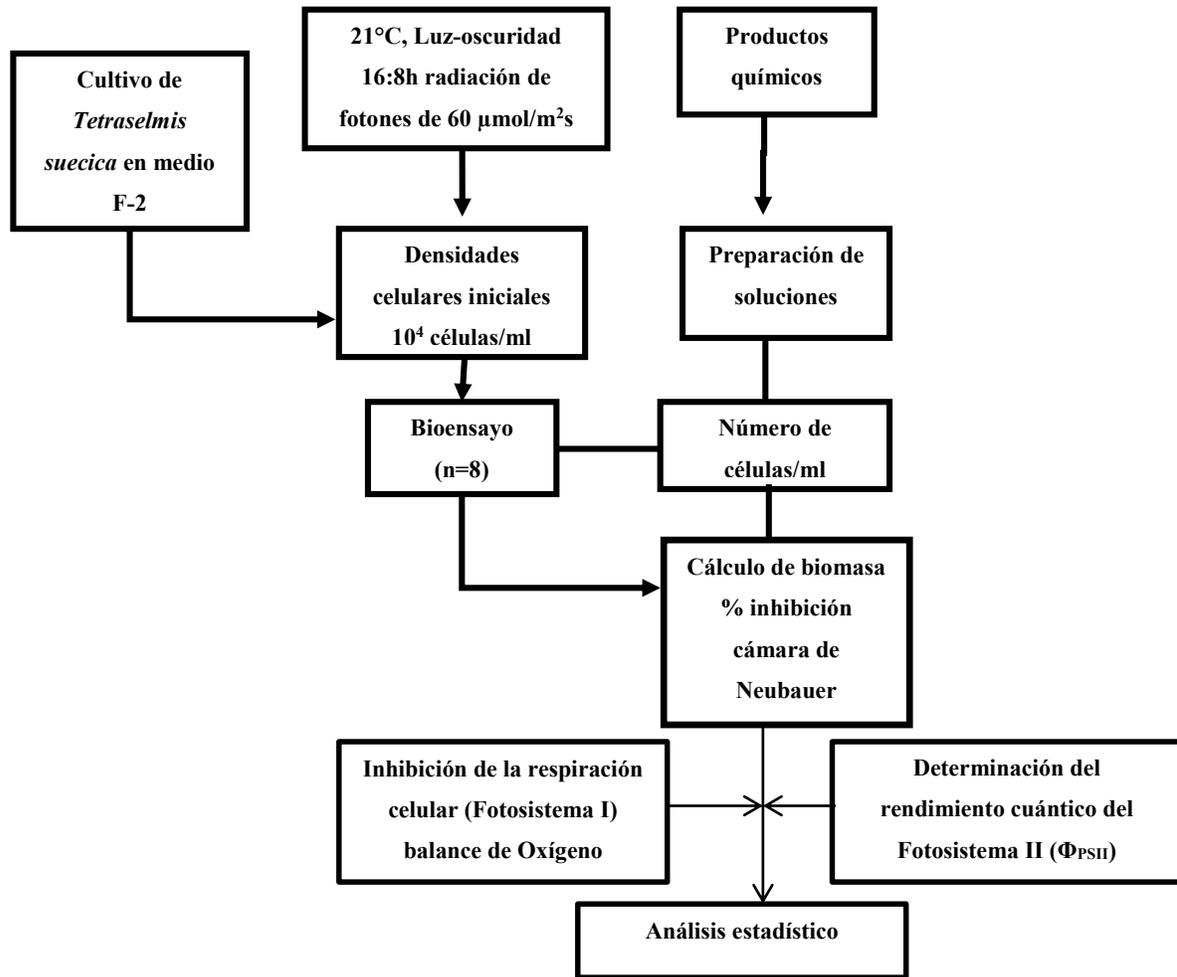


Diagrama 9. Determinación de las $IC_{50(72)}$ Inhibición de crecimiento, alteración del rendimiento Φ_{PSII} , Balance de Oxígeno: P_n y R sobre *T. suecica*

6. ANÁLISIS DE DATOS

6.1. Determinación de los valores de $CL_{50(24)}$ sobre *Artemia franciscana*

Los valores de las $CL_{50(24)}$ sobre *Artemia franciscana* en cada bioensayo son obtenidas por medio de una relación de Concentración-Respuesta calculando los logaritmos de las concentraciones finales, relacionados con el porcentaje de mortalidad (% mortalidad vs. Log Concentración). La prueba de distribución normal de los datos se realiza a través de la prueba D'Agostino y Pearson.

Para la determinación de los valores de las CL_{50} y Concentración Máxima Sin Efecto Observado (NOEC) son obtenidos mediante el modelo de Análisis Probit (Finney, 1971) y el ajuste de las curvas por medio del Método de Mínimos Cuadrados.

*Determinación de la inhibición de crecimiento celular a través de la $IC_{50(72)}$ sobre *Tetraselmis suecica**

La determinación de los valores de las CI_{50} y de las NOEC sobre *Tetraselmis suecica* son obtenidos por regresión lineal mediante el modelo de Análisis Probit (Finney, 1971) mostrando su media y su desviación estándar de cada valor ($\mu \pm \sigma$).

Estimación de la producción de oxígeno según balance producción/consumo de oxígeno en luz/oscuridad

El proceso respiratorio da lugar a un consumo de oxígeno en la oscuridad. El oxígeno que se acumula durante la fotosíntesis o el que se consume durante la respiración se puede detectar por el electrodo tipo Clark. El estudio de la inhibición de la respiración celular se realiza a través del sistema Chlorolab 2 (Hansatech Instruments, Norfolk, England). La medición de oxígeno es en fase líquida cuyo mecanismo se basa en la aplicación de una diferencia de voltaje; el platino que

constituye el cátodo se polariza, el oxígeno entonces se reduce debido a la electronegatividad de la superficie del electrodo, formándose H_2O_2 , generándose una tendencia a que la polaridad disminuya debido a los electrones cedidos al oxígeno; el circuito se cierra con KCl aportado en la membrana, y la plata del ánodo se oxida generando cloruro de plata. El oxígeno de la muestra corresponde al que se consume por la reducción del cátodo.

Para la estimación del balance de oxígeno en luz/oscuridad en *Tetraselmis suecica* se estima la tasa de fotosíntesis bruta (P_g) a partir de la siguiente ecuación:

Ecuación 1. Estimación de la actividad de la fotosíntesis total (P_g)

$$P_g = P_n + R$$

Dónde:

P_g : corresponde a la tasa de producción de oxígeno en la Fotosíntesis bruta

R : (Respiración) proceso por el cual las microalgas consumen oxígeno y liberan CO_2 (fase oscura)

P_n : (tasa de fotosíntesis neta) se define como la diferencia entre P_g y R (fase luminosa)

A través de la cuantificación del oxígeno de la muestra en $nmol O_2/ml$ por el programa informático Oxigraph Plus V. 1.01.

Alteración del rendimiento cuántico del Fotosistema II (Φ_{PSII})

Para la determinación de la inhibición de la actividad fotosintética, se mide el rendimiento cuántico efectivo del Fotosistema II (Φ_{PSII}), a través del método de pulso de saturación utilizando fluorescencia emitida por un fluorímetro de pulsos de amplitud modulada, ToxY-PAM (Walz, Effeltrich, Germany). Cualquier sustancia o tratamiento que provoca una limitación del flujo de electrones en el Fotosistema II de la fotosíntesis provocarán una disminución correspondiente del rendimiento cuántico efectivo del fotosistema. El rendimiento cuántico efectivo del PSII (Y_1 y

Y2) se calculó a partir de los parámetros de fluorescencia F1, F2, Fm1 y Fm2 de acuerdo con la siguiente ecuación:

Ecuación 2. Rendimiento cuántico fotosintético Φ_{PSII}

$$Y = \frac{(Fm - F)}{Fm}$$

Dónde Fm corresponde al rendimiento de fluorescencia máxima medida durante el pulso de saturación, y F correspondiente al rendimiento de fluorescencia medido poco antes de la aplicación de un pulso de saturación. El análisis de la respuesta se realizó por el paquete de software ToxyWin v1.14, (Heinz Walz GmbH, Germany), y los resultados se presentan como $\mu \pm \sigma$ del porcentaje de inhibición con respecto al control.

La comparación de los datos obtenidos se realiza a través de t-student (para 2 elementos), o en su caso más de 2 parámetros experimentales se analizan mediante ANOVA (Test de Tukey). Reportando los Límites de confianza al 95% (L.C. 95%) todo el análisis se realiza a través del paquete estadístico Graphpad Prism v5.0 (Graph-Pad Software Inc., USA).

Determinación del efecto sinérgico y/o antagónico de las combinaciones de los productos químicos

El propósito de este ensayo es la determinación del efecto sinérgico, aditivo y antagónico que puedan presentar distintas combinaciones de dos o más sustancias químicas a través de sus CL₅₀ y CI₅₀ utilizadas en la desalación por OI a través de la metodología descrita por Chou y col., 1984 a través de una evaluación cuantitativa en la combinación de dos o más sustancias de acuerdo a la potencia de cada producto; si dos xenobióticos que presentan mecanismos de acción similares o son mutuamente excluyentes se presentan en un Índice de Combinación CI<1 muestran un efecto sinérgico, pero si por el contrario dos xenobióticos presentan mecanismos totalmente distintos y

son independientes se presentan en un Índice de Combinación $CI > 1$, exhibirán entonces un efecto antagónico, o en su caso cuando $CI = 1$ se mostraría un efecto aditivo.

Se realiza a través de un sistema de algoritmos basados en el Índice de Combinación de (Chou & Talalay, 1984) y su respectivo gráfico Fa-CI (Respuesta-Índice de Combinación), mediante el programa informático CompuSyn v 1.0 desarrollado por (Chou & Martin, 2005, 2010) e interpretación del efecto con referencia a la Tabla 15.

Tabla 15. Interpretación sobre el efecto sinérgico, antagónico o aditivo (Chou, et al., 1984; Chou & Martin, 2005)

Rango de combinación	Descripción	Grado
< 0.1	Sinergismo muy alto	+++++
0.1-0.3	Alto sinergismo	++++
0.3-0.7	Sinergismo	+++
0.7-0.85	Moderado sinergismo	++
0.85-0.90	Leve sinergismo	+
1.00	Aditivo	±
1.10-1.20	Antagónico	-
1.20-1.45	Antagónico	--
1.45-3.3	Antagónico	---
3.3-10	Fuerte antagonismo	----
>10	Muy fuerte antagonismo	-----

SECCIÓN VII. RESULTADOS.
Exposición individual de los 5
agentes químicos.
Artemia franciscana

7. RESULTADOS. Exposición en forma individual

7.1. Exposición sobre *Artemia franciscana* de los xenobióticos en forma individual

Determinación de la $CL_{50(24)}$ de $CuSO_4$

Se realizaron un rango de concentraciones de 5-100mg/l del Sulfato de Cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) para la determinación de la $CL_{50(24)}$ sobre nauplios de 24h de *Artemia franciscana*. En la **¡Error!** **No se encuentra el origen de la referencia.** se muestran los resultados así como la respuesta lineal sobre artemia (Gráfico 2):

Tabla 16. Valores de la NOEC y $CL_{50(24)}$ del $CuSO_4$ y sus límites confianza del 95%

Variables	Valores $mg L^{-1}$ (LC 95%)
NOEC	4.15 (2.43-6.04)
$CL_{50(24)}$	28.91 (23.23-36.14)

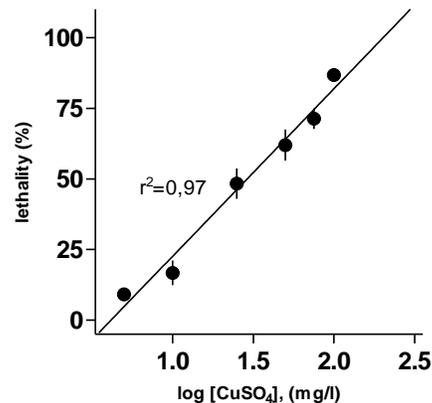


Gráfico 2. Regresión lineal de la respuesta de letalidad del $CuSO_4$ sobre *Artemia franciscana*. Cada punto (•) representa las concentraciones ensayadas con su $\mu \pm \sigma$

En el gráfico anterior, se muestra que conforme se aumenta en concentración del algucida, hay un incremento en la letalidad de artemia.

Determinación de la CL₅₀₍₂₄₎ KMnO₄

Se trabajó en un rango de concentraciones de 20-100mg L⁻¹ del agente utilizado como oxidante en el pre-tratamiento en la desalación KMnO₄ para la determinación de la CL₅₀₍₂₄₎ de *Artemia franciscana* y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 17. Valores de la NOEC y CL₅₀₍₂₄₎ del KMnO₄ y sus límites confianza del 95%

Variables	Valores mg L ⁻¹ (LC 95%)
NOEC	12.05 (6.12-17.49)
CL ₅₀₍₂₄₎	36.06 (27.86-43.25)

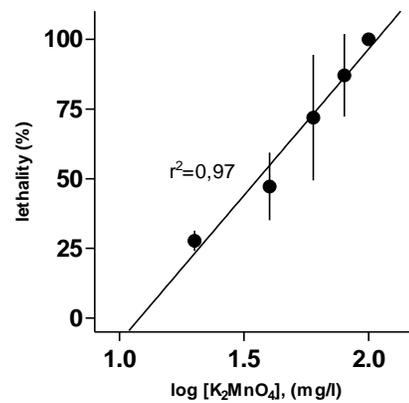


Gráfico 3. Respuesta lineal de la Concentración Letal al 50% del KMnO₄ sobre *A. franciscana*. (•) Concentraciones ensayadas con su $\mu \pm \sigma$

Como se observa en el Gráfico 3, se obtuvo un coeficiente de Pearson de 0.98, es decir, el 98% de los datos explican que al aumentar la concentración del oxidante se incrementa el efecto de letalidad en *A. franciscana*.

Determinación $CL_{50(24)}$ del NaClO sobre nauplios de 24h de Artemia franciscana

La exposición sobre *Artemia franciscana* al desinfectante clorado con una concentración de cloro libre de 40g L^{-1} se realizó a través de un rango de concentraciones de $5\text{-}10\text{mg L}^{-1}$, obteniéndose una $CL_{50(24)}$ de 5.92mg L^{-1} y una concentración donde no se obtuvo letalidad de 3.50 mg L^{-1} (24h-NOEC) mostrados en la Tabla 18 y Gráfico 4:

Tabla 18. Valores de la NOEC y $CL_{50(24)}$ del NaClO y sus límites confianza del 95%

Variables	Valores mg L^{-1} (LC95%)
NOEC	3.50 (2.76-4.03)
$LC_{50(24)}$	5.92 (5.44-6.30)

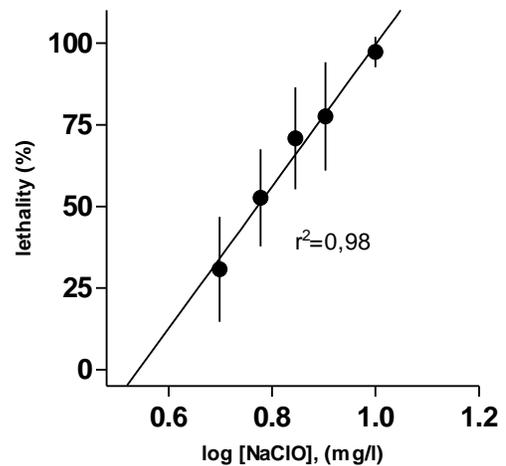


Gráfico 4. Respuesta lineal de la Concentración Letal al 50% del NaClO sobre *A. franciscana*. (•) Concentraciones ensayadas con su $\mu \pm \sigma$

Estimación de la $CL_{50(24)}$ del $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ sobre nauplios de 24h de Artemia franciscana

Para la determinación de la CL_{50} del $FeCl_3$ sobre *Artemia franciscana*, se trabajó en un rango de concentraciones de $175\text{-}250\text{mg/l}$ del coagulante metálico manejado en el pre-tratamiento se obtuvieron los siguientes resultados exhibidos en la Tabla 19:

Tabla 19. Valores de la NOEC y $CL_{50(24)}$ del $FeCl_3$ y sus límites confianza del 95%

Variables	Valores $mg L^{-1}$ (LC95%)
NOEC	167.50 (98.17-188.79)
$CL_{50(24)}$	202.77 (171.40-224.90)

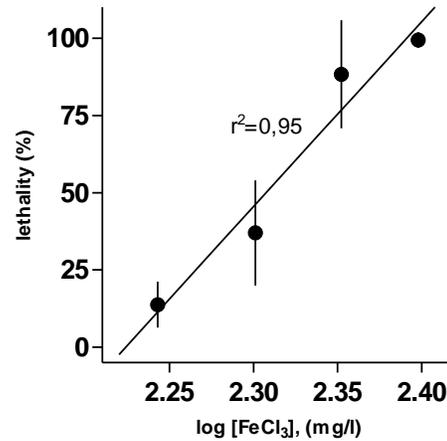


Gráfico 5. Respuesta lineal de la Concentración Letal al 50% del $NaClO$ sobre *A. franciscana*. (•) Concentraciones ensayadas con su $\mu \pm \sigma$

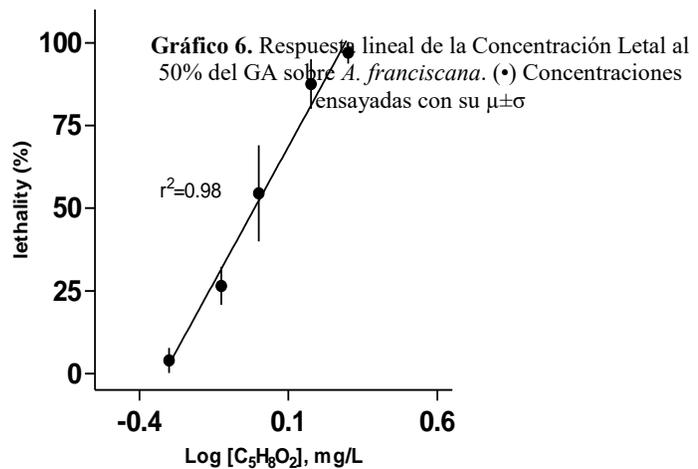
De igual forma en el Gráfico 5, el incremento de la concentración, aumenta la mortalidad de artemia debido a la exposición del coagulante metálico ($r^2=0.95$).

Valoración de la LC_{50} del glutaraldehído al 25% ($C_5H_8O_2$) sobre nauplios de 24h de Artemia franciscana

Para la estimación del efecto tóxico del glutaraldehído sobre los nauplios de 24h de *A. franciscana*, se obtuvieron los parámetros de la $CL_{50(24)}$ con una valor de $0.97 mg L^{-1}$ del biocida orgánico así como la concentración máxima sin efecto observado (24h-NOEC), ambos parámetros con sus respectivos límites de confianza del 95%, mostrados en la Tabla 20:

Tabla 20. Valores de la $CL_{50(24)}$ y 24h-NOEC del $FeCl_3$ y sus límites confianza del 95%

Variables	Valores $mg\ L^{-1}(LC95\%)$
NOEC	0.48 (0.37-0.57)
$LC_{50(24)}$	0.97 (0.86-1.08)



Este biocida orgánico fue altamente tóxico a las concentraciones ensayadas para la población estudiada de *Artemia*, mostrando valores cercanos a $1\ mg\ L^{-1}$, lo que resulta un efecto agudo a corto plazo sobre estos organismos de manera individual (Gráfico 6).

*Estimación del control positivo de la sustancia de referencia dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) sobre el bioindicador zooplanctónico *A. franciscana**

Para establecer la toxicidad a corto plazo de los agentes químicos utilizados en los distintos procesos en la desalación, fue necesario realizar el bioensayo con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) como sustancia de referencia sobre el bioindicador de 24h *Artemia franciscana*, como se muestra

en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se enlistan los valores de la $CL_{50(24)}$ y de la 24h-NOEC:

Tabla 21. Valores de referencia del $CL_{50(24)}$ y 24h-NOEC del dicromato potásico sobre nauplios de 24h de *Artemia franciscana* con sus respectivos límites de confianza al 95%

Variables	Valores $mg L^{-1}$ (LC95%)
24h-NOEC	4.03 (2.76-5.35)
LC_{50} (24)	19 (15.99-22.44)

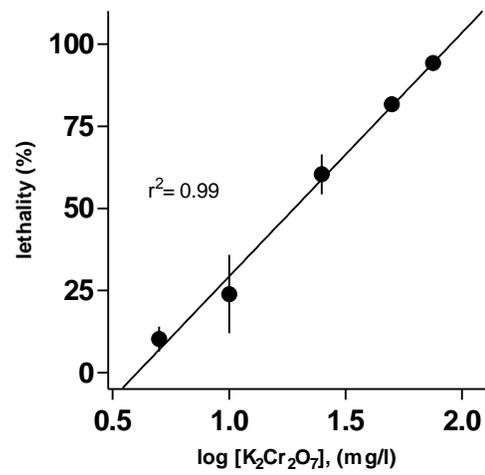


Gráfico 7. Respuesta lineal exhibida por la exposición al control de referencia dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) sobre los nauplios de *A. franciscana*

En el gráfico anterior, cada punto representa 4 ensayos de cada una de las concentraciones ensayadas para el xenobiótico control, mostrando su $\mu \pm \sigma$. Con respecto al incremento en la concentración del metal, es claro el aumento de la toxicidad en parámetro de letalidad sobre el bioindicador.

*Comparación del efecto de letalidad del $CuSO_4$, $KMnO_4$, $NaClO$, $FeCl_3$ y $C_5H_8O_2$ sobre *Artemia franciscana* con respecto al $K_2Cr_2O_7$*

Tabla 22. Análisis de varianza (ANOVA) del efecto de letalidad del $CuSO_4$, $KMnO_4$, $NaClO$, $FeCl_3$ y $C_5H_8O_2$

One-way analysis of variance	
P value	0.8831
P value summary	ns

Are means signif. different? (P < 0.05)	No
Number of groups	5
F	0.2868
R squared	0.05424

Como se muestran en las Tabla 22 y Tabla 23, no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$, $p = 0.88$) sobre la letalidad de los 5 productos químicos usados en la desalación ensayados sobre los nauplios de 24h de *Artemia franciscana* a corto plazo con respecto a la sustancia de referencia dicromato potásico (Tabla 24), es decir, los agentes utilizados tanto en pre como en post-tratamiento se comportan de manera similar en toxicidad en estos organismos plantónicos.

Tabla 23. Test de Tukey de la comparación de los 5 agentes químicos ensayados

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	95% CI of diff
CuSO ₄ vs KMnO ₄	-17.73	1.289	ns	-75.98 to 40.51
CuSO ₄ vs NaClO	-12.83	0.9322	ns	-71.07 to 45.41
CuSO ₄ vs FeCl ₃	-1.423	0.09699	ns	-63.51 to 60.66
CuSO ₄ vs C ₅ H ₈ O ₂	-4.852	0.3525	ns	-63.09 to 53.39
KMnO ₄ vs NaClO	4.904	0.3412	ns	-55.93 to 65.74
KMnO ₄ vs FeCl ₃	16.31	1.070	ns	-48.21 to 80.83
KMnO ₄ vs C ₅ H ₈ O ₂	12.88	0.8962	ns	-47.95 to 73.71
NaClO vs FeCl ₃	11.41	0.7482	ns	-53.12 to 75.93
NaClO vs C ₅ H ₈ O ₂	7.978	0.5550	ns	-52.85 to 68.81
FeCl ₃ vs C ₅ H ₈ O ₂	-3.429	0.2249	ns	-67.95 to 61.09

Tabla 24. Test de Dunnett en la comparación múltiple de los 5 agentes químicos con respecto al K₂Cr₂O₇ como sustancia de referencia

Dunnett's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	95% CI of diff
K ₂ Cr ₂ O ₇ vs CuSO ₄	5.046	0.2536	ns	-48.58 to 58.67
K ₂ Cr ₂ O ₇ vs KMnO ₄	-12.69	0.6106	ns	-68.69 to 43.32
K ₂ Cr ₂ O ₇ vs NaClO	-7.784	0.3746	ns	-63.79 to 48.22
K ₂ Cr ₂ O ₇ vs FeCl ₃	3.623	0.1644	ns	-55.78 to 63.03
K ₂ Cr ₂ O ₇ vs C ₅ H ₈ O ₂	0.1940	0.009336	ns	-55.81 to 56.20

SECCIÓN VIII.
Tetraselmis suecica

8. Exposición sobre *Tetraselmis suecica* de los xenobióticos en forma individual

8.1. Determinación de la $CI_{50(72)}$ del $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ sobre *Tetraselmis suecica*

Se realizó la exposición del metal sobre la microalga costera a concentraciones iniciales de 0.1-50mg L⁻¹ y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 25. Determinación de la $CI_{50(72)}$ LC 95% sobre la inhibición del crecimiento, Fotosistema II Φ_{PSII} y producción de O₂ en Pg en *Tetraselmis suecica*

Variables	$IC_{50(72)}$ mg L ⁻¹ CL 95%	NOEC _{72h}
Inhibición de crecimiento	2.18 (0.69-6.30)	0.02
Φ_{PSII}	3.03 (1.98-4.19)	0.34
Pg	2.62 (1.91-3.38)	0.29

En la Tabla 25 se muestra que para inhibir el crecimiento poblacional, alterar el rendimiento sobre el flujo de electrones de la cadena transportadora sobre el PSII y disminuir la producción sobre la fotosíntesis bruta (Pg) se necesitaron concentraciones entre 2 y 3 mg L⁻¹ del alguicida a base cobre, considerando a este agente como de alta toxicidad sobre el fitoplancton costero.

Tabla 26. Análisis de Varianza (ANOVA comparación múltiple) por Test de Tukey sobre *Tetraselmis suecica*

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	Q	Significant? P < 0.05?	95% CI of diff
growth vs Φ_{PSII}	-13,41	0,8868	No	-73.11 to 46.29
growth vs Pg	-16,63	1,100	No	-76.33 to 43.07
Φ_{PSII} vs Pg	-3,220	0,2130	No	-62.92 to 56.48

En la Tabla 26 no existen diferencias significativas entre los tres variables, es decir, no hay una acción sobre la fotosíntesis previa a la disminución de la población celular. Sin embargo, la diferencia entre la NOEC sobre población y sobre actividad fotosintética indica que a concentraciones bajas existe una ligera exacerbación de la actividad fotosintética, que luego se corrige y se hace más sensible. Además puede ocurrir un incremento fotosintético debido al estrés provocado por el Cu.

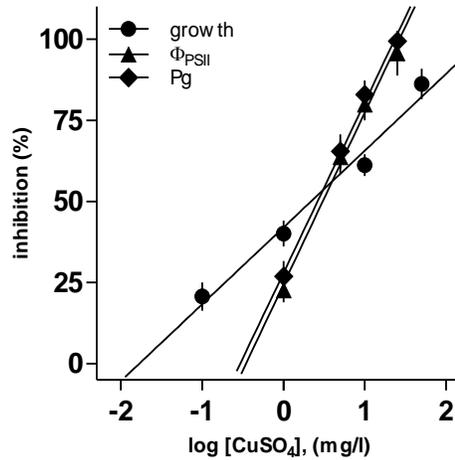


Gráfico 8. Comparación de Inhibición del crecimiento celular, Fotosistema II y Tasa de producción de O₂ en *Tetraselmis suecica* a 72h, (●) Inhibición de Crecimiento Celular, (▲) Alteración Φ_{PSII} . (◆) Alteración en Fotosíntesis bruta (Pg)



Figura 19. Comparación de una célula de *Tetraselmis suecica* Control (izquierda) wild type vs. Célula *T. suecica* (derecha) expuesta con altas concentraciones de CuSO₄.

Lo que sí se puede observar es que las células de *Tetraselmis suecica* expuestas a concentraciones mayores del sulfato de cobre, exhiben un alto grado de vacuolización que no aparece en las células de la cepa salvaje o en las células control (Figura 19).

El estudio comparativo sobre el balance de O_2 en $nmol/ml$ sobre *Tetraselmis suecica* presenta una disminución de dicho balance de acuerdo a concentración dependiente, es decir, muestra una reducción del balance conforme aumenta la concentración en mg/l del $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ vs. Control. Se muestra en el Gráfico 9.

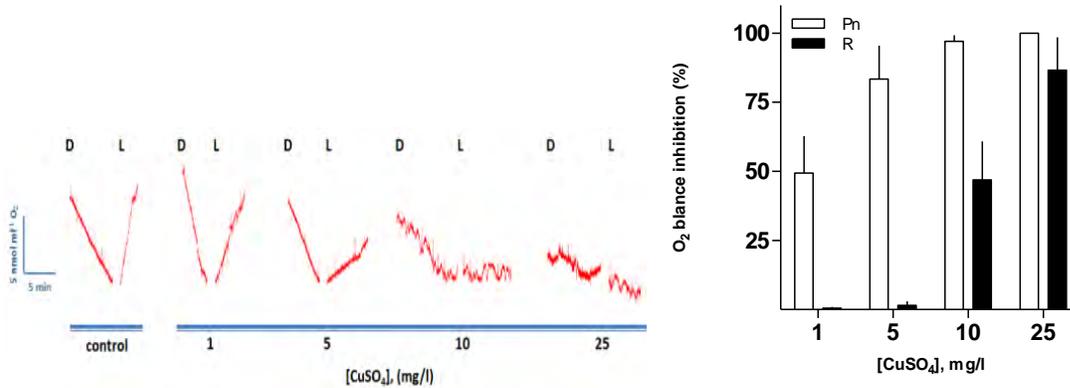


Gráfico 9. Acción de diferentes concentraciones de $CuSO_4$ sobre el balance en $nmolO_2/ml$ de la Fotosíntesis neta vs. Respiración en *Tetraselmis suecica*

Comparando la Fotosíntesis neta (Pn) con la Respiración (R), se aprecia que Pn es la más afectada, mientras que R solo queda afectada a las concentraciones mayores de Sulfato de Cobre (Tabla 27).

Tabla 27. Comparación de Pn/R por exposición de $CuSO_4$ en *T. suecica*

Table Analyzed	Pn/R $CuSO_4$
Column A	Pn
Vs	Vs
Column B	R
Paired t test	
P value	0.0401
P value summary	*
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=3.477 df=3
Number of pairs	4

*Estimación de $CI_{50(72)}$ del $KMnO_4$ sobre *Tetraselmis suecica**

Se realizaron concentraciones en un rango de 0.1-50mg/L del oxidante para la determinación de la CI_{50} a las 72h de exposición sobre células de *Tetraselmis suecica* y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 28. Determinación de las $CI_{50(72)}$ sobre la microalga *Tetraselmis suecica*

Variables	$IC_{50(72)}$, CL 95% mg L ⁻¹	72h-NOEC mg L ⁻¹
Inhibición de Crecimiento	35.40 (33.49-37.32)	25
Φ_{PSII}	17.46 (13.68-21.04)	9.5
Pg	15.13 (12.97-16.98)	8.0

En el Gráfico 10 , se muestran las respectivas regresiones lineales de las variables medidas en *T. suecica*, y se observa un desplazamiento de ambos parámetros fotosintéticos hacia el plano izquierdo. Se evidencia que la actividad fotosintética puede estar comprometida un poco antes que la viabilidad celular de la microalga.

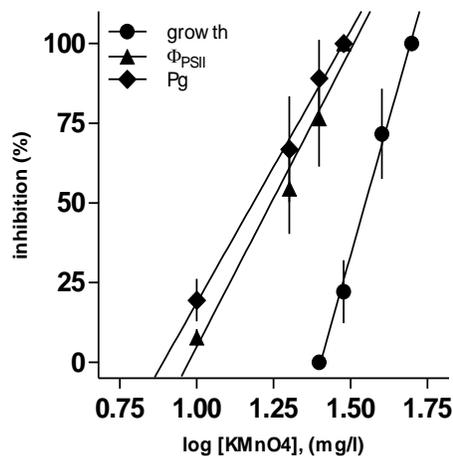


Gráfico 10. Regresión lineal de los tres parámetros medidos en *Tetraselmis suecica* a las 72h de exposición del $KMnO_4$: (●) Inhibición de crecimiento celular, (▲) Alteración del rendimiento cuántico fotosintético, (◆) Fotosíntesis bruta

En el Gráfico 10, se muestran las respectivas regresiones lineales de las variables medidas en *T. suecica*, y se observa un desplazamiento de ambos parámetros fotosintéticos hacia el plano izquierdo. Se evidencia que la actividad fotosintética puede estar comprometida un poco antes que la viabilidad celular de la microalga.

Tabla 29. Test de Comparación múltiple de Tukey sobre *Tetraselmis suecica*

Tukey's Test	Mean Diff.	Q	P < 0.05	95% CL
growth vs Φ_{PSII}	-13,41	0,8868	No	-90.99 to 68.51
growth vs Pg	-16,63	1,100	No	-100.1 to 59.36
Φ_{PSII} vs Pg	-3,220	0,2130	No	-88.90 to 70.60

Sin embargo, como se muestra en la Tabla 29, no existen diferencias significativas entre las tres variables cuantificadas, es decir, no se presenta una acción sobre la fotosíntesis previa a la disminución de la población celular de *T. suecica*.

En el estudio comparativo sobre el balance de O_2 en nmol/ml sobre *Tetraselmis suecica*, se muestra una reducción del balance conforme aumenta la concentración del agente oxidante, siendo la fase luminosa de la fotosíntesis más afectada, como se observa en el Gráfico 11:

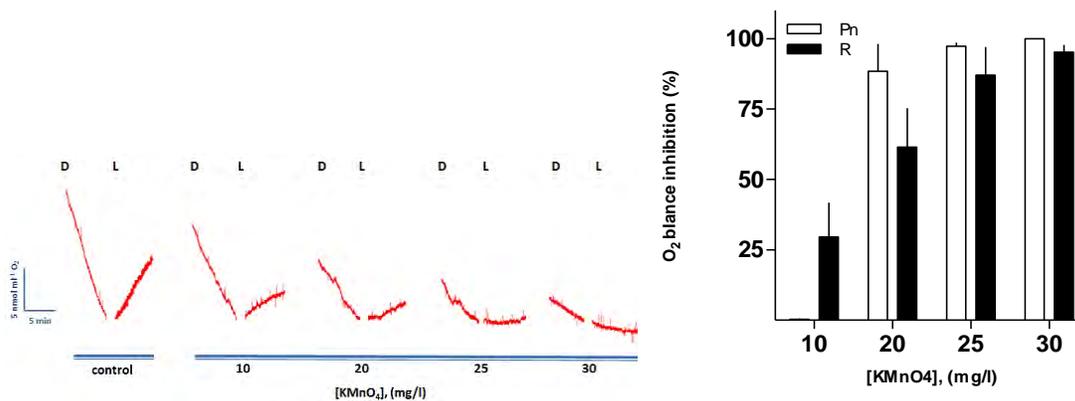


Gráfico 11. Acción de las concentraciones crecientes del $KMnO_4$ sobre la Pn vs. R en *Tetraselmis suecica*. Pn: Fotosíntesis neta (fase luminosa), R: Respiración (fase oscura)

Sin embargo, la Respiración se muestra afectada de forma significativamente menor a las concentraciones bajas del agente oxidante en *T. suecica*. En la Tabla 30 se muestra que no hay diferencias sobre el efecto del permanganato sobre la fase luminosa/fase oscura (Pn/R) en *T. suecica*.

Tabla 30. Comparación de Pn vs. R del KMnO₄ por Test t-student pareada en *T. suecica*

Table Analyzed	Pn/R KMnO ₄
Column A	Pn
Vs	Vs
Column B	R
Paired t test	
P value	0.8033
P value summary	Ns
Are means signif. different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=0.2719 df=3
Number of pairs	4

Determinación de la CI₅₀₍₇₂₎ del NaClO sobre Tetraselmis suecica

Se realizó la exposición sobre *T. suecica* a un rango de concentraciones del hipoclorito sódico de 1-8mg/l, se obtuvo que a un rango de concentraciones ente 1-2.5 mg L⁻¹ del desinfectante causó inhibición del crecimiento de la microalga, alteración sobre el rendimiento cuántico del PSII (Tabla 31).

Tabla 31. Determinación de IC₅₀₍₇₂₎ del NaClO sobre *T. suecica*

Variables	IC ₅₀₍₇₂₎ mg L ⁻¹ LC95%	72h-NOEC
Inhibición de crecimiento	2.39 (2.32-2.46)	0.45
Φ_{PSII}	0.89 (0.31-1.44)	0.17
Pg	1.24 (0.51-1.87)	0.11

No obstante, no hay diferencias estadísticamente significativas entre las 3 variables cuantificadas sobre la microalga (Tabla 32 y Gráfico 12).

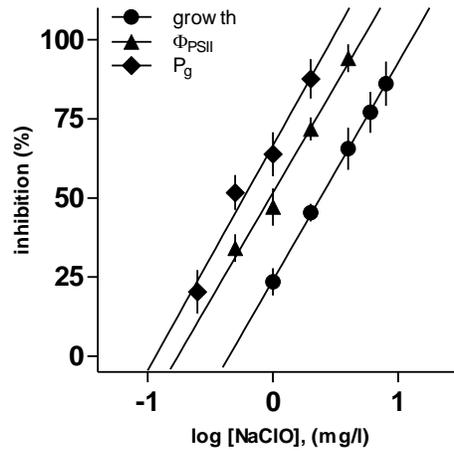


Gráfico 12. Regresión lineal de los tres parámetros medidos en *Tetraselmis suecica* a las 72h de exposición de NaClO: (●) Inhibición de crecimiento celular, (▲) Alteración del rendimiento del Φ_{PSII} , (◆) Fotosíntesis bruta (P_g)

Tabla 32. Comparación de los 3 parámetros por Test de Tukey del NaClO sobre *T. suecica*

Tukey's Test	Mean Diff.	Q	P < 0.05	95% CL
growth vs Φ_{PSII}	-2,315	0,1842	No	-51.03 to 46.40
growth vs P_g	3,635	0,2893	No	-45.08 to 52.35
Φ_{PSII} vs P_g	5,950	0,4492	No	-45.40 to 57.30

Con respecto al estudio sobre el balance de Oxígeno por la exposición del NaClO se muestra en el siguiente gráfico (Gráfico 13):

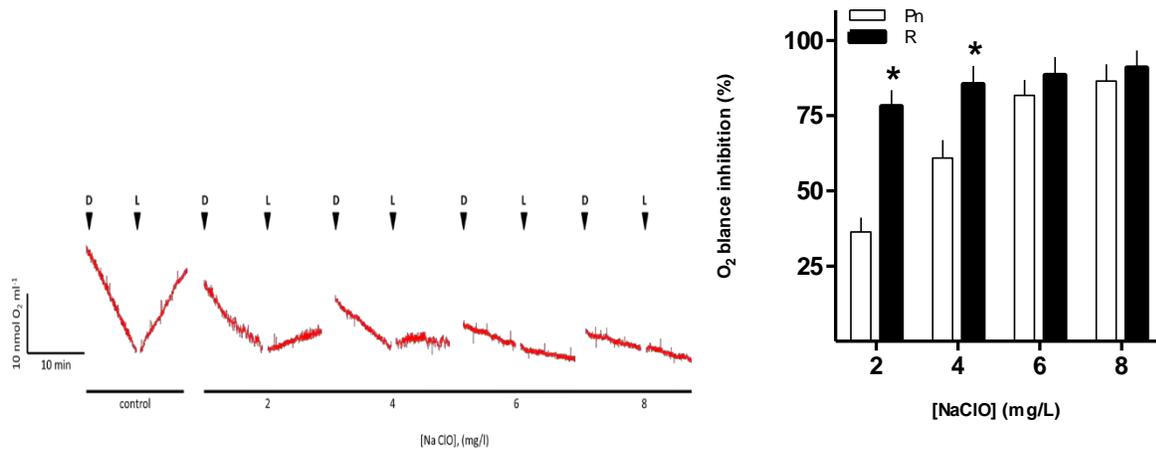


Gráfico 13. Balance de Oxígeno en la Fotosíntesis neta (Pn) y Respiración (R) del NaClO sobre *T. suecica* (*p=0.0566)

Como se muestra en el gráfico anterior y en la Tabla 33, se presentaron diferencias estadísticamente significativas sobre la alteración en la producción de O₂ en la fotosíntesis con respecto a la fijación de ese O₂ y utilizado durante la respiración en la mitocondria.

Tabla 33. Comparación de Pn vs. R del NaClO por Test t-student pareada en *T. suecica*

Table Analyzed	Copy of Pn/R NaClO
Column A	Pn
Vs	Vs
Column B	R
Paired t test	
P value	0.0566
P value summary	Ns
Are means signif. different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	One-tailed
t, df	t=2.218 df=3
Number of pairs	4

*Determinación de la $CI_{50(72)}$ del $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ sobre *Tetraselmis suecica**

Con respecto a la exposición del cloruro férrico sobre *T. suecica* a las 72 horas, se obtuvieron los siguientes valores de $CI_{50(72)}$ mostrados en la Tabla 34.

Tabla 34. Valores de $IC_{50(72)}$ del $FeCl_3$ sobre *T. suecica*

Variables	$IC_{50(72)}$ mg L ⁻¹ LC95%	72h-NOEC
Inhibición de crecimiento	231.21 (209.89-316.23)	173.40
Φ_{PSII}	122.20 (118.85-125.03)	105.44
Pg	123.60 (116.41-130.62)	107.66

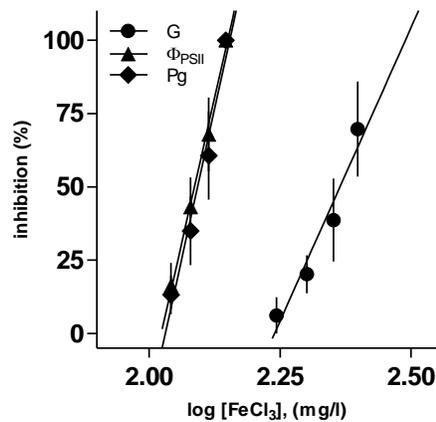


Gráfico 14. Regresión lineal de los tres parámetros medidos en *Tetraselmis suecica* a las 72h de exposición del $FeCl_3$: (●) Inhibición de crecimiento celular (G), (▲) Alteración del rendimiento cuántico fotosintético (Φ_{PSII}), (◆) Fotosíntesis total (Pg)

En la Tabla 35 y en el anterior gráfico se muestra alteración sobre el flujo de electrones en la cadena transportadora de electrones y en la fotosíntesis total previo a la inhibición del crecimiento poblacional de *T. suecica* debido a la exposición de la sal metálica. Sin embargo, en la siguiente tabla se exhibe que no hay diferencias significativas sobre las IC_{50} de los 3 parámetros en la microalga.

Tabla 35. Test de Tukey del FeCl₃ sobre las IC₅₀₍₇₂₎ en *T. suecica*

Tukey's Test	Mean Diff.	Q	P < 0.05	95% CL
growth vs Φ_{PSII}	-23,12	1,371	No	-89.73 to 43.49
growth vs Pg	-18,54	1,099	No	-85.15 to 48.06
Φ_{PSII} vs Pg	4,577	0,2714	No	-62.03 to 71.18

De acuerdo al balance de oxígeno de *T. suecica* se presentan diferencias significativas al efecto provocado por la sal férrica, a las dosis más bajas ensayadas del metal no presenta alteración sobre ambos parámetros, pero conforme se sigue incrementando en la concentración se muestra que la fase luminosa de la fotosíntesis (Pn) se encuentra mayormente afectada con respecto a la respiración (fase oscura) en la mitocondria (Gráfico 15 y Tabla 36).

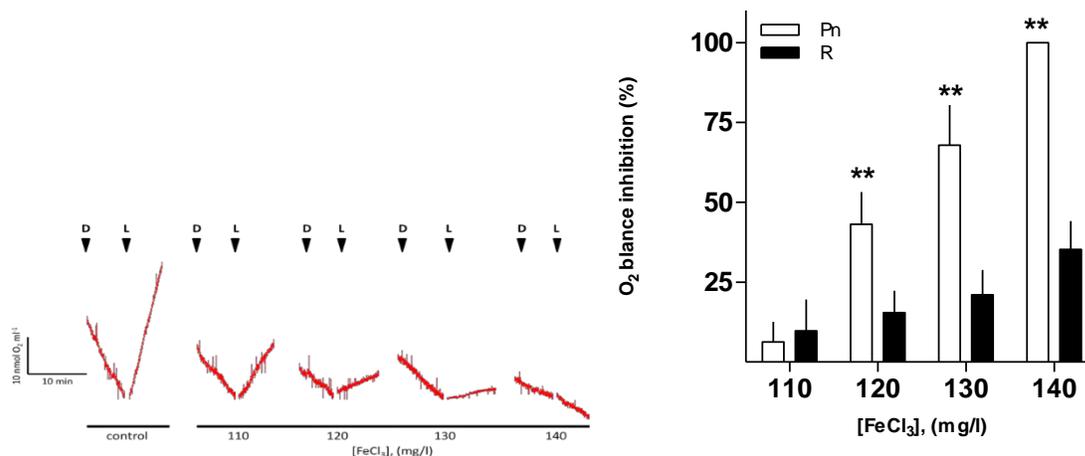


Gráfico 15. Comparación del balance de oxígeno en Pn y R por la exposición al FeCl₃ en *T. suecica* (**p= 0.0513)

Tabla 36. Comparación de Pn vs. R por Test t-student pareada en *T. suecica*

Table Analyzed	Ts Pn/R FeCl ₃
Column A	Pn
Vs	Vs
Column B	R
Paired t test	
P value	0.0513
Are means signif. different? (P < 0.05)	No

One- or two-tailed P value?	One-tailed
t, df	t=2.326 df=3
Number of pairs	4

Estimación del efecto producido por el glutaraldehído (GA) sobre Tetraselmis suecica

La exposición del glutaraldehído sobre *T. suecica*, a concentraciones entre 3 y 5mg L⁻¹ del biocida provocó inhibición sobre el crecimiento poblacional, alteración en el flujo de electrones del PSII y sobre la producción de O₂ en la fotosíntesis total (Pg) como se muestra en la tabla siguiente:

Tabla 37. Valores de IC₅₀₍₇₂₎ del GA sobre *T. suecica*

Variables	IC ₅₀₍₇₂₎ mg L ⁻¹ CL 95%	72h-NOEC
Inhibición de crecimiento	5.67 (4.28-9.27)	1.84
Φ _{PSII}	5.16 (3.28-12.22)	1.84
Pg	3.58 (1.00-8.50)	1.64

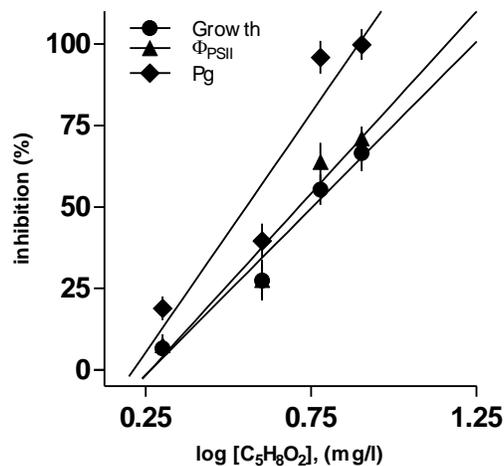


Gráfico 16. Regresión lineal de los tres parámetros medidos en *Tetraselmis suecica* a las 72h de exposición del GA: (●) Inhibición de crecimiento celular (G), (▲) Alteración del rendimiento cuántico fotosintético (ΦPSII), (◆) Fotosíntesis total (Pg)

Tabla 38. Comparación múltiple (Test de Tukey) entre las tres variables estudiadas de *T. suecica* debido al GA

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	Q	Significant? P < 0.05?	95% CI of diff
growth vs Φ_{PSII}	-3.600	0.2178	No	-68.88 to 61.68
growth vs Pg	-24.62	1.489	No	-89.90 to 40.66
Φ_{PSII} vs Pg	-21.02	1.271	No	-86.30 to 44.26

Como se muestra en el Gráfico 16 y la Tabla 38, no existe diferencias estadísticamente significativas sobre la alteración debido a la exposición del GA de los 3 parámetros ensayados sobre la microalga. En otras palabras, la alteración sobre la actividad fotosintética y la inhibición de crecimiento fue a concentraciones similares.

Conforme a la actividad mostrada por este biocida en el balance de oxígeno sobre la fotosíntesis bruta se obtuvo que, a las bajas dosis del GA su efecto predominante fue directamente a la alteración de la respiración en la mitocondria, mientras que a las concentraciones más elevadas ensayadas su respuesta fue la alteración tanto en la Respiración como en la fotosíntesis de la microalga, es decir, no hubo diferencias significativas en el efecto de ambos parámetros (Gráfico 17 y Tabla 39).

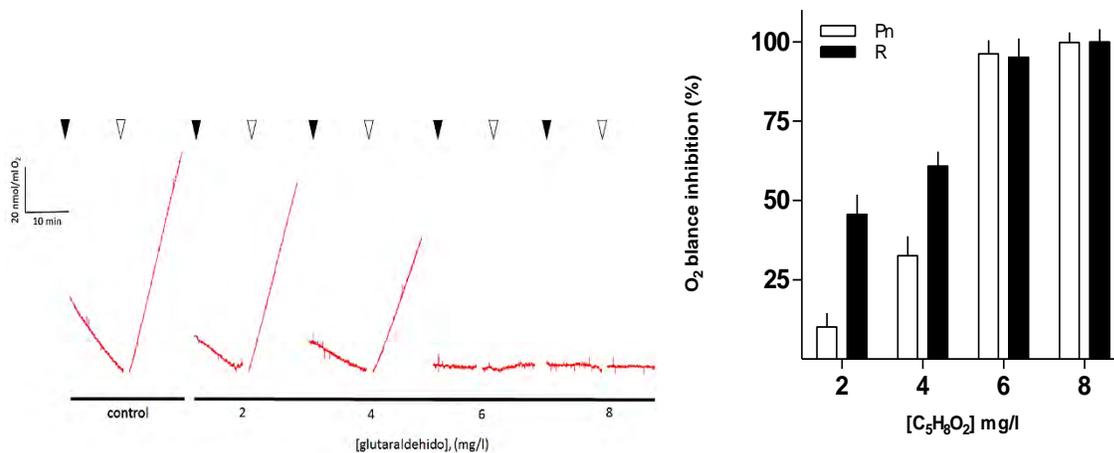


Gráfico 17. Comparación del balance de oxígeno en Pn y R por la exposición al GA en *T. suecica*

Tabla 39. Comparación de Pn vs. R por Test t-student pareada en *T. suecica*

Table Analyzed	Pn/R GA
Column A	Pn
Vs	Vs
Column B	R
Paired t test	
P value	0.5713
P value summary	Ns
Are means signif. different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=0.5986 df=6

Comparación del efecto sobre la inhibición de crecimiento poblacional, fotosíntesis bruta (Pg), rendimiento cuántico fotosintético, fotosíntesis neta (Pn) y respiración (R) de CuSO₄, KMnO₄, NaClO, FeCl₃ y C₅H₈O₂ sobre *Tetraselmis suecica*

Tabla 40. ANOVA del efecto en la inhibición de crecimiento (G), fotosíntesis bruta (Pg), rendimiento cuántico fotosintético

One-way analysis of variance	G	Pg	ΦP _{SI}	Pn	R
P value	0.7532	0.7960	0.8687	0.8465	0.0125
P value summary	ns	ns	ns	ns	*
Are means signif. different? (P < 0.05)	No	No	No	No	Yes
Number of groups	5	5	5	5	5
F	0.4755	0.4138	0.3072	0.3404	4.621
R squared	0.1063	0.09939	0.07571	0.08321	0.5520

(ΦP_{SI}), fotosíntesis neta (Pn) y respiración (R) sobre *T. suecica*

Tabla 41. Test de Tukey sobre el efecto en los 5 parámetros ensayados en *T. suecica* (CuSO₄, KMnO₄, NaClO, FeCl₃ y C₅H₈O₂)

Tukey's Multiple Comparison Test	Q G	P < 0.05?	Q Pg	P < 0.05?	Q Φ _{PSII}	P < 0.05?	Q Pn	P < 0.05?	Q R	P < 0.05?
CuSO₄ vs KMnO₄	0.23	ns	1.04	ns	1.14	ns	10.92	ns	2.63	ns
CuSO₄ vs NaClO	0.50	ns	1.47	ns	5.76	ns	16.08	ns	3.96	ns
CuSO₄ vs FeCl₃	1.17	ns	0.01	ns	8.63	ns	28.12	ns	1.03	ns
CuSO₄ vs C₅H₈O₂	0.85	ns	0.71	ns	22.90	ns	22.75	ns	3.17	ns
KMnO₄ vs NaClO	0.75	ns	0.43	ns	4.62	ns	5.152	ns	1.33	ns
KMnO₄ vs FeCl₃	0.94	ns	1.02	ns	7.49	ns	17.19	ns	3.66	ns
KMnO₄ vs C₅H₈O₂	0.61	ns	0.33	ns	21.76	ns	11.83	ns	0.54	ns
NaClO vs FeCl₃	1.741	ns	1.46	ns	2.87	ns	12.04	ns	5.00	Yes*
NaClO vs C₅H₈O₂	1.386	ns	0.76	ns	17.14	ns	6.68	ns	0.79	ns
FeCl₃ vs C₅H₈O₂	0.3364	ns	0.70	ns	14.27	ns	-5.36	ns	4.20	ns

En las Tabla 40 y Tabla 41 se muestra la comparación múltiple por ANOVA y Tukey del efecto de los 5 agentes químicos ensayados sobre *T. suecica*, como se observa no existen diferencias entre los 5 parámetros estudiados, sin embargo, con respecto al efecto en la respiración el NaClO y el FeCl₃ hubo diferencias estadísticas (p<0.05). En otras palabras, el desinfectante clorado tuvo su efecto directamente sobre la respiración, mientras que la sal férrica a las dosis más bajas ensayadas su mecanismo fue alterar casi directamente la fase luminosa de la fotosíntesis en la microalga.

SECCIÓN IX. RESULTADOS.

Efecto de las combinaciones de los 5 agentes químicos.

Artemia franciscana

9. Efecto de las distintas combinaciones de los 5 agentes químicos ensayados sobre *Artemia franciscana*

Estimación del efecto sinérgico, aditivo o antagónico en la combinación del Sulfato de cobre (CuSO_4) y Permanganato de potasio (KMnO_4)

El metal presenta una ligera exacerbación en la toxicidad con respecto al agente oxidante sobre *A. franciscana*, mientras que se observa que el efecto de la toxicidad de ambos disminuye cuando se realiza la combinación de ambas sustancias químicas (Gráfico 18).

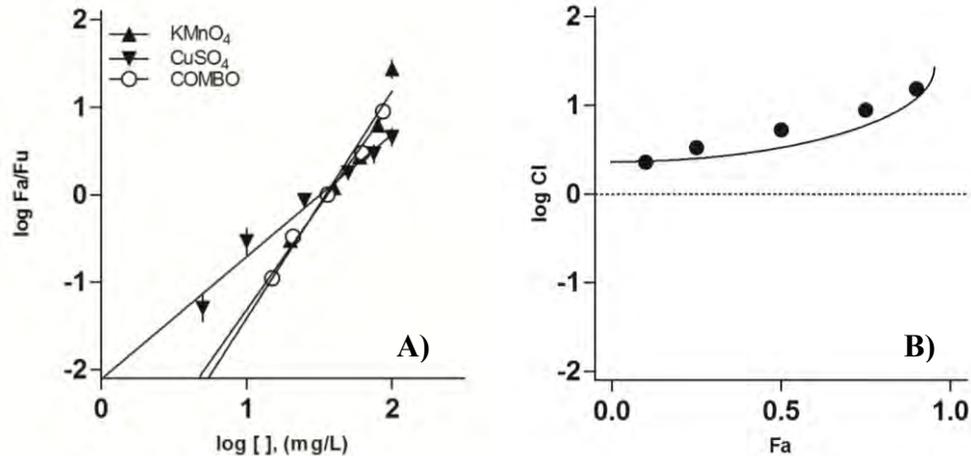


Gráfico 18. A) Respuesta lineal de forma individual y en combinación $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4$ sobre *A. franciscana*. Fa: Fracción afectada, Fu: Fracción no afectada con respecto al logaritmo de las dosis en mg L^{-1} . **B)** Logaritmo del Índice de Combinación de $\text{CuSO}_4/\text{KMnO}_4$

En el Gráfico 18 se exhibe además que el índice de combinación a las dosis experimentales es mayor de 1 ($\text{CI} > 1$), indicando una respuesta **antagónica** al efecto de letalidad sobre los nauplios de *Artemia*.

Tabla 42. Fracción afectada debido al combo CuSO₄/KMnO₄ (Fa), Índice de Reducción de Dosis (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC) sobre *A. franciscana*

Fa	DRI Cu ⁺²	DRI MnO ₄ ⁻	IC
0.10	1.04	0.76	2.28
0.25	1.04	0.42	3.35
0.50	1.05	0.23	5.30
0.75	1.06	0.13	8.86
0.90	1.07	0.07	15.33

En la Tabla 42, se observa que conforme se aumenta el porcentaje de respuesta en *A. franciscana*, el Índice de Reducción de Dosis se mantiene en la unidad en CuSO₄, indicando una reducción de toxicidad (DRI >1), mientras para el KMnO₄, este índice tiende a disminuir cuando se aumenta el porcentaje de la fracción afectada.

Conforme a las dosis utilizadas en las desaladoras de OI de CuSO₄ (1 mg/l) + KMnO₄ (5 mg/l), se obtuvo un IC de **1.633**, mostrando un efecto de muy **leve antagonismo**.

Efecto de la combinación del hipoclorito sódico (NaClO) y permanganato de potasio (KMnO₄)

Con respecto a la respuesta generada por el biocida hipoclorito sódico y del permanganato potásico, se observa que la combinación de ambos generó mayor efecto sobre artemia, al contrario de la respuesta de manera individual mostrado en el Gráfico 19 (A).

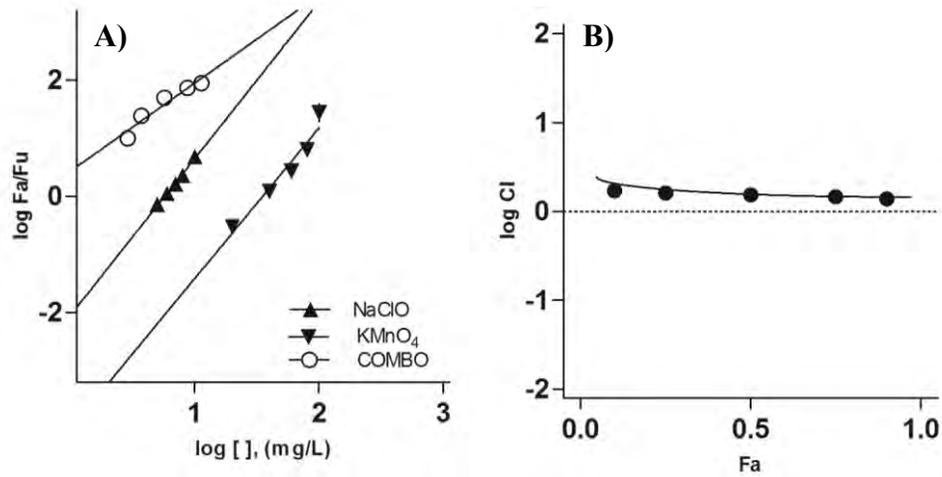


Gráfico 19. A) Respuesta lineal de forma individual y en combinación KMnO₄/NaClO sobre *A. franciscana*. Fa: Fracción afectada, Fu: Fracción no afectada con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹. B) Logaritmo del Índice de Combinación de NaClO/KMnO₄

Conjuntamente en el Gráfico 19 (B), se muestra que el efecto que tuvo la combinación de ambos agentes químicos generó un efecto **levemente antagónico** y conforme se incrementan las dosis, este se orienta a un **efecto aditivo** (Tabla 43).

Tabla 43. Fracción afectada debido al combo NaClO/KMnO₄ (Fa), Índice de Reducción de Dosis (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC) sobre *A. franciscana*

Fa	DRI Cl ⁻	DRI MnO ₄ ⁻	IC
0.10	0.92	1.62	1.71
0.25	0.962	1.73	1.62
0.50	1.00	1.84	1.54
0.75	1.05	1.96	1.46
0.90	1.10	2.08	1.40

Con respecto a la respuesta producida por la combinación de acuerdo a las dosis manejadas en las desaladoras NaClO (1.5 mg/l) + KMnO₄ (5mg/l), se obtuvo un bajo **efecto antagónico** (IC>1) con un **IC de 2.373**.

Evaluación del efecto de la combinación del cloruro férrico ($FeCl_3$) y permanganato de potasio ($KMnO_4$)

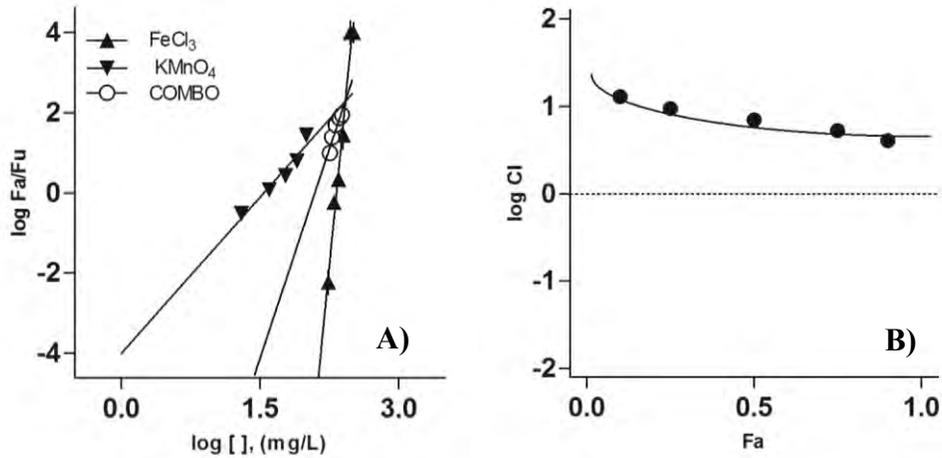


Gráfico 20. A) Respuesta lineal del combo $KMnO_4/FeCl_3$ sobre *A. franciscana*. Fa: Fracción afectada, Fu: Fracción no afectada con respecto al logaritmo de las dosis en $mg\ L^{-1}$. B) Logaritmo del Índice de Combinación de $FeCl_3/KMnO_4$

En el Gráfico 20, se muestra el efecto de la mezcla de la sal férrica con el desinfectante clorado, la combinación de ambos favoreció a un **efecto antagónico** por encima de un valor IC de 1 (Tabla 44).

Tabla 44. Fracción afectada debido al combo $FeCl_3/KMnO_4$ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC)

Fa	DRI Fe^{3+}	DRI MnO_4^-	IC
0.10	1.08	0.08	12.87
0.25	1.05	0.12	9.42
0.50	1.02	0.20	7.00
0.75	0.98	0.24	5.27
0.90	0.95	0.33	4.10

Asimismo a las dosis utilizadas en la desalación muestran un **efecto totalmente antagónico** sobre *A. franciscana* con un **IC 108.43** ($FeCl_3$ [5mg/l] + $KMnO_4$ [5mg/l]).

Combinación del glutaraldehído al 25% (C₅H₈O₂) y el permanganato de potasio (KMnO₄)

La curva del bactericida como se muestra en el Gráfico 21, se encuentra inclinada hacia el plano izquierdo indicando que presentó mayor potencia en toxicidad en comparación con el agente oxidante, sin embargo, cuando se realiza la combinación de ambos, se observa claramente que esta mezcla tuvo un efecto de **alto antagonismo** sobre artemia, ya que los valores se encuentran muy por encima de un valor de IC de 1 (IC >>1) referido en la tabla siguiente:

Tabla 45. Fracción afectada debido al combo GA/KMnO₄ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC)

Fa	DRI GA	DRI MnO ₄ ⁻	IC
0.10	0.03	1.06	44.85
0.25	0.02	1.01	60.28
0.50	0.01	0.97	81.10
0.75	0.01	0.93	109.18
0.90	0.01	0.89	147.10

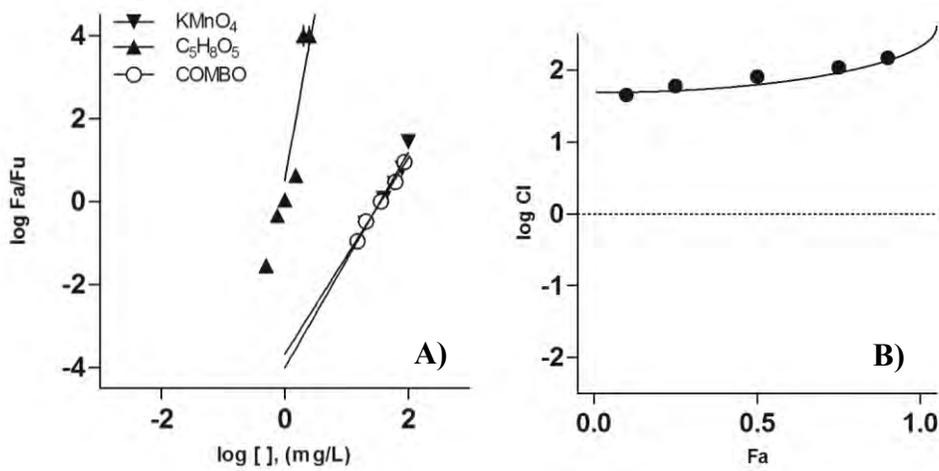


Gráfico 21. A) Respuesta lineal del combo KMnO₄/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹. B) Logaritmo del Índice de Combinación de GA/KMnO₄

Esto mismo sucede con las dosis manejadas en la desalación del glutaraldehído (10 mg/l) + permanganato potásico (5 mg/l), el IC obtenido fue de igual manera traducido en un elevado **efecto antagónico** como se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 46. Respuesta de la combinación de $C_5H_8O_2/KMnO_4$ con respecto a las dosis utilizadas en la desalación OI

Parámetro	$C_5H_8O_2$	$KMnO_4$	COMBO
Fa	0.999	0.000	
CI			530.320

Valoración del efecto de la combinación del hipoclorito sódico ($NaClO$) y el cloruro férrico ($FeCl_3$)

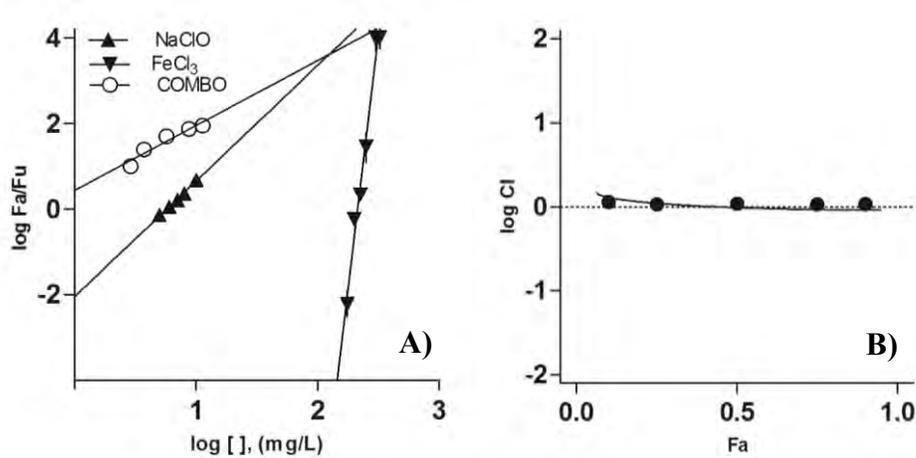


Gráfico 22. A) Respuesta lineal del combo $NaClO/FeCl_3$ con respecto al logaritmo de las dosis en $mg L^{-1}$. B) Logaritmo del Índice de Combinación de $NaClO/FeCl_3$

Tabla 47. Fracción afectada debido al combo $NaClO/FeCl_3$ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC)

Fa	DRI Cl^-	DRI Fe^{3+}	IC
0.10	0.92	21.02	1.14
0.25	0.96	15.34	1.11
0.50	1.00	11.20	1.08
0.75	1.05	8.20	1.07
0.90	1.10	6.00	1.08

De acuerdo con el Gráfico 22 y la Tabla 47, se muestra claramente que la combinación de ambos generó mayor toxicidad que de forma individual. Además, el IC obtenido fue una **respuesta aditiva** ($IC=1$), es decir, la respuesta individual de los agentes se sumó en

combinación. Esto mismo se genera en comparación a las dosis manejadas en el proceso (1mg/l NaClO y 5mg/l para FeCl₃) teniendo un leve antagonismo que incluso a mayores efectos (o incremento en dosis) favorece a una respuesta de **acción aditiva** (Tabla 48).

Tabla 48. Respuesta de la combinación de NaClO/FeCl₃ con respecto a las dosis utilizadas en la desalación OI

Parámetro	NaClO	FeCl ₃	COMBO
Fa	0.000	0.000	
CI			1.464

Respuesta de la combinación del hipoclorito sódico (NaClO) y sulfato cúprico (CuSO₄)

El efecto de la combinación del biocida clorado y del alguicida metálico causó mayor toxicidad a la esperada en el organismo zooplanctónico, provocando un **efecto totalmente aditivo** que incluso a mayores dosis es claro que este mismo efecto se oriente a un **sinergismo** como se observa en el Gráfico 23.

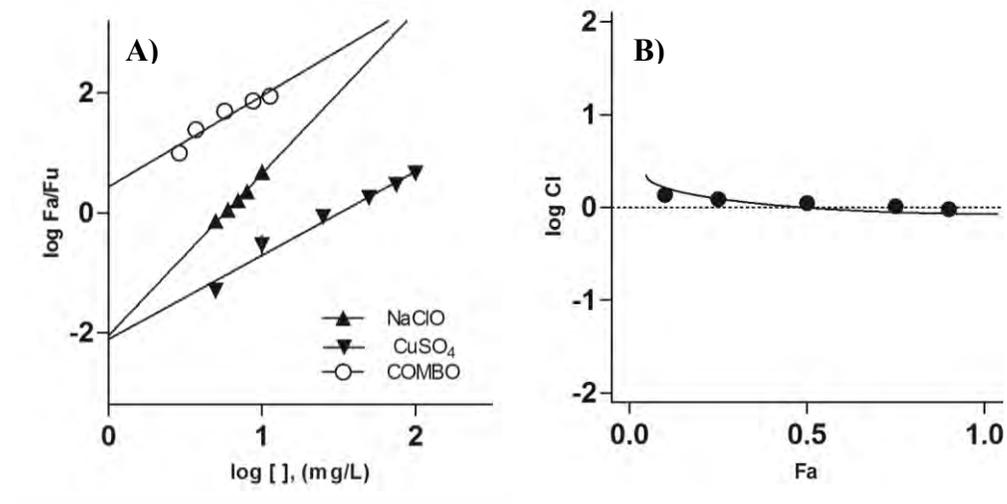


Gráfico 23. A) Respuesta lineal del combo NaClO/CuSO₄ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹. B) Logaritmo del Índice de Combinación de NaClO/CuSO₄

En la Tabla 49, se presenta el DRI de ambos siendo que para el desinfectante el valor del DRI están por debajo de 1 generando mayor toxicidad que con respecto al metal, presentando un IC con **efecto aditivo**. Sin embargo, esto no sucede a las dosis utilizadas en la desalación del hipoclorito sódico (1.5 mg/l) y del sulfato de cobre (1mg/l) presentando un **efecto antagónico** con un IC de **5.612**.

Tabla 49. Fracción afectada debido al combo NaClO/CuSO₄ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC)

Fa	DRI Cl ⁻	DRI Cu ²⁺	IC
0.10	0.92	3.61	1.37
0.25	0.96	5.52	1.22
0.50	1.00	8.44	1.11
0.75	1.05	12.90	1.03
0.90	1.10	19.73	0.96

Estimación del efecto de la combinación del glutaraldehído (C₅H₈O₂) e hipoclorito sódico (NaClO)

Para la determinación del efecto que presenta la combinación del biocida orgánico con el desinfectante clorado se realizó la estimación del IC a través de la respuesta lineal de cada uno por separado y en combinación obteniéndose la siguiente información:

Tabla 50. Fracción afectada debido al combo NaClO/GA (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC)

Fa	DRI Cl ⁻	DRI GA	IC
0.10	0.92	0.035	29.60
0.25	0.96	0.030	35.73
0.50	1.00	0.024	43.22
0.75	1.05	0.020	52.35
0.90	1.10	0.016	63.50

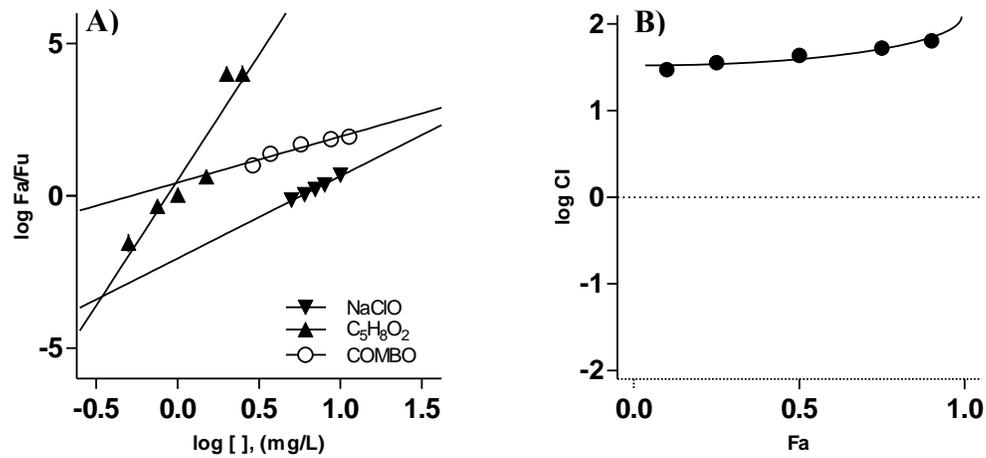


Gráfico 24. A) Respuesta lineal del combo NaClO/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹. B) Logaritmo del Índice de Combinación de NaClO/GA

El efecto que provocó esta combinación fue **totalmente antagónico** y conforme se incrementa la concentración de ambos, este antagonismo se intensifica como se muestra en el Gráfico 24. Asimismo con las dosis manejadas en la desalación del glutaraldehído (GA) (10mg/l) y del hipoclorito sódico (1mg/l) se alcanzó **IC 146.107** con efecto **altamente antagónico** (IC>>1).

Estimación del efecto de la combinación del cloruro férrico (FeCl₃) y sulfato cúprico (CuSO₄)

Tabla 51. Fracción afectada debido al combo FeCl₃/CuSO₄ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC)

Fa	DRI Fe ³⁺	DRI Cu ²⁺	IC
0.10	1.10	0.19	6.29
0.25	1.05	0.37	3.60
0.50	1.02	0.77	2.29
0.75	0.98	1.55	1.66
0.90	0.95	3.14	1.37

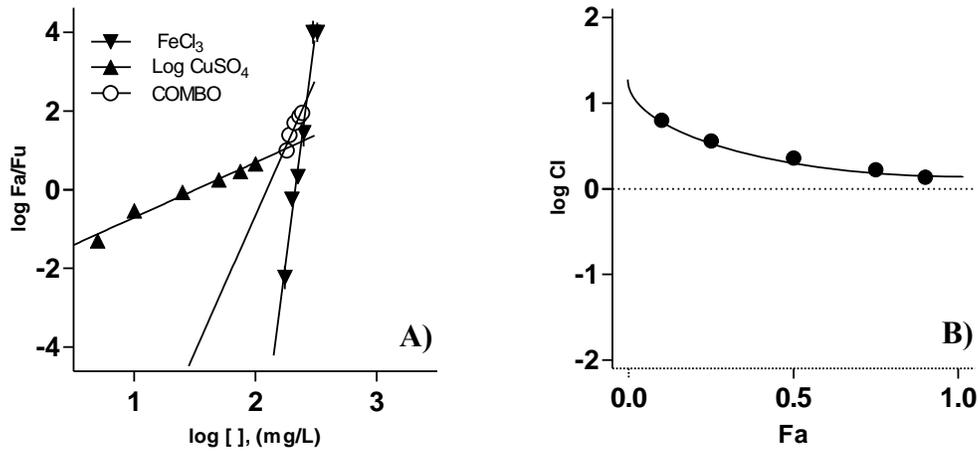


Gráfico 25. A) Respuesta lineal del combo FeCl₃/CuSO₄ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹. B) Logaritmo del Índice de Combinación de FeCl₃/CuSO₄

De manera individual, el alguicida fue más tóxico en comparación con el coagulante sobre *A. franciscana* (Gráfico 25A)), no obstante, cuando son combinados ambos metales el efecto producido es **antagónico**, al mismo tiempo que se incrementa la dosis de ambos, esta respuesta se va debilitando hasta llegar a un **efecto de acción aditiva** mostrado en el Gráfico 25 B) y Tabla 51.

Con respecto a las dosis operadas en la OI del FeCl₃ (5mg/l) y del CuSO₄ (1mg/l), de igual forma se obtiene un efecto de **elevado antagonismo** mostrando un **IC 489.428**.

Estimación del efecto de la combinación del cloruro férrico (FeCl₃) y del glutaraldehído (C₅H₈O₂)

La combinación de ambas sustancias provocó un **elevado antagonismo**, generando una menor toxicidad sobre *A. franciscana* como se muestra en la Tabla 52 y Gráfico 26.

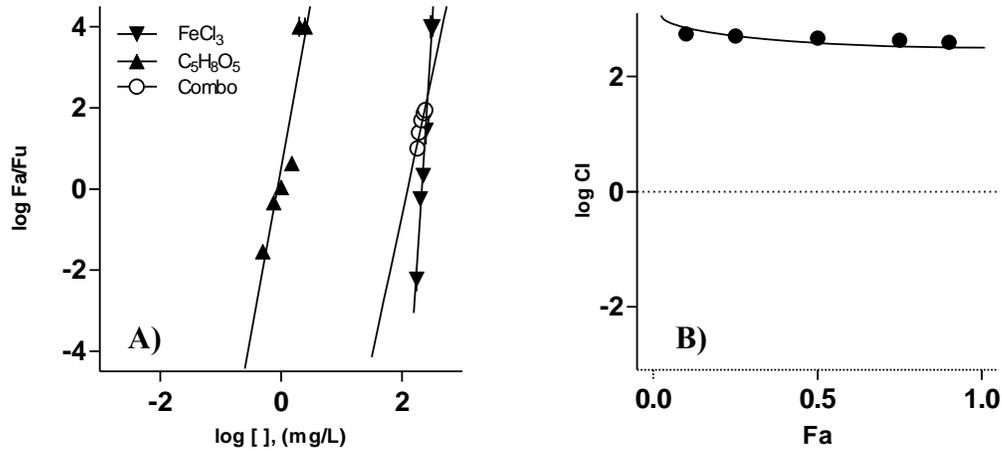


Gráfico 26. A) Respuesta lineal del combo FeCl₃/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹. B) Logaritmo del Índice de Combinación de FeCl₃/GA

Tabla 52. Fracción afectada debido al combo FeCl₃/GA (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC) en *A. franciscana*

Fa	DRI Fe ³⁺	DRI GA	IC
0.10	1.20	0.011	86.76
0.25	1.15	0.006	166.85
0.50	1.11	0.003	321.55
0.75	1.07	0.002	620.36
0.90	1.03	0.001	1197.57

Según a las dosis en la desalación del FeCl₃ (5mg/L) y del C₅H₈O₂ (10mg/l) de igual manera se obtiene un efecto con **fuerte antagonismo** en la mezcla de ambos agentes presentando un **IC 273.11**

Estimación del efecto de la combinación del sulfato de cobre (CuSO_4) y del glutaraldehído ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$)

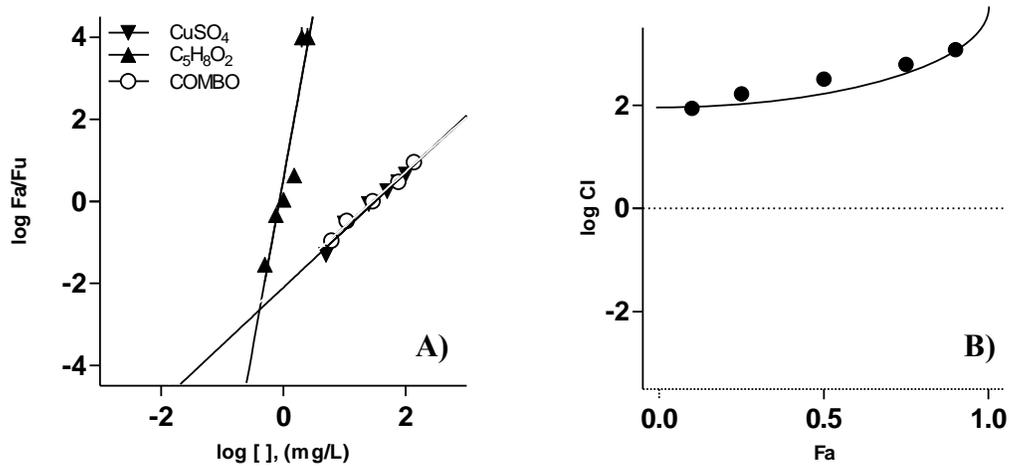


Gráfico 27. A) Respuesta lineal del combo CuSO_4 /GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L^{-1} . B) Logaritmo del Índice de Combinación de CuSO_4 /GA

Tabla 53. Fracción afectada debido al combo CuSO_4 /GA (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC) en *A. franciscana*

Fa	DRI Cu^{2+}	DRI GA	IC
0.10	1.10	0.002	553.928
0.25	1.05	0.002	508.569
0.50	1.02	0.002	466.937
0.75	0.98	0.002	428.725
0.90	0.95	0.003	393.654

Como se presenta en la tabla anterior (Tabla 53), el efecto que se generó fue **alto antagonismo** por la combinación del alguicida metálico con el glutaraldehído y, con respecto al incremento en la dosis, esta respuesta antagonista se va intensificando como se observa en el Gráfico 27 B).

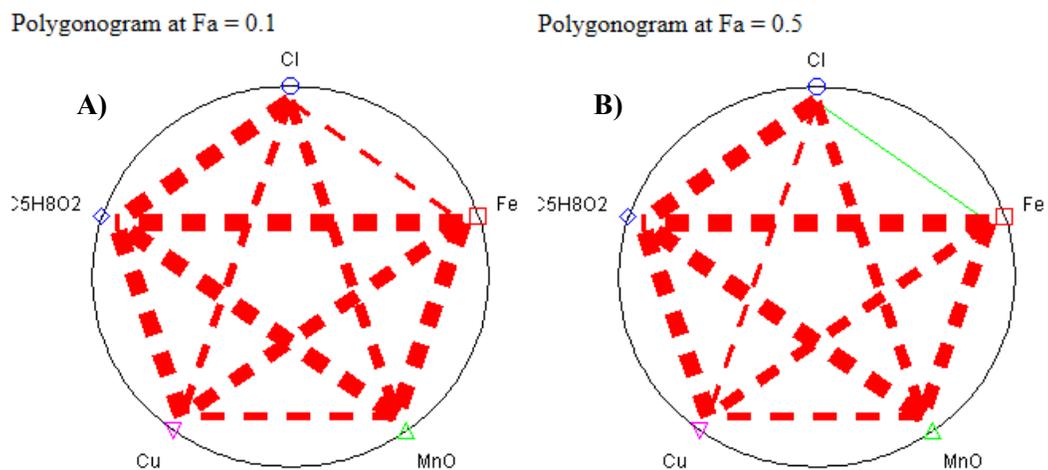
Así conforme a las dosis de la desalación del alguicida metálico (1mg/l) y del biocida (10mg/l) este **efecto antagónico es notablemente muy elevado** a estas concentraciones sobre el organismo zooplanctónico costero referido en la Tabla 54.

Tabla 54. Respuesta de la combinación de CuSO₄/GA con respecto a las dosis utilizadas en la desalación OI

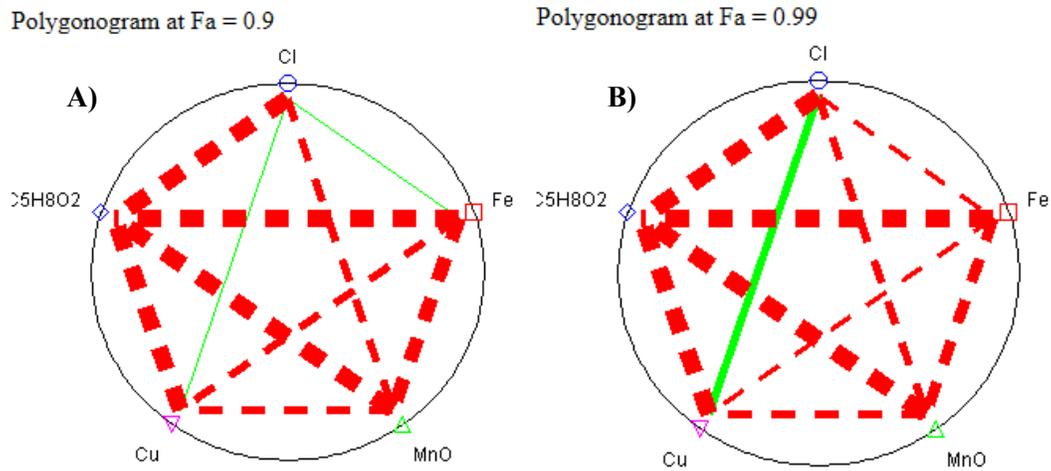
Parámetro	CuSO ₄	GA	COMBO
Fa	0.000	0.999	
CI			20128.3

Resumen de las respuestas provocadas al 10, 50, 90 y 100% del resultado de las combinaciones de los 5 agentes químicos ensayados

En síntesis, la respuesta producida por la combinación de los 5 agentes químicos sobre los nauplios de *Artemia franciscana* a efectos del 10, 50, 90 y 100% se representa en los siguientes poligonogramas:



Poligonograma 1. A) Efecto al 10% de los 5 agentes químicos en combinación sobre *Artemia franciscana*. B) al 50% Línea verde: Efecto aditivo; Línea punteada gruesa: Elevado antagonismo; Línea punteada delgada: Efecto de leve antagonismo



Poligonograma 2. A) Efecto al 90% y B) al 100%. Línea verde gruesa: Efecto de acción fuertemente aditiva; Línea verde delgada: Adición; Línea punteada gruesa: Elevado antagonismo; Línea punteada delgada: Efecto de leve antagonismo

En los poligonogramas anteriores se muestra que de las mezclas de los 5 agentes ensayados a dosis empíricas, el combo de NaClO/CuSO₄ la acción aditiva se va intensificando conforme se incrementa la concentración de ambos (Poligonograma 2 B) esto no sucede al 10% (Poligonograma 1 A); mientras que la combinación del NaClO/FeCl₃ al 50 y 90% permanece la adición, sin embargo, a las dosis más altas ensayadas esta respuesta aditiva se debilita hasta resultar en un antagonismo leve (100%-Poligonograma 2 B).

En las combinaciones restantes muestran un antagonismo en distinta intensidad como una respuesta benéfica de baja toxicidad sobre el proceso y el mantenimiento del sistema de las plantas desaladoras que operan con ósmosis inversa.

SECCIÓN X. RESULTADOS

Evaluación de las distintas combinaciones de los agentes en *Tetraselmis suecica*

10. Estimación de las combinaciones ensayadas de los 5 agentes químicos sobre *Tetraselmis suecica*

Combinación de $\text{CuSO}_4/\text{KMnO}_4$

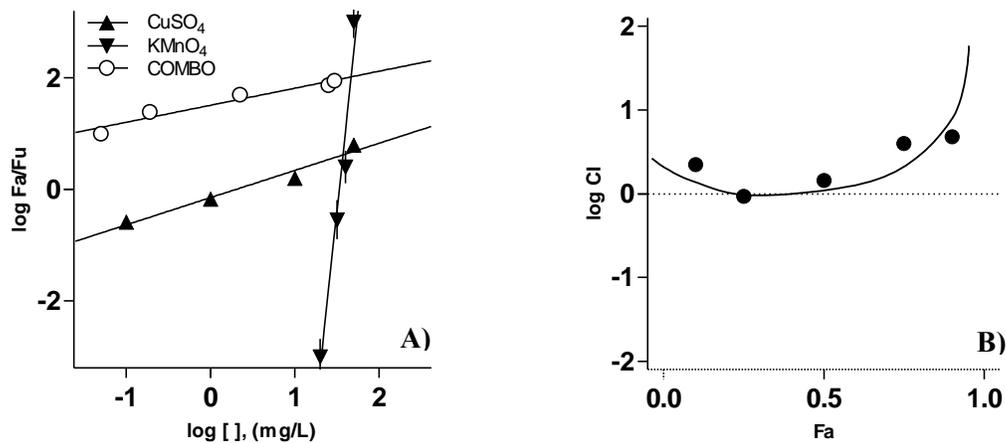


Gráfico 28. A) Respuesta lineal del combo $\text{CuSO}_4/\text{KMnO}_4$ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L^{-1} sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de $\text{CuSO}_4/\text{KMnO}_4$

Como se muestra en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, el metal presentó una ligera desviación hacia el plano izquierdo, sugiriendo una mayor potencia sobre la respuesta en *T. suecica*, la curva de la combinación de ambos provocó una leve disminución del efecto sobre *T. suecica* (Gráfico 28 A).

En el mismo gráfico el IC del metal/oxidante, la curva opta una forma de J, es decir, presenta el fenómeno de *hormesis*, en donde a dosis bajas de la combinación provoca una **respuesta antagonista**, pero al 50% de la fracción afectada hace plató en **efecto aditivo**

(CI=1), y conforme aumenta la concentración, se orienta de nueva cuenta a la **respuesta antagónica** sobre *T. suecica* Gráfico 28 **B** y Tabla 55).

Tabla 55. Fracción afectada debido al combo CuSO₄/KMnO₄ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC) en *T. suecica*

Fa	DRI Cu ²⁺	DRI MnO ₄ ⁻	IC
0.10	0.52	133.76	1.91
0.25	0.78	22.64	1.33
0.50	1.16	3.83	1.12
0.75	1.72	0.65	2.12
0.90	2.56	0.11	9.5

Del mismo modo, se muestra este **efecto aditivo**, de acuerdo a las dosis usadas en el proceso de la desalación por OI con la exposición de CuSO₄ (1 mg/l) + KMnO₄ (5 mg/l) con un **IC 1.128**.

Evaluación del efecto de la combinación de CuSO₄/FeCl₃

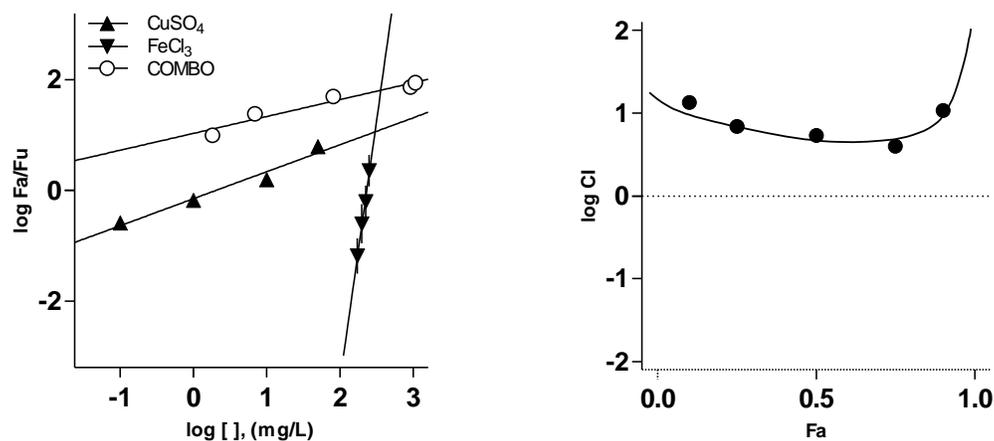


Gráfico 29. A) Respuesta lineal del combo CuSO₄/FeCl₃ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de CuSO₄/FeCl₃

Para presentar un efecto tóxico sobre el crecimiento de *T. suecica* se necesita de más concentración de la sal férrica en comparación con el cobre. Sin embargo, la combinación de los dos metales, hace que se necesite menor dosis de ambos para generar tal respuesta. Claramente ña mezcla provoca un **efecto totalmente antagónico** ($IC > 1$) (Tabla 56) sobre el efecto en la microalga (Gráfico 29 B).

Tabla 56. Fracción afectada debido al combo $CuSO_4/FeCl_3$ (Fa), (DRI) y su respectivo Índice de Combinación (IC) en *T. suecica*

Fa	DRI Cu^{2+}	DRI Fe^{3+}	IC
0.10	0.087	144.64	11.46
0.25	0.13	25.36	7.74
0.50	0.19	4.45	5.40
0.75	0.30	0.78	4.76
0.90	0.43	0.14	9.65

Del mismo modo, se obtuvo un **efecto levemente antagónico** de acuerdo a las dosis de las desaladoras con dosis de $CuSO_4$ (1 mg/l) + $FeCl_3$ (5 mg/l), resultando en un **IC de 5.95**.

Combinación de $NaClO/KMnO_4$

Tabla 57. IC (Índice de Combinación) del combo $NaClO/KMnO_4$ (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis)

Fa	DRI Cl^-	DRI MnO_4^-	IC
0.10	0.062	1.07	16.98
0.25	0.12	1.00	9.54
0.50	0.22	0.94	5.61
0.75	0.41	0.88	3.55
0.90	0.77	0.83	2.50

La combinación de los 2 agentes oxidantes generó un **efecto antagónico fuerte** a efectos bajos (concentraciones bajas) pero conforme se aumenta en la concentración, disminuye el potencial antagónico de la combinación como se muestra en el Gráfico 30 y referenciado en la Tabla 57.

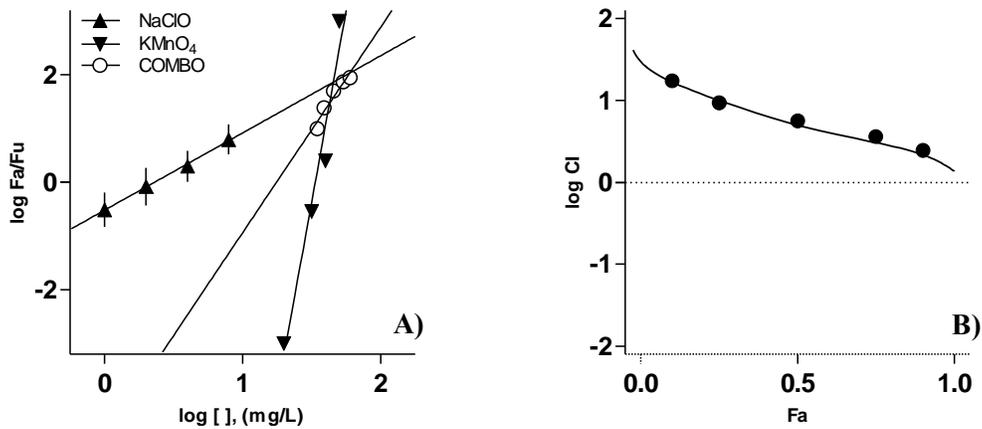


Gráfico 30. A) Respuesta lineal del combo NaClO/KMnO₄ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de NaClO/KMnO₄

De acuerdo con las dosis usadas en las desaladoras del KMnO₄ (5mg/l) en el pre-tratamiento + NaClO (1.5mg/l) en pre y post-tratamiento el resultado obtenido fue **antagónico (IC 7.344)**.

Combinación de FeCl₃/KMnO₄

En el Gráfico 31, se muestra la respuesta lineal del coagulante, oxidante y de su combinación, generando que la combinación de ambos aun así es más tóxica (análoga a la respuesta del KMnO₄) que el coagulante de manera individual.

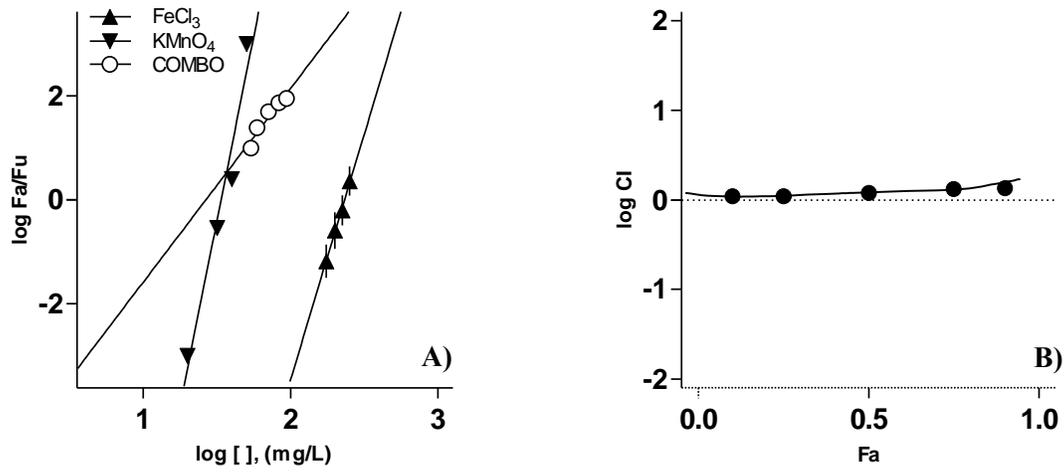


Gráfico 31. A) Respuesta lineal del combo FeCl₃/KMnO₄ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de FeCl₃/KMnO₄

Tabla 58. IC (Índice de Combinación) del combo FeCl₃/KMnO₄ (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis)

Fa	DRI Fe ³⁺	DRI MnO ₄ ⁻	IC
0.10	7.02	1.08	1.06
0.25	6.79	1.01	1.14
0.50	6.57	0.94	1.21
0.75	6.35	0.88	1.30
0.90	6.16	0.82	1.38

Conforme se aumenta en la Fracción afectada (incremento de concentración) existe un ligero incremento en el efecto incluso llegando a un leve antagonismo, pero el resultado neto del combo a las dosis experimentales se traduce en una **respuesta aditiva**.

Con respecto a las dosis de las desaladoras por OI, FeCl₃ (5mg/l) + KMnO₄ (5mg/l) se obtuvo un efecto **claramente sinérgico** sobre *T. suecica* con un **IC de 0.714**.

Efecto de la combinación de $\text{CuSO}_4/\text{NaClO}$

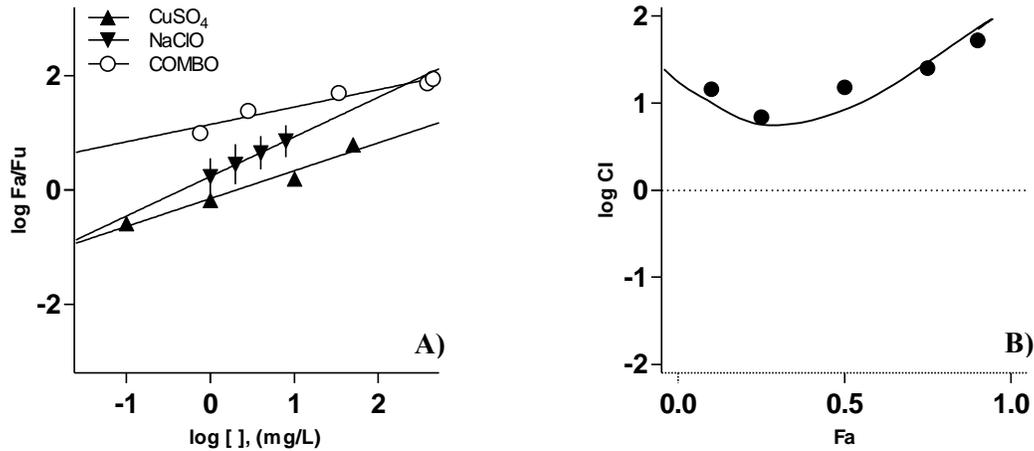


Gráfico 32. A) Respuesta lineal del combo $\text{CuSO}_4/\text{NaClO}$ con respecto al logaritmo de las dosis en mg L^{-1} sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de $\text{CuSO}_4/\text{NaClO}$

Como se puede observar en el Gráfico 32 B y en la Tabla 59, el resultado de la combinación del alguicida con el desinfectante se generó un **fuerte antagonismo**, incluso más alto que el generado por la combinación del cobre con el permanganato de potasio.

Tabla 59. IC (Índice de Combinación) del combo $\text{CuSO}_4/\text{NaClO}$ (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis) sobre *Tetraselmis suecica*

Fa	DRI Cu^{2+}	DRI Cl^-	IC
0.10	0.10	1.30	12.22
0.25	0.13	0.44	9.97
0.50	0.20	0.15	11.87
0.75	0.30	0.05	23.21
0.90	0.43	0.02	60.45

De acuerdo con las dosis aplicadas en las plantas desaladoras de CuSO_4 (1mg/l) + NaClO (1.5mg/l) el resultado de la combinación generó un **efecto antagónico** como se muestra en la tabla siguiente:

Tabla 60. Respuesta del IC a las dosis aplicadas en las desaladoras

Parámetro	CuSO ₄	Cl ⁻	COMBO
Fa	0.420	0.361	
CI			13.816

Combinación de FeCl₃/NaClO

La respuesta de manera individual del NaClO fue más potente para provocar una alteración en *T. suecica*, al contrario que el coagulante necesitando dosis mucho mayores (>100mg L⁻¹), y como se muestra en el gráfico siguiente, la combinación de ambos causó una disminución en toxicidad a la microalga.

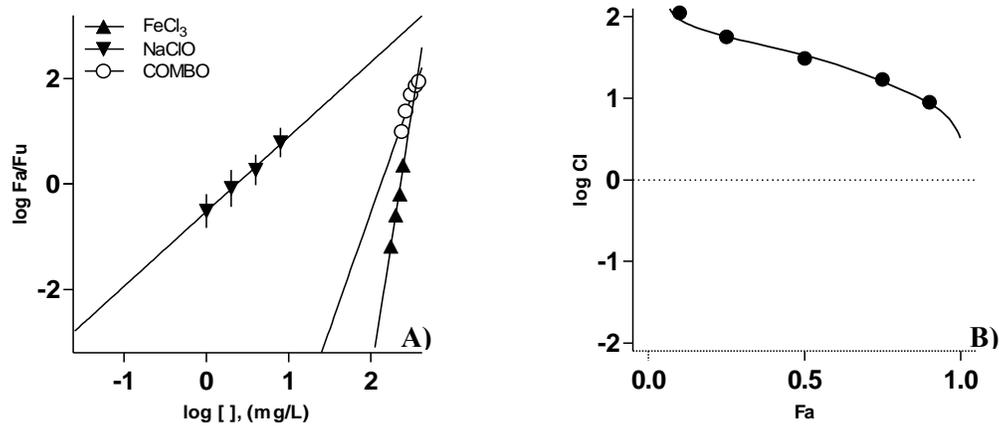


Gráfico 33. A) Respuesta lineal del combo FeCl₃/NaClO con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de FeCl₃/NaClO

En el Gráfico 33 B, se muestra acorde al incremento de las concentraciones experimentales, la respuesta antagónica que se observa va reduciendo su intensidad, mostrando los datos de IC en la Tabla 61.

Tabla 61. IC (Índice de Combinación) del combo FeCl₃/NaClO (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis) sobre *Tetraselmis suecica*

Fa	DRI Fe ³⁺	DRI Cl ⁻	IC
0.10	1.02	0.01	110.55
0.25	1.01	0.02	58.09
0.50	1.00	0.03	30.75
0.75	0.99	0.06	16.51
0.90	0.98	0.12	9.10

Acorde con las dosis de las desaladoras FeCl₃ (5mg/l) + NaClO (1.5mg/l) se obtiene de esta mezcla un efecto **altamente antagonico** exhibiendo una **IC de 42.78**.

Respuesta producida por la combinación del GA/CuSO₄

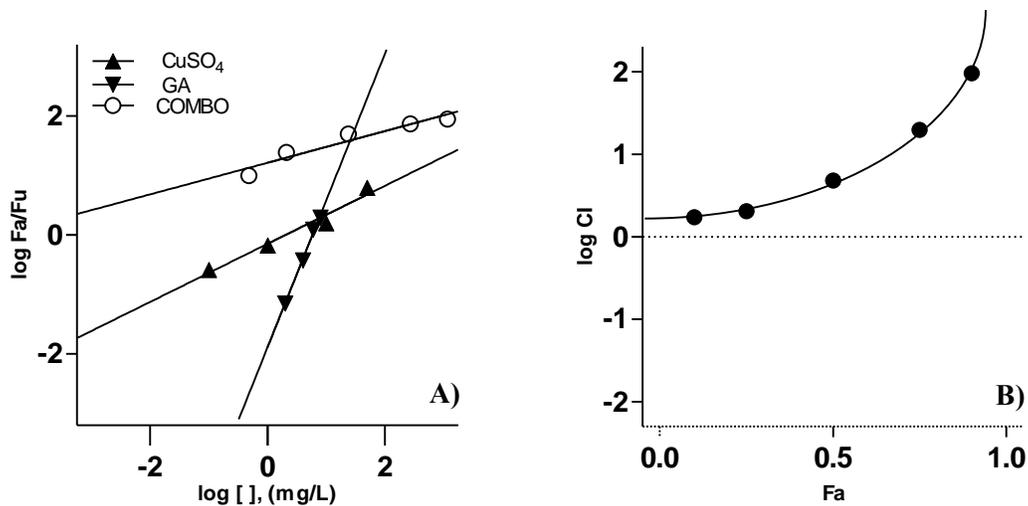


Gráfico 34. A) Respuesta lineal del combo CuSO₄/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de CuSO₄/GA

En el gráfico anterior a la respuesta producida por la mezcla del glutaraldehído con el sulfato cúprico, se muestra un **antagonismo leve** a bajas dosis experimentales pero conforme fuimos

aumentando las mismas, la **actividad antagonista se fue intensificando** (Gráfico 34 B y Tabla 62)

Tabla 62. IC (Índice de Combinación) del combo CuSO₄/GA (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis) sobre *Tetraselmis suecica*

Fa	DRI Cu ²⁺	DRI GA	IC
0.10	0.64	6.84	1.71
0.25	0.77	1.35	2.04
0.50	0.93	0.27	4.81
0.75	1.12	0.05	19.71
0.90	0.83	0.01	95.71

Y de acuerdo a las dosis aplicadas en las desaladoras por OI de CuSO₄ (1mg/l) + GA (10mg/l) resultó en un **IC 19.9331 de respuesta antagonista**.

Combinación del GA/KMnO₄

El efecto producido debido a esta combinación causó un **antagonismo** y éste fue disminuyendo pero sobre el mismo plano acorde al incremento de las concentraciones empíricas ensayadas sobre *Tetraselmis suecica* Gráfico 35 B).

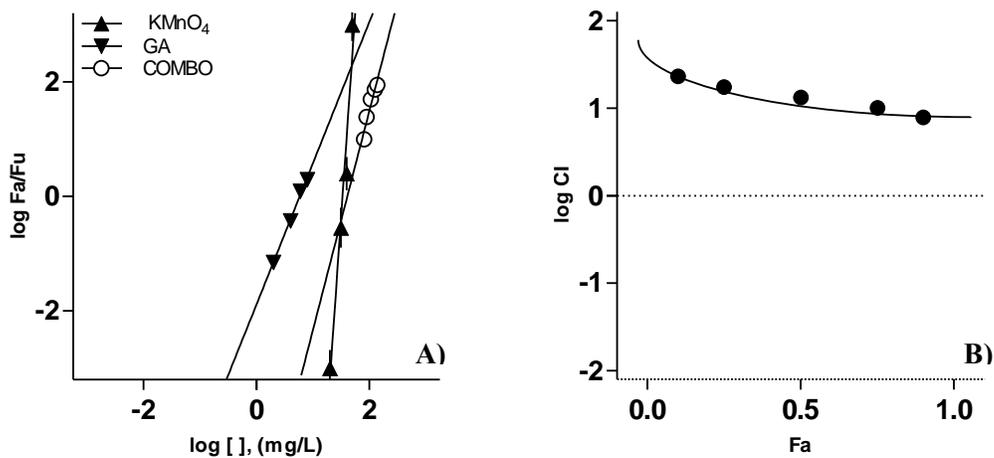


Gráfico 35. A) Respuesta lineal del combo KMnO₄/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de KMnO₄/GA

Tabla 63. IC (Índice de Combinación) del combo KMnO_4/GA (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis) sobre *Tetraselmis suecica*

Fa	DRI MnO_4^-	DRI GA	IC
0.10	1.07	0.04	23.10
0.25	1.01	0.06	17.40
0.50	0.94	0.08	13.20
0.75	0.88	0.11	10.10
0.90	0.83	0.15	7.84

En la tabla anterior, se exhibe que el glutaraldehído claramente disminuye su DRI aumentando su toxicidad sobre el organismo fitoplanctónico, pero este es antagonizado por el agente oxidante. Y de acuerdo con las concentraciones utilizadas en las plantas de tratamiento de OI KMnO_4 (5mg/l) + GA (10mg/l): **IC 10.078** de igual forma presentando **respuesta antagónica**.

Combinación del GA/ FeCl_3

Tabla 64. IC (Índice de Combinación) del combo FeCl_3/GA (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis) sobre *Tetraselmis suecica*

Fa	DRI Fe^{3+}	DRI GA	IC
0.10	1.02	0.01	152.36
0.25	1.01	0.01	110.55
0.50	1.00	0.01	80.29
0.75	0.99	0.02	58.39
0.90	0.98	0.02	42.55

Con respecto a la mezcla del biocida con la sal férrica se muestra un efecto de elevado antagonismo, es decir, el coagulante metálico influyó sobre la disminución en la toxicidad del glutaraldehído mostrado de manera individual (Tabla 64 y Gráfico 36).

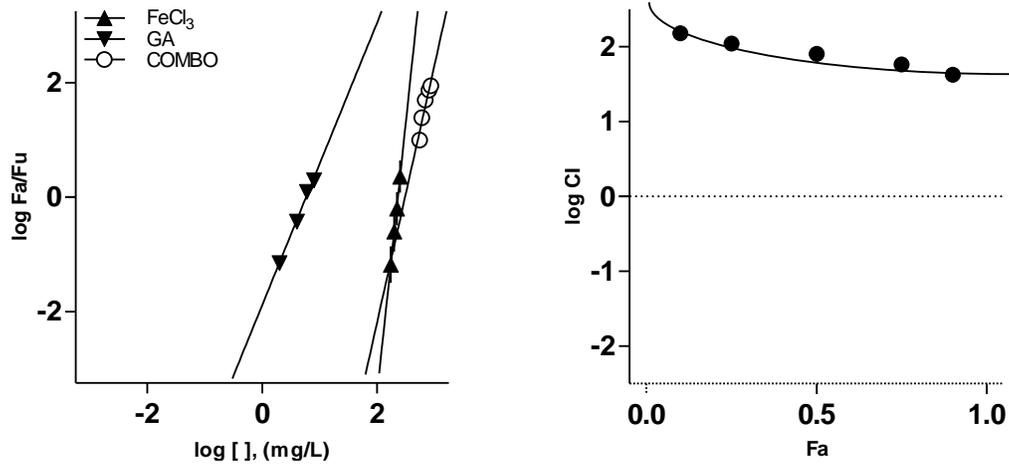


Gráfico 36. A) Respuesta lineal del combo FeCl₃/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de FeCl₃/GA

A las dosis aplicadas en las desaladoras de ambos compuestos FeCl₃ (5mg/l) + GA (10mg/l): **IC 1193.33** mostrando un **efecto de muy elevado antagonismo**.

Efecto de la combinación del GA/NaClO

Con respecto a esta combinación, provocó un efecto de **leve antagonismo** pero incrementando a mayores dosis experimentales respuesta mostrada en el Gráfico 37 y la Tabla 65, a lo ocurrido en las anteriores combinaciones en la microalga y a diferencia de la presentada sobre *Artemia* con elevado poder antagónico.

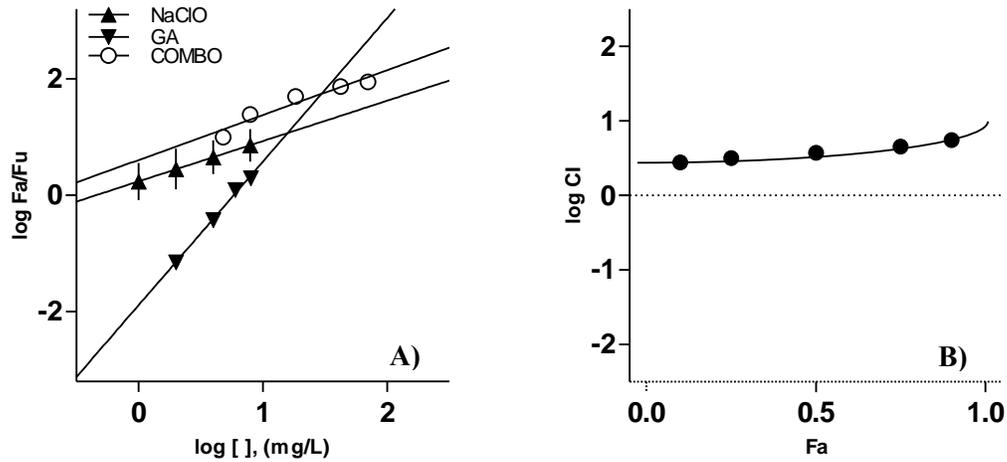


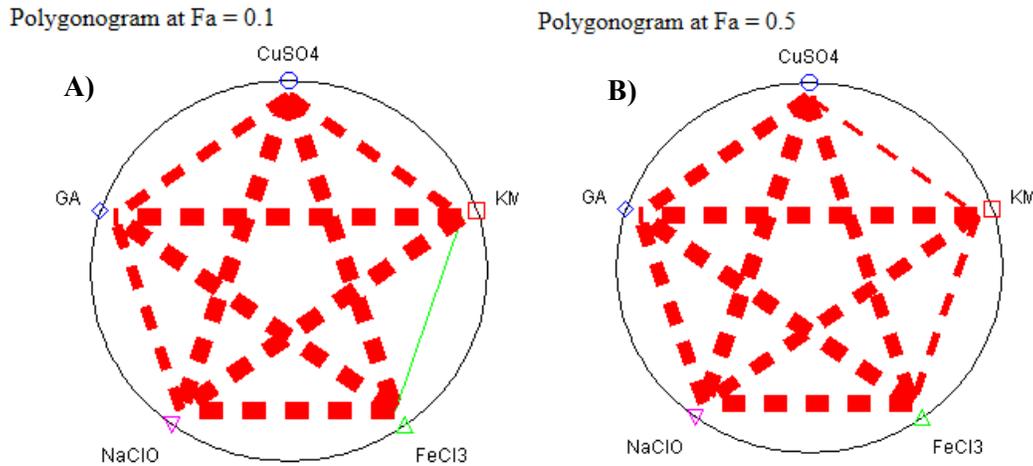
Gráfico 37. A) Respuesta lineal del combo NaClO/GA con respecto al logaritmo de las dosis en mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*. B) Logaritmo del Índice de Combinación de NaClO/GA

Tabla 65. IC (Índice de Combinación) del combo NaClO/GA (Fa) y su DRI (Índice de Reducción de Dosis) sobre *Tetraselmis suecica*

Fa	DRI Cl ⁻	DRI GA	IC
0.10	0.86	0.62	2.77
0.25	0.91	0.48	3.19
0.50	0.98	0.37	3.76
0.75	1.04	0.28	4.52
0.90	1.01	0.22	5.54

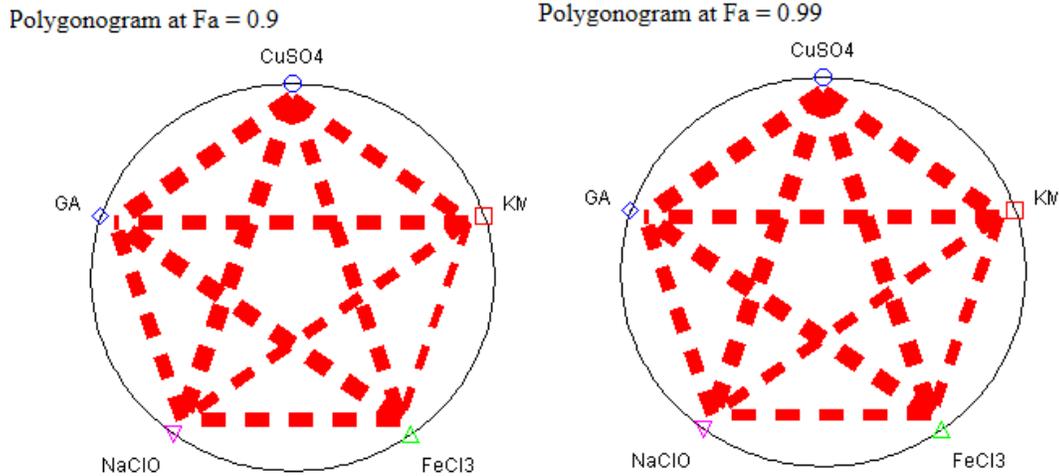
A las dosis aplicadas en las desaladoras de ambos biocidas [NaClO (1.5mg/l) + GA (10mg/l)] con un IC 4.528 se presenta el mismo efecto de leve antagonismo.

Resumen de las respuestas provocadas al 10, 50, 90 y 100% del resultado de las combinaciones de los 5 agentes químicos ensayados sobre *T. suecica*



Poligonograma 3. A) Efecto al 10% de los 5 agentes químicos en combinación sobre *Tetraselmis suecica*. B) al 50%. Línea verde: Efecto aditivo; Línea punteada gruesa: Elevado antagonismo; Línea punteada delgada: Efecto de leve antagonismo

En el poligonograma anterior se presenta que la combinación del $\text{KMnO}_4/\text{FeCl}_3$ presentó una respuesta de **acción aditiva** a bajas concentraciones (Poligonograma 3 A), no obstante, a partir del 50% de efecto sobre la microalga se tradujo a un efecto antagonístico leve como se muestra en el Poligonograma 3 B.



Poligonograma 4. A) Efecto al 90% de los 5 agentes químicos en combinación sobre *Tetraselmis suecica*. B) al 100%. Línea punteada gruesa: Elevado antagonismo; Línea punteada delgada: Efecto de leve antagonismo

Con respecto a las respuestas mostradas en los poligonogramas de efecto al 90 y 100% todas las combinaciones realizadas sobre la microalga se tradujeron en respuestas antagonicas (a concentraciones crecientes) de diferente magnitud (Poligonograma 4). De igual forma un efecto benéfico esperado para el manejo de estos agentes sobre el sistema desalador que opera con membranas de ósmosis inversa.

SECCIÓN XI. DISCUSIÓN

11. DISCUSIÓN

Actualmente, a nivel mundial se encuentran instaladas 15,300 plantas desaladoras siendo la de mayor manejo la desalación por ósmosis inversa, con una producción neta de 68.2 millones de m³ de agua por día y para el 2015 se espera una producción total de 94 millones de m³/día para completar la demanda internacional del suministro de agua potable (Cotruvo, et al., 2011; Zhou, et al., 2013).

No obstante, esta tecnología presenta innumerables efectos negativos a través de emisiones energéticas, visuales y acústicas durante el proceso. Sin embargo, el verdadero problema consiste en los efectos producidos por el concentrado de la salmuera y vertidos químicos, que ponen en peligro la calidad del agua costera y afectan el ciclo de la vida marina (Lattemann & Höpner, 2008). Este factor genera un creciente interés sobre la evaluación toxicológica del impacto en la biota del ecosistema acuático marino (Zhou, et al., 2013). A partir de este hecho, se han realizado varias investigaciones en el monitoreo ecológico sobre los efectos que presenta la disposición de la salmuera con una concentración altamente salina (> 70,000 ppm), que en la mayoría casos es vertida directamente al mar (Latorre, 2005; Sánchez-Lizaso, et al., 2008; Dupavillon & Gillanders, 2009; Tarnacki, et al., 2012).

Fernández-Torquemada, et al., (2005), Gacia, et al., (2007) y Ruso, et al., (2007), indicaron que la alta salinidad podría causar una reducción en el crecimiento o incluso aumento de la mortalidad de la flora y la fauna acuática (*Posidonia oceanica*). También existe preocupación con respecto a la liberación de metales procedentes de la corrosión (Paquin, et al., 2000), y el uso de ciertos aditivos químicos en los distintos tratamientos. El pre, post-tratamiento químico y en la limpieza de membranas son un punto clave en el proceso de la desalinización. Ya que estos métodos incluyen la eficacia del proceso sobre el tratamiento contra la contaminación biológica, inhibición de la corrosión, etc. (Lattemann & Höpner, 2008). Algunos estudios han encontrado que la salmuera lleva presente estos residuos químicos con alto potencial de poner en peligro las comunidades biológicas (Höpner & Lattemann, 2003), e incluso provocar su bioacumulación en distintas especies del ambiente marino (Lattemann & Höpner, 2008).

11.1. Comparación de la toxicidad exhibida por los agentes químicos ensayados de manera individual en *Artemia franciscana* y *Tetraselmis suecica*

De acuerdo al presente proyecto de investigación, la evaluación de la toxicidad de los distintos agentes químicos manejados en los diferentes tratamientos del proceso de la desalación sobre dos organismos bioindicadores representantes del ecosistema costero *Artemia franciscana* como representante del zooplancton y *Tetraselmis suecica* especie fitoplanctónica; ponen en evidencia que las 5 sustancias ensayadas representantes de cada tratamiento (NaClO , $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$, CuSO_4 , KMnO_4 , FeCl_3), mostraron alta toxicidad a corto plazo en ensayo estático de manera individual sobre ambos bioindicadores. En el caso de *A. franciscana* se estimó la letalidad en el 50% de la población estudiada, y con respecto a *T. suecica*, generaron importantes efectos sobre la inhibición de crecimiento celular, disminución sobre el flujo de electrones del PSII durante la fase luminosa de la fotosíntesis, una baja sobre el balance de O_2 durante la Respiración celular y/o durante la Fotosíntesis neta.

Glutaraldehído

Dentro de la toxicidad exhibida por los desinfectantes estudiados sobre *A. franciscana*, Bu-Olayan & BV, (2006), sugirieron que distintos biocidas usados en la desalación cuando son vertidos, alteran las variables hidrológicas causando toxicidad sinérgica en conjunto con otros vertidos químicos sobre los organismos marinos. Así pues, ellos estudiaron el efecto producido por el hipoclorito sódico, formaldehído y glutaraldehído presentes en el vertido de la planta desaladora ubicada en la Bahía de Kuwait en los sitios de descargue I-III sobre *Artemia*, obteniendo que para provocar el 50% de letalidad a las 96h de exposición sobre el microcrustáceo, se necesitó una $\text{CL}_{50(96)}$ de NaClO , HCHO y $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ de 6.92 en el orden de $\mu\text{g L}^{-1}$, $13.22\mu\text{g L}^{-1}$ y $15.34\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

Como se puede observar claramente la toxicidad de los tres biocidas fue superior a la exhibida en nuestro estudio de forma individual sobre *Artemia* (hipoclorito sódico $\text{CL}_{50(24)}$ 5.92mg L^{-1} y glutaraldehído $\text{LC}_{50(24)}$ 0.97mg L^{-1}), sin embargo, cabe aclarar que su estimación de la CL_{50} fue a las 96h, lo cual está de acuerdo con lo indicado por Barahona-Gomariz, et al.,

(1994) y Sánchez-fortún, et al., (1995) donde el estadio naupliar de *Artemia franciscana* de 72h y 96h presentan mayor sensibilidad a distintos xenobióticos.

Conforme a la toxicidad mostrada por el glutaraldehído (GA), Leung, (2001) determinó sobre el copépodo *Acartia tonsa* una $CL_{50(48)}$ de 0.11mg L^{-1} , posteriormente Sano, et al., (2004), estimaron sobre *Artemia sp.* una $CL_{50(72)}$ de 27mg L^{-1} , como se mencionó anteriormente, la sensibilidad con respecto al xenobiótico viene dada por la especie en cuestión, de la concentración del agente utilizado y del estadio de crecimiento.

Con relación a la poca existencia sobre estudios realizados sobre microalgas marinas, Leung, en el 2001, obtuvo sobre *Skeletonema costatum* una inhibición del crecimiento a una $CI_{50(72)}$ por debajo de 1mg L^{-1} (0.17mg L^{-1}), sin explicar si existe antes un daño sobre la capacidad fotosintética de la misma. Uno de los problemas que tiene el GA, es su relativa persistencia en el agua de mar, de acuerdo con estudios realizados sobre su biodegradación a través de las Guías 306 de la OECD (OCDE, 1992), el biocida tiene un $\approx 50\%$ de biodegradación en 28 días, además de que es estable a la fotodegradación (Leung, 2001).

Sin embargo, a pesar de los estudios anteriores sobre la toxicidad del GA, se sabe poco sobre sus efectos a nivel subcelular y sobre el ecosistema acuático. Una de las propiedades principales del GA es su reacción con proteínas a través de la formación de una base de Schiff ($R_1R_2C=N-R_3$) directamente sobre residuos de lisina por ataque nucleofílico, provocando inmovilización de algunas enzimas (Walt & Agayn, 1994); (Pereira, et al., 2014).

Hipoclorito sódico

Con relación al efecto producido por el NaClO, López-Galindo, et al., (2010), estudiaron el efecto del desinfectante sobre el rotífero salino *Brachionus plicatilis* consiguiendo una $CL_{50(24)}$ de 1.23mg L^{-1} y explicaron que la toxicidad del NaClO sobre organismos marinos es por la vía oxidativa (ClO^- , HClO, HBrO y BrO^-) y por vía no oxidativa (THM's principalmente bromoformo y bromoclorometanos) considerados como contaminantes orgánicos persistentes de acuerdo con la (EPA, 1991; (López-Galindo, et al., 2010; Sorlini & Collivignarelli, 2005; Belluati, et al., 2007).

Sobre estudios realizados en microalgas representantes de ecosistemas costeros, López-Galindo, et al., (2010), también ensayaron sobre *Isochrysis galbana* y *Dunaliella salina* (microalgas costeras) con la posterior obtención de una $CI_{50(96)}$ debido a la exposición del biocida clorado de 2.91 y 1.73mg L⁻¹ respectivamente, además observaron que a dosis crecientes del desinfectante, la concentración de clorofila α sobre ambas disminuyó notablemente de 1.39 a 0.10 μ g/ml en *I. galbana*, y de 1.82 a 0.24 μ g/ml de *D. salina* provocando inhibición en la productividad fotosintética de ambas.

En la presente tesis, hemos obtenido una $IC_{50(72)}_{NaClO}$ de 2.39mg L⁻¹ sobre *Tetraselmis suecica*, conjuntamente este biocida tiene la biocapacidad de generar daños sobre el flujo de electrones en la membrana de la mitocondria.

Este mecanismo de inhibición en fotosíntesis y respiración fue estudiado anteriormente por Stauber, (1998), sobre *Nitzschia closterium* y *Dunaliella tertiolecta*, donde el cloro presenta efecto directamente proporcional a la concentración de nitrato, si este aumenta, incrementa la toxicidad del biocida. También obtuvo que a concentraciones alrededor de 3mg L⁻¹ se inhibe la división celular y afecta el proceso fotosintético de ambas. Propuso que este efecto sobre la fotosíntesis es debido a bajas concentraciones de nitrato, disminuyendo la oxidación del NADH o NADPH. Esto provoca una baja en el flujo de e⁻ sobre la cadena transportadora. Asimismo inhibe de manera irreversible la catalasa, enzima que degrada el H₂O₂, este se produce extracelularmente por la oxidación de compuestos orgánicos por el oxígeno disuelto en el medio de crecimiento, o intracelularmente por una variedad de compuestos redox que desvían el flujo de electrones durante la respiración.

Chuang, et al., (2009), demostró que basta con concentración de 0.2 mg L⁻¹ de cloro para suprimir en gran medida la capacidad fotosintética del fitoplancton. Así, estudios anteriores por Poornima, et al., (2005), encontraron que la adición de 1 y 3 mg L⁻¹ de cloro causó una reducción alrededor del 50 y 80% respectivamente en la concentración de clorofila sobre fitoplancton de ecosistema costero para tiempos de contacto del desinfectante de 30 min.

Sulfato de cobre

En el agua marina encontramos concentraciones naturales de cobre entre 0.5 y 3 $\mu\text{g L}^{-1}$, pero a concentraciones de hasta 21 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu^{+2} se consideran contaminantes pudiendo afectar la biota acuática (Brooks, et al., 2009; Dafforn, et al., 2011). En relación a la respuesta producida por el Cu^{+2} (CuSO_4) expuesto en *A. franciscana* obtuvimos una $\text{CL}_{50(24)}$ de 28.91 mg L^{-1} clasificando a éste como peligroso para consumidores primarios en el ecosistema acuático marino.

En estudios anteriores, por Zyadah, (2000), investigó también el efecto letal del alguicida en *Mysis sp.* consiguiendo una $\text{CL}_{50(24)}$ de 4.86 mg L^{-1} siendo que para esta especie de crustáceo marino fue más tóxico el metal. Esto se corrobora con lo indicado en estudios anteriores, donde generalmente *Artemia spp.* no se considera particularmente sensible a los metales. Los cuales nos ha llevado a realizar una revisión bibliográfica y encontramos que numerosos estudios han examinado la toxicidad a corto plazo de metales en etapa naupliar y adulta de la artemia, presentando una moderada sensibilidad. Una de las excepciones a estos datos son experimentos que evaluaron el efecto de inhibición provocado por este alguicida en la eclosión de *Artemia franciscana* consiguiendo una $\text{CE}_{50(48)}$ de 11.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ sobre los quistes muy por debajo a lo necesitado para provocar la muerte en estadio naupliar (Brix, et al., 2006).

Existen además, gran cantidad de ensayos de respuestas tóxicas sobre microalgas debido a la exposición del Cu^{+2} , uno de ellos fue la determinación en la sensibilidad de varias microalgas representantes de distintos ecosistemas marinos expuestas al cobre realizado por Levy, et al., (2007), donde *Minutocellus polymorphus* fue la más sensible con una $\text{IC}_{50(72)}$ de 0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ y entre las más resistentes se encontró a *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis sp.* y *Emiliania huxleyi* (530, 47 y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente). Además encontraron que *Tetraselmis sp.* exhibió una adsorción relativamente más alta de cobre por célula que las demás microalgas en el estudio, adjudicando este fenómeno mediante la unión de las células al cobre por el equilibrio entre el cobre en solución y el cobre unido a la célula.

Otro de los estudios sobre el metal fue el desarrollado en *Tetraselmis tetrahele* donde los valores de $IC_{50(96)}$ fueron entre 130 y $370\mu\text{g L}^{-1}$ acorde con Moreno-Garrido, et al., (2005). Posteriormente Debelius, et al., (2009), obtuvieron que de 5 microalgas marinas donde se ensayó la toxicidad del Cu^{+2} , *Tetraselmis chuii* fue la de menor sensibilidad con una $EC_{50(72)}$ de $330\mu\text{g L}^{-1}$ posiblemente a través de enzimas llamadas fitoquelatinas para la posterior inactivación del metal y exclusión por mecanismos de eflujo (Megharaj, et al., 2003; Debelius, et al., 2009)

Conforme a lo obtenido en el presente estudio, la $IC_{50(72)}$ del CuSO_4 sobre la inhibición del crecimiento celular de *Tetraselmis suecica* fue de 2.18mg L^{-1} , comparándolo con los estudios anteriores, se muestra que fue menos sensible al metal ya que se observó además una gran vacuolización de la célula al estar expuesta al agente, posiblemente como un mecanismo de detoxificación y alteración sobre la Pn en la microalga. Este fenómeno fue observado por García-Villada, et al., (2004) donde efectivamente el metal inhibe la actividad del PSII, provocando alteraciones en la cadena transportadora de electrones.

A pesar de que existen innumerables estudios sobre los efectos del cobre en toxicología acuática, nos hemos enfocado exclusivamente aquellos en donde se consiguieron afectaciones sobre organismos de ambientes acuáticos marinos.

Cloruro férrico

Ahora continuemos con la toxicidad generada por otro metal, en este caso el cloruro férrico, donde se muestra que para conseguir la letalidad sobre el Artemia a las 24h de exposición se necesitó una concentración por encima de 100mg L^{-1} ($CL_{50(24)}$ 202.77mg L^{-1}) siendo un metal poco tóxico a corto plazo sobre el zooplancton. Existe poca evidencia sobre la toxicidad de este coagulante. Debido a su requerimiento en el metabolismo fotosintético y respiratorio, el hierro es muy demandado por todos los organismos planctónicos y es objeto de una intensa competencia interespecífica (Nodwell & Price, 2001).

Sin embargo, al adicionar este agente durante el tratamiento puede resultar en un lodo rico en metales que es descargado sin tratamiento previo (Sotero-Santos, et al., 2007). A pesar de los pocos datos sobre la toxicidad, se cree que las sales de hierro tienen una baja toxicidad aguda debido a su rápida oxidación a formas insolubles (FeOH_3) y pueden ser fácilmente precipitadas (van Anholt, et al., 2002). De hecho en pruebas de toxicidad aguda realizadas por Sotero-Santos, et al., (2007) sobre *Daphnia similis* (zooplancton de agua dulce) y otros organismos, la supervivencia de los organismos acuáticos no se vio afectada por la exposición al cloruro férrico y no era diferente al del control con un mínimo de 90% de sobrevivientes.

El problema de este metal, es que el ión férrico también tienen una alta tendencia a formar complejos con ligandos orgánicos, representando una elevada concentración de hierro disuelto (filtrables) en muchas aguas costeras y estuarinas (Sunda, 1989).

Permanganato de potasio

Por último de forma individual, en relación con la toxicidad exhibida por KMnO_4 , en esta tesis se evaluó el efecto agudo sobre *Artemia franciscana* resultando en una $\text{LC}_{50(24)}$ de 36mg L^{-1} , como se muestra y en comparación con toxicidad en organismos de agua dulce (*Daphnia magna* $\text{LC}_{50(96)}$ 0.053mg L^{-1}) fue más sensible a la exposición del oxidante generando diferencias sobre sensibilidad con respecto al ecosistema, y organismo en cuestión (Hobbs, et al., 2006).

Aunque, los estudios sobre la alta toxicidad con KMnO_4 se han llevado a cabo en agua dulce, existe poca información sobre sus efectos en aguas marinas. Se sabe que este agente es tóxico en peces (Kori-Siakpere, 2008)

En ensayos realizados sobre cianobacterias de agua dulce (microalgas verde-azules procariotas), se obtuvo que a concentraciones del KMnO_4 entre $5\text{-}10\text{mg L}^{-1}$ su crecimiento se redujo hasta un 74-85% respectivamente (Fan, et al., 2013). Otro de los estudios realizados con el agente oxidante fue el desarrollado por França, et al., (2011) sobre la clorofita

Pseudokirchneriella subcapitata (microalga de agua dulce) obteniendo una $IC_{50(72)}$ de 0.54mg L^{-1} como agente de alta toxicidad para el fitoplancton. Usando microscopía electrónica de barrido para estudiar la pre-oxidación de algas por KMnO_4 se encontró que el MnO_2 se adhiere a la superficie de las células aumentando la gravedad específica de las mismas, formando flóculos y sedimentarse (Wang, et al., 2013).

Finalmente, el daño a la estructura de la población de estos organismos puede causar cambios en la diversidad y abundancia de especies de niveles superiores de la cadena trófica acuática marina.

11.2. Determinación sobre el efecto sobre la toxicidad que presentan las distintas combinaciones de los agentes químicos ensayados en Artemia franciscana y Tetraselmis suecica

Dentro de esta tesis también se incluyen los efectos debido a las combinaciones de los 5 agentes químicos estudiados. Se obtuvieron los 3 tipos de respuesta (antagónica, sinérgica y aditiva) en la combinación de los 5 agentes en artemia y en la microalga costera, pero sin embargo, hubo diferencias sobre los dos organismos esto posiblemente por el ratio en la concentración y la especie en cuestión. Entre las mezclas entre biocidas como NaClO y el $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ se obtuvo un fuerte antagonismo sobre *A. franciscana* tanto en las concentraciones experimentales como acorde a las dosis usadas en las desaladoras (IC: 146) que sin embargo, de forma individual fueron los biocidas más tóxicos a corto plazo. Esta misma mezcla la estudió Bu-Olayan & BV, (2006) también sobre *A. franciscana*, donde muestran diferencias sobre el efecto resultante en una respuesta sinérgica (IC: 0.91).

Otra de las combinaciones fue la obtenida con el KMnO_4 y el $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$, de igual manera obteniendo un efecto totalmente antagónico tanto empírica como acorde a las dosis en las desaladoras (IC: 530), la explicación sobre el antagonismo químico que se genera tanto con el NaClO como con el KMnO_4 , ambos generan la oxidación del glutaraldehído (tratándose de un aldehído) resultando que la reacción de ambos da un tercer compuesto de mucha menor

toxicidad como un ácido carboxílico ($R-HC=O + O \rightarrow R-CO_2H$) (Johnson, 1987; Jurado-Sánchez, et al., 2014).

Este mismo efecto se observa en la combinación del Cu^{+2} y el Fe^{+3} con el glutaraldehído en *Artemia* tratándose de una respuesta antagónica, formándose complejos organometálicos de los mismos que en este caso no muestran toxicidad (Langmuir, et al., 2005).

Con respecto a la mezcla de los dos agentes metálicos: $FeCl_3$ y $CuSO_4$, se presentó en *Artemia* una respuesta al inicio antagónica y conforme incrementaron las concentraciones, mostró un efecto aditivo, esto está de acuerdo con lo afirmado por Sotero-Santos, et al., (2007) donde los lodos procedentes del tratamiento con coagulantes metálicos contienen otros metales o sustancias que pueden tener un efecto aditivo o sinérgico sobre el ecosistema donde son descargados.

En relación a *Tetraselmis* en ambos ensayos (dosis experimentales y en desalación) el efecto mostrado fue antagónico. No obstante, en medios ricos en hierro provocan mayor tolerancia al cobre siendo menos tóxico éste sobre diatomeas marinas como un mecanismo de reducción de toxicidad del Cu^{+2} a través de la formación de hidróxido férrico coloidal, que “atrapa” al metal, uniéndose a la membrana celular evitando la penetración de cobre en la célula (Stauber & Florence, 1985).

Así finalmente podemos comentar que las principales diferencias entre los efectos sobre los dos bioindicadores es: la diferencia entre el nivel trófico y la complejidad biológica (fisiología); el ratio de las concentraciones son distintas, además la naturaleza química de los agentes juega un papel muy importante sobre la respuesta en combinación. Ya que la mayoría de la información ecotoxicológica deriva de estudios de una sola especie expuestos a una solo tipo de sustancia química. Esto está en contraste con los ecosistemas acuáticos, donde las comunidades están compuestas de una variedad de diferentes especies y están expuestos a mezclas complejas con diferentes compuestos en concentraciones variables y ratios de concentración. Sin embargo, es imposible por medio de pruebas empíricas realizar cada una de las combinaciones, creando una confusión a la hora de generar un reporte de acuerdo con Arrhenius, et al., (2004).

Por lo tanto, el desarrollo de métodos de modelización para la predicción de la toxicidad de distintas mezclas a diferentes ratios de concentraciones, generan efectos los cuales se pueden extrapolar a las comunidades biológicas (fitoplancton y las comunidades de zooplancton). La idea general fue utilizando la técnica del Índice de Combinación desarrollada por Chou, et al., (1984), nos hemos basado en la toxicidad en la combinación de los agentes químicos usados en la desalación que pudieran predecir el mecanismo de toxicidad en mezcla (mecanismo de acción similar: efecto aditivo) y sustancias con diferentes mecanismos de acción y diferentes sitios diana por el concepto de acción independiente a través de un efecto antagónico, que asimismo aprovechando esta acción independiente pudiera tener un beneficio en la disminución de la toxicidad en el ecosistema costero de los distintos agentes de acuerdo con las dosis manejadas normalmente en las plantas desaladoras.

A pesar de esto, existe muy poca evidencia sobre los efectos que se generan con la combinación de distintos agentes sobre todo como vertidos de las plantas desaladoras, la mayoría está orientado al efecto producido por mezclas de herbicidas, pesticidas e hidrocarburos aromáticos en el ecosistema acuático (Escher & Hermens, 2002; Backhaus, et al., 2003).

SECCIÓN XII. CONCLUSIONES

12. CONCLUSIONES

1. Los nauplios de *Artemia franciscana* exhiben diferentes grados de sensibilidad frente a exposiciones a corto plazo de los agentes químicos ensayados, en el orden de $C_5H_8O_2 > NaClO > CuSO_4 > KMnO_4 > FeCl_3$. Atendiendo a la clasificación EPA de los contaminantes tóxicos, en ecosistemas acuáticos, estos compuestos de acuerdo a su LC_{50} se clasifican a los biocidas ($C_5H_8O_2$ y $NaClO$) como de muy alta toxicidad a corto plazo dentro de la categoría II ($1-10mg L^{-1}$), el alguicida y el permanganato potásico estos son categorizados de alta toxicidad aguda (Categoría III: $10-100mg L^{-1}$), mientras que el coagulante férrico es clasificado en sustancias poco tóxicas pero que sin embargo, pueden presentar toxicidad de manera crónica en exposiciones repetidas.

2. El rango de toxicidad exhibido por los compuestos químicos estudiados sobre el microalga marina *Tetraselmis suecica* queda establecido como $CuSO_4 > NaClO > C_5H_8O_2 > KMnO_4 >>> FeCl_3$, siendo necesarias concentraciones por encima de $100 mg L^{-1}$ de este último compuesto para obtener algún tipo de respuesta sobre estas microalgas.

3. El estudio de exposiciones combinadas de estos compuestos químicos sobre nauplios de *Artemia franciscana* reveló que todas las combinaciones ensayadas y analizadas por la técnica de Chou y Talalay mostraron un efecto antagónico, excepto la combinación $NaClO/FeCl_3$ que exhibió un efecto aditivo por la suma de los efectos de ambos compuestos.

4. La exposición basada en combinación de compuestos sobre el microalga *Tetraselmis Suecica* presentó igualmente efectos antagónicos en prácticamente todos los casos también incluyendo las mezclas con GA, excepto en las combinaciones $FeCl_3/KMnO_4$ y $CuSO_4/KMnO_4$, en las que se obtuvo un efecto aditivo de acción tóxica sobre las poblaciones de la microalga.

5. Los resultados demuestran que una correcta dinámica de uso de estos compuestos, basada en la aplicación combinada de elementos seleccionados en momentos determinados del mantenimiento del sistema, puede reducir significativamente el riesgo ecotoxicológico sobre los puntos de descarga, derivado de estas prácticas rutinarias aplicadas en plantas desaladoras.

Así pues, el efecto de la combinación de estos agentes usados en la desalación se debe evaluar directamente su presencia en muestras de agua costera para determinar y así lograr una mejor valoración del potencial ecotoxicológico de residuos sobre el ambiente acuático marino.

SECCIÓN XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarnou, A. & Miossec, L., 1992. Chlorinated waters discharged to the marine environment chemistry and environmental impact. An overview. *Science of The Total Environment*, 126(1-2), pp. 173-197.
- Abdulaziz H., A. y otros, 2008. *Protecting the Gulf's marine ecosystems from pollution*. Basel ; Boston, MA: Birkhaeuser Verlag AG.
- Acuña-González, J., Vargas-Zamora, J., Gómez-Ramírez, E. & García-Cespedes, J., 2004. Hidrocarburos de petróleo, disueltos y dispersos, en cuatro ambientes costeros de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 52(2), pp. 43-50.
- Agh, N. y otros, 2008. Effects of salinity on survival, growth, reproductive and life span characteristics of *Artemia* populations from Urmia Lake and neighboring lagoons. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 11(2), pp. 164-172.
- Agus, E., Voutchkov, N. & Sedlak, D. L., 2009. Disinfection by-products and their potential impact on the quality of water produced by desalination systems: A literature review. *Desalination*, 237(1-3), pp. 214-237.
- Ahmed, M. & Anwar, R., 2012. An Assessment of the Environmental Impact of Brine Disposal in Marine Environment. *International Journal of Modern Engineering Research* , 2(4), pp. 2756-2761 .
- Al-Ahmad, M., Abdul Aleem, F. A., Mutiri, A. & Ubaisy, A., 2000. Biofouling in RO membrane systems Part 1: Fundamentals and control. *Desalination*, 132(1-3), pp. 173-179.
- Albaina, A. U., 2007. *Tecnologías Sostenibles sobre la gestión del agua: La desalación*, s.l.: s.n.
- Al-Mudhaf, H. F., Astel, A. M. & Selim, M. I., 2010. Self-organizing map approach in assessment spatiotemporal variations of trihalomethanes in desalinated drinking water in Kuwait. *Desalination*, 252(1-3), p. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916409012375>.

- Arenzon, A., Pinto, R. F., Colombo, P. & Raya-Rodriguez, M. T., 2003. Assessment of the freshwater annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* as a toxicity test organism using three reference substances. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*, 22(9), pp. 2188-2190.
- Arrhenius, Å. y otros, 2004. Predictability of the mixture toxicity of 12 similarly acting congeneric inhibitors of photosystem II in marine periphyton and epipsammon communities. *Aquatic Toxicology*, 68(4), pp. 351-367.
- Aumatell, J. y otros, 2010. Procedimientos de limpieza de membranas de OI con ensuciamiento por biopelícula, materia orgánica y material de origen coloidal. *Desalación- InfoEnviro*, Enero/Febrero. pp. 53-58.
- Backhaus, T. y otros, 2003. The BEAM-project: prediction and assessment of mixture toxicities in the aquatic environment. *Continental Shelf Research*, 23(17-19), pp. 1757-1769.
- Bao, V. y otros, 2008. Synergistic toxic effects of zinc pyrithione and copper to three marine species: Implications on setting appropriate water quality criteria. *Marine Pollution Bulletin*, 57(6-12), pp. 616-623.
- Barahona-Gomariz, M., Sanz-Barrera, F. & Sánchez-Fortún, S., 1994. Acute toxicity of organic solvents on *Artemia salina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52(5), pp. 766-771.
- Barsanti, L. & Gualtieri, P., 2014. *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Segunda ed. Pisa: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Beery, M., 2012. *Novel Sustainable Concepts in Process Design and Assessment of Seawater Reverse Osmosis Desalination Pre-treatment*, Berlín : s.n.
- Belluati, M., Danesi, E., Petrucci, G. & Rosellini, M., 2007. Chlorine dioxide disinfection technology to avoid bromate formation in desalinated seawater in potable waterworks. *Desalination*, 203(1-3), pp. 312-318.
- Bianchini, A., Martins, S. & Barcarolli, I., 2004. Mechanism of acute copper toxicity in euryhaline crustaceans: implications for the Biotic Ligand Model. *International Congress Series*, Volumen 1275, pp. 189-194.

- Boillot, C. & Perrodin, Y., 2008. Joint-action ecotoxicity of binary mixtures of glutaraldehyde and surfactants used in hospitals: Use of the Toxicity Index model and isoblogram representation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(1), pp. 252-259.
- Bowen, S. T., Durkin, J. P., Sterling, G. & Clark, L. S., 1978. ARTEMIA HEMOGLOBINS: GENETIC VARIATION IN PARTHENOGENETIC AND ZYGOGENETIC POPULATIONS. *Biol Bull*, Volumen 155, pp. 273-287.
- Brix, K., Gerdes, R., Adams, W. & Grosell, M., 2006. Effects of Copper, Cadmium, and Zinc on the Hatching Success of Brine Shrimp (*Artemia franciscana*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, Volumen 514, pp. 580-583.
- Brooks, S. J. y otros, 2009. Copper Biocides in the Marine Environment. En: *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*. s.l.:Springer Japan, pp. 413-428.
- Bui, C. T. & Cotton, R. G. H., 2002. Comparative study of permanganate oxidation reactions of nucleotide bases by spectroscopy. *Bioorganic Chemistry*, 30(2), pp. 133-137.
- Bu-Olayan, A. & BV, T., 2006. A TOOL TO STUDY BIOCIDES TOXICITY IN KUWAIT BAY , OFF THE ARABIAN GULF. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*, 1(1), pp. 1-7.
- Bu-Olayan, A. H. & Thomas, B., 2006. Assessment on Biocides Bioaccumulation in Mullet< i> Liza klunzingeri</i> in Kuwaiti Waters, off the Arabian Gulf. *American Journal of Environmental Sciences*, 2(3), pp. 109-113.
- Chen, J.-J. & Yeh, H.-H., 2005. The mechanisms of potassium permanganate on algae removal. *Water Research*, 39(18), pp. 4420-4428.
- Chou, T. & Martin, N., 2005, 2010. *Compusyn for Drug Combinations. PC software and User's Guide: A Computer Program for Quantitation of Synergism and Antagonism in Drug Combinations and the Determination of IC50,ED50 and LC50 Values*, s.l.: Combosyn Paramuts, NJ.

- Chou, T.-C. & Talalay, P., 1984. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Advances in Enzyme Regulation*, Volumen 22, pp. 27-55.
- Chow, C. W. K. y otros, 1998. The effect of ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells. *Water Research*, 32(3), p. 808–814.
- Chuang, Y.-L., Yang, H.-H. & Lin, H.-J., 2009. Effects of a thermal discharge from a nuclear power plant on phytoplankton and periphyton in subtropical coastal waters. *Journal of Sea Research*, 61(4), pp. 197-205.
- Cifuentes, L. J. L., Torres, G. M. & Frías, M., 1997. *EL OCÉANO Y SUS RECURSOS II. LAS CIENCIAS DEL MAR: OCEANOGRAFÍA GEOLÓGICA Y OCEANOGRAFÍA QUÍMICA*. México, D.F.: FONDO DE CULTURA ECONOMICA.
- CNA, 2000. *El agua en México: retos y avances*, D.F., México: s.n.
- CNA, 2002. *Compendio Básico del Agua en México*, s.l.: s.n.
- CNA, 2012. *Atlas del agua en México 2012*, México, D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Cohen, Y. & Glater, J., 2010. A tribute to Sidney Loeb-The Pioneer of Reverse Osmosis Desalination Research. *Desalination and Water Treatment*, 15(1-3), pp. 222-227.
- Conagua, 2013. *Estadísticas del agua en México*, México, D.F.: Conagua, InDesign e Ilustrador CS5.
- Cooke, G., Welch, E., Peterson, S. & Newroth, P., 1993. Copper Sulphate. En: *Restoration and Management of Lakes and Reservoirs*. Segunda ed. Boca Raton(Florida): Lewis Publishers, pp. 247-257.
- Cooke, G., Welch, E., Peterson, S. & Newroth, P., 2005. Copper Sulphate. En: *Restoration and Management of Lakes and Reservoirs*. Boca Raton(Florida): Lewis Publishers, p. 548.
- Cooley, H., Gleick, P., Wolff, G. & Pacific Institute for Studies in Development Environment, a. S., 2006. *Desalination, With a Grain of Salt*. s.l.:s.n.

- Cordero, J., Guevara, M., Morales, E. & Lodeiros, C., 2005. Efecto de metales pesados en el crecimiento de la microalga tropical *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae). *Revista de Biología Tropical*, 53(3-4), pp. 325-330.
- Costa, F. O. y otros, 2002. Detection of DNA strand breakage in a marine amphipod by agarose gel electrophoresis: exposure to X-rays and copper. *Biomarkers*, 7(6), pp. 451-463 .
- Cotruvo, J. y otros, 2011. DESALINATION: TECHNOLOGY, HEALTH AND ENVIRONMENT. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, p. 16.
- Criel, G. R. J. & Macrae, T. H., 2002. Reproductive Biology of Artemia. En: T. J. Abatzopoulos, J. A. Beardmore, J. S. Clegg & P. Sorgeloos, edits. *Artemia: Basic and Applied Biology*. s.l.:Springer Netherlands, pp. 39-128.
- Crittenden, J. C. y otros, 2012. *MWH's Water Treatment: Principles and Design*. Tercera ed. s.l.:John Wiley & Sons.
- Dafforn, K., Lewis, J. & Johnston, E., 2011. Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. *Marine Pollution Bulletin*, 62(3), pp. 453-465.
- Dalvi, A. G. I., Al-Rasheed, R. & Javeed, M. A., 2000. Haloacetic acids (HAAs) formation in desalination processes from disinfectants. *Desalination*, 129(3), pp. 261-271.
- Dalzell, D. J. B. & Macfarlane, N. a. A., 1999. The toxicity of iron to brown trout and effects on the gills: a comparison of two grades of iron sulphate. *Journal of Fish Biology*, 55(2), pp. 301-315.
- Danoun, R., 2007. *Desalination Plants: Potential impacts of brine discharge on marine life*, Sydney: s.n.
- Dash, S., Patel, S. & Mishra, B. K., 2009. Oxidation by permanganate: synthetic and mechanistic aspects. *Tetrahedron*, 65(4), pp. 707-739.
- De la Fuente, J., Ovejero, M. & Queralt, I., 2008. Gestión medioambiental de salmueras en plantas de desalación marina. *Geo-Temas*, Volumen 10.
- De Zwart, D., 1995. *Monitoring Water Quality in the Future: Biomonitoring*. Bilthoven: s.n.

- Debelius, B., Forja, J. M., DelValls, A. & Lubián, L., 2009. Toxicity and bioaccumulation of copper and lead in five marine microalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), pp. 1503-1513.
- DesalData.com, 2012. *GWI Desalination.com: Where everything desal comes together*. [En línea] Available at: <http://www.desalination.com/market/technologies> [Último acceso: 10 Diciembre 2013].
- Dévora, I. E., Enríquez, G. R. & Fernández, P. N., 2012. TÉCNICAS PARA DESALINIZAR AGUA DE MAR Y SU DESARROLLO EN MÉXICO. *Ra Ximhai*, 8(2), p. 57–68.
- Drewes, C., 2002. *Artemia franciscana*. s.l.:s.n.
- Dupavillon, J. & Gillanders, B., 2009. Impacts of seawater desalination on the giant Australian cuttlefish *Sepia apama* in the upper Spencer Gulf, South Australia. *Marine Environmental Research*, 67(4-5), pp. 207-218.
- Ebenezer, V., Nancharaiah, Y. V. & Venugopalan, V. P., 2012. Chlorination-induced cellular damage and recovery in marine microalga, *Chlorella salina*. *Chemosphere*, 89(9), pp. 1042-1047.
- Emmanuel, E. y otros, 2005. Fate of glutaraldehyde in hospital wastewater and combined effects of glutaraldehyde and surfactants on aquatic organisms. *Environment International*, 31(3), pp. 399-406.
- Emmanuel, E. y otros, 2004. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. *Environment International*, 30(7), pp. 891-900.
- EPA, 1991. *Sodium and Calcium Hypochlorite Salts*, Washington, D.C.: s.n.
- EPA, 1994. *CHEMICALS IN THE ENVIRONMENT: CHLORINE (CAS NO. 7782-50-5)*, s.l.: EPA.
- EPA, 1999. *Guidance Manual Alternative Disinfectants and Oxidants: Potassium Permanganate*, EPA: s.n.
- EPA, 2000. *Estándares del Reglamento Nacional Primario de Agua Potable*, s.l.: s.n.

- EPA, 2005. *DRINKING WATER CRITERIA DOCUMENT FOR BROMINATED TRIHALOMETHANES*, s.l.: s.n.
- EPA, 2007. *Pesticides; Revised Fee Schedule for Registration Applications*, s.l.: s.n.
- EPA, 2009. *Registration Eligibility Decision (RED) for Coppers*, Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office.
- Escher, B. I. & Hermens, J. L. M., 2002. Modes of Action in Ecotoxicology: Their Role in Body Burdens, Species Sensitivity, QSARs, and Mixture Effects. *Environmental Science & Technology*, 36(20), pp. 4201-4217.
- Fábregas, J. y otros, 1996. Tetraselmis suecica cultured in different nutrient concentrations varies in nutritional value to Artemia. *Aquaculture*, 143(2), pp. 197-204.
- Fan, J., Ho, L., Hobson, P. & Brookes, J., 2013. Evaluating the effectiveness of copper sulphate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity. *Water Research*, 47(14), pp. 5153-5164.
- FAO, 2006. Water Desalination for agricultural applications. *Land and Water Discussion Paper*, Abril, 5(2), p. 50.
- Farré, M. J. y otros, 2013. Bioanalytical and chemical assessment of the disinfection by-product formation potential: Role of organic matter. *Water Research*, 47(14), pp. 5409-5421.
- Fernández-Torquemada, Y. y otros, 2009. Dispersion of brine discharge from seawater reverse osmosis desalination plants. *Desalination and Water Treatment*, 5(1-3), p. 137-145.
- Fernández-Torquemada, Y., Sánchez-Lizaso, J. L. & González-Correa, J., 2005. Preliminary results of the monitoring of the brine discharge produced by the SWRO desalination plant of Alicante (SE Spain). *Desalination*, 182(1-3), pp. 395-402.
- Fitzpatrick, J. L. y otros, 2008. The relative sensitivity of sperm, eggs and embryos to copper in the blue mussel (*Mytilus trossulus*). *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 147(4), pp. 441-449.

- Fritzmann, C., Löwenberg, J. W. T. & Melin, T., 2007. State-of-the-art of reverse osmosis desalination. *Desalination*, 216(1-3), pp. 1-76.
- Gacia, E. y otros, 2007. Impact of the brine from a desalination plant on a shallow seagrass (*Posidonia oceanica*) meadow. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 72(4), pp. 579-590.
- García-Céspedes, J., Acuña-González, J. & Vargas-Zamora, J., 2004. Metales traza en sedimentos costeros de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 52(2), pp. 51-60.
- García, E. & Ballesteros, E., 2001. El impacto de las plantas desalinizadoras sobre el medio marino: la salmuera en las comunidades bentónicas mediterráneas. *Conferencia Internacional: El Plan Hidrológico Nacional y la Gestión Sostenible del Agua. Aspectos medioambientales, reutilización y desalación.*, pp. 1-12.
- García-Villada, L. y otros, 2004. Occurrence of copper resistant mutants in the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*: characterisation and future implications in the use of copper sulphate as algacide. *Water Research*, 38(8), pp. 2207-2213.
- Gerhardt, A., 1994. Short term toxicity of iron (Fe) and lead (Pb) to the mayfly *Leptophlebia marginata* (L.) (Insecta) in relation to freshwater acidification. *Hydrobiologia*, 284(2), pp. 157-168.
- Gettys, L. A., Haller, W. T. & Bellaud, M., 2009. *Biology and control of aquatic plants: a best management practices handbook*. Gainesville(Florida): Aquatic Ecosystem Restoration Foundation.
- GEUM, 2007. *Plan Nacional de Desarrollo 2007-2012*, D.F.: s.n.
- Graham, N., Wardlaw, V., Perry, R. & Jiang, J., 1998. The significance of algae as trihalomethane precursors. *Water Science and Technology*, 37(2), pp. 83-89.
- Grosell, M., Nielsen, C. & Bianchini, A., 2002. Sodium turnover rate determines sensitivity to acute copper and silver exposure in freshwater animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(1), p. 287-303.

- Gutiérrez, R. S., 2011. *Desalación de Aguas de mar mediante Ósmosis Inversa. Estudio de los mecanismos de ensuciamiento y limpieza de las membranas*, Cádiz: s.n.
- Hadjoudja, S. y otros, 2009. Short term copper toxicity on *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris* using flow cytometry. *Aquatic Toxicology*, Octubre, 94(4), pp. 255-264.
- Haurwitz, R. y otros, 2013. *DESALINATION: IS IT WORTH ITS SALT? A Primer on Brackish and Seawater Desalination*, Austin, Texas: Lone Star Capter. Sierra Club.
- Heng, L. y otros, 2008. Effect of pretreatment by permanganate/chlorine on algae fouling control for ultrafiltration (UF) membrane system. *Desalination*, 222(1-3), pp. 74-80.
- Hobbs, M. y otros, 2006. Comparative acute toxicity of potassium permanganate to nontarget aquatic organisms. *Environmental toxicology and chemistry*, 25(11), p. 3046–3052.
- Hobbs, M. S. y otros, 2006. Comparative acute toxicity of potassium permanganate to nontarget aquatic organisms. *Environmental toxicology and chemistry*, 25(11), p. 3046–3052.
- Hoepner, T., 1999. A procedure for environmental impact assessments (EIA) for seawater desalination plants. *Desalination*, 124(1-3), pp. 1-12.
- Hoepner, T. & Lattemann, S., 2003. Chemical impacts from seawater desalination plants — a case study of the northern Red Sea. *Desalination*, 152(1-3), pp. 133-140.
- Holt, E. A. & Miller, S. W., 2010. *Bioindicators: Using Organisms to Measure Environmental Impacts*, s.l.: Nature ,
- Höpner, T. & Lattemann, S., 2003. Chemical impacts from seawater desalination plants: A case study of the northern Red Sea. *Desalination*, Issue 152, pp. 133-140.
- Hydranautics, 2009. *RO Membrane Foulants & their Removal from Polyvinyl Derivate (PCD) RO Membrane Elements*, s.l.: Tech. rept. TSB102.06. NITTO DENKO.
- IMTA, 2007. *La Desalación del Agua*, s.l.: s.n.
- Jiang, J.-Q. & Lloyd, B., 2002. Progress in the development and use of ferrate(VI) salt as an oxidant and coagulant for water and wastewater treatment. *Water Research*, 36(6), pp. 1397-1408.

- Johnson, T., 1987. Glutaraldehyde fixation chemistry: oxygen-consuming reactions. *European Journal of Cell Biology*, 45(1), pp. 160-169.
- Jurado-Sánchez, B., Ballesteros, E. & Gallego, M., 2014. Occurrence of carboxylic acids in different steps of two drinking-water treatment plants using different disinfectants. *Water Research*, Volumen 51, pp. 186-197.
- Kim, D., Jung, S. S. J., Kim, H. & Lee, S., 2009. Biocide application for controlling biofouling of SWRO membranes — an overview. *Desalination*, 238(1-3), pp. 43-52.
- Kori-Siakpere, O., 2008. Acute toxicity of potassium permanganate to fingerlings of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *African Journal of Biotechnology*, 7(14), pp. 2514-2520.
- Kumar, M., Adham, S. & Pearce, W., 2006. Investigation of Seawater Reverse Osmosis Fouling and Its Relationship To Pretreatment Type. *Environmental Science & Technology*, 40(6), pp. 2037-2044.
- Kutty, P. M., Nomani, A. A., Thankachan, T. S. & Al-Rasheed, R., 1995. Studies on THMs formation by various disinfectants in seawater desalination plants. *IDA conference, Abu Dhabi, held during*, p. 18–24.
- Kwok, K. W. y otros, 2007. Comparison of tropical and temperate freshwater animal species' acute sensitivities to chemicals: Implications for deriving safe extrapolation factors. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(1), pp. 49-67.
- Langmuir, D., Chrostowski, P., Vigneault, B. & Chaney, S., 2005. *ISSUE PAPER ON THE ENVIRONMENTAL CHEMISTRY OF METALS*, s.l.: s.n.
- Latorre, M., 2005. Environmental impact of brine disposal on *Posidonia* seagrasses. *Desalination*, 182(1-3), pp. 517-524.
- Lattemann, S. & Höpner, T., 2008. Environmental impact and impact assessment of seawater desalination. *Desalination*, 220(1-3), pp. 1-15.

- Lattemann, S. & Höpner, T., 2008. Environmental impact and impact assessment of seawater desalination. *Desalination*, 220(1-3), pp. 1-15.
- Lattemann, S. y otros, 2008. *Desalination: Resource and Guidance Manual for Environmental Impact Assessment*, s.l.: s.n.
- Le Curieux, F. y otros, 1996. Utilisation de trois tests de génotoxicité pour l'étude de l'activité génotóxique de composés organohalogénés, d'acides fulviques chlorés et d'échantillons d'eau (non concentrés) en cours de traitement de potabilisation. *Revue des sciences de l'eau*, 9(1), p. 75.
- Le Jeune, A.-H. y otros, 2006. Effect of copper sulphate treatment on natural phytoplanktonic communities. *Aquatic Toxicology*, 80(3), pp. 267-280.
- Lee, J. A., Marsden, I. D. & Glover, C. N., 2010. The influence of salinity on copper accumulation and its toxic effects in estuarine animals with differing osmoregulatory strategies. *Aquatic Toxicology*, 01 Agosto, 99(1), pp. 65-72.
- Lenntech, 2014. *Lenntech B.V.* [En línea] Available at: <http://www.lenntech.es/procesos/mar/general/desalacion-puntos-clave.htm> [Último acceso: 2014].
- Lesser, M., 2006. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annual Review of Physiology*, Volumen 68, pp. 253-278.
- Leung, H.-W., 2001. Ecotoxicology of Glutaraldehyde: Review of Environmental Fate and Effects Studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49(1), pp. 26-39.
- Leung, H.-W., 2001. Ecotoxicology of Glutaraldehyde: Review of Environmental Fate and Effects Studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49(1), pp. 26-39.
- Levy, J., Stauber, J. & Jolley, D., 2007 . Sensitivity of marine microalgae to copper: The effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science of The Total Environment*, 387(1-3), pp. 141-154.
- Lin, T., Li, L., Chen, W. & Pan, S., 2012. Effect and mechanism of preoxidation using potassium permanganate in an ultrafiltration membrane system. *Desalination*, Volumen 286, pp. 379-388.

- Liviác, D. y otros, 2010. Genotoxicity of water concentrates from recreational pools after various disinfection methods. *Environmental Science & Technology*, 44(9), pp. 3527-3532.
- López-Galindo, C., Garrido, M. C., Casanueva, J. F. & Nebot, E., 2010. Degradation models and ecotoxicity in marine waters of two antifouling compounds: Sodium hypochlorite and an alkylamine surfactant. *Science of The Total Environment*, 408(8), pp. 1779-1785.
- Madaeni, S. S. & Mansourpanah, Y., 2004. Chemical cleaning of reverse osmosis membranes fouled by whey. *Desalination*, 161(1), pp. 13-24.
- Mai, H. y otros, 2012. Embryotoxic and genotoxic effects of heavy metals and pesticides on early life stages of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Pollution Bulletin*, 64(12), pp. 2663-2670.
- Martins, C. D. M. G. y otros, 2011. Acute toxicity, accumulation and tissue distribution of copper in the blue crab *Callinectes sapidus* acclimated to different salinities: In vivo and in vitro studies. *Aquatic Toxicology*, 17 Enero, 101(1), pp. 88-99.
- McDonald, D. G., Reader, J. P. & Dalziel, T. R. K., 1989. The combined effects of pH and trace metals on fish ionoregulation. En: *Acid Toxicity and Aquatic Animals*. s.l.:Cambridge University Press, pp. 221-230.
- Medina, S. J. J., 2013. EL ESTADO ACTUAL DE LA DESALACIÓN EN EL MUNDO Y SU PROYECCIÓN EN EL FUTURO. En: M. González & C. Román, edits. *DESALACIÓN: Un mar de oportunidades*. Sonora: ITSON , p. 22.
- Meerganz von Medeazza, G. L., 2005. "Direct" and socially-induced environmental impacts of desalination. *Desalination*, 185(1-3), pp. 57-70.
- Megharaj, M., Ragusa, S. & Naidu, R., 2003. Metal-algae interactions: implications of bioavailability.. *Bioavailability, toxicity & risk relationship in ecosystems*, pp. 109-144.
- Ministerio de Sanidad y Política Social Española, 2009. *Guía de Desalación: aspectos técnicos y sanitarios en la producción de agua de consumo humano*, Madrid: Ministerio de Sanidad y Política Social Española.

- Moreno-Garrido, I., Campana, O., Lubián, L. & Blasco, J., 2005. Calcium alginate immobilized marine microalgae: Experiments on growth and short-term heavy metal accumulation. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8-12), pp. 823-829.
- Neuparth, T., Costa, F. O. & Costa, M. H., 2002. Effects of Temperature and Salinity on Life History of the Marine Amphipod *Gammarus locusta*. Implications for Ecotoxicological Testing. *Ecotoxicology*, 11(1), pp. 61-73.
- NMX-AA-110-1995-SCFI, 1995. *ANÁLISIS DE AGUA – EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA CON Artemia franciscana Kellogg (CRUSTACEA-ANOSTRACA)- Método de Prueba*. D.F.: Dirección General de Normas: Comisión Nacional del Agua y Secretaría de Turismo y Fomento Industrial .
- Nodwell, L. M. & Price, N. M., 2001. Direct use of inorganic colloidal iron by marine mixotrophic phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 46(4), p. 765–777.
- Norville, W., 2005. Spatial distribution on heavy metals in sediments from the Gulf of Paria, Trinidad. *Rev. Biol. Trop.*, 53(1), pp. 33-40.
- Nunes, B., Carvalho, F. & Guilhermino, L., 2005. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(3), pp. 413-9.
- Nunes, B. S., Carvalho, F. D. G. L. M. & Van Stappen, G., 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*, 144(2), pp. 453-462.
- OCDE, 1992. *Essai n° 306: Biodégradabilité dans l'eau de mer*, Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD, 2012. *OECD Environment, Health and Safety Publications: Glutaraldehyde*, Paris: UNEP publications .
- OMS, 2003. *Desalación*. [En línea] Available at: <http://www.who.int/es/> [Último acceso: 30 Enero 2013].

- Paquin, P. R. y otros, 2000. Revisiting the aquatic impacts of copper discharged by water-cooled copper alloy condensers used by power and desalination plants. *Environmental Science & Policy*, Volumen 3, pp. 165-174.
- Paquin, P. y otros, 2000. Revisiting the aquatic impacts of copper discharged by water-cooled copper alloy condensers used by power and desalination plants. *Environ. Sci. Policy*, Issue 3, pp. 165-174.
- Pereira, S. y otros, 2014. From sub cellular to community level: Toxicity of glutaraldehyde to several aquatic organisms. *Science of The Total Environment*, Volumen 470-471, pp. 147-158.
- Pereira, S. y otros, 2014. From sub cellular to community level: Toxicity of glutaraldehyde to several aquatic organisms. Volumen 470-471, pp. 147-158.
- Pérez-Rama, M., Abalde Alonso, J., Herrero López, C. & Torres Vaamonde, E., 2002. Cadmium removal by living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Bioresource Technology*, 84(3), pp. 265-270.
- Peterson, H. G. y otros, 1995. Physiological toxicity, cell membrane damage and the release of dissolved organic carbon and geosmin by *Aphanizomenon flos-aquae* after exposure to water treatment chemicals. *Water Research*, 29(6), pp. 1515-1523.
- Pino, P. O. & Jorge, L. F., 2010. ENSAYO DE ARTEMIA: ÚTIL HERRAMIENTA DE TRABAJO PARA ECOTOXICÓLOGOS Y QUÍMICOS DE PRODUCTOS NATURALES. *Revista de Protección Vegetal*, 25(1), pp. 34-43.
- Poornima, E. H. y otros, 2006. Use of coastal waters as condenser coolant in electric power plants: Impact on phytoplankton and primary productivity. *Journal of Thermal Biology*, 31(7), pp. 556-564.
- Poornima, E. y otros, 2005 . Impact of thermal discharge from a tropical coastal power plant on phytoplankton. *Journal of Thermal Biology*, 30(4), pp. 307-316.
- Raman, R. K. & Cook, B. C., 1988. *Guidelines for applying copper sulfate as an algicide: Lake Loami field Study*, Illinois: s.n.

- Ramírez, R. P. & Mendoza, C. A., 2008. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: La experiencia en México*. Primera ed. s.l.:IEPSA y Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Randall, S., Harper, D. & Brierley, B., 1999. Ecological and ecophysiological impacts of ferric dosing in reservoirs. *Hydrobiologia*, 395-396(0), pp. 355-364.
- Raz-Guzmán, A. M., 2000. Crustáceos y Poliquetos. En: *Organismos Indicadores de la Calidad del agua y de la Contaminación*. s.l.:Plaza y Valdés, S.A. de C.V., p. 265.
- Reardon, I. S. & Harrell, R. M., 1994. Effects of varying salinities on the toxicity of potassium permanganate to larval and juvenile striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 25(6), p. 571–578.
- Rodríguez, E., Majado, M. E., Meriluoto, J. & Acero, J., 2007. Oxidation of microcystins by permanganate: Reaction kinetics and implications for water treatment. *Water Research*, 41(1), pp. 102-110.
- Rojas de Astudillo, L., Yen, C. & Bekele, I., 2005. Heavy metals in sediments mussels and oysters from Trinidad and Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, Volumen 1, pp. 33-40.
- RPS, 2009. *Effects of desalination plant discharge on the marine environment of Barrow Island*, Australia: s.n.
- Ruso, Y. d. P., la Ossa Carretero, J. A., Casalduero, F. G. & Sánchez-Lisazo, J., 2007. Spatial and temporal changes in infaunal communities inhabiting soft-bottoms affected by brine discharge. *Marine Environmental Research*, 64(4), pp. 492-503.
- Sánchez, C. y otros, 2011. Trihalometanos en aguas de consumo humano. *Revista de Toxicología*, 28(2), p. 109–114.
- Sánchez-Fortún, S. y otros, 2009. Toxicity and adaptation of *Dictyosphaerium chlorelloides* to extreme chromium contamination. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(9), p. 1901–1905.

- Sánchez-fortún, S., Sanz-Barrera, F. & Barahona-Gomariz, M., 1995. Acute toxicities of selected insecticides to the aquatic arthropod *Artemia salina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(1), pp. 76-82.
- Sánchez-Lizaso, J. L. y otros, 2008. Salinity tolerance of the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*: recommendations to minimize the impact of brine discharges from desalination plants. *Desalination*, 221(1-3), pp. 602-607.
- Sandhya, B. & Satoshi, T., 2011. Chemical pretreatment for reduction of membrane fouling caused by algae. *Desalination*, Julio, Volumen 274, pp. 171-176.
- Sanjeevi, R., Jenner, H. A. & Vayalam, P. V., 2012. *Operational and Environmental Consequences of Large Industrial Cooling Water Systems*. s.l.:Springer Science & Business Media.
- Sano, L., Krueger, A. M. & Landrum, P. F., 2005. Chronic toxicity of glutaraldehyde: differential sensitivity of three freshwater organisms. *Aquatic Toxicology*, 71(3), pp. 283-296.
- Sano, L. y otros, 2004. Comparative Efficacy of Potential Chemical Disinfectants for Treating Unballasted Vessels. *Journal of Great Lakes Research*, 30(1), pp. 201-216.
- Schiff, K., Brown, J., Diehl, D. & Greenstein, D., 2007. Extent and magnitude of copper contamination in marinas of the San Diego region, California, USA. *Marine Pollution Bulletin*, 54(3), pp. 322-328.
- Schipper, J., 2000. *Environmental impact from desalination plants: Pollution of the sea*, s.l.: s.n.
- SEMARNAT, 2006. *Actuación Institucional en los foros internacionales y nacionales sobre Manejo Cosero*, D.F.: s.n.
- SEMARNAT, 2007. *Programa Nacional Hidrico 2007-2012*, D.F.: s.n.
- Skinner, L., 2008. *Review of Literature on the Effects of Desalination Plant Brine Discharge Upon Cetaceans*, East Perth: s.n.
- Sombatsompop, K., Visvanathan, C. & Ben Aim, R., 2006. Evaluation of biofouling phenomenon in suspended and attached growth membrane bioreactor systems. *Desalination*, 201(1-3), pp. 138-149.

- Sorlini, S. & Collivignarelli, C., 2005. Trihalomethane formation during chemical oxidation with chlorine, chlorine dioxide and ozone of ten Italian natural waters. *Desalination*, 176(1-3), pp. 103-111.
- Sotero-Santos, R., Rocha, O. & Povinelli, J., 2007. Toxicity of ferric chloride sludge to aquatic organisms. *Chemosphere*, 68(4), pp. 628-636.
- Sotero-Santos, S., Rocha, O. & Povinelli, J., 2007. Toxicity of ferric chloride sludge to aquatic organisms. *Chemosphere*, 68(4), pp. 628-636.
- Stauber, J. & Florence, T., 1985. The influence of iron on copper toxicity to the marine diatom, *Nitzschia closterium* (ehrenberg) W. Smith. *Aquatic toxicology*, 6(4), p. 297–305.
- Stauber, J. L., 1998. Toxicity of chlorate to marine microalgae. *Aquatic Toxicology*, p. 213–227.
- Sunda, W., 1989. Trace metal interactions with marine phytoplankton. *Biological Oceanography*, 6(5-6), p. 411–442.
- Sunda, W. G., 1989. Trace metal interactions with marine phytoplankton. *Biological Oceanography*, 6(5-6), p. 411–442.
- Tarnacki, K. y otros, 2012. Environmental assessment of desalination processes: Reverse osmosis and Memstill®. *Desalination-Elsevier*, Junio, Volumen 296, pp. 69-80.
- Taylor, C. J. L., 2006. The effects of biological fouling control at coastal and estuarine power stations. *Marine Pollution Bulletin*, 53(1-4), pp. 30-48.
- Tomkins, S. P. & Dann, L., 2009. *Sexual selection in brine shrimps: Practical investigations using Artemia franciscana*. Cambridge: NCBE, University of Reading.
- Tran-Ha, M. H. & Wiley, D. E., 1998. The relationship between membrane cleaning efficiency and water quality. *Journal of Membrane Science*, 145(1), pp. 99-110.
- Triantaphyllidis, G. V. y otros, 1995. International study on Artemia XLIX. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics of a bisexual and a parthenogenetic population of Artemia. *Hydrobiologia*, 302(3), pp. 215-227.

- Tripathi, B., Mehta, S., Amar, A. & Gaur, J., 2006. Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. during short- and long-term exposure to Cu^{2+} and Zn^{2+} . *Chemosphere*, 62(4), pp. 538-544.
- Tsung-Meng, W. y otros, 2009. Expression of genes involved in redox homeostasis and antioxidant defense in a marine macroalga *Ulva fasciata* by excess copper. *Aquatic Toxicology*, 94(4), pp. 275-285.
- Tularam, G. & Ilahee, M., 2007. Environmental concerns of desalinating seawater using reverse osmosis. *Journal of Environmental Monitoring*, 9(8), pp. 805-813.
- Ulloa, M. G., 2012. *Inducción de productos bioactivos en la microalga marina Tetraselmis suecica*, Santiago de Compostela: Universidad Santiago de Compostela.
- UNESCO, 2000. *¿Hay suficiente agua en el mundo?*. [En línea] Available at: http://www.unesco.org/science/waterday2000/Brochure_spanish.htm [Último acceso: 30 Enero 2013].
- Urynowicz, M. A., Balu, B. & Udayasankar, U., 2008. Kinetics of natural oxidant demand by permanganate in aquifer solids. *Journal of Contaminant Hydrology*, 96(1-4), pp. 187-194.
- USEPA, 2014. *US EPA ORD NCEA Integrated Risk Information System: Bromodichloromethane (CASRN 75-27-4) | IRIS | US EPA*. [En línea] Available at: <http://www.epa.gov/iris/subst/0213.htm> [Último acceso: 6 Enero 2015].
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullos, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2), pp. 178-189.
- van Anholt, R. D. y otros, 2002. Effects of iron sulfate dosage on the water flea (*Daphnia magna* Straus) and early development of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42(2), pp. 182-192.
- van Anholt, R. D. y otros, 2002. Effects of iron sulfate dosage on the water flea (*Daphnia magna* Straus) and early development of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42(2), pp. 182-192.

- Vanhaecke, P., Siddall, S. E. & Sorgeloos, P., 1984. International study on Artemia. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of Artemia of various geographical origin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 80(3), pp. 259-275.
- Varó, P., Rodríguez, M., Chillón, M. F. & Prats, D., 2011. Plantas Desaladoras: Sustancias empleadas en la potabilización del agua por Ósmosis inversa. *Ingeniería Química-Universidad de Alicante*, Issue 490, p. 7.
- Waddell, J. P. & Mayer, G. C., 2003. Effects of Fenton's reagent and potassium permanganate applications on indigenous subsurface microbiota: a literature review. p. 4.
- Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M. & Peakall, D., 2001. *Principles of ecotoxicology*. Segunda ed. London; New York: Taylor & Francis.
- Walt, D. & Agayn, V., 1994. The chemistry of enzyme and protein immobilization with glutaraldehyde. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 13(10), pp. 425-430.
- Wang, L. y otros, 2013. Pre-oxidation with KMnO₄ changes extra-cellular organic matter's secretion characteristics to improve algal removal by coagulation with a low dosage of polyaluminium chloride. *Journal of Environmental Sciences*, 25(3), pp. 452-459.
- Wang, L. y otros, 2013. Pre-oxidation with KMnO₄ changes extra-cellular organic matter's secretion characteristics to improve algal removal by coagulation with a low dosage of polyaluminium chloride. *Journal of Environmental Sciences*, 25(3), pp. 452-459.
- WateReuses Association, 2011. *Overview of Desalination Plant Intake Alternatives*. s.l.:WateReuses Association.
- Weltens, R., Goossens, R. & Puymbroeck, S. V., 2000. Ecotoxicity of Contaminated Suspended Solids for Filter Feeders (*Daphnia magna*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(3), pp. 315-323.
- Wendy Guiry in Guiry, M. & Guiry, G., 2015. *Algaebase*. [En línea] Available at: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=C9599557fd5aa510f [Último acceso: 31 enero 2015].

- WHO, 2007. *Desalination for Safe Water Supply*. Geneva: Public Health and the Environment WHO.
- WHO, 2011. *Safe Drinking-water from Desalination*. Geneva: WHO Press.
- Wu, M. N., Wang, X. C. & Ma, X. Y., 2013. Characteristics of THMFP increase in secondary effluent and its potential toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, Volumen 261, pp. 325-331.
- Younos, T., 2005. Environmental Issues of Desalination. *JOURNAL OF CONTEMPORARY WATER RESEARCH & EDUCATION*, Issue 132, pp. 11-18.
- Zeiger, E., Gollapudi, B. & Spencer, P., 2005. Genetic toxicity and carcinogenicity studies of glutaraldehyde? A review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 589(2), pp. 136-151.
- Zhou, J., Chang, V. W. & Fane, A. G., 2013. An improved life cycle impact assessment (LCIA) approach for assessing aquatic eco-toxic impact of brine disposal from seawater desalination plants. *Desalination*, Volumen 308, pp. 233-241.
- Zhou, J., Chang, V. W.-C. & Fane, A. G., 2013. An improved life cycle impact assessment (LCIA) approach for assessing aquatic eco-toxic impact of brine disposal from seawater desalination plants. *Desalination*, Volumen 308, pp. 233-241.
- Zhou, J., Chang, W. & Fane, A., 2013. An improved life cycle impact assessment (LCIA) approach for assessing aquatic eco-toxic impact of brine disposal from seawater desalination plants. *Desalination*, Volumen 308, pp. 233-241.
- Zyadah, M., 2000. Toxicity and Bioaccumulation of Copper, Zinc, and Cadmium in Some Aquatic Organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(5), pp. 740-747.