



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

"ESTUDIO PRELIMINAR DEL EFECTO
TOXICOLOGICO DE INHIBIDORES DE CORROSION
EN POBLACIONES DE BACTERIAS
Y CRUSTACEOS"

T E S I S

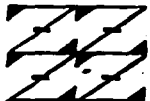
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARIA DEL CARMEN RAMIREZ RAMIREZ

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HUMANO
DE NUESTRA REFLEXION MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1997



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO SEGÚN EL TEMA:

**PRESIDENTE: ERNESTO MENDOZA VALLEJO
VOCAL: JUAN MANUEL ROMERO DOMINGUEZ
SECRETARIO: DR. ISAIAS H. SALGADO UGARTE
SUPLENTE: RAUL ARCOS RAMOS
SUPLENTE: JUSTO SALVADOR HERNANDEZ AVILES**

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

INSTITUTO MEXICANO DEL PETROLEO

**SUSTENTANTE:
MA DEL CARMEN RAMIREZ RAMIREZ**

**ASESOR:
BIOL. JUAN MANUEL ROMERO DOMINGUEZ**

A MIS PADRES Y HERMANOS

Con cariño, porque con su esfuerzo y comprensión hicieron posible lograr esta meta

A JESUS

Con amor por la paciencia y apoyo que me brindó

A CLAUDIA ELISA

Lo más bello que me ha dado la vida

A MIS PROFESORES Y COMPAÑEROS

Por sus enseñanzas, dedicación
y valiosos consejos

AL INSTITUTO MEXICANO DEL PETROLEO

Por su ayuda en la realización de esta tesis

CONTENIDO

RESUMEN	1
1.0 INTRODUCCIÓN	2
2.0 ANTECEDENTES	5
3.0 GENERALIDADES	8
4.0 OBJETIVOS	10
5.0 MATERIAL Y MÉTODOS	
5.1 Preparación de la solución estándar de los inhibidores de corrosión	11
5.2 Método para las evaluaciones con Bacterias Aerobias	12
5.3 Método para Pruebas de Toxicidad Aguda con <i>Daphnia magna</i> .	14
5.4 Método para Pruebas de Toxicidad con <i>Photobacterium phosphoreum</i> (Microtox)	18
6.0 RESULTADOS	20
7.0 DISCUSIÓN	52
8.0 CONCLUSIONES	56
9.0 RECOMENDACIONES	57
10.0 BIBLIOGRAFÍA	58

RESUMEN

Varios métodos y procesos se han desarrollado para el monitoreo del impacto causado a la biota marina y de agua dulce por sustancias químicas presentes en aguas residuales. El presente trabajo consistió en determinar la toxicidad de inhibidores de corrosión comerciales QZ, JRV1, AT Y JRV2), utilizados en ductos de la industria petrolera, los cuales forman una capa protectora en la superficie del metal. Los bioensayos se realizaron con tres organismos diferentes: Bacterias aerobias (aisladas del agua de un sistema de torres de enfriamiento), Crustáceos (*Daphnia magna*) y Bacterias bioluminiscentes (*Photobacterium phosphoreum*).

En el primer bioensayo, se expusieron poblaciones conocidas de bacterias aerobias a diferentes concentraciones de los inhibidores de corrosión, realizándose conteos de bacterias y determinándose la sobrevivencia de las mismas. El orden de toxicidad obtenido para los inhibidores de corrosión en esta prueba fue el siguiente: JRV1 > AT > JRV2 > QZ.

La segunda prueba consistió en observar la inmovilidad o muerte del 50 % de los organismos a una dosis letal (CL₅₀) de inhibidor que origina este efecto durante un periodo de tiempo de 48 horas, los datos fueron procesados por el Método Probit (Método de Unidades Probalísticas). La toxicidad para *D. magna* fue la siguiente: QZ > JRV1 > JRV2 > AT.

La tercera prueba consistió en medir la disminución de la luminiscencia de la especie de bacteria por efectos del producto. La toxicidad relativa fue calculada a través de la EC₅₀ y expresada en unidades de toxicidad (UT). Los resultados de toxicidad para *P. phosphoreum* JRV1 > JRV2 > AT > QZ. Las dos últimas pruebas se corrieron utilizando como tóxico de referencia, el dicromato de potasio.

Los inhibidores probados muestran una influencia clara en los parámetros físico-químicos, afectando de esta manera a los microorganismos. Se observa una diferencia significativa en la sensibilidad de los diferentes organismos. El examen con bacterias bioluminiscentes (Microtox), se presenta como una prueba rápida de toxicidad, pero el de *D. magna* sigue siendo el más sensible a prueba de aguas tóxicas.

Aunque los resultados de toxicidad encontrados no fueron muy semejantes, los inhibidores en general se encontraron clasificados, para las tres pruebas, entre tóxicos y muy tóxicos pudiendo ocasionar de esta manera efectos importantes en el medio ambiente en el que se desechen. Por lo anterior, deberá considerarse un manejo adecuado de dichos inhibidores a pesar de su alta eficiencia y una continuidad en la evaluación del grado de su toxicidad.

1.0 INTRODUCCIÓN

En los últimos 25 años, el acelerado crecimiento urbano e industrial ha aumentado la complejidad de los residuos que se descargan al ambiente, provocando serios problemas toxicológicos y de impacto ambiental, en las comunidades expuestas a estas descargas.

Con el avance tecnológico, se han desarrollado un número significativo de sustancias químicas a las que no se les ha evaluado el impacto ambiental y de cuyo uso se puede generar un impacto ambiental considerable y riesgos para la salud humana.

A la fecha el número exacto de químicos o mezclas de ellos que se han generado, se consideran en el orden de millones a nivel mundial. Un inventario realizado en Estados Unidos, indica que la sociedad moderna utiliza alrededor de 700.000 sustancias químicas sintéticas y cada año son introducidos al mercado entre 700 y 3.000 nuevos productos químicos (García, 1994). Una evaluación de 1990, señala que se cuenta con información toxicológica del 79 % de los compuestos comercializados actualmente (Lerdo y Sánchez, 1994).

De los contaminantes ambientales, los mutagénicos y los carcinógenos químicos, constituyen la principal amenaza a la salud humana, considerando el daño genético que pueden inducir.

En términos de contaminación, el problema se agrava en relación con los ecosistemas acuáticos, lo que merece un énfasis particular considerando la diversidad de vías a través de las cuales puede ocurrir la contaminación, incluyendo entre las principales, las descargas de aguas residuales sin tratamiento previo, a cuerpos naturales y/o artificiales o a través del acarreo de sustancias tóxicas por medio de corrientes pluviales.

Por otro lado, se debe considerar que los problemas de efectos tóxicos en el ecosistema, no se restringen únicamente a un desequilibrio ecológico, sino que además pueden afectar a la salud humana, si se considera la posibilidad de los fenómenos de bioacumulación y persistencia de los compuestos tóxicos a lo largo de la cadena alimenticia o al uso del agua para consumo humano, recreación, e irrigación, fundamentalmente.

Durante la década de los '70, se puso énfasis en la detección de las sustancias potencialmente tóxicas para el ambiente. Se desarrollaron métodos sofisticados de análisis químicos, con el objeto de detectar y cuantificar dichas sustancias. Estas técnicas generaron información valiosa sobre los contaminantes ambientales, no obstante, por ser muy costosa, se limitó su aplicación. Además de esto, las muestras generalmente contienen sustancias complejas, lo que hace prácticamente imposible la

detección e identificación de los compuestos químicos que pueden estar presentes en el medio acuático, y no siempre es posible prever los efectos adversos sobre la biota del ecosistema sólo con base en datos físico-químicos

Es importante tener en cuenta que cuando se evalúa la toxicidad de muestras de agua, éstas contienen una mezcla de sustancias químicas que pueden representar un efecto sinérgico (que suman sus efectos) o neutro (que no hay efecto) Por esta razón, una simple determinación química de las posibles sustancias presentes, no permite evaluar los efectos en términos de toxicidad

La toxicología acuática tiene como objetivo el estudio de los mecanismos de reacción de los individuos a las propiedades de los compuestos tóxicos o descargas (municipales o industriales), así como las consecuencias biológicas de tales reacciones

La ecotoxicología estudia los tóxicos sobre las poblaciones, efectos combinados de los compuestos tóxicos sobre las características estructurales y funcionales de las comunidades acuáticas y del impacto sobre la estabilidad de los sistemas y ciclos biogeoquímicos (Metelev, 1989)

Los organismos responden de diferente manera a la acción de algún contaminante o descarga que es vertida al agua. Los contaminantes interactúan física, química y biológicamente con los ecosistemas produciendo modificaciones en ambos sentidos y casi siempre son efectos adversos para las comunidades al alterar la composición específica y los procesos de autodepuración natural

La respuesta más extrema a un contaminante o descarga es la muerte o la migración de los organismos a otro hábitat más favorable. La respuesta menos evidente es la reducción en la capacidad de reproducción y en la inhibición del metabolismo normal

En el país, actualmente se realizan esfuerzos por incluir en la legislación los aspectos toxicológicos y evaluaciones rutinarias de productos potencialmente tóxicos. Aun queda mucho por hacer, pero la identificación e integración de las actividades que nos permitan alcanzar los objetivos propuestos, será el primer paso para fortalecer las bases sobre las que descansarán los principios fundamentales para determinar el efecto tóxico de productos tales como los inhibidores de corrosión ya que estos son ampliamente utilizados en diversos sistemas de la industria petrolera. De esta manera, será posible establecer los criterios y medidas que se consideren pertinentes para vigilar y controlar el posible ingreso de agentes tóxicos en cuerpos de agua que funjen como receptores.

Asimismo, es importante destacar que uno de los principales problemas que afronta el sector industrial mexicano, consiste en preservar el medio ambiente, evitar alteraciones ocasionadas por desechos industriales y mantener el equilibrio de los ecosistemas hasta donde sea posible. Bajo estas circunstancias, resulta evidente la necesidad de orientar recursos y esfuerzos para el desarrollo inmediato de nuevos productos

ecológicos que nos proporcionen la información requerida para proponer diversas alternativas de solución a los problemas vinculados con la contaminación. Para tal efecto, se deberá mantener una búsqueda constante de procesos enfocados principalmente a optimizar los sistemas de tratamiento de las descargas residuales, así como establecer los lineamientos para desarrollar metodologías que permitan una rápida, económica y eficaz determinación de efectos tóxicos de compuestos químicos.

Es el propósito de este estudio puede ser de utilidad como una aportación a la investigación sobre los efectos de la toxicidad causada por diversos tipos de inhibidores de corrosión, empleando métodos de bioensayos sencillos con microorganismos que puedan encontrarse en cualquier ambiente como las Bacterias aerobias, algunas especies de bacterias bioluminescentes (*Photobacterium phosphoreum*) y crustáceos (*Daphnia magna*).

2.0 ANTECEDENTES

Muchos contaminantes tóxicos son concentrados a lo largo de una cadena alimenticia y muy altos niveles pueden ser acumulados en los organismos desde muy bajas concentraciones en el agua. Brooks y Rumsby (1965) sugieren algunos caminos posibles para concentración de los metales en los sistemas acuáticos, estos son: Ingestión de material suspendido alrededor del agua, ingestión de contaminantes preconcentrados en el alimento, incorporación de contaminantes por sistemas fisiológicos importantes y entrada de contaminantes por intercambio en el ambiente.

El mecanismo de acción de la mayoría de los tóxicos que actúan sobre la estructura interna de la vida celular, es desconocido. Posiblemente, como ocurre con los metales pesados, éstos consiste en la formación de compuestos proteicos metálicos con los protómos tisulares, en trastornos de los procesos vitales fermentativos o bien en influencias bruscas sobre el metabolismo celular. Asimismo, lo fundamental puede ser la acción del tóxico sobre la superficie celular, con modificaciones de la permeabilidad.

El grado de toxicidad de un tóxico depende de una serie de factores que podemos clasificar en ambientales, dependientes del tóxico mismo e individuales.

Entre los factores dependientes del tóxico mismo que pueden aumentar o disminuir el grado de toxicidad, hay que citar la concentración de los mismos y el vehículo en que se hayan disueltos ya que éste puede aumentar su absorción, transformando sustancias inocuas en tóxicas y a la inversa. Es importante también, el tiempo de exposición sobre todo en aquellos tóxicos que actúan por contacto (Lu, 1985).

El grado de toxicidad puede clasificarse por su CL_{50} (dosis a la cual el 50 % de los organismos de prueba mueren). Aunque existen varias clasificaciones al respecto, la que se expone a continuación es la utilizada con mayor frecuencia.

CATEGORIA	CL_{50}
Supertóxico	5 mg/kg o menos
Extremadamente tóxico	5 - 50 mg/kg
Altamente tóxica	50 - 500 mg/kg
Moderadamente tóxico	0.5 - 5 g/kg
Ligeramente tóxico	5-15 g/kg
Prácticamente no tóxico	> 15 g/kg

De lo anterior se consideran supertóxicos o extremadamente tóxicos aquellos xenobióticos cuya dosis letal es inferior a 50 mg/kg de peso del animal de

experimentación y prácticamente no tóxicos aquellos que se precisa más de 15.0 g/kg de peso para producir una mortalidad del 50 % de los organismos (Lu, 1985).

Los estudios con microorganismos han demostrado que éstos son adecuados y recomendables para la evaluación de la toxicidad aguda de muestras ambientales (agua, sedimento y efluentes industriales), principalmente en las fases de selección e identificación de las áreas más críticas en aquellos casos en que no se exige el desarrollo de ningún protocolo en particular y en las etapas iniciales de evaluación de la toxicidad.

No existe ninguna prueba universal que pueda ser empleada en todas las situaciones para la evaluación de la toxicidad y por lo tanto un bioensayo por sí mismo no puede suministrar resultados equivalentes a los de otros bioensayos debido a las diferencias biológicas existentes entre organismos, sin embargo, es conveniente que una secuencia de estudios se inicie con evaluaciones simples, rápidas y de bajo costo, de tal forma que en cada nivel de análisis la información obtenida pueda indicar la necesidad de la inclusión o no de bioensayos más complejos.

La selección del crustáceo *Daphnia magna* en la evaluación de toxicidad de un cuerpo de agua se fundamenta en la amplia información que se tiene sobre su biología, así como de la elevada sensibilidad que presenta a una amplia gama de tóxicos orgánicos e inorgánicos. Asimismo, su ciclo de vida corto y de fácil cultivo en el laboratorio permite realizar pruebas rápidas y económicas, a diferencia de otros organismos acuáticos como los peces (EPA, 1995).

Por otra parte, con el propósito de implantar nuevas técnicas que permitan en un menor tiempo conocer la toxicidad de un compuesto y/o efluente líquido residual, se han desarrollado bioensayos con diversos organismos, entre ellos las bacterias bioluminiscentes marinas, de éstas destaca la prueba con Microtox, la cual se lleva a cabo con *Photobacterium phosphoreum*.

El ensayo de toxicidad con el sistema Microtox, está basado en la utilización de cepas bacterianas de la especie *Photobacterium phosphoreum*, estos microorganismos son bacterias bioluminiscentes altamente sensibles a una gran cantidad de compuestos tóxicos, aún cuando éstos estén presentes en bajas concentraciones y ha mostrado una excelente correlación con los resultados obtenidos en bioensayos con peces, *Daphnias* y *Artemias* (Vasseur y Ferard, 1984).

Finalmente, debido a que los inhibidores de corrosión presentan frecuentemente propiedades tóxicas y su uso es muy extenso en la industria petrolera, se han iniciado diversas pruebas para la elaboración de inhibidores de tipo ecológico y la modificación de otros ya existentes para de esta manera, evitar aumentar el problema de la contaminación del medio ambiente. Así mismo, se realizan estudios de modelos

matemáticos que predicen la toxicidad acuática permitiendo de esta manera determinar si un inhibidor puede ser tóxico o no (Singh, 1995).

3.0 GENERALIDADES

Inhibidores de Corrosión

El control de la corrosión es uno de los problemas más serios en las operaciones costeras y en los sistemas de enfriamiento. Existen algunos productos que son añadidos en las líneas y depósitos de los sistemas (oloductos, poliductos, gasoductos) para reducir el efecto de la corrosión. Estos químicos son los inhibidores de corrosión y pueden ser de tipo orgánico e inorgánico, algunos actúan formando una capa protectora en la superficie del metal para evitar su corrosión (Shing y Bockns, 1996)

Los inhibidores de corrosión se definen como toda aquella sustancia química o combinación de sustancias, que estando presentes en la forma y concentración adecuada dentro del medio corrosivo, atenúan su acción. Estos se clasifican por lo general de acuerdo a su capacidad para interferir la reacción de disolución anódica, la reacción catódica, o bien ambas simultáneas. De esta manera, los inhibidores, se clasifican como inhibidores anódicos catódicos o mixtos (Videlda y Salvarezza, 1984)

Existe una gran variedad de sistemas con condiciones corrosivas en las fracciones del producto de una refinería y en cualquier otra fase de la industria petrolera. Los problemas de corrosión se pueden presentar en aquellos equipos que contengan petróleo crudo hasta aquellos que lo tienen ya refinado.

Todas las piezas del equipo para refinación como las unidades de destilación, unidades alquilantes, plantas de gas, poliductos, oleoductos, gaseoductos, etc., deben ser protegidos. Por lo tanto, las refinerías representan los lugares donde se usan en gran escala los inhibidores de corrosión, ya que es el método más económico para el control de la misma (Sheldon, 1981).

Los inhibidores pueden actuar a través de la formación de películas que ellos mismos forman con los cationes metálicos, en promover la estabilización de películas de óxidos pasivos, o bien reaccionar con la sustancia potencialmente agresiva presente en el electrolito.

Tal vez los inhibidores más eficientes que se conoce para evitar la corrosión del acero son los aniones cromatos y nitritos siendo especialmente baratos, efectivos a bajas concentraciones y reduciendo el por ciento de corrosión (Sheldon, 1981). Sin embargo presentan el inconveniente de que deben emplearse en concentraciones relativamente altas, debido a que si se aplican en dosis insuficientes, ocurre un intenso proceso de corrosión localizada que resulta más perjudicial que la corrosión existente, además de que la utilización principalmente de los cromatos está seriamente restringida debido su alta toxicidad.

Los inhibidores catódicos son menos eficientes pero más seguros, puesto que si se usan en dosis insuficientes no incrementan los riesgos de corrosión, es decir no modifican la velocidad de corrosión original. Entre estos, los polifosfatos son los más utilizados ya que al formar una película polarizante sobre la superficie de la mayoría de los metales se dificulta la reacción de reducción del oxígeno. Los fosfonatos son compuestos de similar acción pero más estables. El zinc también se emplea como inhibidor catódico a través de la precipitación de hidróxido de zinc (Videlda y Salvarezza op. cit)

En condiciones de servicio suelen utilizarse combinaciones de inhibidores para obtener una mejor protección para el sistema en cuestión. Es común el empleo de un inhibidor anódico y uno catódico (cromato-zinc., cromatos polifosfatos), de dos catódicos (polifosfatos-zinc) o de dos anódicos (nitrito-boratos)

En general, la elección del inhibidor adecuado, así como la dosis a emplear, depende de numerosos parámetros tales como el tipo de metales presentes en el sistema, la calidad del agua (Contenidos de aniones agresivos, pH, oxígeno disuelto, presencia de microorganismos, etc.), velocidad de circulación del agua, condiciones de limpieza. Todo esto resulta en la necesidad de tratar cada sistema en particular evaluando todos los parámetros presentes (Bregman, 1963)

4.0 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la toxicidad de inhibidores de corrosión utilizados en oleoductos, gasoductos y poliductos de la industria petrolera

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto que presentan los inhibidores de corrosión Qz, JRV1, AT y JRV2 sobre una población de Bacterias Aerobias provenientes de un sistema de torres de enfriamiento

Aplicación del método de toxicidad aguda con *Daphnia magna* y el método con *Photobacterium phosphoreum* (Microtox) para la determinación del grado de toxicidad de los inhibidores de corrosión seleccionados

Efectuar un análisis comparativo de los métodos de prueba empleados, evaluando su efectividad, precisión y confiabilidad para establecer cual es el más recomendable para determinar la toxicidad de los inhibidores de corrosión seleccionados

5.0 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Preparación de las soluciones estándar de los Inhibidores

Para el desarrollo del presente trabajo, se emplearon tres métodos de prueba, en el primero se utilizó bacterias aerobias, el segundo empleó al crustáceo *Daphnia magna* Straus y el tercero bacterias bioluminiscentes *Photobacterium phosphoreum*

Los inhibidores estudiados fueron cuatro (Oz, AT, JRV1 y JRV2) y son de uso comercial. Estos están clasificados dentro de los formadores de película y están constituidos principalmente por aminas, aminas cuaternarias, mezcla de imidazolinias y/o sales. Los productos se prepararon en diferentes concentraciones y de acuerdo al tipo de prueba. También se trabajó con un tóxico de referencia (dicromato de potasio) para las pruebas con *Daphnia magna* y bacterias bioluminiscentes. Las concentraciones empleadas para ambas pruebas fueron de acuerdo a las reportadas en la norma de CETEEBL-018, 1986 (0.18 a 0.04 mg/l)

Para la prueba de bacterias aerobias se seleccionaron las concentraciones con base en la información de sus hojas técnicas y de acuerdo al uso de los mismos en los sistemas empleados. Las concentraciones seleccionadas para cada inhibidor en esta prueba fueron las siguientes: 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm y 100 ppm. Estos se prepararon con agua bidestilada.

Las concentraciones empleadas para el organismo *Daphnia* fue a partir de dos pruebas exploratorias y tres definitivas para cada inhibidor, partiendo de un intervalo de concentración de 50 a 1.0 ppm (prueba exploratoria "A") y 1.5 a 0.015 ppm (prueba exploratoria "B") con varias diluciones en serie cuya concentración en algunas pruebas fue reducida a la mitad. La cantidad de controles para las pruebas fueron de 3 y 4 respectivamente. Las concentraciones en las pruebas definitivas se determinaron con base a las pruebas anteriormente mencionadas. En todas estas pruebas los compuestos se prepararon con agua reconstituida.

El análisis con las bacterias bioluminiscentes se realizó de acuerdo a los protocolos establecidos por Microtox (1992) como 100 % considerándose un blanco y cuatro diluciones en serie de la muestra inicial cuya concentración fue reducida a la mitad en cada transferencia y con tiempos de exposición de 5 minutos. Se realizaron pruebas preliminares para establecer la concentración en la que se debía trabajar la muestra. En estas pruebas se utilizaron dosis desde 100 hasta 8 ppm. Los inhibidores fueron preparados también con agua reconstituida. Las pruebas definitivas se trabajaron con una concentración inicial de 4 y 2.6 ppm.

5.2 MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN CON BACTERIAS AEROBIAS

Preparación de las Bacterias

Se realizaron cultivos de bacterias a partir de agua de torre de enfriamiento proveniente de una purificadora de agua potable

En una campana de flujo laminar marca Veeco, en donde se logran condiciones de esterilidad, se filtraron 500 ml de agua de torre de enfriamiento empleando una membrana de 0.45 micras. La membrana fue colocada en un matraz Erlenmeyer de 250 ml de capacidad que contenía 100 ml de solución fosfatada estéril previamente preparada. Posteriormente se inocularon 3 ml de esta solución en un segundo matraz erlenmeyer con 100 ml de agua peptonada al 1% y se incubó a 35 ± 2 °C a 200 rpm durante 24 horas. Apartir de este cultivo (cultivo patrón) se realizaron resiembras en matraces Erlenmeyer con 100 ml de agua peptonada al 1% y se incubaron por dos horas a 35 ± 2 °C. Transcurrido este tiempo se tomó 1 ml del cultivo y se realizaron cuatro diluciones con agua peptonada al 1% partiendo de una dilución inicial de 10^{-2} hasta 10^{-5} y se inocularon en cajas petri estériles a las cuales se les añadió agar de tripticaseína a una temperatura de 45°C se homogeneizaron y se dejaron solidificar. Se incubaron 35 ± 2 °C durante 24 hrs. Finalmente se realizaron los conteos con un contador de colonias Tipo Quebec y se determinó la concentración de bacterias por ml. De este último cultivo se tomó una alícuota de 1 ml para las pruebas con los inhibidores.

Implementación de la Prueba

Se filtraron 1000 ml de agua utilizando una membrana de 0.45 micras de diámetro de poro. Los inhibidores se prepararon con el agua previamente filtrada en las concentraciones seleccionadas en matraces volumétricos de 100 ml. En 18 matraces Erlenmeyer de 250 ml con tapón de rosca previamente estériles, se colocaron 100 ml de los inhibidores en sus diferentes concentraciones (10, 25, 50 y 100 ppm) y se rotularon. Tres matraces con 100 ml de agua filtrada fueron utilizados como testigos.

A cada matraz se le añadió 1 ml del cultivo de bacterias y se incubación a 35 ± 2 °C a 200 rpm.

Los tiempos de contacto empleados durante las pruebas fueron 2, 4 y 6 horas por inhibidor para cada concentración. Transcurrido el tiempo de exposición y en condiciones de esterilidad, de cada matraz se tomó 1 ml de la suspensión con una pipeta serológica y se realizaron las siembras de todos los matraces en cajas petri estériles, a éstas se les añadió agar de soya de tripticaseína a una temperatura de 45°C.

Para cada matraz se efectuaron cuatro diluciones consecutivas con dos réplicas por cada dilución, se homogeneizaron y se dejaron solidificar. Todas las cajas fueron incubadas a 35 ± 2 °C durante 48 hrs. Posteriormente, se revisaron las cajas petri y se seleccionaron aquellas cajas que contenían de 25 a 250 colonias. Para llevar a cabo los conteos se utilizó un contador de colonias Tipo Quebec

Para cada inhibidor se realizaron tres replicas en las mismas condiciones y con la misma población de bacterias y se sacaron promedios para cada producto.

Con los resultados obtenidos se determinó la sobrevivencia de las bacterias para cada inhibidor en sus diferentes concentraciones mediante la siguiente fórmula.

$$\text{Porcentaje (\%)} = \text{Pmi} - \text{Pmf} / \text{Pmi} \times 100$$

donde

Pmi = Número de organismos iniciales

Pmf = Número de organismos finales

5.3 MÉTODO PARA PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA CON *Daphnia magna* Straus (Cladóceras, Crustácea)

Preparación de Materiales

El material utilizado para las pruebas fue previamente lavado con jabón neutro y tratado con HNO₃ al 30 % para eliminar residuos inorgánicos, acetona para eliminar residuos orgánicos, enjuagado con agua bidestilada y esterilizado a 170 °C por 45 minutos.

Preparación del Agua Reconstituida

Se preparó para efectuar esta prueba, agua sintética libre de contaminantes y con características deseables de pH y dureza. La preparación fue con base en la Norma Oficial Mexicana NOM 000 Ecol CCA/93

A 18 lts de agua destilada o bidestilada en un recipiente perfectamente limpio se le agregaron los siguientes reactivos

- 2.4 de Sulfato de magnesio, 3.48 de bicarbonato de sodio y 0.18 de cloruro de potasio

- Por separado, se disolvió 2.4 g de sulfato de calcio dihidratado en un litro de agua bidestilada con disolución completa y se adicionó a los 18 lts preparados con antelación mezclándose perfectamente. Se aeró por 24 horas.

Se determinó la calidad óptima del agua así preparada (reconstituida), colocando durante 24 hr a 10 neonatos en una muestra de 100 ml, se observó si al término del plazo no había mortalidad de organismos.

Preparación de organismos

En cinco vasos de precipitado de 1lt, se colocaron 15 hembras grávidas que se encontraban próximas a tener neonatos en 24 hr sin alimento.

Aproximadamente 1 hr. antes de iniciar las pruebas, se separaron los neonatos con ayuda de una pipeta pasteur con la punta recortada. Los organismos capturados se colocaron en un recipiente antes de ser transferidos finalmente a las diluciones correspondientes de los inhibidores.

PERIODO DE PRUEBA

Prueba exploratoria

Se realizaron dos pruebas preliminares (A y B) con cada inhibidor para definir el grado de toxicidad y el intervalo de concentraciones que deberían aplicarse en las pruebas definitivas. Las concentraciones probadas y las condiciones para estos ensayos se realizaron de acuerdo con los siguientes lineamientos:

INHIBIDOR	PRUEBA	CONCENTRACIONES (ppm)
Todos los inhibidores	A	50 20 10 5 0 2 0 y 1 0
QZ	B	1 0 0 5 0 25 0 125 0 0625 0 0312
JRV1	B	1 0 0 5 0 25 0 125 0 0625 0 0312
AT	B	1 5 1 25 1 0 0 5 0 25 0 125 0 0625
JRV2	B	1 5 1 25 1 0 0 5 0 25 0 125 0 0625

A primer prueba preliminar, empleando 3 controles

B segunda prueba preliminar empleando 1 control por cada inhibidor

PARÁMETRO	CONDICIONES
Tipo de prueba	Estática sin renovación del agua
Observaciones	24 horas (A) 48 horas (B)
Intensidad de la luz	600 -1000 lux Incubadora de fotoperiodo
Fotoperiodo	16 hr luz 8 hr oscuridad Incubadora de fotoperiodo
Vol de los recipientes de prueba	frascos de 150 ml
Edad de los organismos	0 a 24 horas 3ra Camada a 5ta Camada
No de réplicas	3
No de organismos por réplica	10
Agua de dilución	Reconstituida dura
Temperatura	20 °C
Alimentación	No
Vol Total de las muestras	100 ml
Respuesta evaluada	Inmovilidad
Criterio de aceptación	Sobrevivencia mayor o igual al 90 % en testigos

Pruebas Definitivas

Una vez registradas las observaciones en las pruebas exploratorias, se determinó el intervalo de concentraciones que fue usado en estas pruebas. Se realizaron tres pruebas definitivas para cada inhibidor. Las concentraciones seleccionadas fueron las siguientes:

INHIBIDOR	CONCENTRACIÓN EMPLEADA (ppm)
OZ	1.0, 0.75, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.0310
JRV1	0.5, 0.375, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.0312
AT	1.5, 1.25, 1.125, 1.0, 0.75, 0.5, 0.25
IRV2	1.5, 1.25, 1.0, 0.75, 0.5, 0.25, 0.125

Los lineamientos para esta prueba fueron similares a los de las pruebas exploratorias con la modificación de que el tiempo de exposición fue de 48 hrs para todas las pruebas, con un testigo para cada inhibidor.

En esta prueba se determinaron parámetros físico-químicos conforme a lo establecido en la Norma NOM-ECOL-000-CCA/93 al inicio y al final de cada prueba en todas las concentraciones. Los parámetros que se midieron y el método empleado para cada uno de ellos fueron los siguientes.

PARÁMETROS	MÉTODO
Oxígeno disuelto	Oxímetro YSI
pH	NMX-AA-8 Potenciómetro Corning meter 140
Temperatura	NMX-AA-7
Conductividad	NMX-AA-93 Hach DRELS
Dureza	NMX-AA-72 Encroma negro T

Debido a la variación de la sensibilidad individual que presentan los organismos empleados en este estudio, para la obtención de la CL_{50} los datos fueron procesados por el Método Probit (Método de Unidades Probabilísticas), el cual es utilizado para evaluar la relación dosis-respuesta de un contaminante o químico sobre un organismo, medida en términos de la concentración letal media (CL_{50}) y su precisión e intervalo de confianza. Conforme a lo anterior y en virtud de que el programa de cómputo Monteplener, Fevrier, 1987, garantiza un grado de confiabilidad del 95 %, se utilizó

para determinar los valores de los probit empíricos a partir de la mortalidad observada y el logaritmo de la concentración. Posteriormente, los datos de los probit empíricos se ajustaron a una recta por medio de una regresión lineal para finalmente obtener el valor de la CL_{50} . Los cálculos para los intervalos de confianza o error patrón se obtuvieron mediante las siguientes fórmulas:

$$ES \log_{10} CL_{50} = \left[S^2 \left(\frac{1}{\sum Nw} + \frac{\sum Nw (m-z)^2}{\sum Nw (\sum Nw X^2) - (\sum Nw X)^2} \right) \right]^{0.5}$$

donde:

ES = error estándar

X = logaritmo de la concentración

s = intervalo de incremento

m = pendiente obtenida por mínimos cuadrados

w = factor ponderado obtenido de tablas

Nw = número de organismos por factor ponderado

NwX = producto con el logaritmo de la concentración

NwX² = producto por el cuadrado del logaritmo de la concentración

$$z = NwX/Nw$$

$$IC \ CL_{50} = (CL_{50}) (ES \log_{10} CL_{50}) (\ln 10)$$

Las Unidades de Toxicidad aguda se obtuvieron a partir de la siguiente relación:

$$U. T. = 1/CL_{50} \times 100$$

(NOM-ECOL-000-CCA/93)

5.4. Método para Pruebas de Toxicidad con *Photobacterium phosphoreum* (Microtox)

Para realizar este método se utilizó un Analizador de Toxicidad Microtox modelo 500 (espectrofotómetro equipado con computadora para el manejo de resultados) El analizador espectrofotométrico, cuenta con una serie de celdas dispuestas en filas y columnas, en las cuales se manejaron las diluciones correspondientes, en la primera celda se encontrará la cubeta con mayor concentración de la cual y a partir de ésta se va tomando un volumen de 1 µl, que se mezcla en la siguiente cubeta y así consecutivamente para todas las cubetas que se emplearon en el análisis

Se utilizaron cepas bacterianas liofilizadas de la especie *Photobacterium phosphoreum*, las cuales son bioluminiscentes y altamente sensibles a una gran cantidad de compuestos tóxicos, aún cuando éstos se presenten en bajas concentraciones

Las muestras de los inhibidores se prepararon en diferentes diluciones, cuya concentración se reducía a la mitad en cada una de ellas. El valor de pH no se ajustó ya que estas se encontraban entre 7.5 y 8.5, se añadió NaCl al 2 %, posteriormente las muestras se mantuvieron en incubación a 15°C. Por separado se activaron los cultivos de bacterias (*Phosphonum phosphoreum* NRRI B-11777) liofilizadas, por adición de un ml de agua destilada, obteniéndose una densidad aproximada de 10⁸ bacterias por ml. De esta solución se tomó 10 µl con una micropipeta, se le añadió 0.5 ml de una solución de NaCl al 2 % y posteriormente se midió la intensidad luminosa de esta suspensión.

Finalmente, se tomaron volúmenes de 0.5 ml de la muestra anteriormente preparada y se mezclaron con un volumen igual de la suspensión de las bacterias. Después de un periodo de tiempo de 5 minutos, se midió la intensidad luminosa inicial y final de cada dilución.

Los valores de % EC₅₀ (concentración efectiva que causa una disminución de luz en 50 %) se calcularon por una regresión lineal como una función del porcentaje del efecto inhibitorio al 100 %. Los datos fueron procesados mediante una computadora acoplada al equipo. Los valores de EC₅₀ obtenidos y el grado de toxicidad se relacionaron con la siguiente escala:

EC ₅₀	UT	Toxicidad
0 - 24	> 4	Muy tóxico
25 - 74	4 - 1.34	Tóxico
75 - 100	1.3 - 1.0	Ligeramente tóxico
> 100	< 1.0	No tóxico

(Brouwer, 1990)

Los resultados en términos de concentración efectiva (EC_{50}) para un porcentaje de reducción de luz son definidos por la siguiente expresión.

Las siguientes ecuaciones fueron usadas para la obtención de los valores de EC_{50} .

$$\text{Gamma (t, T)} = d / r \cdot I = R(t) I(0) - I(t) / I(t) = R(t) I(0) - 1 / I(t)$$

$$EC \% \Delta = \text{gamma (t,T)} / 1 + \text{gamma (t, T)} \times 100 \%$$

donde:

d.l. = disminución de luz

r.l. = remanente de luz

$I(0)$ = lectura inicial de la luz al tiempo cero, justo en el momento de poner las bacterias

$I(t)$ = lectura final de luz en el tiempo (t)

$R(t)$ = blanco en el tiempo (t)

gamma (t, T) = el efecto gamma calculado por el tiempo de exposición (t) a una temperatura (T)

$\% \Delta$ = porcentaje de reducción de luz

(Cassen, 1983)

6.0 RESULTADOS

Los resultados obtenidos de sobrevivencia en las tres prueba con Bacterias Aerobias se promediaron y se muestran en las Tablas No 1, 2, 3 y 4

Para la prueba de Toxicidad Aguda con *Daphnia magna*, se muestran los resultados de las pruebas exploratorias (A y B) en las Tablas No 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11.

Los datos obtenidos de las tres pruebas definitivas para cada inhibidor de corrosión se observan en las tablas No. 12, 15, 18 y 21

El promedio de los datos fisico-quimicos medidos al inicio y al final de cada prueba, se muestran en las Tablas No 13, 14, 16, 17, 19, 20.

Los resultados de la pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio para la prueba con *D magna* se presentan en la Tablas No 24, 25 y 26

En la Tabla No 27, se muestran los resultados de las CL_{50} (dosis letal al 50 %) pendientes, IC (intervalo de confianza), UT (unidades de toxicidad) y grado de toxicidad para cada inhibidor. Estos valores fueron obtenidos mediante el método Probit

Los resultados de toxicidad para *P. phosphoreum* para los inhibidores y el tóxico de referencia (dicromato de potasio) se encuentran en la Tabla No 28

**TABLA No. 1 INHIBIDOR QZ
SOBREVIVENCIAS DE BACTERIAS AEROBIAS POR ml**

CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	1 800 000	4 800 000	4 500 000
25 ppm	340 000	2 800 000	3 800 000
50 ppm	140 000	600 000	130 000
100 ppm	40 000	70 000	70 000
REDUCCIÓN DE BACTERIAS EN PORCENTAJES			
CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	10	IN P	IN P
25 ppm	IN P	IN P	IN P
50 ppm	35	70	93.5
100 ppm	80	90.5	90.5

IN P. = Incremento de la población bacteriana
Población inicial de Bacterias Aerobias = 2,000,000/ ml

**TABLA No. 2 INHIBIDOR JRV1
SOBREVIVENCIAS DE BACTERIAS AEROBIAS POR ml**

CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	340 000	45 000	25 000
25 ppm	53 000	34 000	18 000
50 ppm	5 500	2 300	140
100 ppm	3 200	1 400	20
REDUCCIÓN DE BACTERIAS EN PORCENTAJES			
CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	88	97.75	98.75
25 ppm	97.35	98.3	98.1
50 ppm	99.72	99.88	99.99
100 ppm	99.84	99.93	99.99

Población inicial de Bacterias Aerobias = 2,000,000/ ml

**TABLA No. 3 INHIBIDOR AT
SOBREVIVENCIAS DE BACTERIAS AEROBIAS POR ml**

CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	880 000	490 000	210 000
25 ppm	730 000	230 000	36 000
50 ppm	19 000	1 300	1 200
100 ppm	8 000	350	180
REDUCCION DE BACTERIAS EN PORCENTAJES			
CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	56	75.5	89.5
25 ppm	81.5	88.5	98.2
50 ppm	99.05	99.93	99.94
100 ppm	99.6	99.98	99.99

Población inicial de Bacterias Aerobias = 2 000 000/ ml

**TABLA No. 4 INHIBIDOR JRV2
SOBREVIVENCIAS DE BACTERIAS AEROBIAS POR ml**

CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	1 900 000	1 500 000	295 000
25 ppm	240 000	27 000	25 000
50 ppm	22 000	500	350
100 ppm	120	20	0
REDUCCION DE BACTERIAS EN PORCENTAJES			
CONCENTRACIÓN	2hr.	4 hr.	6hr.
10 ppm	5	25	85.25
25 ppm	88	99.65	98.75
50 ppm	98.90	99.97	99.98
100 ppm	99.994	99.999	100

Población inicial de Bacterias Aerobias = 2 000 000/ ml

PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA CON *Daphnia magna*

TABLA No. 5 PRUEBA EXPLORATORIA "A" DE LOS INHIBIDORES QZ Y JRV1

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (24 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (24 HRS)
50	30	30	100
20	30	30	100
10	30	30	100
5.0	30	30	100
2.0	30	30	100
1.0	30	29	93.33
CONTROL	30	0	0

TABLA No. 6 PRUEBA EXPLORATORIA "A" DEL INHIBIDOR AT

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (24 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (24 HRS)
50	30	30	100
20	30	30	100
10	30	30	100
5.0	30	30	100
2.0	30	30	100
1.0	30	18	60
CONTROL	30	0	0

TABLA No. 7 PRUEBA EXPLORATORIA "A" DEL INHIBIDOR JRV2

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (24 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (24 HRS)
50	30	30	100
20	30	30	100
10	30	30	100
5.0	30	30	100
2.0	30	30	100
1.0	30	10	33.33
CONTROL	30	0	0

**TABLA No. 8 PRUEBA EXPLORATORIA "B"
DEL INHIBIDOR QZ**

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.0	30	30	100
0.5	30	29	93.33
0.25	30	6	20
0.125	30	3	10
0.0625	30	2	6.66
0.0312	30	1	3.33
0.0150	30	0	100
CONTROL	30	0	0

**TABLA No. 9 PRUEBA EXPLORATORIA "B"
DEL INHIBIDOR JRV1**

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.0	30	30	100
0.5	30	30	100
0.25	30	11	36.66
0.125	30	7	23.33
0.0625	30	2	6.66
0.0312	30	0	0
0.0150	30	0	0
CONTROL	30	1	3.33

**TABLA No. 10 PRUEBA EXPLORATORIA "B"
DEL INHIBIDOR AT**

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100
1.25	30	25	83.33
1.0	30	16	53.33
0.5	30	1	3.33
0.25	30	0	0
0.125	30	0	0
CONTROL	30	0	0

**TABLA No. 11 PRUEBA EXPLORATORIA "B"
DEL INHIBIDOR JRV2**

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100
1.0	30	20	6.66
0.5	30	7	53.33
0.25	30	0	0
0.125	30	0	0
0.0625	30	0	0
CONTROL	30	0	0

TABLA No. 12 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DEFINITIVAS DEL INHIBIDOR QZ

PRUEBA 1

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.0	30	30	100.00
0.75	30	28	93.33
0.5	30	25	83.33
0.25	30	18	60.00
0.125	30	10	33.00
0.062	30	1	3.00
0.0312	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 2

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.0	30	30	100.00
0.75	30	27	90.00
0.5	30	24	80.00
0.25	30	18	60.00
0.125	30	10	33.00
0.062	30	1	3.00
0.0312	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 3

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.0	30	30	100.00
0.75	30	26	86.66
0.5	30	24	80.00
0.25	30	17	56.66
0.125	30	11	36.66
0.062	30	2	6.66
0.0312	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

TABLA No. 13 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL INICIO DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR QZ

CONCENTRACIÓN (ppm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	TEMPERATURA (°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
1.0	4.0	20.0	7.9	730	194
0.75	4.0	20.1	7.7	730	193.5
0.5	4.5	20.0	7.5	710	193.5
0.25	4.9	20.2	7.7	715	190.0
0.125	5.0	19.5	7.7	705	190.0
0.062	5.0	20.0	7.5	710	187.8
0.0312	5.6	19.5	7.5	700	187.8
CONTROL	5.0	19.5	7.5	705	187.8

TABLA No. 14 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL FINAL DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR QZ

CONCENTRACIÓN (ppm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	TEMPERATURA (°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
1.0	3.4	21	8.1	780	235.5
0.75	3.3	21	8.3	770	235.5
0.5	3.9	20.05	8.3	750	240.5
0.25	3.9	20.1	8.24	710	223.4
0.125	4.2	20.1	8.28	780	219.3
0.062	4.9	20.0	8.25	700	235.5
0.0312	4.9	19.3	8.27	690	227.4
CONTROL	4.9	20.0	8.20	710	235.5

**TABLA No. 15 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DEFINITIVAS
DEL INHIBIDOR JRV1**

PRUEBA 1

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
0.5	30	30	100.00
0.375	30	24	80.00
0.25	30	12	40.00
0.125	30	6	20.00
0.062	30	2	6.66
0.0312	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 2

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
0.5	30	30	100.00
0.375	30	23	76.66
0.25	30	11	36.66
0.125	30	7	23.33
0.062	30	1	3.33
0.0312	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 3

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
0.5	30	30	100.00
0.375	30	25	83.33
0.25	30	13	43.33
0.125	30	6	20.00
0.062	30	2	6.66
0.0312	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

TABLA No.16 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL INICIO DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR JRV1

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	TEMPERATURA (T°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
0.5	3.45	20.5	7.5	650	190.14
0.375	3.5	20.2	7.5	640	185.5
0.25	3.5	20.5	7	630	184.5
0.125	4.0	20.5	7	630	184.5
0.062	4.3	20.2	7	630	184.5
0.0312	4.19	20.2	7	630	184.5
CONTROL	5.8	20.2	7	630	182.5

TABLA No.17 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL FINAL DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR JRV1

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	TEMPERATURA (T°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
0.5	3.0	20.2	8.4	710	247.78
0.375	3.1	20.5	8.38	700	247.78
0.25	3.0	20.6	8.38	700	227.47
0.125	3.2	20.4	8.33	695	211.22
0.062	3.4	20.2	8.26	690	199.0
0.0312	3.5	20	8.25	690	199.0
CONTROL	3.0	20.2	8.23	680	199.0

**TABLA No. 18 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DEFINITIVAS
DEL INHIBIDOR AT**

PRUEBA 1

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100.00
1.25	30	26	83.33
1.125	30	25	83.33
1.0	30	13	43.33
0.75	30	6	20.00
0.50	30	1	3.33
0.25	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 2

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100.00
1.25	30	26	86.66
1.125	30	23	76.66
1.0	30	13	43.33
0.75	30	6	20.00
0.50	30	2	6.66
0.25	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 3

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100.00
1.25	30	28	93.33
1.125	30	22	70.00
1.0	30	15	53.33
0.75	30	8	23.33
0.50	30	2	3.33
0.25	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

TABLA No. 19 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL INICIO DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR AT

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	TEMPERATURA (T°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
1.5	4.5	23.1	7.93	690	220.23
1.25	4.5	23.1	7.93	690	215.28
1.125	4.7	23.1	7.80	700	215.28
1.0	4.1	23.0	7.72	690	207.10
0.75	4.1	23.7	7.83	650	211.22
0.5	4.1	23.7	7.87	650	211.22
0.25	4.1	23.8	7.80	640	210.22
CONTROL	4.2	23.8	7.74	600	199.03

TABLA No. 20 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL FINAL DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR AT

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	TEMPERATURA (T°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
1.5	4.2	20.1	8.01	780	270.05
1.25	4.2	20.1	8.01	780	264.03
1.125	4.3	20.1	8.14	800	242.48
1.0	4.3	20.0	8.12	790	256.98
0.75	3.8	20.0	8.04	700	239.65
0.5	3.8	19.9	8.04	700	235.59
0.25	3.5	20.0	8.08	700	235.59
CONTROL	4.3	20.1	8.09	710	235.59

**TABLA No. 21 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DEFINITIVAS
DEL INHIBIDOR JRV2**

PRUEBA 1

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO DE ORGANISMOS EXPUUESTOS	NO DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100.00
1.25	30	29	96.66
1.0	30	27	90.00
0.75	30	24	80.00
0.50	30	15	50.00
0.25	30	10	33.33
0.125	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 2

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO DE ORGANISMOS EXPUUESTOS	NO DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100.00
1.25	30	30	100.00
1.0	30	29	96.66
0.75	30	27	90.00
0.50	30	18	60.00
0.25	30	11	36.66
0.125	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 3

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO DE ORGANISMOS EXPUUESTOS	NO DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
1.5	30	30	100.00
1.25	30	30	100.00
1.0	30	27	90.00
0.75	30	25	83.33
0.50	30	16	53.33
0.25	30	10	33.33
0.125	30	0	0.00
CONTROL	30	0	0.00

TABLA No. 22 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL INICIO DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR JRV2

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTO (mg/l)	TEMPERATURA (°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µohm/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
1.5	4.9	22.7	7.97	600	203.00
1.25	4.3	23.3	7.98	600	203.20
1.0	4.6	23.4	8.12	600	224.00
0.75	4.7	23.3	8.22	600	203.00
0.50	4.6	23.2	8.22	600	224.88
0.25	4.3	23.0	8.24	600	228.64
0.125	4.2	23.0	8.25	600	205.12
CONTROL	4.1	23.0	8.25	600	200.00

TABLA No. 23 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL FINAL DE LAS PRUEBAS PARA EL INHIBIDOR JRV2

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTO (mg/l)	TEMPERATURA (°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µohm/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
1.5	4.9	21.6	8.1	710	235.5
1.25	4.8	20.7	8.05	600	245.67
1.0	4.5	21.0	8.05	650	235.48
0.75	4.4	21.3	8.05	700	247.66
0.5	4.8	21.4	8.06	700	247.66
0.25	4.9	21.6	8.07	710	235.48
0.125	4.9	21.6	8.07	710	231.42
CONTROL	4.5	21.6	8.07	700	231.42

**TABLA No. 24 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD
CON DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$)**

PRUEBA 1

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
0.16	30	30	100.00
0.12	30	23	97.00
0.08	30	17	56.66
0.04	30	10	33.33
0.02	30	0	00.00
0.009	30	0	33.33
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 2

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
0.16	30	30	100.00
0.12	30	23	97.00
0.08	30	17	56.66
0.04	30	10	33.33
0.02	30	0	00.00
0.009	30	0	33.33
CONTROL	30	0	0.00

PRUEBA 3

CONCENTRACIÓN (ppm)	NO. DE ORGANISMOS EXPUESTOS	NO. DE ORGANISMOS MUERTOS (48 HRS)	PORCIENTO DE MORTALIDAD (48 HRS)
0.16	30	30	100.00
0.12	30	23	97.00
0.08	30	16	53.33
0.04	30	10	33.33
0.02	30	0	00.00
0.009	30	0	33.33
CONTROL	30	0	0.00

TABLA No. 25 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL INICIO DE LAS PRUEBAS PARA EL TÓXICO

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTO (mg/l)	TEMPERATURA (°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
0.16	3.7	21.6	8.15	690	207.05
0.12	3.7	22.1	8.18	690	231.42
0.06	3.6	22.0	8.15	690	196.94
0.04	3.8	22.0	8.17	690	190.62
0.02	3.9	21.8	8.12	690	190.62
0.006	3.8	21.9	8.17	690	182.7
CONTROL	5.0	22.7	7.97	600	174.5

TABLA No. 26 PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS AL FINAL DE LAS PRUEBAS PARA EL TÓXICO

CONCENTRACION (ppm)	OXIGENO DISUELTO (mg/l)	TEMPERATURA (°C)	pH	CONDUCTIVIDAD (µmhos/cm)	DUREZA TOTAL (mgCaCO ₃)
0.16	4.4	20.7	8.16	790	250.6
0.12	4.5	20.6	8.15	790	251
0.06	4.6	20.5	8.17	800	263.9
0.04	4.6	20.9	8.18	720	259.84
0.02	4.5	20.7	8.26	710	263.9
0.006	4.7	20.6	8.29	750	251
CONTROL	4.5	21.7	8.16	790	250.83

TABLA No. 27 VALORES DE CL₅₀ OBTENIDOS PARA CADA INHIBIDOR

INHIBIDOR	CL ₅₀	UT	I.C.	r ²	PENDIENTE	TOXICIDAD
OZ	0.2293	4.36	± 0.1551	0.978	2.588	MUY TÓXICO
JRV1	0.2354	4.24	± 0.3997	0.964	2.924	MUY TÓXICO
JRV2	0.3685	2.72	± 0.1207	0.948	3.199	TÓXICO
AT	0.8991	1.11	± 1.3595	0.955	7.172	LIGERAMENTE TÓXICO
K ₂ Cr ₂ O ₇ (1)	0.0825	16.0	± 0.0082	0.991	2.39	MUY TÓXICO

(1) Tóxico de referencia

PRUEBAS DE TOXICIDAD CON *Photobacterium phosphoreum*

TABLA No. 28 RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS PRUEBAS CON
Phosphorium phosphoreum (MICROTOX)

PRUEBA 1

INHIBIDOR	EC ₅₀ (%)	UT	TOXICIDAD
JRV2 (1)	7.9	12.5	MUY TÓXICO
AT (1)	11.24	8.89	MUY TÓXICO
JRV1 (2)	11.83	8.44	MUY TÓXICO
OZ (1)	49.62	2.61	TÓXICO
K ₂ Cr ₂ O ₇ (3)	NO TÓXICO	NO TÓXICO	NO TÓXICO

- (1) Concentración inicial 4 ppm
(2) Concentración inicial 2.6 ppm
(3) Concentración inicial 0.36 mg/l. se realizaron tres repeticiones

PRUEBA 2

INHIBIDOR	EC ₅₀ (%)	UT	TOXICIDAD
JRV2 (1)	10.42	9.59	MUY TÓXICO
JRV1 (2)	11.03	9.06	MUY TÓXICO
AT (1)	14.34	6.97	MUY TÓXICO
OZ (1)	39.57	2.52	TÓXICO
K ₂ Cr ₂ O ₇ (3)	NO TÓXICO	NO TÓXICO	NO TÓXICO

- (1) Concentración inicial 4 ppm
(2) Concentración inicial 2.6 ppm
(3) Concentración inicial 15.4 mg/l. se realizaron tres repeticiones

PRUEBA 3

INHIBIDOR	EC ₅₀ (%)	UT	TOXICIDAD
JRV1 (2)	8.42	11.87	MUY TÓXICO
AT (1)	14.47	6.90	MUY TÓXICO
JRV2 (1)	16.16	6.18	MUY TÓXICO
OZ (1)	33.92	2.94	TÓXICO
K ₂ Cr ₂ O ₇ (3)	NO TÓXICO	NO TÓXICO	NO TÓXICO

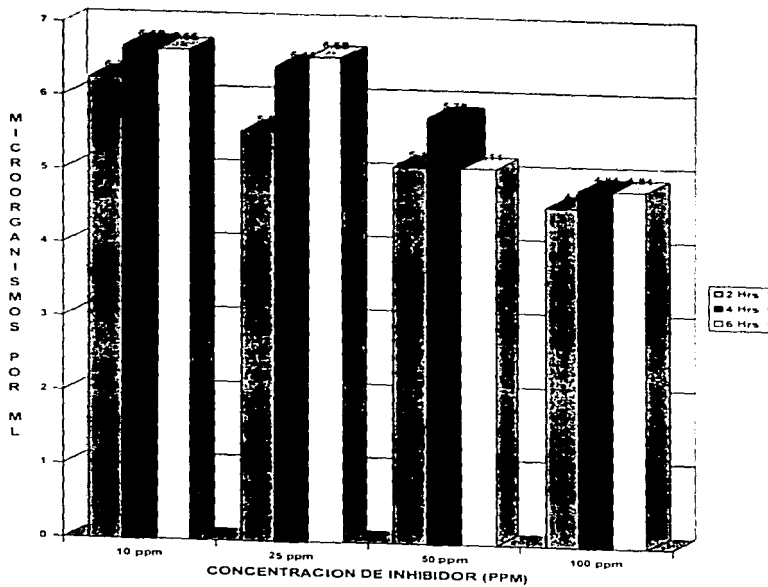
- (1) Concentración inicial 4 ppm
(2) Concentración inicial 2.6 ppm
(3) Concentración inicial 50 mg/l. se realizaron tres repeticiones

**TABLA No. 29 VALORES DE EC₅₀
OBTENIDOS PARA CADA INHIBIDOR**

INHIBIDOR	EC ₅₀	UT	F.C.	r ²	PENDIENTE	TOXICIDAD
JRV1	9.44	10.58	1.11883	0.974	1.865	MUY TÓXICO
JRV2	12.94	7.70	1.1397	0.965	1.689	MUY TÓXICO
AT	13.18	7.58	1.1378	0.984	1.532	MUY TÓXICO
QZ	41.48	2.41	1.21691	0.649	1.368	MUY TÓXICO
K ₂ C ₁₄ O 7 (1)	NO TÓXICO	NO TÓXICO	-----	-----	-----	NO TÓXICO

(1) Tóxico de referencia

GRAFICO No. 1 INHIBIDOR OZ



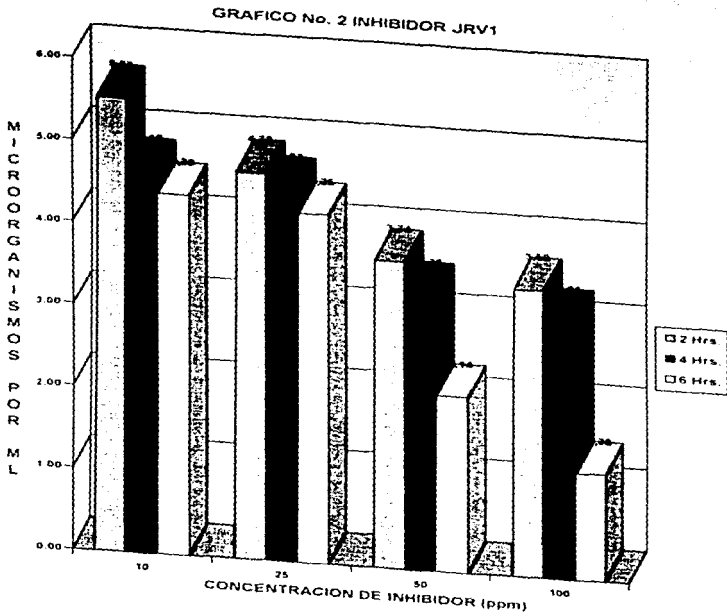


GRAFICO No. 3 INHIBIDOR AT

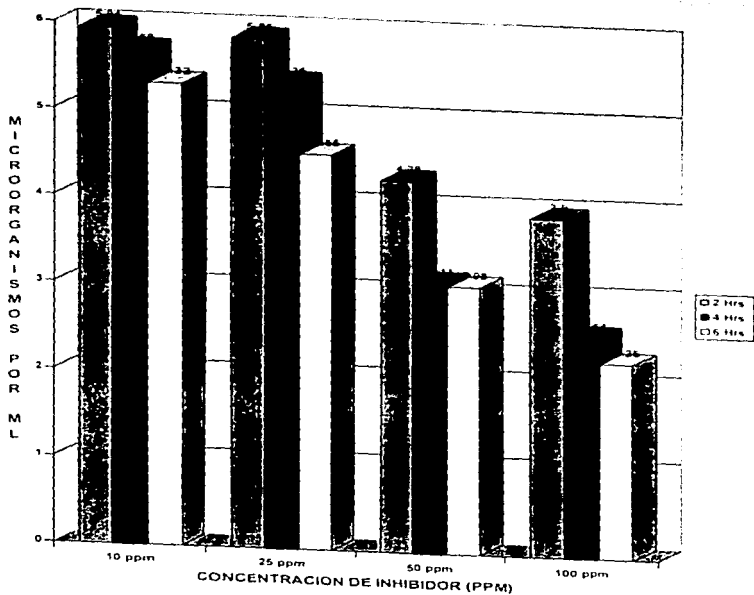
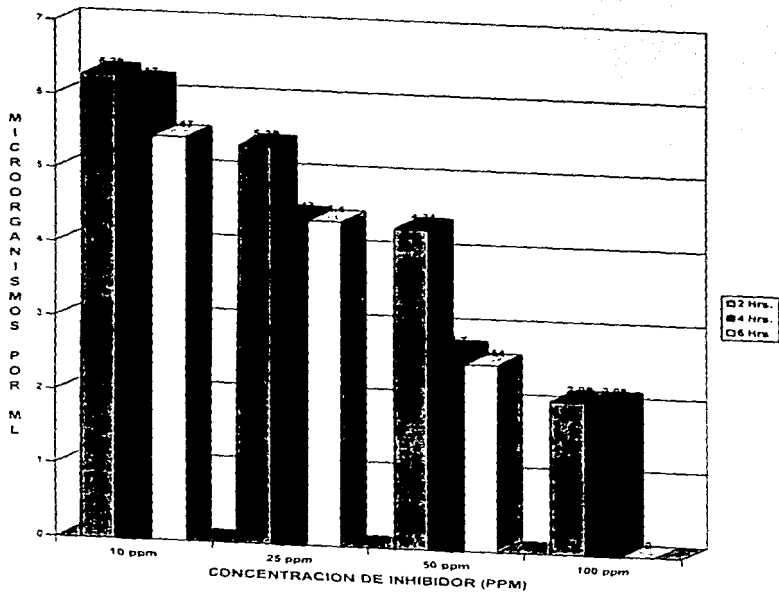


GRAFICO No. 4 INHIBIDOR JRV 1



TOXICIDAD DEL INHIBIDOR QZ DOSIS LETAL

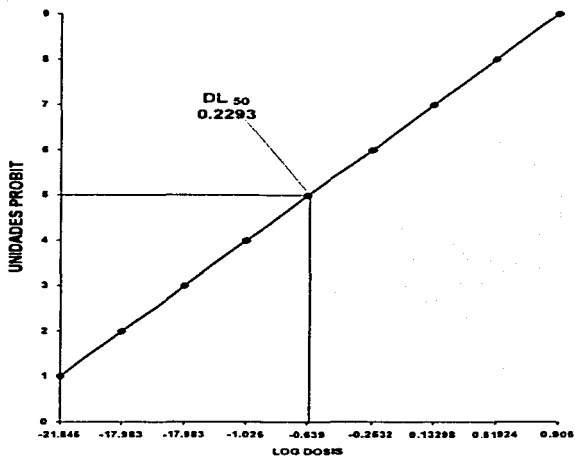


Gráfico No. 5.- Para obtener la DL50, se aplica el antilog al valor de la dosis correspondiente a cinco Unidades Probit. De acuerdo a la escala de Bulich y Brouwer este inhibidor presentó la mayor toxicidad

TOXICIDAD DEL INHIBIDOR JRV1 DOSIS LETAL

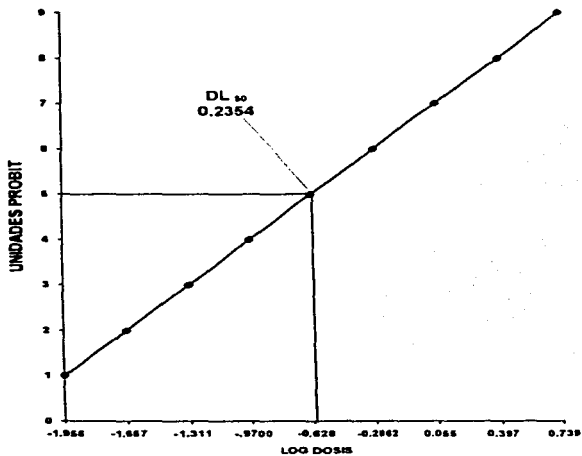


Gráfico No. 6.- El inhibidor JRV1 resultó ser el segundo más tóxico de los inhibidores probados

TOXICIDAD DEL INHIBIDOR JRV2 DOSIS LETAL

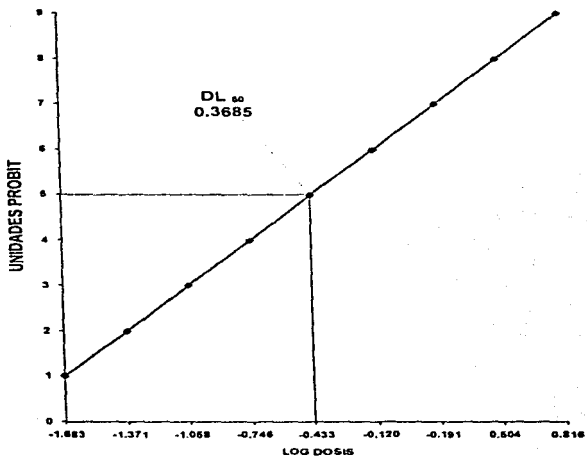


Gráfico No. 7.- Este inhibidor, se encontró clasificado como tóxico de acuerdo a la relación establecida por Bulich y Brouwer

TOXICIDAD DEL INHIBIDOR AT DOSIS LETAL

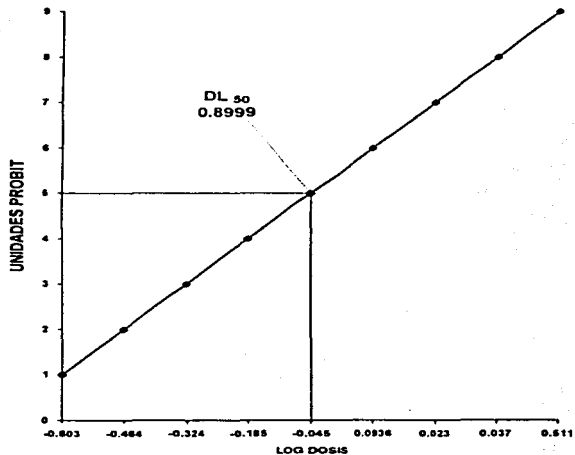


Gráfico No. 8.- El inhibidor AT mostró la menor toxicidad de los cuatro inhibidores probados

TOXICIDAD DEL DICROMATO DE POTASIO DOSIS LETAL

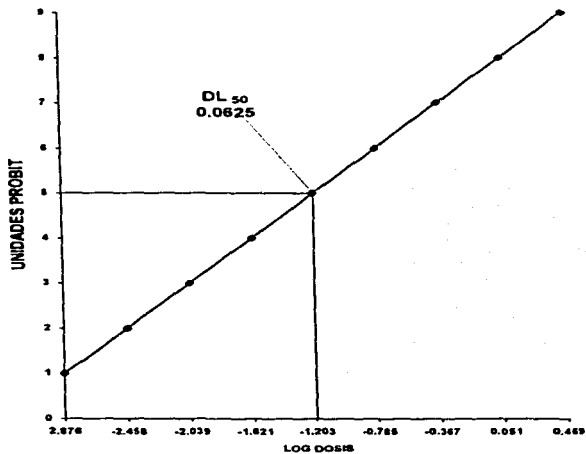


Gráfico No. 9 - La DL₅₀ se encontró dentro del rango establecido en la norma CÉTEEBL-18 de 1986 (0.18 a 0.04 mg/l)

COMPARACION DE LOS INHIBIDORES

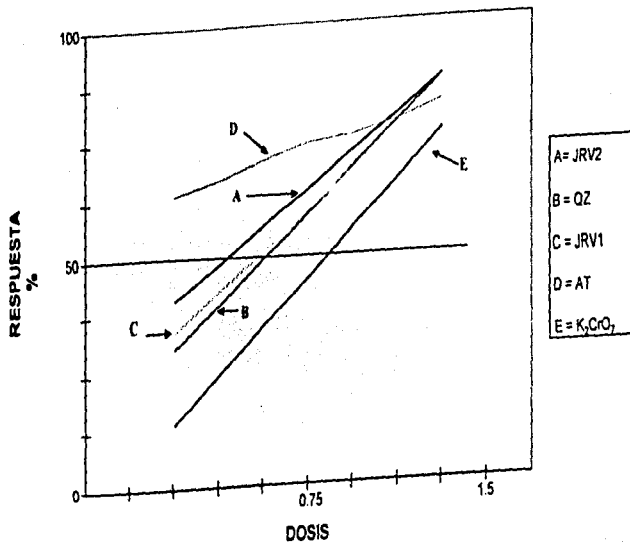


Grafico No. 10 - Dosis mortales de las relaciones dosis-respuesta de los cuatro productos quimicos

**TOXICIDAD DEL INHIBIDOR QZ
CONCENTRACION EFECTIVA**

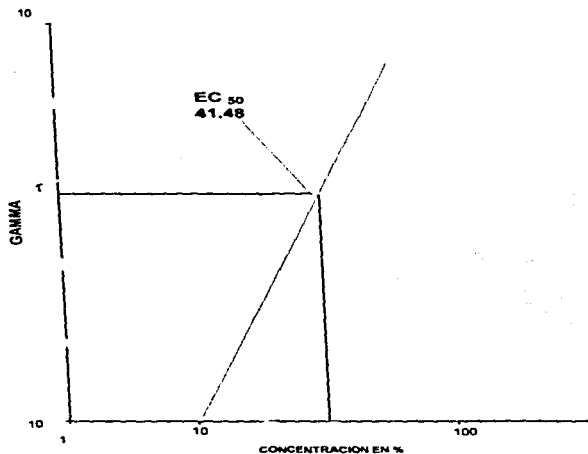


Gráfico No. 11.-Para las pruebas con *P. phosphoreum* este inhibidor fue el menos tóxico.

**TOXICIDAD DEL INHIBIDOR JRV1
CONCENTRACION EFECTIVA**

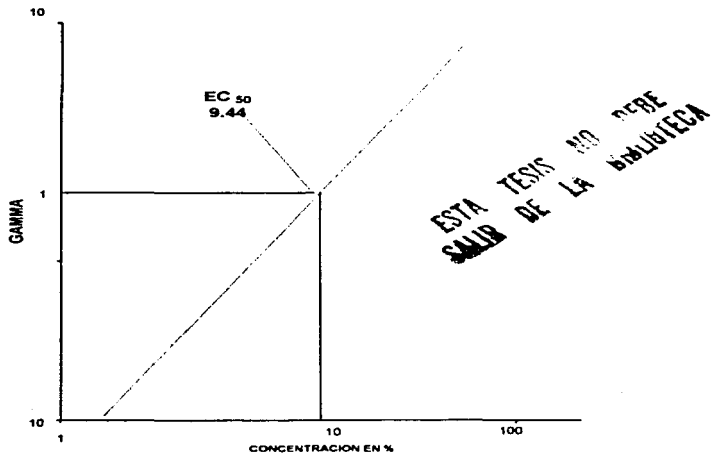


Gráfico No. 12.- Este inhibidor se clasifico como muy tóxico para la prueba con bacterias bioluminiscentes.

TOXICIDAD DEL INHIBIDOR AT CONCENTRACION EFECTIVA

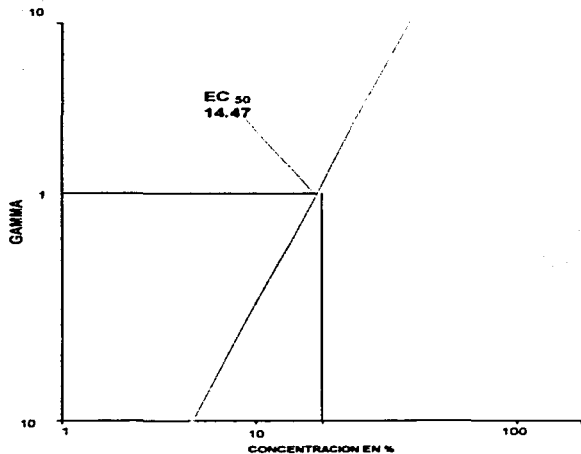


Gráfico No. 13 - El inhibidor AT fue el segundo menos tóxico de todos los productos, aunque dentro de la clasificación de Bulich resulto ser muy tóxico.

**TOXICIDAD DEL INHIBIDOR JRV2
CONCENTRACION EFECTIVA**

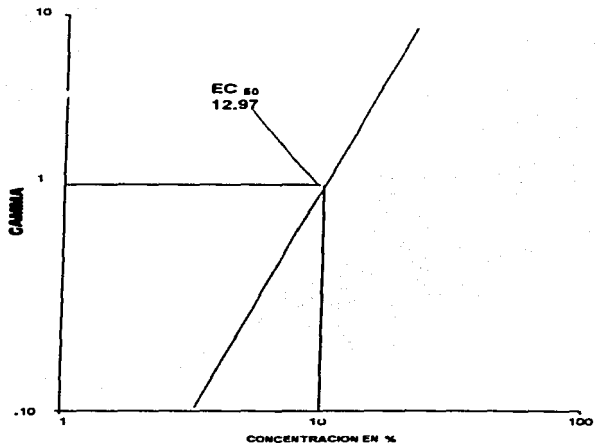


Gráfico No. 14.- Este inhibidor se clasifico como el segundo más tóxico para la prueba con bacterias bioluminiscentes.

7.0 DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en las pruebas con bacterias aerobias totales muestran, en tres de los cuatro inhibidores, una reducción mayor al 50 % en la población bacteriana en la mayoría de las concentraciones.

En la literatura se ha reportado que para evaluaciones de toxicidad ambiental, se han empleado frecuentemente prueba de eficiencias de productos como biocidas y/o microbicidas entre otros, sobre microorganismos (bacterias, hongos, etc) y se ha observado que aunque son menos sensibles que las pruebas de toxicidad aguda con *P. magna*, resultan más sensibles que las pruebas con bacterias bioluminiscentes o pruebas de movilidad de otras especies (Walker, 1990)

Para el inhibidor QZ, y en las concentraciones de 10 y 25 ppm no existió ningún efecto en las bacterias ya que no hubo reducción y si un aumento en su población. Para las concentraciones de 50 y 100 ppm, se puede notar un mayor efecto del inhibidor de un 36 % hasta un 96.5 % (ver Tabla y Gráfica No. 1)

El comportamiento de este inhibidor puede ser debido a que este presentó problemas de solubilidad cuando se prepararon las concentraciones, además de que se adhería a las paredes del material provocando pérdida del mismo.

En cuanto al inhibidor JRV2, el porcentaje de reducción fue del 5% a 10 ppm al cual va aumentando conforme al tiempo hasta un 85%. Para las concentraciones de 25, 50 y 100 ppm la disminución de la población bacteriana también fue gradual con respecto a la concentración y al tiempo. Este inhibidor alcanzó una reducción de bacterias de un 100 % (ver Tabla y Gráfica No. 4)

El comportamiento del inhibidor AT mostró mayor inhibición en la población microbiana que los productos anteriores, ya que a una concentración de 10 ppm se presentó una reducción arriba del 50 %. Sin embargo, no mostró mucha variación a 25 ppm en las primeras dos horas de contacto, el efecto sobre la población microbiana aumentó después de cuatro horas obteniéndose un porcentaje de muerte de bacterias del 88 % hasta 98 %. En 50 y 100 ppm, se alcanzó una reducción prácticamente del 100 % (ver Tabla y Gráfica No. 3).

El inhibidor JRV1 a la concentración de 10 ppm, causó un efecto en las bacterias arriba del 80 % y la reducción en las concentraciones de 25, 50 y 100 ppm, estuvo por arriba del 97 % hasta 99.99 % desde los primeros tiempos de contacto (ver Tabla y Gráfica No.2).

La toxicidad obtenida en esta prueba para todos los productos es la siguiente. JRV1 > AT > JRV2 > QZ. Sin embargo, es importante señalar que el inhibidor AT fue el que tuvo mayor efecto sobre los microorganismos en las concentraciones más altas (50 y 100 ppm)

Es importante notar, que los resultados obtenidos de las pruebas realizadas con bacterias aerobias indican que es posible observar un efecto significativo en el incremento de la toxicidad al utilizar concentraciones de 50 y 100 ppm de inhibidores de corrosión. Por otra parte, se debe considerar que los inhibidores de corrosión se dosifican en los ductos de manera continua en concentraciones de 6 a 15 ppm, además de que previamente a dicha dosificación, estos productos se aplican en concentraciones de 30 ppm para formar una película en la superficie interna de los ductos. Conforme a lo anterior, cuando entran en vigor los programas de mantenimiento (limpieza), toda esta capa interna de inhibidor más la que se haya acumulado por la dosificación continua, es arrastrada por los diábolos de limpieza, ocasionando que estas grandes cantidades de sustancias tóxicas sean arrojadas a los sistemas acuáticos, lo cual a su vez es la causa de grandes problemas de contaminación de carácter irreversible, ya que su efecto combinado con otros químicos puede dar origen a una interacción sinérgica que aumente su toxicidad. Un ejemplo de esta interacción química son los nitritos y ciertas aminas (los inhibidores de prueba están constituidos en parte por diferentes tipos de aminas), en virtud de que pueden reaccionar con otros químicos para formar nitrosaminas, de las cuales la mayoría son carcinógenos potentes, lo que finalmente se puede traducir como un aumento apreciable de la toxicidad (Lu, 1985)

Con respecto a las pruebas de toxicidad aguda con el crustáceo *D. magna* se presentó una mayor sensibilidad de este organismo con los químicos probados, utilizándose concentraciones de los mismos entre un rango de 1.5 ppm de producto original hasta 0.0312 ppm

El comportamiento de los inhibidores en esta evaluación fue en algunos casos de forma inversa al observado en las pruebas con bacterias aerobias. El producto químico que presentó menor grado de toxicidad en base a la escala de Bulich y Brouwer para esta prueba fue el AT con una CL_{50} (dosis letal al 50 %) de 0.8999 ppm y una UT de 1.111 (ver Tablas No. 18, 19 y 20, Gráfica No. 8)

Para el inhibidor JRV2, se obtuvo una CL_{50} de 0.3685 ppm y se encontró clasificado como tóxico con un valor para UT de 2.39. Aunque con este químico se utilizaron concentraciones similares al inhibidor AT, el JRV1 presentó mayor mortandad de organismos en la mismas concentraciones (ver Tablas No. 21, 22 y 23, gráfica No. 7). En los resultados del análisis físico-químico no se observa una variación muy grande al final de la prueba debido a la alta mortandad de los crustáceos en las concentraciones mayores

El tercer producto evaluado JRV1 presentó mayor grado de toxicidad que los dos anteriores ya que su CL_{50} se encontró entre un rango de concentración entre 0.5 y 0.0131 ppm. Por lo tanto este resultado ser muy tóxico de acuerdo a la escala de Bulich (ver Tabla No. 15, 16 y 17 Gráfica No. 6)

El inhibidor que presentó mayor índice de toxicidad fue el QZ con una CL_{50} de 0.2293 ppm y un valor de LT de 4.36. Este producto presentó en las pruebas con bacterias aerobias problemas de disolución y pérdida del mismo por adherencia a las paredes del material, para este caso la solubilidad pudo haber aumentado debido a las sales presentes en el diluyente de prueba ya que aquí no se utilizó agua bidestilada sino agua reconstituida.

En el comportamiento físico-químico se observa una influencia clara de estos inhibidores al inicio de las pruebas. La concentración de oxígeno disuelto disminuye a medida que aumenta la concentración de los mismos y para la dureza, pH y conductividad su tendencia es directamente proporcional a la concentración. Al final de la prueba después de 48 hrs. y debido a la alta mortandad de los crustáceos (*Daphnia magna*) en las concentraciones mayores, el contenido de oxígeno varío muy poco así como su dureza, sin embargo en las dosis más bajas los valores de carbonato de calcio aumentaron debido al consumo de oxígeno (desprendimiento de CO_2 en el metabolismo) por los organismos sobrevivientes.

En cuanto al dicromato de potasio (tóxico de referencia), se obtuvo una CL_{50} de 0.06416 mg/l con un intervalo de confianza de 0.0082, la cual se encuentra dentro del rango establecido en la norma CETEELBS 1986. Este valor descarta la posibilidad de que los organismos utilizados durante las pruebas fueran hipó o hipersensibles y que por lo tanto, se encontraban en condiciones adecuadas para ser usados.

En la gráfica No. 10, se puede apreciar las concentraciones letales y pendientes de las relaciones dosis-respuesta (muerte) de los cuatro productos químicos. El inhibidor AT es menos tóxico que los otros. El inhibidor QZ es tan tóxico como el JRV1 en el nivel de dosis mortal mediana pero este último es más tóxico en niveles de dosificaciones inferiores. El JRV2 es menos tóxico que los dos anteriores.

La variación en la toxicidad entre los compuestos evaluados, puede ser por el tipo de aminas (primarias, secundarias o alifáticas) o por la estructura que estas presenten en los mismos. En varios artículos se ha reportado que las aminas secundarias son menos tóxicas que las aminas primarias encontrándose toxicidades para estas últimas de 1.0146 mg/l y para las aminas secundarias la toxicidad decrece en una proporción de 4×10^{-4} . Por lo tanto, es recomendable conocer a fondo la composición de los productos de prueba (Singh y Bockris, 1996).

Respecto a las pruebas con la bacteria *P. phosphoreum*, la mayoría de los inhibidores se clasificaron como muy tóxicos, excepto el QZ, ya que se calculó una EC_{50} de 41.48 y una UT de 2.42 encontrándose en el nivel de tóxico. Sin embargo, es necesario resaltar, que las concentraciones iniciales para estas pruebas fueron a partir de 4 y 2.6 ppm del producto inicial las cuales son superiores a las utilizadas en las pruebas con *D. magna* (de 1.5 a 0.0312 ppm) pero inferiores a las de las bacterias aerobias (10, 25, 50 y 100 ppm)

La solubilidad de los inhibidores en esta prueba se vio favorecida, en parte, cuando la muestra era ajustada con una solución de NaCl al 2% como lo indica la técnica

En cuanto al dicromato de potasio (tóxico de referencia) no se observó efecto tóxico en ninguna de las concentraciones probadas (50, 15.4 y 0.36 mg/l), esto puede deberse a que para este químico, se requiera de mayor tiempo de exposición para obtener algún tipo de respuesta por este método (EVS, 1989)

Hay que aclarar que durante esta prueba y en especial en las pruebas preliminares, se presentaron variaciones en las EC_{50} cuando se utilizaban lotes diferentes de cepas bacterianas y aun con un mismo lote. Lo anterior puede ser, debido a la calidad de la cepa liofilizada. Por tal razón, antes de realizar las pruebas definitivas se procuró emplear un mismo lote de cepa bacteriana. Por lo tanto, los resultados obtenidos en las pruebas presentan variaciones en los tres casos para cada inhibidor, sin embargo, esta variación no afectó el nivel de toxicidad, pero sí el orden para determinar cual es el más tóxico

8.0 CONCLUSIONES

- Con los resultados obtenido se puede concluir, que existe variación en los valores obtenidos por los tres métodos, debido a que los organismos presentan una sensibilidad diferentes a los mismos compuestos. Sin embargo, ninguno de los tres métodos desplaza a otro ya que pueden utilizarse como pruebas complementarias para determinar la toxicidad de compuestos o productos químicos

- El orden de toxicidad de los inhibidores para la prueba con bacterias aerobias fue: JRV1 > AT > JRV2 > QZ, observándose una reducción mayor al 50 % en la poblaciones de bacterias en la mayoría de las concentraciones probadas

- Para el crustáceo *Daphnia magna* la toxicidad de los productos fue: QZ > JRV1 > JRV2 > AT, clasificados de acuerdo a la escala de Bulich y Brouwr de ligeramente tóxicos a muy tóxicos

- El grado de toxicidad de los inhibidores de corrosión para las pruebas con bacterias bioluminiscentes *Photobacterium phosphoreum* fue: JRV1 > JRV2 > AT > QZ clasificados de tóxicos a muy tóxicos

- De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede concluir que para las pruebas con bacterias bioluminiscentes, se tienen valores en corto tiempo obteniéndose una buena reproductibilidad y aun cuando los compuestos no han sido probados (para el caso de los inhibidores de corrosión) dando una medida de toxicidad rápida permitiendo clasificarlos

- Las pruebas de toxicidad con *D. magna* resultaron más sensibles a los inhibidores de corrosión que las evaluaciones realizadas con bacterias aerobias y aun con la bacteria *P. phosphoreum*. Sin embargo, es un método en el que se necesita mayor cantidad de material y tiempo

- Independientemente del tipo de método empleado con aquellos inhibidores de corrosión que resultaron ligeramente tóxicos a tóxicos y aunque el presente trabajo fue preliminar, se deben de tomar las medidas pertinentes para que este tipo de productos no sean desechados sin ningún tratamiento a los sistemas acuáticos.

9.0 RECOMENDACIONES

- Para obtener una mejor comparación principalmente para *D. magna* y *P. phosphoreum*, es recomendable utilizar más de un tóxico de referencia así como mayor número de evaluaciones para cada método, a fin de determinar con mayor precisión el grado de toxicidad de cualquier compuesto
- Para compuestos ya conocidos como tóxicos, *P. phosphoreum* nos permite obtener propiedades características que son utilizadas como parte de los datos fundamentales en la predicción de toxicidad y determinación del riesgo de nuevos tóxicos sobre la base de parámetros estructurales de los compuestos
- Finalmente, dado que la industria petrolera es el pilar de la economía, se deben tomar acciones que permitan participar en la solución de sus actuales problemas, de tal manera que sea posible satisfacer con suficiencia y oportunidad las necesidades del presente, sin comprometer las capacidades y recursos de las próximas generaciones
- Se requiere sostener una búsqueda constante de nuevas tecnologías enfocadas a la producción de combustibles sintéticos, con el consecuente abatimiento de costos de producción, optimización de la calidad y el incremento de una actividad productiva eficiente y respetuosa del medio ambiente. Estos conceptos y muchos otros esquemas de modernización, investigación y desarrollo, requieren el apoyo necesario para impulsar la relación de trabajo y actividades orientadas al uso de nuevos productos químicos tales como los inhibidores de corrosión que se deberán desarrollar destinándolos a combatir o minimizar el fenómeno de corrosión interno de ductos. La evaluación o estimación de su seguridad, será el reto y la responsabilidad de quienes lleven a cabo las pruebas de toxicidad de dichos productos

10. BIBLIOGRAFÍA

1. ASTM. 1995. "Assessing the microbial detoxification of chemically contaminated water and soil using a toxicity test with luminescent marine bacterium". American Society for Testing and Materials, D5660-95. 1 a 8 pp.
2. Belabed, W., Kestali N. and Semari S. (1993) "Evaluation de la toxicité de quelques métaux lourds à l'aide du teste daphnia" Tribune de L'EAU No. 565/5. 19 - 23 pp.
3. Bregman J I (1963) "Corrosión Inhibidores" Mac millan Company New York.
- 4.- Brouwer, H., Murphy T. (1990) A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum* Environmental Toxicology and Chemistry EFUUA Vol 9 1353-1358
5. Bulich A A (1982) "A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples" Process Biochemistry Vol 17 No 2 45-47 pp
6. Casserin, N A., W. Ying and Sojkar, S A. (1983) "Use of a rapid effectiveness". Proceeding of the 38th Purdue Industrial Waste Conference, Butterworth Publishers, Stoneham, MA, 867-878 pp.
7. Dom P.B, Com pemolle R. and Meyer Ch. L. (1991). "Aquatic assessment of the toxic fraction from the effluent of a petrochemical plant environmental toxicology and chemistry" Vol 1 691-703 pp.
8. EPA (1991) "Methods for mesuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms" EPA/600/4-90/027
9. EVS. 1989 "An evaluation of the sensitivity of microassays relative to trout and daphnia acute lethality tests". E.V.S. Consultants. Edmonton, Alberta, Canada. No. 3 64-30 y 15-25 pp
10. García C. J. (1994). "Bioacumulación" Memorias del Curso de Limnología Aplicada Boletín Informativo del Consejo de la Cuenca Lerma-Chapala 71a 77 pp
11. Garnic J., Voltat B., Hguyen D.K., bary M., Migeon B. and Kosmala A. (1996). "Ecotoxicological and chemical characterization of municipi wastewater treatment plant effluents". Wat. Sci. Tech. Vol 33 No 6: 109 - 119 pp
12. Gil S.I., Calderon L. C. (1994) Manual de Análisis probit. Industrial Editorial Mexicana. 107 pp.

13. Gorbi, G. M. and Moroni, F. (1991). "Problems related to daphnia toxicity test". *Quedemi 93 Saggi di tossicità con daphnia Con siglio Nazionde Delle Ricerch.*
14. Hiley P. and Fearnside, D. (1992). "Test methods improve sewage works performance". Yorkshire Water Service Ltd.
15. ISO (1982) Water quality- Determination of the inhibition of the de mobility of *Daphnia magna* Straus (Crustacea-Cladocere).
16. Kahu A., Tomson K., Pall T. and Kõlm I. (1996). "Study of toxicity of pesticides usibg luminescent bacteria *Photobacterium phosphonum*". *Wat, Sci. Tech.* Vol. 33 No. 8: 147 - 154 pp.
17. Lerdo, T.B. y Sánchez Ch J J. (1994) "Toxicidad en aguas residuales". *Memorias del Curso de Limnología Aplicada Boletín Informativo del Consejo de la Cuenca Lerma-Chapala* 135 a 138 pp
18. Lu, F. C. (1985) "Basic Toxicology". Mc Graw-Hill Washintong Tomo I
19. Martínez F., Villaseñor G. y Espinosa F. Efectos del tipo de alimento y su concentración en la supervivencia, longevidad y reproducción de *Daphnia magna* *Hydrobiologia* 287: 207-214 1994
20. Manual de Bioxon medios de Cultivo y Reactivos de Diagnóstico (1989)
21. Microbics Corporation. (1992) "Microtox Manual. A toxicity testing Handbook". Microbics Corporation Eds. Vol. 3: 201-204 pp. Vol. 4: 401-475 pp.
22. Navarro, G R y Pannamperuma Cynl (1989) "El mecanismos de la bioluminiscencia bacteriana". *Rev. Soc. Quim. Mex.* Vol. 33 No. 2: 54 - 60 pp
23. Norma Oficial Mexicana NOM 092 SSA1 1994 Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Publicado en el Diario Oficial de la Federación.
24. Norma Oficial Mexicana NOM 110 SSA1 1994 Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para análisis microbiológico. Publicado en el Diario Oficial de la Federación.
25. Norma Oficial Mexicana NOM 000 ECOL-CCA/93. Prueba de Toxicidad Aguda con *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) Método de Prueba. Publicado en el Diario Oficial de la Federación.

26. Norma CETEEBLS-018. (1986). "Test de toxicidade aguda *Daphnia magna* Straus. Cladocera- Crustacea". Portugal.
27. Pedersen, F. and Petersen G. (1996). Variability of species sensitivity to complex mixture. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 33, N0.6: 109-119 pp.
28. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-074-ECOL-1994, que establece el método de prueba de toxicidad aguda con *Daphnia magna* Starus (Crustacea- Cladocera). Publicado en el Diario Oficial de la Federación.
29. Ribo J. M. and Rogers F. (1990). "Toxicity of mixture of aquatic contaminants using the luminescent bacteria bioassay". *Toxicity Assessment an International Journal*. Vol. 5: 135 - 152 pp.
30. Romero D., Juan Manuel. (1986) "Estudio preliminar del efecto del microbocida IMP-BIO4 y el fluido de control, en la inhibición de la fotosíntesis de tres especies de algas fitoplanctónicas dulceacuicolas". TESIS.
31. S.B.I. - I.R.C.T. Montpellier, Fevrier (1987).
32. Sheldon W. D., Derby R. y Von Dem Bussche G. (1981). "Inhibitor types". *Materials Performance*. 47-51 pp.
33. Singh W.P., Ahmed J., Lin G.H., Kang Y. y Bockria J.O'M. (1995). About a chemical computational approach to the desing of green inhibitors. U.S.A., Corrosión 95 NACE Internacional 12 pp.
34. Singh P. W. y Bockris J.O'M (1996). *Toxicity issues of organic corrosion inhibitors: applications of QSAR model*. University Texas. 15 pp.
- 35.-Soares A., Calow P. (1993). *Progress in Standardization of aquatic Toxicity Test*, Lewis Publishers, USA, 187 pp.
36. Standard Methods for the examination of water, waster and sludge (1991) Bio-assays (grupo L). "Determination of the Inhibitory effect of waster water on the light emission of *Photobacterium phosphoreum*". DIN 38412 Part. 34.
37. Vasseur P., Ferard J.F. (1984). "Comparison des tests microtox et daphnie pour l'évaluation de la toxicité aigue d'effluents industriels". *Environmental Pollution (Series A)* 34, 225-235 pp.

38. Vasseur P., Bois F., Ferard J. F. and Rast C. (1986). "Influence of physicochemical parameters on the microtox test response". *Toxicity Assessment: An International Quarterly*. Vol. 1: 283 - 300 pp.
39. Videla H. y Salvarezza, R.C. (1984). "Introducción a la corrosión microbiana" *Microbiología Agropecuana, Argentina*. 33 a 40 y 72 a 78 pp
40. Viganò, L. (1991). "Results of the ring test on the daphnia toxicity test". *Quedemi 93 Saggi di tossicità con daphnia Con siglio Nazionale Delle Ricerch.*
41. Walker D. John (1990) "Effects of chemicals on microorganisms" *Research Journal WPOF*, Vol 62 No. 4.
42. Warner-Chilcott (1989) *Laboratorios Div. Sintesis Toxicológica*