

Actualidad de IPROMA



- El día 6 de marzo se celebró en la Cámara de Comercio de Castellón una Jornada de Calidad del Aire, organizada conjuntamente por la Cámara de Comercio e IPROMA. En esta jornada participaron como ponentes técnicos de la Generalitat Valenciana, Instituto de Tecnología Cerámica e IPROMA. La jornada contó con más de 100 asistentes.
- Los días 11 al 14 se celebró en Zaragoza el Salón Internacional del Agua y Salón del Medio Ambiente, SMAGUA, en la que IPROMA participó en un stand conjunto con otras empresas del Grupo Gimeno, con un gran éxito de afluencia de visitantes.

Nuevos Proyectos

- IPROMA en UTE con ITSMO ha sido adjudicataria de los trabajos de CONTROL Y DIAGNÓSTICO DE DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS DE MÁS DE 2000 HABITANTES-EQUIVALENTES EN CASTILLA LA MANCHA Y MADRID para el MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE.
- AENA ha adjudicado a IPROMA el "SERVICIO DE ANALISIS Y CONTROL DE LA CALIDAD DE LAS AGUAS DEL AEROPUERTO DE MADRID/BARAJAS".
- IPROMA realiza el CONTROL DE FUENTES PÚBLICAS EN SEVILLA, mediante un novedoso sistema ecológico de recogida de muestras en bicicleta, lo que permite desplazarse fácilmente por el casco histórico de Sevilla, de acceso restringido a vehículos.



Noticias Legislativas

- Orden MAM/427/2008, por la que se crea el anagrama-sello de identidad de las entidades colaboradoras de la administración hidráulica. Mediante este anagrama se reconoce a las empresas que, como en el caso de IPROMA, han obtenido el título de entidad colaboradora, de acuerdo con la Orden MAM/985/2006.
- Orden MAM/85/2008, por la que se establecen los criterios técnicos para la valoración de los daños al dominio público hidráulico y las normas sobre toma de muestras y análisis de vertidos de aguas residuales.
- Real Decreto 9/2008, por el que se modifica el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, añadiendo un nuevo Título relativo a la seguridad de presas, embalses y balsas.
- Real Decreto 266/2008, por el que se modifica la Confederación Hidrográfica del Norte y se divide en la Confederación Hidrográfica del Miño-Sil y en la Confederación Hidrográfica del Cantábrico.



ECOTOXICIDAD. Ensayo de toxicidad aguda por determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación es una consecuencia indeseable de los procesos productivos y de la actividad humana que afecta no sólo a la salud del hombre sino también a la integridad de los ecosistemas. Una de las formas básicas de prevenir los problemas derivados de la contaminación es el control periódico de la calidad del agua. Para esto se debe hacer un análisis específico por cada una de las sustancias que se desee saber si existe, o en qué concentración se encuentra. Esto resulta difícil y muy caro.

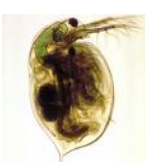
La Unión Europea ha incorporado a su legislación de control de calidad del ambiente criterios que surgen de los bioensayos (Directiva Europea 84/449/CEE). Un bioensayo consiste en medir la toxicidad de alguna sustancia o de efluentes, sometiendo deliberadamente a algún ser vivo a distintas concentraciones. Este principio no es nuevo. Los mineros solían llevar un pequeño pájaro, generalmente un canario, el cual, mientras viviera y cantase, indicaría que el temido gas grisú no estaba presente.

La *Daphnia magna* es una de las especies más utilizadas en el mundo por su sensibilidad y eficiencia para bioensayo, adoptada por instituciones encargadas de las normas de control del medio ambiente como USEPA (EE.UU.), OECD (CE), etc. Lo mismo ocurre con la legislación aplicable en el control de la calidad de aguas en el ámbito estatal y autonómico, en la que se incluye el bioensayo de *Daphnia magna* como una opción y en ocasiones como el ensayo indicado para evaluar la carga contaminante y tóxica de un vertido.

- Legislación autonómica: GALICIA: **Decreto 8/1999**, del 21 de enero, por lo que se aprueba el reglamento de desarrollo legislativo del capítulo IV de la Ley 8/1993, relativo al canon de saneamiento. MADRID: **Decreto 57/2005**, de 30 de Junio, modificación de los anexos de la Ley 10/1993 de 26 de octubre sobre vertidos líquidos industriales al sistema integral de saneamiento.
- Legislación nacional: **Orden de 13 de octubre de 1989** por la que se determinan los métodos de caracterización de los residuos tóxicos y peligrosos. **Orden MAM/85/2008**, de 16 de enero, por la que se establecen los criterios técnicos para la valoración de los daños al dominio público hidráulico y las normas sobre toma de muestras y análisis de vertidos de aguas residuales.

DAPHNIA MAGNA

Daphnia magna es un microcrustáceo, una pequeña "pulga de agua" que mide de 1 a 3 mm. y vive en lagos y lagunas, alimentándose de algas microscópicas y sirviendo, a su vez, de alimento a los peces. El género *Daphnia* se ubica dentro del orden cladóceros de la clase crustácea, y especies como *Daphnia magna*, *Daphnia pulex* y *Daphnia similis*, son utilizadas extensivamente en pruebas de toxicidad.



La *Daphnia* tiene varios aspectos biológicos interesantes que las hacen ideales para los ensayos. A su corta vida (3 ó 4 semanas) se suma una alta fecundidad. Si se manipulan algunas condiciones físicas aparecen machos, y por fecundación se producen unos huevos que, encerrados en una gruesa cubierta de quitina, pueden conservarse, aún en seco, durante meses y años. Con estas "semillas" (epíptas) se puede recomenzar un cultivo en laboratorio.

Pero la característica más interesante es su sensibilidad a los tóxicos, ya que es capaz de acusar la presencia de, por ejemplo, 0,005 mg. de mercurio en el agua, y aún menores concentraciones de numerosos pesticidas y residuos industriales. Con *Daphnia magna* se hacen, generalmente, dos tipos de bioensayos: de toxicidad aguda y de toxicidad crónica. En los de toxicidad aguda se evalúa la concentración del tóxico que es capaz de inmovilizar el 50 % de la población (CL50 o CE50) en 24 y 48 horas. Si un test de toxicidad aguda no

detecta efecto alguno esto no siempre significa que el agua analizada no sea tóxica. Para estos casos se utilizan los tests de toxicidad crónica en los que la evaluación se basa en la capacidad reproductiva o de crecimiento. La sensibilidad de las *Daphnia magna* a los tóxicos está influenciada por su edad y su procedencia, por tanto los animales usados en el bioensayo deberán tener menos de 24 horas de edad y su origen estará certificado.

BIOENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA POR DETERMINACIÓN DE INHIBICIÓN DE LA MOVILIDAD DE *Daphnia magna*.

El objetivo del ensayo es obtener una curva dosis-respuesta a partir de la cual poder calcular la C(E)L₅₀ aguda de la muestra para los organismos de ensayo. Es decir, se determina la concentración inicial (la concentración presente al inicio del ensayo) que, en 24 horas, inmoviliza el 50% de las *Daphnia magna* expuestas a ensayo. Esta concentración es conocida como concentración eficaz inicial inhibitoria, y se designa como **24 h EC₅₀**. Si es posible y necesario, se puede determinar también la concentración inicial que en 48 horas inmoviliza el 50% de las *Daphnia magna* expuestas a ensayo. Esta concentración se designa como **48 h EC₅₀**.

Para llevar a cabo el ensayo deben obtenerse individuos juveniles de *Daphnia magna* a partir de epíptas de dicho organismo. Tras su eclosión al tercer o cuarto día, se seleccionan larvas, que se exponen a una serie de diluciones de la muestra a ensayar. La exposición de los organismos a las diversas diluciones se lleva a cabo en frascos de vidrio o plástico (de 50 ml o 10 ml), durante un período de 24 ó 48 h, a 20 ± 2 °C, en la oscuridad, sin fluctuaciones superiores a ±2 °C. Tras este período se cuenta y registra el número de larvas inmovilizadas en cada frasco, y la C(E)L₅₀ se calcula mediante análisis estadístico de los datos.

FASES DEL PROCEDIMIENTO DE ENSAYO



1º.- Incubación.



2º.- Preparación de diluciones y siembra



3º.- Ensayo.

4º.- Cálculos.

Interesa determinar la concentración de la muestra o compuesto problema, que produce la muerte al 50% de la población de neonatos expuestos (concentración letal media o CL50 o EC50). También puede determinarse la concentración mínima donde aún se observa efecto de mortalidad (*Lower Observable Effect Concentration*, LOEC), así como aquella donde la muestra no produce la muerte de neonatos (*No Observable Effect Concentration*, NOEC).

Para el cálculo de la CE50 o CL50 deben obtenerse valores intermedios entre 0 y 100% de mortalidad. Una forma de hacer los cálculos es representar linealmente el logaritmo del % de concentración frente al % de *Daphnia magna* inmovilizadas para cada concentración. Se obtiene así una recta a partir de la cual se determina la concentración que en 24 o 48 horas (24h EC50 ó 48h EC50) que inmoviliza al 50% de las *Daphnias*.

La 24 h EC50 se expresará en % en el caso de efluentes o aguas y en mg/L en el caso de sustancias químicas. Y finalmente se obtendrá el resultado en EQUITOX de la siguiente forma: EQUITOX = 100/ 24 h EC₅₀ (%).

5º.- Controles de calidad.

Se controla la calidad del agua de dilución (comprobando la concentración de oxígeno, la dureza y la toxicidad, que debe ser inferior al 10%) y la calidad del cultivo del organismo de ensayo (comprobar si los individuos de *Daphnia* tienen las condiciones fisiológicas óptimas para el desarrollo de pruebas de toxicidad mediante un control de la sensibilidad empleando tóxicos de referencia).

María J. García Ferro
Jefa Laboratorio
Delegación IPROMA-Galicia