Valoración físico-química y fitotóxica de las aguas residuales depuradas/regeneradas destinadas al riego agrícola

Pérez Donato J.A.[b], Vera L. [c], Bravo Sánchez L.R.[b] Delgado Díaz S.[a], González Cabrera E.[a]

[a]*Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Química, Universidad de La Laguna*
[b] *Centro de Bioactivos Químicos de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas , Santa Clara, Cuba.*
[c] *Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca . Ecuador.*
[d] *Universidad Amazónica de Puyo. Ecuador.*

Resumen: La aplicación más extendida de la reutilización de aguas residuales domésticas depuradas/regeneradas es el riego agrícola. Las normativas comunes sobre calidad de aguas regeneradas para reutilización contemplan parámetros físico-químicos y biológicos para minimizar riesgos sanitarios, pero pocas veces tienen en cuenta parámetros fitotóxicos que pueden ser limitantes para aplicaciones agrícolas. Los parámetros físico-químicos y fitotóxicos cambian al avanzar en el grado de depuración/regeneración de las aguas residuales, por lo que resulta de interés conocer que etapa de la instalación proporciona el agua adecuada para el riego. Este trabajo presenta un estudio de correlación de fitotoxicidad con parámetros físico-químicos en agua de muestras tomadas al final de cada una de las etapas de tratamiento convencional de aguas residuales domésticas, que incluye reactor biológico de lodos activados y tratamiento terciario con filtración de arena, cloración, filtración en cartucho y desalinización por electrodiálisis reversible.En cada muestra se midió: demanda química de oxígeno, pH, conductividad, carbono orgánico, fósforo total, proteínas solubles, y los iones de Na, K, Ca, Mg, B, F y Cl. Los criterios de fitotoxicidad se evaluaron mediante el biomarcador *Lactuca sativa.*Los resultados mostraron reducciones importantes de los parámetros físico-químicos en el proceso de electrodiálisis, mientras que los efectos de fitotoxicidad mostraron reducciones en los procesos anteriores a la etapa final de electrodiálisis. Se concluye que los parámetros físico-químicos, conjuntamente con el marcador biológico, constituyen aspectos de interés práctico que relaciona el tipo de tratamiento con la calidad físico-química y la fitotoxicidad del agua depurada/regenerada obtenida y su idoneidad para aplicaciones de riego agrícola.

Palabras claves: fitotóxicos, reutilización, riego agrícola, electrodiálisis.

Abstract: The most widespread application of reuse of treated / reclaimed domestic wastewater is agricultural irrigation. The common regulations on quality of reclaimed water for reuse contemplated physicochemical and biological parameters to minimize health risks, but rarely taken into account phytotoxic parameters that may be limiting for agricultural applications. The physicochemical and phytotoxic parameters change to advance the degree of purification / regeneration of wastewater, so it is of interest to know what stage of the installation provides adequate water for irrigation. This paper presents a correlation study of phytotoxicity with physicochemical parameters in water samples taken at the end of each of the stages of conventional treatment of domestic sewage, including biological reactor activated sludge treatment and tertiary sand filtration, chlorination, filtration cartridge and desalination by electrodialysis reversal. In each sample was measured. Chemical oxygen demand, pH, conductivity, organic carbon, total phosphorus, soluble proteins and ions of Na, K, Ca, Mg, B, F and Cl criteria phytotoxicity were evaluated by *Lactuca sativa* biomarker.Results showed significant reductions in physicochemical parameters of electrodialysis process, while the effects of phytotoxicity showed reductions in the processes before the final stage of electrodialysis.We conclude that the physico-chemical, together with the biomarker parameters are aspects of practical interest that relates the type of treatment with physical-chemical quality and phytotoxicity of treated / reclaimed water obtained and their suitability for agricultural irrigation applications.

Key words: phytotoxic, reuse, irrigation, electrodialysis.

*e-mail: mayrav81@yahoo.es

Introducción

Un instrumento alternativo y que complementa los tradicionales análisis químicos para la determinación de toxicidad de muestras ambientales es la utilización de bioensayos, ya que los organismos vivos presentan algunas respuestas anómalas al exponerse a niveles por encima de determinados umbrales de seguridad (1). Diversos estudios han demostrado la presencia de los denominados ¨contaminantes emergentes¨ en las aguas residuales depuradas utilizadas en riego agrícola. Para la mayoría de los compuestos identificados se les desconoce sus efectos adversos sobre la biota (2).

Los Bioensayos ¨ *in Vitro* ¨ han ganado aceptación en las estrategias de biomonitoreo, fundamentalmente porque suministran resultados confiables, son costo-efectivo, simples y rápidos (3,4). En las últimas décadas se han desarrollados bioensayos rápidos con el empleo de plantas como organismos de prueba, las que funcionan como buenas herramientas de trabajo para el monitoreo ambiental (5,6).

Este trabajo combina la evaluación de parámetros físicos-químicos y de fiotoxicidad de agua residual depurada/regenerada destinada al riego agrícola. Se monitorean los factores antes referidos en los diferentes procesos tecnológicos de tratamientos (secundario y terciario) y su correlación con el bioensayo de fitotoxicidad (con la misma secuencia de muestreo) utilizando *Lactuca sativa* como biomarcador de toxicidad (7).

La justificación para realizar este bioensayo radica en la importancia de eventos de desarrollo temprano en el crecimiento y supervivencia de las plantas. La prolongación de la raíz es inhibida a concentraciones más bajas de las sustancias tóxicas que para el caso de la germinación de la semilla; por lo tanto, puede ser un indicador más sensible de efecto biológico, se emplean diversas especies, pero el ensayo con *Lactuca sativa* es una de las más intercalibrada por los laboratorios a nivel internacional (8).

Materiales y métodos

Prueba de fitotoxicidad a corto plazo con la planta Lactuca sativa

El bioensayo con semilla (Lactuca sativa), clasificado como estático de toxicidad aguda (120 horas de exposición). En el que se evalúa el efecto fitotóxico de un compuesto puro o una mezcla compleja en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxico, se determina la inhibición de la germinación, así como la inhibición en la elongación de la raíz y el hipocotilo. Esto permite evaluar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en concentraciones tan bajas que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que si pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la raíz o el hipocotilo, lo que depende del modo y lugar de acción de los contaminantes.

Este ensayo permite además monitorear las aguas residuales en diferentes momentos del proceso tecnológico de depuración.

Control de calidad del bioensayo

El bioensayo con L. sativa parte de un criterio básico que consiste en garantizar la calidad del lote de semillas suministradas por un proveedor que garantice la no utilización de productos químicos en su conservación. Las semillas de L. sativa var. BSS (Black Seed Simson) subvariedad Fomento utilizadas se acompañaron de una certificación de calidad que declara un poder germinativo de 100% para el lote. La recepción y almacenamiento en el laboratorio cumplió con las normas protocolizadas. Las semillas seleccionadas para el ensayo cumplieron con criterios de aspecto (color, forma y tamaño) y rango de peso, rechazando las que no cumplan con estos parámetros (5,6).

Previo a la implementación de la prueba se verificó el porcentaje de germinación de las semillas el cual se comportó en un rango de aceptación (99%), es decir por encima de 90% que es el requerimiento exigido. Además se evaluó el coeficiente de variabilidad (CV) del crecimiento de la radícula y del hipocotilo, el que mostró una variabilidad de 17% con rangos entre 20 y 14 por ciento. Un coeficiente de 20% o inferior se considera bueno, siendo 30% el límite de aceptación del lote para poder ser utilizado en el bioensayo. El experimento se desarrolla en ausencia de luz y a temperatura de 21± 1 ºC en cámara oscura termostatizada. Previamente se caracterizaron las condiciones de fotoblastismo negativo y la temperatura optima de germinación, así como rangos de dosis para estimar la CI_{50} del sulfato monoidratado de zinc (tóxico de referencia) para la elongación de la raíz y el hipocotilo.

La carta control (anexo I: tabla 3, gráfico 1) se conformó realizando el cálculo de la CI_{50} (para un intervalo de confianza de 95 %) a muestras del lote de semillas de forma periódica (todos los meses), con el objetivo de comprobar su sensibilidad al tóxico de referencia. Cuando el cálculo de la CI_{50} se ubica fuera de ± 2 (Desviación Típica) con relación al promedio se considera que el marcador no cumple con los estándares de calidad para el bioensayo (5,9). En el presente ensayo la carta control respalda la calidad de las semillas en cuanto a sensibilidad de respuesta al tóxico de referencia lo que se refleja en el anexo I (tabla 3 y gráfico 1).

Protocolo de bioensayo

Se inicia inmediatamente después de ser recepcionadas las muestras por el laboratorio y en paralelo con las determinaciones fisicoquímicas, con la salvedad que este se extiende por un periodo de 120 horas (cinco días). Se utilizan placas desechables de Petri (100mm de diámetro), papel de filtro Whatman número 3 (90 mm) colocando 20 semillas por placas y aplicando 4 mililitros de agua por placa tanto para muestras investigadas como grupo control negativo (agua ¨Milli-Q¨ reconstituida (10) y se procede según protocolo basado en la US EPA, 1989 (11).

Muestras de agua residual

Las muestras de aguas residuales que se utilizaron para los experimentos se tomaron en los meses de julio y agosto (3 muestreos) en estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) de la isla de Tenerife (Islas Canarias, España). Las muestras fueron obtenidas en el siguiente orden: posteriores a, reactor biológico de lodos activados y tratamiento terciario con filtración de arena, cloración (sólo utilizada para la determinación de conductividad e iones y no para el resto de los parámetros investigados), filtración en cartucho y desalinización por electrodiálisis reversible.

Determinación de indicadores fisicoquímicos

Las muestras clasificadas como compuestas / 24 horas, fueron transportada al laboratorio donde se inició inmediatamente las determinaciones fisicoquímicas. La evaluación analítica de los diversos indicadores de contaminación físico-química ha sido realizado a temperatura ambiente (25 º C) y por duplicado a cada muestra. Las determinaciones se realizaron utilizando métodos protocolizados que tienen como base Standard métodos for the examination of water and wastewater edition 21th, 2005 (12), AENOR (1997) (13) y Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en agua (14). La turbidez se midió con el turbidímetro HACH 2100N y el pH con un WTW inoLabLevel.

Procesamiento estadístico

La evaluación de la fitotoxicidad en el bioensayo se realizó en base a la medición de la elongación de la raíz y al hipocotilo. El agua investigada (muestra) se comparó con el control negativo que utilizó agua ¨Milli-Q¨ restituida, estimando de esta forma el por ciento de inhibición (PI), para ello se empleó la siguiente ecuación:

$$PI = (\text{muestra} - \text{control}/\text{control}) \times 100$$

Los valores positivos y negativos del por ciento de inhibición (PI) indican crecimientos anormales y son interpretados como criterio de toxicidad para la muestra evaluada, por otra parte los valores de cero o próximo a este se consideran no tóxicos (8).

El procesamiento estadístico se realizó en Microsoft Excel 2013 versión 15.0.4420.1017. El análisis de correlación (tablas 1 y 2) se realizó comparando los valores de las lecturas de parámetros fisicoquímicos con respecto al efecto fitotóxico sobre L. sativa (elongación de raíz e hipocotilo).

La carta control anexo I (tabla 3 y grafico1) se conforma con los valores la DI_{50}. Cada dosis se obtiene por experimentos independientes de dosis-efecto inhibitorio y aplicando el método de Lietfield y Wilcoxon (6). A los 12 valores DI_{50} obtenidos en los controles periódicos con el biomarcador (semilla de L. sativa) se le determinó el promedio, la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación (CV), así como los puntos de máximo y mínimo de aceptación para certificar la calidad de la semilla (±2δ).

Resultados y discusión

Las tendencias en la reutilización de aguas residuales se dirigen en tres líneas de actuación según tipo de uso, seguridad y tecnología. Estas tres líneas de actuación están relacionadas entre sí, pues la tecnología a utilizar depende del tipo de uso del agua regenerada, y de los criterios de calidad físico- químico y sanitario que requiera cada aplicación (15).

Con respecto a la seguridad en el uso de las aguas residuales una vez regeneradas se dispone de una gran variedad de guías sanitarias para los diferentes usos ya establecidos. Sin embargo, no existe uniformidad de criterios y cada país o estado propone una norma para un uso concreto que en muchas ocasiones difiere de la de otro país para el mismo uso. Las tendencias en este campo van encaminadas al establecimiento de una guía unificada, basada en criterios de análisis de riesgo real en los usos convencionales de este tipo de recurso hídrico (15).

Como aspecto a señalar en el estudio está el hecho que la germinación de las semillas no sufrió afectaciones y se comportó semejante al grupo control. Los resultados de afectación fitotóxica se manifestaron sobre la radícula y el hipocotilo donde las lecturas de elongación resultaron inhibitoria para todas las muestras (tablas 1,2). Lo anterior indica que los efectos tóxicos de las aguas residuales sobre las semillas no fueron drásticos y se clasifican como subclínicos. Los resultados de los estudios físico-químicos (DQOt, DQOs, pH, COT, conductividad, turbidez, proteínas y polisacáridos) como indicadores de la calidad y su correlación con el parámetro de efecto fitotóxicos de las diferentes muestras se expresan en la tabla 1. Las lecturas para la elongación de la raíz y el hipocotilo en dicha tabla resultaron inhibitorias al ser comparadas con el control negativo, además se establece un coeficiente de correlación aceptable para ambos órganos de la plántula (radícula-hipocotilo), siendo el porciento de inhibición más marcado para la raíz. En dicha tabla se aprecia por una parte la correlación existente entre los parámetros pH, conductividad, TOC y DQO (S) con la fitotoxicidad expresada como inhibición de la elongación de la radícula. Por otra parte para el hipocotilo los resultados en cuanto a las correlaciones existentes entre parámetros

fisicoquímicos y de fitotoxicidad difieren con el resultado obtenido para la raíz, pues la correspondencia se establece para DQO_S, DQO_t y pH. De los resultados expuestos anteriormente cabe destacar que la DQO_S y pH mostraron correlación con la inhibición de la elongación de la raíz y el hipocotilo.

La tabla 2 muestra los coeficientes de correlación entre la concentración de los iones Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{2+}, Mg Mg^{2+} y F con los por cientos de inhibición de la elongación de la raíz y del hipocotilo

Tabla 1: Coeficiente de correlación entre parámetros físico-químicos y por ciento de inhibición (PI) de elongación de la raíz y del hipocotilo. Así como coeficiente de correlación del PI entre raíz e hipocotilo.

muestra	DQOt mg/L	DQO_s mg/L	pH	COT mg/L	Cond. µS/cm	Turb. unt	Prot. mg/l	Polis. mg/L	Raíz PI	Hipoc. PI
RBLA[a]	65	64	7.76	10.87	1419	3.13	2.65	3.7	46.6	30.23
FA[b]	25	29	7.83	10.59	1442	2.38	2.00	3.11	34.9	12.19
FC[c]	38	29	7.56	11.65	1731	3.66	2.92	8.46	26.3	5
DER[d]	40	30	7.24	9.24	557	2.29	2.51	2.99	3.9	0.5
r/raíz-hipoc.									0.87	
r/raíz	0.40	0.65	0.93	0.70	0.76	0.44	-0.04	0.09	–	
r/hipoc.	0.71	0.92	0.71	0.34	0.39	0.22	0.38	0.25	–	

a. Reactor biológico de lodos activados
b. Filtro de arena
c. Filtración en cartucho
d. Desalinización por electrodiálisis reversible
PI. Por ciento de inhibición de la elongación
r. Coeficiente de correlación

Tabla 2: Coeficiente de correlación entre parámetros físico-químicos (cationes y aniones), así como por ciento de inhibición (PI) de elongación de la raíz y del hipocotilo. Así como coeficiente de correlación del PI entre raíz e hipocotilo.

muestra	Na^+ mg/l	K^+ mg/l	Ca^{2+} mg/l	Mg^{2+} mg/l	B^{-} mg/l	F^- mg/l	Cl^- mg/l	Raíz PI	Hipocotilo PI
RBLA[a]	259	24.3	13.8	18.5	0.2	0.3	301	46.6	30.23
FA[b]	259	24.5	13.7	18.5	0.2	0.3	302	34.9	12.19
C[c]	257	24.1	13.6	18.1	0.23	0.3	336	33.9	11.8
FC[d]	273	25.5	14.9	19.8	0.2	0.2	308	28.3	5
r/raíz-hipoc								0.85	
r/raíz	0.88	0.88	0.87	0.86	0.13	0.7	0.88	–	
r/hipoc.	0.5	0.52	0.52	0.53	-0.01	0.56	0.51	–	

a. Reactor biológico de lodos activados
b. Filtro de arena
c. Cloración
d. Filtración en cartucho
e. Desalinización por electrodiálisis reversible
PI. Por ciento de inhibición de la elongación
r. Coeficiente de correlación

respectivamente. Los coeficientes de correlación de los iones Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{2+},

Mg^{2+} y F^- con respecto a la elongación de la raíz fueron aceptables. Para el hipocotilo no se obtuvieron coeficientes de correlación que indique interdependencia marcada entre la concentración de estos iones con el efecto de fitotoxicidad.

El análisis de los resultados en las tablas 1 y 2 indican que la raíz de la planta *L. sativa* resultó ser un biomarcador más sensibles al efecto fitotóxico que el hipocotilo tomando como referencia el porciento de inhibicion.

En lo referente al proceso tecnológico la desalinización por electrodiálisis reversible resultó ser la que genero el agua que no mostró efecto fitotóxico. Esto debido a la reduccion la mayoría de los parámetros fisicoquímicos evaluados (Tablas 1,2)

Los parámetros fisicoquímicos se han encontrado usualmente en los estándares. Estos generalmente contemplan las medidas de turbidez, pH, conductividad, sólidos en suspensión,

DBO y DQO y nutrientes. Puesto que estos estándares se han definido siempre en función de los criterios sanitarios y no agroquímico han sido cuestionados en lo referente al alcance (16).

Actualmente existe un interés creciente por los "contaminantes emergentes", entre los que se encuentran surfactantes, productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, aditivos de las gasolinas, retardantes de fuego, antisépticos, aditivos industriales, esteroides y hormonas y subproductos de la desinfección del agua. Estos contaminantes presentes en las aguas reutilizadas pudieran ser regulados para el riego agrícola sobre la base de un riesgo potencial (17).

Conclusiones

Los estudios realizados se han orientado a la obtención de resultados que permitan relacionar parámetros físico-químicos y de fitotoxicidad (*L. sativa*) en función de aportar criterios ecotoxicológicos con relación a las aguas residuales depuradas/regeneradas con la finalidad de ser usada en el riego agrícola. Estas herramientas combinadas aportarían criterios de orientación en cuanto a la eficacia del proceso tecnológico en lo concerniente a la fitotoxicidad del producto agua. Como aspectos a destacar del estudio está en primer orden el hecho de que la radícula del biomarcador *L. sativa* resultó el órgano más sensible a los efectos fitotóxicos subletales agudos al compararse con el hipocotilo. Por otra parte la eficacia del proceso tecnológico quedó demostrada al reducirse el efecto fitotóxico de las muestras de aguas generadas en las diferentes etapas del proceso tecnológico del EDAR. En lo referente a la correlación estadística de interdependencia de las concentraciones de los pámetros fisicoquímicos de las muestras de agua con la fitotoxicidad, se expresa correlación positiva para el órgano raíz de los parámetros PH, conductividad, TOC, $DQO_{(s)}$, así como los iones Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{2+}, Mg^{2+} y F^- . Por otra parte el hipocotilo mostró correlación para los parámetros fisicoquímicos $DQO_{(t)}$, $DQO_{(s)}$ y pH, para el caso de los iones no se establecieron correlaciones destacables.

Incorporar bioensayos de fitotoxicidad en la evaluación de muestras de agua destinadas al riego agrícola sería una herramienta útil para caracterizar las mismas, en función de perfeccionar el proceso tecnológico y proteger el ecosistema donde se apliquen.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo financiero del Programa PCI de la AECI (Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo) y el proyecto CONVAGUA de Canarias por la Agencia ACIISI patrocinado por la Comisión Europea y el Gobierno de Canarias Regional. También quieren expresar su agradecimiento a GE Zenon, BALTEN, EMMASA y CANARAGUA por su colaboración.

Abreviaturas y nomenclatura

Cond. Conductividad
r. Coeficiente de correlación
DQO_{total} Demanda química de oxígeno total
DQO_s demanda química de oxígeno soluble (después de filtrada la muestra)
PI. Por ciento de inhibición de crecimiento de raíz o hipocotilo de *L. sativa*
EDAR. Estación depuradora de aguas residuales
TCO. Total de compuestas orgánicos
Turb. Turbidéz

Bibliografía

1. Fochtman P, Razaska A, Nierzedska E. The use of conventional bioassays microbiotets y some ¨raped¨ methods in the selection of an optimal test battery for the assessment of pesticides toxicity. Environm Toxicol 2000; (15):376-384
2. Peña-Alvarez A, Castillo-Alanis A. Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuals por microextraccion en fase solida-cromatografica de gases-espectrometría de masas (MEFS-GC-EM). OIIP revista especializada de ciencias químico-biologicas, 2015. 18(I):29-42
3. Gusttavson KE, Sonsthagen SA, Crunkilton RA, Harkin JM, Groundwater toxicity assessment using bioassay, chemical, and toxicity identification evaluation analysis. Environm Toxicol 2000; (15): 421-430
4. Lallana, MC, Billard CE. Bioensayo de germinación de *Lactuca sativa* (L): determinaciónde calidad de agua en represas para riego. Rev., FCAUNC XL. No 1 2008. 29-38
5. Ramirez-Romero P, Mendoza-Cantu A. Ensayos ecotoxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Instituto nacional de ecología. 1ra ed. México.2008. 55-67p. ISBN:978-968-817-882-9
6. Castillo-Morales G. Ensayos toxicológicos y métodos de validacion de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicación. Grabila Castillo/ed. 1ra edición. Centro internacional de investigacione para el desarrollo. Canadá. 2004. 186
7. Reynaldo IM, Jerez E, Torres J. Fitotoxicidad del aluminio en plántulas de arroz de la variedad LP-7. Contribución a la educación y protección ambiental. Cátedra de Medio Ambiente 2000;(1):89-93
8. Torres-Rodríguez MT, Garcia Milián M, Hernandez Perera NM, Fernandez Novo, M. Toxicidad aguda de lixiviados acuosos mediante un ensayo con *Lactuca sativa* L. Hig. Sanid. Ambient. 2006. 6: p 170-172
9. Bohorquez-Echeverry P, Campos-Pinilla C. Evaluación de *Lactuca sativa y Selenastrum capricornutum* como indicador de toxicidad aguda. Universidad Scientiarum, 2007: 12 (2)2 julio-diciembre. p 83-98
10. EPA OPPTS. Ecological effects test guidelines-Seed/germination/root elongation toxicity test, 850-4200.1996
11. US EPA Protocols for short-term toxicity testing of organic and inorganic pollution, Environmental protection Agency, 600/3 88/029, Corvallis. 1989.
12. APHA-AWWA-WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21th edition. (New York; Washington DC) (2005).
13. AENOR. Calidad de agua. Medio ambiente, Tomo I. Recopilacion de normas UNG. Madrid. 1997. p 175-189
14. Severiche-Sierra CA, Castillo-Bertel ME, Acevedo-Barrios RL. Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en agua. Editor Fund. Univ. Andaluza. 2013.
15. Lazarova, V. and Bahri, K., CRC. Water reuse for irrigation Agriculture, Landscapes, and Turf Grass. CRC press, United States of America, 2005.
16. Solgat M, Folch M. Reutilización de aguas residuales. En Damia Barceló (Coord.) Aguas continentales. Gestión de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua (pp 175-196). Ed. Cyan, Proyectos y Producción Editoriales. SA. Madrid. 2008.
17. López de Alda MJ, Barceló D. Contaminantes orgánicos emergentes en aguas continentales y aspectos relacionados con el marco normativoy planificación hidrográfica en España. En Damia Barceló (Coord.) Aguas continentales. Gestión de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua (pp 91-117). Ed. Cyan, Proyectos y Producción Editoriales. SA. Madrid. 2008.

Anexo I

Tabla 3: Carta control *Lactuca sativa*

Tóxico de referencia: Zn II	
Bioensayo número	CL50 ppm
1	88
2	100
3	92
4	95
5	89
6	84
7	79
8	94
9	86
10	88
11	100
12	70
Promedio	88.75
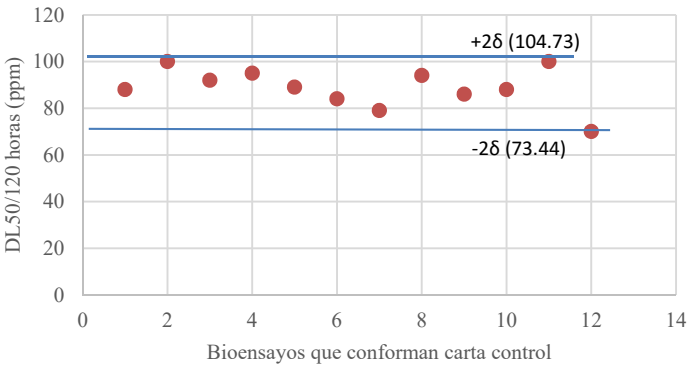
Grafico 1. Cata control para L. sativa
Zn(II) sulfato monohidratado como tóxico de referencia