



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

Centro de Ciencias Básicas

Departamento de Química

Efectos agudos y crónicos de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y dióxido de titanio (TiO₂), en una batería de organismos zooplanctónicos de los estados de Aguascalientes y Quintana Roo.

Tesis que presenta:

M. C. Miguel Hernández Pedraza

Para optar por el grado de:

**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
EN EL ÁREA DE TOXICOLOGÍA ACUÁTICA**

Tutores:

Dr. Roberto Rico Martínez

Dr. Jesús Alvarado Flores

Asesor:

Dr. Marcelo Silva Briano

Aguascalientes, Ags. a 08 de noviembre de 2024.

CARTA DE VOTO APROBATORIO
INDIVIDUAL

M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como *TUTOR* designado del estudiante *M. en C. MIGUEL HERNÁNDEZ PEDRAZA* con ID 42347 quien realizó la tesis titulada: *EFFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZNO) Y DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂), EN UNA BATERÍA DE ORGANISMOS ZOOPLANCTÓNICOS DE LOS ESTADOS DE AGUASCALIENTES Y QUINTANA ROO*. Un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a imprimirlo, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito|enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a día 2 de diciembre del 2024.



Tutor de tesis
Dr. Roberto Rico Martínez

c.c.p. - Interesado
c.c.p. - Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEP-00-07
Actualización: 01
Emisión: 17/05/19



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES,
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



**CARTA DE VOTO APROBATORIO
INDIVIDUAL**

M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS

P R E S E N T E

Por medio del presente como COTUTOR designado del estudiante **MIGUEL HERNÁNDEZ PEDRAZA** con ID 42347 quien realizó **LA TESIS** titulada: **EFFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO) Y DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂), EN UNA BATERÍA DE ORGANISMOS ZOOPLANCTÓNICOS DE LOS ESTADOS DE AGUASCALIENTES Y QUINTANA ROO**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que **EL** pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Aguascalientes, Ags., a 08 día de noviembre de 2024.

Jesús Alvarado Flores
Investigador por México CONAHCYT
Co-Tutor de tesis



CARTA DE VOTO APROBATORIO

M en C. Jorge Martín Alférez Chávez
Decano Del Centro de Ciencias Básicas
PRESENTE

Por medio del presente como **TUTOR** designado del estudiante M en C. Miguel Hernández Pedraza quien realizó su trabajo de tesis "Efectos agudos y crónicos de nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) y dióxido de titanio (TiO₂) en una batería de organismos zooplanctónicos de los estados de Aguascalientes y Quintana Roo". un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a los trámites, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a día 19 de Noviembre de 2024.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jorge Martín Alférez Chávez'.



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aaaa: 26/11/2024

NOMBRE: MIGUEL HERNÁNDEZ PEDRAZA ID: 42347

PROGRAMA: DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS LGAC (del posgrado): TOXICOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA AMBIENTAL

TIPO DE TRABAJO: (x) Tesis () Trabajo Práctico
EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO) Y DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂), EN UNA BATERÍA DE ORGANISMOS

TÍTULO: ZOOPLÁNTONICOS DE LOS ESTADOS DE AGUASCALIENTES Y QUINTANA ROO.

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): El estudio sobre los efectos agudos y crónicos de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y dióxido de titanio (TiO₂) en organismos zooplanctónicos de Aguascalientes y Quintana Roo tiene un impacto social sustancial, abordando áreas fundamentales como la salud pública, la regulación ambiental, la concientización social, y la investigación científica e innovación. Este proyecto responde a una problemática prioritaria identificada en los Programas Nacionales Estratégicos bajo el tema de Agentes Tóxicos y Procesos Contaminantes.

INDICAR	SI	NO	N.A.	(NO APLICA)	SEGÚN	CORRESPONDA:
Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:						
SI						El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
SI						La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
SI						Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
SI						Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
SI						Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
SI						El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
SI						Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
NO						Generó transferencia del conocimiento o tecnológica
SI						Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio)
El egresado cumple con lo siguiente:						
SI						Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
SI						Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
SI						Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
N.A.						Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
SI						Coincide con el título y objetivo registrado
SI						Tiene congruencia con cuerpos académicos
SI						Tiene el CVU del Conacyt actualizado
SI						Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)
En caso de Tesis por artículos científicos publicados						
						Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
						El estudiante es el primer autor
						El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
						En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
						Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
						La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado:

SI X

No

Elaboró:

FIRMAS

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

Dr. Edgar Eduardo Hernández Cuéllar

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

Dr. Gilberto Alejandro Ocampo Acosta

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, si no es el Decano

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

Dr. Alejandro Padilla Díaz

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

Elaborado por: D. Apoyo al Posg.

Revisado por: D. Control Escolar/D. Gestión de Calidad.

Aprobado por: D. Control Escolar/ D. Apoyo al Posg.

Código: DO-SEE-FO-15
Actualización: 01
Emisión: 28/04/20



Science and Education Publishing

From Scientific Research to Knowledge

Acceptance Notification

Dear Roberto Rico-Martínez,

Congratulations! It is our great pleasure to inform you that your paper

Paper ID:	8000400300
Title:	The elemental composition of valves and appendages in seven ostracod strains from the northeastern Yucatan Peninsula, Mexico: baseline.

has been accepted for publication.

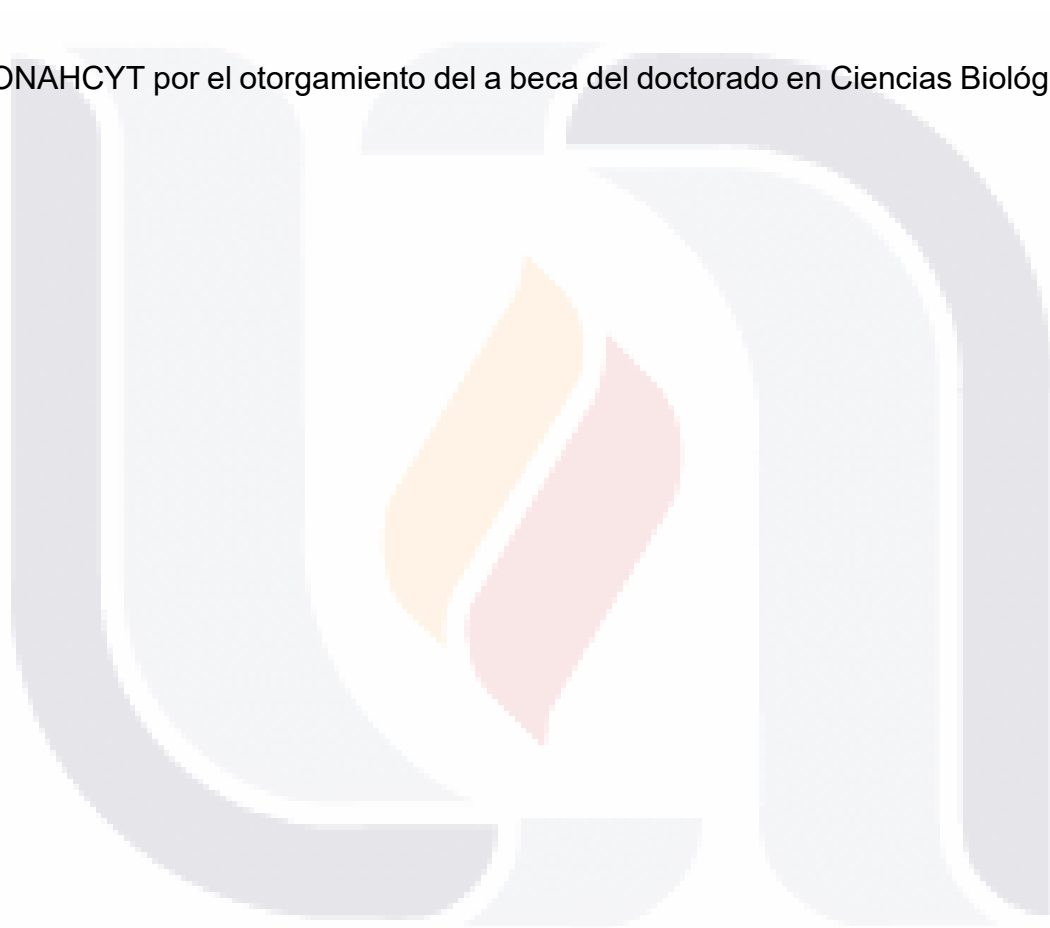
Your paper will be published in the American Journal of Environmental Protection (*Vol. 12, No. 2, 2024*)



AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera muy atenta a las personas que de manera directa o indirecta me han apoyado en este proceso de aprendizaje; estaré eternamente agradecido con mis tutores Dr. Roberto Rico Martínez, Dr. Jesús Alvarado Flores, y asesor Marcelo Silva Briano, a mi familia y a mi pareja Cintia Libertad, por todo el apoyo incondicional.

A CONAHCYT por el otorgamiento del a beca del doctorado en Ciencias Biológicas.



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Marco teórico	3
1.1.1 Nanopartículas	3
1.1.2 Características físicas y químicas del dióxido de titanio (TiO ₂)	4
1.1.3 Uso y aplicaciones de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO ₂)	5
1.1.4 Toxicidad del dióxido de titanio (TiO ₂)	6
1.1.5 Características físicas y químicas del óxido de zinc (ZnO)	7
1.1.6 Uso y aplicaciones de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO)	8
1.1.7 Toxicidad del óxido de zinc (ZnO)	9
1.2 Antecedentes	10
1.3 Planteamiento del problema	15
2. JUSTIFICACIÓN	16
2.1 Preguntas de investigación	17
3. HIPÓTESIS	17
4. OBJETIVOS	17
4.1 Objetivo General	17
4.2 Objetivos Específicos	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1 Trabajo en campo	18
5.1.1 Colecta de zooplancton en Aguascalientes y Quintana Roo	18
5.2 Trabajo en laboratorio	18
5.2.1 Identificación de las especies de zooplancton de las dos zonas de estudio (Aguascalientes y Quintana Roo)	18
5.2.2 Aislamiento y establecimiento de cultivos monoclonales en zooplancton de Aguascalientes y Quintana Roo	19
5.2.3 Cultivo de algas	19
5.2.4 Caracterización de las nanopartículas mediante microscopia electrónica de barrido, y EDS	21
5.2.5 Generación de histogramas de tamaño	21
5.2.6 Determinación del diámetro hidrodinámico	22
5.2.7 Pruebas de toxicidad aguda en zooplancton	23
5.2.7.1 Rango exploratorio	23
5.2.7.2 Preparación del stock	24
5.2.7.3 Prueba de toxicidad aguda	24
5.2.8 Pruebas de toxicidad crónica	25
5.2.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM) y rayos X, para la detección de nanopartículas en estructuras externas e internas	26
5.2.9.1 Procedimiento para realizar técnica de barrido	26

5.2.9.2 Procedimiento para la detección de nanopartículas en estructuras externas e internas usando microscopia electrónica de barrido y rayos X.....	27
5.3 Análisis de gabinete.....	27
5.4 Análisis estadístico.....	28
6. RESULTADOS	28
6.1 Identificación de las especies selectas de zooplancton y estandarización de los cultivos.....	28
6.2 Caracterización de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO ₂) y de óxido de zinc (ZnO).....	31
6.3 Caracterización de las nanopartículas mediante el uso de EDS.....	33
6.4 Diámetro hidrodinámico de las muestras	35
6.5. Toxicidad aguda en el zooplancton con especies de Aguascalientes	366
6.5.1 Toxicidad crónica en el zooplancton con especies de Aguascalientes.....	38
6.6. Toxicidad aguda en el zooplancton con especies de Cancún, Quintanan Roo.....	50
6.6.1 Toxicidad crónica en el zooplancton con especies de Cancún, Quintana Roo.....	51
6.7 Análisis de microelementos en la batería de especies expuestos a las nanopartículas, utilizando microscopía electrónica de barrido y rayos X.....	60
7. DISCUSIÓN.....	666
8. CONCLUSIONES.....	711
9. REFERENCIAS	733

ÍNDICE DE CUADROS

Nombre	Página
Cuadro 1. Macronutrientes requeridos para el Medio mineral estándar (BBM).....	20
Cuadro 2. Solución stock de metales traza para elaborar 500 ml de medio mineral estándar.....	20
Cuadro 3. Requerimiento de sales para el medio reconstituido (EPA, 1996), para el cultivo de los rotíferos, cladóceros y ostrácodos de agua dulce.....	21
Cuadro 4. Descripción de las muestras utilizadas para la determinación del diámetro hidrodinámico.....	23

Cuadro 5. Especificaciones y controles de calidad para realizar las pruebas toxicológicas en zooplancton y el número de organismos a utilizar por repetición y total.....	25
Cuadro 6. Caracterización fisicoquímica del agua desionizada, medio reconstituido, y stock de nanopartículas a 100 mg/L, con sus respectivos promedios y desviación estándar.....	29
Cuadro 7. Composición elemental de las nanopartículas.....	31
Cuadro 8. Cuantificación de las nanopartículas por EDS en porcentaje elemental.....	33
Cuadro 9. Diámetro hidrodinámico (D. H.), en medio reconstituido, mediante dispersión de luz dinámica (DLS) con un equipo Zetasizer NanoDynamic Light Scattering (DLS). Desviación estándar (D. E.).....	35
Cuadro 10. Valores de toxicidad aguda en especies de Aguascalientes con las concentraciones letales 50 y 10 de dióxido de titanio (TiO ₂) y óxido de zinc (ZnO) con <i>B. angularis</i> , <i>C. sphaericus</i> y <i>C. vidua</i> , con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.....	37
Cuadro 11. Los valores de toxicidad crónica en la especie <i>B. angularis</i> de Aguascalientes, con la concentración efectiva 50 (CE ₅₀), con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.....	38
Cuadro 12. Valores de toxicidad crónica en la especie <i>C. sphaericus</i> de Aguascalientes, con la concentración efectiva 50 (CE ₅₀), con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y	

mayor	al	95
%.....		42
Cuadro 13. Valores de toxicidad crónica en la especie <i>C. cf. vidua</i> de Aguascalientes, con la concentración efectiva 50 (CE ₅₀), con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.....		46
Cuadro 14. Valores de toxicidad aguda en las especies de <i>L. cornuta</i> y <i>C. cf. vidua</i> Quintana Roo con las concentraciones letales 50 y 10 de dióxido de titanio (TiO ₂) y óxido de zinc (ZnO) con <i>L. cornuta</i> con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.....		51
Cuadro 15. Valores de toxicidad crónica en la especie <i>L. cornuta</i> de Cancún, Quintana Roo, con la concentración efectiva 50 (CE ₅₀), con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.....		52
Cuadro 16. Valores de toxicidad crónica en la especie <i>C. cf. vidua</i> de Quintana Roo con la concentración efectiva 50 (CE ₅₀), con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.....		57
Cuadro 17. Tabla de detección de nanopartículas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y rayos X (EDS) en especies de Aguascalientes (Controles).....		61

Cuadro 18. Tabla de detección de nanopartículas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) y rayos X (EDS) en exposición aguda.....	61
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Título	Página
Figura 1. Imagen conceptual de Kebede & Imae (2019)	4
Figura 2. Imagen izquierda: Modelo conceptual de la estructura cristalina tetragonal del rutilo (ICSD: No-9161) derecha, estructura cristalina octaédrica de la anatasa ICSD 202242.....	5
Figura 3. Estructura hexagonal cristalina de ZnO.....	8
Figura 4. Esquema de las pruebas de toxicidad aguda con sus réplicas, y controles y el respectivo stock a 100/L.....	24
Figura 5. Batería de especies de Aguascalientes y Quintana Roo. Fuente: fotografías propias a), b), c); fotografía d) de Alvarado-Flores.....	29
Figura 6. Fotografías de barrido (MEB) de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO ₂) y de óxido de zinc (ZnO). a) Anatasa a 4000x, b) Anatasa-rutilo 750X, c) Óxido de zinc a 18 000 X.....	31
Figura 7. Gráfico de la caracterización de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO ₂), a) Distribución del tamaño de partícula (nm), b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de TiO ₂ (Anatasa) a 4000X.....	32
Figura 8. Gráfico de la caracterización de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO ₂); a) Distribución del tamaño de partícula (nm); b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de TiO ₂ (Rutilo-anatasa) a 750X..	32
Figura 9. Gráfico de la caracterización de nanopartículas de ZnO; a) Distribución del tamaño de partícula (nm); b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de ZnO (Óxido de zinc) a 18000X.....	33
Figura 10. Análisis elemental con gráfico espectral mediante EDS de anatasa, con su zona de barrido laser (excitación de electrones).....	34

Figura 11. Análisis elemental con gráfico espectral mediante EDS de anatasa-rutilo, con su zona de barrido laser (excitación de electrones).....	34
Figura 12. Análisis elemental con gráfico espectral mediante EDS de óxido de zinc, con su zona de barrido laser (excitación de electrones).....	35
Figura 13. Se muestran los gráficos de distribución del diámetro hidrodinámico (D. H.) de las nanopartículas, cada línea de color representa una réplica a) Anatasa, (TiO ₂), b) Anatasa-Rutilo, (TiO ₂), c) Rutilo, (TiO ₂), d) óxido de zinc (ZnO).....	36
Figura 14. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (anatasa), en la tasa de crecimiento de <i>B. angularis</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ células/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	39
Figura 15. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>B. angularis</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ cel/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	40
Figura 16. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>B. angularis</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ cel/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial del 5 org/ml. En una prueba de 2 ml.....	41
Figura 17. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de ZnO (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de <i>B. angularis</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ cel/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	42
Figura 18. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (anatasa), en la tasa de crecimiento de <i>C. sphaericus</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ cel/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una	

densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	43
Figura 19. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>C. sphaericus</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ cel/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	44
Figura 20. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>C. sphaericus</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ células/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	45
Figura 21. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de ZnO (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de <i>C. sphaericus</i> en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10 ⁶ cel/ml de <i>Chlorella vulgaris</i> , a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos /ml. En una prueba de 2 ml.....	46
Figura 22. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (anatasa), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm ² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	47
Figura 23. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm ² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml	48
Figura 24. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO ₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm ² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.....	49

Figura 25. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO_2 (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos /ml. En una prueba de 2 ml.....	50
Figura 26. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (anatasa), en la tasa de crecimiento de <i>L. cornuta</i> a un tiempo de 5 días y alimentados con <i>Chlorella vulgaris</i> , con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos /ml, en una prueba de 2 ml.....	53
Figura 27. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>L. cornuta</i> a un tiempo de 5 días y alimentados con <i>Chlorella vulgaris</i> , con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.....	54
Figura 28. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>L. cornuta</i> en un tiempo de 5 días y alimentados con <i>Chlorella vulgaris</i> , con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos/ml en una prueba de 2 ml.....	55
Figura 29. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de <i>L. cornuta</i> a un tiempo de 5 días y alimentados con <i>Chlorella vulgaris</i> , con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.....	56
Figura 30. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (anatasa), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.....	57
Figura 31. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con	

una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.....	58
Figura 32. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (Rutilo), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.....	59
Figura 33. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de <i>C. cf. vidua</i> en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.....	60
Figura 34. Se observan las fotografías de MEB y EDS-X, de las especies utilizadas (estructuras internas y externas), y espectro de composición elemental, sin embargo, no se detectó la presencia de zinc, posibles concentraciones no detectables.....	62
Figura 35. Fotografías del ostrácodo: <i>C. cf. vidua</i> : control (organismo no expuesto) con presencia de calcio como elemento más abundante en estructuras internas y externas.....	62
Figura 36. Fotografías del cladócero: <i>C. cf. vidua</i> : organismo expuesto, y detención de titanio (anatasa-rutilo) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.....	63
Figura 37. Fotografías del cladócero: <i>C. sphaericus</i> : control (organismo no expuesto) con presencia de carbono como uno de los elementos más abundante en estructuras internas y externas.....	63
Figura 38. Fotografías del cladócero: <i>C. sphaericus</i> : organismo expuesto, y detención de titanio (anatasa) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.....	64
Figura 39. Fotografías del cladócero: <i>C. sphaericus</i> : organismo expuesto, y detención de titanio (rutilo) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.....	64

Figura 40. Fotografías del cladócero: <i>C. sphaericus</i> : organismo expuesto, y detención de titanio (anatasa-rutilo) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.....	65
Figura 41. Porcentajes de la composición elemental del ostrácodo <i>C. cf. vidua</i> . Controles (organismos no expuestos) frente a organismos expuestos a NPTD: anatasa (A), anatasa-rutilo (A-R), rutilo(R) y NPZO. Control N = 10; NPTD (A) = 9; NPTD (R) = 11; NPTD (A-R): 13; NPZO = 11. * significa que sólo se encontró un valor para ese elemento.....	65
Figura 42. Porcentajes de la composición elemental del ostrácodo <i>C. sphaericus</i> . Controles (organismos no expuestos) frente a organismos expuestos a NPTD: anatasa (A), anatasa-rutilo (A-R), rutilo(R) y NPZO. Control N = 11; NPTD (A) = 11; NPTD (R) = 11; NPTD (A-R): 12; NPZO = 12.....	66

Resumen

Las nanopartículas (son partículas que va de un tamaño entre 1 y 100 nm) hoy en día son utilizadas en diversas aplicaciones, científicas, electrónicas, en medicina, cosméticos y debido a sus propiedades físicas y químicas, como su tamaño, el color, la transparencia, la solubilidad, y su síntesis, son ahora ampliamente usadas en cosméticos, medicinas, agroquímicos, y otras aplicaciones como electrónica y la industria alimenticia. Estudios actuales, han demostrado la presencia y toxicidad de nanopartículas en ambientes acuáticos y terrestres, sin embargo; han sido escasos, aunque existen reglamentos regulatorios sobre el uso de nanopartículas como el del Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias Químicas (REACH) de la Unión Europea. Existe la evidencia de que las nanopartículas son tóxicas por su tamaño, composición química, estructura superficial, solubilidad, forma y agregación. Dos nanopartículas muy usadas son el dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO) como componente en varios productos usados cotidianamente por el ser humano en todo el mundo, por ejemplo; talcos, pastas de dientes, bloqueadores solares, cremas tópicas, desodorantes, y jabones. Todos los

productos químicos con nanopartículas usados por el ser humano llegan a los ecosistemas acuáticos, en toneladas cada año. Los sistemas de tratamiento de agua residual no son capaces de removerlos. Por lo tanto, existe un riesgo alto de efectos adversos en las poblaciones y comunidades de microorganismo acuáticos, esenciales para la salud del medio ambiente. Por ello, es importante analizar su toxicidad en una batería de microorganismos para estudiar sus efectos agudos y crónicos, estimar y predecir el riesgo al medio ambiente, porque son pocos los estudios que han evaluado los efectos ecotoxicológicos y el riesgo ambiental de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y del óxido de zinc (ZnO) con un enfoque integral, es decir usando diferentes niveles tróficos, y usando especies autóctonas con distribución dentro de la región de estudio.

Abstract

Nanoparticles (ranging in size from 1 to 100 nm) are currently used in various applications, including scientific, electronic, medical, and cosmetic fields. Due to their unique physical and chemical properties—such as size, color, transparency, solubility, and synthesis—they are now widely employed in cosmetics, medicines, agrochemicals, and other industries such as electronics and food production. Recent studies have demonstrated the presence and toxicity of nanoparticles in aquatic and terrestrial environments. However, these studies remain limited, even though regulatory frameworks like the European Union's Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemicals (REACH) exist to govern nanoparticle use. Evidence shows that nanoparticles are toxic due to their size, chemical composition, surface structure, solubility, shape, and aggregation. Two widely used nanoparticles, titanium dioxide (TiO_2) and zinc oxide (ZnO), are components of various products commonly used by humans worldwide, such as talc, toothpaste, sunscreens, topical creams, deodorants, and soaps. All chemical products containing nanoparticles eventually reach aquatic ecosystems, releasing tons of these substances annually. Wastewater treatment systems are unable to remove them effectively, posing a significant risk of adverse effects on aquatic microbial populations and communities, which are essential for environmental health.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Therefore, it is crucial to analyze their toxicity using a range of microorganisms to study both acute and chronic effects, estimate and predict environmental risks, and address the lack of comprehensive studies evaluating the ecotoxicological effects and environmental risks of titanium dioxide (TiO_2) and zinc oxide (ZnO) nanoparticles. This should involve an integrated approach that considers different trophic levels and utilizes native species distributed within the study region.



1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas (NP) de dióxido de titanio (TiO_2) y el óxido de zinc (ZnO), son componentes básicos de en una amplia variedad de productos industriales, y debido a sus propiedades únicas a escala nanométrica (1-100 nm), presentan amplios usos y beneficios en comparación a los materiales a granel o productos de molienda fina; existe una amplia y potencial variedad de aplicaciones, se utilizan en cosméticos, alimentos, dispositivos médicos, pinturas y protectores solares, como protectores solares, cosméticos, pinturas y recubrimientos superficiales (Fisher & Egerton, 2001; Kaida *et al.*, 2004), se usan en los procesos de descontaminación del suelo y del agua (Esterkin *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2006), en áreas biomédica, campos ópticos y electrónicos; muchas de sus aplicaciones derivan del aumento en la relación entre el área superficial, el volumen, sus dimensiones por debajo de la longitud de onda de la luz, estas propiedades los hace transparentes, con aplicaciones en el envasado, cosméticos y revestimientos con excelente rendimiento de administración vía oral, vías de inyección o dérmicas; presentando una mayor biodisponibilidad, un alto nivel de acción farmacológica; tiendo aplicaciones en control y entrega dirigida por ejemplo, para la terapia génica; las nanopartículas pueden estabilizarse para tener una larga vida útil, o ser ampliamente usados como portadores de fármacos con una alta estabilidad, y capacidad, así como, viabilidad de la incorporación por presentar propiedades hidrofílicas y/o hidrófobas, con mejora de la biodisponibilidad de fármacos y reducción de la frecuencia de dosificación (Shinde *et al.*, 2012).

Bundschuh *et al.* (2020) indica que el incremento en la producción de nanopartículas a lo largo de las últimas décadas está relacionado con las propiedades únicas que presentan como es el caso del tamaño de las partículas, el tamaño, área superficial, reactividad superficial, carga y forma; en relación con sus contrapartes a granel o disueltas; y su composición cristalina. Las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) son componentes en diversos productos y por tanto son de amplia producción a nivel mundial (Clément *et al.*, 2013), estas nanopartículas se usan ampliamente en numerosos productos de consumo, muchas de sus propiedades, pueden influir en su toxicidad y que está relacionado con la

concentración el tamaño de partícula inicial, además esto ha provocado la liberación inevitable en el medio ambiente, especialmente en sistemas acuáticos (Jankovic & Plata, 2019; Azimzada *et al.*, 2020).

La creciente producción y uso de nanomateriales ha suscitado preocupaciones significativas sobre su destino ambiental y los posibles efectos tóxicos en los organismos acuáticos, por lo que la preocupación sobre la cantidad de nanopartículas que están siendo descargados en los ecosistemas esta referenciado en diversas investigaciones (Chen & Mao, 2007; Gottschalk *et al.*, 2009), por sus usos en la producción industrial, metalúrgica, automotriz, textil, plástica, alimentaria, y ahora regida por nuevas tecnológicas y cuyo principio es la creación o manipulación de materiales que van de 1 a 100 nm (Clément *et al.*, 2013), por lo tanto, las nanopartículas forman parte de la gran cantidad de contaminantes presentes en los ecosistemas (metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), contaminantes orgánicos persistentes (COP), los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP) (Hinojosa-Guarro *et al.*, 2020). Las nanopartículas y sus compuestos asociados están biodisponibles, y presentan una alta toxicidad, pueden interferir en el sistema reproductivo, causar daños en el ADN, generando efectos crónicos tal es el caso de TiO_2 (Franklin *et al.*, 2007; Bayen, 2012; Djearamane *et al.*, 2016; Rohit *et al.*, 2018), en el caso del ZnO ha demostrado ser en bajas concentraciones altamente tóxico, causar efectos en la eclosión y viabilidad de nauplios en crustáceos como *Artemia* sp. (Shi *et al.*, 2016; Rohit *et al.*, 2018).

Las nanopartículas causan también efectos en la inhibición del crecimiento algas, por lo que la solubilidad y el tamaño juegan un papel importante en los efectos toxicológicos (Franklin *et al.*, 2007). La bioacumulación es un factor importante en el desplazamiento de estas nanopartículas en las redes tróficas y en las cadenas alimenticias, existe evidencia de la presencia en diversos grupos: peces, zooplancton y fitoplancton, lo que sugiere potenciales efectos a largo plazo en la salud de los ecosistemas acuáticos (Shi *et al.*, 2016). Aunado a que cada nanopartícula presenta un comportamiento individual, único de transporte y propiedades, relacionadas con el tamaño, y como se comentó anteriormente la

solubilidad y debido a este desarrollo tecnológico su presencia en el medio ambiente se incrementa y como resultado, también el riesgo de los posibles efectos adversos, en los sistemas naturales (Bundschuh *et al.*, 2020).

Aunque estas nanopartículas ofrecen amplios beneficios en diversas aplicaciones, su producción y uso extensivos aunado al desarrollo tecnológico ha elevado el riesgo de efectos adversos en los sistemas naturales (Bundschuh *et al.*, 2020). Las nanopartículas inertes pueden interactuar con la biota a través de vías físicas, como el revestimiento de superficies biológicas, interferir con el crecimiento y comportamiento de los organismos expuestos, y exacerbar los efectos de otros contaminantes en el medio ambiente e inertes que pueden interactuar con la biota a través de vías físicas como el revestimiento de superficies biológicas e interfiere con el crecimiento y el comportamiento de los organismos expuestos, así como con otros contaminantes en el medio ambiente, dado el potencial impacto de TiO_2 y ZnO en los ecosistemas acuáticos, es crucial investigar sus efectos agudos y crónicos en organismos clave. Este estudio tiene como objetivo llenar las lagunas existentes en la literatura científica, sobre sus efectos agudos y crónicos, proporcionando información esencial para la gestión y regulación de estos contaminantes emergentes.

1.1 Marco teórico

1.1.1 Nanopartículas

En sentido estricto para considerarse nanométrico, los nanomateriales, deben ser menores a 100 nm, categorizándose en tres sistemas: 1) sistemas unidimensionales (1D), 2) bidimensionales (2D) y 3) tridimensionales (3D) (Tan & Kotov, 2005), en la figura 1, se ejemplifica las 3 categorías, sin embargo pueden derivar de diversos materiales como cerámicos, metales, semiconductores, polímeros o bien una combinación de ellos, presentando propiedades fotónicas, electrónicas, magnéticas y catalíticas (Tan & Kotov, 2005), y presentar propiedades muy distintas a sus homólogos a granel y moleculares (Pratim & Chang-Yu, 2005), muchas de sus diversas características están relacionadas con sus propiedades, su tamaño, el área

y la reactividad superficial, la carga y forma (Pratim & Chang-Yu, 2005; Bundschuh *et al.*, 2020) (figura 1).

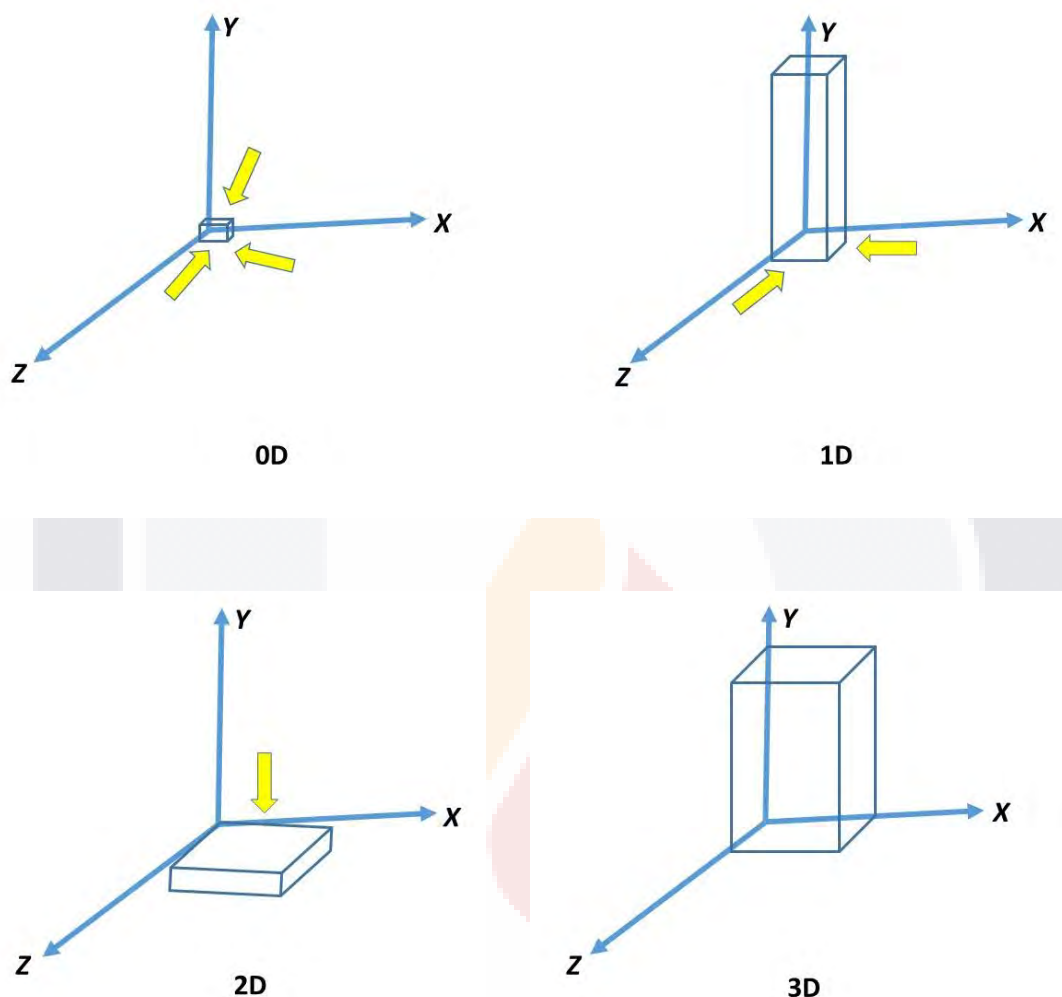


Figura 1. Imagen conceptual de Kebede & Imae (2019).

1.1.2 Características físicas y químicas del dióxido de titanio (TiO_2)

El dióxido de titanio (TiO_2) es un compuesto que se puede encontrar en la naturaleza en varias formas estructurales: como rutilo (estructura tetragonal), anatasa (estructura octahédrica) y brookita (estructura ortorómbica); en la figura 2 se observa la estructura molecular de dos de las principales estructuras del TiO_2 . El rutilo y anatasa se produce en grandes cantidades a nivel industrial. El dióxido de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

titanio (TiO_2) está clasificado por la agencia de Registro de Efectos Tóxicos de Sustancias Químicas con el número XR2775000, su registro o número CAS es # 13463-67-7. La principal presentación comercial del dióxido de titanio (TiO_2) es de un pigmento blanco.

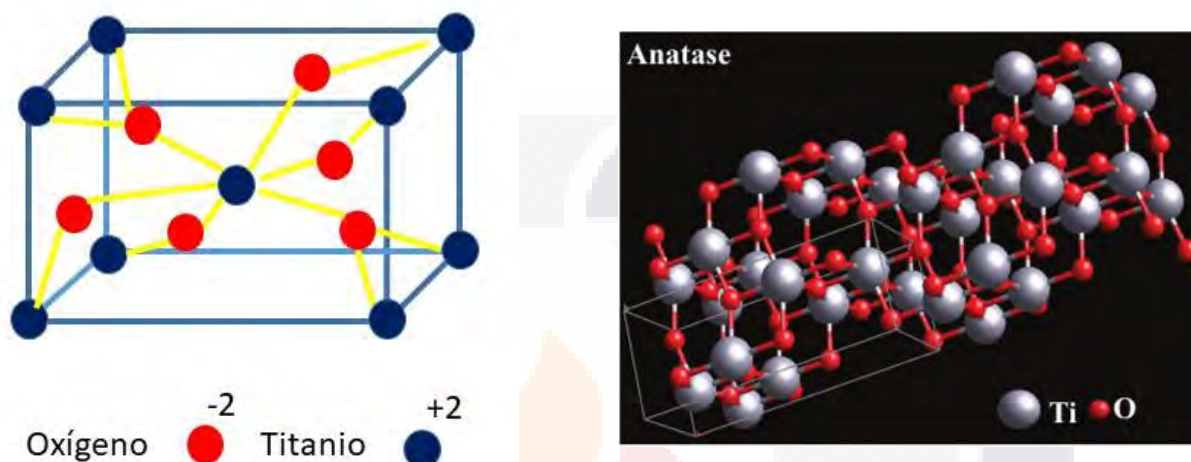


Figura 2. Imagen izquierda: Modelo conceptual de la estructura cristalina tetragonal del rutilo (ICSD: No-9161) derecha, estructura cristalina octaédrica de la anatasa ICSD 202242.

1.1.3 Uso y aplicaciones de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2)

Debido a su brillo y su alta refracción, aspectos conferidos por sus propiedades de dispersión y catalíticas, su estabilidad química, tienen un amplio uso en la producción de materiales cerámicos, para generar blancura u opacidad, en pinturas y tintas se utilizan en recubrimientos o revestimiento de superficies e integrar celdas solares, e integrar plásticos, papel, medicinas (píldoras y tabletas). (Fisher & Egerton, 2001; Kaida *et al.*, 2004, Esterkin *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2006), en el caso de la industria alimentaria se utiliza como colorante en proporciones no mayores al 1 %, en productos como caramelos, dulces, helados, chicles, cremas para cafés, ensaladas, lácteos; en la industria cosmética, se utiliza en jabones, cremas, protectores solares (Warheit *et al.*, 2007), en los procesos de descontaminación del suelo y del agua o tratamiento de agua (Esterkin *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2006).

1.1.4 Toxicidad del dióxido de titanio (TiO₂)

Algunos estudios con dióxido de titanio (TiO₂) demuestran que en la presencia de compuestos como el tetrahidrofurano (THF), generando un posible sinergismo o antagonismo, incrementando la toxicidad aguda en crustáceos como *Daphnia magna*. El TiO₂ presenta un CE₅₀ = 5.5 mg de TiO₂ l⁻¹); mientras que el CE₅₀ es 100 mayor al interactuar el TiO₂ con el tetrahidrofurano (THF) (Clément *et al.*, 2013), lo que implica procesos más complejos de lo que se piensa, lo que demuestra la posible interacción con otras sustancias. Zhu *et al.* (2009) determinó el efecto de la agitación de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) suspendidas en muestras de experimentación para pruebas de toxicidad aguda en *D. magna* y comprobó que EC₅₀ a 48 h de exposición tuvo un valor de 3.53 mg/L con partículas nanométricas (<20 nm), y comprobando que son mucho más tóxicos que sus micrométricos de (10 µm), resultados obtenidos por diferentes autores, en experimentales similares, indican la gran variabilidad de los valores de CE₅₀ (48 h), lo que implica la necesidad de evaluar los efectos de la combinación de diferentes compuestos y de nanopartículas en pruebas de toxicidad. Ji *et al.* (2010) resalta que el aumento de la toxicidad de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) está dado por la estructura cristalina de anatasa, esto se debe a la forma del dióxido de titanio (TiO₂), es decir el rutilo y anatasa son dos formas alotrópicas distintas de dióxido de titanio (TiO₂), la primera es lipofílica, mientras que la segunda es hidrofílica; por lo que existe un mayor efecto tóxico de anatasa, en comparación con el rutilo y además la toxicidad se incrementa drásticamente para *D. magna*, cuando el tiempo de exposición se extiende a 72 h.

Queda claro que el resultado establece que los intervalos de tiempo son factores de exposición que pueden incrementar la toxicidad, es decir entre mayor tiempo de exposición mayor efecto, de las nanopartículas (Clément *et al.*, 2013). Se han demostrado que la inhalación de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) causa inflamación pulmonar, y Clément *et al.* (2013) demuestran que las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂), utilizadas en protectores solares, cosméticos, pinturas y revestimientos superficiales en su forma de cristal de

anatasa, son tóxicas, sin embargo, muchos de los estudios de toxicidad de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2), se han orientado a mamíferos y humanos, algunos de los organismos utilizados fueron roedores (ratones y ratas), o diversas líneas celulares. Ciertamente pocos estudios han establecido o evaluado los efectos ecotoxicológicos y el riesgo ambiental de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2), en conjunto con los parámetros físicos-químicos relacionados con su toxicidad; y sin haber sido bien establecidos en la literatura; así como las especificidades de la toxicidad; aún falta por caracterizar, los efectos de las nanopartículas en el zooplancton, como el caso de rotíferos marinos como: *Brachionus plicatilis* (Clément *et al.*, 2013).

1.1.5 Características físicas y químicas del óxido de zinc (ZnO)

El zinc es un elemento que se puede encontrar de manera natural como esfalerita (sulfuro de zinc), asociada en menor proporción a la galeana y se presenta de forma granular y cristales finos (Nuñez & Arriaga, 1991), como Smithsonita (carbonato de zinc) (Galán, 2017) o como Hemimorfita (silicato de Zinc) (Tritlla *et al.*, 2006), y como franklinita (óxido mixto de hierro y zinc) o como cincita (óxido de zinc) (Ruiz, 2008), la figura 3, esquematiza la forma en cómo se organizan los átomos de oxígeno y zinc en una estructura hexagonal. El zinc se puede encontrar como elemento traza, en las plantas y animales, teniendo importantes funciones metabólicas, en la formación de ácidos nucleicos, en el metabolismo hormonal, la respuesta inmunitaria y en la estabilización de los ribosomas en la membrana (Rubio *et al.*, 2007). El óxido de zinc, es un compuesto clasificado con el No. RTECS: ZH4810000, y con No. de CAS: 1314-13-2. El óxido de zinc es un compuesto altamente importante por sus usos y aplicaciones (Rubio *et al.*, 2007).

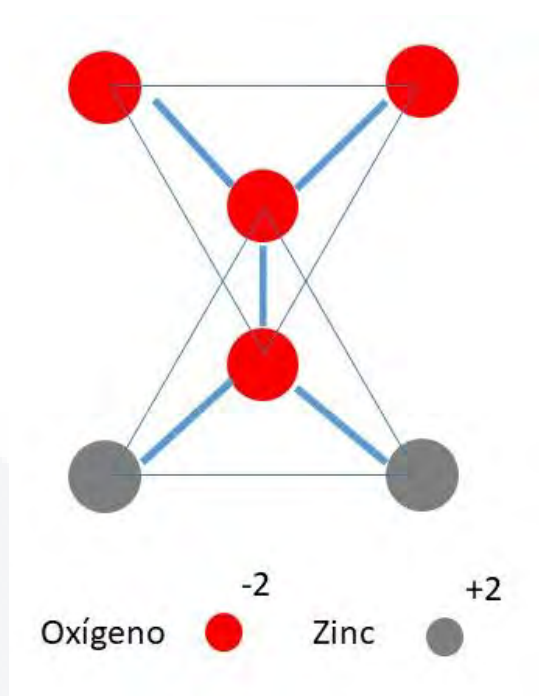


Figura 3. Estructura hexagonal cristalina de ZnO.

1.1.6 Uso y aplicaciones de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO)

El zinc es usado para proteger metales ferrosos de la corrosión, actuando como (ánodo) polo positivo con el hierro, y por ello los agentes corrosivos atacan al zinc y lo que permite alargar la vida de los metales (3-6 años), se puede usar en la generación de las láminas galvanizadas; y tener aleaciones con otros metales; es utilizado en la fabricación de piezas automotrices, herramientas de maquinaria, ornamentos y juguetes y cuando se alea con cobre se genera latón o bronce (Holmberg *et al.*, 1998), “Actualmente la mayor parte del zinc producido se emplea en la galvanización del hierro y acero, así como en la manufacturación del latón. Los objetos galvanizados (alambres, clavos, láminas, etc.) se emplean en la industria del automóvil, la construcción, equipamientos de oficinas y utensilios de cocina, etc. También se utilizan grandes cantidades de zinc en polvo como agente reductor” (Rubio *et al.*, 2007, 101), otras de las características del zinc tiene altas propiedades de activador y acelerador de pigmento, y mejora las propiedades físicas del cauchos y polímeros de alto rendimiento; es usado en pomadas; o como pigmento e

inhibidores de moho en diferentes productos cerámicos, en pinturas; se utiliza en alimentos como aditivo, en la conservación de alimentos, o como suplemento en alimentos, y conservación de semillas; potencializa cosméticos; es utilizado como semiconductor o fotoconductor.

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), se están desarrollando e incorporando a diversos productos por su capacidad catalítica única, propiedades optoelectrónicas, actividad antimicrobiana (Oskam, 2006), su estructura cristalina de wurtzita, contribuye a sus propiedades optoelectrónicas únicas (Wang, 2004), semiconductor de banda ancha, presenta una gran energía de excitación lo que exhibe una emisión de UV, y conductividad transparente, y por ello proporciona revestimientos en superficies, como piezas eléctricas; por lo que son particularmente atractivas para sensores electrónicos, energía solar y transductores (Ma *et al.*, 2013).

El óxido de zinc (ZnO) es un fotocatalizador que se usa en remediación de contaminantes ambientales y desinfección médica (Hoffmann *et al.*, 1995). Las nanopartículas en polvo se utilizan en productos plásticos, cerámica, vidrio, cemento, caucho, lubricantes, pinturas, pigmentos, alimentos (fuente de nutrientes), baterías, retardadores de fuego, comúnmente están presentes en productos del cuidado personal, como: cosméticos y protectores solares, debido a su excelente absorción de rayos UV y/o propiedades reflectantes (Ma *et al.*, 2013).

1.1.7 Toxicidad del óxido de zinc (ZnO)

Se esperaría que las nanopartículas interactúen de manera solubles o como especies particularizadas, lo que sugiere diversas vías de acción tóxica (Brunner *et al.*, 2006). El Zn^{2+} solubilizado de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), ha demostrado que contribuyen considerablemente a la citotoxicidad de estas (Brunner *et al.*, 2006; Heinlaan *et al.*, 2008). El óxido de zinc (ZnO), es un fotocatalizador que promueve la generación de especies reactivas de Oxígeno (ROS), bajo irradiación con energía; existiendo la evidencia de que este proceso produce una importante toxicidad para organismos superiores (Navarro *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2013), estos mecanismos contribuyen a los efectos tóxicos y que en esencia podrían estar generando un peligro potencial por el riesgo de las nanopartículas (Ma *et al.*, 2013).

1.2 Antecedentes

La acumulación de metales en diferentes compartimentos ambientales supone un riesgo tanto para el medio ambiente como para la salud de la biota (Gomes *et al.*, 2016). En el caso específico de México, por ejemplo, en el sistema lagunar costero de la Laguna de Términos, Campeche, México, presenta una contaminación por residuos químicos agrícolas e industriales; y una amplia variedad de compuestos organoclorados y organofosforados. En el agua se detectaron clorpirifos, compuestos organoclorados, en sedimentos y en la biota, así como hidrocarburos clorados, como DDT, PCB, endosulfán y lindano (Carvalho *et al.*, 2009), en Sonora, las concentraciones de metales pesados (mg/kg) detectados en sedimento, indican que las concentraciones de Cd están por debajo del límite de detección, BDL-3.50), Cr (3–41), Cu (238–1090), Fe (41267–61033), Mn (678–1143), Ni (18–35), Pb (51–124) y Zn (116–356), para las dos zonas de estudio el Jaralito y la Mexicana, en ambas corrientes presentaron alto grado de enriquecimiento en Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn, lo que indica un origen antrópico de estos metales.

Los sedimentos de Jaralito y la Mexicana exhiben una textura mayoritariamente gravosa-arenosa con mayores contenidos de metales que en las fracciones finas y los valores del índice de geoacumulación de sedimentos sugieren que Jaralito presenta una contaminación de moderada a alta de Ni, Pb y Cu, mientras que Mexicana presenta una amplia contaminación por Cd, Cu, Pb y una contaminación moderada; lo que representa un riesgo ambiental y sustancial, debido a la movilidad y disponibilidad de los metales. Los autores establecen que se necesitan estudios pertinentes a futuro, considerando la biota y la química del agua, como parte de una evaluación completa y determinar el impacto de la contaminación en este caso de los arroyos Jaralito y la Mexicana, lo que confirma la urgencia de implementar prácticas efectivas de manejo ambiental (Aguilar-Hinojosa *et al.*, 2016).

La presencia de metales traza en organismos acuáticos es latente, y la distribución de estos metales esta dado en función de las prácticas agrícolas intensivas, los estudios demuestran que existe bioacumulación de metales. La concentración varia como es el caso de la Laguna Xnoha en Campeche, donde se presenta la mayor concentración de metales (Cd, Cu, Fe, Zn, Hg y Cr) en río Palizada, el río la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Candelaria, río Ululmal, las Maravillas y López Mateos, por lo que se evidencia, la presencia de metales en los sistemas acuáticos tropicales de la península de Yucatán, del mismo se identificó el enriquecimiento de metales pesados a través de la acumulación de Cd y Pb en el río Palizada de Campeche y en la laguna de Términos, lo que representa un riesgo tóxico ecológico por la presencia crónica de metales pesados en un área prioritaria para la conservación de la biota acuática y terrestre como es el sistema Palizada, debido a su alta toxicidad aún en bajas concentraciones. Por ello, es importante evaluar sus efectos sub-letales en los organismos que habitan este sistema, lo que requiere la implementación de un monitoreo integral (Navarrete-Rodríguez *et al.*, 2020).

Otro caso específico es el sistema hidrológico de los ríos San Juan-Taxco se encuentra dentro de uno de los distritos mineros más antiguos e importantes de México que de los cuales las comunidades aprovechan para el abastecimiento de agua doméstico y el riego de cultivos; la presencia de metales pesados en el sedimento, con respecto a metales pesados y metaloides, establece que el cadmio es el que presenta mayor concentración y posteriormente el Zinc como se muestra a continuación: $Cd > Zn > Pb > Cu > As > B > Mn > Ni > Fe > Co > Ba > Al$ y Cr.

Los estudios revelan con respecto a los índices geoquímicos de nuevo una importante influencia antropogénica en los ríos; el enriquecimiento es muy alto de As, Cu, Pb y Zn, y extremadamente alto de Cd, derivado en gran medida por la erosión de los relaves mineros, las aguas residuales y la escorrentía agrícola, el Cd, Zn, Pb, Cu y As fueron los principales elementos de riesgo potencial que provocarán efectos biológicos nocivos en el medio fluvial (Salcedo Sánchez *et al.*, 2021). Según Rodríguez-Espinosa *et al.* (2018), metales como el zinc entre otros podrían ser un peligro ecológico potencial, y que su presencia deriva de en muchos casos de fuentes industriales, Morales-García *et al.* (2020) indica que en el lago de Texcoco la concentración de metales en sedimentos de Cd, Cu, Pb, Zn y Hg es alta y derivado de los efluentes urbano-industriales de los municipios aledaños y de la ciudad de México, se determina que los metales como el Cu, Pb y Zinc tiene este origen, lo que contribuye a un posible riesgo ambiental. La presencia de metales en sedimentos representa un riesgo para los ecosistemas costeros y la concentración

de metales como Al, Fe, Hg, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn en sedimentos de zonas portuarias es mayor que en la plataforma continental (Buruaem *et al.*, 2012).

Los metales pesados en el mar pueden encontrarse en forma de soluto y unidos a partículas en suspensión o sedimentos (fitoplancton, zooplancton, escombros, arcillas y limos) y las concentraciones en forma de soluto son en su mayoría más bajas que las normativas, lo cual puede deberse a una alta sorción de metales por partículas en suspensión, fitoplancton y moluscos o cultivos de algas. En muchos casos el monitoreo de los metales trazas en la biota se determina para predecir el riesgo de contaminantes para humanos y estudiar posibles procesos de biomagnificación; en el caso de los sedimentos la utilidad está basada en las posibles implicaciones para comprender varios efectos posibles de los metales en la biota a los que están expuestos a las condiciones de su hábitat (Arifin *et al.*, 2012). Con la presencia de metales traza en manglares se demuestra la biodisponibilidad y bioacumulación de metales en la biota (Bone *et al.*, 2012). La mayor parte de los estudios de toxicidad se basan en la evaluación del potencial toxicológico de estas, en humanos, mamíferos como ratones y ratas, o diferentes tipos de líneas celulares. Algunos estos estudios han demostrado que la inhalación de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) causa inflamación pulmonar (Warheit *et al.*, 2007). Algunos autores establecen la presencia de estos materiales, en los sistemas acuáticos y terrestres, y en muchos casos como nanopartículas (Clément *et al.*, 2013). Existen forma de regulación y control de sustancias químicas y las nanopartículas son parte de estas sustancias, aunque de manera independiente no hay una reglamentación para las nanopartículas; el Reglamento (CE) nº 1907/2006 (REACH), Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias y Mezclas Químicas de la Unión Europea ha establecido algunos lineamientos, y con el cual se registran, evalúan, autorizan o se restringen sustancias químicas bajos los estatutos de normatividad, es por ello que su propósito es vigilar o prever que los fabricantes, e importadores, proveedores o comercializadores cumplan con los criterio para su uso, y demostrar que su producto fabricado no genera daños a la salud humana y el medio ambiente, previo a ser comercializado (Clément *et al.*, 2013).

Las nanopartículas tienen que ser reglamentadas de manera independiente de las sustancias químicas, por sus innumerables comportamientos, y siendo estas un riesgo por si solas al poder influir por su tamaño en los ciclos de vida de los organismos, es claro entonces que lo verdaderamente preocupante es que no existe una disposición o postura oficial sobre los nanomateriales. Existen pocos estudios sobre la evaluación de los efectos ecotoxicológicos y riesgo ambiental de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2), y los parámetros fisicoquímicos causantes de la toxicidad son variables e indefinidos (Griffitt *et al.*, 2008). La toxicidad de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) están correlacionadas al método de preparación de la suspensión, la forma de la partícula y estructura cristalina (Crane *et al.*, 2008; Navarro *et al.*, 2008), y la duración del tiempo de exposición. Las nanopartículas más utilizadas en productos químicos usados por el ser humano son dióxido de titanio (TiO_2) y el óxido de zinc (ZnO), se requiere determinar el impacto sanitario y medioambiental de estos materiales por lo que los estudios toxicológicos son necesarios, y así establecer los efectos medioambientales (Clément *et al.*, 2013).

La producción mundial de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) para productos de protección solar durante el 2003-2004 se estimó de 1000 toneladas (Borm *et al.*, 2006), en el 2012 la producción de nanopartículas de ZnO en Europa aumento a 1600 toneladas, (Sun *et al.*, 2014), por lo tanto, el incremento de la producción y su uso amplificado de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) aumenta su potencial liberación al medio ambiente, actuales estimaciones de las concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) en el rango ambiental del Reino Unido desde menos de 0.1 mg/L en agua) hasta unos pocos mg/kg (en sedimento) (Boxall *et al.*, 2007), un estudio más reciente de Gottschalk *et al.*, (2009) informaron concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) de 10 ng/L en agua superficial y 430 ng/L en aguas residuales tratadas en Europa. Se espera que aumenten los niveles ambientales de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) continuamente dada la amplia aplicación de estos nanomateriales (Daughton & Ternes, 1999). Para el caso de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), se demuestra que, dependiendo de su tamaño, este puede

hacerlas menos o más tóxicas, por ejemplo, de 50-70 nm para los protozoos *Tetrahymena thermophila* el efecto fue similar en diferentes mezclas en comparación al ZnO y ZnSO₄ a granel, y esto se demostró a 4 h de exposición, la CE₅₀ se obtuvo a 3.7, 3.9 y 4.9 mg/L de Zn biodisponible, que además la toxicidad de los nanopartículas está causada por su fracción solubilizada (Mortimer *et al.*, 2010).

Si consideramos los estudios de toxicidad en invertebrados acuáticos estos son escasos en comparación a los estudios en bacterias, en crustáceos de agua dulce como *Daphnia magna* y *Thamnocephalus platyurus* (Blinova *et al.*, 2010; Heinlaan *et al.*, 2008). Algunos estudios informaron que la CL₅₀ es comparables en *D. magna* y *T. platyurus*. Heinlaan *et al.* (2008) informaron CL₅₀ de 48 h para nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) que van de 50-70 nm de 3.2 mg/L y 0.18 mg/L con *D. magna* y *T. platyurus*. Blinova *et al.* (2010), informaron que la CE₅₀ a 48 h de es de 2.6 mg/L para *D. magna* y LC₅₀ de 24 h de 0.14 mg/L a *T. platyurus*. Lo que se demostró a raíz de los resultados es que, la toxicidad de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se debió a los iones de Zn solubilizados, como se sugirió en bacterias sensoras de Zn recombinantes. Un estudio comparativo de nanopartículas menores a 200 nm y menores de 1000 nm de óxido de zinc (ZnO) indicaron que en *D. magna* la CE₅₀ a 48 h se genera inmovilización en ambas formas de ZnO y cercano a 1 mg/L (Wiench *et al.*, 2009); lo que establece que la toxicidad de ZnO fue independiente del tamaño de partícula, del recubrimiento de partículas, de la agregación de partículas y el tipo de medio o el pretratamiento aplicado de las dispersiones de prueba (agitación, ultrasonidos o una combinación de ambos) (Ma *et al.*, 2013).

En un estudio crónico con el anfípodo marino *Corophium volutator* las nanopartículas de ZnO en agua (35-10 nm) a 1 mg/L tuvieron efectos significativos sobre la supervivencia, el crecimiento y la reproducción, y esta toxicidad no fue únicamente debido al Zn²⁺ solubilizado (Fabrega *et al.*, 2011). En el contexto de la regulación REACH, los limitados datos disponibles en la literatura no permiten generar una opinión sobre el impacto ambiental del uso de nanomateriales, debido a la falta de conocimiento e información sobre la caracterización fisicoquímica, el

estado, el destino de las nanopartículas en el medio ambiente y sus efectos en organismos que viven en estos, por lo tanto, hay una necesidad de estudios ecotoxicológicos adicionales y caracterización fisicoquímica de nanopartículas para asegurar la consistencia de los resultados. Los datos de la literatura se refieren principalmente al estudio de toxicidad de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) en un tipo de organismo como es el caso de *D. magna*. Se han realizado estudios de las nanopartículas a varios grupos tróficos y taxonómicos organismos biológicos (microcrustáceos, algas, plantas), con diferente toxicidad y niveles (agudos o crónicos), y la caracterización del efecto a largo plazo (48 h) de la exposición a nanopartículas en el rotífero *Brachionus plicatilis*.

1.3 Planteamiento del problema

Existen pocos estudios integrales de la toxicidad de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO), usando una batería de especies acuáticas indicadoras de la salud de los ecosistemas acuáticos los cuales permitan realizar estudios actuales sobre el riesgo ambiental de nanopartículas. En el caso de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) su toxicidad está correlacionada con los métodos de preparación de la suspensión, la forma y tamaño de la partícula y su estructura cristalina (Crane *et al.*, 2008; Navarro *et al.*, 2008), y más aún con el tiempo de exposición y la reactividad superficial de las partículas está dada por la estabilidad de la suspensión coloidal de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) en sistemas acuáticos (Ostiguy *et al.*, 2006; Navarro *et al.*, 2008), el pH y su fuerza iónica; son en total propiedades que determinan, la toxicidad de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2), en los organismos (Baveye y Laba, 2008).

Para el caso de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), se demuestra que, dependiendo de su tamaño, estas pueden ser menos o más tóxicas, por ejemplo, de 50-70 nm para los protozoos *Tetrahymena thermophila* el efecto fue similar en diferentes mezclas en comparación al ZnO y ZnSO_4 a granel, y esto se demostró a 4 h de exposición, la CE_{50} se obtuvo a 3.7, 3.9 y 4.9 mg/L de Zn biodisponible, que además la toxicidad de las nanopartículas de está causada por su fracción solubilizada (Mortimer *et al.*, 2010). Si consideramos los estudios de toxicidad en

invertebrados acuáticos estos son escasos en comparación a los estudios en bacterias, en crustáceos de agua dulce como *Daphnia magna* y *Thamnocephalus platyurus* (Blinova et al., 2010; Heinlaan et al., 2008). Algunos estudios informaron CL₅₀ comparables en *D. magna* y *T. platyurus*. Heinlaan et al. (2008) informaron CL₅₀ de 48 h para las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) (50-70 nm) de 3.2 mg/L y 0.18 mg/L a *D. magna* y *T. platyurus*. Blinova et al., (2010) informaron EC₅₀ de 48 h de 2.6 mg/L para *D. magna* y LC₅₀ de 24 h de 0.14 mg/L a *T. platyurus*. Un estudio comparativo de nanopartículas menores a 200 nm y menores de 1000 nm de óxido de zinc (ZnO) indicó que en *D. magna* la CE₅₀ a 48 h se genera inmovilización en ambas formas de ZnO y cercano a 1 mg/L (Wiench et al., 2009); lo que establece que la toxicidad de óxido de zinc (ZnO) fue independiente del tamaño de partícula, del recubrimiento de partículas, de la agregación de partículas y el tipo de medio o el pretratamiento aplicado de las dispersiones de prueba (agitación, ultrasonidos o una combinación de ambos) (Ma, Williams, & Diamond, 2013). Si bien existen valores toxicológicos en especies indicadoras, no son especies nativas de México, y no se analizaron procesos de adsorción, absorción y bioacumulación de nanopartículas en diferentes niveles tróficos, en consecuencia, se prioriza el estudio letal y crónica de las nanopartículas en una batería de especies nativas de México, para comprender la magnitud de su problema en la biota acuática.

2. JUSTIFICACIÓN

El dióxido de titanio (TiO₂) y el óxido de zinc (ZnO) son componentes básicos en productos de cuidado personal; que genera cambios en la composición del agua, modificando su pH; además, se ha demostrado que el dióxido de titanio (TiO₂) y el óxido de zinc (ZnO), puede reaccionar con otras sustancias y que, dependiendo de su estructura, presentan mayor toxicidad. Por lo tanto, es prioridad analizar los efectos agudos y crónicos de las nanopartículas del dióxido de titanio (TiO₂) y el óxido de zinc (ZnO) en varios grupos tróficos y taxonómicos: rotíferos, cladóceros, y ostrácodos y mejor aún, usando especies de dos regiones en dos zonas de importancia socio-económica y cuentan con la logística operativa y técnico-científica toxicológica. Zona 1: Bajío, Aguascalientes de la región hidrológica VIII Lerma-

Santiago Pacífico y Zona 2: Sureste, Quintana Roo: región hidrológica XII de la Península de Yucatán; ambas, regiones del país con descargas de aguas residuales y escasas de información sobre la predicción de riesgo ambiental de nanopartículas.

2.1 Preguntas de investigación

¿Cuál es la sensibilidad de especies de rotíferos, cladóceros y ostrácodos del centro y sur de México expuestas a las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y del óxido de zinc (ZnO)?

¿El dióxido de titanio (TiO_2) y del óxido de zinc (ZnO) se pueden bioacumular en los organismos del zooplancton seleccionados en este estudio?

¿Los rotíferos, cladóceros y ostrácodos aislados de algunos cuerpos de agua de Aguascalientes y Quintana Roo tienen el potencial de usarse como organismos modelo de estudios ecotoxicológicos de nanopartículas?

¿La contaminación de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y del óxido de zinc (ZnO), representan un riesgo para los ecosistemas acuáticos de Aguascalientes y de Quintana Roo?

3. HIPÓTESIS

Las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y del óxido de zinc (ZnO), son tóxicas para las especies de zooplancton en todos los niveles tróficos, y se bioacumulan; lo que potencializa la biomagnificación de nanopartículas; por lo tanto, son un riesgo para las especies de zooplancton de los ecosistemas acuáticos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar los efectos agudos y crónicos de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y del óxido de zinc (ZnO), en diferentes especies del zooplancton aisladas de cuerpos de agua de Aguascalientes y Quintana Roo.

4.2 Objetivos Específicos

- 1.- Aislar e identificar especies de zooplancton de cuerpos de agua de Aguascalientes y Quintana Roo para su uso como organismos modelos en pruebas ecotoxicológicas.
- 2.- Caracterizar las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) y mediante microscopia electrónica de barrido y análisis de rayos X.
- 3.- Estudiar los efectos agudos de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO), en las especies seleccionadas.
- 4.- Estudiar los efectos crónicos de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO), en especies seleccionadas.
- 5.- Estudiar la bioacumulación de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO), mediante microscopia electrónica de barrido y análisis de rayos X.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Trabajo en campo

5.1.1 Colecta de zooplancton en Aguascalientes y Quintana Roo

1.- Se realizaron las colectas de zooplancton, durante el año 2021-2022, en dos regiones climáticas distintas, una con climas semiseco del estado de Aguascalientes y la otra subhúmeda de Cancún, Quintana Roo; en cada sitio se ubicaron puntos de recolecta y mediante una red de plancton de 54 micras de apertura de malla; se realizó un arrastre de la zona limnética y litoral, con la cual se filtraron 500 ml de agua, de los cuales 250 ml se preservaron a 4 % de formol, para identificación de las especies y los otros 250 ml para su aislamiento.

5.2 Trabajo en laboratorio

5.2.1 Identificación de las especies de zooplancton de las dos zonas de estudio (Aguascalientes y Quintana Roo)

En el laboratorio se realizó la identificación del zooplancton, con las claves dicotómicas y pictóricas de Koste (1978), Nogrady *et al.* (1993), Nogrady & Segers

(2002), para cladóceros se utilizaron las claves de Elías-Gutiérrez *et al.* (2008); para ostrácodos, las claves de Roessler (1986) y Meisch (2000). Se observaron los caracteres taxonómicos en un microscopio óptico marca Olympus CH3 modelo CH30LF100 y se determinó el nombre de las especies.

5.2.2 Aislamiento y establecimiento de cultivos monoclonales en zooplancton de Aguascalientes y Quintana Roo

Posteriormente se hicieron los cultivos monoclonales de las especies en cajas de cultivo de 24 posas de poliestireno, en un mililitro de medio reconstituido (EPA, 1996). Los cultivos de rotíferos, cladóceros y ostrácodos se realizaron acorde a los protocolos de Pérez-Legaspi y Rico-Martínez (1998); para los cultivos se utilizó el medio de cultivo de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 1996). Para los cultivos de rotíferos y ostrácodos se utilizó una cámara bioclimática, con un fotoperiodo, de 16 h luz/8 h oscuridad, a una temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el cultivo de los cladóceros, se mantuvo a una temperatura de $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo, de 16 h luz/8 h oscuridad. El pH del medio reconstituido se mantuvo entre 7.5 y la dureza de 80-100 mg/L de CaCO_3 .

Para la alimentación de los rotíferos y cladóceros se utilizó la microalga *Chlorella sp*, la concentración óptima del cultivo para rotíferos fue de 1×10^6 cel/ml y para los cladóceros fue de 750,000 cel/ml para los ostrácodos, se utilizaron 0.5 cm² de lechuga (*lactuca sp*) (López-Gutiérrez *et al.*, 2018). Las especies requieren un mínimo de dos meses para el proceso de aislamiento y aclimatación, para posteriormente realizar las pruebas tóxicas. La microalga *Chlorella sp* se cultiva con Bold's basal medium (BBM) usando agua destilada o des ionizada (Nichols, 1973).

5.2.3 Cultivo de algas

A continuación, en el cuadro 1, se presentan las cantidades a considerar para la elaboración de este medio mineral estándar (Bold's basal médium-MBB) utilizando un litro de agua desionizada o destilada (Nichols, 1973).

Cuadro 1. Macronutrientes requeridos para el Medio mineral estándar (BBM).

Macronutrientes	Cantidad
NaNO ₃	250 mg
CaCl ₂ .2H ₂ O	25 mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	75 mg
K ₂ HPO ₄	75 mg
KH ₂ PO ₄	175 mg
Vitaminas	2 ml
Metales traza	2 ml
Vitamina	Cantidad
Tiamina	100 mg
Biotína	5 mg
Vitamina B ₁₂	5 mg

Cuadro 2. Solución stock de metales traza para elaborar 500 ml de medio mineral estándar.

Metales	Cantidad
NaFeEDTA	2.5 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	90 mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	5 mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	11 mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	5 mg
NaMoO ₄ .2H ₂ O	3.2 mg

Cuadro 3. Requerimiento de sales para el medio reconstituido (EPA, 1996), para el cultivo de los rotíferos, cladóceros y ostrácodos de agua dulce.

Sales	Peso
NaHCO ₃	96 mg
CaSO ₄ 2H ₂ O	60 mg
MgSO ₄ 7H ₂ O	60 mg
KCl	4 mg

Nota: En el caso de las especies marinas o de agua salada se utiliza sal marina en una proporción de 15 g/L, diluidos en agua destilada o desionizada.

5.2.4 Caracterización de las nanopartículas mediante microscopia electrónica de barrido, y EDS

Para la preparación de los stocks se pesaron de 0.01-0.03 µg de las nanopartículas (Anatasa, anatasa-rutilo, óxido de zinc) y se diluyeron en agua desionizada, posteriormente se deshidrataron y se colocaron sobre un disco de granito de 1 cm² para su recubrimiento. Para el recubrimiento de oro; el cilindro se coloca en un porta-muestras del recubridor de oro (Denton Vacuum) y se aplica un flujo de corriente de 80 segundos. Finalmente se obtuvieron las imágenes de barrido.

5.2.5 Generación de histogramas de tamaño

Las fotografías de barrido, se analizaron en el programa ImageJ (Java 64 bit); se obtuvieron 500-600 mediciones de los tamaños de nanopartículas, a su vez se obtuvieron la media, los mínimos, máximos y la desviación estándar de las nanopartículas, mediante el uso de Statistica Versión 7, del año 1993, de la empresa Statsoft Inc.

5.2.6 Determinación del diámetro hidrodinámico

La determinación del diámetro hidrodinámico en nm se realizó a partir de la asociación de la empresa Anton Paar México S.A. de C.V. mediante la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS); utilizando un equipo Litesizer 500; número de serie: 82759650, Software versión 2.26.3, bajo una temperatura de 25 °C. Para la determinación del diámetro hidrodinámico, se utilizaron 8 stocks a una concentración de 100mg/l preparados con agua desionizada y medio reconstituido, los intervalos de lectura de cada muestra fueron 10 min. Se obtuvieron ocho lecturas por cada muestra; 64 lecturas en total, además de obtenerse el promedio, la desviación estándar, el porcentaje de polidispersión, el porcentaje de transmitancia y el coeficiente de diferenciación.

De Las lecturas correspondientes; el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 1, fue de 1048. 3 nm, con una desviación estándar de 69.95 nm, y un porcentaje de polidispersión de 26.0, con una desviación estándar de 1.7, el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 2, fue de 1369.1 nm, con una desviación estándar de 75.42 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 25.9, con una desviación estándar 2.7, el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 3, fue de 1197. nm, con una desviación estándar de 116.50 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 8.6, con una desviación estándar 10.2, el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 4, fue de 1387.3 nm, con una desviación estándar de 49.91 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 23.9, con una desviación estándar 4.1, el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 5, fue de 3488 nm, con una desviación estándar de 298.1 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 22.5, con una desviación estándar 17.7, el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 6, fue de 2335 nm, con una desviación estándar de 158.81 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 27.2, con una desviación estándar 1.2, el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 7, fue de 1426.3 nm, con una desviación estándar de 79.50 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 25, con una desviación estándar 0.4 y por último el promedio del diámetro hidrodinámico de la muestra 8, fue de 1469.1 nm, con una desviación estándar de

82.73 nm, y con un porcentaje de polidispersión de 22.5, con una desviación estándar 2.7.

Las lecturas obtenidas de las muestras diluidas en agua desionizada vs medio reconstituido, nos indica un incremento en el diámetro hidrodinámico, comparando la muestra 1 vs 5, 2 vs 6, 3 vs 7 y 4 vs 8, e independientemente del tamaño de las nanopartículas. Lo que indica que existen un efecto de las sales presentes en el medio reconstituido, en el incremento del tamaño de las nanopartículas y su diámetro hidrodinámico. A continuación, se muestra en la tabla la descripción de los stocks.

Cuadro 4. Descripción de las muestras utilizadas para la determinación del diámetro hidrodinámico.

No. MUESTRA	MUESTRA	DILUYENTE (agua)	DESCRIPCIÓN (nanopolvo)
1	Titanio IV. TiO ₂ (Anatasa)	Desionizada	<25 nm. 99.7 % metal base trasa
2	Titanio IV. TiO ₂ (Anatasa- Rutilo)	Desionizada	<100 nm. 99.5 % metal base trasa
3	Óxido de Zinc	Desionizada	<100 nm. <80 % metal base trasa
4	Titanio IV. TiO ₂ (Rutilo)	Desionizada	<25 μ m. $\geq$ 99.9 % metal base trasa
		Medio	
5	Titanio IV. TiO ₂ (Anatasa)	reconstituido	<25 nm. 99.7 % metal base trasa
		Medio	
6	Titanio IV. TiO ₂ (Anatasa-Rutilo)	reconstituido	<100 nm. 99.5 % metal base trasa
		Medio	
7	Óxido de Zinc	reconstituido	<100 nm. <80 % metal base trasa
		Medio	
8	Titanio IV. TiO ₂ (Rutilo)	reconstituido	<25 μ m. $\geq$ 99.9 % metal base trasa
9	Agua desionizada	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
10	Medio reconstituido	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX

5.2.7 Pruebas de toxicidad aguda en zooplancton

5.2.7.1 Rango exploratorio

Para la obtención del rango de exposición se realizaron pruebas previas de toxicidad a diferentes concentraciones, para las cuales se considera el porcentaje de dilución: 10%, 5%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.10% y 0.05 % y 0.02 % del stock. Los medios

reconstituidos, usados en las pruebas, dependieron de las especies (dulce o marina). Las pruebas de exploración se realizaron por triplicado y se obtuvieron las concentraciones iniciales para las posteriores pruebas de toxicidad aguda y crónica.

5.2.7.2 Preparación del stock

Para la preparación del stock de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) se consideraron 100 mg/L. Se pesaron 10 mg de las nanopartículas en una balanza analítica y se colocaron en un matraz, aforado a 100 ml de agua desionizada, para su posterior agitación y sonicado (marca Elmasonic xtra TT). La agitación se realizó por un periodo de 30 min y posteriormente se sónico por un tiempo de 25 min.

5.2.7.3 Pruebas de toxicidad aguda

Para la prueba aguda con rotíferos se utilizaron cajas de 24 pozas de poliestireno estériles, Marca Costar®, en la cual se colocaron 10 neonatos en 1 ml de medio reconstituido (EPA, 1996), con sus respectivas concentraciones y réplicas, así como sus controles negativos. Previamente la prueba exploratoria nos permitió obtener el rango de exposición y finalmente con los datos obtenidos de la prueba de rango, se realizarán las pruebas agudas (Figura 4).

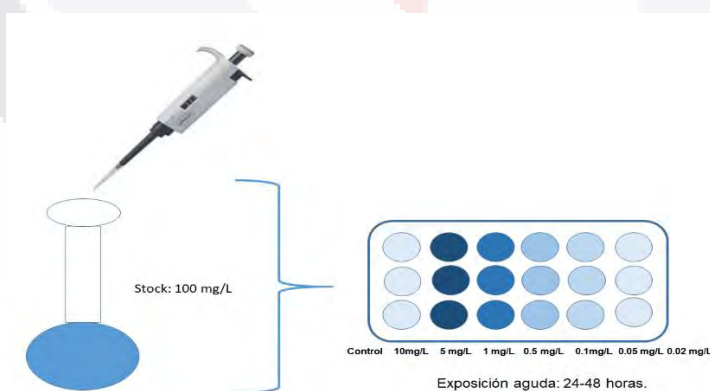


Figura 4. Esquema de las pruebas de toxicidad aguda con sus réplicas, y controles y el respectivo stock a 100/L.

Como se indicó anteriormente, se realizaron tres réplicas con cada concentración de exposición, cada réplica contó con un control negativo tanto de dióxido de titanio (TiO₂) y de óxido de zinc (ZnO), con medio reconstituido dulce o salado. Finalmente se registró la mortalidad a 24 y 48 horas. Los organismos de prueba se incubaron bajo las mismas condiciones de cultivo antes mencionadas, así como en las pruebas realizadas.

Para los cladóceros y ostrácodos, se utilizaron cajas de 24 pozas de poliestireno estériles, Marca Costar®, en la cual se colocaron 5 cladóceros en 1 ml de medio reconstituido (dulce) con su respectiva concentración; con cada poza se consideró una réplica de exposición; para obtener 3 réplicas y finalmente, con los resultados obtenidos de las exposiciones se registraron. Bajo este propósito se considera la mortalidad a 24-48, horas y se incubaron en una cámara bioclimática; de manera semejante a la forma de proceder con los rotíferos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Especificaciones y controles de calidad para realizar las pruebas toxicológicas en zooplancton y el número de organismos a utilizar por repetición y total.

Medio reconstituido	# Org/rep.	# Total de org/[conc]	# réplicas	Vol.
Salado/dulce	10	30	3	1 MI

5.2.8 Pruebas de toxicidad crónica

Se colocaron 10 neonatos de *B. angularis* en una poza de poliestireno, en 3 ml de prueba toxicológica con sus respectivas concentraciones a evaluar de cada tóxico: nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y de óxido de zinc (ZnO), y debidamente el control negativo con medio de cultivo reconstituido (EPA, 1996), y se agregó el alimento a 1X10⁶ células/ml de *Chlorella sp.* las pruebas se colocaron en la cámara bioclimática a 16/8 de luz, oscuridad, a una temperatura de 25 °C +/- 2 °C durante 5 días.

Para el caso de la prueba crónica con el cladócero *C. sphaericus* y el ostrácodo *C. vidua*, se colocaron 5 organismos, en cada poza de 3 ml, con una densidad de 1 org/ml, por lo que se utilizaron 5 réplicas de 3 ml (15 organismos/15 ml) de una caja de poliestireno, y debidamente el control negativo con medio de cultivo reconstituido (EPA, 1996), y con sus respectivas concentraciones a evaluar de cada tóxico: nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y de óxido de zinc (ZnO), se agregó el alimento a 7.5 X10⁵ células/ml de *Chlorella sp.* para el caso de los cladóceros, para el caso de los ostrácodos se alimentaron con 3 cm² de lechuga. Las pruebas se colocaron en la cámara bioclimática a 16/8 de luz, oscuridad, a una temperatura de 25 °C ± 2 °C durante, 20 días para cladóceros. Para la prueba con ostrácodos, el periodo de exposición fue de 31 días. Al término del tiempo de exposición se cuentan los organismos vivos y de cada poza y con ello obtener el valor r con la siguiente fórmula:

$$r = \frac{\ln(Nt - No)}{t}$$

Donde:

Nt= número de organismos vivos.

No= número inicial de organismos.

ln= logaritmo natural.

t= tiempo

5.2.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM) y rayos X, para la detección de nanopartículas en estructuras externas e internas

5.2.9.1 Procedimiento para realizar la técnica de barrido

1.- Fijación: Se realizó la fijación con 2.5 % de glutaraldeído durante 2 horas. Se lavó con PBS 30min-2 horas, y posteriormente se fijó con tetraóxido de osmio al 1% por 1-2 horas.

2.- Lavado: Después del fijado con tetraóxido de osmio, se lavó con PSB durante 30-2 horas.

3.- Deshidratación: Los especímenes se deshidrataron con una solución del 50 % de alcohol o acetona, después los especímenes se lavaron con soluciones del 60, 70 80, 90, 96 y 100 %, durante 10-15 min. La inmersión del 100 % se realizó por 2 ocasiones.

4.- Secado: El secado se realizó de manera natural o mediante un aparato Smadri marca Tousimis.

6.- Montaje: Los especímenes, se colocaron en un cilindro sobre un disco de granito de 1 cm².

7.- Recubrimiento de oro: El cilindro se colocó en un portamuestras del recubridor de oro (Denton Vacuum). Se aplicó un flujo de corriente de 80 segundos.

Nota. Para la detección de las nanopartículas en estructuras internas se realizarán disecciones de los organismos previo al recubrimiento de oro.

5.2.9.2 Procedimiento para la detección de nanopartículas en estructuras externas e internas usando el microscopio electrónico de barrido y rayos X

Se tomaron 200-500 rotíferos, de 50-100 cladóceros y ostrácodos y se expusieron a diferentes concentraciones por duplicado (se valora la CL₅₀, CL₁₀, el NOEC Y LOEC y la CE₅₀). Para ver donde se acumula las nanopartículas, se realizó microscopia electrónica (SEM) y EDSx para los tres organismos.

Nota: Para la detección de las nanopartículas en estructuras internas se realizaron disecciones, de los organismos previo al recubrimiento de oro.

5.3 Análisis de gabinete

Este se divide en 4 secciones:

- Caracterización de la nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO), por medio de microscopia de barrido análisis de fotografías del SEM y EDS, y medición de los tamaños de nanopartículas con el programa de ImageJ (Java 64 bit).

- Determinación de las concentraciones letales agudas y crónicas: CL₅₀, CL₁₀, el NOEC y el LOEC.
- Detección de nanopartículas en estructuras externas e internas usando el Microscopio Electrónico de Barrido y Rayos X.
- Obtención de los factores de bioconcentración en el zooplancton.

5.4 Análisis estadístico

Al finalizar las pruebas de toxicidad aguda y crónicas con las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO), se contabilizaron los organismos vivos y muertos observados del grupo Rotífera, Cladóceras, Ostrácoda. Se generaron hojas de cálculo en Excel por cada uno de los grupos selectos y los datos obtenidos se expresaron en porcentajes de mortalidad, se obtuvo el logaritmo de la concentración y se utilizó los valores Probit, para obtener las regresiones lineales múltiples y obtener las CL₅₀ y CL₁₀; posteriormente un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con 5 tratamientos (cada uno con sus réplicas correspondientes). Además, se realizaron pruebas de Duncan ($p > 0.05$), para señalar las diferencias estadísticas significativas entre las medias de cada tratamiento y el control. De esta manera se obtuvieron los valores NOEC, y LOEC. El valor de la concentración letal media (CL₅₀), se calculó por medio de las regresiones lineales, entre la dilución (concentración de exposición) y los porcentajes de mortalidad. Empleando el paquete estadístico Statistica Versión 7 (Statsoft Inc, 1993). Adicionalmente se reportó el coeficiente de variación de la regresión lineal, es decir los valores r , y el intervalo de confianza al 95% para cada CL₅₀.

6. RESULTADOS

6.1 Identificación de las especies selectas de zooplancton y estandarización de los cultivos

Se identificaron y cultivaron 5 especies de zooplancton (Figura 5) presentes en la zona limnética, litoral y bentónica de cuerpos de agua de Aguascalientes y Quintana Roo, de Aguascalientes fueron; un rotíferos: a) *Brachionus angularis* b), un

cladóceros: *Chydorus sphaericus*, c) y un ostrácodo: *Cypridopsis* cf. *vidua*, y un rotífero: d) *Lecane cornuta* y un ostrácodo (*Cypridopsis* cf. *vidua*) de Quintana Roo, para este propósito se basó en la 1) amplia distribución, 2) en la facilidad para manipular y cultivar, 3) la presencia en cuerpos de agua de Aguascalientes y Quintana Roo, 4) que se utilizan pequeños volúmenes y ciclos cortos a relativamente cortos.

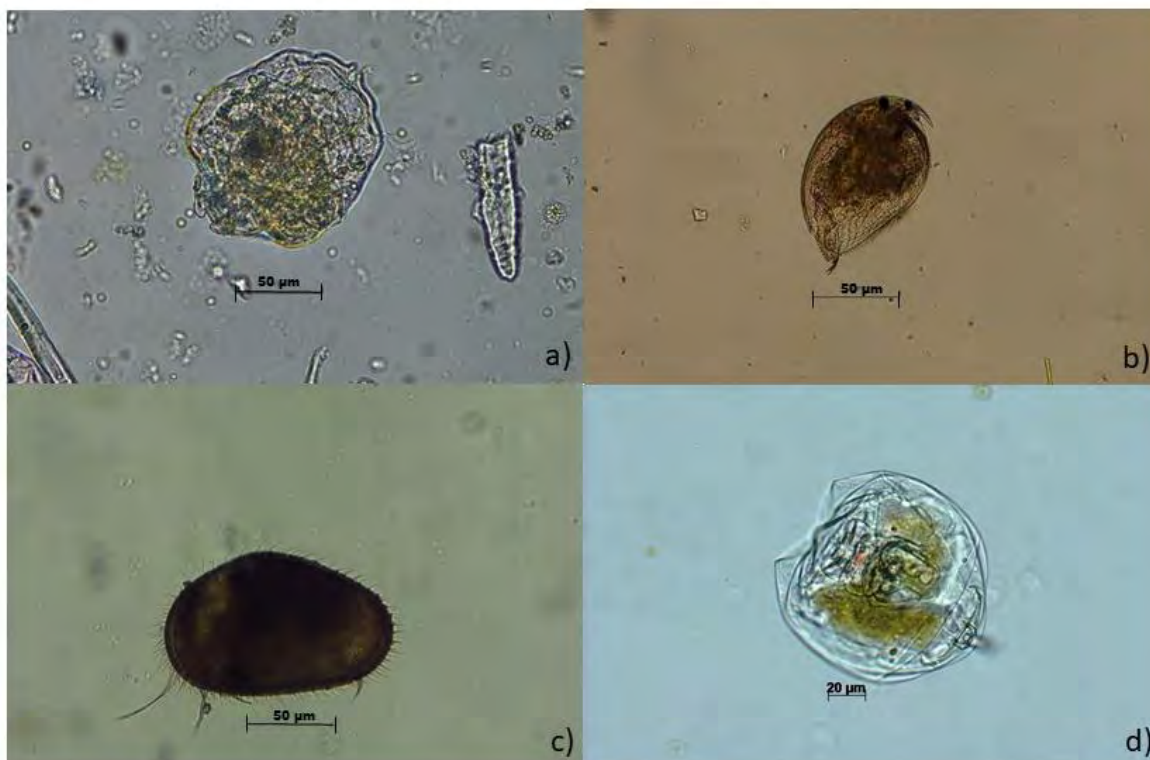


Figura 5. Batería de especies de Aguascalientes y Quintana Roo. Fuente: fotografías propias a), b), c); fotografía d) de Alvarado-Flores.

Cuadro 6. Caracterización fisicoquímica del agua desionizada, medio reconstituido, y stock de nanopartículas a 100 mg/L, con sus respectivos promedios y desviación estándar.

Agua desionizada	Promedio	Desviación estandar
Temperatura (°C)	31.83	0.06
pH	7.97	0.77
Conductividad (µS)	405.00	297.92

Sólidos totales (ppm)	195.33	160.51
Medio reconstituido	Promedio	Desviación estandar
Temperatura (°C)	32.03	0.47
pH	8.69	0.73
Conductividad (µS)	344.00	24.58
Sólidos totales (ppm)	169.00	7.21
Anatasa(TiO ₂) a 100 µg/L	Promedio	Desviación estandar
Temperatura (°C)	32.07	0.67
pH	8.69	0.80
Conductividad (µS)	185.00	12.53
Sólidos totales (ppm)	94.67	2.08
Anatasa-rutilo (TiO ₂) a 100 µg/L	Promedio	Desviación estandar
Temperatura (°C)	32.00	0.62
pH	8.73	0.91
Conductividad (µS)	174.00	6.56
Sólidos totales (ppm)	87.67	2.89
Rutilo (TiO ₂) a 100 µg/L	Promedio	Desviación estandar
Temperatura (°C)	32.03	0.57
pH	8.36	0.77
Conductividad (µS)	194.00	8.54
Sólidos totales (ppm)	96.00	5.00
Óxido de zinc (ZnO) a 100 µg/L	Promedio	Desviación estandar
Temperatura (°C)	31.97	0.49
pH	8.58	0.85
Conductividad (µS)	165.67	4.51
Sólidos totales (ppm)	83.00	2.65

6.2 Caracterización de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y de óxido de zinc (ZnO)

La composición química de las nanopartículas acorde al proveedor Sigma-Aldrich se indican en el cuadro 5, la pureza es de 99.5 % de dióxido de titanio (TiO₂), menos del 80 % de óxido de zinc (ZnO).

Cuadro 7. Composición elemental de las nanopartículas.

Compuesto	Descripción
TiO ₂ (anatasa)	<25 nm. 99.7 % metal traza
TiO ₂ (anatasa y rutilo)	<100 nm. 99.5 % metal traza
TiO ₂ (rutilo)	<25 µm. ≥99.9 % metal traza
ZnO (óxido de zinc)	<100 nm. <80 % metal traza

En la figura 6 se observan las fotografías de barrido (SEM) del nanopolvo de dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO) a una concentración de 0.01 mg.

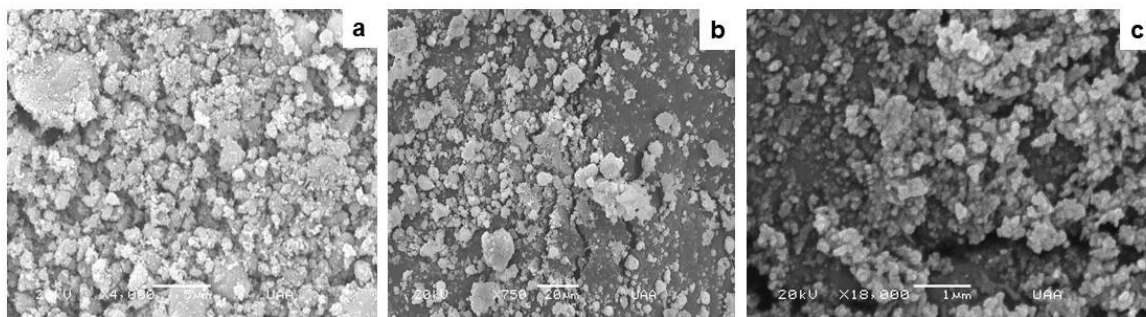


Figura 6. Fotografías de barrido (MEB) de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y de óxido de zinc (ZnO). a) Anatasa a 4000x, b) Anatasa-rutilo 750X, c) Óxido de zinc a 18 000 X.

En las figuras 7, 8, y 9, se observan los histogramas de la distribución de tamaño, de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO), a partir de

una fotografía de barrido de las nanopartículas. En la figura 4, se muestran las mediciones de 500 nanopartículas, y se observa que la mayor distribución de las nanopartículas se encuentra entre 6-13 nm. En la figura 5, de las 650 mediciones realizadas, se observa que la mayor distribución de las nanopartículas se encuentra entre 60-90 nm, y como se observa en la figura 6, de las 500 mediciones realizadas, se observa que la mayor distribución de las nanopartículas se encuentra entre 60-70 nm.

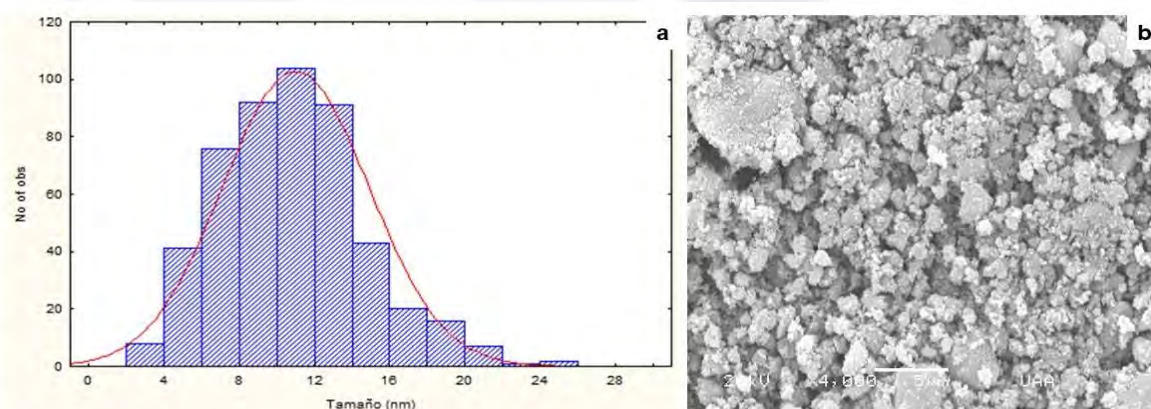


Figura 7. Gráfico de la caracterización de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂), a) Distribución del tamaño de partícula (nm), b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de TiO₂ (Anatasa) a 4000X.

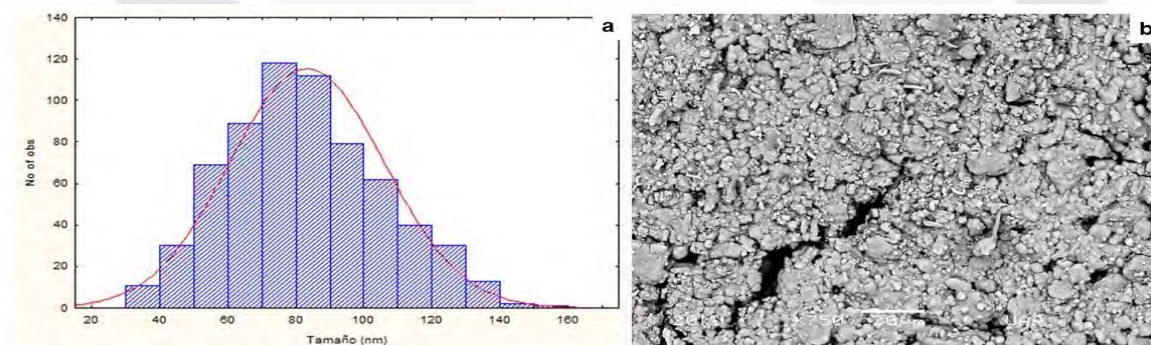


Figura 8. Gráfico de la caracterización de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂); a) Distribución del tamaño de partícula (nm); b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de TiO₂ (Rutilo-anatasa) a 750X.

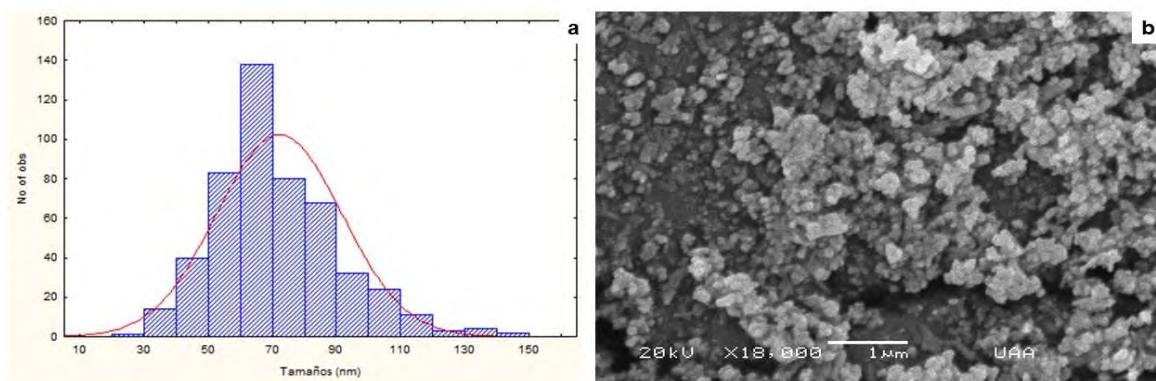


Figura 9. Gráfico de la caracterización de nanopartículas de ZnO; a) Distribución del tamaño de partícula (nm); b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de ZnO (Óxido de zinc) a 18000X.

6.3 Caracterización de las nanopartículas mediante el uso de EDS

Nuestros análisis por EDS de la composición elemental de dióxido de titanio (TiO_2), y óxido de zinc (ZnO), se muestran en el cuadro 6, en donde se observa que la composición elemental en peso atómico para TiO_2 la cual fue de 60.32 % y 48.86 %, mientras que de ZnO fue de 86.41 %.

Cuadro 8. Cuantificación de las nanopartículas por EDS en porcentaje elemental.

Compuesto	Composición	Porcentaje
Anatasa (TiO_2)	C	10.02
	O	29.66
	Ti	60.32
	Total	100
Anatasa-rutilo (TiO_2)	C	17.38
	O	38.83
	Ti	48.86
	Total	100
Óxido de zinc (ZnO)	O	13.59

Zn	86.41
total	100

Se presentan los espectros y la zona del microanálisis, en las figuras 10, 11, y 12, de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2): anatasa, anatasa-rutilo, y óxido de zinc (ZnO), respectivamente. Como se observa la señal en el espectro es fuerte, para los elementos Ti y Zn.

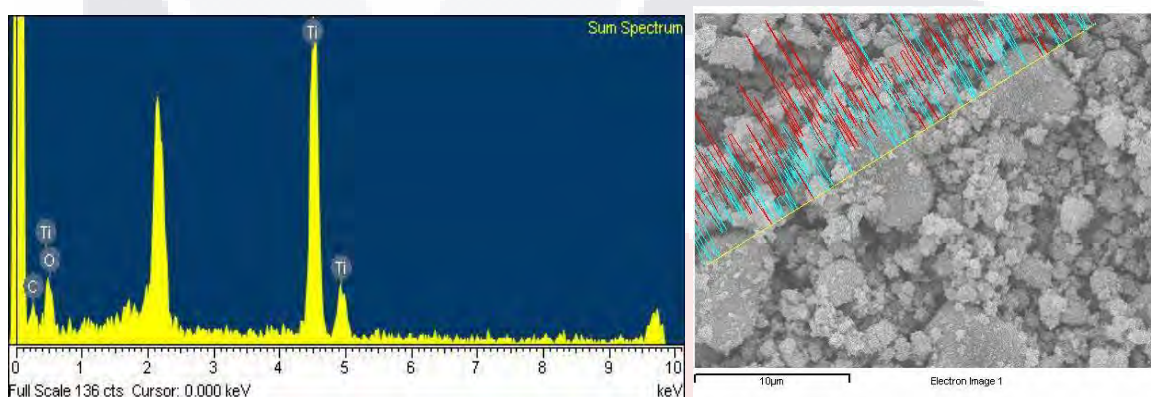


Figura 10. Análisis elemental con gráfico espectral mediante EDS de anatasa, con su zona de barrido laser (excitación de electrones).

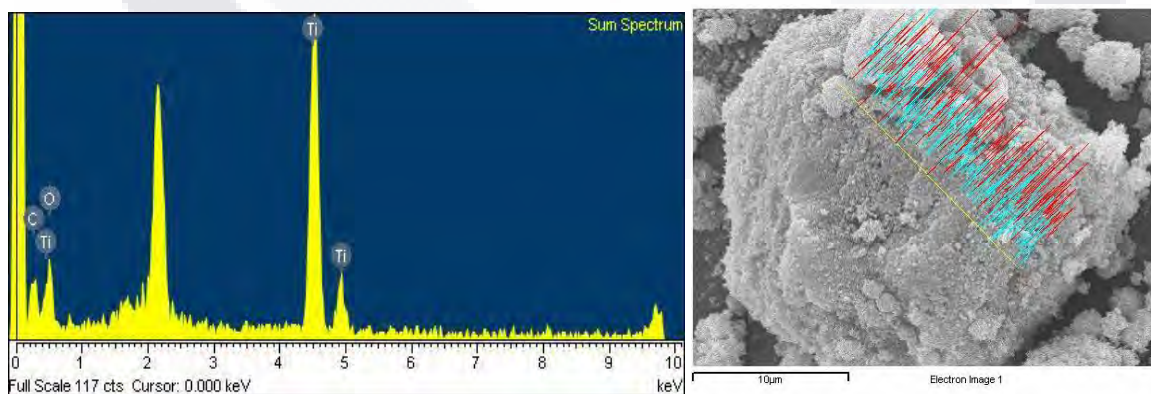


Figura 11. Análisis elemental con gráfico espectral mediante EDS de anatasa-rutilo, con su zona de barrido laser (excitación de electrones).

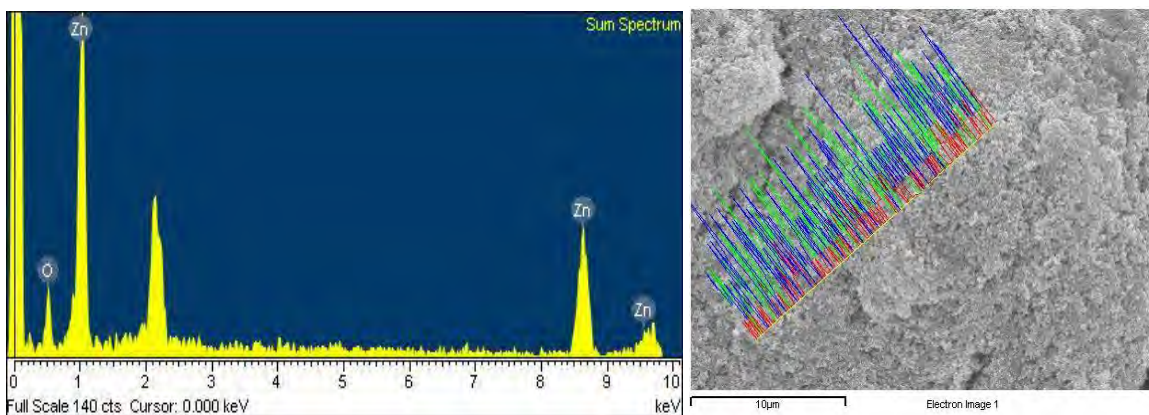


Figura 12. Análisis elemental con gráfico espectral mediante EDS de óxido de zinc, con su zona de barrido laser (excitación de electrones).

6.4 Diámetro hidrodinámico de las muestras

En el cuadro 9, se muestran los diámetros hidrodinámicos de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO), obtenidos, los cuales rebasan el tamaño físico de la nanopartícula que indica la etiqueta del reactivo usado, y obtenido de Sigma-Aldrich. Lo que establece que la interacción de las nanopartículas en agua, incrementa el tamaño, por la interacción entre nanopartículas provocando agregados. Es decir, las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) forman agregados de $> 1000 \text{ nm}$.

Cuadro 9. Diámetro hidrodinámico (D. H.), en medio reconstituido, mediante dispersión de luz dinámica (DLS) con un equipo Zetasizer NanoDynamic Light Scattering (DLS). Desviación estándar (D. E.).

Nanopartículas	D. H. $\pm$ D. E.
Anatasa	1048.3 $\pm$ 69.95
Anatasa-rutilo	1369.1 $\pm$ 75.42
Rutilo	1387.3 $\pm$ 49.91
Óxido de zinc	1197 $\pm$ 116.50

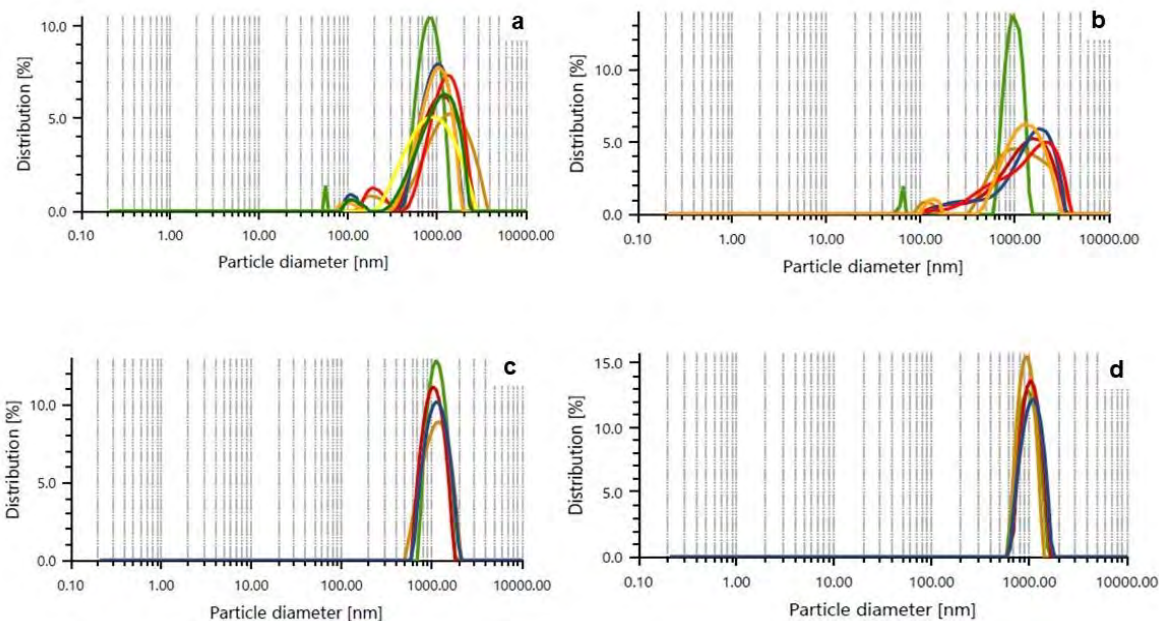


Figura 13. Se muestran los gráficos de distribución del diámetro hidrodinámico (D.H.) de las nanopartículas, cada línea de color representa una réplica a) Anatasa, (TiO_2), b) Anatasa-Rutilo, (TiO_2), c) Rutilo, (TiO_2), d) óxido de zinc (ZnO).

6.5 . Toxicidad aguda en el zooplancton con especies de Aguascalientes

Los valores de toxicidad aguda (CL_{50}) obtenidos con el rotífero (*B. angularis*), cladóceros (*C. sphaericus*) y ostrácodo (*C. cf. vidua*) para las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) nos indican que el reactivo anatasa (TiO_2) es más tóxica si consideramos que el valor CL_{50} es de 7.23 mg/L en *Brachionus angularis* con un tamaño (<25 nm), seguido de la anatasa-rutilo con un CL_{50} de 12.58 mg/L con un tamaño (<100 nm), en el caso del rutilo que tiene un mayor tamaño (<25 μm) su valor de CL_{50} es de 14.01 mg/L. También se calcularon los valores CL_{10} , como se observan en el cuadro 10. Los valores de toxicidad aguda en el cladóceros obtenidos con el dióxido de titanio TiO_2 nos indican que la anatasa es más tóxica con CL_{50} de 12.40 mg/L, anatasa-rutilo con 19.54 mg/L y rutilo: CL_{50} con 37.11 mg/L, para el ostrácodo, la CL_{50} de anatasa fue de 42.97 mg/L, anatasa-rutilo de 20.98 mg/L y de rutilo 63.62 mg/L, lo que indica que en este caso la mezcla de anatasa-rutilo es la más tóxica. Considerando las tres especies de los tres grupos

de estudio, las nanopartículas de dióxido de titanio de menor tamaño son más tóxicas y, además, los valores de toxicidad aguda en la especie de rotífero, el cladócero y ostrácodo indican que la especie más sensible, es el rotífero, seguido del cladócero y por último el ostrácodo.

Se calcularon las concentraciones NOEC y LOEC. ambos valores son de suma importancia toxicológica, en el caso de la CL₅₀ de ZnO para el rotífero, es de 1.06 mg/L, para el cladócero es de 1.56 mg/L y para el ostrácodo es de 5.58 mg/L, lo que indica que el rotífero es el más sensible, en comparación al cladócero y el ostrácodo, de manera que el ostrácodo es el más tolerante. Para el rotífero con anatasa los valores NOEC fue de 0.02 mg/L, y el LOEC fue 0.05 mg/L, con anatasa-rutilo los valores NOEC fue de 0.02 mg/L, y el LOEC fue 0.05 mg/L, y para rutilo los valores NOEC fue de 0.05 mg/L, y el LOEC fue 0.1 mg/L. Para el caso en el cladócero con anatasa el valor NOEC fue de 0.1 mg/L y el LOEC fue de 0.5 mg/L, con anatasa-rutilo, el valor NOEC fue de 5 mg/L y el LOEC fue de 10 mg/L, con rutilo fue de 10 mg/L y 16 mg/L, respectivamente. En el ostrácodo con anatasa los valores NOEC fue de 10 mg/L, y el LOEC fue 16 mg/L, con anatasa-rutilo los valores NOEC fue de 0.5 mg/L, y el LOEC fue 0.1 mg/L, y para rutilo los valores NOEC fue de 73 mg/L, y el LOEC fue 83 mg/L. Con el ZnO los valores NOEC y LOEC en el rotífero son 0 mg/L y 0.02mg/L respectivamente, con el cladócero el NOEC es 0.1 mg/L y 0.5 mg/L y para el ostrácodo para el NOEC es de 0.1 mg/L y el LOEC es de 0.5 mg/L. Como se puede ver en el cuadro 10.

Cuadro 10. Valores de toxicidad aguda en especies de Aguascalientes se muestran a continuación. Concentraciones letales 50 y 10 de dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO) para *B. angularis*, *C. sphaericus* y *C. vidua*, con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.

Especies	Tóxico	R ²	σ	NOEC	LOEC	CL ₁₀	CL ₅₀	-95 % LC	+95 % LC
<i>B. angularis</i>	Anatasa	0.58	0.7	0.02	0.05	0.064	7.23	4.23	12.38
	Anatasa-rutilo	0.55	1.0	0.02	0.05	0.042	12.58	6.57	19.73
	Rutilo	0.69	0.65	0.05	0.1	0.1006	14.01	8.89	22.04
	Óxido de zinc	0.73	0.56	0	0.02	8.8X10 ⁻⁴	1.065	0.67	1.69
<i>C. sphaericus</i>	Anatasa	0.74	0.57	0.1	0.5	0.43	12.40	7.73	19.88
	Anatasa y rutilo	0.74	0.57	5	10	0.85	19.54	12.00	31.81
	Rutilo	0.79	0.55	10	16	0.98	37.11	23.78	57.91
	Óxido de zinc	0.52	0.57	0.1	0.5	0.27	1.56	0.86	2.86
<i>C. vidua</i>	Anatasa	0.67	0.69	10	16	1.29	42.97	23.42	39.23
	Anatasa y rutilo	0.74	0.55	0.5	1.0	0.84	20.98	12.98	33.91
	Rutilo	0.44	0.87	73	83	4.43	63.62	27.03	149.71
	Óxido de zinc	0.85	0.45	0.1	0.5	0.12	5.58	3.8	8.18

Nota: Concentraciones letales 10 y 50 y LC en mg/L.

6.5.1 Toxicidad crónica en el zooplancton con especies de Aguascalientes

A continuación, se observan los valores de toxicidad crónica en especies de Aguascalientes, obtenidos a 5 días de exposición en el caso de rotífero: *B. angularis*, 20 días para el cladócero: *C. sphaericus* y 31 días para el ostrácodo *C. cf. vidua*. Se puede observar que la concentración efectiva 50 (CE₅₀) es menor para óxido de zinc con 2.92 mg/L, para anatasa 3.78 mg/L, 4.9 mg/L para anatasa-rutilo y por último para rutilo 5.54 mg/L, lo que indicaría es que el óxido de zinc inhibe mayormente la tasa de crecimiento poblacional en *B. angularis*, seguido de anatasa y por último el rutilo, en el caso de *C. sphaericus* la concentración efectiva 50 (CE₅₀) es menor para óxido de zinc con 0.66 mg/L, para anatasa 4.5 mg/L, 2.86 mg/L para anatasa-rutilo y por último para rutilo 3.80 mg/L, lo que indicaría que de igual forma el óxido de zinc inhibe mayormente la tasa de crecimiento poblacional; para el caso de *C. cf. vidua*, la concentración efectiva 50 (CE₅₀) es menor de igual forma para el óxido de zinc con 0.66 mg/L, para anatasa 4.5 mg/L, 2.86 mg/L para anatasa-rutilo y por último para rutilo 3.80 mg/L, lo que indicaría que existe una mayor susceptibilidad al óxido de zinc, inhibiendo mayormente la tasa de crecimiento poblacional; para todos los casos. A continuación, se presentan los valores crónicos (CE₅₀) de las exposiciones y las tasas intrínsecas de crecimiento *r*, obtenidos con las especies de Aguascalientes.

Cuadro 11. Los valores crónicos (CE_{50}) obtenidos de las especies de Aguascalientes, se expresan a continuación con la especie (*B. angularis*). En el siguiente cuadro se observan los valores de CE_{50} de los cuatro tóxicos obtenidos con *B. angularis* y sus respectivas r^2 , los NOEC, LOEC y los mínimos y máximos, así como su desviación estándar.

Especie	Tóxico	R^2	Σ	NOEC	LOEC	CE_{50}	-95 % CL	+95 % CL
<i>B. angularis</i>	Anatasa	0.84	0.22	0.02	0.015	3.78	2.31	5.24
	Anatasa-rutilo	0.90	0.27	0.15	0.3	4.9	3.67	6.04
	Rutilo	0.77	0.20	0	0.02	5.54	3.43	7.66
	Óxido de zinc	0.95	0.37	0.15	3	2.92	2.08	3.76

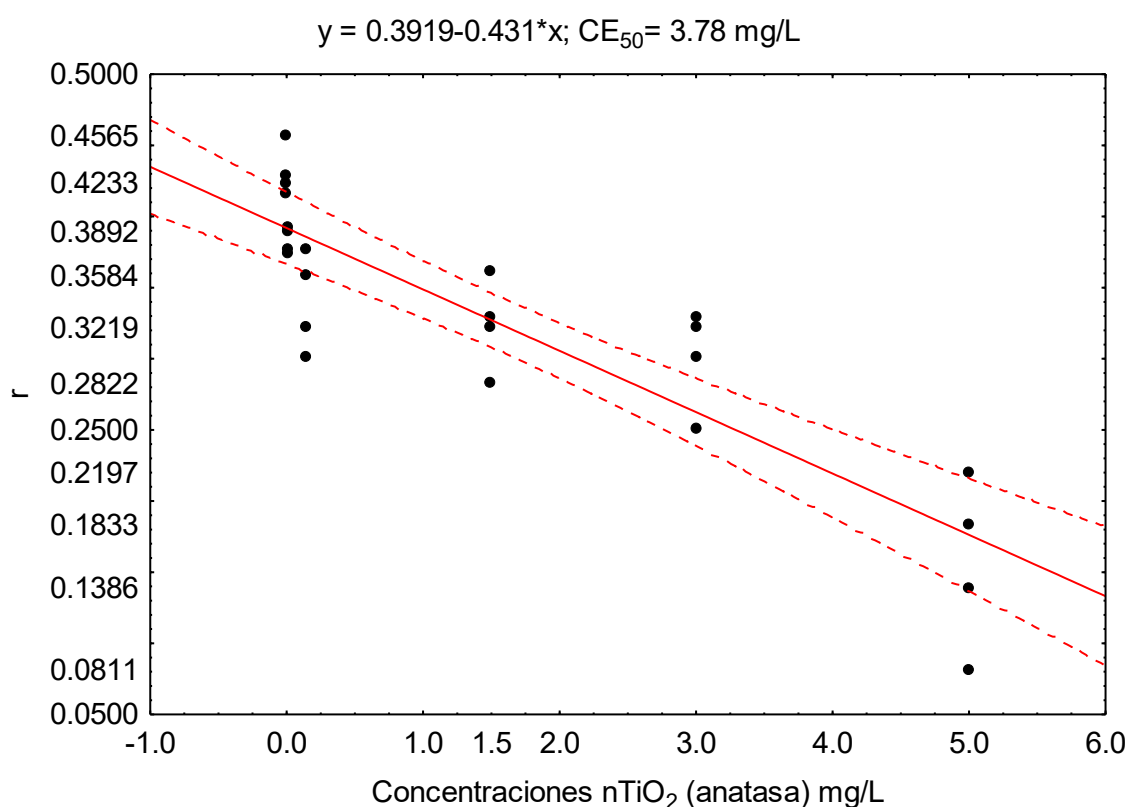


Figura 14. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO_2 (anatasa), en la tasa de crecimiento de *B. angularis* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1×10^6 células/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

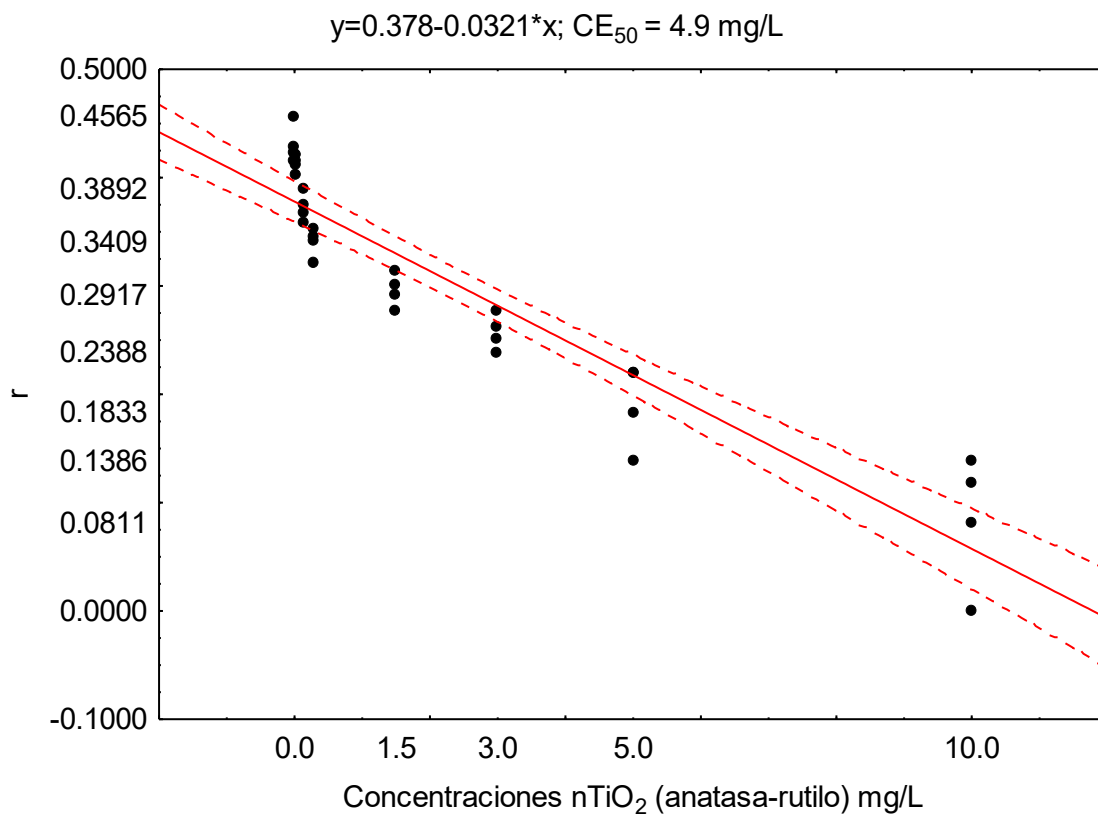


Figura 15. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de *B. angularis* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10⁶ cel/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

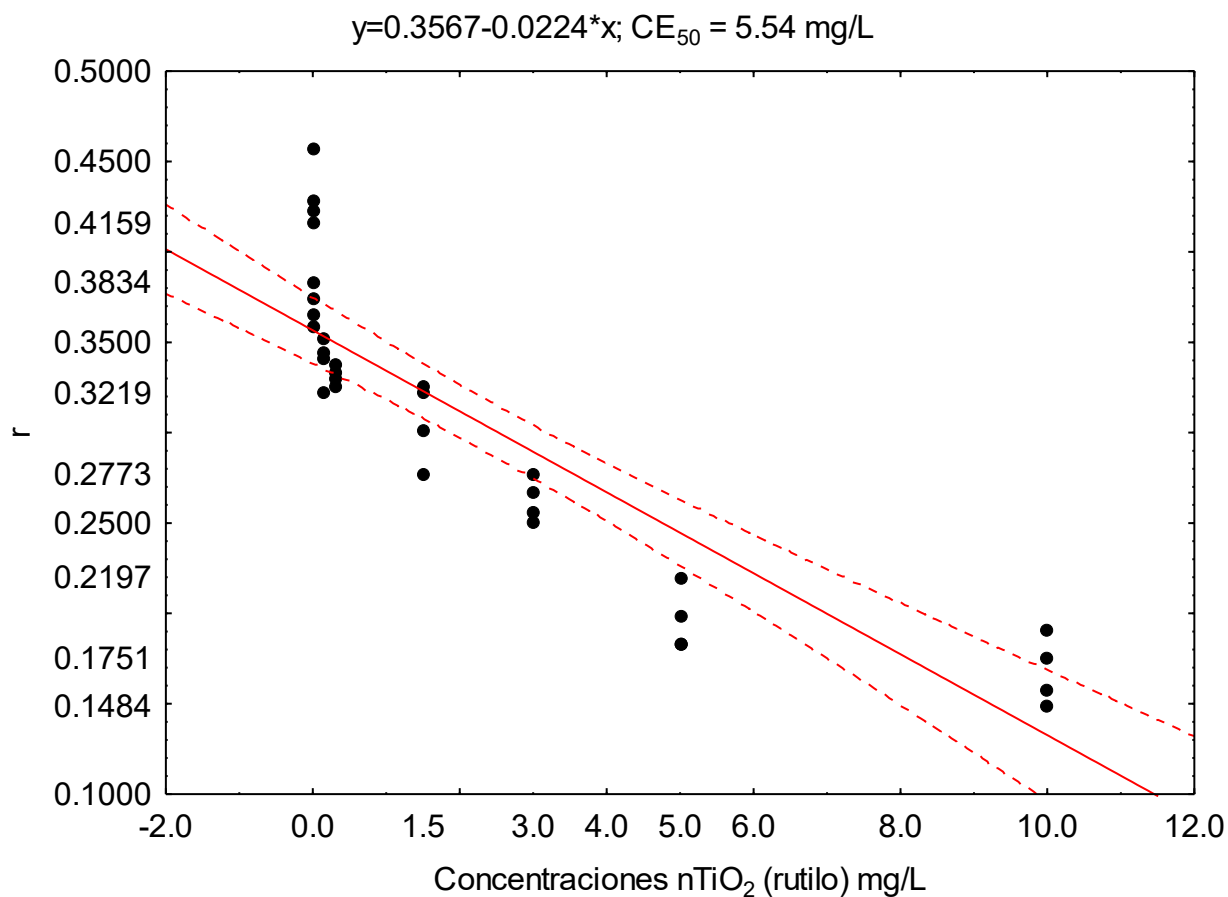


Figura 16. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de *B. angularis* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10⁶ cel/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial del 5 org/ml. En una prueba de 2 ml.

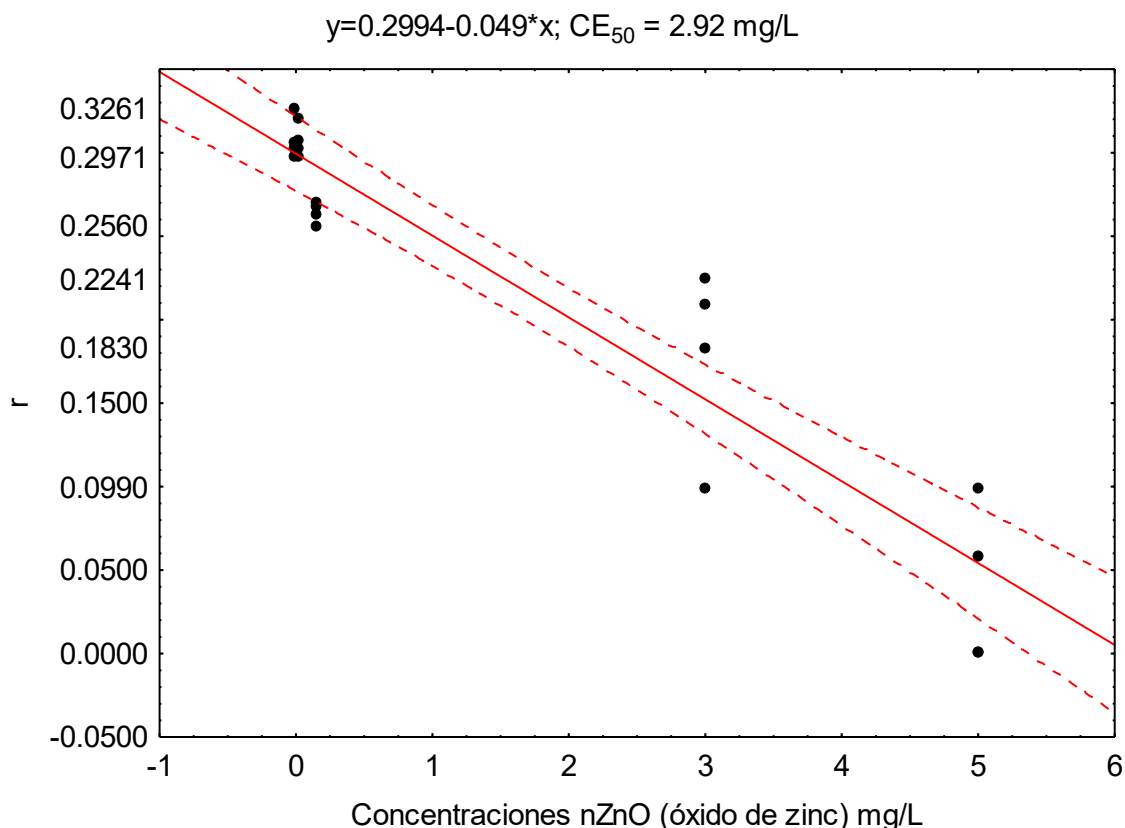


Figura 17. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de ZnO (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de *B. angularis* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

En el siguiente cuadro se observan los valores de CE_{50} de los cuatro tóxicos obtenidos con *C. sphaericus* y sus respectivas r^2 , los NOEC, LOEC y los mínimos y máximos, así como su desviación estándar.

Cuadro 12. Los valores crónicos (CE_{50}) obtenidos de las especies de Aguascalientes, se expresan a continuación con la especie (*C. sphaericus*).

Especie	Tóxico	R^2	Σ	NOEC	LOEC	CE_{50}	-95 % CL	+95 % CL
<i>C. sphaericus</i>	Anatasa	0.55	0.20	0.02	0.1	4.5	0.48	3.57
	Anatasa-rutilo	0.59	0.21	0.00	0.02	2.86	0.51	3.07

Rutilo	0.89	0.20	0.02	0.15	3.80	2.75	4.85
Óxido de zinc	0.96	0.42	0.15	0.3	0.66	0.54	0.96

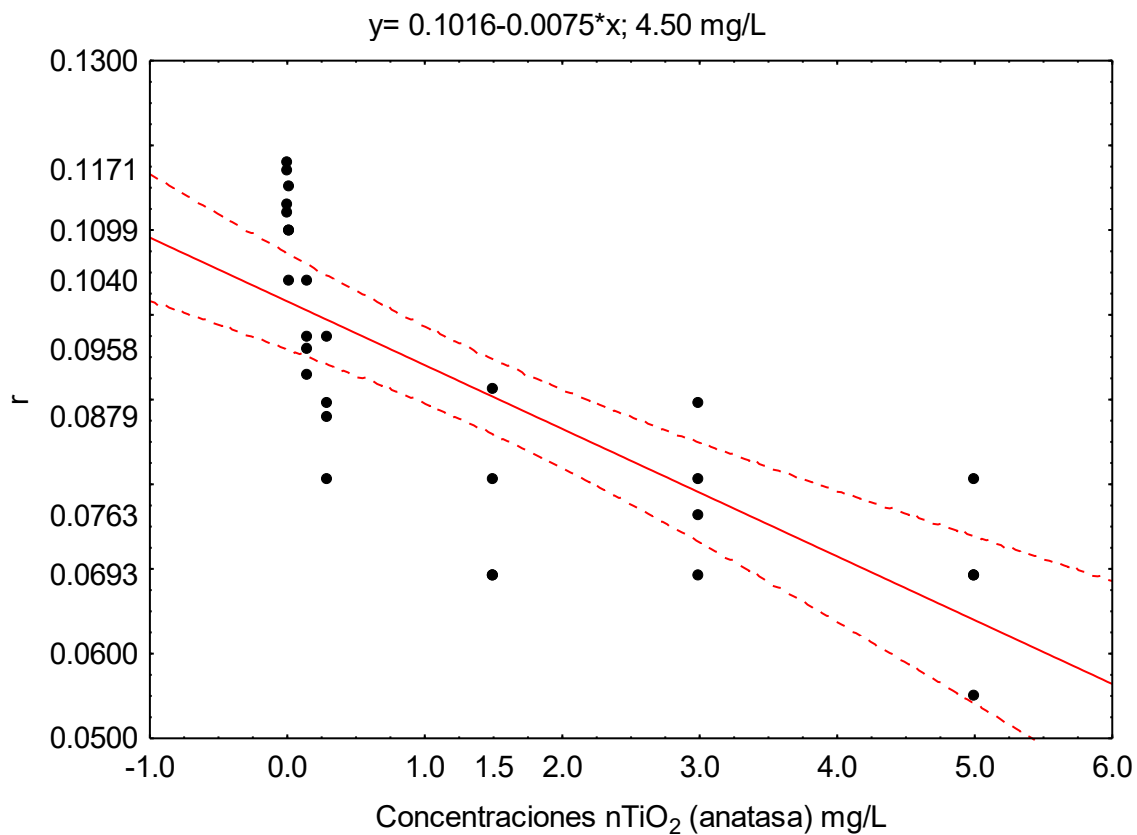


Figura 18. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (anatasa), en la tasa de crecimiento de *C. sphaericus* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1X10⁶ cel/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

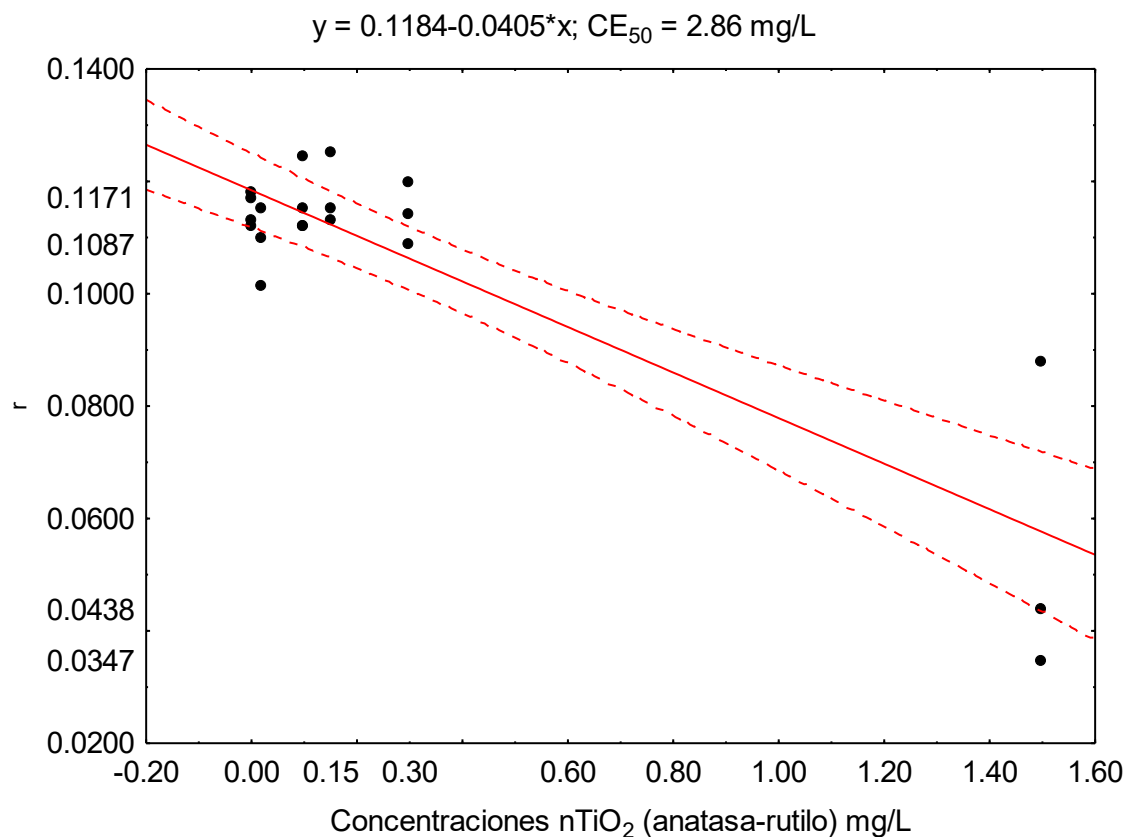


Figura 19. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO_2 (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de *C. sphaericus* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

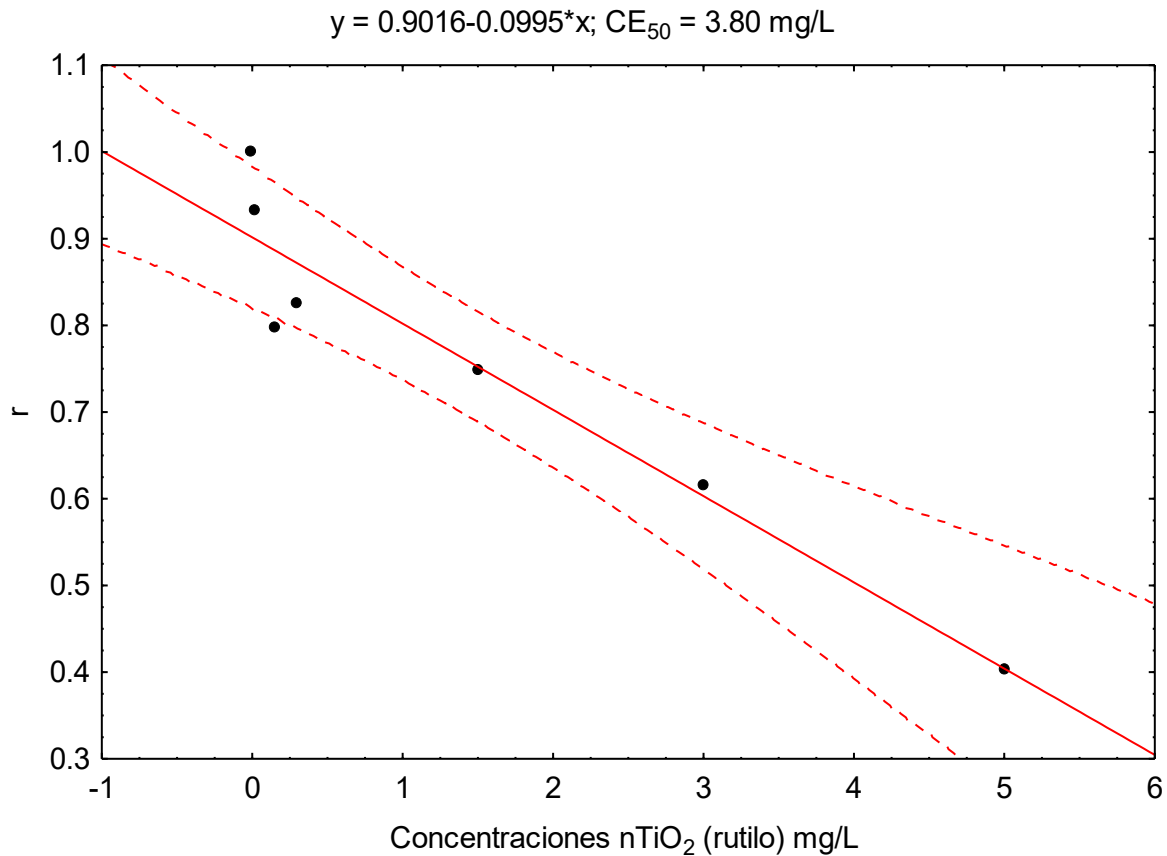


Figura 20. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de *C. sphaericus* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1×10^6 células/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

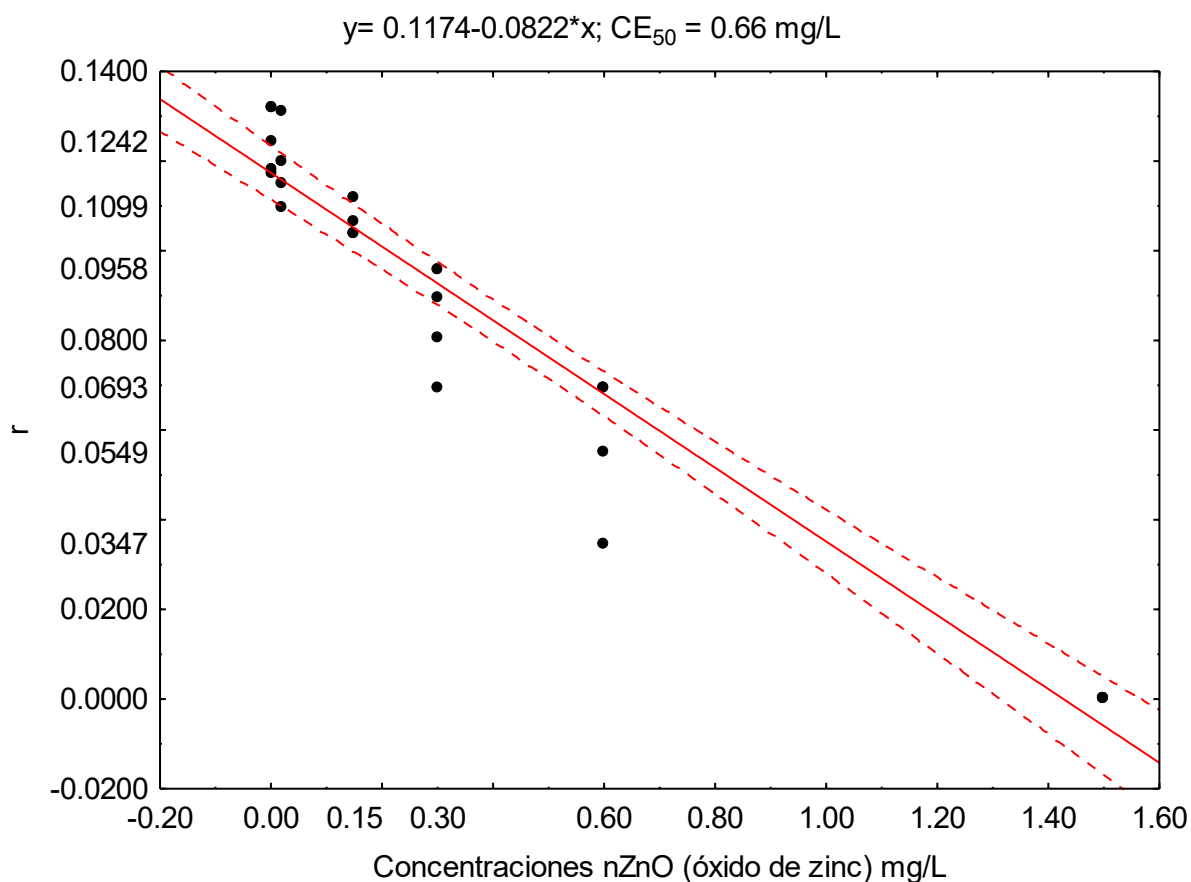


Figura 21. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de ZnO (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de *C. sphaericus* en un tiempo de 5 días a una concentración de 1×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris*, a una densidad poblacional inicial de los 5 organismos /ml. En una prueba de 2 ml.

Cuadro 13. Los valores crónicos (CE_{50}) obtenidos de las especies de Aguascalientes, se expresan a continuación con la especie (*C. cf. vidua*). En el siguiente cuadro se observan los valores de CE_{50} de los cuatro tóxicos obtenidos con *C. cf. vidua* y sus respectivas r^2 , los NOEC, LOEC y los mínimos y máximos, así como su desviación estándar.

Especies	Tóxico	R^2	Σ	NOEC	LOEC	CE_{50}	-95 % CL	+95 % CL
<i>C. cf. vidua</i>	Anatasa	0.9	0.39	0.15	0.3	1.18	0.75	1.62
	Anatasa-rutilo	0.65	0.39	---	0.02	0.48	-0.35	1.35
	Rutilo	0.57	0.21	---	0.02	1.54	0.39	2.68

Óxido de zinc 0.71 0.4 --- 0.02 0.57 -0.16 1.32

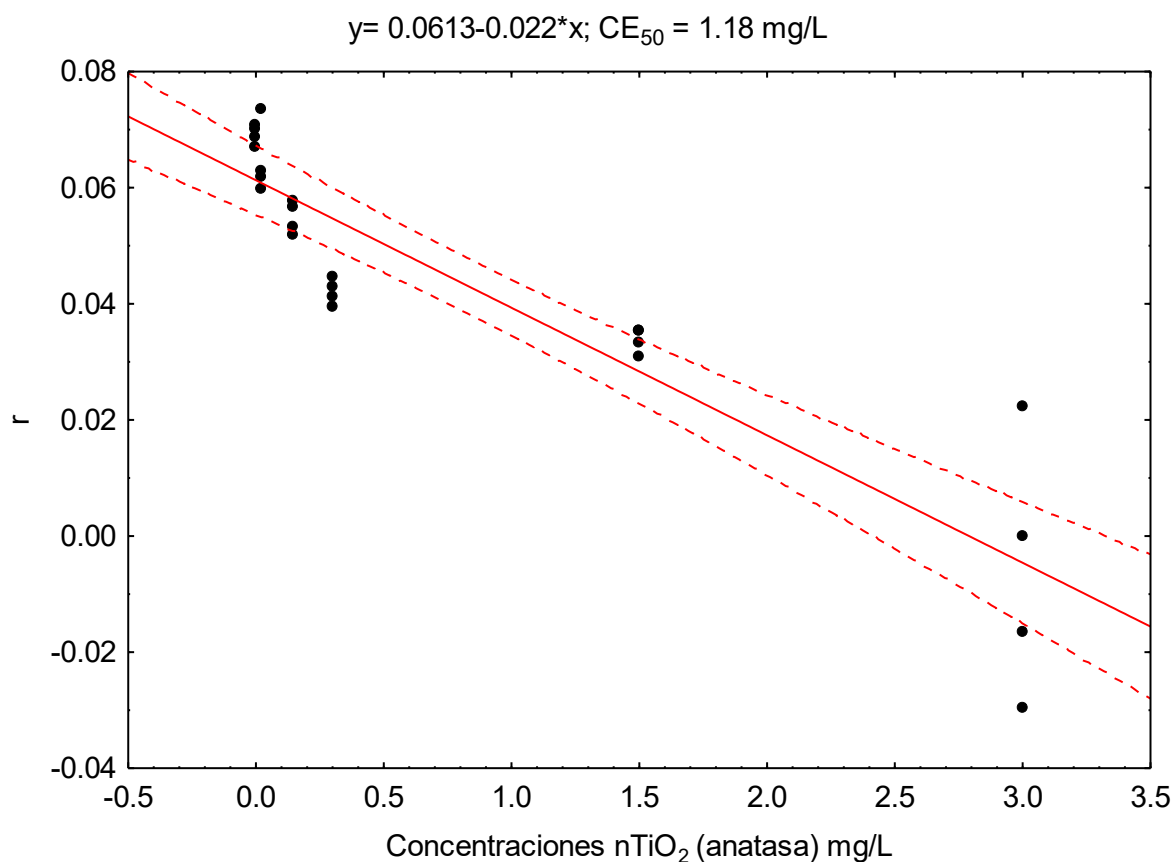


Figura 22. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (anatasa), en la tasa de crecimiento de *C.cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

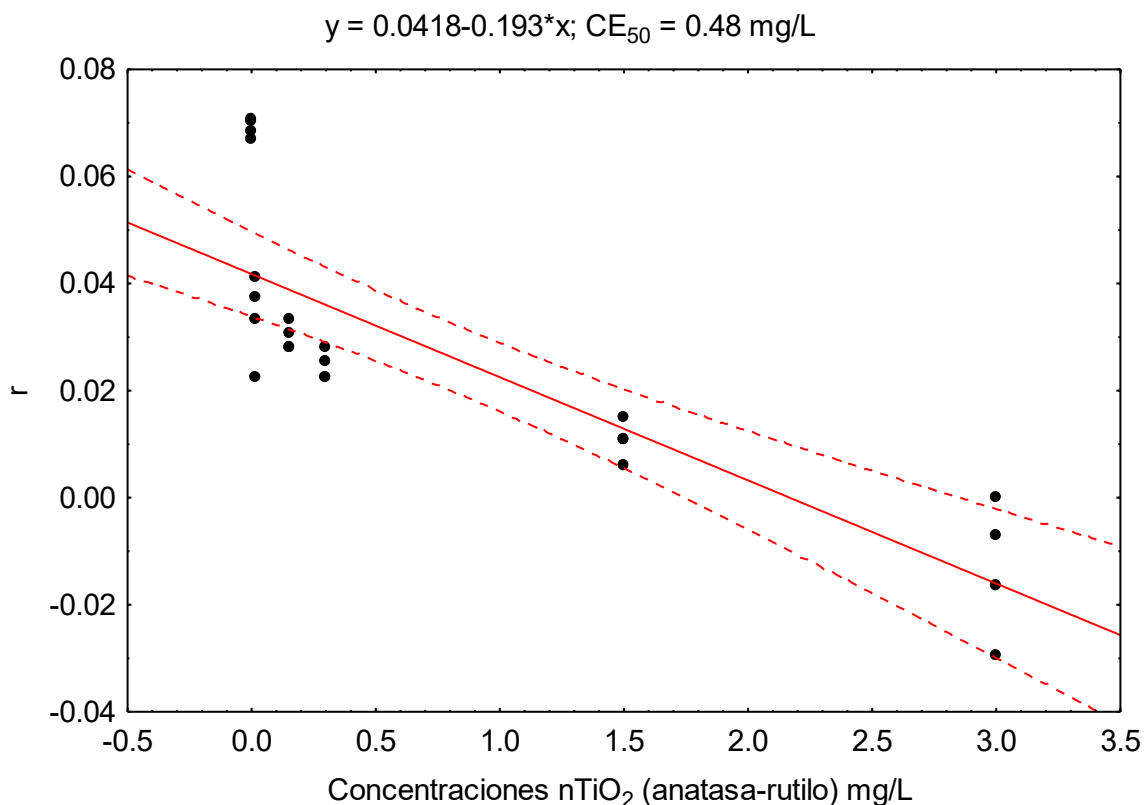


Figura 23. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de *C.cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

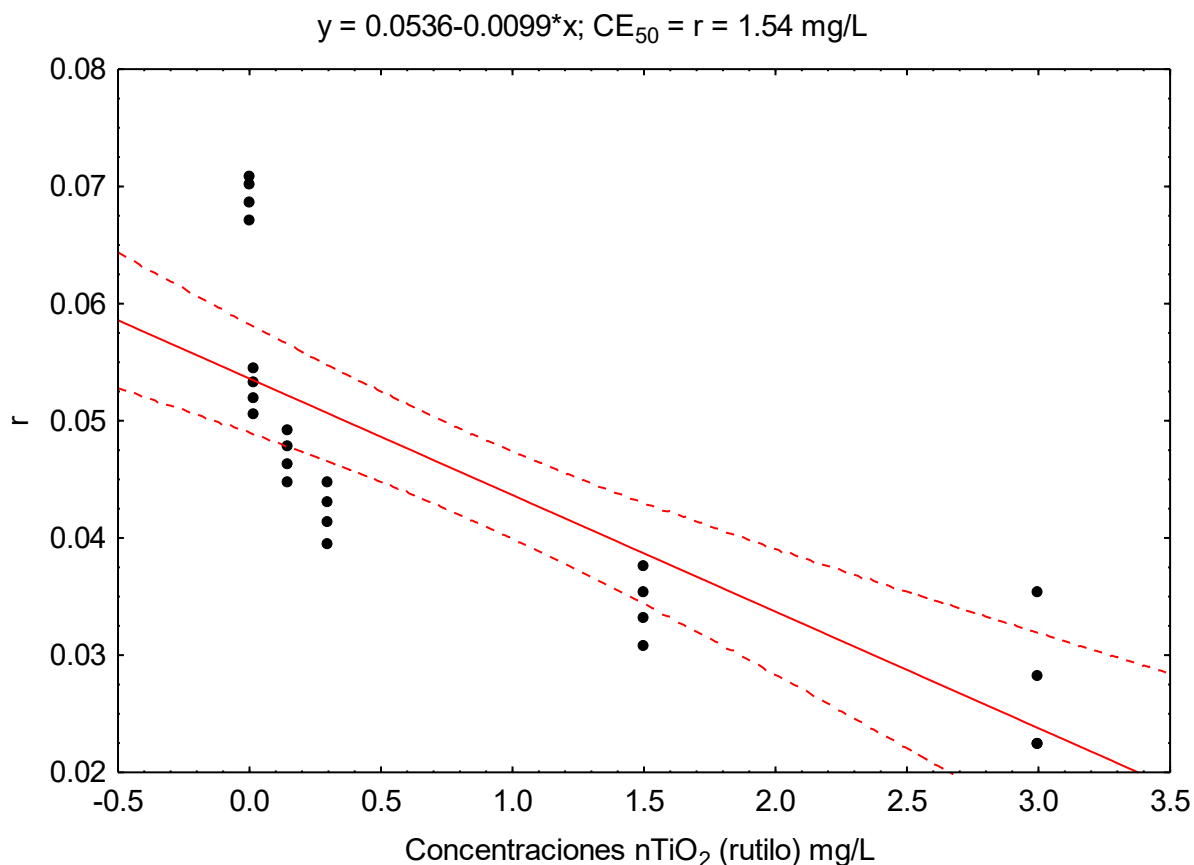


Figura 24. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de *C. cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml. En una prueba de 2 ml.

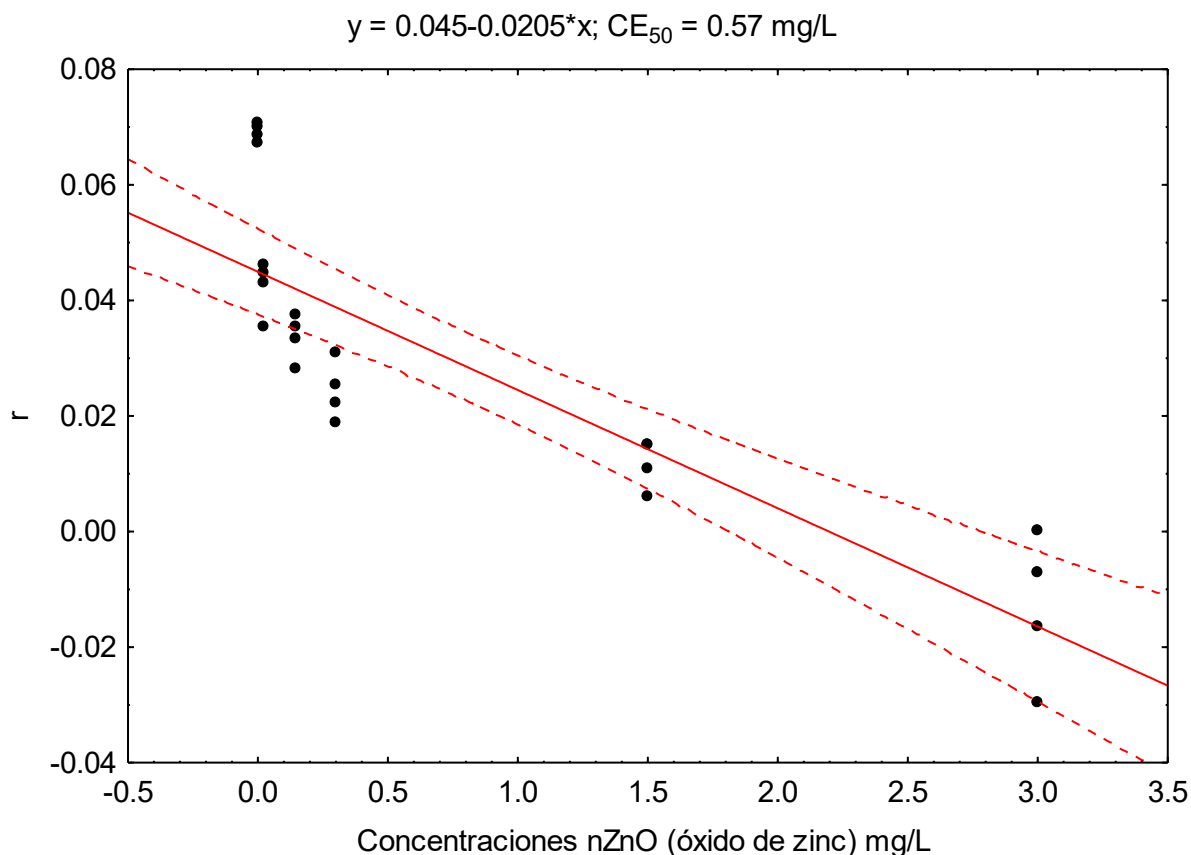


Figura 25. Gráfico en el que se muestra la regresión de la exposición de TiO_2 (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de *C. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos /ml. En una prueba de 2 ml.

6.6 Toxicidad aguda en el zooplancton con especies de Quintana Roo.

Los valores de toxicidad aguda (CL_{50}) obtenidos con el rotífero (*L. cornuta*), y el ostrácodo (*C. cf. vidua*) para las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y óxido de zinc (ZnO) nos indican que el reactivo anatasa (TiO_2) es más tóxica si consideramos que el valor CL_{50} es de 19.05 mg/L en *L. cornuta* con un tamaño ($<25 \text{ nm}$), seguido de la anatasa-rutilo con un CL_{50} de 40.67 mg/L con un tamaño ($<100 \text{ nm}$), en el caso del rutilo que tiene un mayor tamaño ($<25 \mu\text{m}$) su valor de CL_{50} es de 35.52 mg/L . en el caso de *C. cf. vidua* lo valores CL_{50} , como se observan en el cuadro 15, los valores de toxicidad aguda en el ostrácodo obtenidos con el dióxido de titanio TiO_2 nos indican que la anatasa es más tóxica con CL_{50} de 476.01 mg/L ,

anatasa-rutilo con 682.38 mg/L y rutilo: CL₅₀ con 462.67 mg/L, lo que indica que en este caso indica que para el rotífero la anatasa es más toxica, y la mezcla de anatasa-rutilo y rutilo presentan los mismos efectos letales, en el caso del ostrácodo el rutilo es levemente más toxico que la anatasas, sin embargo la mezcla genera un mayor efecto letal en este organismo, considerando las dos especies de estudio, para el caso de Cancún, con respecto al TiO₂ la especie más tolerante por mucho es el ostrácodo. En el caso de la CL₅₀ de ZnO para el rotífero, es de 3.52 mg/L, y para el ostrácodo es de 27.91 mg/L, lo que indica que el rotífero es el más sensible, en comparación al ostrácodo, de manera que el ostrácodo es el más tolerante. A continuación, se muestran los valores.

Cuadro 14. Valores de toxicidad aguda en especies de Quintana Roo se muestran a continuación. Concentraciones letales 50 y 10 de dióxido de titanio (TiO₂) y óxido de zinc (ZnO) para *Lecane cornuta*, y *C. vidua*, con sus respectivos valores, NOEC = Concentración en donde no se observa efecto, y LOEC = Concentración donde se observa el primer efecto más bajo, r^2 = coeficiente de determinación, σ = desviación estándar y CL = límites de confianza menor y mayor al 95 %.

Especies	Tóxico	R ²	Σ	NOEC	LOEC	CL ₁₀	CL ₅₀	-95 % LC	+95 % LC
<i>Lecane cornuta</i>	Anatasa	0.73	2.22	0.5	1	0.71	19.05	12.88	28.84
	Anatasa-rutilo	0.95	2.22	0	16	2.02	40.67	33.73	40.04
	Rutilo	0.85	2.04	0	16	2.09	35.52	28.04	45
	óxido de zinc	0.57	2.71	0	0.5	1.1	9.88	5.73	17.02
<i>C. vidua</i>	Anatasa	0.90	1.74	86	100	3.49	476.01	342.01	662.51
	Anatasa-rutilo	0.80	1.67	86	100	6.58	682.38	461.96	1007.96
	Rutilo	0.80	1.93	73	86	7.02	462.67	303.70	704.86
	Óxido de zinc	0.88	1.93	23	31	2.20	99.84	81.37	122.52

Nota: Concentraciones letales 10 y 50 y LC en mg/L.

6.6.1 Toxicidad crónica en el zooplancton con especies de Quintana Roo.

Los valores crónicos (CE₅₀) obtenidos de las especies de Quintana Roo, se expresan a continuación, con la especie *L. cornuta*, en el cuadro 16 se observan los valores y sus respectivas r^2 , los NOEC, LOEC, los límites de confianza mínimos y

máximos, así como su desviación estándar. Los valores de toxicidad crónica en especies de Cancún, obtenidos a 5 días de exposición en el caso de rotífero: *L. cornuta*, y 31 días para el ostrácodo *C. cf. vidua*. Se puede observar que la concentración efectiva 50 (CE₅₀) es menor para óxido de zinc con 3.52 mg/L, para anatasa 11.42 mg/L, 36.41 mg/L para anatasa-rutilo y por último para rutilo 37.11 mg/L, lo que indicaría es que el óxido de zinc inhibe mayormente la tasa de crecimiento poblacional, seguido de anatasa y por último el rutilo, en el caso de *C. cf. vidua* la concentración efectiva 50 (CE₅₀) es menor para óxido de zinc con 27.91 mg/L, para anatasa 457.03 mg/L, 336.01 mg/L para anatasa-rutilo y por último para rutilo 463.12 mg/L, lo que indicaría que de igual forma el óxido de zinc inhibe mayormente la tasa de crecimiento poblacional.

Cuadro 15. Valores de toxicidad crónica en especies de Quintana Roo.

Especie	Tóxico	r ²	σ	NOEC	LOEC	CE ₅₀	-95 % CL	+95 % CL
<i>L. cornuta</i>	Anatasa	0.7	0.18	1	5	11.42	2.83	20.01
	Anatasa-rutilo	0.69	0.15	10	16	36.41	21.75	51.07
	Rutilo	0.58	0.14	16	23	37.11	13.50	60.85
	Óxido de zinc	0.85	0.30	1	5	3.52	2.04	5.0

Nota: NOECs y LOECs, CE₅₀, y LC en mg/L

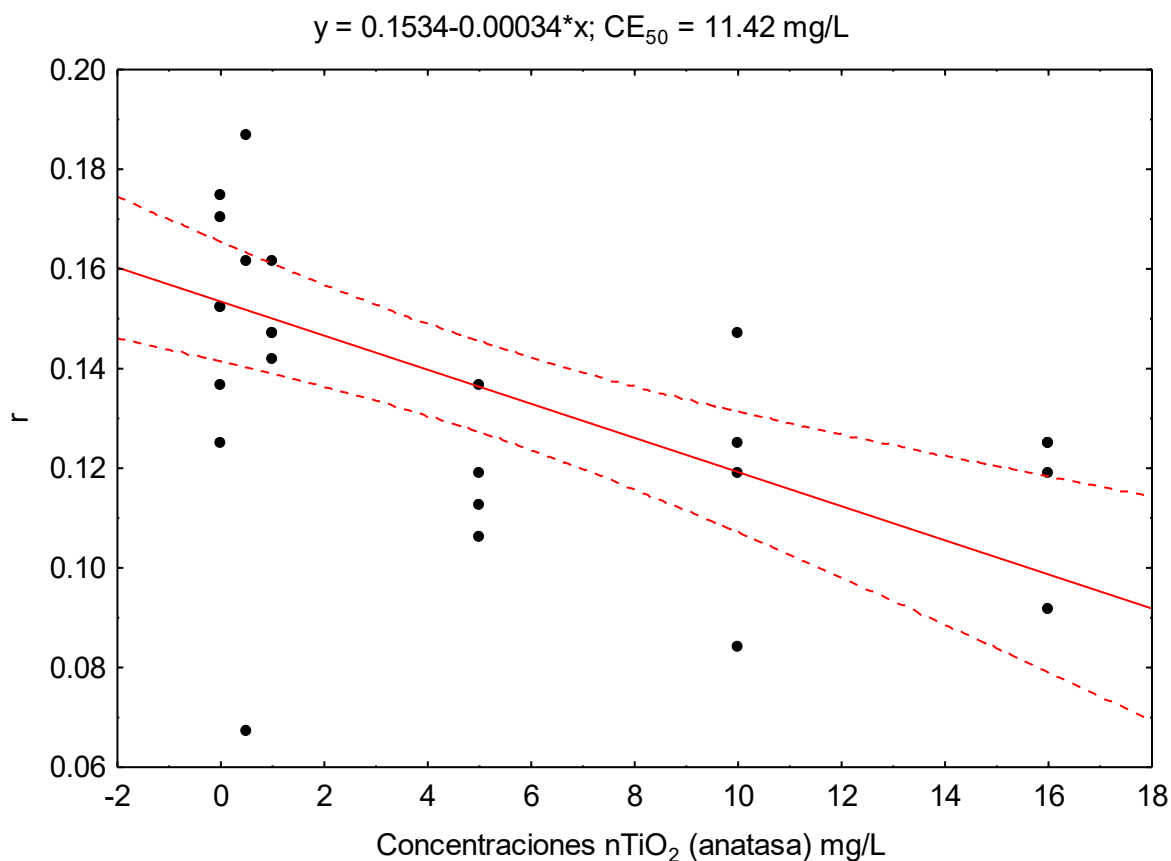


Figura 26. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (anatasa), en la tasa de crecimiento de *L. cornuta* a un tiempo de 5 días y alimentados con *Chlorella vulgaris*, con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos /ml, en una prueba de 2 ml.

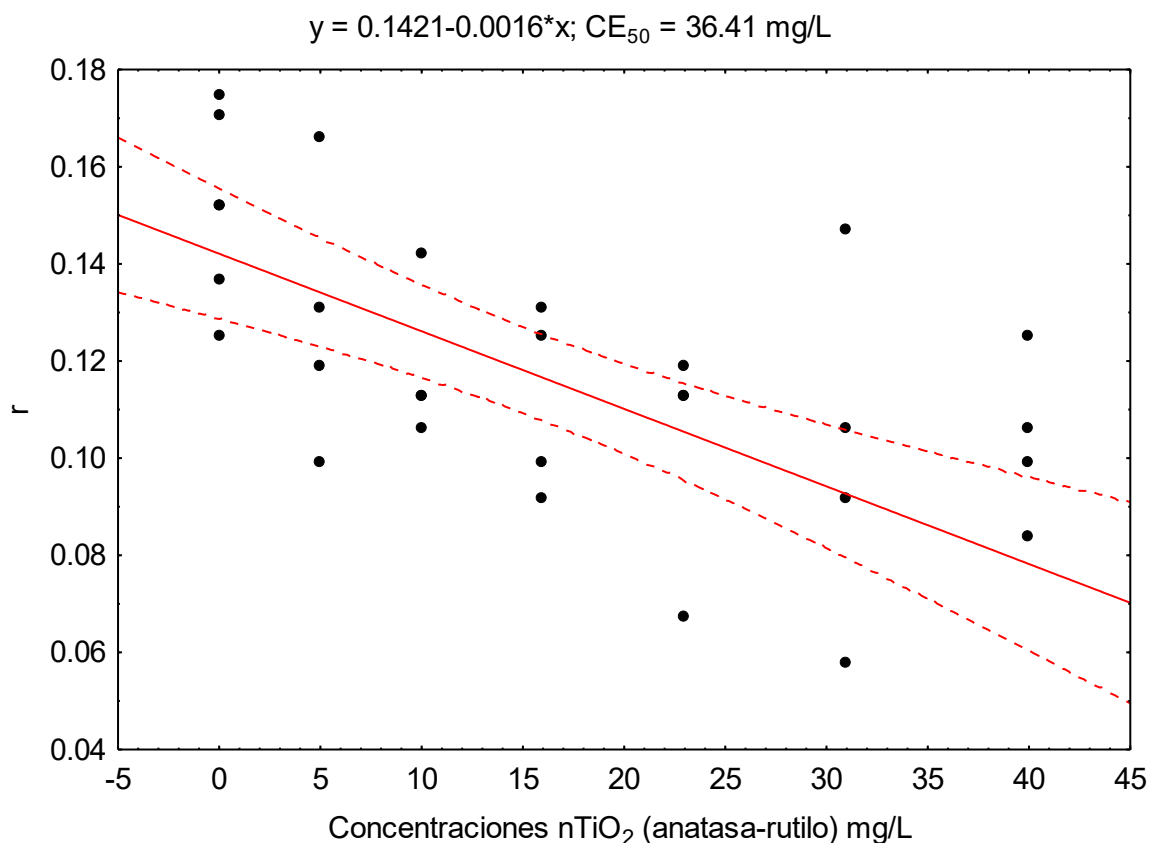


Figura 27. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de *L. cornuta* a un tiempo de 5 días y alimentados con *Chlorella vulgaris*, con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.

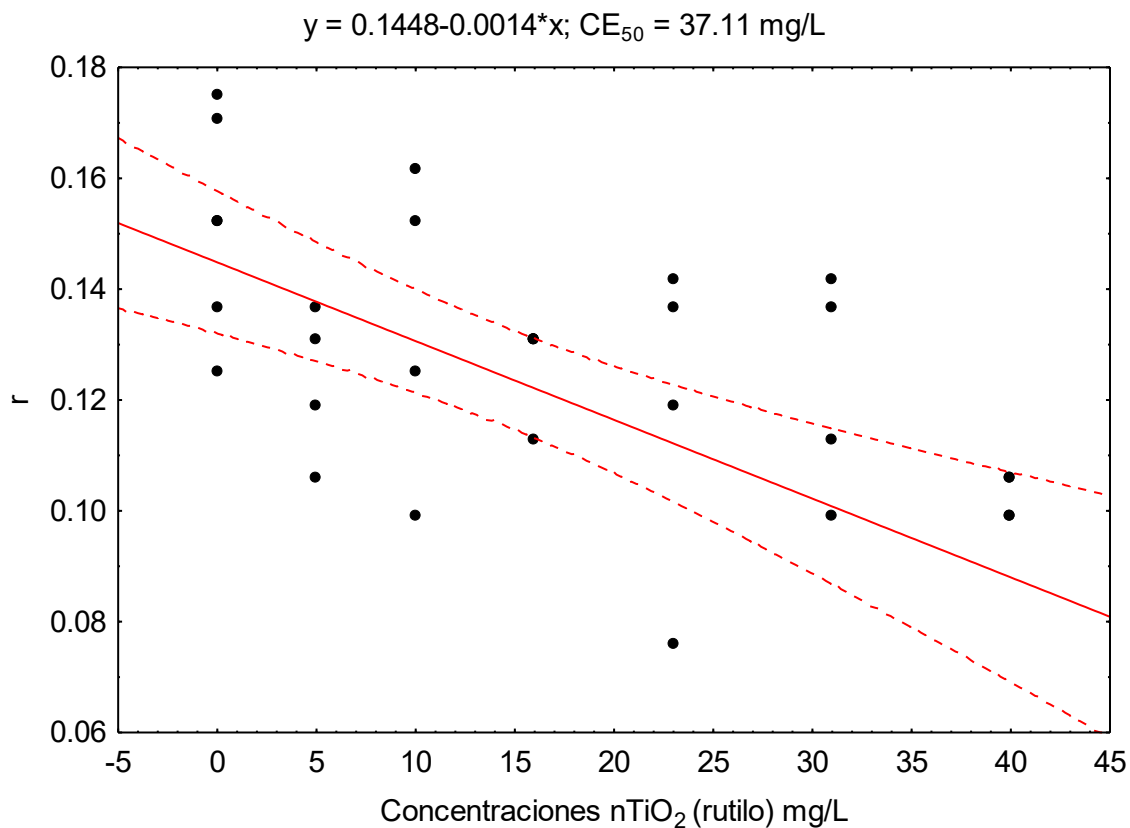


Figura 28. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO₂ (rutilo), en la tasa de crecimiento de *L. cornuta* en un tiempo de 5 días y alimentados con *Chlorella vulgaris*, con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos/ml en una prueba de 2 ml.

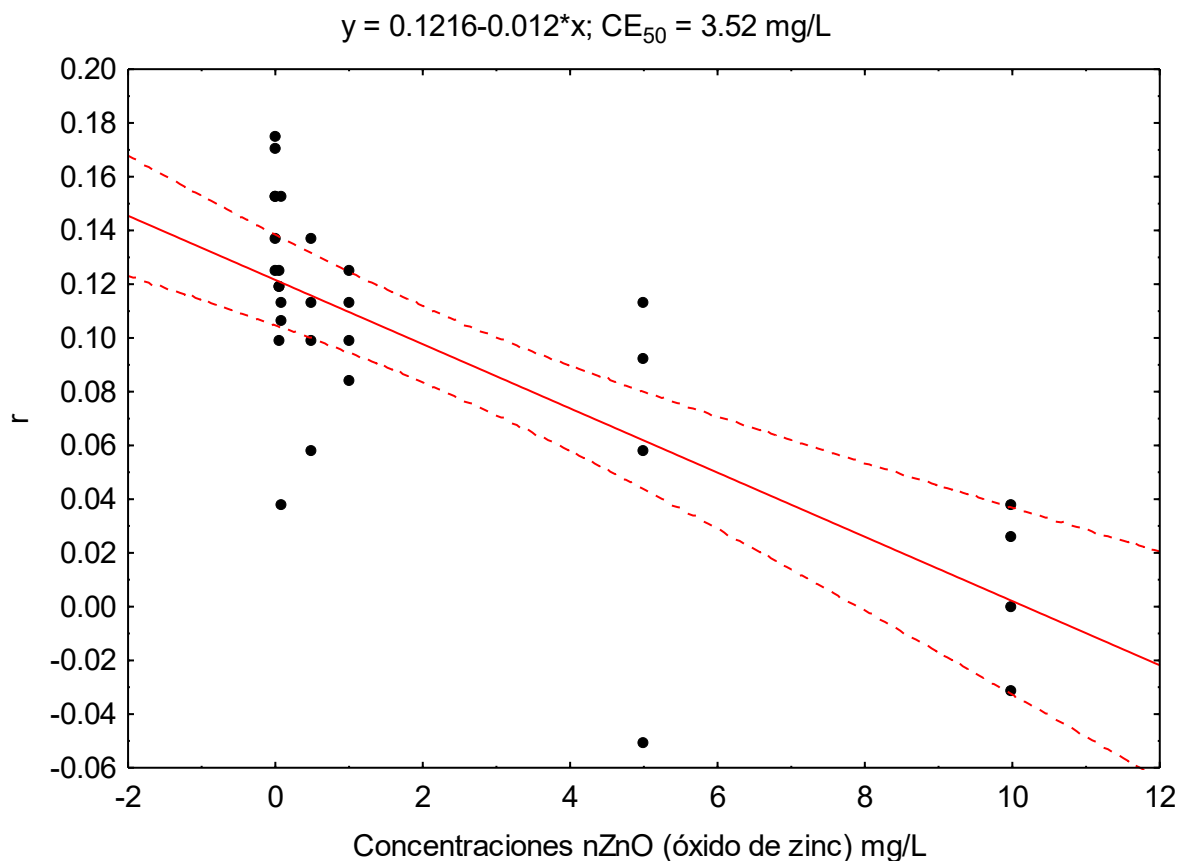


Figura 29. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de *L. cornuta* a un tiempo de 5 días y alimentados con *Chlorella vulgaris*, con una densidad poblacional inicial de los 10 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.

Los valores crónicos (CE_{50}) obtenidos de las especies de Quintana Roo, se expresan a continuación con la especie *C. cf. vidua*. En el siguiente cuadro se observan los valores de CE_{50} de los cuatro tóxicos obtenidos con *L. cornuta* y sus respectivas r^2 , los NOEC, LOEC y los mínimos y máximos, así como su desviación estándar.

Cuadro 16. Valores de toxicidad crónica en especies de Quintana Roo.

Especie	Tóxico	R ²	σ	NOEC	LOEC	CE ₅₀	-95 % CL	+95 % CL
<i>C. cf. vidua</i>	Anatasa	0.9	0.31	---	100	457.03	323.78	590.28
	Anatasa-rutilo	0.91	0.22	100	160	336.01	266.42	405.60
	Rutilo	0.91	0.25	100	200	463.12	320.63	585.60
	Óxido de zinc	0.80	0.43	---	5	27.91	2.55	27.91

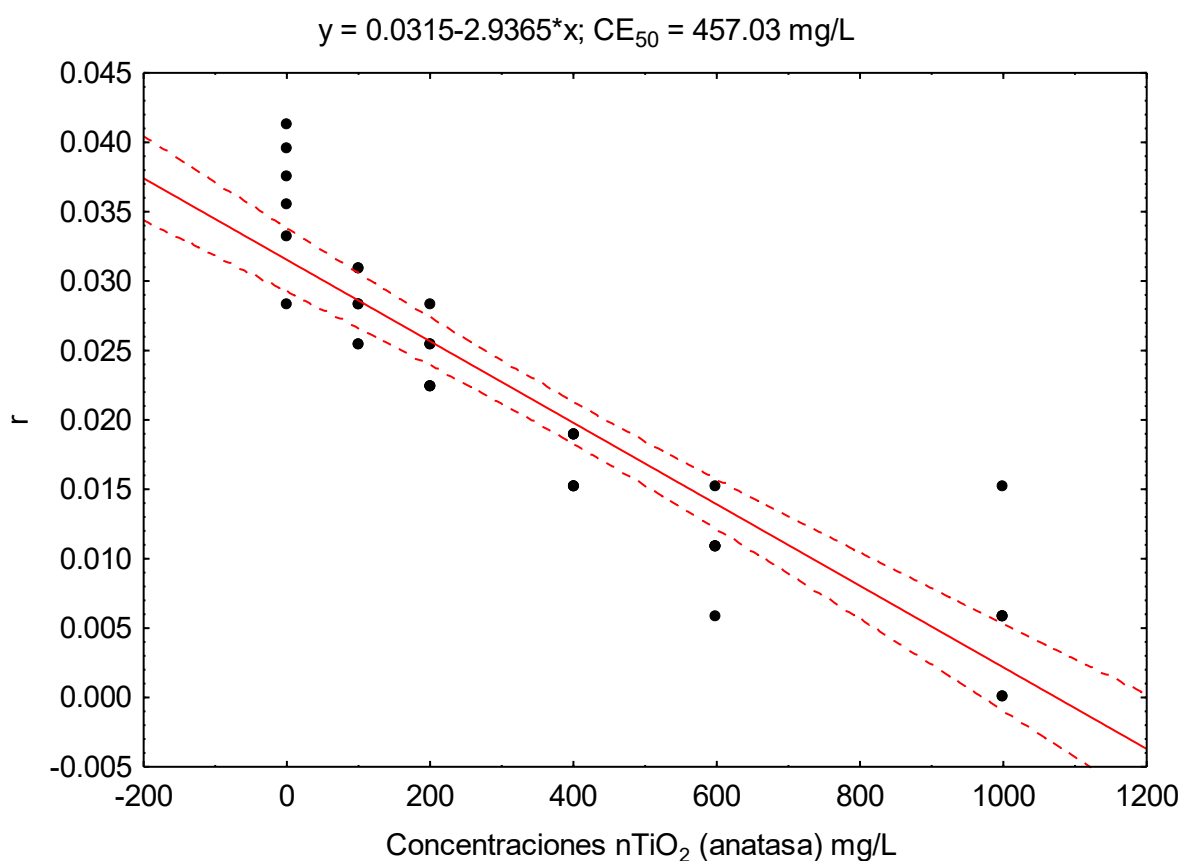


Figura 30. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO₂ (anatasa), en la tasa de crecimiento de *C. cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.

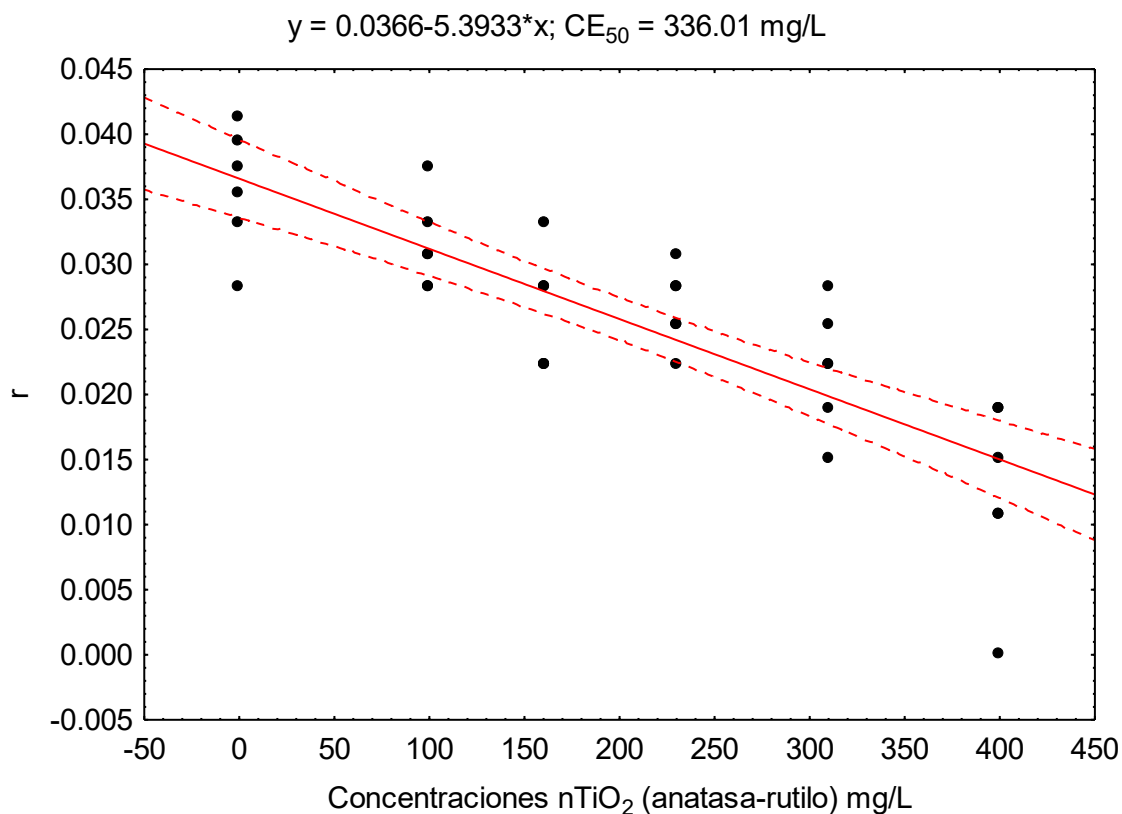


Figura 31. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO₂ (anatasa-rutilo), en la tasa de crecimiento de *C. cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm² de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.

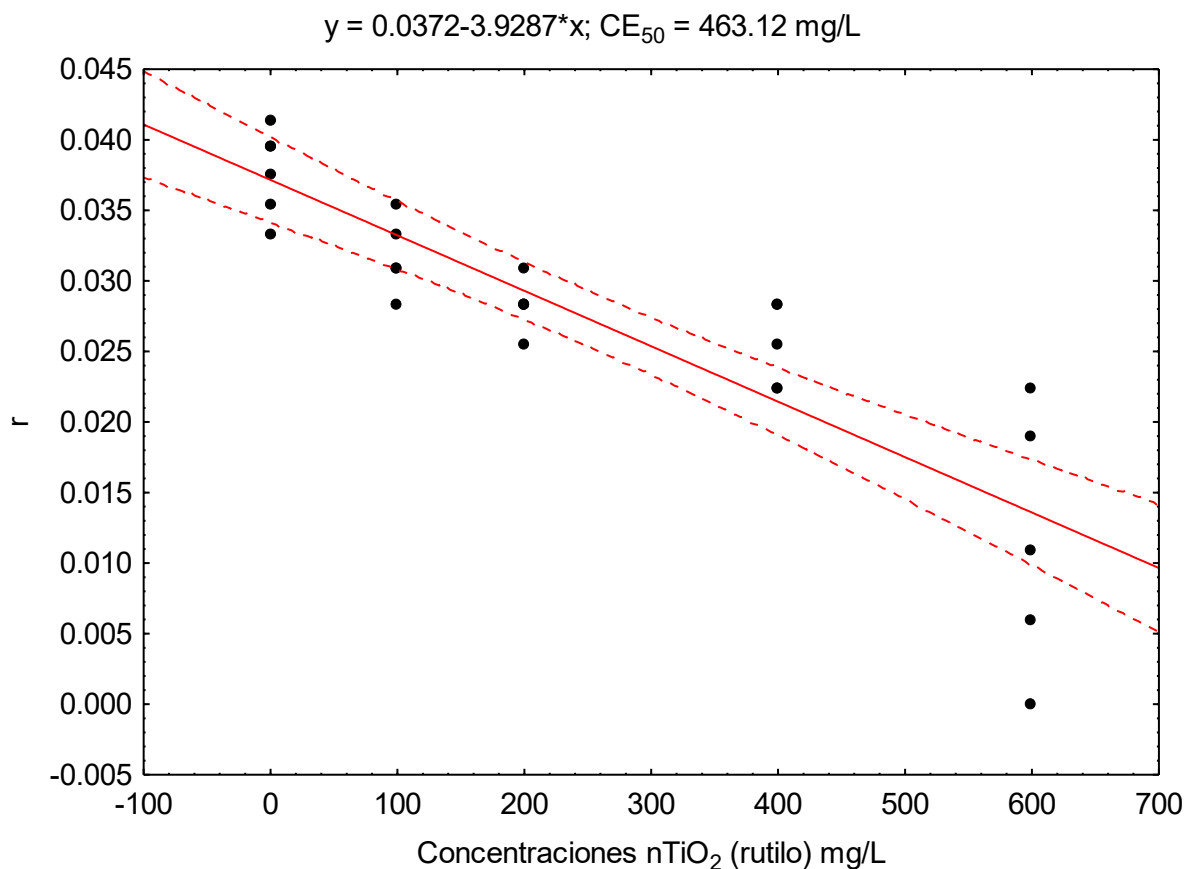


Figura 32. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (rutilo), en la tasa de crecimiento de *C. cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.

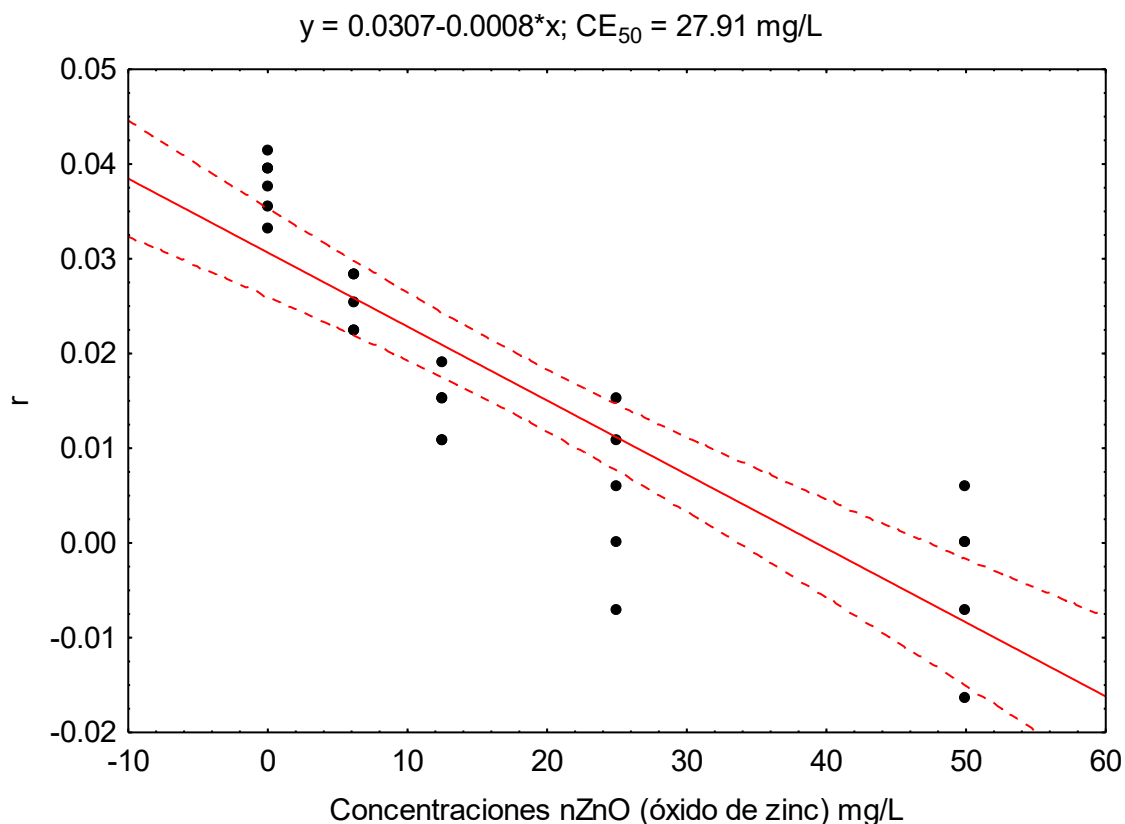


Figura 33. Gráfico en el que se muestra la regresión lineal de la exposición de TiO_2 (óxido de zinc), en la tasa de crecimiento de *C. cf. vidua* en un tiempo de 31 días y alimentados con 3 cuadros de 1 cm^2 de lechuga, con una densidad poblacional inicial de los 5 organismos/ml, en una prueba de 2 ml.

6.6 Análisis de microelementos en la batería de especies, expuestos a las nanopartículas, utilizando microscopía electrónica de barrido y rayos X

Se obtuvieron, más de 100 fotografías de los organismos expuestos a la concentración letal 50 de anatasa, anatasa-rutio y rutilo, con sus respectivos controles; de organismos de las especies: *C. cf. vidua* y *C. sphaericus*. Las concentraciones de exposición usadas para cada especie. Se están analizando por especie la composición elemental, para notar diferencias estadísticas, se observa que el titanio solo se deposita y se observa su presencia en crustáceos, mientras que el zinc solo se observó en rotíferos. Se desea analizar si existe disminución en la composición elemental de controles y expuestos a las nanopartículas.

Para ostrácodos: anatasa: 32.98 mg/L, anatasa-rutilo: 38.98 mg/L, rutilo: 63.62 mg/L y óxido de zinc: 5.58 mg/L, y para cladóceros: anatasa: 12.05 mg/L, anatasa-rutilo: 19.76 mg/L, rutilo: 37.11 mg/L, óxido de zinc: 1.56 mg/L.

Cuadro 17. Tabla de detección de nanopartículas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) y rayos X (EDS).

Presencia de macro y micro elementos (Controles)				
Grupo	Especies	Composición química	Nanopartículas	
			TiO ₂	ZnO
Ostrácodo	<i>C. cf. vidua</i>	C, O, Al, Mg, Ca, Cu, Tc y Hf	No	No
Cladóceros	<i>C. sphaericus</i>	C, O, Al, Ca y Hf	No	No
Rotífero	<i>L. quadridentata</i>	C, O, Si, Ca y Cu	No	No

Nota: Valores obtenidos con rotífero para la tesina de Macarena Guillén Escobar.

Cuadro 18. Tabla de detección de nanopartículas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) y rayos X (EDS) en exposición aguda.

Presencia de macro y micro elementos (Exposición aguda)				
Grupo	Especies	Composición química	Nanopartículas	
			TiO ₂	ZnO
Ostrácodo	<i>C. cf. vidua</i>	C, O, Al, Mg, Ca, Cu, Tc y Hf	SI	No
Cladóceros	<i>C. sphaericus</i>	C, O, Al, Ca y Hf	SI	No
Rotífero	<i>L. quadridentata</i>	C, O, Si, Ca y Cu	No	SI

Nota: Valores obtenidos con rotífero para la tesina de Macarena Guillén Escobar.

Modelo conceptual de la detección de nanopartículas en *C. cf. vidua* y *C. sphaericus*

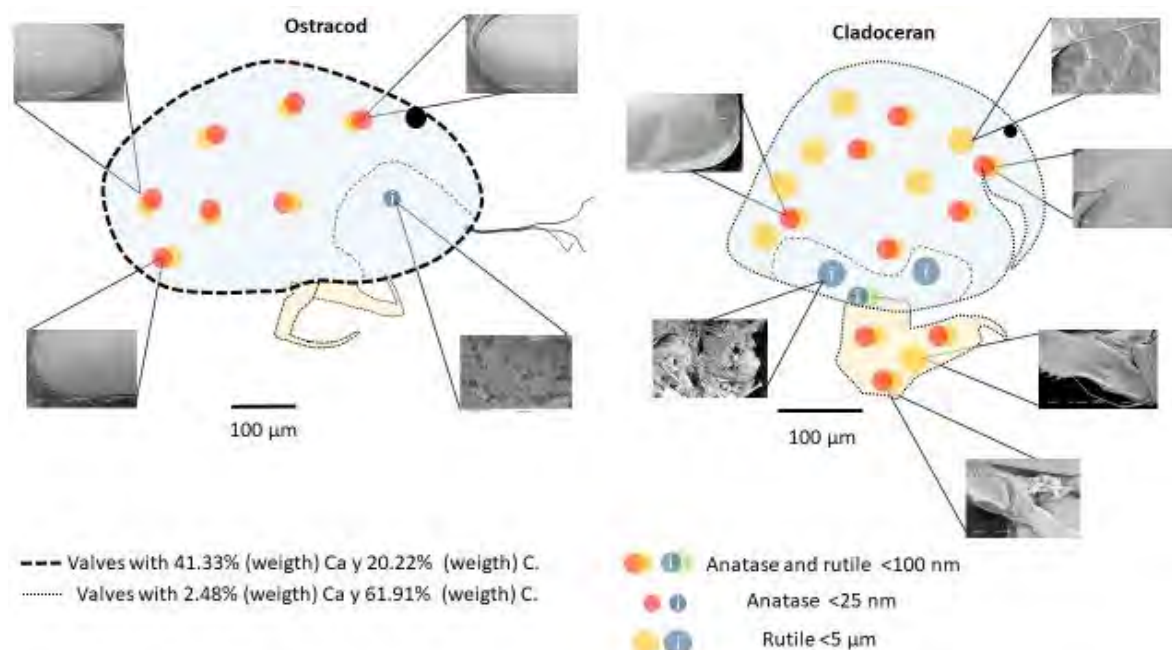


Figura 34. Se observan las fotografías de MEB y EDS-X, de las especies utilizadas (estructuras internas y externas), y espectro de composición elemental, sin embargo, no se detectó la presencia de zinc, posibles concentraciones no detectables.

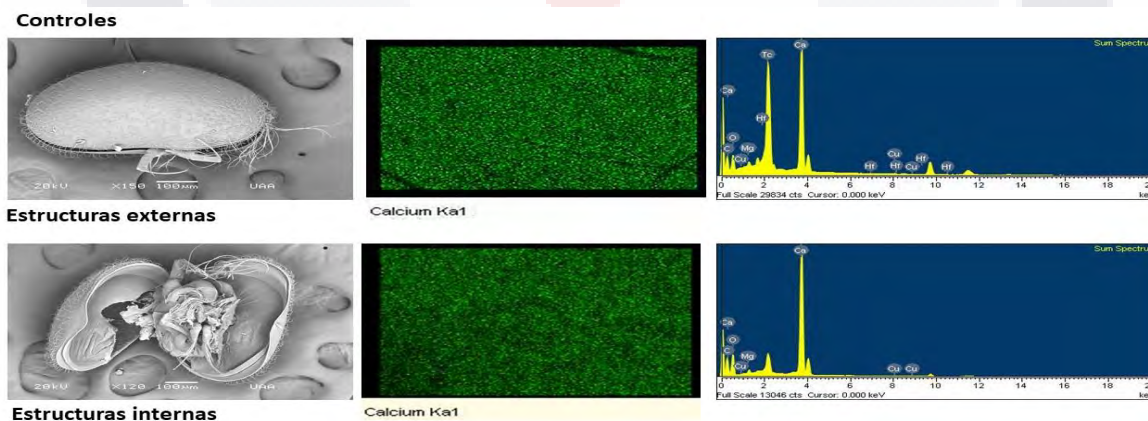
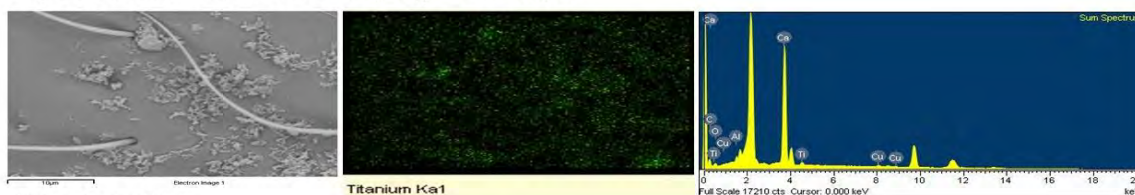


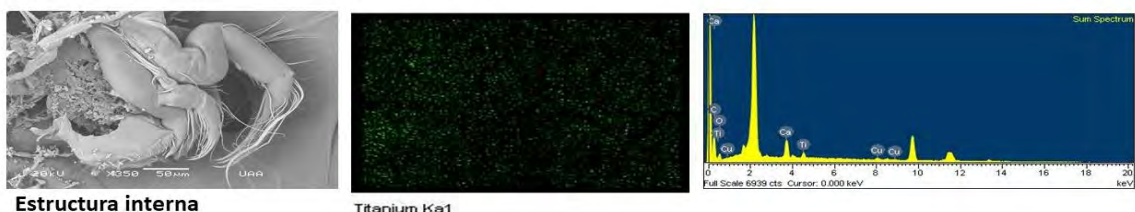
Figura 35. Fotografías del ostrácodo: *C. cf. vidua*: control (organismo no expuesto) con presencia de calcio como elemento más abundante en estructuras internas y externas.

Exposición a titanio: Anatasa-Rutilo; $CL_{50} = 32.98$ mg/L.



Estructura externa

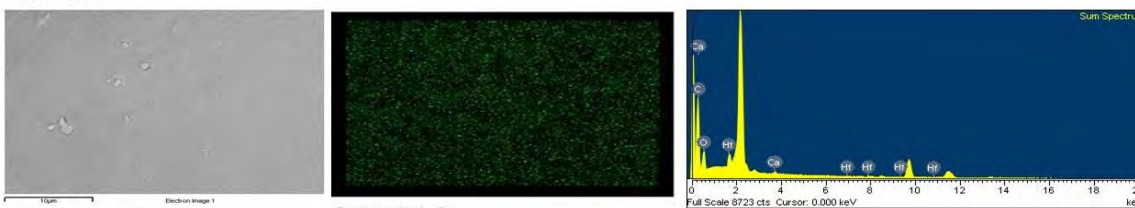
Exposición a titanio: Anatasa: $CL_{50} = 38.98$ mg/L.



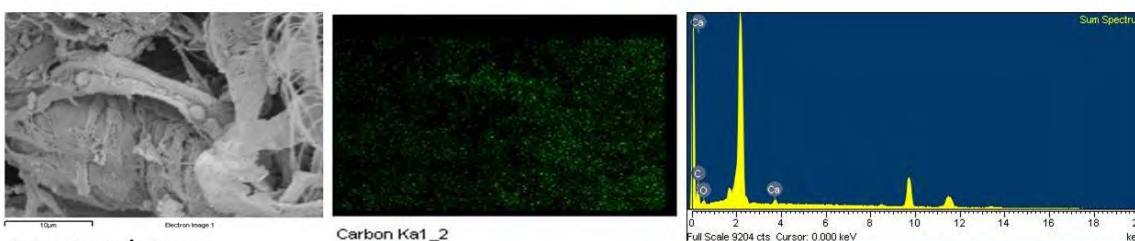
Estructura interna

Figura 36. Fotografías del cladócero: *C. cf. vidua*: organismo expuesto, y detención de titanio (anatasa-rutilo) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas

Controles



Estructuras externas



Estructuras internas

Figura 37. Fotografías del cladócero: *C. sphaericus*: control (organismo no expuesto) con presencia de carbono como uno de los elementos más abundante en estructuras internas y externas.

Exposición a titanio: Anatasa: $CL_{50} = 12.05 \text{ mg/L}$.



Exposición a titanio: Anatasa; $CL_{50} = 12.05 \text{ mg/L}$.



Figura 38. Fotografías del cladócero: *C. sphaericus*: organismo expuesto, y detención de titanio (anatasa) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.

Exposición a titanio: Rutilo: $CL_{50} = 37.11 \text{ mg/L}$.

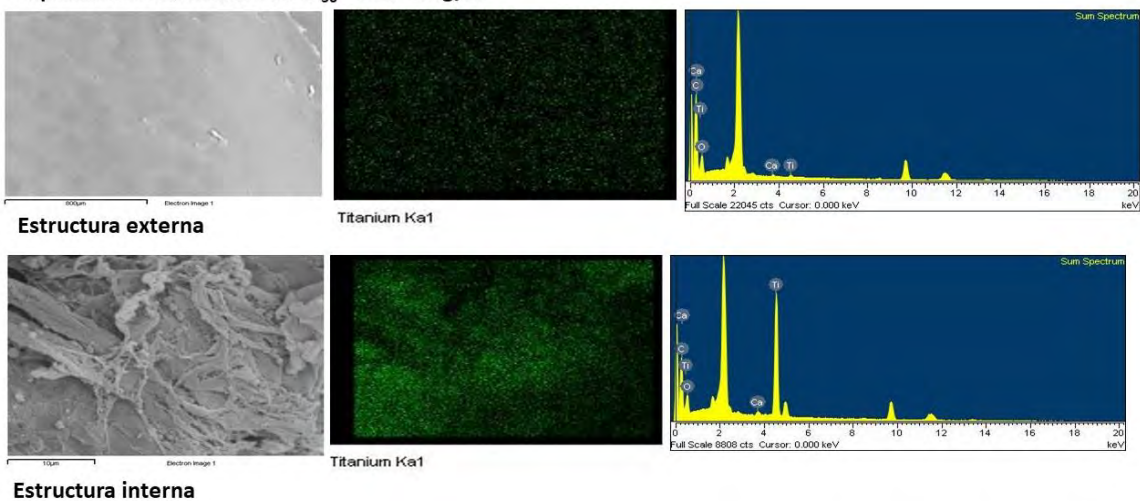


Figura 39. Fotografías del cladócero: *C. sphaericus*: organismo expuesto, y detención de titanio (rutilo) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.

Exposición a titanio: anatasa-rutilo: CL₅₀ = 19.76 mg/L.

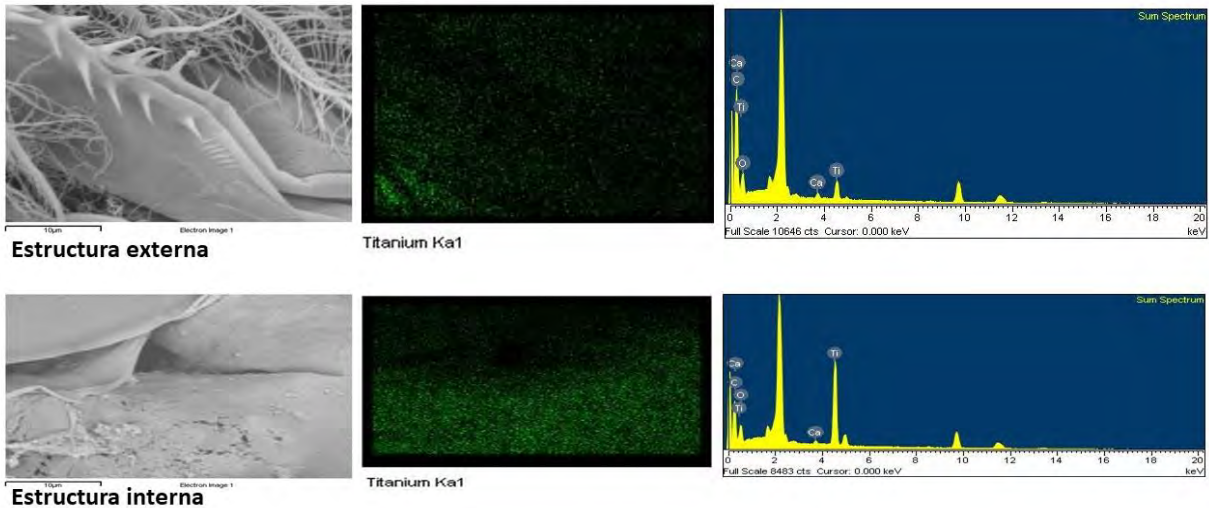


Figura 40. Fotografías del cladócero: *C. sphaericus*: organismo expuesto, y detención de titanio (anatasa-rutilo) como elemento de exposición, en estructuras internas y externas.

A continuación, se observan las gráficas de la composición elemental promedio del ostrácodo: *C. cf. vidua*: controles y exposiciones CL₅₀ con presencia de titanio, en estructuras internas y externas.

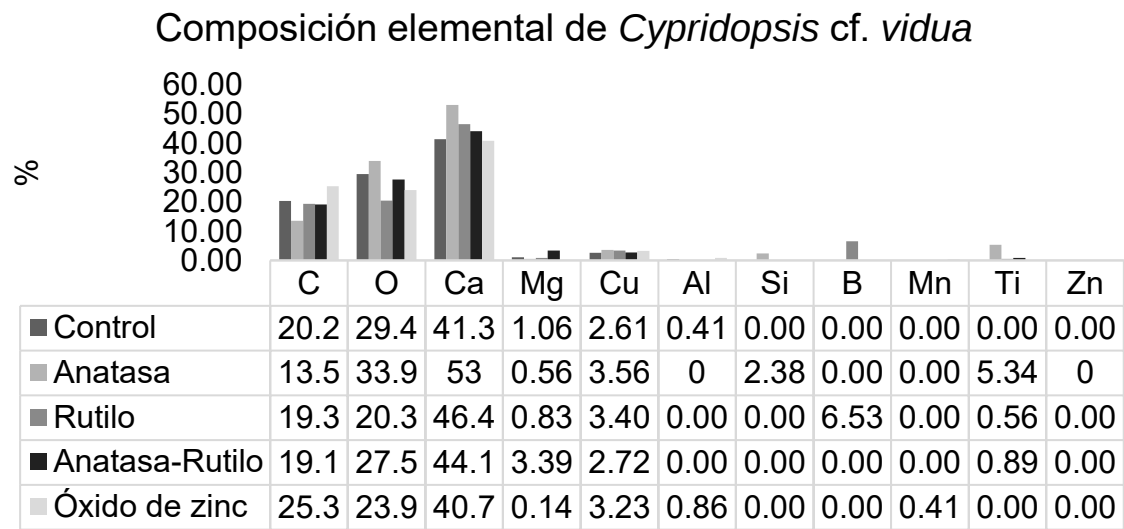


Figura 41. Porcentajes de la composición elemental del ostrácodo *C. cf. vidua*.

Controles (organismos no expuestos) frente a organismos expuestos a NPTD: anatasa (A), anatasa-rutilo (A-R), rutilo(R) y NPZO. Control N = 10; NPTD (A) = 9; NPTD (R) = 11; NPTD (A-R): 13; NPZO = 11. * significa que sólo se encontró un valor para ese elemento.

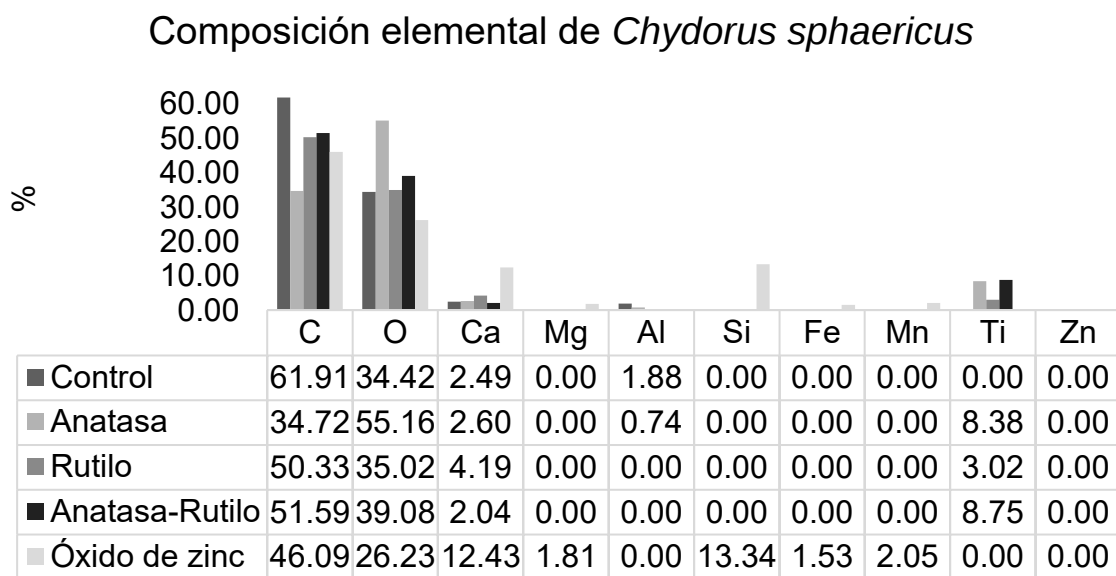


Figura 42. Porcentajes de la composición elemental del ostrácodo *C. sphaericus*.

Controles (organismos no expuestos) frente a organismos expuestos a NPTD: anatasa (A), anatasa-rutilo (A-R), rutilo(R) y NPZO. Control N = 11; NPTD (A) = 11; NPTD (R) = 11; NPTD (A-R): 12; NPZO = 12.

1. DISCUSIÓN

La descarga de las nanopartículas en los ecosistemas acuáticos es una realidad a lo largo del mundo, en consecuencia, se incrementan las concentraciones y en algunos casos se pueden cuantificar hasta 100 mg/L como fue el caso del Reino Unido (Dedman *et al.*, 2021). Su presencia puede estar afectando las especies que

habitan en estos ecosistemas, y nuestros resultados indican que se requieren 0.55 mg/L de dióxido de titanio (TiO_2) para generar un efecto letal 50 en el zooplancton. En Aguascalientes, el gobierno y las políticas públicas, buscan el fomento a las industrias, lo que implicaría el uso de nuevas tecnologías, lo que podría estar incrementando la descarga de nanopartículas en los ecosistemas acuáticos. Y esto tendría un efecto adverso en los organismos acuáticos, por ejemplo, en el río San Pedro se han detectado 50.6 mg/kg de zinc en sedimento (Guzmán-Colis *et al.*, 2011). Nuestros valores indican que con 1.065 mg/L de nanopartículas de óxido de zinc, se observa un efecto letal en rotíferos. Sin embargo, es necesario cuantificar y revisar la concentración de zinc disuelto en agua, para estimar con precisión el riesgo potencial a la vida acuática, por la exposición a zinc.

En este sentido, por ejemplo, en Quintana Roo, el estudio de Balam-Hernández y González-Ortega (2022) reportan Zn en rotíferos, en un rango de 0.003-0.007 mg/L. Además, ellos calcularon los factores de bioacumulación en rotíferos, reportando valores que van desde 48 – 13,174, en cenotes ecoturísticos de Puerto Morelos. Lo que indica que los rotíferos fueron expuestos a zinc, durante una parte de su ciclo de vida en estos ecosistemas acuáticos, sin causarles un efecto letal. El zinc en los sitios de estudio de Balam-Hernández y González-Ortega (2022), no se especifica las fuentes contaminantes, pero al ser turísticos, se puede atribuir al uso intensivo de bloqueadores solares que contienen nanopartículas de óxido de zinc y dióxido de titanio. Por ejemplo, en la misma zona de estudio se encontró la presencia de titanio en gasterópodos, mediante un análisis de microelementos por rayos X en el microscopio electrónico de barrido. Esto indica que la presencia de titanio en la biota acuática de la región de Quintana Roo, es por exposición al metal, que llega al agua de los ecosistemas acuáticos, y es acumulada en los tejidos estructurales del zooplancton, lo que aporta el estudio de la bioacumulación de metales pesados en zooplancton de cenotes en las regiones de Puerto Morelos y Lázaro Cárdenas, Quintana Roo, datos fundamentales para comprender los riesgos ambientales a los que están expuestos estos ecosistemas acuáticos, evidenciando la presencia y acumulación de metales pesados, como el Zn y el Ti, en especies de zooplancton, lo cual puede representar un riesgo tanto para las especies locales como para los

seres humanos que dependen de estos recursos hídricos, siendo estos a nivel nanométrico mas reactivos y tóxicos a largo plazo para las especies.

La toxicidad de las nanopartículas puede compararse con valores de toxicidad de metales disueltos en experimentos de laboratorio. Por ejemplo, Rico-Martínez *et al.* (2013) reporta un valor de CL_{50} de 52.87 mg/L de titanio disuelto en medio reconstituido, usando rotíferos como organismos indicador, mientras que nuestro valor promedio de CL_{50} fue de 23.09 mg/L en rotíferos, pero usando nanopartículas de dióxido de titanio, sugiere, que la toxicidad del titanio en nanopartículas es más alta que el titanio disuelto, es importante mencionar que las nanopartículas, acorde a nuestros datos de diámetro hidrodinámico forman agregados > 1000 nm.

En cuanto a la toxicidad del zinc disuelto comparado con el óxido de zinc en nanopartículas, acorde a los valores de toxicidad reportados por Rico-Martínez *et al.* (2013) la toxicidad es menor cuando el zinc esta disuelto ($CL_{50} = 1.28$ mg/L) comparado con el óxido de zinc en nanopartículas ($CL_{50} = 1.06$ mg/L), en rotíferos, pero si lo comparamos con los ostrácodos, el zinc disuelto acorde a Rico-Martínez *et al.* (2013) es más toxico que en nanopartículas, como se puede observar en los resultados obtenidos y la CL_{50} es 5.58 mg/L.

En general la sensibilidad a las nanopartículas, en las dos especies de rotíferos, son más sensibles, que en el cladócero y estos son más sensibles que el ostrácodo. Esto podría estar relacionado con distribución ambiental, y la ubicación de estas especies en las redes o niveles tróficos, así como sus mecanismos de ingestión-excreción y retención de las nanopartículas. Los rotíferos son organismos tiene una amplia distribución en la zona litoral, los cladóceros principalmente tienen una distribución limnética y los ostrácodos una distribución principalmente bentónica.

Por lo que la interacción de las nanopartículas, con estos organismos es diferente y la naturaleza de las nanopartículas, de formar agregados se precipita y va al fondo del cuerpo de agua, por lo tanto, especies bentónicas son expuestas con mayor frecuencia a este tipo de contaminantes que forma agregados, en consecuencia, los ostrácodos necesitan mecanismos de mayor tolerancia a contaminantes altamente concentrados en el sedimento. La alimentación de estos grupos de igual forma es

distinta mientras que los rotíferos y cladóceros son filtradores, los ostrácodos son detritívoros.

Otro factor importante que explica porque los cladóceros y ostrácodos son más tolerantes comparados con los rotíferos, es debido, a las valvas secretan un caparazón de calcita que ante la presencia de metales estos pueden ser absorbidos por sus estructuras cristalinas durante la secreción de la concha (Palacios Fest *et al.*, 2003) y depositados en la lamela externa (Laprida & Ballent, 2007), que posteriormente la mudan, de esta manera estaría expulsando cierta cantidad de metal disminuyendo su efecto en la biología del organismo. Por ello es importante caracterizar los procesos de bioacumulación de nanopartículas, tejidos externos e internos para profundizar en la comprensión de la toxicidad en el zooplancton, y la magnitud del riesgo a la vida acuática, si consideramos que principalmente el TiO₂, pueden agravar los efectos de los metales en los organismos debido a su alta reactividad y capacidad de penetrar en estructuras biológicas. Estos efectos son consistentes con la literatura, donde se ha demostrado que las nanopartículas inducen toxicidad en organismos acuáticos debido a su tamaño y propiedades fisicoquímicas (Azimzada *et al.*, 2020; Blinova *et al.*, 2010). En el caso del zooplancton, estas partículas no solo se bioacumulan, sino que también pueden causar efectos tóxicos a niveles tróficos superiores, lo cual tiene implicaciones importantes para toda la cadena alimentaria en el ecosistema de los cenotes. Se observa en los análisis de rayos X, la presencia de Ti en estructuras internas y externas de ostrácodos y cladóceros. Se detectó en mayor frecuencia el Ti en cladóceros, que en ostrácodos; esto coincide con los resultados de las pruebas de toxicidad aguda, porque la especie más sensible al Ti, es el cladóceros comparado con el ostrácodo. Una posible explicación a esta acumulación, es la composición elemental que poseen los ostrácodos en comparación al cladóceros, nuestros resultados indican que los ostrácodos tienen mayor composición elemental de Ca mientras que los cladóceros no; esto se observa también en la composición elemental del C, pero de forma inversa, el cladóceros tiene mayor composición elemental de C que los ostrácodos. El Ca y C son elementos estructurales importantes en ambas especies, por ejemplo, el Ca es un elemento clave en la

ecdisis y el C es un elemento indispensable en la quitina, una proteína de andamio en los crustáceos. Además, nuestras pruebas de toxicidad aguda, demuestran que el Ti en su presentación de anatasa es más tóxico que el rutilo y la mezcla anatasa-rutilo, esto es debido a que la anatasa (<25 nanómetros) posee un tamaño de partícula menor al Rutilo (<100 nanómetros). Por último, las características fisicoquímicas del Ti en su forma anatasa y rutilo son diferentes, es decir, la anatasa es hidrofílica, mientras que el rutilo es lipofílico (Ji *et al.*, 2010), esto sugiere que la anatasa es más fácil de absorberse por el organismo, mientras que el rutilo no; lo que indica que el rutilo se adsorbe, o se adhiere en las estructuras externas e internas, y la anatasa se adentra y forma parte de los tejidos y estructuras externas. La composición elemental de C en ostrácodos controles es de 20.22% en promedio, mientras que la de Ca es de 41.33%, mientras que en los organismos intoxicados donde se detectó Ti, la concentración promedio de C es de 16.32%, y la de Ca es de 48.56%.

Notamos un decremento en el C y un aumento de Ca, debido a la detección de Ti a una concentración de composición de 3.11%. Sin embargo, es necesario realizar análisis estadísticos para fortalecer este análisis. La composición elemental de C en cladóceros controles es de 61.91% en promedio, mientras que la de Ca es de 2.48%, mientras que en los organismos intoxicados donde se detectó Ti, la concentración promedio de C es de 52.36%, y la de Ca es de 2.9%. Notamos un decremento en el C y un aumento de Ca, debido a la detección de Ti a una concentración de composición de 6.71%. Sin embargo, es necesario realizar análisis estadísticos para fortalecer este análisis.

La cantidad en composición elemental de Ti en cladóceros es más alta que en ostrácodos. El efecto de la exposición al Ti en los organismos de prueba causa un decremento en el C y un aumento en el Ca. El ostrácodo es más tolerante a la exposición al Ti, debido a que su composición estructural es de Ca. La composición elemental de C en ostrácodos controles es de 20.22% en promedio, mientras que la de Ca es de 41.33%, mientras que en los organismos intoxicados donde se detectó Ti, la concentración promedio de C es de 16.32%, y la de Ca es de 48.56%. Notamos un decremento en el C y un aumento de Ca, debido a la detección de Ti a

una concentración de composición de 3.11%. Sin embargo, es necesario realizar análisis estadísticos para fortalecer este análisis.

La composición elemental de C en cladóceros controles es de 61.91% en promedio, mientras que la de Ca es de 2.48%, mientras que en los organismos intoxicados donde se detectó Ti, la concentración promedio de C es de 52.36%, y la de Ca es de 2.9%. Notamos un decremento en el C y un aumento de Ca, debido a la detección de Ti a una concentración de composición de 6.71%. Sin embargo, es necesario realizar análisis estadísticos para fortalecer este análisis. La cantidad en composición elemental de Ti en cladóceros es más alta que en ostrácodos. El efecto de la exposición al Ti en los organismos de prueba causa un decremento en el C y un aumento en el Ca. El ostrácodo es más tolerante a la exposición al Ti, debido a que su composición estructural es de Ca.

Además, nuestros resultados plantean preocupaciones sobre el impacto a largo plazo de la contaminación por metales y nanopartículas, ya que estos contaminantes no solo persisten en el ambiente, sino que también tienen la capacidad de ser transportados dentro del sistema acuático y de llegar a otros organismos a través de redes tróficas. En comparación con los estudios de otros ecosistemas acuáticos (Arifin *et al.*, 2012), este trabajo resalta la vulnerabilidad de los ecosistemas acuáticos del centro del país, en donde la industrialización es un foco de contaminación, además del uso cotidiano de las nanopartículas en diversos productos de uso doméstico y en el caso de los cenotes, y cuerpos de agua costeros con alto riesgo debido a su conexión subterránea y posible exposición a contaminantes provenientes de actividades humanas de recreación turística y de igual forma uso doméstico.

2. CONCLUSIONES

Se estableció una batería de especies de zooplancton para el estado de Aguascalientes con gran potencial para realizar estudios de contaminación de nanopartículas, sin embargo, se requieren realizar más comparaciones con especies de Quintana Roo para conocer su sensibilidad toxicológica. Se observó que las nanopartículas, utilizadas forman agregados mayores a 1000 nm, lo que

significa que pueden depositarse y precipitarse durante las pruebas de toxicidad, sin embargo, el efecto en las especies expuestas, está caracterizado con una baja movilidad, entorpeciendo su motricidad para un desplazamiento adecuado, cuando las nanopartículas se adhieren a estructuras externas de los organismos. Se concluye respectó a la sensibilidad a las nanopartículas, lo siguiente: los rotíferos son los más sensibles, en sensibilidad a la exposición siguen los cladóceros y por último los ostrácodos, si comparamos los resultados de las especies de Quintana Roo con las especies de Aguascalientes, las especies de Quintana Roo son más tolerantes. Lo que indica que las características fisicoquímicas y la presencia de estos contaminantes en ambientes dulces o salobres, de Quintana Roo influye en la tolerancia de estas especies. El nivel trófico más sensible son los consumidores primarios, es decir los filtradores que se encuentran en la zona litoral hablando específicamente de los rotíferos y cladóceros, después está un segundo nivel trófico o consumidor secundario detritívoro, los ostrácodos; la presencia de las nanopartículas es mayor en los depósitos de materia orgánica e inorgánica, al estar precipitados, en comparación con la columna de agua. Las nanopartículas, de óxido de zinc son más tóxicas que las nanopartículas, de dióxido de titanio. De igual forma las nanopartículas, más pequeñas son más tóxicas que las de tamaño mayor. Es importante realizar más estudios crónicos y agudos de nanopartículas, en otras especies. Los hallazgos de este estudio subrayan la necesidad de implementar políticas de monitoreo y control de la contaminación en cuerpos de agua, tanto de Aguascalientes como Quintana Roo, especialmente en áreas con actividad antropogénica significativa. La bioacumulación de metales pesados en el zooplancton podría afectar no solo la biodiversidad local, sino también la salud humana, dada la dependencia de las comunidades de estos cuerpos de agua como fuente de agua potable y recreación. La presencia y acumulación de nanopartículas de metales como TiO_2 y Zn en el zooplancton plantean riesgos adicionales, ya que estos contaminantes pueden actuar de manera sinérgica, aumentando su toxicidad. Este estudio abre la puerta para futuras investigaciones sobre los efectos a largo plazo de la exposición a nanopartículas en organismos acuáticos, así como sobre los mecanismos de bioacumulación específicos en los cenotes. En resumen, se

destaca la importancia de evaluar no solo los efectos agudos y crónicos, la concentración de contaminantes, sino también su forma y las características del medio ambiente que pueden facilitar su movilidad y bioacumulación. Los resultados obtenidos deben considerarse en la creación de estrategias de conservación y manejo sostenible de los recursos acuáticos en la región, enfatizando la importancia de la regulación de actividades que puedan introducir metales y nanopartículas en estos frágiles ecosistemas.

3. REFERENCIAS

- Aguilar-Hinojosa, Y., Meza-Figueroa, D., Villalba-Atondo, A. I., Encinas-Romero, M. A., Valenzuela-García, J. L., & Gómez-Álvarez, A. (2016). Mobility and bioavailability of metals in stream sediments impacted by mining activities: The Jaralito and the Mexicana in Sonora, Mexico. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227, 345. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3046-1>
- Arifin, Z., Puspitasari, R., & Miyazaki, N. (2012). Heavy metal contamination in Indonesian coastal marine ecosystems: A historical perspective. *Coastal Marine Science*, 35(1), 227–233. https://www.researchgate.net/publication/277161171_Heavy_metal_contamination_in_Indonesian_coastal_marine_ecosystems_A_historical_perspective.
- Azimzada, A., Farner, M. J., Jreije, I., Hadioui, M., Liu-Kang, C., Tufenkji, N., Shaw, P., & Wilkinson, K. J. (2020). Single- and multi-element quantification and characterization of TiO₂ nanoparticles released from outdoor stains and paints. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 91. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00091>.

- Balam-Hernández, M. A., & González-Ortega, L. E. (2022). *Estudios de la bioacumulación de metales pesados en zooplancton de cenotes de Puerto Morelos y Lázaro Cárdenas, Quintana Roo* (Tesis de maestría). Universidad del Caribe, Departamento de Ciencias Básicas e Ingenierías.
- Baveye, P., & Laba, M. (2008). Aggregation and toxicology of titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Health Perspectives*, 116(4), 152–153. <https://doi.org/10.1289/ehp.10915>.
- Bayen, S. (2012). Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: A review. *Environment International*, 48, 84–101. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.07.008>.
- Blinova, I., Ivask, A., Heinlaan, M., Mortimer, M., & Kahru, A. (2010). Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water. *Environmental Pollution*, 158(1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.08.017>.
- Bone, A. J., Colman, B. P., Gondikas, A. P., Newton, K. M., Harrold, K. H., Cory, R. M., Unrine, J. M., Klaine, S. J., Matson, C. W., & Di Giulio, R. T. (2012). Biotic and abiotic interactions in aquatic microcosms determine fate and toxicity of Ag nanoparticles: Part 2—Toxicity and Ag speciation. *Environmental Science & Technology*, 46(13), 6925–6933. <https://doi.org/10.1021/es204683m>.
- Borm, P., Klaessig, F. C., Landry, T. D., Moudgil, B., Pauluhn, J., Thomas, K., Trottier, R., & Wood, S. (2006). Research strategies for safety evaluation of nanoparticles, part V: Role of dissolution in biological fate and effects of nanoparticles. *Toxicological Sciences*, 90(1), 23–32. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj084>.

- Boxall, A., Tiede, K., Chaudhry, Q., Aitken, R., Jones, A., Jefferson, B., & Lewis, J. (2007). Current and future predicted exposure to engineered nanoparticles. *Safety of Nanomaterials Interdisciplinary Research Centre*, 1–13. https://www.researchgate.net/publication/242482108_Current_and_Future_Predicted_Exposure_to_Engineered_Nanoparticles.
- Brunner, T. J., Wick, P., Manser, P., Spohn, P., Grass, R. N., Limbach, L. K., Bruinink, A., & Stark, W. J. (2006). In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: Comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environmental Science & Technology*, 40(14), 4374–4381. <https://doi.org/10.1021/es052069i>.
- Bundschuh, M., Zubrod, P. J., Wieczorek, V. M., & Schulz, R. (2020). Studying effects of contaminants on aquatic-terrestrial subsidies: Experimental designs using outdoor and indoor mesocosms and microcosms. En J. M. Kraus, D. M. Walters, & M. A. Mills (Eds.), *Contaminants and Ecological Subsidies: The Land-Water Interface* (pp. 279–296). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49480-3_12.
- Buruaem, M. L., Hortellani, M. A., Sarkis, E. J., Costa-Lotufo, V. L., & Abessa, M. S. D. (2012). Contamination of port zone sediments by metals from large marine ecosystems of Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 64(3), 479–488. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01.017>.
- Carvalho, P. F., Jean-Pierre, V., Cattini, C., Rendón, J., & Mota de Oliveira. (2009). Pesticide and PCB residues in the aquatic ecosystems of Laguna de Términos, a protected area of the coast of Campeche, Mexico. *Chemosphere*, 74(8), 988–995. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.092>.

- Chen, X., & Mao, S. S. (2007). Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications, and applications. *Chemical Reviews*, 107(7), 2891–2959. <https://doi.org/10.1021/cr0500535>.
- Choi, H., Stathatos, E., & Dionysiou, D. D. (2006). Sol-gel preparation of mesoporous photocatalytic TiO₂ films and TiO₂/Al₂O₃ composite membranes for environmental applications. *Applied Catalysis B: Environmental*, 63(1–2), 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2005.09.012>.
- Clément, L., Hurel, C., & Marmier, N. (2013). Toxicity of TiO₂ nanoparticles to cladocerans, algae, rotifers, and plants: Effects of size and crystalline structure. *Chemosphere*, 90(3), 1083–1090. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.013>.
- Crane, M., Handy, R. D., Garrod, J., & Owen, R. (2008). Ecotoxicity test methods and environmental hazard assessment for engineered nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17(5), 421–437. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0215-z>.
- Daughton, C. G., & Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107(6), 907–938. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107s6907>.
- Dedman, C. J., King, A. M., Christie-Oleza, J., & Davies, G. L. (2021). Environmentally relevant concentrations of titanium dioxide nanoparticles pose negligible risk to marine microbes. *Environmental Science: Nano*, 8(5), 1236–1255. <https://doi.org/10.1039/D0EN00883D>.
- Djearamane, S., Wong, L. S., Mooi, L. Y., & Lee, P. F. (2016). A review on bio-distribution and toxicity of silver, titanium dioxide, and zinc oxide nanoparticles in aquatic environment. *Pollution Research*, 35(4), 701–712. https://www.researchgate.net/publication/318710886_A_Review_on_bio-distribution_and_toxicity_of_silver_titanium_dioxide_and_zinc_oxide_nanoparticles_in_aquatic_environment.
- Elías-Gutiérrez, M., Suárez-Morales, E., Gutiérrez-Aguirre, M. A., Silva-Briano, M., Granados-Ramírez, J. G., & Garfias-Espejo, T. (2008). *Cladóceros y Copépodos de las aguas continentales de México. Guía ilustrada*. Universidad Nacional Autónoma de México-El Colegio de la Frontera Sur-Comisión

Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

EPA. (1996). *Marine toxicity identification evaluation (TIE): Phase I guidance document*. Washington, D.C.

<https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/30003GRZ.TXT?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1995+Thru+1999&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5Czyfiles%5CIndex%20Data%5C95thru99%5CTxt%5C0000006%5C30003GRZ.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1&SeekPage=x&ZyPURL>.

Esterkin, C. R., Negro, A. C., Alfano, O. M., & Cassano, A. E. (2005). Air pollution remediation in a fixed bed photocatalytic reactor coated with TiO₂. *AIChE Journal*, 51(8), 2298–2310. <https://doi.org/10.1002/aic.10472>.

Fabrega, J., Tantra, R., Amer, A., Stolpe, B., Tomkins, J., Fry, T., Lead, J. R., Tyler, C. R., & Galloway, T. S. (2011). Sequestration of zinc from zinc oxide nanoparticles and life cycle effects in the sediment dweller amphipod *Corophium volutator*. *Environmental Science & Technology*, 45(22), 1128–1135. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es202570g>.

Fisher, J., & Egerton, T. (2001). Titanium compounds, inorganic. En J. Kroschwitz & M. Howe-Grant (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*

- (vol. 25, pp. 373–390). John Wiley & Sons.
<https://doi.org/10.1002/0471238961.0914151805070518.a01.pub2>.
- Franklin, M. N., Rogers, N. J., Apte, S. C., Batley, G. E., Gadd, G. E., & Casey, P. S. (2007). Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): The importance of particle solubility. *Environmental Science & Technology*, 41(24), 8484–8490. <https://doi.org/10.1021/es071445r>.
- Galán, C. (2017). Espeleotemas azules de hydrozincita y smithsonita en antiguas minas de galena argentífera (cuenca del río Urumea). *Sociedad de Ciencias Aranzadi*, 1–29.
https://www.academia.edu/33178288/Espeleotemas_azules_de_hydrozincita_y_smithsonita_en_antiguas_minas_de_galena_argent%C3%ADfera_cuenca_del_r%C3%ADo_Urumea_.
- Gomes, M. A., Da C., Hauser-David, R. A., Nunes de Souza, A., & Pierre, V. A. (2016). Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants, and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 134(1), 133–147.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.08.024>.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R. W., & Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environmental Science & Technology*, 43(24), 9216–9222. <https://doi.org/10.1021/es9015553>.
- Griffitt, R. J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J. C., & Barber, D. S. (2008). Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9), 1972–1978. <https://doi.org/10.1897/08-002.1>
- Guzmán-Colis, G., Thalasso, F., Ramírez-López, E. M., Rodríguez-Narciso, S., Guerrero-Barrera, A. L., & Avelar-González, F. J. (2011). Evaluación espacio-temporal de la calidad del agua del río San Pedro en el estado de Aguascalientes, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*,

- 27(2), 89–102.
<https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/25007>.
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H. C., & Kahru, A. (2008). Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO, and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71(7), 1308–1316. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.11.047>.
- Hinojosa-Garro, D., Rendón-von, O., & Dzúl-Caamal, R. (2020). Banded tetra (*Astyanax aeneus*) as a bioindicator of trace metals in aquatic ecosystems of the Yucatan Peninsula, Mexico: Experimental biomarkers validation and wild populations biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195(1), 110477. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110477>.
- Hoffmann, M. R., Martin, S. T., Choi, W., & Bahnemann, D. W. (1995). Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical Reviews*, 95(1), 69–96. <https://doi.org/10.1021/cr00033a004>.
- Holmberg, B., Högberg, J., & Johanson, G. (1998). Capítulo 33. Toxicología. En J. M. Stellman (Ed.), *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo* (Vol. I, pp. 33.1–33.42). Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. <https://www.insst.es/tomo-i>.
- Jankovic, Z. N., & Plata, L. D. (2019). Engineered nanomaterials in the context of global element cycles. *Environmental Science: Nano*, 6(9), 2697–2711. <https://doi.org/10.1039/C9EN00322C>.
- Ji, J., Long, Z., & Lin, D. (2010). Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella sp.* *Chemical Engineering Journal*, 170(2–3), 525–530. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.11.026>.
- Kaida, T., Kobayashi, K., Adachi, M., & Suzuki, F. (2004). Optical characteristics of titanium oxide interference film and the film laminated with oxides and their applications for cosmetics. *Journal of Cosmetic Science*, 55(3), 219–220. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15190897/>.
- Kebede, M. A., & Imae, T. (2019). Low-dimensional nanomaterials. En K. Ariga & M. Aono (Eds.), *Advanced Supramolecular Nanoarchitectonics* (pp. 3–16). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813341-5.00001-2>.

- Koste, W. (1978). *Rotatoria: Die Rädertiere Mitteleuropas*. Gebrüder Borntraeger.
- Laprida, C., & Ballent, S. C. (2008). Ostrácoda. En H. H. Camacho & M. I. Longobucco (Eds.), *Los invertebrados fósiles* (pp. 599–624). Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Recuperado de <https://www.fundacionazara.org.ar/img/libros/invertebrados-fosiles-II.pdf>.
- López-Gutiérrez, L. F., Rubio-Franchini, I., Rico-Martínez, R., Mesquita-Joanes, F., Ramírez-López, E. M., Arredondo-Figueroa, J. L., & Silva-Briano, M. (2018). Inter- and intraspecific variability in invertebrate acute toxicity response to arsenic and fluoride exposure. *Journal of Environmental and Health Science*, 4(1), 1–10. <https://roderic.uv.es/rest/api/core/bitstreams/a7bef2ef-b8eb-48c7-8c37-d364470e0cbf/content>.
- Ma, H., Williams, P. L., & Diamond, S. A. (2013). Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles: A review. *Environmental Pollution*, 172, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.08.011>.
- Meisch, C. (2000). *Freshwater Ostracoda of Western and Central Europe* (Süßwasserfauna von Mitteleuropa, vol. 8/3). Spektrum Akademischer Verlag.
- Morales-García, S. S., Meza-Olvera, E., Shruti, V. C., & Sedeño-Díaz, J. E. (2020). Assessing the potential ecological risk of heavy metals in sediment from the Lerma River Basin. *Journal of Soils and Sediments*, 20(8), 2912–2930. <https://doi.org/10.1007/s11368-020-02613-3>.
- Mortimer, M., Kasemets, K., & Kahru, A. (2010). Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahymena thermophila*. *Toxicology*, 269(2–3), 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.07.007>.
- Navarrete-Rodríguez, G., Castañeda-Chávez, M. D. R., & Lango-Reinoso, F. (2020). Geoacumulación de metales pesados en sedimentos del sistema fluvial-lagunero-deltaico del río Palizada, Campeche, México. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), 969. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030969>.
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N. B., Filser, J., Ai-Jun, M., Quigg, A., Santschi, P. H., & Sigg, L. (2008). Environmental behavior and ecotoxicity of

- engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 17(5), 372–386. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0214-0>.
- Nichols, H. W. (1973). Growth media-freshwater. En J. R. Stein (Ed.), *Handbook of phycological methods* (pp. 7–24). Cambridge University Press.
- Nogrady, T., & Segers, H. (2002). *Rotifera Volume 6: The Asplanchnidae, Gastropodidae, Lindiidae, Microcodinidae, Synchaetidae, Trochosphaeridae*. Backhuys Publishers.
- Nogrady, T., Wallace, R. L., & Snell, T. W. (1993). *Rotifera Volume 1: Biology, Ecology and Systematics*. SPB Academic Publishing.
- Núñez, B. J., & Arriaga, G. G. (1991). Prospección mineral del área “El Limón”, municipio de Cocula, Guerrero. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 51(1), 21–34. <https://doi.org/10.18268/BSGM1991v51n1a3>.
- Oskam, G. (2006). Metal oxide nanoparticles: Synthesis, characterization, and application. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 37(3), 161–164. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10971-005-6621-2>.
- Ostiguy, C., Lapointe, G., Ménard, L., Cloutier, Y., Trottier, M., Boutin, M., Antioun, M., & Normand, C. (2006). Les nanoparticules: Connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail (Rapport R-455). *IRSST*. <https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/R-455.pdf>.
- Palacios Fest, M. R., Park, L. E., González-Porta, J., Palacios Fest, M. R., & Dix, R. G. (2003). Química de conchas de ostrácodos: Una alternativa para medir la contaminación por metales en sistemas acuáticos. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 20(2), 139–153. <https://www.redalyc.org/comocitar.oe?id=57220205>.
- Pérez-Legaspi, I. A., & Rico-Martínez, R. (1998). Effect of temperature and food concentration on two species of littoral rotifers. *Hydrobiologia*, 387(1–3), 341–348. <https://doi.org/10.1023/A:1017099906853>.
- Pratim, B., & Chang-Yu, W. (2005). Nanoparticles and the environment. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 55(6), 708–746. <https://doi.org/10.1080/10473289.2005.10464656>.

- Rico-Martínez, R., Pérez-Legaspi, I. A., Arias-Almeida, J. C., & Santos-Medrano, G. E. (2013). Rotifers in ecotoxicology. En J.-F. Férard & C. Blaise (Eds.), *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology* (pp. 973–996). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_89.
- Rodríguez-Espinosa, P. F., Shruti, V. C., Jonathan, M. P., & Martínez-Tavera, E. (2018). Metal concentrations and their potential ecological risks in fluvial sediments of the Atoyac River Basin, Central Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 1020–1033. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.068>.
- Roessler, E. W. (1986). Estudios Taxonómicos, Ontogenéticos, Ecológicos y Etológicos sobre los Ostrácodos de agua dulce en Colombia—V. Estudio Taxonómico del genero *Chlamydotheca* Saussure, 1858 (Ostracoda, Podocopida, Cyprididae): Parte II. El grupo *chlamydotheca colombiensis roessler*, 1985. *Caldasia*, 14(68/70), 585–616. <http://www.jstor.org/stable/23641450>.
- Rohit, R., Lakshmi, N., Murthy, C., Idris, M. M., & Singh, S. (2018). Toxicity of TiO_2 , SiO_2 , ZnO , CuO , Au and Ag engineered nanoparticles on hatching and early nauplii of *Artemia sp.* *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/329201>.
- Rubio, D. C., González, W. D., Martín-Izquierdo, R. E., Revert, C., Rodríguez, I., & Hardisson, A. (2007). El zinc: Oligoelemento esencial. *Nutrición Hospitalaria*, 22(1), 101–107. <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v22n1/alimentos1.pdf>.
- Ruiz, B. S. (2008). *Síntesis y caracterización de la conversión hacia arriba en nano-cristales de ZnO: Er^{3+}* (Tesis de maestría, Centro de Investigaciones en Óptica, A.C.). Recuperado de <https://cio.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1002/788/1/12739.pdf>
- Salcedo Sánchez, E. R., Martínez Morales, M., Esquivel Martínez, J. M., & Talavera Mendoza, O. (2021). Heavy metal contamination and ecological risk assessment in fluvial sediment of San Juan–Taxco River System in mining region of Taxco Guerrero, Mexico. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-785264/v1>.

- Shi, X., Li, Z., Chen, W., Qiang, L., Xia, J., Chen, M., Zhu, L., & Alvarez, P. J. J. (2016). Fate of TiO₂ nanoparticles entering sewage treatment plants and bioaccumulation in fish in the receiving streams. *NanoImpact*. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2016.09.002>.
- Shinde, S. K., Grampurohit, N. D., Gaikwad, D. D., Jadhav, S. L., Gadhave, M. V., & Shelke, P. K. (2012). Toxicity induced by nanoparticles. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(4), 331–334. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60072-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60072-3).
- Tan, Z., & Kotov, N. A. (2005). One-dimensional assemblies of nanoparticles: Preparation, properties, and promise. *Advanced Materials*, 17(8), 951–962. <https://doi.org/10.1002/adma.200401593>.
- Tritlla, J., Levresse, G., Corona-Esquivel, D., Banks, D., Lamadrid, H., & Bourdet, J. (2006). Depósitos de Pb-Zn-Cu-Ba-F-Sr epigenéticos estratoligados en series sedimentarias en relación con salmueras de cuenca: Depósitos de tipo “Mississippi Valley” (MVT) y similares en México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 58(1), 103–109. <http://boletinsgm.igeolcu.unam.mx/bsgm/index.php/component/content/article/183-sitio/articulos/cuarta-epoca/5801/1713-5801-4-tritlla>.
- Wang, Z. L. (2004). Zinc oxide nanostructures: Growth, properties, and applications. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 16, R829–R858. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/16/25/R01>.
- Warheit, D. B., Webb, T. R., Reed, K. L., Frerichs, S., & Sayes, C. M. (2007). Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine TiO₂ particles: Differential responses related to surface properties. *Toxicology*, 230, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.11.002>.
- Wiench, K., Wohlleben, W., Hisgen, V., Radke, K., Salinas, E., Zok, S., & Landsiedel, R. (2009). Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 76(10), 1356–1365. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.06.025>.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., & Chen, W. (2009). Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna*. *Journal of Nanoparticle Research*, 11, 67–75. <https://doi.org/10.1007/s11051-008-9426-8>.

