

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD RESIDUAL EN EL TRATAMIENTO DE
CONTAMINANTES EMERGENTES PRESENTES EN AGUAS RESIDUALES Y SU POSIBLE
IMPACTO EN LOS ECOSISTEMAS

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Danna Lizeth Rodríguez Narváez

Director

Crispín Astolfo Celis Zambrano, Químico. M.Sc. PhD.

Co director

Alejandro Pérez Flores, Químico. M.Sc. PhD.

Laboratorio de Investigación de Tecnología Ambiental y de Materiales (ITAM)

Departamento de Química

Trabajo de grado

Microbiología Industrial

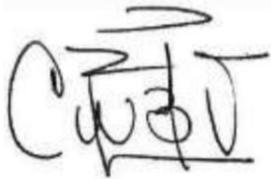
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

2020

BOGOTÁ D.C.

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD RESIDUAL EN EL TRATAMIENTO DE
CONTAMINANTES EMERGENTES PRESENTES EN AGUAS RESIDUALES Y SU POSIBLE
IMPACTO EN LOS ECOSISTEMAS
REVISIÓN DE LA LITERATURA

Danna Lizeth Rodríguez Narváz



Crispín Astolfo Celis Zambrano, Químico. M.Sc. Ph.D. Alejandro Pérez Flores, Químico. M.Sc. Ph.D.

Director



Co director



Luis David Gómez Méndez, Microbiólogo. M.Sc. PhD.

Evaluador

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23, Resolución No. 13 de Julio de 1946 `` La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vean en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia``

Agradecimientos

A Dios y a todos mis seres amados por ser la guía de mi vida y contribuir en todos mis sueños y logros alcanzados. Al profesor Crispín y Alejandro por su confianza y orientación.

Tabla de contenido

Resumen	6
1. Introducción	6
1.1 Planteamiento del problema	7
1.2 Justificación	8
2. Referentes conceptuales - Marco teórico.....	8
2.1 Aguas residuales	8
2.2 Aguas superficiales	8
2.3 Aguas subterráneas	8
2.4 Contaminantes emergentes	9
2.5 Detección de CE en aguas residuales, superficiales, subterráneas y de riego	10
2.6 Toxicidad	15
2.7 Ensayo para detección de mutagenicidad/ Test de Ames con <i>Salmonella typhimurium</i>	17
2.8 Marco legal	18
3. Objetivos	19
3.1 Objetivo general	19
3.2 Objetivos específicos	19
4. Metodología	19
5. Resultados y discusión	20
5.1 Ensayos de toxicidad realizados con contaminantes emergentes	20
presentes en aguas residuales, superficiales y subterráneas	20
5.2 Ensayos toxicológicos con diferentes contaminantes emergentes presentes en aguas residuales como parámetro para evaluar la calidad de las aguas	34
5.3 Tratamientos usados en la detección y eliminación de contaminantes emergentes presentes en aguas residuales	45
6. Hallazgos	55
7. Conclusión	56
8. Bibliografía	57

Resumen

Tener agua de buena calidad es indispensable para la sostenibilidad de los recursos hídricos, proteger los ecosistemas acuáticos y la salud en humanos. En este sentido, los ensayos de toxicidad son fundamentales para poder evaluar su calidad. Los contaminantes químicos emergentes presentes en agua residuales, superficiales y subterráneas son de difícil detección y eliminación. Su presencia ocasiona contaminación en los ambientes acuáticos y efectos adversos en organismos vivos. En el presente trabajo mediante una revisión de la literatura, se exponen ensayos de toxicidad estandarizados y no estandarizados haciendo uso de especies biológicas o bioindicadoras, realizados con contaminantes emergentes y muestras de agua, al igual que métodos de detección y tratamientos de eliminación de estos como forma de mitigar el impacto en los ecosistemas y la salud humana.

Palabras clave: contaminante emergente, toxicidad, bioensayo, especie bioindicadora, mutagenicidad, métodos estandarizados, tratamientos híbridos.

1. Introducción

El agua es fundamental para cumplir procesos metabólicos en todos los organismos vivos, como también es importante en procesos como la agricultura y la industria, donde inevitablemente se generan residuos que requieren de tratamientos antes de su disposición final. Las actividades industriales y agrícolas contaminan el agua muchas veces con metales pesados, colorantes, plaguicidas, fármacos, pesticidas, aceites, detergentes, entre otros. Gran cantidad de desechos industriales presentan efecto mutagénico y estos son vertidos a las aguas de quebradas y ríos [1]. En el año 2025 la población mundial será de 7.200 millones de habitantes aproximadamente, lo que conlleva a una mayor cantidad de vertimientos de residuos sólidos y líquidos, resultando en problemas ambientales graves, como la contaminación de recursos hídricos, del aire y el suelo. El agua es un recurso natural limitado y el tratamiento de aguas residuales es fundamental para el cuidado del medio ambiente y la salud humana, una forma es llevando a cabo su reutilización para riego en la agricultura y suministro para poblaciones de personas en regiones con escasez de agua, principalmente en países en desarrollo, donde desafortunadamente también hay falta de tratamientos adecuados en las aguas residuales domésticas y no domésticas. Las aguas residuales domésticas se clasifican según el tipo de constituyente en: Convencionales (sólidos suspendidos y coloidales, materia orgánica carbonácea, nutrientes y microorganismos patógenos), No convencionales (orgánicos refractarios, orgánicos volátiles, surfactantes, metales, sólidos disueltos) y Emergentes (medicinas, detergentes sintéticos, antibióticos veterinarios y humanos, hormonas y esteroides, entre otros) [2]. Los contaminantes emergentes (CE) no se encuentran estrictamente regulados o están en procesos de regulación y se pueden clasificar en seis grupos: retardantes de llama bromados, parafinas cloradas, pesticidas polares, compuestos perfluorados, fármacos y productos de higiene personal y drogas de uso ilícito, todas estas se encuentran en bajas concentraciones en las aguas superficiales, subterráneas y de consumo humano, en el orden de ng/L a µg/L, esto como consecuencia de que las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) están diseñadas principalmente para eliminar sustancias en concentraciones de g/L. Dadas estas características, son compuestos persistentes que pueden causar diversos efectos, tales como bioacumulación, toxicidad crónica, disrupción endocrina y mutagenicidad, siendo nocivos para la salud humana y el medio ambiente [3,4]. La toxicidad de los residuos de compuestos emergentes y la de sus productos de transformación, se ven reflejados en el daño que ocasionan en diferentes organismos vivos presentes en los ecosistemas. Se considera residuo tóxico aquel que tiene la capacidad de inducir un efecto biológico indeseable, causando daño en organismos vivos y ecosistemas, con la posibilidad de presentarse toxicidad aguda, crónica o ecotóxica [5]. Los efectos tóxicos agudos se presentan frente a una exposición a corto plazo, siendo severos o mortales y se determinan mediante la concentración letal media (CL₅₀), donde se indica la concentración capaz de causar mortalidad en el 50% de los organismos usados para determinada prueba, en un período corto de tiempo (96 h a 14 días) y el efecto crónico se presenta bajo exposiciones constantes en un período de tiempo largo. La toxicidad en los organismos incluye efectos letales, tanto a largo como a corto plazo, algunos de estos son cambios en el crecimiento, el desarrollo, la reproducción y el comportamiento [3]. Para llevar a cabo

su estudio, se realizan pruebas de toxicidad, estas pueden ser de tipo cualitativo o cuantitativo, realizadas en condiciones estandarizadas a nivel de individuos, comunidades o ecosistemas, obteniendo así los resultados de los efectos adversos ocasionados por determinada sustancia, como consecuencia de sus características químicas y tiempo de exposición [6]. Para estudiar la ecotoxicología se realizan ensayos o bioensayos de fitotoxicidad, empleando plantas terrestres y analizando el proceso de germinación que llevan a cabo especies sensibles al ser expuestas a diferentes sustancias químicas, permitiendo estimar los efectos a corto y mediano plazo, mediante el cálculo de la concentración que provoca una reducción del 50% (CE₅₀) en la elongación de la raíz con respecto al control, siendo una forma para determinar la toxicidad y calidad de aguas compuestas con mezclas de diferentes sustancias, donde el análisis se puede llevar a cabo con muestras de aguas turbias y sin filtrar, como también con sedimentos y lodos, obteniendo un método rápido y rentable económicamente [7]. Para llevar a cabo la evaluación de toxicidad, se utilizan técnicas basadas en respuestas biológicas en organismos que abarcan distintos niveles tróficos como bacterias, crustáceos, protozoos, ranas, peces, ratones, células de humanos, etc. En Colombia, según la legislación colombiana (Resolución 0062 de 2007), para evaluar la toxicidad en la salud humana, se realiza una prueba empleando la bacteria marina luminiscente *Vibrio fischeri*, realizada mediante un ensayo de bioluminiscencia, donde la detección es observable en el microorganismo a través de la inhibición de su luz, provocada por la interferencia de sustancias químicas tóxicas con el sistema de transferencia de electrones en la respiración de la bacteria; funciona como indicadora de toxicidad, ya que comparte características en algunas de sus estructuras con las de los mamíferos y peces. Para evaluar la ecotoxicidad o daño al medio ambiente, se realiza un ensayo de inhibición del crecimiento con especies sensibles a sustancias tóxicas, como microalgas, entre ellas *Selenastrum capricornutum* o *Scenedesmus subspicatus*, o el crustáceo planctónico, como *Daphnia magna*, que es la especie más usada en el mundo para las pruebas de toxicidad y presenta la ventaja de su fácil manipulación en el laboratorio, debido a que posee un ciclo corto de vida y se reproduce por partenogénesis [6]. Mediante la compilación, análisis y exposición de estudios sobre toxicidad y mutagenicidad llevados a cabo con diferentes CE, se pretende ampliar el conocimiento de procedimientos o técnicas usadas para evaluar la detoxificación de las aguas medida a través de especies bioindicadoras, como también comparar los métodos que han sido utilizados para llevar a cabo el manejo de estos en el ambiente.

1.1 Planteamiento del problema

Los CE son compuestos de naturaleza química heterogénea, de diferente procedencia y con carácter recalcitrante, algunos de estos son productos farmacéuticos, plaguicidas, drogas de uso ilícito, compuestos clorados, aditivos industriales, pigmentos y se encuentran diseminados en el ambiente, estando presentes en aguas residuales, superficiales, subterráneas y en suelos de uso agrícola [8]. El principal problema entorno a los CE, radica en su presencia en las aguas residuales, donde las plantas de tratamiento usadas tradicionalmente o convencionales no cumplen la función de llevar a cabo la eliminación de estos compuestos. Posteriormente, los procesos secundarios más empleados, como lodos activados, filtros de goteo o de coagulación y floculación, son igualmente insuficientes para lograr su eliminación, resultando así en el vertimiento de aguas parcialmente tratadas en las aguas superficiales receptoras, las cuales cumplen la función de abastecimiento para poblaciones como aguas a potabilizar, impactan regiones con diversidad de flora y fauna o son usadas para riego en la agricultura, extendiéndose así la contaminación por estos compuestos, incluso en suelos y aguas subterráneas[3]. Los CE se caracterizan por ser productos de transformación, los cuales son de difícil detección mediante métodos analíticos convencionales como espectroscopia UV-Vis, espectrometría de masas de baja resolución [9], seguido de esto los análisis físico químicos realizados como demanda química de oxígeno (DQO), carbón orgánico total (COT), sólidos, metales, sustancias orgánicas e inorgánicas, son deficientes para evaluar el potencial de riesgo ambiental, además son sustancias con propiedades bioacumulativas, efecto tóxico y mutagénico, ya que fácilmente pueden penetrar en la membrana celular, lo que puede desencadenar enfermedades como el cáncer [3]. Actualmente a nivel mundial, el análisis de la calidad del agua se lleva a cabo con ensayos como DQO y COT, los cuales no permiten identificar el nivel de toxicidad que puede ser ocasionado en diferentes organismos vivos presentes en los ecosistemas, afectados por las aguas residuales, superficiales y subterráneas [10]. En los últimos años han incrementado su importancia, ya que

se conoce poco en cuanto a su presencia, tratamientos de eliminación e impacto que pueden generar en diferentes ecosistemas, esto como resultado de limitaciones analíticas, debido al desconocimiento de la gran variedad de formas químicas que los componen y sus derivados compuestos de transformación presentes en una muestra de agua, además la falta de información de los efectos tóxicos que pueden ocasionar es otro parámetro a discutir, ya que no necesitan estar presentes constantemente en el ambiente o en altas concentraciones, para provocar alteraciones o daños en ecosistemas, esto conlleva a que sean compuestos con poca regulación ambiental específica, siendo candidatos a regulación futura, lo cual depende de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y en el ambiente[3,11].

1.2 Justificación

Debido a la deficiencia que presentan los tratamientos en las PTAR, para llevar a cabo el control o eliminación de diferentes CE, como consecuencia de la variedad en su composición química y el poco conocimiento del impacto que pueden llegar a ocasionar a nivel de ecosistemas, incluso a la salud humana, es importante conocer, analizar y revelar los métodos que han sido utilizados para lograr en cierta medida su control, por otro lado, exponer los riesgos relacionados con su presencia en aguas residuales, superficiales y subterráneas, mediante la compilación de ensayos de toxicidad que se han realizado con especies bioindicadoras ambientales, presentándose como una herramienta de evaluación en el desempeño de tratamientos, también como un complemento a los demás ensayos que se utilizan actualmente como parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para evaluar la calidad del agua, permitiendo medir el impacto ecológico a través de respuestas biológicas en diferentes organismos, al igual que establecer los vacíos de conocimiento que hay actualmente en torno al tema.

2. Referentes conceptuales - Marco teórico

2.1 Aguas residuales: Son aquellas que contienen una gran cantidad de sustancias químicas orgánicas e inorgánicas y biológicas, son nocivas para la salud humana y ecosistemas acuáticos, provienen del uso industrial, doméstico urbano, agrícola, recreativo o pecuario, son aguas que han sido manipuladas o usadas y su procedencia determina sus características fisicoquímicas, se pueden clasificar en:

2.1.1 Agua Residual Doméstica (ARD): Estas aguas se caracterizan por ser residuos líquidos de viviendas, zonas residenciales, establecimientos comerciales o institucionales, provienen de las descargas de inodoros, duchas, tinas, lavamanos, cocinas, lavadero y lavadoras [12]

2.1.2 Aguas Residuales no Domésticas (ARnD): Son las procedentes de las actividades de la industria farmacéutica, de alimentos, textil, entre otras; son todas aquellas usadas en servicios comerciales, diferentes a las (ARD), son nocivas para la salud humana y el medio ambiente [13]

2.1.3 Aguas Residuales Agrícolas (ARA): Estas aguas se caracterizan por ser provenientes de la escorrentía superficial de las zonas agrícolas, contienen pesticidas, sales y un alto contenido de sólidos en suspensión [12].

2.2 Aguas superficiales: Las aguas superficiales son aquellas que se encuentran quietas o corrientes en la superficie del suelo, se encuentran en la superficie de la plataforma continental y proceden de diferentes cuencas, se pueden distinguir dos tipos:

2.2.1 Aguas lóxicas o corrientes: “masas de agua que se mueven siempre en una misma dirección como ríos, manantiales, riachuelos, arroyos, ramblas” [14].

2.2.2 Aguas lénticas: “aguas interiores quietas o estancadas tales como los lagos, lagunas, charcas, humedales y pantanos” [14]

2.3 Aguas subterráneas: “Es agua que se filtra a través de grietas y poros de las rocas y sedimentos que yacen debajo de la superficie de la tierra, acumulándose en las capas arenosas o rocas porosas del subsuelo. El agua se almacena y mueve en las formaciones geológicas que tienen poros o vacíos” [15]. La

composición del agua subterránea depende de los tipos de suelo y características de las rocas presentes en estos, del agua lluvia infiltrada y de los procesos microbiológicos y químicos llevados a cabo en el suelo, es indispensable para uso industrial, riego y abastecimiento doméstico [15].

2.4 Contaminantes emergentes

Los CE son compuestos que provienen de diferentes orígenes y se caracterizan principalmente por ser productos de transformación y recalcitrantes, están presentes en aguas residuales, superficiales y subterráneas [8][9]. Son denominados emergentes, ya que no cuentan con regulación ambiental, esto como consecuencia de la dificultad para ser detectados, debido a la diversidad de formas químicas que los componen, además son compuestos con propiedades bioacumulativas, tóxicas y mutagénicas, de las cuales se conoce poco acerca de los impactos que pueden ocasionar en la salud humana y ecosistemas. Algunos CE presentes en el ambiente son fármacos, detergentes sintéticos, antibióticos veterinarios y humanos, hormonas y esteroides, pesticidas, drogas de uso ilícito, surfactantes, entre otros [3].

2.4.1 Pesticidas-Plaguicidas: Son sustancias o mezclas de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler o mitigar las plagas, son contaminantes emergentes de interés, ya que sus metabolitos son altamente tóxicos, principalmente en aguas subterráneas [16].

A continuación, en la **Tabla 1**, se exponen algunos ejemplos de plaguicidas y su respectiva clasificación según la toxicidad que generan, en diferentes clases: Clase IA: extremadamente peligrosos, clase IB: altamente peligrosos, clase II: moderadamente peligrosos y clase III: ligeramente peligrosos.

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad

Clase	Toxicidad	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	Eldrín, diclorvos
Clase II	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	Malatión

Fuente [16]

En el censo europeo de disruptores endocrinos, se llevó cabo el listado de plaguicidas por volumen de producción superior (HPV) a 1.000 Tm/Año, evidenciados en la **Tabla 2**, indicando su persistencia y producción: *Sí, categoría a, 1: Evidencia de disrupción endocrina, categoría 2: Sospecha de disrupción endocrina, categoría 3: Sin datos. Grupo b, I: Alto nivel de exposición a animales y humanos, Grupo II: Nivel medio de exposición, Grupo III: Bajo nivel de exposición o ausencia de datos.

Tabla 2. Compuestos plaguicidas listados en el Censo Europeo de Disruptores Endocrinos

Compuesto	Producción	Persistencia	Categoría a	Grupo B
Carbendazima	*		2	II
Aldrín		*	2	II
Clordano		*	1	I
Dieldrín		*	2	II
Endosulfán	*	*	2	II
Endrín		*	2	II
Kepona		*	1	I
Mirex		*	1	I
Toxafeno		*	1	I
Nonaclor		*	3	II
2,4 D	*		2	II
Procloraz	*		2	II
DDT		*	1	I
Dicofol	*		2	II

Iprodiona	*	2	II
Vinclozolina	*	1	I
Maneb	*	1	I
Metam sodio	*	1	I
Tiram	*	1	I
Zineb	*	1	I
Ziram	*	2	II
Lindano	*	1	I
Diuron	*	2	II
Linurón	*	1	I
Diazinón	*	2	II
Dimetoato	*	2	II
Fentión	*	3	III
Malatión	*	2	II
Paratión	*	2	II
Aminotriazol	*	1	I
Atrazina	*	1	I
Simazina	*	2	II
Triadimefón	*	2	II
Alacloro	*	1	I
Dibromoetano	*	3	III
Heptacloro	*	2	II
Bromometano	*	2	II
Nitrofenol	*	1	I
Paracuat	*	3	III
Propanil	*	2	II

Fuente: [17]

2.4.2 Productos farmacéuticos: Varios productos farmacéuticos han sido encontrados en aguas superficiales y subterráneas, lo cual se asocia con la descarga de aguas residuales. Los fármacos contaminantes ingresan al medio ambiente mediante excreción humana y animal y por la inadecuada eliminación de productos farmacéuticos, ya sea directamente desde las plantas de producción o por consumidores. Globalmente los fármacos más usados son analgésicos, antihipertensivos y antimicrobianos, los cuales no cuentan con regulación a través de normas ambientales [16].

2.4.3 Drogas ilícitas: El consumo de drogas ilícitas genera contaminación en aguas residuales, donde posteriormente continúan hasta las aguas superficiales y subterráneas, a través de la excreción humana, saliva y sudor como metabolitos activos o por la eliminación de los laboratorios donde son fabricadas, no es posible su eliminación mediante métodos convencionales, debido a que son altamente recalcitrantes [16].

2.4.4 Otros emergentes: Son diferentes los compuestos denominados CE, donde los que han generado mayor importancia por su persistencia y difícil control son los fármacos, drogas ilícitas y plaguicidas, pero también están presentes los retardantes de llama bromados, surfactantes, hormonas esteroides, compuestos como la nicotina y la cafeína, productos para el cuidado personal (bloqueadores solares, insecticidas, cremas corporales), entre otros, los cuales requieren de mayor investigación en cuanto a sus metabolitos presentes en las aguas y su impacto tóxico y ecológico[16].

2.5 Detección de CE en aguas residuales, superficiales, subterráneas y de riego

El consumo de drogas ilícitas y estimulantes lícitos (nicotina y cafeína), son eliminados mediante excreciones humanas o desechados incorrectamente en el ambiente por usuarios o fabricantes de drogas, ocasionando la presencia de estos en ecosistemas acuáticos. Una investigación llevada a cabo en el Reino

Unido determinó la presencia de algunos CE en aguas residuales y superficiales, evidenciados en la **Tabla 3**, indicando su respectivo uso o familia a la cual pertenecen.

Tabla 3. Presencia de contaminantes emergentes en aguas residuales y superficiales en el Reino Unido (Drogas ilícitas y estimulantes lícitos)

Droga	Familia / uso	Aguas Residual	Agua Superficial
MDMA	Alucinógeno	Si	Si
MDEA	Alucinógeno	Si	Si
MDA	Alucinógeno/metabolito	Si	Si
Anfetamina	Estimulante	Si	Si
Metanfetamina	Estimulante	Si	Si
Cocaína	Estimulante	Si	Si
Benzoilecgonina	Metabolito	Si	Si
Norbenzoilecgonina	Metabolito	Si	Si
Norcocaína	Metabolito	Si	Si
Cocaetilo	Metabolito	Si	Si
Bencilpiperazina	Estimulante	Si	Si
Trifluorometilfenilpiperazina	Estimulante	Si	Si
6-acetilmorfina	Metabolito	Si	Si
Cafeína	Indicador humano	Si	Si
Nicotina	Indicador humano	Si	Si

Fuente: Elaboración propia, mediante el análisis de [9]

Mediante un análisis de la zona del campo de golf de Bandama (Gran Canaria), la cual ha sido regada con aguas regeneradas desde 1976, se hallaron CE evidenciados en la **Tabla 4**, los cuales están divididos en las clases: fármacos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), pesticidas, contaminantes orgánicos volátiles (COV) y retardantes de llama, *: detectado al menos una vez en al agua subterránea a una concentración superior a 0,1 µg/L⁻¹, x: detectado al menos una vez en agua de riego a una concentración superior a 0,1 µg/L⁻¹

Tabla 4. Listado de contaminantes detectados en muestras de agua subterránea y de riego

Fármacos		Pesticidas
Ácido Flufenámico x	Ketoprofeno	Oxifluorfen
Ácido Mefenámico	Lincomicina	4,4'-DDE
Antiplrina	MDMA	4,4'-DDT
Atenolol	Mebendazol	Alfa-Endosulfán
Benzoilecgonina	Metadona	Atrazina
Bezafibrato	Metformina	Clorfenvinfos(A+B)
Cafeína	Miconazol	Clorfenvinfos A
Cannabidiol	Morfina	Clorfenvinfos B
Carbamazepina	Nicotina*	Clorpirifos etil *
Cimetidina	Nifuroxazida*	Diazinón
Cis-Diltiazem	Ofloxacina	Diurón
Claritromicina	Oxacilina	Gamma-HCH
Cloruro de benzalconio* x	Paracetamol	Hexaclorobenceno
Codeína	Propifenazona	Hexaclorobutadieno
Danofloxacín	Propranolol	Isoproturón
Difenidramina	Ranitidina	Metoxicloro
EDDP	Sulfadimetoxina	Pentaclorobenceno
Efedrina	Sulfametizol	Procimidona

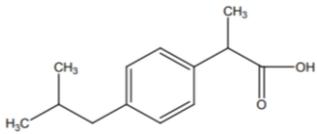
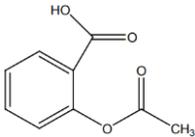
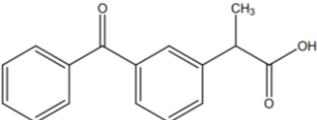
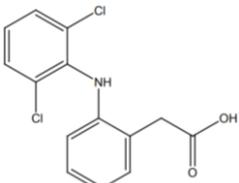
Eritromicina ^x	Sulfametoxazol	Propazina
Estrona	Sulfapiridina	Simazina
Etilanfetamina	Teobromina ^x	Terbutilazina
Fenilefrina	Teofilina	Terbutrina
Gemfibrozilo	Trimetoprima	Trifuralín
Ibuprofeno	Verde malaquita	

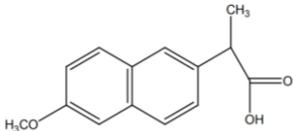
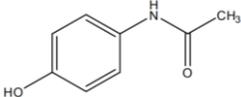
HAP		R. de Llama
Acenaftileno	Criseno	TEP
Benzo(a) antraceno	Dibenzo(a, h) ant raceno	Tributil fosfato
Benzo(a) pireno	Fenant reno	
Benzo(b) fluoranteno	Fluoreno	COV
Benzo(g, h,i) perileno	Indeno(1,2,3-cd) pireno	124 TCB
Benzo(k) fluoranteno	Pireno	135 TCB

Fuente: [18]

Se han identificado compuestos de amplio uso en el sector farmacéutico, antibióticos en matrices ambientales y antihipertensivos presentes en cuerpos de agua, algunos de estos se presentan en la **Tabla 5**, **Tabla 6** y **Tabla 7** respectivamente, expresados en concentraciones de ($\mu\text{g/L}$) y su respectivo método de identificación, llevado a cabo mediante técnicas analíticas avanzadas, como lo es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC, por sus siglas en inglés), acoplada a espectrofotometría de masas (MS), y sistema de ionización por electro spray (ESI, por sus siglas en inglés).

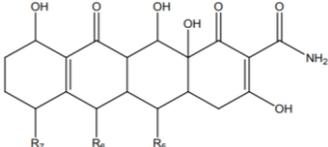
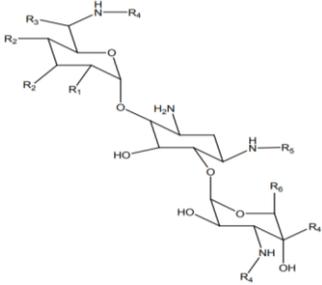
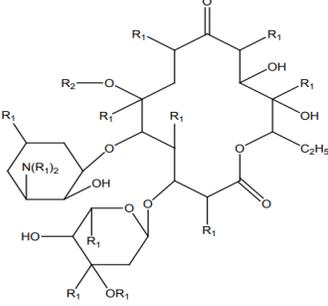
Tabla 5. Analgésicos de amplio uso en el sector farmacéutico

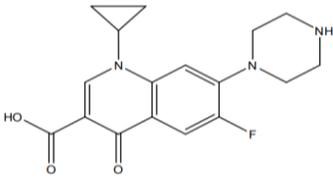
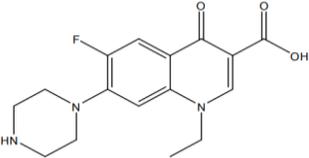
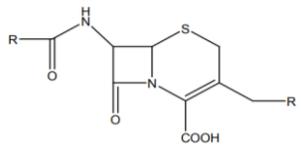
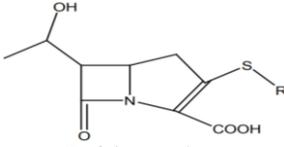
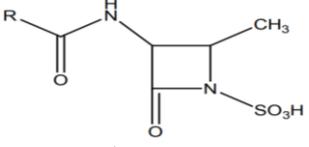
Compuesto	Concentración matriz ($\mu\text{g/L}$)	Método de identificación
 Ibuprofeno	Sedimento: 35.83 Agua fresca: 4.3	HPLC/MS/MS
 Acido acetil salicílico	Agua superficial: 0.34 Agua residual: 1.0	HPLC/ESI/MS/MS
 Ketoprofeno	Agua superficial y agua residual pH 2: 28, pH 7: 53	HPLC/ESI/MS/MS
 Diclofenaco	Agua superficial <5.1	HPLC/ESI/MS

 Naproxeno	Agua residual 5.42-21.2	HPLC/ESI/MS/MS
 Acetaminofem	Agua superficial 3.35-15.7 Efluentes de hospitales 186.5	HPLC/ESIMS/MS

Fuente: [19]

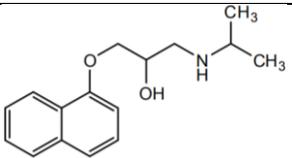
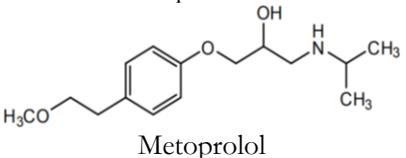
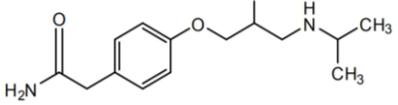
Tabla 6. Antibióticos reportados en matrices ambientales

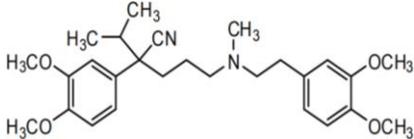
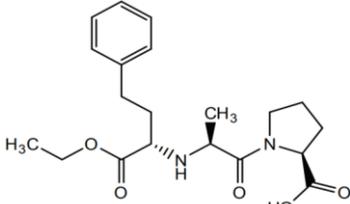
Compuesto	Concentración en aguas ($\mu\text{g/L}$)	Métodos de identificación
 Tetraciclinas	Agua residual doméstica 0.006-0.21 Agua de río 0.08 a 0.30	HPLC/MS/MS HPLC/MS
 Aminoglucósidos	Residuos hospitalarios gentamicina: 0.4 y 7.6	HPLC/MS/MS
 Macrólidos	Plantas de tratamiento Baja eliminación	HPLC/ESI/MS/MS
Quinolonas	Efluentes 0.002	HPLC/DAD

 ciprofloxacina	Planta de tratamiento ciprofloxacina: 2.3	UHPLC/MS/MS
 Norfloxacina	Efluente planta de tratamiento	HPLC/DAD
B-lactámicos  B-lactámicos		
 Cefalosporinas	Agua de río Cefapirina: 1.01	HPLC/MS/MS
 Carbapenemas	Presencia en agua residual	Microbiología

Fuente: [19]

Tabla 7. Antihipertensivos de mayor frecuencia de detección en cuerpo de agua

Compuesto	Concentración en aguas ($\mu\text{g/L}$)	Métodos de identificación
 Propranolol	Planta de tratamiento: 2.41	HPLC/MS/MS
 Metoprolol	Planta de tratamiento: 0.27	HPLC/ESI/MS/MS
 Atenolol	Lodos activados: 0.54	HPLC-EPI-MS/MS

<p>Atenolol</p> 	<p>Lodos activados solidos Alta absorción</p>	<p>HPLC-MS/MS, dilución isotópica</p>
<p>Verapamilo</p>  <p>Enalapril</p>	<p>Efluentes planta tratamiento: 0.55</p>	<p>HPLCQ/QTOF-MS</p>

Fuente: [19]

2.6 Toxicidad

Para llevar a cabo una prueba de toxicidad es necesario elaborarla bajo condiciones estandarizadas, controladas y disponer de dos agentes: el agente estímulo, del cual se deben conocer totalmente las características físicas y químicas (fármacos, pesticidas, colorantes, drogas ilícitas, etc.) y el agente “receptor” (bacterias, algas, animales, plantas) en el cual se quiere evaluar una respuesta nociva preseleccionada al ser expuesto al agente estímulo, donde es muy importante contar con el uso de réplicas. Para poder determinar la respuesta se debe diseñar una prueba ya sea toxicológica o ecotoxicológica, utilizando diferentes concentraciones del agente estímulo a evaluar, obteniendo una variable dosis-respuesta que será comparada con un control negativo. Las variables pueden ser cualitativas, indicando mortalidad o supervivencia, ausencia o presencia, cuantitativas discretas, indicando porcentaje o número de sobrevivientes o muertos y cuantitativas continuas, indicando, por ejemplo, la reducción en el peso o elongación de una raíz. La evaluación cualitativa siempre tendrá un cierto ajuste para que su respuesta se pueda interpretar mediante una variable cuantitativa, por ejemplo, asignando un número a cada variable cualitativa, que puede ser la característica de muerto o vivo y se diseña la prueba para evaluar en conjunto las respuestas individuales, obteniendo el análisis mediante una variable cuantitativa discreta. En las pruebas de toxicidad el modelo matemático más usado es el de tipo empírico o descriptivo, mediante el cual se describen cuantitativamente los patrones de las observaciones, transformando una o las dos variables estudiadas, sin basarse en los métodos usados durante el proceso, por lo general los ensayos de toxicidad se basan en la concentración letal 50 (CL_{50}), capaz de causar mortalidad en el 50% de los individuos estudiados en una prueba o concentración efectiva esperada (CE_{50}). Los métodos usados para estimar (CL_{50} - CE_{50}) pueden ser paramétricos, no paramétricos y gráficos [20]. En la **Figura 1** y **Figura 2**, se presentan los protocolos que se utilizan a nivel mundial para evaluar toxicidad:

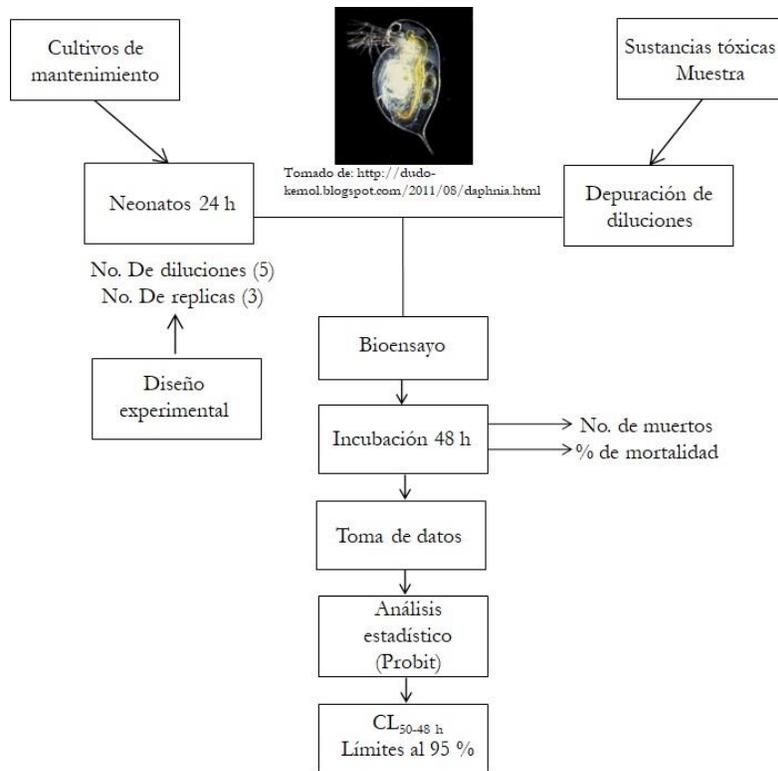


Figura 1. Ejemplo Diagrama de flujo de las actividades vinculadas al desarrollo del ensayo de toxicidad más usado en el mundo, el cual emplea *Daphnia magna*

Fuente: [7]

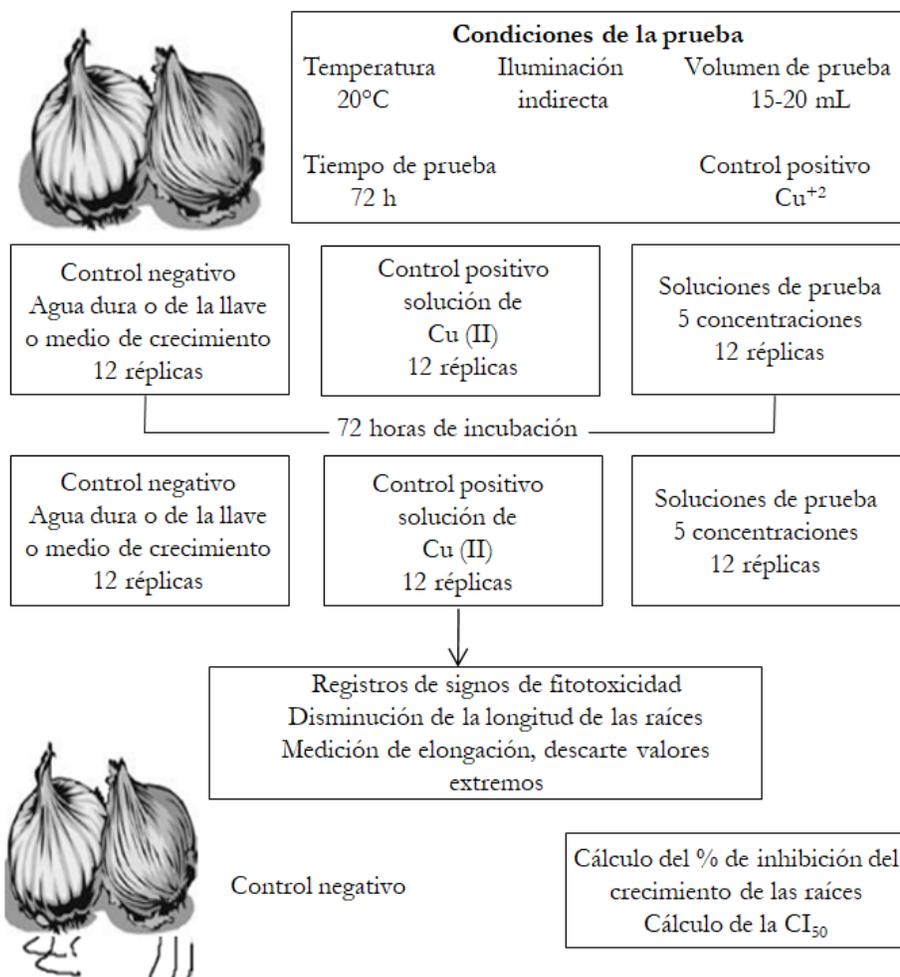


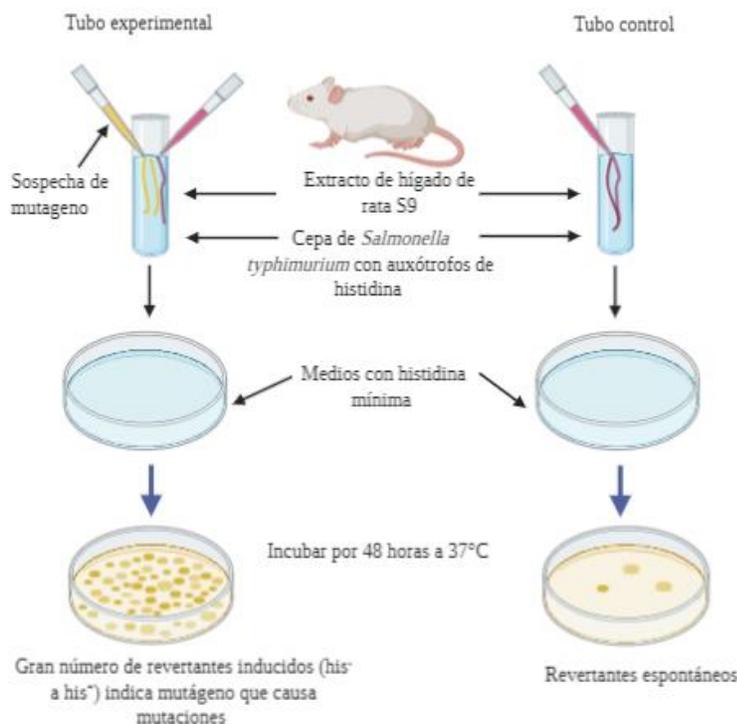
Figura 2. Ejemplo Ensayo de toxicidad con *Allium cepa L.*

Fuente: [7]

2.7 Ensayo para detección de mutagenicidad/ Test de Ames con *Salmonella typhimurium*:

La prueba de Ames es utilizada para determinar el potencial mutagénico (cambios en la información genética) de químicos y compuesto, generalmente se usa para la regulación de medicamentos y biocidas [21]. También se puede usar para detectar la mutagenicidad de muestras ambientales como medicamentos, colorantes, reactivos, cosméticos, aguas residuales, pesticidas y sustancias de fácil solubilización en una suspensión líquida [22]. Es una prueba *in vitro* que utiliza cepas de *Salmonella typhimurium* (TA 97^a, TA 98, TA 100, TA 102, TA 1535 y TA 1538) auxótrofas para el aminoácido histidina, las cuales poseen distintas mutaciones en genes del operón histidina, que le confieren la capacidad de detectar mutágenos o el potencial efecto mutagénico de compuestos químicos o productos biológicos, analizando así indirectamente su posible efecto al daño en el ADN a través de diferentes mecanismos. La cepa de *Salmonella typhimurium* es sembrada en placas de agar que contienen glucosa e histidina, utilizándose como medio de control positivo para la prueba, en donde crecen las bacterias que reversionaron al fenotipo *his*⁺, por otro lado en otra placa de agar con los mismo componentes pero con adición de una sustancia o compuesto a evaluar, el cual podría ser llamado “compuesto con posible efecto mutágeno”, crecen las bacterias que tienen la capacidad de aumentar su revertante dependiente de la concentración del compuesto o que sufrieron daños en su ADN, obteniéndose una mutación, estas bacterias tuvieron la capacidad de cumplir sus funciones metabólicas en presencia de determinado compuesto con propiedades mutagénicas. Debido a que las bacterias “no pueden metabolizar productos

químicos mediante citocromos P450, como los mamíferos y otros vertebrados, se adiciona a la prueba un sistema exógeno de activación metabólica de mamífero, utilizando generalmente fracción microsomal de hígado de rata'' [23]. Para mejor comprensión, el diagrama normalmente usado en este protocolo se visualiza a continuación en la **Figura 3**.



Created in BioRender.com bio

Figura 3. Protocolo ensayo detección de mutagenicidad (Test de Ames)

Fuente: [22]

2.8 Marco legal

Diferentes organizaciones a nivel internacional cuentan con el manejo de políticas de sostenibilidad ambiental y con protocolos para medición de toxicidad, entre las cuales se encuentran: la OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), la ISO (International Organization for Standardization), la ETAD (The Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturers), la ASTM (American Society for Testing and Materials), la PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente), la OEA (Organización de los Estados Americanos) y la EPA (United States Environmental Protection Agency)[6].

En Colombia mediante el **DECRETO 4741 DE 2005**, del Ministerio de Ambiente, se reglamenta parcialmente la prevención y el manejo de los residuos o desechos peligrosos. En el **CAPITULO 2**, se dicta la Clasificación, caracterización, identificación y presentación de los residuos o desechos peligrosos, donde los CE se encuentran en el Artículo 6, el cual dispone: *Características que confieren a un residuo o desecho la calidad de peligroso*. La calidad de peligroso es conferida a un residuo o desecho que exhiba características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables, infecciosas y radiactivas; definidas en el Anexo III del presente decreto [24].

El Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial hacen uso de la **RESOLUCION No. 0062 DE 2007** (DIARIO OFICIAL 46.703 DE JULIO 28 DE 2007), “Por la cual se adoptan los protocolos de muestreo y análisis de laboratorio para la caracterización fisicoquímica de los residuos o desechos peligrosos en el país”, para llevar a cabo el control de pruebas de corrosividad, explosividad, inflamabilidad, reactividad y toxicidad [25].

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Realizar un estudio monográfico sobre los ensayos usados para determinar la toxicidad de los contaminantes emergentes (fármacos, plaguicidas, drogas ilícitas, compuestos clorados, entre otros) y de los tratamientos de eliminación de estos compuestos.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Compilar los diferentes ensayos de toxicidad realizados con contaminantes emergentes presentes en aguas residuales, superficiales y subterráneas.

3.2.2 Establecer la importancia de los ensayos toxicológicos con diferentes contaminantes emergentes presentes en aguas residuales como parámetro para evaluar la calidad de las aguas.

3.2.3 Comparar los diferentes tratamientos usados en la detección y eliminación de contaminantes emergentes presentes en aguas residuales.

4. Metodología

Para cumplir los objetivos específicos anteriormente mencionados, se llevó cabo una revisión de literatura, empleando las siguientes bases de datos: **EBSCOhost, Scopus, ProQuest** y utilizando el concepto de la lectura crítica [26]. Para la recolección de información se utilizaron palabras claves y filtros en las diferentes bases de datos, como búsquedas en inglés, revistas o grupos de investigación en particular y optando por referencias actualizadas, como ventana en el tiempo hasta de 15 años [27]. Posteriormente haciendo uso del programa Mendeley Desktop, se realizó la citación bibliográfica y respectivos ajustes manuales, con el fin de adaptar las referencias a las normas para autores de la Revista *Universitas Scientiarum*. Finalmente, se clasificó la información obtenida, exponiendo ejemplos de ensayos de toxicidad con especies biológicas que se han realizado con CE, como ensayos que se encuentran estandarizados o en estudio y han mostrado eficiencia para utilizar en la evaluación de la calidad de aguas, seguido de algunos métodos de detección y tratamientos de eliminación para CE. La monografía fue de tipo investigativo, se presentó como un trabajo científico escrito, la cual tuvo como objetivo aportar un conocimiento nuevo con base en estudios ya existentes. El cumplimiento de los diferentes objetivos establecidos se realizó mediante el proceso de indagación, recolección, organización, análisis e interpretación de información [28], siguiendo los pasos de:

1. Planteamiento pregunta de investigación

¿Cuál es la importancia de los ensayos toxicológicos y tratamientos de eliminación para emergentes presentes en aguas residuales, superficiales, subterráneas y su impacto sobre los ecosistemas y la salud humana?

2. Selección y delimitación de los diferentes temas a abordar
3. Selección de las diferentes bases de datos y fuentes de información
4. Búsqueda de información y su respectivo análisis e interpretación
5. Síntesis y redacción de la información
6. Discusión - presentación de la información
7. Conclusión de la investigación

8. Recomendaciones que abordan vacíos de conocimiento

5. Resultados y discusión

5.1 Ensayos de toxicidad realizados con contaminantes emergentes presentes en aguas residuales, superficiales y subterráneas

A continuación, se exponen ejemplos de ensayos de toxicidad realizados con algunos CE, los puntos finales de evaluación y las concentraciones que han resultado tener un efecto sobre diferentes especies biológicas usadas en bioensayos:

5.1.1 Fármacos

La evaluación de efectos ecotoxicológicos en las aguas, permite evaluar la calidad del agua suministrando más datos cuando se lleva a cabo el análisis de una muestra, ya sea de un río, agua residual, subterránea, marítima, de consumo humano, entre otras, por lo cual, los bioensayos son importantes para determinar los efectos tóxicos de los diferentes CE presentes en estas. Hay pocos datos sobre los impactos ambientales, especialmente para los metabolitos y productos de transformación provenientes de los CE, como también escasos y costosos métodos analíticos que permiten su detección y cuantificación, principalmente cuando están presentes en bajas concentraciones o se desconoce la formulación química de estos. Existen diferentes especies indicadoras ambientales con las cuales se puede evaluar la toxicidad y ecotoxicidad de los CE que han podido ser detectados, donde estos pueden ser analizados de forma individual o en muestras con mezclas de estos, pero no existen criterios que permitan escoger una especie en particular para realizar los bioensayos con una determinada muestra, sin embargo se ha podido determinar el efecto que ocasionan en especies ubicadas en distintos nivel de la cadena trófica, como por ejemplo, fitoplancton, algas, peces, larvas, huevos, anfibios, insectos, invertebrados y mamíferos. Por otro lado, entre los CE, se encuentra el grupo de fármacos que abarcan antiinflamatorios, antihipertensivos, antibióticos, entre otros [29]. A continuación, en la **tabla 8**, se exponen los resultados de la concentración letal media cincuenta (CL₅₀), concentración efectiva media cincuenta (CE₅₀) y concentración inhibitoria media cincuenta (CI₅₀) con los respectivos tiempos de exposición para diferentes especies bioindicadoras: *Vibrio fischeri* (bacteria), *Brachionus calyciflorus* (rotífero), *Thamnocephalus platyurus*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Skeletonema costatum* (crustáceo), *Desmodesmus subspicatus*, *Scenedesmus subspicatus*, *Synechococcus leopoliensis* (algas), *Onchorhynchus mykiss* (pez), como parámetro para evaluar la toxicidad de contaminantes emergentes pertenecientes al grupo de fármacos.

Tabla 8. Datos de ecotoxicidad para algunos fármacos

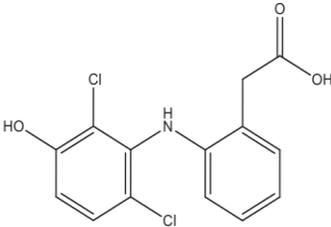
Fármaco	Especie y horas de exposición	Dato ecotoxicológico mg/L
Carbamazepina	<i>Daphnia magna</i> 48 h	CE ₅₀ 13,8
	Microtox <i>Vibrio fischeri</i> 30 min	CE ₅₀ 81
	<i>C. dubia</i> 48 h	CE ₅₀ 77,7
	<i>D. subspicatus</i> 3 días	CE ₅₀ 74
Diclofenaco	ToxAlert 100, <i>Vibrio fischeri</i> 15 min	CE ₅₀ 13,5
	<i>Vibrio fischeri</i> 30 min	CE ₅₀ 11,45
	<i>Daphnia magna</i> 48 h	CE ₅₀ 224,3
	<i>D. subspicatus</i> 3 días	CE ₅₀ 72
Ibuprofeno	<i>Daphnia magna</i> 48 h	CE ₅₀ 9,06
	<i>S. costatum</i> 96 h	CE ₅₀ 7,1
	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 175

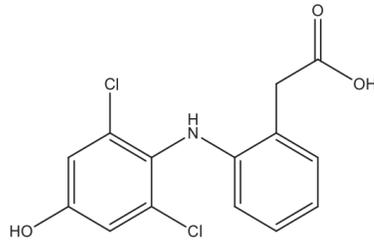
Ketoprofeno	ECOSAR Peces	CE ₅₀ 32
	ECOSAR <i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ 248
	ECOSAR Alga	CE ₅₀ 164
Naproxeno	Rotokit. <i>B. calyciflorus</i> 24 h	CL ₅₀ 62,5
	<i>C. dubia</i> 48 h	CE ₅₀ 66,4
Paracetamol	Thamnotoxkit <i>T. platyurus</i> 24 h	CE ₅₀ 84,09
	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 62,3
Diazepam	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 17,1
	<i>Daphnia magna</i> 24 h	CE ₅₀ 43 a 14
	<i>Oncorhynchus mykiss</i> 96 h	CE ₅₀ 84
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	CL ₅₀ 3,11
Ciprofloxacino	<i>Synechococcus leopoloensis</i>	CL ₅₀ 11,9
	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 230,6
Trimethoprim	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 296
Sulfamethoxazole	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 1480
Amoxicilina	<i>Daphnia magna</i> 96 h	CL ₅₀ 6950

Fuente: [29]

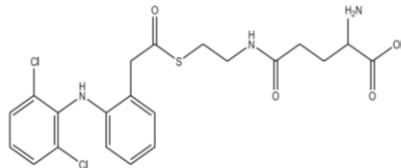
El **diclofenaco** es un analgésico antiinflamatorio, no esteroideo utilizado ampliamente, vertido principalmente por su uso en centros médicos o descargas domiciliarias, donde el 75 % del diclofenaco usado ingresa a las aguas y suelos, debido al ineficiente control o eliminación que pueden llevar a cabo las plantas de tratamiento de agua residual, generando la presencia del analgésico en aguas superficiales y subterráneas, incluso en suelos, lodos, solidos suspendidos, en general en cualquier ambiente con presencia de agua, donde persiste por sus características de hidrofobicidad y estabilidad. Se han detectado metabolitos del diclofenaco presentes en mamíferos, bacterias, peces, humanos, entre otros, los cuales están relacionados con una mayor toxicidad que el compuesto original [30]. En la **tabla 9** se observan algunos metabolitos del diclofenaco, con su respectiva estructura química, las especies en las cuales han sido detectados y el efecto que ocasionan, sin embargo, no hay datos de la toxicidad ocasionada por algunos metabolitos como lo son 2-indolona, sulfato de 4'-hidroxiclofenaco, 1,3-diclorobenceno, 1-(2,6-diclorofenil)-5-hidroxi-2-indolinona, sulfato de 4 y 5-dihidroxiclofenaco en especies biológicas.

Tabla 9. Metabolitos del diclofenaco, estructura química y naturaleza de toxicidad

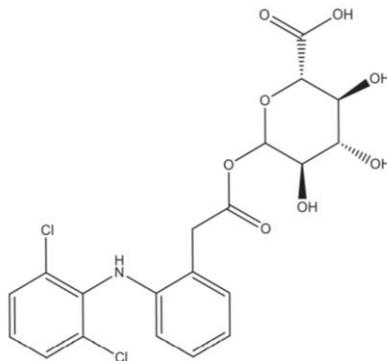
Metabolito	Estructura química	Fuente informada	Naturaleza de toxicidad
3'-hidroxiclofenaco		Mamíferos: humanos, babuinos y monos rhesus	Inhibición de la síntesis de prostaglandinas.
4'-hidroxiclofenaco		Mamíferos: humanos, ratas, perros, babuinos y monos Rhesus Animales acuáticos: mejillones (<i>M. trossulus</i> y <i>M. galloprovincialis</i>) y peces (<i>G. aculeatus</i> y <i>O. mykiss</i>)	1. Inhibición de la fosforilación oxidativa (síntesis de ATP) en las mitocondrias del hígado de rata.



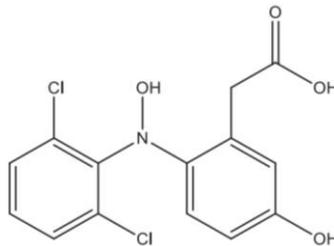
Tioéster de diclofenaco glutatión



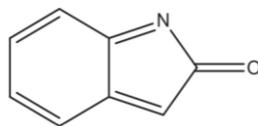
Diclofenaco glucurónido / diclofenaco acil glucurónido



N, 5- dihidroxidiclofenaco



2-indolona



Plantas:
A. thaliana, *A. rusticana*,
H. vulgare, *P. alba* L.
villafranca, y *T. latifolia*
 Microorganismos:
 bacterias (*Actinoplanes*
sp., y *Raoultella sp.*),
 hongos (*T. versicolor*, *E.*
nigrum), y levadura (*S.*
cerevisiae)

2. Toxicidad aguda.

Mamíferos: humanos y ratas

Inhibición de la fosforilación oxidativa (síntesis de ATP) en las mitocondrias del hígado de rata.

Mamíferos: humanos y ratones

1. Citotoxicidad y hepatotoxicidad
 2. Lesión del intestino delgado de rata

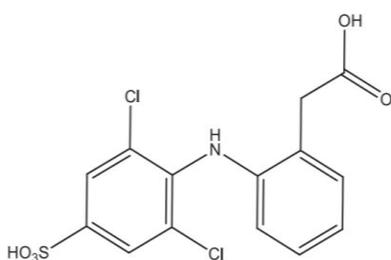
Mamíferos: humanos, ratas y cerdos

1. Inhibición de la síntesis de ATP y reducción de la oxidación con gasto inútil de NADPH.
 2. Se induce la fragmentación del ADN genómico de los hepatocitos.
 3. Muerte celular.

Animales acuáticos:
 Mejillón (*D. polymorpha*)

No reporta

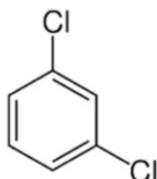
Sulfato de 4'-hidroxiclofenaco



Mamíferos: Rata
Animales acuáticos:
Mejillón (*M. galloprovincialis*) y pez (*O. mykiss*)

No reporta

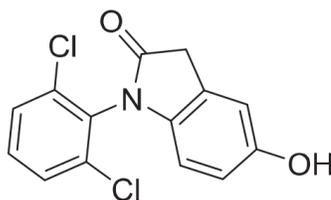
1,3-diclorobenceno



Microorganismo:
bacteria (*G. metallireducens*)

No reporta

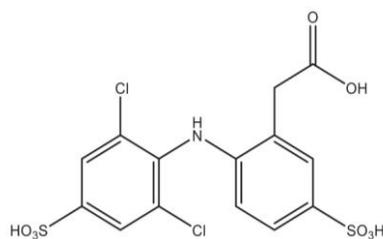
1- (2,6-diclorofenil) -
5-hidroxi-2-
indolinona



Plantas:
A. thaliana

No reporta

Sulfato de 4', 5-
dihidroxiclofenaco



Mamíferos: Humanos
Animales acuáticos:
Peces (*O. mykiss*)

No reporta

Fuente: [30]

Teniendo en cuenta que algunos metabolitos del diclofenaco pueden estar presentes en el ambiente hasta por 100 días, la **Tabla 10** hace referencia a los efectos tóxicos del diclofenaco *in vitro/ in vivo* en tejidos, órganos o etapa de crecimiento de diferentes especies a determinados tiempos de exposición, las especies utilizadas para evaluar toxicidad del diclofenaco pueden ser utilizadas para ensayos con otros CE del grupo de fármacos, tomando como ejemplo el punto final de toxicidad evaluado en estudios previos. El punto final de toxicidad hace referencia al parametro usado como indicador de toxicidad durante un ensayo (mortalidad, lesiones óseas, alteraciones, cambios genéticos, entre otros)

Tabla 10. Especies biológicas y punto final de toxicidad por diclofenaco a diferentes concentraciones

Especie	Tejido/órgano/etapa de crecimiento	Concentración exposición	Tiempo de exposición	Punto final de toxicidad
Trucha marrón (<i>Salmo trutta</i>)	Etapas juveniles	10–100 µg/L	25 días	1. Mayor tasa de mortalidad a 100 µg/L 2. Mayor proporción de lesiones óseas en animales juveniles por encima de 10 µg/L

Pez (<i>Cirrhinus mrigala</i>)	Nivel bioquímico	1.0 µg/L	96 h	Cambios drásticos en la actividad enzimática.
Mejillón mediterráneo (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Células ADN Lípidos	2.5 µg/L	60 días	1. Parámetros inmunológicos alterados. 2. Efectos genotóxicos. 3. Modulación del metabolismo lipídico 4. Cambios en la rotación celular
Cangrejo de orilla verde (<i>Carcinus maenas</i>)	Adulto	10 ng/L	7 días	Deterioro de la capacidad osmorreguladora
Langostino (<i>Palaemon serratus</i>)	Larvas	900 µg/L	50 días	Afectación de la tasa de crecimiento.
Pez cebra (<i>Danio rerio</i>)	Embriones	1250 µg/L	48 h	Estrés oxidativo, vía apoptótica intrínseca, desregulación de las actividades quinásas, gluconeogénesis y metabolismo lipídico, que conduce a disfunción mitocondrial y trastornos metabólicos.
Estrella de mar (<i>Asterias rubens</i>)	Esperma	0.1 mg/L	20 minutos	Reducción significativa de la velocidad de nado de los espermatozoides.
Mejillón cebra (<i>Dreissena polymorpha</i>)	Adulto	1.0 µg/L	96 h	Reducción de la viabilidad de los hemocitos.
Crustáceo planctónico (<i>Daphnia magna</i>)	ADN	50 µg/L	24/48 h	Inhibió la expresión de genes (<i>HR96</i> , <i>P-gp</i> , <i>CYP360A8</i> , <i>CYP314</i> , <i>GST</i> , <i>EcR</i> y <i>Vtg</i>) relacionados con el metabolismo de la desintoxicación, el crecimiento, el desarrollo y la reproducción
Mosca arlequín (<i>Chironomus riparius</i>)	Adulto	34.0 µg/g	21 días	Disminución de la proporción de emergencia.
Rana toro americana (<i>Lithobates catesbeianus</i>)	Embriones	12.11mg/L (CL50)	96 h	Embriotoxicidad y teratogénesis.
Lenteja de agua (<i>Lemna minor</i>)	Cloroplastos	0.1 a 100 µg/L	10 días	1. Respuesta de crecimiento negativa. 2. Afecta el contenido de pigmentos fotosintéticos
Helecho (<i>Polystichum setiferum</i>)	Células	0.3 µg/L	48 h	1. Cambios en la actividad mitocondrial. 2. Efectos crónicos sobre el ADN
Maíz (<i>Zea mays</i>)	Maíz	2.5 g/L	3 días	Afecta la tasa de crecimiento y desarrollo.
Tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Adulto	1.0 µg/L	80 días	Diferenciación sexual afectada y gametogénesis
Pescado de arroz japonés (<i>Oryzias latipes</i>)	Mandíbula	26.5 µg/L	40 días	Defectos mandibulares
Carpa europea (<i>Cyprinus carpio</i>)	Nivel bioquímico	1.0 µg/L	96 h	Alteraciones en las actividades hematológicas y bioquímicas.
Rata	Suero	96 mg/kg	24 h	Niveles elevados de enzimas hepáticas en suero.

Fuente: [30]

Se han reportado otros organismos para ensayos de toxicidad con contaminantes emergentes pertenecientes al grupo de fármacos, como por ejemplo la **carbamazepina**, los cuales pueden ser una alternativa para evaluar la toxicidad de diferentes fármacos CE en aguas, estableciendo tiempos de exposición, concentración del fármaco y número de individuos en cada ensayo, a continuación, en la **Tabla 11** se presentan los organismos de prueba y parámetros indicadores de toxicidad:

Tabla 11. Especies acuáticas y parámetros indicadores en ensayos de toxicidad

Especies	Indicador de toxicidad
Pulga de agua	
<i>Chironomus dilutus</i>	Supervivencia
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Inhibición de la reproducción
<i>Daphnia magna</i>	Mortalidad, Inmovilización
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Inhibición de la reproducción
<i>Hyaella azteca</i>	Crecimiento
Bacterias	
<i>Aliivibrio fischeri</i>	Bioluminiscencia
<i>Vibrio fischeri</i>	Bioluminiscencia
Algas	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Inhibición del crecimiento
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Inhibición del crecimiento
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Inhibición del crecimiento
Trucha arcoíris	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Respuestas antioxidantes en el músculo, Cambios en la relación ARN-ADN
Pez cebra	
<i>Danio rerio</i>	Efectos de desarrollo, mortalidad de embriones
Hongo micorrizico	
<i>Glomus intraradices</i>	Producción de esporas
Lenteja de agua	
<i>Lemna minor</i>	Inhibición tasa de crecimiento promedio
Cnidario	
<i>Hydra attenuar</i>	Cambios morfológicos

Fuente: [31]

Los fármacos CE abarcan antibióticos, betabloqueantes, analgésicos, antisépticos, complementos alimenticios, antiinflamatorios no esteroideos, estimulantes, diuréticos, bloqueadores solares, fragancias, cosméticos y varios productos de transformación, siendo los antibióticos y antiinflamatorios los más abundantes en el medio acuático con concentraciones en el orden de $\mu\text{g/L}$ en aguas residuales sin tratar y tratadas en el Reino Unido, Canadá y Japón [32]. Aunque hay reportes de la toxicidad de fármacos en el orden de mg/L , las concentraciones de $\mu\text{g/L}$ y ng/L suelen ser las más persistentes en el ambiente acuático. Los metabolitos de los fármacos presentan una mayor dificultad para ser detectados, los cuales se encuentran generalmente presentes en concentraciones de $\mu\text{g/L}$ o ng/L , aun así se sabe de algunos efectos que ocasionan en determinadas especies, pero se desconoce la toxicidad que pueden ocasionar a nivel de ecosistemas, como también la variedad de metabolitos presentes y los diferentes efectos adversos que se derivan de su presencia en cuerpos de aguas, por lo cual, es necesario llevar a cabo métodos de detección que permitan identificar la presencia de los diferentes metabolitos y su toxicidad, debido a que estos, generalmente son los que pueden tener efecto bioacumulativo por la naturaleza orgánica de sus compuestos, al ser moléculas biológicamente activas e hidrófilas, persisten fácilmente en el ambiente y tienen alta capacidad de interactuar a nivel metabólico en un organismo, ya que el objetivo de los

compuestos originales de los que se derivan, es cumplir un efecto benéfico, mediante procesos de absorción, ya sea como tratamiento de una infección, enfermedad o patología, en humanos y animales domésticos[10, 30, 33].

5.1.2 Pesticidas

El uso de agroquímicos ha ido aumentando con el incremento de cultivos agrícolas en el mundo, algunos de los compuestos comúnmente utilizados son los herbicidas, los cuales tienen como base la formulación de glifosato, usados para inhibir el crecimiento de plantas indeseadas y así favorecer el crecimiento de plantas de interés en un cultivo. El glifosato está etiquetado como un producto que no ocasiona daño en los crustáceos, sin embargo, en el estudio llevado a cabo por Ruíz et al., (2018) se reportó el efecto tóxico mediante la CL_{50} , en el langostino *M. tenellum*, donde se obtuvo la muerte de la mitad de los individuos usados en el bioensayo con una concentración de 32 mg/L, bajo una exposición de 24 horas, con 8 individuos y 5 réplicas del montaje [34]. El glifosato ha sido reportado como el plaguicida menos tóxico entre extensas listas de plaguicidas, para los cuales han sido determinados la CL_{50} , debido a que grandes concentraciones (125 mg/L) son necesarias para ocasionar un efecto letal principalmente en peces. A partir de un análisis de efectos tóxicos de diferentes plaguicidas sobre especies biológicas reportadas en las últimas dos décadas, Rodrigues et al., (2019) determinó que el pez cebra de agua dulce *Danio rerio* fue el modelo de pez más utilizado, seguido de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* y la carpa europea *Cyprinus carpi*, siendo lambda cialotrina el pesticida más tóxico para especies de peces, con una CL_{50} de 0.96 $\mu\text{g/L}$, seguida de piridaben, endosulfán, fenvalerato, fenpiroximato, alfa-cipermetrina y cipermetrina, con CL_{50} entre 1.8 y 7.5 $\mu\text{g/L}$ bajo una exposición de 96 horas [35]. Por otro lado, es importante tener en cuenta que los bioensayos también se realizan en tejidos, órganos y células, siendo utilizados como modelo indicador de toxicidad, donde se ha reportado que las líneas celulares no presentan una alta sensibilidad para la detección de toxicidad con plaguicidas a corto plazo, por lo cual es necesario llevar a cabo más estudios del uso de células en ensayos de toxicidad con plaguicidas-pesticidas, optimizando procesos, como por ejemplo, usando mayores tiempos de exposición al CE para determinar la toxicidad a largo plazo, siendo la mejor opción el uso de peces, crustáceos y anfibios. En la **figura 4** se observan los resultados de Howe et al., (2004) en un estudio realizado con renacuajos para determinar los efectos ocasionados por pesticidas a base de glifosato, siendo (c) El control con la cola intacta (d) Daño leve en la cola con necrosis (e) Daño grave en la cola (f) Daño severo de la cola y flexión ventral de la punta [35,36].

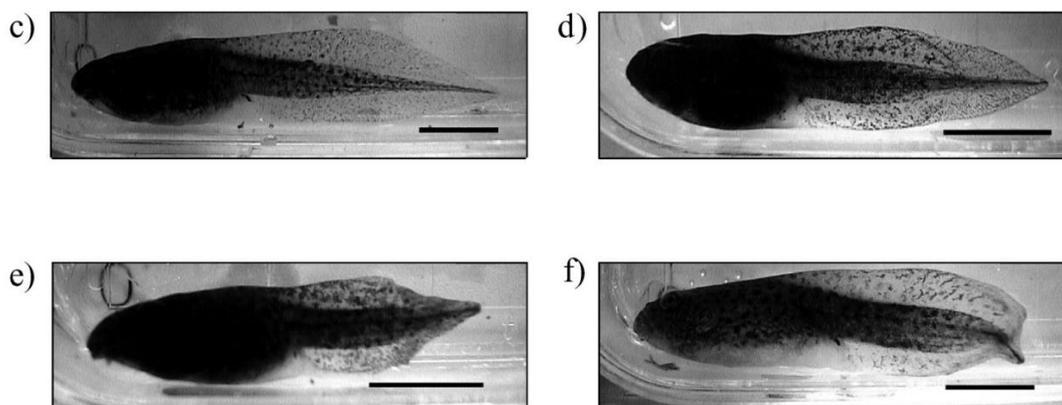


Figura 4. Daños en renacuajos debido a la presencia de pesticidas a base de glifosato y un surfactante

Fuente: [36]

Los pesticidas pueden inducir respuesta inmunosuprimida en mamíferos y peces. La mayoría de ensayos de toxicidad para determinar CE_{50} o CL_{50} de pesticidas y herbicidas se han reportado en especies de peces, por ejemplo el pez cebra que presenta un genoma con un 70% de homología con el genoma

humano [37], por otro lado, las pruebas con embriones son las más relevantes actualmente, debido a que los efectos ocasionados se pueden comparar con las etapas juveniles y adultas del individuo realizadas más adelante [38], sin embargo, sería interesante realizar bioensayos con especies que se encuentren en el suelo, ya que este grupo de CE generan contaminación en ambientes acuáticos por procesos de escorrentía, erosión o filtración de agua con trazas de compuestos persistentes a través de las capas del suelo y aguas subterránea, que finalmente desembocan en aguas superficiales, por lo cual, en este proceso se ven involucradas especies que se encuentran naturalmente en los ecosistemas subterráneos, como lo son plantas, lombrices, gusanos, escarabajos e invertebrados de tierra, como también microorganismos que cumplen funciones importantes en el mantenimiento de un ecosistema, por ejemplo, microorganismos solubilizadores de fósforo, que permiten la adquisición de este por parte de las plantas, micorrizas y macroorganismos que establecen relaciones de simbiosis con plantas, como otros que participan en ciclos biogeoquímicos naturales como el de carbono, azufre y nitrógeno, necesarios para mantener un ecosistema en equilibrio e indispensables en el organismo de diferentes especies biológicas. Por ello, realizar ensayos de toxicidad donde se vean involucradas especies nativas del entorno que se encuentra afectado por la presencia de CE, permitiría conocer daños ecotoxicológicos relevantes o más precisos para dicho ambiente [35,36].

5.1.3 Drogas de uso ilícito

Las drogas de uso ilícito son comúnmente utilizadas en el mundo, por ejemplo, las drogas sintéticas que actúan como estimulante del sistema nervioso central, produciendo sensación de euforia y aumentando la producción de dopamina, como lo son la cocaína y la metanfetamina. La metanfetamina para el año 2017 alcanzó un número de 28.9 millones de usuarios. En las aguas residuales y superficiales se han detectado concentraciones en el orden de $\mu\text{g/L}$ y ng/L de metanfetamina, donde su degradación oscila entre los 15 a 30 días, esta presencia se deriva del suministro de dosis al cuerpo humano, las cuales son metabolizadas y eliminadas mediante la excreción de heces y orina, liberando así el compuesto inalterado o en forma de metabolito, como por ejemplo el 4-hidroximetanfetamina que llega a las aguas residuales y posteriormente estas desembocan en aguas superficiales. En promedio se han reportado concentraciones de 50 ng/L en aguas superficiales y 500 ng/L en aguas residuales de metanfetamina en el mundo, aunque corresponden a concentraciones bajas, pueden tener un efecto tóxico en los ecosistemas acuáticos, de los cuales la información es escasa [39]. Se ha determinado como consecuencia de la metanfetamina presente en las aguas, daños en organismos a nivel metabólico, como estrés oxidativo, diferencias en comportamientos como nadado, desplazamiento y reproducción en animales acuáticos (**Tabla 12**) [35]. Según lo anterior para evaluar la toxicidad que provoca la metanfetamina en una especie bioindicadora, Felice et al, (2020) analizaron la toxicidad producida en términos de la reproducción, desplazamiento y a nivel bioquímico de *D. magna*, utilizando biomarcadores para conocer el estrés oxidativo, específicamente la cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS), la cantidad de enzimas antioxidantes como lo son la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX), determinadas mediante método fluoro métrico, inhibición del citocromo c, consumo de H_2O_2 y consumo de NADPH respectivamente [39]. Los resultados para el análisis del desplazamiento en el nadado en milímetros para *D. magna*, bajo exposición de las dos diferentes concentraciones que fueron seleccionadas, según el promedio de concentraciones de metanfetamina presentes en aguas residuales (500 ng/L) y superficiales (50 ng/L), para los respectivos tiempos (7, 14, 21 días) de determinación, no mostraron diferencias significativas respecto al control, por lo general otros reportes (**Tabla 12**) han informado el aumento, como la reducción en el desplazamiento por dicha especie, sin embargo, la variación de los resultados se puede deber a las condiciones de ensayo, como lo son la forma de administración de la droga, temperatura, número de individuos, tipo de agua, suministro de alimento o tiempos de fotoperíodo, además el método para interpretar dichos resultados provienen generalmente de análisis de video e imagen, como en este caso se usó el ImageJ AnimalTraker, para conocer la trayectoria individual de cada organismo, lo cual determina los resultados obtenidos. En cuanto a la reproducción, los resultados si presentaron una diferencia significativa respecto al control, donde ambas concentraciones de 50 ng/L y 500 ng/L estimularon la reproducción con un 28 % y 29 % mayor número de descendientes respecto al control respectivamente, esto debido a que los crustáceos utilizan

neurohormonas reguladas por diferentes aminas como la dopamina, sin embargo para llevar a cabo la comparación con otros estudios es necesario que estén reportados en la misma especie y bajo las mismas condiciones de ensayo, donde los reportes son escasos, pero es importante resaltar que se han realizado otros estudios con animales vertebrados, crustáceos, platelmintos e invertebrados como peces, donde se ha evidenciado, igualmente, el aumento en la reproducción (Tabla 12)[39].

En cuanto a la toxicidad que causa efectos a nivel bioquímico se puede observar en la Figura 5, las diferencias significativas respecto a los controles para las dos concentraciones en los días de evaluación, en general el estrés oxidativo se ve reflejado en una producción mayor de las enzimas antioxidantes a los 21 días y una reducción a los 14 días de exposición respecto al control, para la concentración de 500 ng/L. Para los 7 días de exposición a 500ng/L hubo variaciones en la actividad de todas las enzimas, finalmente para la concentración de 50ng/L se presentaron variaciones significativas en la actividad de CAT a los 14 días y en GPX a los 7 y 14 días de exposición, indicando que el efecto tóxico de la metanfetamina sobre el crustáceo *D.magna* no solo influye en el incremento normal de reproducción sino también en la actividad biológica normal de las enzimas antioxidantes en su organismo o efecto a nivel bioquímico [39].

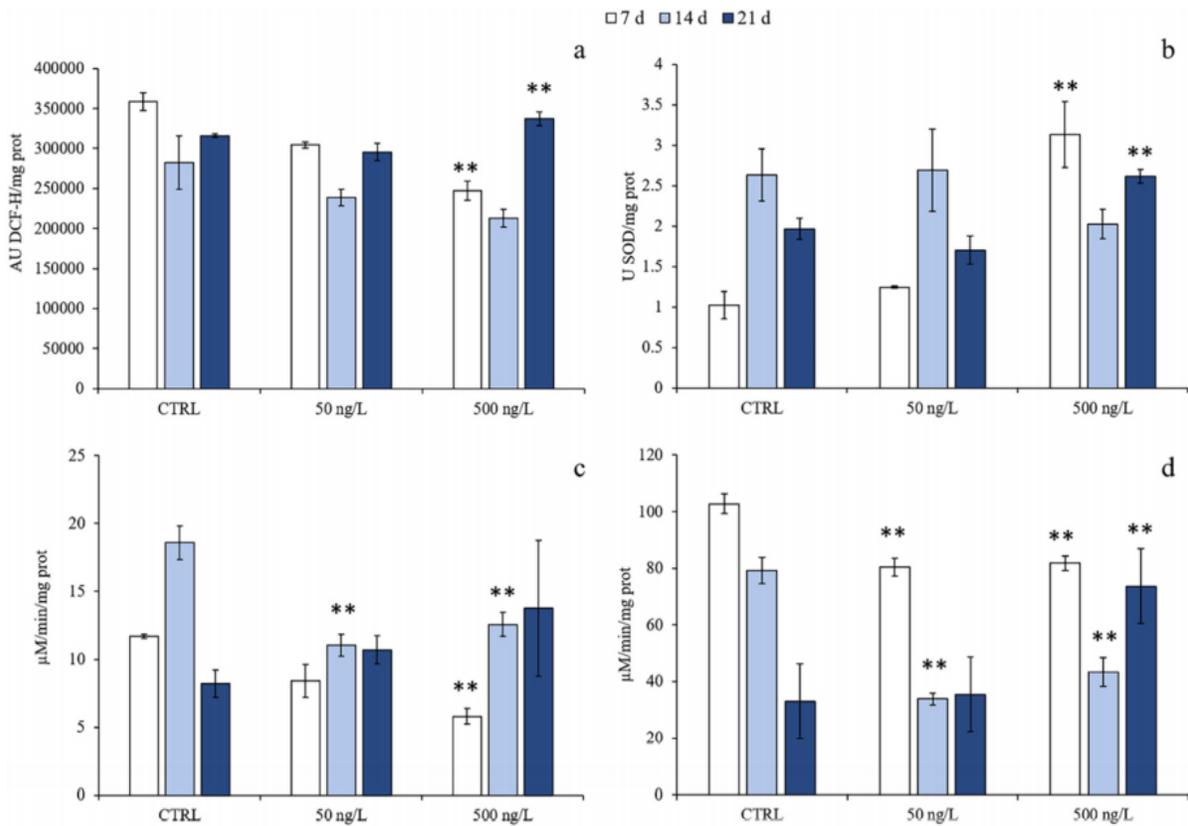


Figura 5. cantidad de ROS (a) AU DCF / mg de proteína (Unidades arbitrarias), actividad SOD (b), actividad CAT (c), actividad GPX (d), en *Daphnia magna* después de 7, 14 y 21 días de exposición a 50 ng/L y 500 ng/L de metanfetamina. Los asteriscos sobre los histogramas muestran diferencias significativas entre los individuos tratados y el control correspondiente

Fuente: [39]

Tabla 12. Efectos de la toxicidad por metanfetamina en diferentes especies biológicas

Droga	Concentración	Organismo indicador	Efecto
Metanfetamina	0,004 a 40 μ M	<i>Oryzias latipes</i>	Estrés oxidativo, alteraciones en el desarrollo y comportamiento en etapas tempranas de vida
Metanfetamina	0,1-100 μ M	<i>Dugesia dorotocephala</i>	Disminución actividad locomotora
Metanfetamina	0,03 μ M	<i>Dugesia japonica</i>	Aumento de los movimientos espontáneos
Metanfetamina	1 μ g/L	<i>Procambarus virginalis</i>	Sin efecto significativo en la distancia de nado
Metanfetamina	0,1, 0,5 y 1,0 mg/L	<i>Poecilia latipinna</i>	Aumento de la excitación sexual en los machos, incremento actividad de apareamiento
Metanfetamina	50 -500 ng/L	<i>D.magna</i>	Estrés oxidativo, aumento en la reproducción
Metanfetamina	2 mM	Murino (Murinae)	Aumento en los niveles de ROS en el tejido cerebral
Metanfetamina	40 μ M	<i>Oryzias latipes</i>	Sobreproducción de ROS
Metanfetamina	10 mg/kg	Ratas macho Sprague Dawley	Aumento de actividad CAP en el hipotálamo, hígado y riñón
Metanfetamina	5 mg/kg	Ratas Wistar macho tratadas	Aumento de actividad CAP en el cerebro
Metanfetamina	4-40 μ M	<i>Oryzias latipes</i>	Aumento de actividad CAP en embriones
Metanfetamina	100 μ M	Roedores	Disminución niveles de proteína GPx1 y GPx4 y actividad enzimática en las células neuronales SH-SY5Y
Metanfetamina	5 mg/kg	Ratas Wistar macho	Peroxidación lipídica en la retina y el plasma sanguíneo
Metanfetamina	2 μ g/g	<i>Orconectes rusticus</i>	Aumento de la movilidad
Metanfetamina	10 μ g/g	<i>Orconectes rusticus</i>	Inmovilidad
Metanfetamina	1 μ g/L	<i>Procambarus virginalis</i>	Si efecto en el movimiento, velocidad o actividad

Fuente: Elaboración propia, mediante el análisis de [39]

5.1.3.1 Cocaína

Los metabolitos de la cocaína han presentado gran relevancia en ambientes acuáticos de todo el mundo por ser CE y sus efectos tóxicos han sido objeto de estudio en los últimos años. El principal metabolito de la cocaína es el benzoilecgonina, por lo cual Pedriali et al.,(2013) estudiaron los efectos a concentraciones de 0.5-1.0 μ g/L en *Dreissena polymorpha*, utilizando biomarcadores que permitieron determinar estrés oxidativo en las células, las cuales están directamente relacionadas con la toxicidad

ocasionada por el metabolito, como también alteraciones en la actividad catalasa (CAT), actividad superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST), igualmente Paronilli et al., (2013) hallaron un desequilibrio en la cadena de defensa enzimática en la misma especie y bajo exposición del mismo metabolito, pero a una concentración de 500 ng/L [40,41]. Otro metabolito de la cocaína es el éster metílico de ecgonina el cual, tras 14 días de exposición en *D. polymorpha* a una concentración de 500 ng/L, causó inactivación de las enzimas de defensa, aumento en la peroxidación de lípidos y fragmentación del ADN, en general, los daños a nivel enzimático ocasionados por estos metabolitos de la cocaína, se expresan a bajas concentraciones de exposición y los efectos son similares a los obtenidos por Felice et al, (2020) en la especie *D. magna* al ser expuesta a la también droga sintética metanfetamina, por lo cual, el análisis de datos hallados con los marcadores enzimáticos, se realiza mediante gráficas como la presentada en la **Figura 5** y tomada como ejemplo del estudio realizado por Felice et al, (2020) [39,41]. Adicionalmente, otro estudio que se llevó a cabo usando la misma especie *D. polymorpha* para evaluar efectos citogenéticos de la cocaína a concentraciones en el orden de ng/L, presentó luego de una exposición de 96 horas, estrés oxidativo, apoptosis en células, leve daño en el ADN y células micro nucleadas a concentraciones relativamente bajas como 40ng/L [42].

La clasificación más usada desde los años 90 para sustancias o compuestos tóxicos, define como nocivos a los que presentan una CE₅₀ entre 10 y 100 mg/L, como tóxicos entre 1 a 10 mg/L y muy tóxicos los que tengan una CE₅₀ < 1 mg/L para los organismos acuáticos [43], sin embargo se ha demostrado que los CE son muy tóxicos a concentraciones menores, como lo son las drogas ilícitas cocaína, metanfetamina y principalmente sus metabolitos, de los cuales hay pocos estudios experimentales que han investigado la toxicidad para los organismos acuáticos, donde los más estudiados, en términos de toxicidad y mutagenicidad, han sido algunos metabolitos de la cocaína detectados en aguas residuales, siendo los metabolitos de la metanfetamina los menos detectados. Otras drogas de uso ilícito como derivados de la piperazina, alucinógenos, cannabis y opioides como la heroína, entre otras, requieren de detección en aguas tanto superficiales como residuales, al igual que el conocimiento de los diferentes metabolitos que pueden presentar efectos perjudiciales en ecosistemas acuáticos y toxicidad en especies biológicas, pues debido a que estos son de naturaleza potente, se infiere una alta toxicidad para los organismos acuáticos expuestos [9, 41, 44].

5.1.4 Contaminante presente en fármacos de uso diario

Las algas y los crustáceos se encuentran en la base de las cadenas tróficas en los ecosistemas acuáticos, seguido de esto, se encuentran los peces como consumidores y por otro lado las bacterias como descomponedores microbianos. Según lo anterior, especies que abarcan estos ordenes pueden ser bioindicadoras ambientales en un ecosistema acuático; generalmente, para los ensayos de toxicidad se analiza la capacidad de crecimiento o elongación de las algas, la inmovilización o mortalidad en los crustáceos, la inhibición de bioluminiscencia en la bacteria *V. fischeri* y mortalidad, capacidad de nado y crecimiento en peces.

La clorhexidina es un biocida con propiedades antimicrobianas, por lo cual el di gluconato de clorhexidina es usado comúnmente en exfoliantes quirúrgicos, antisépticos y limpiadores de piel, protectores de heridas, cremas para el acné, jabones, enjuagues bucales y pastas de dientes, donde se encuentra en ambientes acuáticos principalmente por el uso hospitalario y productos de uso personal, siendo indispensable determinar los efectos tóxicos que produce. Hay pocos reportes de evaluación de toxicidad donde se analice CE₅₀ en el líquido amniótico de embriones de peces, por lo cual una investigación llevada a cabo por Silva et al, (2013) expone los resultados tras hacer determinaciones enzimáticas, utilizando biomarcadores de vías metabólicas en embriones de *Danio reiro* (pez cebra), específicamente colinesterasa (ChE), glutatión-S-transferasa (GST), catalasa (CAT) y lactato deshidrogenasa (LDH), bajo concentraciones de clorhexidina, usando espectrofotometría y los resultados se expresaron como nano moles de sustrato hidrolizado por minuto por mg de proteína, donde las proteínas fueron determinadas por el método de Bradford [45], al igual que Felice et al, (2020) y Pedriali et al.,(2013) usaron biomarcadores enzimáticos en *D. magna* y *D. polymorpha* para evaluar la toxicidad de metanfetamina y

cocaína respectivamente [39,40]. Al llevar a cabo ensayos de toxicidad, la evaluación de parámetros cualitativos es fundamental, en el caso de usar embriones de peces, es importante analizar la coagulación de los huevos fertilizados, latidos cardiacos, desprendimiento de la yema del saco vitelino, pigmentación, alteraciones en el líquido amniótico y mortalidad post eclosión de los huevos, lo cual puede ser determinado mediante el uso de un estereoscopio [45]. En la **Figura 6**, se expone un ejemplo de resultados del análisis de líquido amniótico en embriones de *D. rerio* al ser expuesto a di gluconato de clorhexidina, en concentraciones de 320 y 2040 $\mu\text{g/L}$.

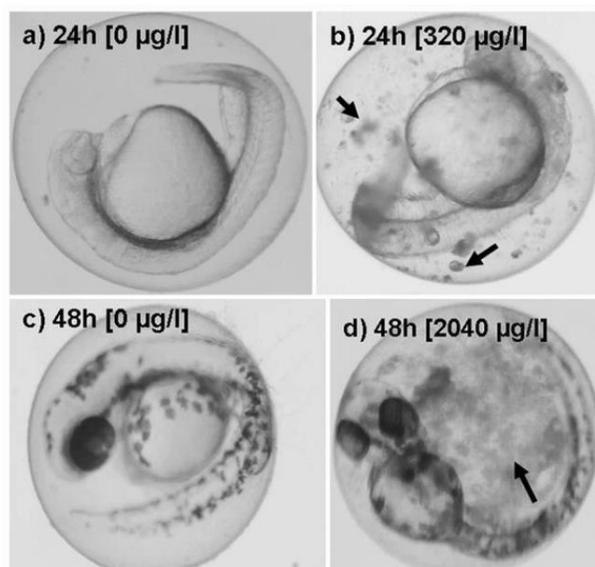


Figura 6. Alteraciones en líquido amniótico

Fuente: [45]

Anomalías de los embriones de *D. rerio* después de la exposición a di gluconato de clorhexidina: (a) un organismo de control después de 24 h (b) embrión tras 24 h de exposición a 320 $\mu\text{g/L}$ con alteraciones en líquido amniótico (flechas negras), (c) organismo de control después de 48 h, (d) embrión tras 48 h de exposición a 2.040 $\mu\text{g/L}$ con alteraciones en el líquido amniótico (flechas negras) [45].

En los embriones se pueden observar alteraciones en el líquido amniótico, con aspecto opaco y no homogéneo, con presencia de aglomerados como se señala con las flechas en la **Figura 6 b, d**, por otro lado, las diferentes concentraciones de clorhexidina provocan variaciones en la actividad de las enzimas, donde la inducción de CAT, se relaciona con el metabolismo de especies reactivas de oxígeno (ROS), resultados similares a los obtenidos para el CE metanfetamina en el estudio de Felice et al, (2020), sin embargo, los resultados difieren en que los análisis se realizaron con diferentes especies de organismos y CE [39,45]. Finalmente, en la **Tabla 13** se exponen algunas especies de bacterias, algas, invertebrados y peces con el efecto tóxico (punto final) que causan determinadas concentraciones de compuestos de clorhexidina en el orden de $\mu\text{g/L}$ y la CE_{50} o CL_{50} con el respectivo tiempo de evaluación, donde se puede determinar que las especies más susceptible son *D. magna*, seguido del alga *P. subcapitata* y las especies de bacterias. Los protocolos y puntos de análisis llevados a cabo en este estudio y en todos los reportes de ensayos de toxicidad con especies bioindicadoras, permiten conocer alternativas de métodos de ensayo para ser utilizados con diferentes CE.

Tabla 13. Toxicidad de los compuestos de clorhexidina para bacterias, algas, invertebrados y peces.

Especies	Compuesto	Valor $\mu\text{g/L}$	Efecto	Hora	Punto final
----------	-----------	-----------------------	--------	------	-------------

<i>Klebsiella oxytoca</i>	Digluconato de clorhexidina	1.550	CE ₅₀	29,5 min	Respiración
<i>Escherichia coli</i>	Digluconato de clorhexidina	320	CE ₅₀	33,9 min	Respiración
<i>Vibrio fischeri</i>	Digluconato de clorhexidina	1.694	CE ₅₀	15 min	Bioluminiscencia
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Digluconato de clorhexidina	62	CE ₅₀	72 h	Inhibición del crecimiento
<i>Daphnia magna</i>	Diacetato de clorhexidina	63	CE ₅₀	48 h	Inmovilización
<i>Daphnia magna</i>	Digluconato de clorhexidina	45	CE ₅₀	48 h	Inmovilización
<i>Danio reiro</i> (embriones)	Digluconato de clorhexidina	804	CL ₅₀	96 h	Mortalidad
<i>Danio reiro</i>	Clorhexidina	1.400	CL ₅₀	96 h	Mortalidad
<i>Lepomis macrochirus</i>	Diacetato de clorhexidina	600	CL ₅₀	96 h	Mortalidad
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Diacetato de clorhexidina	1.871	CL ₅₀	96 h	Mortalidad

Fuente: [45]

5.1.5 Retardantes de llama bromados

Los retardantes de llama bromados son un grupo de CE, de los cuales se han realizado muy pocos estudios para conocer los efectos tóxicos que ocasionan en especies biológicas y en el ambiente acuático, aunque existen normas ambientales que regulan las descargas de algunos retardantes de llama bromados a cuerpos de agua, se desconocen los productos de transformación derivados de los compuestos originales. Un ejemplo de un retardante de llama bromado que se ha detectado contaminando ambientes acuáticos es el tetrabromobisfenol, ampliamente utilizado en las industrias para la producción de polímeros, como policarbonatos, poliepoxis y placas de circuito impreso, entre otros. Gong et al., (2017) utilizaron la especie *Pseudodiaptomus inopinus*, como indicadora de toxicidad, en la cual se determinó aumento en la mortalidad y efectos adversos en el desarrollo de dos generaciones de *P. inopinus* a concentraciones de 1.8 mg/L, la cual fue seleccionada, debido a que corresponde a una concentración ambiental presente en agua superficial de mar, hallada mediante análisis químico en seis diferentes lugares de Quingdáo-China [46].

5.1.6 Cafeína y Nicotina

La cafeína y nicotina son sustancias psicotrópicas ampliamente consumidas en todo el mundo, de las cuales se desconocen sus efectos tóxicos y persistencia en los ecosistemas acuáticos. Acerca de los metabolitos presentes en ambientes acuáticos se conoce muy poco, pero se han detectado residuos metabólicos humanos en aguas residuales domésticas urbanas como lo son cotinina y trans-3'-hidroxicotinina, para la nicotina y un metabolito urinario de cafeína, el ácido 1,7-dimetilúrico [47]. Las grandes cantidades de consumo de estas dos sustancias pueden tener consecuencias para la salud, teniendo en cuenta que no se encuentra regulada su venta y consecuentemente las cantidades a ingerir, por lo cual, la presencia de estas en aguas residuales ha tenido relevancia en los últimos años, principalmente para conocer los diferentes efectos que pueden causar en un ecosistema acuático, sin

embargo aún se necesitan estudios de toxicidad crónica y aguda, como de genotoxicidad para evaluar el riesgo real que podrían tener la cafeína y nicotina de forma aislada y combinada con otros CE sobre especies biológicas y determinar su impacto en los ecosistemas acuáticos [48]. En el estudio de Greenway et al, (2007) se midieron efectos letales y subletales de la cafeína bajo condiciones estáticas en las especies *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas* y *Chironomus dilutus* por ser organismos que se utilizan comúnmente en ensayos estandarizados para llevar a cabo el monitoreo de efluentes, sin embargo, concluyeron que la sustancia no presentaba riesgos significativos para organismos vertebrados e invertebrados, debido a las altas concentraciones que se necesitan para generar un efecto en las especies. La siguiente tabla representa la CL₅₀ a 48 horas y 7 días de exposición a la cafeína [49].

Tabla 14. Toxicidad CL₅₀ de cafeína en 3 diferentes especies

Organismo	CL ₅₀ horas (mg/L)	CL ₅₀ 7 días (mg/L)	CE ₅₀ 7 días (mg/L)
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	50	50	40
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	60	50	40
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	60	40	40
<i>Pimephales promelas</i>	120	60	30
<i>Pimephales promelas</i>	80	50	30
<i>Pimephales promelas</i>	90	60	90
<i>Chironomus dilutus</i>	1,520	NA	NA
<i>Chironomus dilutus</i>	1,210	NA	NA
<i>Chironomus dilutus</i>	970	NA	NA

NA: No aplica (no se realizó ensayo)

Fuente: [49]

La **nicotina** es un alcaloide altamente tóxico, con un consumo global anual de 5.0x10⁴ toneladas, siendo una de las sustancias más adictivas junto con el alcohol, los estudios de toxicidad que se han realizado con este alcaloide son principalmente en mamíferos, con menores investigaciones en especies acuáticas, por lo tanto, se conoce poco acerca de sus impactos en ecosistemas acuáticos. Previo al estudio realizado por Lourdes et al, (2017), se había reportado la toxicidad de nicotina en crustáceos y algas, posteriormente en el presente estudio se expusieron organismos de las especies *V. fischeri*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Thamnocephalus platyurus* y *Daphnia magna* a concentraciones de nicotina entre 0,5-1000 µg/L, obteniendo cambios en la naturaleza de las especies expuestas, que pueden comprometer el equilibrio en los ecosistemas acuáticos, donde la especie más sensibles fueron *D.magna*, viéndose afectada su reproducción, con la disminución del número de descendientes y longitud corporal de individuos a concentraciones de 100 µg/L y *P.subcapitata* inhibiendo su crecimiento a concentraciones entre 100 y 200 µg/L, sin embargo las exposiciones no fueron altamente tóxicas para ninguna de la especies evaluadas [50].

Las especies bioindicadoras son sensibles a un amplio rango de concentraciones de CE y sustancias tóxicas presentes en aguas residuales, superficiales y subterráneas. Existe una gran variedad de especies biológicas que sirven como modelo para ensayos toxicológicos, entre las que se encuentran plantas, algas, crustáceos, anfibios, peces, ratones, metazoarios y microorganismos (bacterias, hongos), al igual que criterios para determinar la toxicidad en estas, debido a que las concentraciones de CE con la capacidad de generar un efecto tóxico, difieren entre los tipos de especies biológicas, ya que la concentración que causa un efecto sobre los individuos de una especie durante un ensayo, no será la misma concentración que cause el mismo efecto sobre otras especies, obteniendo resultados que brindan una visión subjetiva de la toxicidad [9]. Por otro lado, las mezclas de CE resultan ser potencialmente más tóxicas que los compuestos individuales, aun cuando se realizan análisis con concentraciones de compuestos que individualmente presentan leve o nulo efecto tóxico en especies bioindicadoras [51], como lo obtenido en los resultados por Dietrich et al,(2010) al evaluar individualmente fármacos y una mezcla de carbamazepina (500 ng/L), diclofenaco (360 ng/L), etinilestradiol (0.1 ng/L) y metoprolol (1200 ng/L) en *D. magna*, presentando una toxicidad mayor para los CE en mezcla, igualmente Galus et al., (2013)

teniendo una producción menor de embriones de *D. reiro* al realizar ensayos con una mezcla de acetaminofén, carbamazepina, gemfibrozil y venlafaxina [52,53]. Según lo anterior, es interesante establecer rangos de concentraciones con la capacidad de inducir un efecto tóxico para los CE que han podido ser detectados, como también en mezclas de estos, además realizar una clasificación de la persistencia de estos en el ambiente, para tener un mayor cuidado hacia los ecosistemas, esto si en determinado momento los rangos establecidos se tuvieran en cuenta en normativas ambientales para vertimiento de aguas residuales, como parámetro para evaluar la calidad de aguas, en el diseño de PTAR domésticas y no domésticas, como también en aguas procedentes de suelos de cultivos agrícolas, que son la principal fuente de contaminación de aguas subterráneas con pesticidas y que posteriormente están presentes en aguas superficiales [38].

Al parecer los ensayos de toxicidad con especies que se encuentran en la base de la cadena trófica, se han realizado con CE en concentraciones que comprenden el orden de ng/L, µg/L y mg/L, sin embargo cuando se utilizan especies de mayor tamaño, peso y que se encuentran ubicados en una parte superior, se analizan concentraciones en el orden de mg/L y g/L, esto se puede deber a que dichos organismos como peces adultos, ranas, ratones, entre otros, no son susceptibles a bajas concentraciones de CE en tiempos cortos de exposición, lo cual impide conocer el efecto que causan estas concentraciones por períodos de tiempo mayores o su efecto crónico, siendo necesario realizar más ensayos toxicológicos crónicos en estas especies, utilizando concentraciones que han sido detectadas en ambientes acuáticos, donde el conocimiento del tiempo de degradación o persistencia es un parámetro relevante para establecer los tiempos de ensayo, que generalmente pueden ser mayores a 21 días, usando biomarcadores que permiten análisis específico de diferentes órganos, tejidos o cualquier componente a nivel bioquímico que determine anomalías, causadas por la interacción de una sustancia tóxica.

5.2 Ensayos toxicológicos con diferentes contaminantes emergentes presentes en aguas residuales como parámetro para evaluar la calidad de las aguas

A continuación, se exponen algunos métodos para evaluar la toxicidad y mutagenicidad en muestras de agua, como también los ensayos más usados y estandarizados que son utilizados como parámetro para evaluar la calidad de aguas

5.2.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Los diferentes bioensayos que se han descrito anteriormente para evaluar la toxicidad de CE presentes en aguas residuales, superficiales y subterráneas, mediante el informe de CL₅₀, CE₅₀, cambios en sus características biológicas, ya sea mediante análisis *in vitro/in vivo*, son muy útiles para indicar la concentración y efecto nocivo en particular que genera un compuesto sobre especies biológicas. Cuando se quiere evaluar la calidad de una muestra de agua en términos de toxicidad, sin conocer los efectos tóxicos que genera cada compuesto o sustancia individualmente presente en una muestra de agua, o en general cuando se quieren obtener resultados rápidos, una alternativa que se ha propuesto es mediante el análisis de inhibición de la capacidad fermentativa de la levadura *S. cerevisiae*, a través de la medición de la conductividad específica en una solución con sustancias tóxicas. Para dicho ensayo es necesario utilizar el instrumento de medición conductímetro, levadura de panadería instantánea deshidratada (*S. cerevisiae*), un carbohidrato fermentable (sacarosa) y utilizar la misma temperatura en todos los tubos de ensayo donde se realizará el montaje. Para evaluar la capacidad de *S. cerevisiae* como microorganismo indicador de toxicidad en una muestra de agua, Devezalova et al., (2014) llevó a cabo un estudio en el cual evaluó la toxicidad de 10 sustancias tóxicas, ajustando la conductividad específica de las soluciones preparadas, teniendo que si la diferencia entre la conductividad específica corregida promedio de la suspensión probada y las suspensiones de control era del 10 % o más, la solución de prueba contenía una sustancia tóxica para la levadura, seguido de esto los resultados se compararon con los bioensayos estandarizados que emplean la bacteria *V. fischeri* y el crustáceo *D. magna*, concluyendo que es un método menos sensible, sin embargo es un ensayo simple y rápido que toma 60 minutos, donde la principal ventaja es el diseño para ser usado en análisis de campo que requiere de resultados rápidos, también se determinó que se obtienen mejores resultados cuando se mide la producción de CO₂ por las células levaduriformes durante

los ensayos, lo cual se puede realizar en condiciones de laboratorio [54], así mismo otros estudios reportaron una menor sensibilidad para ensayos de toxicidad con pesticidas usando *S. cerevisiae* frente a la prueba estandarizada con *D. magna*, pero con mayor sensibilidad que al emplear como indicador la bacteria *V. fischeri*. Finalmente, la sensibilidad de *S. cerevisiae* para ensayos de toxicidad con aguas residuales de la industria farmacéutica, ha sido útil al ser comparada con el método estandarizado de inhibición de la bioluminiscencia con *V. fischeri* [54].

5.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

La concentración media inhibitoria 50 (CI₅₀), sobre la especie *P. aeruginosa*, resulta ser un ensayo viable para determinar la ecotoxicidad de una sustancia, ya que esta posee la característica de producir pigmentos difusibles naturales, como lo son piocianina, pioverdina, piorubina, piomelanina, fluoresceína, de los cuales, la piocianina se puede relacionar con los cambios en la cadena respiratoria del microorganismo, bajo exposición a una sustancia tóxica. La producción de piocianina en una cepa silvestre de *P. aeruginosa* resulta ser insuficiente para llevar a cabo las mediciones a través de ensayos electroquímicos o espectrométricos, por lo cual, es útil realizar una modificación genética de una cepa silvestre, con el objetivo de lograr una sobre producción de piocianina y posteriormente ser utilizado como indicador de toxicidad del agua mediante la inhibición del pigmento, esto mediante la inserción de un plásmido que contenga genes que codifiquen para dicha actividad. El principio básico de la detección de la toxicidad se fundamenta en los cambios en la actividad de la cadena respiratoria de *P. aeruginosa* genéticamente modificada, inducidos por sustancias tóxicas, Yong et al., (2017) utilizaron el pigmento piocianina como biosensor de toxicidad, siendo el 3,5 -diclorofenol el compuesto a evaluar, ya que es usado en la industria maderera y de pesticidas, entre otras. La CI₅₀ determinada fue de 15.1 mg/L (Figura 8 B) con espectrometría y la toxicidad se puede observar por la disminución en el color del pigmento. En la **Figura 7** se observa la intensidad del pigmento al ser incubado por un período de 10 horas con el compuesto 3,5 -diclorofenol, siendo (a) 0.0 mg/L, (b) 2.5 mg/L, (c) 5.0 mg/L, (d) 10.0 mg/L y e) 20,0 mg/L), sin embargo para obtener mejores resultados en cuanto a la diferenciación de la intensidad del pigmento, es necesario tener controlados parámetros fundamentales en el cultivo de *P. aeruginosa* como pH, temperatura, nutrientes, oxígeno, entre otros, para lograr una mayor producción del pigmento y diferenciación de la intensidad del mismo en los ensayos [55].

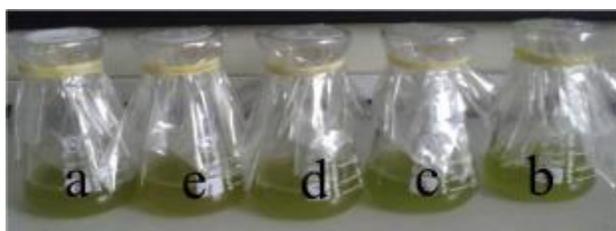


Figura 7. Inhibición de piocianina bajo diferentes exposiciones de 3,5 -diclorofenol

Fuente: [55]

En la **Figura 8**, se observan los resultados para la medición de absorbancia UV-vis, donde el control presentó un absorbancia mayor a 0.50 UA (unidades de absorbancia) y con concentraciones crecientes la producción de piocianina se vio disminuida, ya que la mayor concentración usada (20 mg/L) presentó una absorbancia por debajo de 0.25 UA, siendo la más baja, indicando que a mayores concentraciones de 3,5-diclorofenol, las actividades metabólicas y respiratorias de la cepa se ven más afectadas [55].

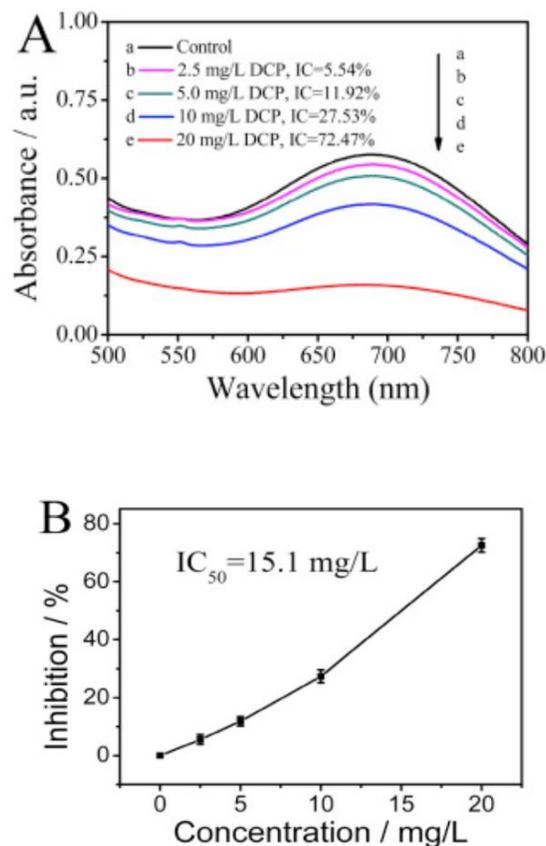


Figura 8. (A) Espectros UV-vis del sobrenadante de *P. aeruginosa* genéticamente modificada, cultivada con diferentes concentraciones de 3, 5-diclorofenol (a) 0.0 mg/L, (b) 2.5 mg/L, (c) 5.0 mg/L, (d) 10.0 mg/L y (e) 20.0 mg/L después de la incubación durante 10 horas; (B) porcentaje de inhibición de la respiración bacteriana para diferentes concentraciones de 3, 5-diclorofenol.

Fuente: [55]

Igualmente, Kurvet et al., (2011) obtuvieron resultados satisfactorios al realizar ensayos de toxicidad basados en la inhibición de bioluminiscencia de *Escherichia coli* genéticamente modificada con *Photobabidus luminesces*, resultando en la expresión de la luciferasa termoestable, siendo una alternativa a la prueba de *V. fischeri*, con una luminiscencia 100 veces mayor, para ser usadas en ensayos con metales pesados y químicos orgánicos como el 3,5- dicloro fenol [56].

5.2.3 Bioindicadores con microorganismos luminiscentes. Células inmovilizadas en polivinilalcohol y libres

Otro método para evaluar la toxicidad es aprovechando la bioluminiscencia natural que poseen algunos microorganismo o mediante la modificación genética de bacterias con el gen lux y otros genes que permiten la expresión de la enzima luciferasa, la cual es utilizada en el proceso de obtención de luz de los microorganismo bioluminiscentes. Entre los microorganismos utilizados en ensayos de toxicidad fundamentados en la bioluminiscencia se encuentran comunmente *V. fischeri*, *Vibrio harveyi*, *Photobacterium phosporeum* y *Photobabidus luminescens*, los cuales se utilizan como biosensor que responde a factores externos, específicamente la presencia de sustancia tóxicas, como lo son plaguicidas-insecticidas, herbicidas y metales pesados que se encuentran en aguas y suelos, también se ha reportado el uso de *Pseudomonas putida* y algunas especies de *Salmonella sp.* genéticamente modificadas para evaluar la toxicidad de una muestra de agua, con la capacidad de detectar moléculas orgánicas e inorgánicas como índice de toxicidad [57].

La inmovilización de microorganismos con actividad bioluminiscente para llevar a cabo evaluación de la toxicidad en una muestra acuosa, presenta la ventaja de una mayor estabilidad de la bioluminiscencia emitida por las células bacterianas, para lo cual se han estudiado las matrices de alginato de calcio, poliacrilamida, calboximetil celulosa y polivinil alcohol, donde es fundamental controlar factores como la temperatura y pH de almacenamiento una vez han sido inmovilizadas las células, para garantizar una buena intensidad y estabilidad de la bioluminiscencia. Es importante resaltar que de acuerdo al microorganismo, la cepa, tamaño del poro en la matriz de inmovilización, condiciones de producción y almacenamiento de las células bacterianas, se determina la mejor matriz de inmovilización para un microorganismo. A continuación, en la **Tabla 15** se observan los resultados de la duración de luminiscencia en días cuando las células se encuentran inmovilizadas en polivinil alcohol y en estado libre para 3 especies de microorganismos y 4 diferentes cepas, donde se determinó que la inmovilización de células de *P. phosphoreum* en esta matriz permitió una mayor estabilidad de la luminiscencia [57].

Tabla 15. Luminiscencia células inmovilizadas y libres

Cepa	Células inmovilizadas		Células libres	
	Rendimiento de fotones / cuantificación células	Duración en días de la luminiscencia	Rendimiento de fotones / cuantificación células	Duración en días de la luminiscencia
<i>P. phosphoreum</i> 11040 (ATCC)	(1-5) 10 ⁷	14	10 ⁶	3-7
<i>P. phosphoreum</i> 331 (KM MGU)	(1-5) 10 ⁹	42	10 ⁸	14-21
<i>V. harveyi</i> 292 MAV (ATCC)	(1-5) 10 ⁶	3	10 ⁵	1-3
<i>V. fischeri</i> 6 (KM MGU)	(1-5) 10 ⁶	5	10 ⁵	2-5

Fuente: [57]

Actualmente existen ensayos que se comercializan para evaluar la toxicidad de una muestra, como los bioensayos Microtox y Toxalert, que emplean la bacteria *P. phosphoreum*, o Mutatox y Vitotox con la bacteria *V. fischeri*, los cuales contienen protocolos para llevar a cabo los ensayos. La tecnología se basa en la inhibición de una actividad metabólica a nivel celular provocada por una sustancia prueba, siendo un efecto biológico, que posteriormente es detectado por un elemento indicador que permite cuantificar según la intensidad de luminiscencia emitida. Por lo tanto, un sistema de biomonitorio consta de dos convertidores secuenciales de energía, el primero es un convertidor biológico, que realiza una transformación de energía química luminosa, haciendo referencia a la actividad de inhibición provocada en el microorganismo indicador, debido a la reacción con la sustancia química y por otro lado, un convertidor fotoeléctrico, que transforma una entrada de luz en una señal eléctrica. Los bioensayos de bioluminiscencia utilizando células inmovilizadas y los productos comerciales han mostrado resultados acordes con los obtenidos en bioensayos con peces, crustáceos y protozoos, para detectar sustancias tóxicas y mutágenas [57].

5.2.4 Programa gecotoxic

El programa gecotoxic puede ser usado para la predicción de ecotoxicología en el agua causada por un contaminante, donde previamente se deben realizar análisis de toxicidad en una especie bioindicadora, la caracterización de parámetros físico químicos del agua residual en la cual se encuentra el contaminante indicando tratamiento utilizado para el agua, ya sea primario, secundario, terciario o si el vertimiento se llevó a cabo sin previo tratamiento, debido a que es un programa que analiza diferentes datos reales, como en la investigación de Sosa et al., (2017), donde se determinó la CL₅₀, siendo igual a 0,078 mg/L con la especie *Eisenia andrei* (lombriz roja común) en dicho ensayo se utilizaron concentraciones de cianuro detectadas en efluentes mineros-auríferos, las cuales estaban por encima del rango recomendado

de referencia (0.022mg/L) para estándares de calidad del agua en Perú. Posteriormente, el programa ecotoxicológico detectó un 68% de contaminación para las aguas receptoras de acuíferos mineros, así mismo Pérez G (2020), tuvo en cuenta los mismos parámetros antes de utilizar el programa para la predicción ecotoxicológica de diferentes antibióticos (ciprofloxacina, oxitetraciclina, sulfametoxazol, trimetoprima y eritromicina), concluyendo que es muy útil y resaltando la ventaja que presentan al tener en cuenta los ensayos de toxicidad de CL_{50} con especies bioindicadoras [58,59]. El programa ha sido comparado con modelos biológicos en condiciones naturales obteniéndose buenos resultados, ya que este se encuentra acorde con lo referido en la Environmental Agency Protection (1997), European Communities (2003), Corporación Nacional del Cobre de Chile (2006) y la International Organization for Standardization (ISO, 2009) [60].

5.2.5 Genotoxicidad, citotoxicidad y mutagenicidad

Los ensayos de mutagenicidad y toxicidad son complementarios a los ensayos físicos, químicos y biológicos para evaluar la calidad de una muestra de agua. El test de Ames es comúnmente utilizado para evaluar el efecto mutágeno de una sustancia, el cual emplea cepas de *Salmonella typhimurium* para evaluar el crecimiento en presencia de agentes tóxicos, ensayo que fue usado en el estudio de Arboleda et al., (2014), para evaluar la mutagenicidad de metales pesados presentes en diferentes lugares del Río Cauca en la zona urbana de Cali-Colombia, teniendo resultados positivos en temporada de lluvias, usando la cepa TA98 sin activador enzimático (S9) [61], además Tigini et al., (2011) utilizaron las cepas TA98 y TA100 de la bacteria *S. typhimurium* para detectar cambios de marco y mutaciones de sustitución de pares de bases ocasionadas por aguas residuales de textiles y curtiembres, como también realizaron ensayos de toxicidad con bacterias, crustáceos y plantas acuáticas, para lo cual el alga *P. subcapitata* resultó ser altamente susceptible frente a los ensayos de toxicidad [62]. Los efectos genotóxicos ocasionados por sustancias, corresponde a daños en el ADN sin ocasionar precisamente una mutación, pero pueden conllevar a mutaciones en una célula, estos pueden ser evaluados mediante un análisis de micronúcleos, los cuales presentan un tamaño menor al ser comparados con los núcleos de una célula de la raíz de una planta como *Allium cepa* L o *Vicia faba* al observar un preparado en una lámina a través del microscopio de luz. El bioensayo con *A. cepa* se conoce como el ensayo de aberración cromosómica y está avalado como un ensayo efectivo por el programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, usado para determinar toxicidad en aguas residuales, químicos y iones metálicos [6], como lo han confirmado estudios usando aguas residuales con colorantes, resultando en la inhibición del crecimiento de las raíces, daños en cromosomas y anomalías en la división celular [63, 64]. Otro estudio que utilizó *A. cepa* para evaluar muestras de aguas, fue el realizado por Rodríguez et al., (2010), donde analizaron un efluente proveniente de la industria de papel, que contenía un contaminante altamente tóxico, denominado “blanqueador” de celulosa, obteniendo resultados de efectos mutagénicos en las células, mediante el análisis de micronúcleos o índice mitótico, haciendo referencia a las anomalías presentes durante la división celular, teniendo que respecto al control negativo, el aumento indica una división anormal de las células que pueden causar tumores y la disminución de este, indica que las células están siendo afectadas por la sustancia a evaluar, lo cual puede ser usado para determinar sustancias mutagénicas y citotóxicas presentes en el medio ambiente [10]. Otra especie de planta usada para evaluar sustancias genotóxicas es *V. faba*, como lo demostró Beltrán et al., (2017) al evaluar la calidad de agua superficial (río Moche-Perú) en raicillas, las cuales presentaron aberraciones cromosómicas clastogénicas, indicando que la muestra de agua a evaluar ocasionó la ruptura del ADN e inhibió la replicación o reparación del mismo y aneugénicas, las cuales determinaron que se modificó la segregación de los cromosomas; por otro lado, los efectos citotóxicos pueden ser evaluados mediante el análisis de las fases en la mitosis y meiosis en células eucariotas como lo son profase, metafase, anafase y telofase [65]. Además del análisis de micronúcleos para evaluar genotoxicidad, el análisis de células apoptóticas e inestabilidad de la membrana lisosomal resultan ser eficientes, como en el estudio de Pedriali et al, (2013), donde usaron hemocitos de *Dreissena polymorpha* (mejillón cebra) para analizar el efecto de la cocaína mediante la observación de halos de ADN, como característica alrededor de células apoptóticas y el ensayo basado en la estabilidad de la membrana lisosomal en células, que resulta ser un método eficaz para evaluar la calidad de aguas, el cual se fundamenta en la capacidad de absorción y retención del colorante rojo neutro para identificar las

células sanas, debido a que tienen la capacidad de absorber y retener mayores cantidades de colorante que las células dañadas [42], en las células de esta especie se ha reportado daño en el ADN, peroxidación de lípidos y carbonilación de proteínas ocasionado por el Δ -9-tetrahidrocannabinol (principal compuesto psicoactivo del cannabis), resultando ser una opción de especie bioindicadora para evaluar respuestas al daño oxidativo y genético de CE del grupo de drogas ilícitas [44]. Finalmente, una especie biológica como alternativa a ensayos de mutagenicidad y con la cual se han realizado diversas investigaciones de mutaciones y toxicología genética es *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta), debido a que las células de la mosca contienen similitudes con el hígado de los mamíferos al metabolizar xenobióticos, además se pueden detectar mutaciones puntuales, recombinaciones mitóticas, pérdida cromosómica, entre otros [6]. A continuación, se expone una imagen de células de *A. cepa* con presencia de micronúcleos.

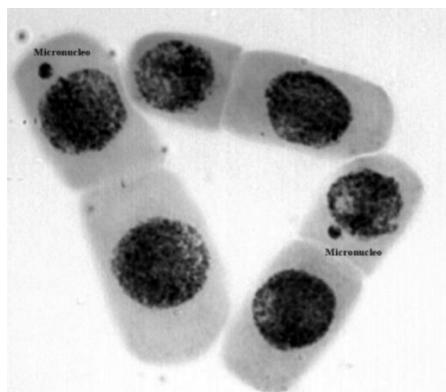


Figura 9. Micronúcleo en células de la región meristemática de la raíz de *Allium cepa* L expuestas a efluente de la industria de papel y celulosa

Fuente: [10]

5.2.6 Protocolos estándar internacionales usados en Colombia

En la normativa de Colombia los protocolos válidos para realizar ensayos de toxicidad en medios acuáticos emplean principalmente las especies *D. magna*, *V. fischeri* y *Selenastrum capricornutum*, sin embargo, los países emplean en su normatividad ambiental protocolos que se encuentran estandarizados en organismos internacionales, como lo son la ISO, EPA, OCDE y ASTM contienen normas y/o protocolos establecidos que utilizan diferentes especies biológicas de prueba para llevar a cabo ensayos de toxicidad. A continuación, se presentan algunos protocolos estándar para realizar ensayos de toxicidad aguda y crónica, usados en las últimas dos décadas.

Tabla 16. Protocolos estándar de toxicidad aguda y crónica

Organismo		Toxicidad	
Toxicidad aguda	Toxicidad crónica	Ensayo	Naturaleza
ISO 6341:2012	O ISO 10706:2000 Largo plazo	Determinación de la movilidad de <i>Daphnia magna</i>	Crustáceo planctónico
OCDE C3.		Prueba de inhibición del crecimiento de <i>Skeletonema costatum</i> y <i>Phaeodactylum tricorutum</i>	Algas marinas

ISO 11348: 2007		Inhibición de la emisión de luz en <i>Vibrio fischeri</i>	Bacteria
ISO 14380:2011		Determinación de la toxicidad aguda para <i>Thamnocephalus platyurus</i>	Crustáceo
ISO 15088:2007		Determinación de la toxicidad aguda de las aguas residuales para huevos de <i>Danio rerio</i>	Pez
ASTM E1163-10	ASTM E1619-11	Método para estimar toxicidad oral en ratas	Mamíferos-ratas
ISO 20079		Inhibición de crecimiento de <i>Lemna minor</i>	Planta acuática pequeña Lenteja de agua
ASTM E1563-98		Prueba de toxicidad aguda con embriones equinodermos	Equinodermos
ASTM E1440-91(2012)	O ISO 20666:2008 48 h	Prueba de toxicidad con <i>Brachionus calyciflorus</i>	Rotífero planctónico
ASTM E1192-97		Prueba de toxicidad aguda en muestras de ambientes acuáticos y efluentes con peces, macroinvertebrados y anfibios	Peces Macroinvertebrados (insectos, moluscos, anélidos) Anfibios (ranas)
ASTM E1218-04		Prueba de Toxicidad estática con microalgas	Microalgas
EPA 2002.0	ISO 20665:2008 EPA 1002.0 (Supervivencia y reproducción)	Prueba de toxicidad con <i>Ceriodaphnia dubia</i>	Crustáceo planctónico Pulga de agua
EPA 2000.0	EPA 1000.0 (Supervivencia y crecimiento) EPA 1001.0 (Supervivencia y teratogénesis) Larvas de <i>Pimephales promelas</i>	Prueba de toxicidad con <i>Fathead Minnow</i> , <i>Pimephales promelas</i> , y <i>Bannerfin shiner</i> , <i>Cyprinella leedsii</i>	Peces
EPA 2021.0	EPA 1002.0 (Supervivencia y reproducción)	Prueba de toxicidad con <i>Daphnia pulex</i> y <i>Daphnia magna</i>	Crustáceo planctónico
EPA 2019.0	ISO 10229:1994 (Tasa de crecimiento) largo plazo	Prueba de toxicidad con <i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salvelinus fontinalis</i>	Trucha arcoíris y trucha de arroyo

EPA 2007.0		Prueba de toxicidad aguda con <i>Salvelinus fontinalis</i>	Pez
EPA 2004.0	EPA 1004.0 (Supervivencia y crecimiento) EPA 1005.0 (supervivencia y teratogénesis) de larvas	Prueba de toxicidad con <i>Cyprinodon variegatus</i>	Pez
EPA 2006.0	EPA 1006.0 (supervivencia y crecimiento de las larvas de <i>Menidia beryllina</i>) OCDE Test Guideline 453 OCDE Test Guideline 452 ASTM E1562-00	Prueba de toxicidad aguda con <i>Menidia beryllina</i> , <i>Menidia menidia</i> y <i>Menidia peninsulae</i> Estudios combinados de toxicidad crónica y carcinogenicidad Estudios de toxicidad crónica	Peces
	EPA 1003.0	Prueba de toxicidad con <i>Polychaetous Annelids</i>	Anélidos
	EPA 1008.0	Prueba de crecimiento con <i>Selenastrum capricornutum</i>	Alga
	EPA 1007.0	Prueba de fertilización <i>Arbacia punctulata</i>	Erizo de mar
		Prueba de supervivencia, crecimiento y fecundidad de <i>Americamysis bahia</i>	Crustáceo

Fuente: [6]

Sin embargo se ha podido establecer que la mejor opción para realizar ensayos de toxicidad a largo plazo o crónicos, empleando tiempos mayores a las pruebas que ya se encuentran estandarizadas, es el uso de embriones de especies acuáticas, embriones de nemátodos, rotíferos, cnidarios y artrópodos, donde su importancia radica en que los embriones son altamente sensibles en el ciclo de vida de los organismos y estas etapas tempranas de vida no están contempladas en experimentación animal, así se reduce el uso de otras especies biológicas en etapa adulta para ensayos de toxicidad, como también presentan la ventaja de facilidad y menores costos para mantener en condiciones de laboratorio, en cuanto a los embriones de especies acuáticas, la mayoría se desarrollan fuera del parental, estando expuestos directamente a contaminantes, lo cual se relaciona directamente con efectos en estos ecosistemas. A continuación en la **Tabla 17** se exponen los modelos de prueba de embriones más utilizados que han presentado mayor eficiencia en evaluación a corto y mediano plazo [38].

Tabla 17. Modelos de embriones más destacados hasta el año 2020

Orden de importancia	Categoría	Especies	Características	Próximos pasos para la implementación
1	Vertebrados	<i>Danio rerio</i>		

		<i>Orzyas latipes</i> <i>Pimephales promelas</i>	1. Modelos completamente validados con un amplio uso para la evaluación de peligros 2. Pruebas validadas por la OCDE Pruebas validadas por la OCDE	Ya aplicado a gran escala
2.	Equinodermos	<i>Paracentrotus lividus</i>	1. Alto nivel de sensibilidad a varios grupos compuestos 2. Disponible en algunas temporadas 3. Alto uso y algunos protocolos validados	Ya aplicado a gran escala
3.		<i>Lymanaea stagnalis</i>	1. Facilidad extrema para la crianza y manipulación en laboratorio 2. Modelo predominante de la OCDE	Aún son necesarios varios pasos de validación
	Moluscos			
4.		<i>Crassostrea gigas</i> <i>Mytilus sp</i> <i>Ruditapes decussatus</i>	1. Modelos muy bien establecidos 2. Varias pautas estandarizadas a nivel internacional 3. Alta sensibilidad a una amplia gama de contaminantes ambientales 3. Relevancia ambiental y económica	Ya aplicado a gran escala
5.	Urochordata (cordados)	<i>Ciona intestinalis</i>	1. Utilizado a nivel de investigación, con protocolos validados 2. Posibilidad de crianza en laboratorio	1. Aún son necesarios varios pasos de validación: evaluar el poder predictivo de las etapas posteriores de vida
6.	Anélidos	<i>Platynereis dumerilii</i>	1. Posibilidad de crianza en laboratorio 2. Modelo de investigación establecido con un amplio	1. Aún son necesarios varios pasos de validación: estandarizar los protocolos de prueba; evaluar el poder predictivo de

			conocimiento disponible	las etapas posteriores de vida
			3. Alta sensibilidad a diversas clases de compuestos	
			4.Relevancia ambiental	
7.	Nemátodos	<i>Caenorhabditis elegans</i>	1. Uso extensivo como modelo animal	1. Aún son necesarios varios pasos de validación: evaluar el poder predictivo de las etapas posteriores de vida
			2. Posibilidad de crianza en laboratorio	

Fuente: [38]

5.2.7 Resumen de algunos efectos sobre los seres vivos ocasionados por los principales grupos de CE

A continuación se exponen grupos de CE orgánicos, su uso y los efectos en general que ocasionan en organismos vivos.

Tabla 17. Efectos sobre los seres vivos de los principales grupos de contaminantes orgánicos emergentes (COEs)

COEs	Aplicaciones	Efectos sobre la salud
Fármacos y drogas ilícitas	Esteroides y anticonceptivos	Feminización en machos
Aditivos industriales	Antibióticos (sulfonamidas, penicilina, tetraciclinas, etc.)	Resistencia microbiana.
	Bisfenol-A (fabricación de plásticos)	Alteración de la cadena trófica
Productos de higiene y cuidado personal	Ftalatos (fabricación de plásticos, juguetes para bebés y suelos)	Actividad estrogénica en ratas y hormonal en seres humanos. Aumento del riesgo de cáncer de mama. Agente anti-andrógeno. Provoca feminización en machos
	Alquilfenoles (fabricación de detergentes)	Alteraciones en el embarazo y abortos involuntarios
	Fragancias con almizcle	Alteraciones en el desarrollo del proceso reproductivo Poder cancerígeno en roedores
	Parabenos (agentes bactericidas y antifungicos en coomidas y cosméticos)	Actividad estrogénica
	Desinfectantes y antisépticos (fabricación de pastas de dientes, jabón de manos y	Resistencia microbiana y biocida

	cremas para el acné, ejemplo: triclosan)	
Surfactantes	Compuestos perfluorados (ejemplo: ácido perfluorooctanoico)	Cancerígeno
Fuente: [3]		

La importancia de llevar a cabo ensayos de toxicidad en aguas residuales, superficiales y subterráneas se fundamenta en poder tener datos de predicción sobre la ecotoxicidad que se puede ocasionar en los ecosistemas acuáticos por la presencia de diferentes contaminantes químicos tóxicos, como también asegurar la calidad de agua para consumo humano, al igual que la del agua regenerada, la cual es utilizada en diferentes actividades industriales, agrícolas o escénicas (jardines de agua y/o agua decorativa) y por último la de aguas residuales, que son la principal fuente de contaminación de aguas superficiales, esto debido a que el cambio climático y el desarrollo económico limitan el agua dulce disponible en la tierra, por lo cual, es indispensable la recuperación y reutilización de agua residual para satisfacer la demanda de agua en el mundo, donde es necesario cumplir con parámetros de calidad que son evaluados mediante análisis físico químicos y toxicológicos, para mitigar el deterioro en la salud humana y medio ambiente. Los ensayos toxicológicos permiten conocer daños ocasionados en especies biológicas que se derivan de la presencia de sustancias tóxicas presentes en aguas, sin embargo, como los CE son de difícil detección y se conoce poco acerca de la toxicidad que pueden ocasionar, es necesario implementar ensayos de toxicidad que permitan su evaluación, ya que estos al igual que otras sustancias químicas en el agua, conllevan a efectos adversos en la salud humana, desequilibrio en ecosistemas acuáticos y en general alteraciones en cualquier organismo vivo [66]. Los CE ocasionan daños en los ecosistemas acuáticos, como resistencia a los microorganismos por la presencia de antibióticos, alteración en los sistemas endocrinos de especies biológicas y bioacumulación en animales y plantas. Los bioensayos son utilizados actualmente en la legislación ambiental del agua y permiten predecir el posible impacto en un ecosistema, a través de ensayos en especies biológicas, como lo son inhibición de la fotosíntesis en algas, mutagenicidad y alteración de los sistemas endocrinos, los cuales permiten predecir el daño que pueden causar en la salud humana [67].

Es necesario realizar ensayos a muestras de aguas compuestas con diferentes CE y otros contaminantes, ya que de esta forma se encuentran en el ambiente acuático, siendo necesario modificar los protocolos que comúnmente se realizan en los laboratorios, los cuales utilizan sustancias individualmente con una sola especie como modelo indicador de toxicidad, impidiendo obtener una visión general de los efectos tóxicos en comunidades acuáticas, debido a esto, se deriva el indispensable uso de baterías de bioensayos, como lo demostró Wei et al., (2011) al utilizar una batería de bioensayos usando 3 diferentes especies biológicas para evaluar la calidad de agua regenerada, obteniendo un solo dato de toxicidad, teniendo en cuenta los resultados en las tres diferentes especies [68], al igual que en el estudio llevado a cabo por Xu et al., (2014), donde además de utilizar una batería de bioensayos, se establecieron los principales parámetros para evaluar la toxicidad de una muestra de agua, basándose en los efectos que generalmente ocasionan los químicos tóxicos en especies biológicas, los cuales corresponden a letalidad, mutagenicidad y daños en el sistema disruptor endocrino; estos análisis pueden ser llevados a cabo empleando ensayos de inhibición de luminiscencia con bacterias como *P. phosphoreum*, test de Ames y el uso de una cepa de *S. cerevisiae* que contenga un receptor estrogénico y un gen reportero respectivamente [66]. Para obtener un dato de toxicidad usando una batería de bioensayos, es necesario compilar datos toxicológicos de los diferentes ensayos que se quieran implementar en diferentes especies biológicas, para posteriormente realizar análisis estadísticos y una curva que indique la distribución de sensibilidad de diferentes especies frente a una sustancia de referencia, que finalmente será usada para definir un resultado de toxicidad, teniendo en cuenta diferentes parámetros de evaluación en un amplio rango de especies bioindicadoras, logrando obtener datos relevantes para evaluar la calidad de agua con presencia de sustancias tóxicas o de CE, debido a que la evaluación en múltiples taxones respalda el valor predictivo de los efectos tóxicos a escala de ecosistemas [9, 66, 67].

Los CE están siendo controlados por autoridades reguladoras como el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA). El estudio de los CE ha generado la optimización de algunos métodos para ensayos de toxicidad, como el incremento en tiempos de exposición (semanas) de las especies bioindicadoras, el uso de biomarcadores bioquímicos, microorganismos genéticamente modificados o inmovilizados con la capacidad de una alta bioluminiscencia, el diseño del programa gecotoxic, ensayos rápidos son *S.cerevisiae*, uso de software y programas de video para análisis de movimientos, análisis de la membrana lisosomal en la retención del colorante rojo neutro, conteo de micronúcleos, como también el estudio de nuevas especies biológicas para ser usados en ensayos de toxicidad y mutagenicidad, lo cual ha permitido un avance en el conocimiento de la toxicidad que generan los CE y relacionarlo con el impacto que pueden ocasionar en los ecosistemas acuáticos, sin embargo el funcionamiento de un ecosistema completo está determinado por diversos factores como lo son el clima, la ubicación geográfica, características físicas y químicas del suelo, agua, microorganismos, macroorganismos, relaciones simbióticas e incluso la participación antropogénica, por lo cual todos estos factores influyen en el equilibrio de un ecosistema y para lograr conocer el daño real, son necesarios análisis complementarios a los toxicológicos y mutagénicos ocasionados por la presencia de CE. Según lo anterior, es indispensable implementar métodos en las PTAR que permitan un control de estos, realizar más estudios que ayuden a la detección de los metabolitos en el agua principalmente de fármacos, drogas ilícitas, cafeína y nicotina, los cuales son excretados por el humano y pueden ser moléculas biológicamente activas; por otro lado, en el área agrícola continuar con investigaciones que permitan detectar las trazas de pesticidas y herbicidas que ocasionan contaminación en ecosistemas subterráneos, finalmente para los CE retardantes de llama bromados, utilizados en la fabricación de diversos materiales a escala industrial, es fundamental realizar un monitoreo a las descargas de aguas provenientes de estas industrias para cumplir con las normas que actualmente regulan algunos compuestos, sin embargo es necesario identificar subproductos derivados de los compuestos originales para poder implementar sistemas que permitan el manejo de los mismos, esto teniendo en cuenta que son suficientes concentraciones en el orden de $\mu\text{g/L}$ para producir efectos apreciables en la estructura y funcionamiento de las comunidades biológicas [69,61,62].

5.3 Tratamientos usados en la detección y eliminación de contaminantes emergentes presentes en aguas residuales

5.3.1 Métodos de detección para CE

La detección de los CE es un tema ampliamente estudiado, ya que no se conoce la conformación química de todos los posibles CE presentes en el medio acuático, por lo cual no hay métodos estandarizados o que garanticen la detección, sin embargo, las técnicas más usadas son extracción en fase sólida y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas [32]. Es importante usar técnicas de extracción combinadas con técnicas de determinación que proporcionen métodos analíticos altamente sensible y selectivos [70]. La eficiencia de recuperación de los CE depende de sus propiedades fisicoquímicas, donde los principales pasos para preparar la muestra incluyen pretratamiento, limpieza y concentración. Los compuestos polares pueden perderse durante la extracción en fase sólida, por lo cual la recuperación de estos es menor, a diferencia de los compuestos no polares, por otro lado, los compuestos ionizados requieren de una reducción del pH en la muestra, lo cual puede generar simultáneamente la extracción de materia orgánica natural, siendo un interferente durante la técnica [32]. La extracción en fase sólida permite obtener los analitos en función de la retención relativa por la matriz de la muestra y el sorbente, esta interacción del sorbente con el analito puede generar diferentes mecanismos como adsorción, partición, intercambio iónico, exclusión molecular, afinidad o una combinación de ellos, donde los sorbentes más usados en la extracción de varios CE han sido materiales poliméricos de modo mixto, materiales de acceso restringido, polímeros de impresión molecular, sorbentes basados en líquidos iónicos, inmunosorbentes, nanomateriales, materiales obtenidos a través de procesos sol-gel, grafeno y materiales derivados, siendo los sorbentes de base sílica o polimérica modificados con diferentes grupos

funcionales, los más usados para la extracción de drogas ilícitas, hipnótico-sedantes, edulcorantes y productos farmacéuticos y de cuidado personal [70]. A continuación, en la **Figura 10** se expone un diagrama de los principales pasos de preparación y análisis de muestra de CE. Extracción en fase sólida (SPE), cromatografía líquida/espectrometría de masas (LC/MS), cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS)

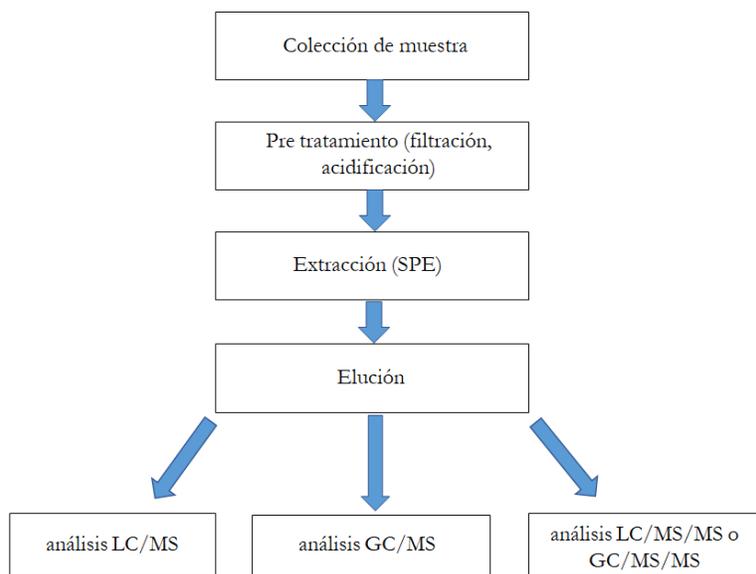


Figura 10. Diagrama de preparación y análisis de muestras para CE.

Fuente: [32]

En los últimos años se han estudiado las metodologías de análisis de diferentes compuestos, sin embargo, no hay reportes de más de 100 CE orgánicos. Los métodos de reacción seleccionados no sirven para evaluar la calidad de las aguas residuales, ya que solo se cuenta con un número limitado de analitos, a diferencia de los métodos de cromatografía de gases/espectrometría de masas, donde el análisis se respalda con búsqueda en bibliotecas, como lo es la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Pruebas, pero presenta la desventaja para poder intercambiar espectros adquiridos con instrumentos de diferentes casas comerciales, a diferencia de la universalidad que presenta el uso de mediciones usando bases de datos de masas precisas, que posee una alta sensibilidad en el modo de “barrido completo”, detectando micro contaminantes en matrices complejas y en bajas concentraciones (ng/L), debido a que cuentan con información de iones objetivos, tiempos de retención, iones fragmentos y perfil de isótopos, lo cual permite la identificación de compuestos desconocidos y/o productos de transformación-degradación con estructuras similares a los compuestos orgánicos que ya se encuentran en la base de datos. La cromatografía líquida/espectrometría de masas de tiempo de vuelo cuadrupolo, sumado al uso de una base de datos de masa precisa, fue aplicado en el estudio de Gómez et al., (2010) a muestras reales de agua residual y superficial (río), logrando identificar 15 de 300 pesticidas que se encontraban en la base de datos, además de algunos compuestos farmacéuticos activos con concentraciones en el rango de ng/L y µg/L, como algunos productos de degradación, siendo una herramienta útil en la detección de algunos CE orgánicos en las aguas, sin embargo los análisis ambientales de productos de degradación y transformación son limitados, pero se puede alimentar la base de datos a medida que se detectan nuevos compuestos [71].

A continuación, en la **Tabla 18** se presenta una lista con las principales técnicas de detección que han sido reportadas para CE como drogas ilícitas, pesticidas y compuestos farmacéuticos y de cuidado personal o uso diario

Tabla 18. Listas técnicas de detección reportadas para algunos CE

Técnicas de extracción/ detección	Analizadores
Extracción en fase sólida	Trampa iónica
Microextracción por sorbente empaquetado	Cuadrapolo
Polímero de impresión molecular	Triple cuadrapolo
Extracción en fase sólida con impresión molecular	Triple cuadrapolo-trampa lineal de iones
Cromatografía líquida	Cuadrapolo tiempo de vuelo
Cromatografía líquida de ultra alta resolución	Cuadrapolo-Orbitrap
Cromatografía de gases	Transformación de fourier trampa iónica lineal-Orbitrap
Espectrometría de masas / en tándem	Trampa lineal-Orbitrap
Ionización electrospray	
Ionización electrospray caliente	
Detector de ionización de llama	

Fuente:[70]

Los métodos de cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas incluyen un paso de preconcentración, como lo es la extracción en fase sólida (EFS). La inyección directa de volumen de muestras acuosas es una alternativa para EFS, ya que utiliza una única columna analítica, sin enriquecimiento previo, por lo que no requiere cartuchos, reduce el uso de disolventes y es más precisa porque implica menos pasos de tratamiento de las muestras y menos manipulación de esta que en las técnicas con EFS. La inyección directa de muestras acuosas ha demostrado ser una alternativa económica y respetuosa con el medio ambiente a la metodología EFS, ya que no implica el tratamiento de la muestra antes de inyectarla en el sistema cromatográfico. Borrul et al., (2020) reportó el uso de este método para determinar diferentes micro contaminantes orgánicos en muestras de agua de afluentes y efluentes específicamente para pesticidas, cafeína y algunos fármacos de una planta de tratamiento de agua potable, inyectando 500 μL de muestra de agua filtrada, teniendo una sensibilidad con límites de detección entre 0,15 a 10 ng/L [72].

5.3.2 Tratamientos de eliminación

Los tratamientos de eliminación (TE) de CE usados convencionalmente en las plantas de tratamiento no han sido eficientes para el control de estos, ya que después de tratamientos terciarios se han detectado compuestos o metabolitos persistentes, principalmente de productos farmacéuticos como los antibióticos, al igual que drogas de uso ilícito. El tratamiento o eliminación de CE está determinado por las propiedades fisicoquímicas de los compuestos, por lo cual no existe un solo tratamiento que sea eficaz para la gran variedad de formas químicas que existen. Los tratamientos se pueden clasificar en físicos, químicos y biológicos, donde el porcentaje de eficiencia varía según el CE que se está eliminando y el tratamiento utilizado. Finalmente, los tratamientos híbridos emplean diferentes tratamientos en secuencia o integrados en un proceso, y han mostrado ser los más eficientes para eliminar CE en aguas residuales, ya que se ha determinado su eficiencia en muestras compuestas (CE, materia orgánica, otras sustancias) y no individualmente, tratándose de un agua real y potencialmente más tóxica.

5.3.2.1 Tratamientos físicos

Los tratamientos físicos utilizan membranas, procesos de adsorción, ósmosis directa e inversa. Las membranas funcionan como filtros mediante la retención de moléculas, lo cual está determinado por el tamaño del poro de la membrana y el tamaño de la molécula del contaminante que se desea retener, donde la nanofiltración (NF) y ultrafiltración (UF) han sido las más eficientes en tratamientos de CE, por ejemplo, la NF ha demostrado ser eficiente para tratamiento de cafeína y algunos antiinflamatorios, y la UF para el diclofenaco y ketoprofeno [73]. Por otro lado, los procesos de adsorción utilizan materiales naturales, sintéticos o reciclados, que actúan mediante la porosidad en su superficie, donde el más usado frecuentemente es el carbón activado (CA), seguido de gel de sílice, minerales de arcilla, zeolitas, alúmina activada y adsorbente de óxidos metálicos, de grafeno y algunos polímeros, como también se han realizado estudios en la formación de CA a partir de materiales reciclados que han sido desechados, sin embargo, la energía utilizada para producir algunos adsorbentes es muy alta [73,74]. La procedencia del carbón activado o el material con el cual se obtuvo determina la eficiencia en la eliminación de CE, por ejemplo, el CA de la madera elimina en un 90 % el acetaminofén, mientras que el CA de origen vegetal un 60-80 % [74]. También se han usado nanotubos con carbón activado, los cuales han sido eficientes para tratamientos de CE en específico, como lo son norfloxacina, ibuprofeno y triclosán con un 100 % de eliminación, tetraciclina y amoxicilina con un 92 % y 90 % de eliminación respectivamente, sin embargo, es necesario integrar procesos físicos y químicos para obtener mejores resultados con otros CE [74].

5.3.2.2 Tratamientos químicos

El objetivo de estos tratamientos es una mineralización completa, la formación de moléculas inorgánicas de fácil control o compuestos biodegradables. Estos se clasifican como procesos de oxidación convencionales y procesos de oxidación avanzados (POA), entre los cuales se destacan los procesos de ozonización, coagulación, fotocatalisis y los que usan fuentes de energía como ultrasonido, radiación gamma, solar y ultravioleta. De los POA el foto-fenton y fotolisis UV son mejores para eliminar CE que el foto-fenton solar y la fotolisis directa e indirecta respectivamente, siendo eficaces en la eliminación de compuestos disruptores endocrinos (CDE), pesticidas, analgésicos y antibióticos, por otro lado la ozonización es el tratamiento más usado en las PTAR, debido a que el ozono es un oxidante fuerte que permite la eliminación de diferentes contaminantes como acetaminofén, antipirina, cafeína, metoprolol y testosterona, donde la ozonización foto catalítica solar mediada por hierro, es un método eficiente para tratar CE y más económico que el foto-fenton solar [75,73].

La fotocatalisis presenta la desventaja de un costoso proceso en la separación de fases, altos consumos de energía y altos costos en la fuente de luz, por lo cual se sugiere la inmovilización del fotocatalizador sobre un soporte sólido como vidrio, cerámica, zeolitas o carbón activado, para eliminar la separación de fases, como el uso de un reactor de lecho fijo empacado, igualmente la inmovilización en soportes de películas delgadas, para evitar la generación de lodos y disminución en el costo del tratamiento, eliminando el paso de recuperación del fotocatalizador [76]. Los materiales fotocatalíticos más estudiados para la desintoxicación real de aguas residuales, tanto en forma de polvo como de películas delgadas, son el TiO_2 y el ZnO . En los últimos 10 años se han publicado pocos estudios acerca de la desintoxicación con películas delgadas de inmovilización, como de recuperación y reutilización de materiales fotocatalíticos con aguas residuales reales, donde la eficiencia de eliminación de CE y productos de transformación se ha evaluado principalmente por separado y no en mezclas con materia orgánica y otros contaminantes en aguas residuales con concentraciones reales [77].

5.3.2.3 Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos se basan en el concepto de biodegradación de moléculas de un mayor peso molecular a moléculas inorgánicas de menor peso, como CO_2 y H_2O , este proceso es realizado por

bacterias, hongos y algas. Existen diferentes tecnologías como especies de organismos para llevar a cabo estos tratamientos de eliminación o degradación, donde su eficiencia está determinada por la persistencia de los CE como de sus características fisicoquímicas. Entre los tratamientos convencionales se encuentran los lodos activados (más usado en el mundo y en PTAR), filtros percoladores, reactores de biofilm de lecho móvil, nitrificación, tratamientos con microalgas, bacterias, hongos y carbón activado biológico, por otro lado, los no convencionales utilizados para la eliminación de CE incluyen biosorción, reactor biológico de membrana (RBM) y humedales artificiales. Entre los tratamientos no convencionales, la biosorción es realizada principalmente con hongos de podredumbre blanca inmovilizados en adsorbentes y no hay procesos de biodegradación, algunos ejemplos de estos son los hongos basidiomicetos *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes trogii*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma applanatum*, *Schizophyllum commune*, *Pycnoporus sanguineus*, *Grifola frondosa*, *Auricularia delicata*, a diferencia de los RBM, donde si hay biodegradación posterior a la retención física de los CE, siendo más eficiente este proceso para CDE, seguido de productos de cuidado personal, betabloqueantes, fármacos y por último pesticidas. Finalmente, los humedales artificiales (HA) se desarrollan en condiciones ambientales controladas que utilizan la biodegradación por parte de microorganismos y plantas, procesos de sorción gracias a la porosidad del suelo y mecanismos de oxidación, determinados por las interacciones químicas de este para llevar a cabo el tratamiento de compuestos presente en las aguas residuales [78,79,73].

Los tratamientos biológicos presentan una eficiencia significativa cuando son optimizados mediante el uso de otros tratamientos complementarios o son más eficientes cuando se acoplan a un proceso simultaneo de espectrometría de masas para monitorizar la biodegradación de los compuestos. Por otro lado, se ha demostrado la eficiencia en el uso de microorganismos aislados de los tanques de tratamiento de agua residual para llevar a cabo el tratamiento de esas mismas aguas, debido a que estos microorganismos tienen la capacidad de cumplir sus funciones metabólicas en presencia de estos compuestos, se infiere que también son capaces de mineralizarlos, como lo demostrado en el estudio de Tezel et al.,(2018), donde se usaron consorcios microbianos aislados de un tanque de tratamiento de aguas residuales, demostrando la biodegradación simultanea de varios compuestos químicos de CE a concentraciones bajas, en procesos con una duración de 18-28 días, resaltando la biodegradación de 7 compuestos químicos, siendo el acetaminofén el más rápido en dicho proceso y el sulfametaxol el que requirió más tiempo, sin embargo el proceso tomó muchos días, por lo cual es necesario utilizar previamente proceso físicos y/o químicos antes del tratamiento biológico, como también conocer el genoma de los microorganismos para llevar a cabo procesos optimizados como el uso de cepas modificadas genéticamente [69, 80]; según esto, en el estudio llevado a cabo por Grandclément et al., (2020), se aislaron microorganismos de soluciones acuosas que contenían el contaminante que se deseaba eliminar, en este caso diclofenaco y el metabolito 4'-hidroxiclofenaco, ya que los consorcios bacterianos que se usaban en los procesos convencionales para el tratamiento de aguas residuales no eran eficientes para su eliminación, donde se llevó a cabo la secuenciación del gen 16s para identificar los microorganismos, a diferencia de lo realizado en el estudio de Tezel et al.,(2018), siendo *Bacillus subtilis* y *Brevibacillus laterosporus*, los que mediante la degradación biótica eliminaron en un 100 % el compuesto original en 17 horas a 20 °C, sin embargo los metabolitos generados por la degradación del compuesto original deben ser estudiados en ensayos de toxicidad aguda y crónica, ya que pueden ser más tóxicos que el compuesto original y así decidir acerca del uso de microorganismos en tratamientos de eliminación de un determinado compuesto [81].

A continuación, en la **Tabla 19** se exponen las ventajas y limitaciones que presentan los principales procesos de tratamientos físicos, químicos y biológicos usados en el tratamiento de CE.

Tabla 19. Ventajas y limitaciones de varios procesos de tratamiento disponibles para la eliminación de CE

Proceso de tratamiento	Ventajas	Limitaciones
Proceso de tratamiento físico		
Adsorción	<ol style="list-style-type: none"> 1. Amplía gama de materiales adsorbentes disponibles, efectivos según los contaminantes objetivo. 2. Elimina un amplio número de CE 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Problemas para eliminación de la fase concentrada (sólida) de contaminantes 2. La presencia de materia orgánica o partículas en suspensión afecta el desempeño de los adsorbentes
Micro/Ultrafiltración	<ol style="list-style-type: none"> 1. Principalmente adecuado para la eliminación de metales pesados y patógenos 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Debido al tamaño grande el poro es parcialmente eficaz para la eliminación de CE 2. Alto costo operativo
Nanofiltración	<ol style="list-style-type: none"> 1. Elimina pesticidas y tintes 2. Eficaz para tratamientos de aguas residuales y salinas 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Alto requerimiento de energía, ensuciamiento de la membrana 2. Menos eficaz en la eliminación de productos farmacéuticos
Ósmosis inversa	<ol style="list-style-type: none"> 1. Efectivo en la eliminación de compuestos disruptores endocrinos (CDE), productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP) 2. Eficaz para tratamientos de aguas residuales y salinas 	<ol style="list-style-type: none"> 1. El agua tratada puede ser de naturaleza corrosiva 2. Menos eficaz en la eliminación de productos farmacéuticos. 3. Alto requerimiento de energía, ensuciamiento de la membrana
Proceso de tratamiento biológico		
Lodo activado	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menor costo de capital y operativo en comparación con los tratamientos químicos 2. Tratamiento respetuoso con el medio ambiente 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menos eficaz para eliminar betabloqueantes y productos farmacéuticos. 2. Inadecuado cuando la carga de DQO es mayor (> 4000 mg/L)
Filtros percoladores (Reactor de biopelícula)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Demanda de energía baja y rentable 2. Tratamiento respetuoso con el medio ambiente 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Necesita adaptaciones para eliminar grandes variedades de CE 2. Tiene menor rendimiento que el proceso con lodos activados
Carbón activado biológico	<ol style="list-style-type: none"> 1. Efectivo para la eliminación de varios CE presentes en aguas residuales 2. Elimina los subproductos desechados por procesos de ozonización o desinfección 3. No genera productos tóxicos 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Alto costo operativo y de mantenimiento 2. Genera un alto nivel de lodo que causa problemas de eliminación 3. El alto costo de procesamiento de lodos aumenta el costo total del proceso

Humedales construidos	<ol style="list-style-type: none"> 1.Muy eficaz para eliminar patógenos, pesticidas, productos farmacéuticos y de cuidado personal, al igual que estrógenos 2.Demanda de energía baja y rentable 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Una formación grande de sedimentos provoca problemas de obstrucción y atrapamiento de sólidos 2.Provoca precipitación química y crecimiento de biopelículas 3.Depende de las estaciones y requiere una gran superficie y tiempo
Estanques/reactores de algas	<ol style="list-style-type: none"> 1.Suministra efluentes de alta calidad, con un riesgo de toxicidad aguda insignificante para los CE 2.La biomasa recuperada se puede utilizar con fines fertilizantes 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Menos efectivo en temporadas frías 2.Menos efectivo para la degradación de CDE
Biorreactor microbiano	<ol style="list-style-type: none"> 1.Alta eficiencia de eliminación de CE y recalcitrantes 2.Menor huella ecológica 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Mayores requisitos de energía y ensuciamiento de la membrana 2.Rugosidad de la membrana y necesita un alto costo de aireación 3.Menos eficaz en la eliminación de productos farmacéuticos.
Proceso de tratamiento químico		
Coagulación	<ol style="list-style-type: none"> 1.Reduce la turbidez por partículas en suspensión 2.Aumenta la velocidad de sedimentación 	<ol style="list-style-type: none"> 1.No es eficiente en la eliminación de micro contaminantes 2.Alta producción de lodos
Ozonización	<ol style="list-style-type: none"> 1.La presencia de H₂O₂ provoca una alta eliminación de CE 2.Desinfección y esterilización por algunos de los oxidantes. 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Mayores necesidades energéticas 2.Formación de subproductos oxidativos
Procesos de oxidación avanzados	<ol style="list-style-type: none"> 1.Alta eficiencia de eliminación para una amplia gama de CE, incluidos PPCP y pesticidas 2.Degrada los contaminantes en poco tiempo 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Elevados requisitos energéticos, costos operativos y de mantenimiento 2.Se forman subproductos tóxicos de la desinfección
Sonoquímico	<ol style="list-style-type: none"> 1.Eficaz para la degradación y mineralización completa de los CE 2.Degrada los contaminantes en poco tiempo 	<ol style="list-style-type: none"> 1.El tamaño de las burbujas y los radicales OH afectan el proceso 2.Es difícil lograr una frecuencia ultrasónica óptima para correlacionar todos los parámetros
Fenton y Photo-Fenton	<ol style="list-style-type: none"> 1.Eficaz para degradar y mineralizar los CE 2. La luz ultravioleta se puede evitar utilizando la luz solar 	<ol style="list-style-type: none"> 1.La reducción de radicales OH afecta la formación de complejos de cloro y sulfato-Fe

Fotocatálisis (TiO ₂)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Degrada los contaminantes orgánicos persistentes 2. El uso de catalizador mejora la velocidad de reacción 2. El catalizador de TiO₂ tiene bajo costo, estabilidad química y fácil recuperación. 	(III) en presencia de iones cloruro y sulfato <ol style="list-style-type: none"> 1. Gran volumen de aguas residuales es difícil de tratar 2. Las lámparas UV artificiales y la electricidad aumentan el costo total del proceso 3. Las partículas fotocatalíticas en suspensión de lodo son difíciles de separar y reutilizar
-----------------------------------	---	--

Fuente: [73]

5.3.2.4 Tratamientos híbridos

Las deficiencias en los tratamientos anteriormente mencionados han llevado al estudio de sistemas híbridos, los cuales utilizan la eficiencia de eliminación de los tratamientos físicos, químicos y biológicos para el tratamiento de CE. Los sistemas híbridos que emplean el uso de humedales artificiales son los menos eficientes para eliminar CE, con un 45 y 69 % de remoción. Los RBM con oxidación UV han sido eficiente para la degradación de pesticidas, al igual que la nano filtración, ósmosis inversa y oxidación UV en sistemas híbridos con RBM para la eliminación de betabloqueantes, CDE, pesticidas, antibióticos y algunos productos farmacéuticos. Se ha reportado que los lodos activados más la radiación gamma, han eliminado completamente ketoprofeno, ibuprofeno y carbamazepina, a diferencia de cuando se usan en un sistema híbrido con ultrafiltración y ósmosis inversa, con porcentajes de eliminación entre 90-98% para diclofenaco y antibióticos (claritromicina, eritromicina, roxitromicina, sulfametoxazol, sulfametazina, trimetoprima). El uso de procesos como lodos activados, carbón activado y procesos con energía solar, suelen ser los más económicos, sin embargo, otros tratamientos con relevancia en la eliminación de CE tienen altos requerimientos económicos y de consumo energético [73]. En el siguiente esquema se representa el orden de tratamientos que se pueden implementar para llevar a cabo el control de algunos CE, donde el orden se fundamenta en tratamientos físicos, seguidos de tratamientos químicos y biológicos. Siendo (CW) humedales artificiales, (F) floculación, (AS) lodos activados, (UF) ultrafiltración, (MBR) reactor biológico de membrana, oxidación-luz ultravioleta (UV), (RO) ósmosis inversa, (NF) nano filtración, (γ) radiación gamma, ozonización-BAC (bio carbón activado), (CAS) lodos activados convencionales.



Figura 11. Orden de remoción para sistemas híbridos de CE compuestos disruptores endocrinos, beta bloqueadores, pesticidas, analgésicos y antibióticos

Fuente: [73]

Finalmente, en el estudio llevado a cabo por Teodosiu et al., (2018) se reporta el porcentaje de eficiencia en el tratamiento de algunos CE individuales y en mezcla, con su respectivo tratamiento de eliminación usado, ya sea individual o integrados, como se observa a continuación:

Tabla 20. Eficiencia de eliminación de CE mediante tratamientos individual e integrados

Tratamiento	Contaminante emergente	Eficiencia de eliminación
Ozonización	Productos farmacéuticos	> 98%
Fotólisis UV	Productos farmacéuticos	30–70%
Nanofiltración	Productos farmacéuticos	15-100%
Adsorción de GAC	Mezcla de 30 productos farmacéuticos y pesticidas	20–50%
Coagulación, ultrafiltración y filtración GAC	Productos farmacéuticos, hormonas, antibióticos y retardantes de llama	99%

Floculación, filtración de arena, ozonización, filtración de carbón y desinfección final con cloro	Productos farmacéuticos y drogas ilícitas	> 98%
Oxidación avanzada	Productos farmacéuticos	> 99%
Fotocatálisis y fotólisis solar	Productos farmacéuticos	66–82%
Cloro, coagulación / floculación, filtración, ozonización, carbón activado granular, cloración final	Drogas ilícitas	88-100%
Coagulación / floculación, filtración, cloración final	Drogas ilícitas	0-18%
Filtración, coagulación / floculación y cloración final	Productos farmacéuticos, retardantes de llama, plastificantes, biocidas, pesticidas, herbicidas, filtros UV	> 60%
UV / H ₂ O ₂ integrado en una planta existente a gran escala	10 pesticidas	60–98%

GAC: carbón activado granular

Fuente: [74]

Los procesos biológicos son los más usados para el tratamiento de CE, debido a los bajos costos y las implicaciones que representan para el medio ambiente, como lo son lodos activados, filtro percolador, biorreactores con algas, hongos y bacterias, humedales artificiales, estanques de algas, biosorción y tratamientos enzimáticos, sin embargo, no son altamente eficientes para eliminar compuestos recalcitrantes, incluso integrados con procesos más costosos como físicos o químicos [10,73]. El tratamiento híbrido con ultrafiltración, filtración con carbón activado granulado y biorreactor con membrana, ha sido eficiente en el tratamiento de micro contaminantes, como compuestos farmacéuticos y fenólicos, partículas micro plásticas y bacterias, a diferencia de cuando se emplean tratamientos sin procesos de biodegradación [82]. Es común el uso de lodos activados en las plantas de tratamiento de aguas residuales, sin embargo, para la eliminación de CE del grupo de fármacos, en el estudio de

Radjenovic et al, (2006), se demostró una mayor eficiencia sobre los lodos activados, usando un sistema híbrido que emplea biorreactores de membrana [83]. Otro estudio que confirma la eficiencia del uso de RBM en sistemas híbridos, con tratamientos como carbón activado, nanofiltración y ósmosis inversa, fue el llevado a cabo por Yang et al., (2018), donde se obtuvo una mayor eficiencia en la eliminación de carbamazepina [33]. Es evidente la ineficiencia que presentan los tratamientos convencionales y avanzados individualmente para la eliminación de CE, por lo cual, dependiendo del tipo de CE que se pretende eliminar, se deben diseñar sistemas híbridos que integren diferentes tratamientos físicos, químicos y finalmente biológicos, los cuales han demostrado una mayor eficiencia para la eliminación de los CE. Los tratamientos de eliminación generalmente tienen altas implicaciones económicas, ya que se requiere del uso de varios tratamientos para lograr una eliminación eficiente de CE, además la limpieza de filtros y membranas en los tratamientos físicos, el consumo de energía en tratamientos químicos y el mantenimiento en general de reactores, humedales artificiales, entre otros, incrementan los gastos económicos, por lo cual, es necesario desarrollar tecnologías e instrumentos analíticos que permitan la eliminación y detección de CE con bajos requerimientos económicos y energéticos, como también que no generen subproductos tóxicos, para así mitigar impactos en el medio ambiente o diferentes ecosistemas [32].

6. Hallazgos

Las **figuras 12, 13 y 14**, exponen en porcentaje los hallazgos de información disponible en los últimos 15 años, acerca de ensayos de toxicidad con CE, con especies biológicas y tratamientos de eliminación con CE.

Ensayos de toxicidad con CE

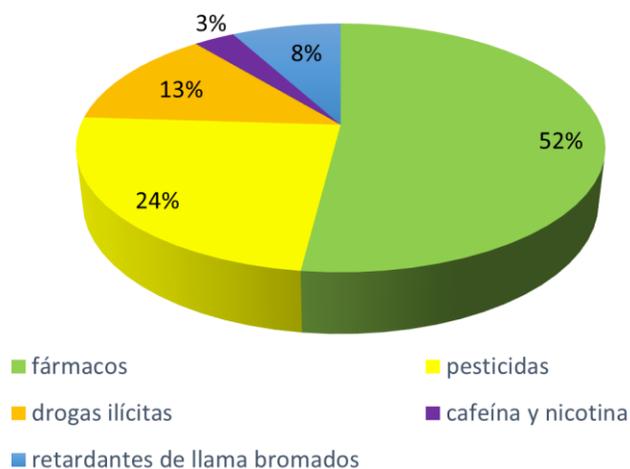


Figura 12. Ensayos de toxicidad con grupos de CE

Ensayos de toxicidad biológicos

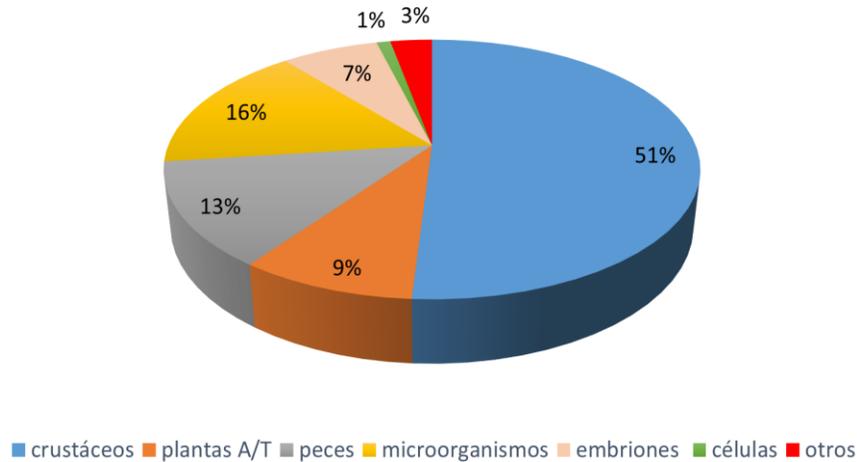


Figura 13. Ensayos de toxicidad con especies biológicas

Tratamientos de eliminación CE

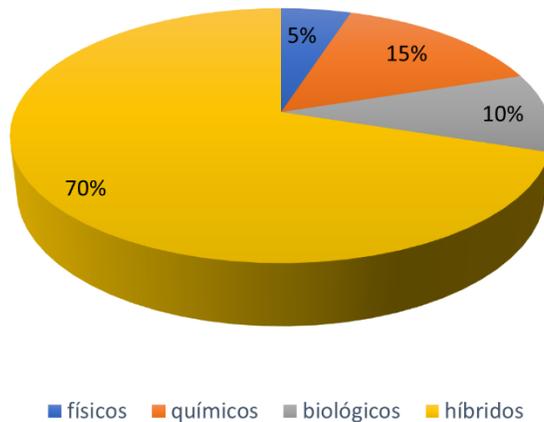


Figura 14. Tratamientos de eliminación de CE

7. Conclusión

Es importante contar con ensayos toxicológicos que permitan la evaluación de la calidad de agua en diferentes muestras, donde los CE sean incluidos para tener conocimiento acerca de los impactos que se pueden ocasionar, los cuales pueden ser mitigados mediante la utilización de métodos de detección y tratamientos de eliminación eficientes en aguas residuales, ya que en este tipo de agua se deriva principalmente la contaminación en aguas superficiales, como subterráneas y así garantizar la sostenibilidad de los recursos hídricos en la tierra, la calidad para uso de agua regenerada, protección de ecosistemas acuáticos y mitigar los diferentes efectos adversos que ocasionan en organismos vivos. Según la revisión de literatura analizada se pueden concluir 3 aspectos:

- La mayoría de los ensayos de toxicidad con CE se han realizado con los detectados en aguas residuales, seguido de aguas superficiales y muy pocos en aguas subterráneas, donde los principales análisis son llevados a cabo con fármacos y pesticidas-herbicidas, sin embargo, los demás grupos de CE están siendo estudiados en cuanto a la toxicidad, métodos de detección y eliminación en diferentes aguas, centrando los estudios principalmente en aguas residuales. Por otro lado, los metabolitos CE provenientes de compuestos metabolizados por humanos y animales son de gran relevancia por ser bioacumulativos, al igual que la de algunos subproductos o compuestos de transformación generados en el tratamiento de CE por ser tóxicos.
- Los ensayos de toxicidad para evaluar la calidad de aguas con presencia de CE son realizados principalmente con especies biológicas que se encuentran en ensayos estandarizados por organismos internacionales, sin embargo, no siempre son eficientes, por lo cual, el uso de batería de bioensayos, la sensibilidad de diferentes taxones y tiempos de evaluación a largo plazo, aseguran resultados con mejores predicciones acerca del efecto que pueden causar, además es importante realizar la validación de métodos no estandarizados y que han mostrado ser eficientes.
- La eficiencia en los métodos de detección y tratamientos de eliminación de CE están determinados por las características o naturaleza de las moléculas que los conforman, siendo los sistemas híbridos los más eficientes para la eliminación. Es indispensable la investigación de tecnologías que permitan el manejo de estos en condiciones ambientales naturales, como también alimentar bases de datos con información de los diferentes CE que son detectados y que la legislación del agua pueda avanzar en procesos para la regulación de estos.

8. Bibliografía

- [1] Villamizar N, Orozco L, Meléndez I. Mutagenicidad de aguas antes y después de clorar en la planta de potabilización Empopamplona. Facultad de Ciencias Básicas, 12(2):03–13, 2014. doi: 10.24054/01204211.v2.n2.2014.1464
- [2] Gutiérrez J. Evaluación del uso de dos polímeros como soportes en el tratamiento de agua residual doméstica en filtros anaerobios. Tesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Botánica, México, 2014.
- [3] Rubio A, Chica E, Peñuela G. Procesos de tratamiento de aguas residuales para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes. *Ambient e Água*, 8:93–103, 2013. doi: 10.4136/ambi-agua.1176
- [4] Patiño Y, Diaz E, Ordoñez S. Microcontaminantes emergentes en aguas: Tipos y sistemas de tratamiento. *Avances en ciencias e ingeniería*. España, 5:1–20, 2014.
- [5] Ali H, Khan E, Ilahi I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *J of Chemistry*, 2019. doi: 10.1155/2019/6730305
- [6] Agudelo E, Gaviria L, Barrios L, Cardona S. Techniques to determine toxicity in industrial wastewater contaminated with dyes and pigments. *DYNA*, 85(207):316–27, 2018. doi: 10.15446/dyna.v85n207.71915
- [7] Ramírez P, Mendoza A. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. Instituto Nacional de Ecología; Primera ed. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Mexico, 2008.
- [8] Pauta G, Chang J. Índices de calidad del agua de fuentes superficiales y aspectos toxicológicos, evaluación del Río Burgay. Maskana. Ecuador, 2014.

- [9] Petrie B, Barden R, Kasprzyk B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research*, 72(0):3–27, 2015. doi: 10.1016/j.watres.2014.08.053
- [10] Rodríguez T, Cletos E. Toxicity evaluation as a tool to asses the performance of an anaerobic immobilized biomass reactor. *DYNA*, 77(164):284–91, 2010.
- [11] Tejada C, Quiñones E, Peña M. Emerging contaminants in water: pharmaceutical residues. A review. *Universidad Militar Nueva Granada. Fac Ciencias Básicas*, 10(2): 80–101, 2014.
- [12] Pulido S, Miranda V, Molano E. Origen y Características de las aguas residuales, PTAR-Uniminuto. Bogota D.C, Colombia, 2020. Disponible en: <https://sites.google.com/site/ptaruniminuto/origen-y-caracteristicas-de-las-aguas-residuales>
- [13] Resolución 631 De 2015, Ministerio de ambiente. Bogota D.C, Colombia, 2015. Disponible en: <http://www.emserchia.gov.co/PDF/Resolucion631.pdf>
- [14] Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. Aguas superficiales, Gobierno de España, 2020. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/estado-y-calidad-de-las-aguas/aguas-superficiales/>
- [15] Recurso hídrico subterráneo, Secretaria Distrital de Ambiente. Bogota D.C, Colombia, 2013. Disponible en: <http://ambientebogota.gov.co/aguas-subterraneas>
- [16] Gil M, Soto A, Usma J, Gutiérrez O. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Produccion más Limpia*, 7(2):52–73, 2012.
- [17] Méndez M, Sissa D. Estudio comparativo de las metodologías de tratamiento de contaminantes emergentes en fuentes hídricas. Tesis. Universidad Industrial de Santander, Colombia, 2015.
- [18] Estévez E, Cabrera M, Molina A, Robles J, Palacios M.P. Resultados preliminares de los análisis de contaminantes emergentes y sustancias prioritarias en la red de control del barranco de las goteras. *Estud en la Zona no Saturada del Suelo*, 10:309–14, 2011. doi: 10.1109/TGRS.2011.2120615
- [19] Jiménez C. Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: Productos farmacéuticos. *Lasallista Investigación*, 8(2):143–53, 2011.
- [20] Guarguati J, Ramirez F. Evaluación toxicológica de la influencia de los detergentes provenientes del efluente del rap de la upb, sobre el crecimiento y desarrollo de *Spirodella sp.* Tesis. Universidad Pontificia Bolivariana. Colombia, 2008.
- [21] Mortelmans K, ZE. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Fundamental and molecular mechanisms of mutagénesis*, 47(1–2):55–61, 2000.
- [22] Vijay, U, Gupta S, Mathur P, Suravajhala P, Bhatnaga P. Ensayo de mutagenicidad microbiana: prueba de Ames. *Bio-protocolo*, 8 (6): e2763, 2018. doi: 10.21769 / BioProtoc.2763
- [23] Farmacopea. Ensayo de *Salmonella*/fracción microsomal para detección de mutagenicidad, Test de ames, 99 p, 2020. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_IV/files/assets/basic-html/page99.html
- [24] Decreto 4741 de 2005. Departamento Administrativo de la Función Pública, Colombia, 2008. Disponible en: https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma_pdf.php?i=18718
- [25] Resolución N°. 0062 del 30 de marzo de 2007 IDEAM, Área Metropolitana del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia, 2019. Disponible en: <https://www.metropol.gov.co/ambiental/residuos-solidos/Paginas/laboratorios-ideam.aspx>

- [26] Garcés J, Duque E. Metodología para el análisis y la revisión crítica de artículos de investigación. *Innovar*, 17(29):184–94, 2007.
- [27] Silva D, Rodriguez M, del Campo A. The references of original and review articles found in the Cuban medical journals. *Cubana de salud pública*, 39(1):83–95, 2013.
- [28] Cores S, Valenzuela C. Guía para la presentación de las monografías de postgrado. Centro Nacional de Documentación e Información en Medicina y Ciencias de la Salud (Cendim). Montevideo, Uruguay, 2009.
- [29] Ramos C. Behavioral Health and Ecotoxicological Indicators of Sewage with Traces of Drugs. *Cubana de Química*, XXV:180–206, 2013
- [30] Sathishkumar P, Anu R, Meena A, Palanisami T, Ashokkumar V, Palvannan T, Long F. Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. *Sci Total Environment*, 698:1–32, 2020. doi:org/10.1016/j.scitotenv.2019.134057
- [31] Hai F, Yang S, Muhammad B, Sencadas V, Shawkat S, Shawkat M, Gorman J, Xu Z, Yamamoto K. Carbamazepine as a Possible Anthropogenic Marker in Water : Occurrences, Toxicological Effects, Treatment Technologies. *Water*, 1–32, 2018. doi: 10.3390/w10020107
- [32] Jiang J, Zhou Z, Sharma VK. Occurrence , transportation , monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water — A review from global views. *Microchemical J*, 110:292–300, 2013. doi:org/10.1016/j.microc.2013.04.014
- [33] Hai FI, Yang S, Id MBA, Asif M, Sencadas V, Shawkat S, Sanderson-smith M, Gorman J, Xu Z, Yamamoto K. Carbamazepine as a Possible Anthropogenic Marker in Water : Occurrences, Toxicological Effects, Regulations and Removal by Wastewater Treatment Technologies. *Water*, 1–32, 2018. doi: 10.3390/w10020107
- [34] Ruiz L, Guerrero S, Nieves K, Mejía A, Vega F. Assessment of median lethal concentration (CL50) of pollutants on *Macrobrachium tenellum* juveniles. *Latin American J Aquatic Research*, 46(3):589–92, 2018. doi: 10.3856/vol46-issue3-fulltext-12
- [35] Rodrigues E, Varela A, Pardal M, Oliveira P. Cell-based assays seem not to accurately predict fish short-term toxicity of pesticides. *Environmental Pollution*, 252:476–82, 2019. doi: org/10.1016/j.envpol.2019.05.033
- [36] Howe C, Berril M, Pauli B, Helbing C, Werry K, Veldhoen N. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four north american frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(8):1928–38, 2004.
- [37] Bugel SM, Tanguay RL. Multidimensional chemobehavior analysis of flavonoids and neuroactive compounds in zebra fish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 344:23–34, 2018. doi: 10.1016/j.taap.2018.02.019
- [38] Capela R, Garric J, Costa L, Castro C, Machado M. Embryo bioassays with aquatic animals for toxicity testing and hazard assessment of emerging pollutants : A review. *Sci Total Environment*, 705:135740, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135740
- [39] Felice B, Mondellini S, González N, Castiglioni S, Parolini M. Methamphetamine exposure modulated oxidative status and altered the reproductive output in *Daphnia magna*. *Sci Total Environment*, 721:1–8, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137728

- [40] Pedriali A, Parolini M, Riva C, Binelli A. Sub-lethal effects caused by the cocaine metabolite benzoylecgonine to the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Sci Total Environment*, 444:43–50, 2013. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.11.076
- [41] Parolini M, Binelli A. Adverse effects induced by ecgonine methyl ester to the zebra mussel : A comparison with the benzoylecgonine. *Environmental Pollution*, 182:371–8, 2013. doi: 10.1016/j.envpol.2013.07.038
- [42] Binelli A, Pedriali A, Riva C, Parolini M. Illicit drugs as new environmental pollutants : Cytogenotoxic effects of cocaine on the biological model *Dreissena polymorpha*. *Chemosphere*, 86(9):906–11, 2012. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.10.056
- [43] Cleuvers M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects, 3:185-9, 2003. doi: 10.1016/S0378-4274(03)00068-7
- [44] Parolini M, Binelli A. Oxidative and genetic responses induced by Δ -9-tetrahydrocannabinol (Δ -9-THC) to *Dreissena polymorpha*. *Sci Total Environment*, 68:76-8, 2014. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.08.024
- [45] Jesus F, Oliveira R, Silva A, Catarino A, Soares A, Nogueira A, Domingues I. Lethal and sub lethal effects of the biocide chlorhexidine on aquatic organisms. *Springer Sci Media New York*, 1348–58, 2013. doi: 10.1007/s10646-013-1121-6
- [46] Gong W, Zhu L, Jiang T, Han C. The occurrence and spatial-temporal distribution of tetrabromobisphenol A in the coastal intertidal zone of Qingdao in China , with a focus on toxicity assessment by biological monitoring. *Chemosphere*, 185:462–7, 2017. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.033
- [47] Gracia-lor E, Rousis NI, Zuccato E, Castiglioni S. Monitoring caffeine and nicotine use in a nationwide study in Italy using wastewater-based epidemiology. *Sci Total Environment*, 747:141331, 2010. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141331
- [48] Ramirez D, Rivera V. Cafeína como contaminante ambiental. *Rev Toxicol. Universidad Rey Juan Carlos.(Madrid)- España*, 2017.
- [49] Moore M.T, Greenway S.L, Farris J.L, Guerra B. Assessing Caffeine as an Emerging Environmental Concern Using Conventional Approaches. *Arch Environ Contam Toxicol*, 31–5,2008. doi: 10.1007/s00244-007-9059-4
- [50] Oropesa AL, Floro AM, Palma P. Toxic potential of the emerging contaminant nicotine to the aquatic ecosystem. *Environ Sci Pollut Res*, 16605–16, 2017. doi: 10.1007/s11356-017-9084-4
- [51] Cleuvers M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental*, 59:309-315, 2004. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00141-6
- [52] Galus M, Jeyaranjan J, Smith E, Li H, Metcalfe C, Wilson JY. Chronic effects of exposure to a pharmaceutical mixture and municipal wastewater in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 132–133:212–22, 2013. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.12.016
- [53] Dietrich S, Ploessl F, Bracher F, Laforsch C. Single and combined toxicity of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations in *Daphnia magna* – A multigenerational study. *Chemosphere*, 79(1):60–6, 2010. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.12.069
- [54] Dolezalova J, Rumlova L. A new biological test of water toxicity – yeast *Saccharomyces cerevisiae* conductometric test. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3):977–81, 2014. doi: 10.1016/j.etap.2014.10.009

- [55] Yu D, Yong Y, Liu C, Fang Y, Bai Lu, Dong S. New applications of genetically modified *Pseudomonas aeruginosa* for toxicity detection in water. *Chemosphere*, 184:106–11, 2017. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.05.154
- [56] Kurvet I, Ivask A, Bondarenko O, Sihtmäe M, Kahru A. LuxCDABE-Transformed Constitutively Bioluminescent *Escherichia coli* for Toxicity Screening: Comparison with Naturally Luminous *Vibrio fischeri*. *Sensors*, 7865–78, 2011. doi:10.3390/s110807865
- [57] Ismailov A, Aleskerova L. Photobiosensors Containing Luminescent Bacteria. *Biochemistry (Moscow)*, 80(6):733–45, 2015. doi: 10.1134/S0006297915060085
- [58] Pérez G.A. Environmental occurrence of the antibiotics and their ecotoxicological prediction through the use of the Gecotoxic® computational program. *Investigaciones Altoandinas*, 22(1):78–86, 2020. doi:org/10.18271/ria.2020.538
- [59] Sosa RG, Pérez GA. Eco toxicological prediction of undesirable concentrations of free cyanide in mineral-aurifer effluents. *Campus V XXII No 24*, 179–86, 2017. doi:org/10.24265/campus.2017.v22n24.03
- [60] Pérez GA. Gecotoxic application for predicting risk environmental: case study on mortality in fish inner bay of Lake Titicaca-Puno, Peru. *Campus V XX No 20*, 20:11–20, 2015. doi: issn 1812-6049
- [61] Vivas AH, Arboleda MA, Sánchez R, Benítez N, Bravo E, Soto A, Jiménez GA, Muñoz LA, Larmat FE. Mutagenicity evaluation caused by heavy metals found in Cauca river water in the city of Cali, Colombia. *Rev Colom Quim*, 43(Mi):18–24, 2014. doi: 10.15446/rev.colomb.quim.v43n2.53119
- [62] Tigrini V, Giansanti P, Mangiavillano A, Pannocchia A, Varese CG. Evaluation of toxicity, genotoxicity and environmental risk of simulated textile and tannery wastewaters with a battery of biotests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(4):866–73, 2011. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.12.001
- [63] Patil A V, Jadhav JP. Evaluation of phytoremediation potential of *Tagetes patula* L. for the degradation of textile dye Reactive Blue 160 and assessment of the toxicity of degraded metabolites by cytogenotoxicity. *Chemosphere*, 92(2):225–32, 2013. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.089
- [64] Watharkar AD, Rane NR, Patil SM, Khandare R V, Jadhav JP. Enhanced phytotransformation of Navy Blue RX dye by *Petunia grandiflora* Juss, with augmentation of rhizospheric *Bacillus pumilus* strain Pg] and subsequent toxicity analysis. *Bioresource Technology*, 142:246–54, 2013. doi: 10.1016/j.biortech.2013.05.044
- [65] Beltrán RA, Gonza Carnero KA. Cytotoxicity and genotoxicity of the waters of the Jequetepeque and Moche rivers in the environmental bioindicator *Vicia faba* L. *Scientia Agropecuaria*, 8(3):203–13, 2017. doi: 10.17268/sci.agropecu.2017.03.03
- [66] Xu J, Zhao C, Wei D, Du Y. A toxicity-based method for evaluating safety of reclaimed water for environmental reuses. *JES*, 26(10):1961–9, 2014. doi: 10.1016/j.jes.2014.07.008
- [67] Paolo C, Ottermanns R, Keiter S, Aissa S, Bluhm K, Brack W, Breitholtz M, Buchinger S, et al. Bioassay battery interlaboratory investigation of emerging contaminants in spiked water extracts e Towards the implementation of bioanalytical monitoring tools in water quality assessment and monitoring. *Water Research*, 104:473-484, 2016. doi: 10.1016/j.watres.2016.08.018
- [68] Wei D, Tan Z, Du Y. A biological safety evaluation on reclaimed water reused as scenic water using a bioassay battery. *J Environ Sci*, 23(10):1611–8, 2011. doi: 10.1016/S1001-0742(10)60631-6
- [69] Tezel U, Şepitci B. Testing the biodegradability of priority and emerging contaminants as a mixture. *Sakarya University J of Science*, 835:1-10, 2018. doi: 10.16984/saufenbilder.41359.

- [70] Arbeláez PA. Contaminantes Emergentes en Aguas Residuales y de Río y Fangos de Depuradora. Tesis. UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI. Tarragona-España, 2016
- [71] Gómez MJ, Gómez MM, Malato O, Mezcua M, Fernández AR. Rapid automated screening, identification and quantification of organic micro-contaminants and their main transformation products in wastewater and river waters using liquid chromatography–quadrupole-time-of-flight mass spectrometry with an accurate-mass database. *J of Chromatography A*, 1217:7038–54, 2010. doi: 10.1016/j.chroma.2010.08.070
- [72] Borrull J, Colom A, Fabregas J, Borrull F, Pocurull E. Liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of 34 priority and emerging pollutants in water from the influent and effluent of a drinking water treatment plant. *J of Chromatography A*, 1621:1-11, 2020. doi: 10.1016/j.chroma.2020.461090
- [73] Dhangar K, Kumar M. Tricks and tracks in removal of emerging contaminants from the wastewater through hybrid treatment systems: A review. *Sci Total Environmental*, 738(336):140320, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140320
- [74] Teodosiu C, Gilca A, Barjoveanu G, Fiore S. Emerging pollutants removal through advanced drinking water treatment: A review on processes and environmental performances assessment. *J Cleaner Production*, 197:1210–21, 2018. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.06.247
- [75] Quiñones DH, Álvarez PM, Rey A, Beltrán FJ. Removal of emerging contaminants from municipal WWTP secondary effluents by solar photocatalytic ozonation. A pilot-scale study. *Separation and Purification Technology*, 149:132–9, 2015. doi: 10.1016/j.seppur.2015.05.033
- [76] Surenjan A, Pradeep T, Philip L. Application and performance evaluation of a cost-effective vis-LED based fluidized bed reactor for the treatment of emerging contaminants. *Chemosphere*, 228:629–39, 2019. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.04.179
- [77] Rueda JJ, Levchuk I, Fernandez P, Sillanp M, . A critical review on application of photocatalysis for toxicity reduction of real wastewaters, 258:1-14, 2020. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.120694
- [78] Cragg S, Beckham G, Bruce N, Bugg T, Distel D, Dupree P, Etxabe A, Goodell B, Jellison J, Mcgeehan J, McQueen S, Schnorr K, Walton P, Watts, Zimmer M. Lignocellulose degradation mechanisms across the Tree of Life, *Current Opinion in Chemical Biology*, 29: 108-119, 2015. doi: 10.1016/j.cbpa.2015.10.018
- [79] Camacho RL, Gerardo JL, Navarro KG, Sánchez JE. Producción de enzimas ligninolíticas durante la degradación del herbicida paraquat por hongos de la pudrición blanca. *Rev Argentina Microbiología*, 49(2):189–96, 2017. doi:10.1016/j.ram.2016.11.004
- [80] Poi CD, Costil K, Bouchart V, Halm MP. Toxicity assessment of five emerging pollutants, alone and in binary or ternary mixtures, towards three aquatic organisms. *Environ Sci Pollut Res*, 25: 6122–34, 2018. doi: 10.1007/s11356-017-9306-9
- [81] Grandclément C, Piram A, Petit ME, Seyssiecq I, Laffon I, Vanot G, Tiliacos N, Roche N, Doumenq P. Biological Removal and Fate Assessment of Diclofenac Using *Bacillus subtilis* and *Brevibacillus laterosporus* Strains and Ecotoxicological Effects of Diclofenac and 4'-Hydroxy-diclofenac. *J of chemistry*, 2020:12-1, 2020. doi: 10.1155/2020/9789420
- [82] Baresel C, Harding M, Fang J. Ultrafiltration / Granulated Active Carbon-Biofilter: Efficient Removal of a Broad Range of Micropollutants. *Appl. Sci*, 710:9-12, 2019. doi: 10.3390/app9040710

[83] Radjenovic J, Petrovic M, Barceló D. Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Anal Bioanal Chem*, 387:1365–77, 2007. doi: 10.1007/s00216-006-0883-6