



1° CONGRESO NACIONAL
DE GESTIÓN SOSTENIBLE DE RESIDUOS
— 28 Y 29 DE NOVIEMBRE 2018 | URUGUAY —

Biol. Martín Spósito

¿Qué es la ECOTOXICIDAD y para qué sirven los BIOENSAYOS?

1° Congreso de Gestión Sostenible de Residuos
28 de Noviembre de 2018



Species-level networks (SLNs). Dunne et al. (2008)



ECOTOXICOLOGÍA

Estudia las **fuentes, transformaciones y efectos** de los contaminantes en el ambiente



LABIO
laboratorio de bioensayos

3 áreas de la ECOTOXICOLOGÍA

La ECOTOXICOLOGÍA está formada por la integración de 3 disciplinas.



TOXICOLOGÍA

HERRAMIENTAS

Sirve de herramientas para la comprensión de las interacciones entre los contaminantes y los organismos vivos.

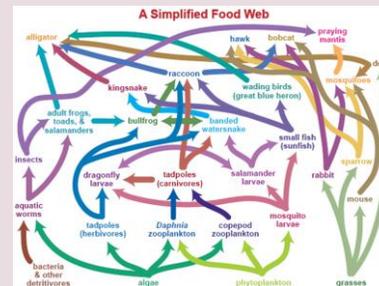


3

ECOLOGÍA

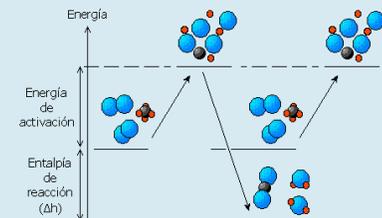
INTEGRACIÓN

La ecología es el área integradora de la ECOTOXICOLOGÍA. Formula las predicciones o evalúa el estado de situación.



QUÍMICA AMBIENTAL PROCESOS

Estudia las transformaciones químicas en el ambiente.



Las regulaciones modernas



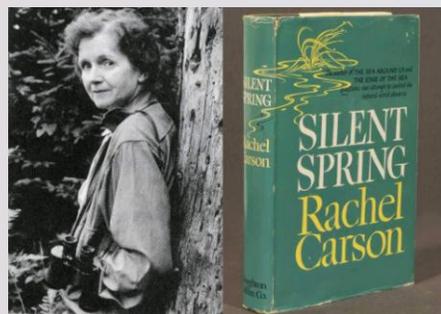
La incorporación de la medición de la Ecotoxicidad en el Uruguay, responde a camino trazado a nivel mundial para mejorar los controles ambientales.

1960

PREOCUPACIÓN SOCIAL

Preocupación

La sociedad percibe los impactos negativos de la contaminación ambiental. Surgen los movimientos ambientalistas que plantean la necesidad de mejorar los controles.



1970

REGULACION MODERNA

Creación de Agencias Estatales

A partir de la década de los años 1970 se crean la mayoría de las agencias estatales para la protección ambiental, y se intensifica el trabajo en las adaptaciones normativas.



2000

EN EL URUGUAY

Introducción en el Uruguay

En los comités técnicos llamados a plantear actualizaciones a las normativas ambientales, se incorpora dentro de las propuestas la medición de la ECOTOXICIDAD.

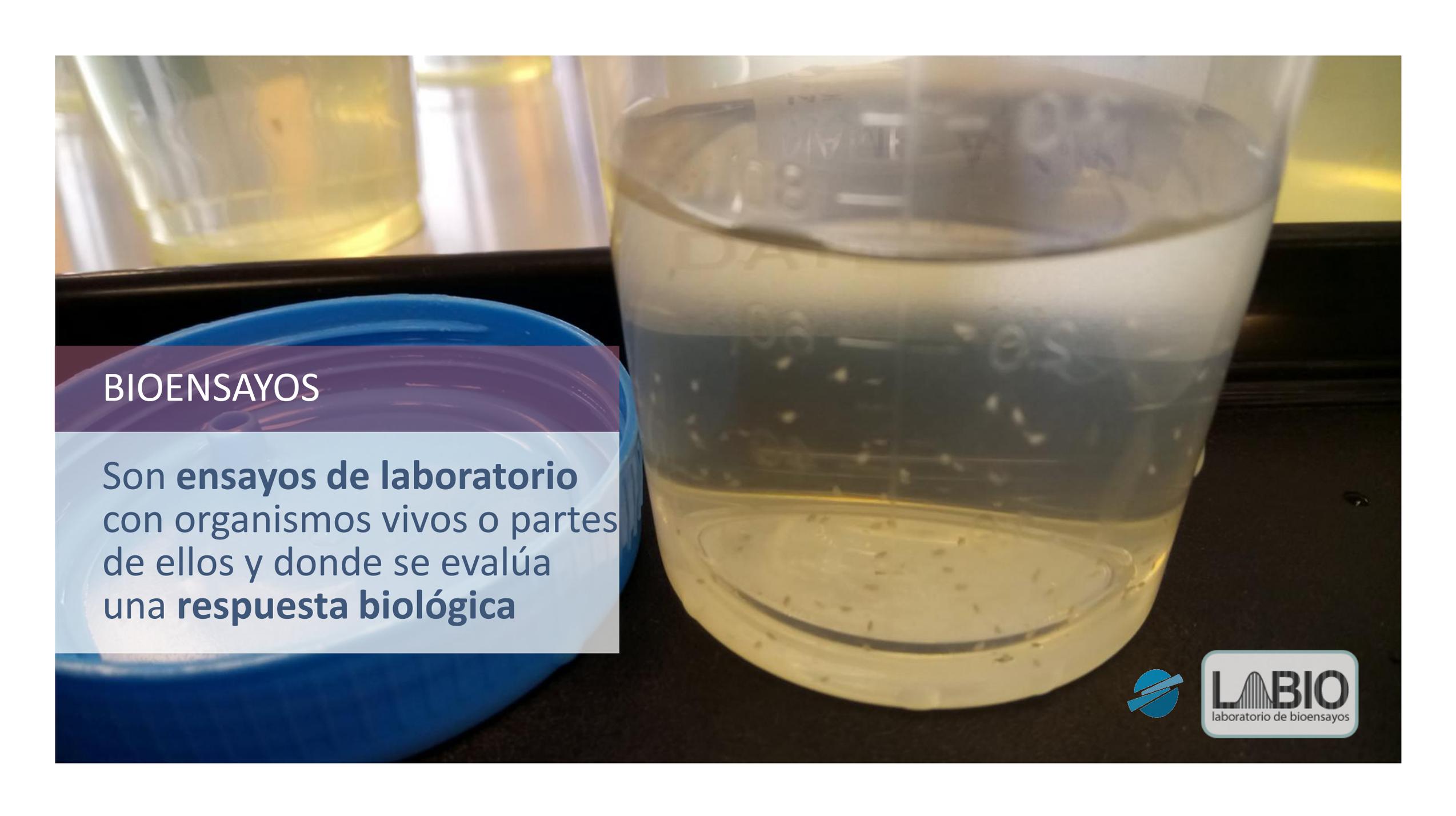
CARACTERIZACIÓN

La peligrosidad de un residuo estará dada por:

- su Toxicidad inherente
- del grado de Exposición
- su persistencia en el ambiente

Parámetro	Límite
Arsénico (As)	1 mg/l
Bario (Ba)	70 mg/l
Cadmio (Cd)	0.3 mg/l
Cromo Total (Cr)	5 mg/l
Cromo hexavalente (Cr[VI])	0.1 mg/l
Cobre (Cu)	100 mg/l
Mercurio (Hg)	0.1 mg/l
Molibdeno (Mo)	7 mg/l
Níquel (Ni)	2 mg/l
Plomo (Pb)	1 mg/l
Antimonio (Sb)	0.6 mg/l
Selenio (Se)	1 mg/l
Plata (Ag)	5 mg/l
Ecotoxicidad	EC ₅₀ % ≥ 100





BIOENSAYOS

Son **ensayos de laboratorio** con organismos vivos o partes de ellos y donde se evalúa una **respuesta biológica**



LABIO
laboratorio de bioensayos

3 motivos para incluir la ECOTOXICIDAD y el uso de BIOENSAYOS



Complejidades químicas

- Diversidad cada vez mayor de sustancias químicas, y una mayor producción y desarrollo de nuevas sustancias.
- Mas de 100.000 sustancias químicas son comercializadas en Europa.

Interacciones

- Sabemos que la presencia de distintos contaminantes en el ambiente **provoca interacciones químicas** entre éstos, o entre éstos **y los organismos vivos**, que pueden aumentar o potenciar los efectos nocivos de los tóxicos.
- Dentro de un organismo vivo se producen cientos de interacciones que son imposibles de replicar o modelar exhaustivamente.

La base biológica

- Si bien la vida es extremadamente diversa, las distintas familias de animales comparten mecanismos biológicos comunes.
- Se han ido seleccionando especies modelo para su uso en estudios ecotoxicológicos.
- El reactivo biológico nos brinda una única respuesta en función de innumerables interacciones dentro de los organismos vivos.

LA BASE BIOLÓGICA

Table 4. Correlation of Microtox toxicity data with various other aquatic species toxicity data, all in pT units.

Species/time, hr	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>s</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	Range
<i>Chlorella pyr./96</i>	59	0.87	0.63	0.08	0.82	8
<i>Daphnia magna/48</i>	251	0.80	0.85	0.52	0.77	9
<i>Tetrahymena pyr.</i>	295	0.76	0.67	-0.41	0.65	8
<i>Tetrahymena pyr./48</i>	198	0.84	0.55	-0.46	0.69	8
<i>Tetrahymena pyr./60</i>	92	0.71	0.61	-0.44	0.57	4
Crayfish/96	31	0.68	1.65	0.88	1.05	5
Crayfish/96	29	0.75	1.28	0.68	0.97	5
<i>Artemia sal./24</i>	63	0.90	0.65	0.16	0.73	9
<i>Crangon sept./96</i>	52	0.68	1.15	0.83	0.71	8

Kaiser 1998. Correlations of *V. fischeri* bacteria bioassay data with bioassay data for other organisms. NWRI - Canada





LABIO
laboratorio de bioensayos

Pretratamiento de muestra

MÉTODO 6201UY

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS
ANALÍTICOS PARA MUESTRAS
AMBIENTALES

- DETERMINACIÓN MATERIA SECA Y HÚMED
- LIXIVIANTE: Líquido/Sólido (L/S) = 10 Litros/kg \pm 2 %
- AGITACIÓN POR 24HS
- FILTRACIÓN (0,45 μ m)
- AJUSTES DE PH (SI CORRESPONDE. PH=7 \pm 0,5)

FRACCIÓN INMEDIATAMENTE
BIODISPONIBLE



International
Organization for
Standardization



Environment
Canada

PROTOCOLOS

Organismos nacionales e internacionales han hecho grandes esfuerzos en la estandarización de métodos de ensayo.

La protocolización y los continuos controles de calidad de procedimientos y cultivos son esenciales para la asegurar la validez de los resultados.

SECTION 2 - EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS

Summary of Considerations in the Report from the OECD Expert Group on Ecotoxicology

No.	Title	Original Adoption	No. of Updates	Updates	Most Recently Updated
201	Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test	12 May 1981	2	7 June 1984	23 March 2006 (corrected on 28 July 2011)
202	<i>Daphnia</i> sp. Acute Immobilisation Test	12 May 1981 (adopted as <i>Daphnia</i> sp. 14-day Reproduction Test including an Acute Immobilisation Test)	2	4 April 1984	13 April 2004
203	Fish, Acute Toxicity Test	12 May 1981	2	4 April 1984	17 July 1992
204	Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study	4 April 1984	0		Date of deletion 2 April 2014
205	Avian Dietary Toxicity Test	4 April 1984	0		---
206	Avian Reproduction Test	4 April 1984	0		---
207	Earthworm, Acute Toxicity Tests	4 April 1984	0		---

OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS

Full List of Test Guidelines
August 2018

211	<i>Daphnia magna</i> Reproduction Test	21 September 1998	2	3 October 2008	2 October 2012
212	Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages	21 September 1998	0		---
213	Honeybees, Acute Oral Toxicity Test	21 September 1998	0		---

Tipos de evaluaciones



Existen dos grandes tipos de evaluaciones ecotoxicológicas en función del tiempo de exposición al que son sometidos los organismos y a las variables o preguntas que se quiere responder mediante los ensayos.

AGUDA

- **DURACIÓN:**
- < 10% DEL CICLO DE VIDA
- **ÚNICA DÓISIS**
- **INDICADORES:**
- -**DÓISIS LETAL** 50% (DL50)
- -CONCENTRACIÓN **EFFECTO 50%** (CE50)

- PERMITEN **CATEGORIZAR**

MORTALIDAD
INMOVILIDAD

PUNTOS DE NO
RETORNO
-> **DELECCIONES**

CRÓNICA

- **DURACIÓN:**
- >10% DEL CICLO DE VIDA
- **REPETIDAS DÓISIS**
- **INDICADORES:**
- -CONCENTRACIÓN DE **EFFECTO NO OBSERVABLE** (NOEC)
- -CONCENTRACIÓN DE **EFFECTO OBSERVABLE MAS BAJA** (LOEC)
- -CONCENTRACIÓN DE **EFFECTO 25%** (CE25)

- PERMITEN **ESTABLECER LÍMITES**

REPRODUCCIÓN
CRECIMIENTO
DAÑO GENÉTICO

-> **AFECTACIONES**

¿Cómo leer un resultado?

Los indicadores utilizados para la caracterización de residuos industriales son la CE50 y las UT.

- **CE50** es la concentración de la muestra capaz de producir el efecto medido en la mitad de los individuos expuestos.
- Para los lixiviados y efluentes se mide en % o **Unidades de Toxicidad**.

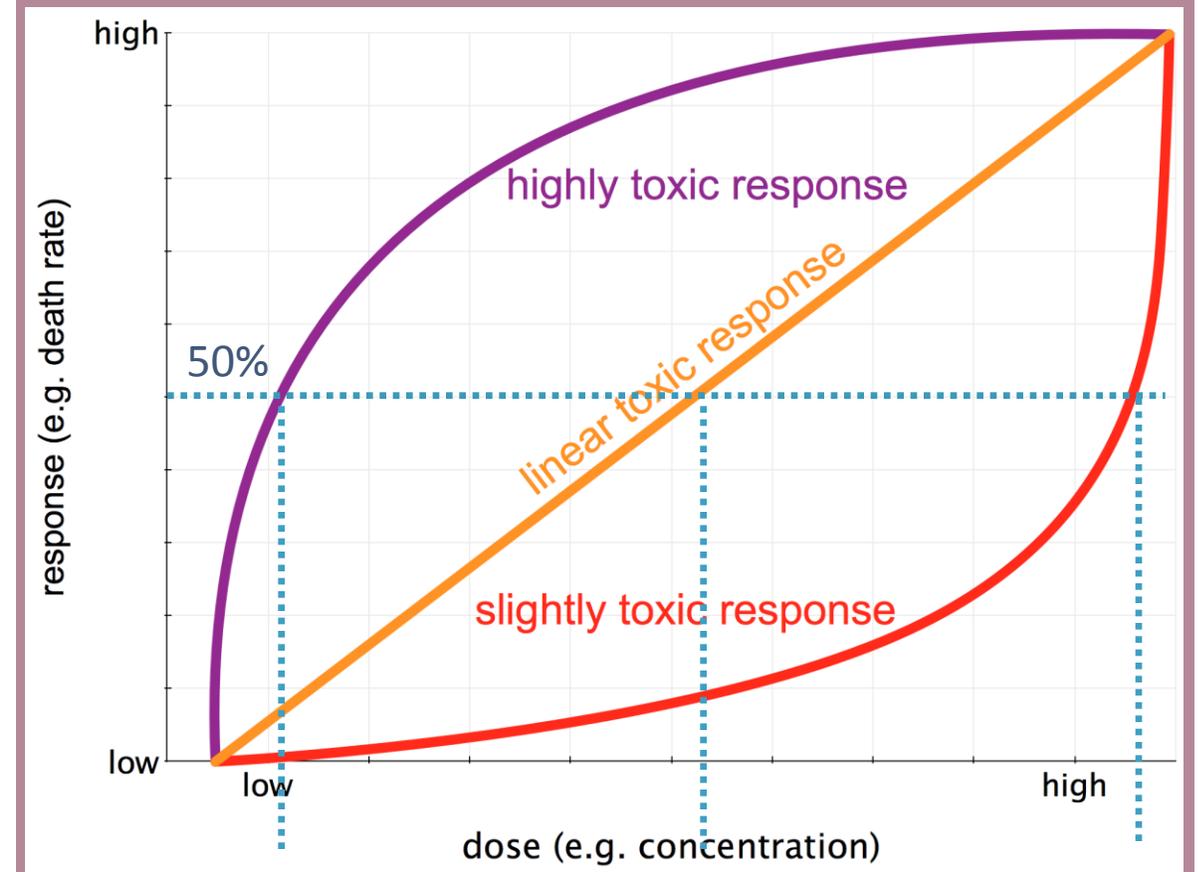
- $UT = 100 / CE50$

CUADRO II. CLASIFICACIÓN DE TOXICIDAD BASADA EN UNIDADES DE TOXICIDAD

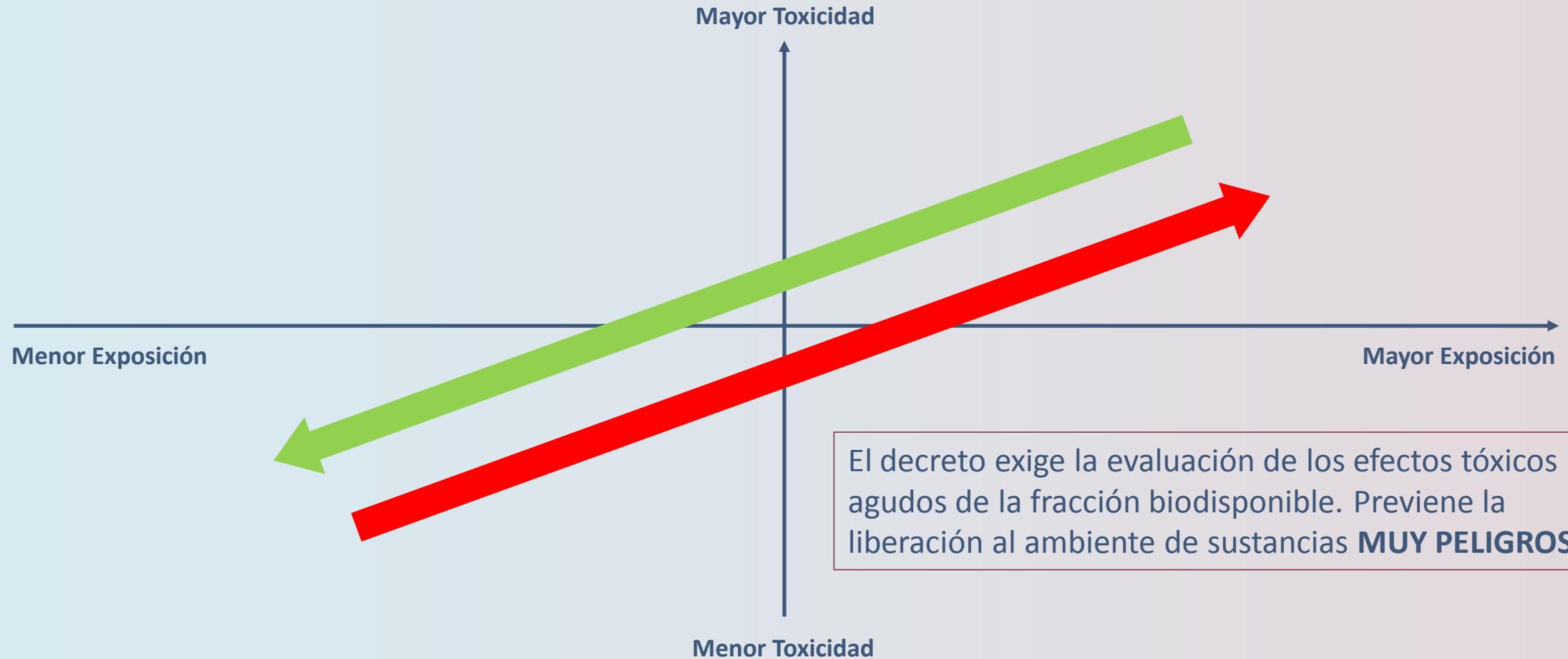
Clasificación	Unidades de Toxicidad
Muy tóxico	> 4
Tóxico	2 – 4
Moderadamente tóxico	1.33 – 1.99
Ligeramente tóxico	< 1.33

Fuente: Saldaña *et al.* 2002.

- **Cuanto menor la CE50, mayor UT.**



Toxicidad, Exposición e Integración





Daphnia magna

Crustáceo planctónico de agua dulce. Filtrador.

	Agudo	Crónico
Protocolo	<u>OCDE 202</u> <u>ISO 6341.2012</u>	<u>OCDE 211</u> <u>ISO 10706:2000</u>
Duración	48 horas	21 días
Variable	Inmovilidad	Reproducción
Indicador	CE50	CE50



Cultivos

Para la realización de los bioensayos es necesaria la instalación de los cultivos de las especies y su mantenimiento.

El cultivo de *Daphnia magna* se mantiene en condiciones controladas de laboratorio, a temperatura de 20°C, y un fotoperíodo de 16/8 horas de luz/sombra.



Cultivos

Para la realización de los bioensayos es necesaria la instalación de los cultivos de las especies y su mantenimiento.

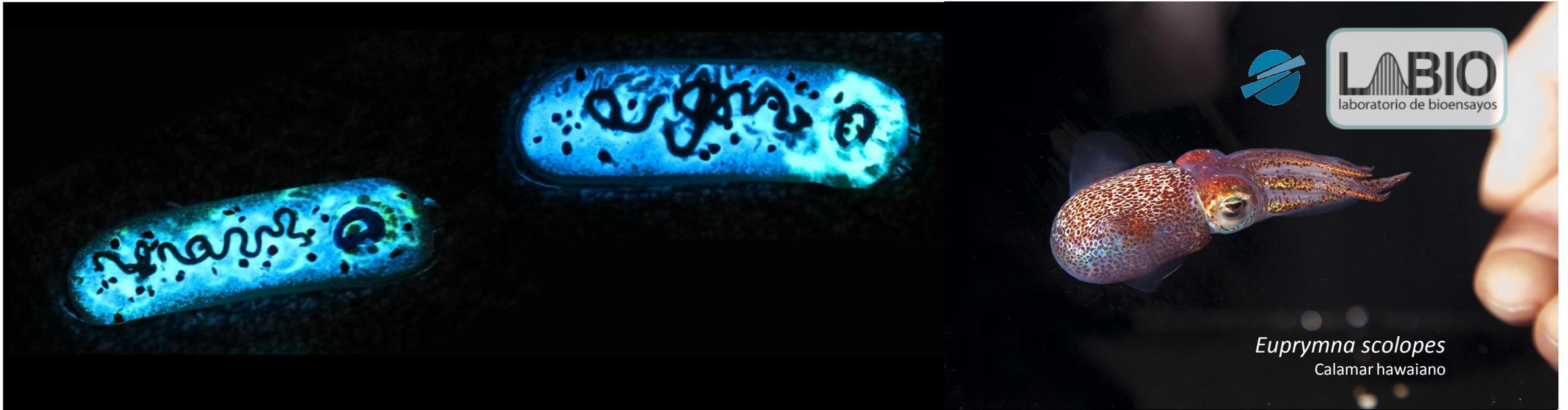
El cultivo de *Daphnia magna* se mantiene en condiciones controladas de laboratorio, a temperatura de 20°C, y un fotoperíodo de 16/8 horas de luz/sombra.

El cultivo recibe mantenimiento y alimentación cada máximo 48 horas.

Control de calidad

Para asegurar la validez de los resultados contamos con un Programa de aseguramiento y control de la calidad.

El programa consta de la realización de cartas control con tóxicos de referencia y ensayos de vida para el monitoreo de las variables biológicas del cultivo.



Euprymna scolopes
Calamar hawaiano

Vibrio fischeri

Bacteria marina
bioluminiscente.
Representante de los micro-
organismos acuáticos.

PROTOCOLOS: ISO 11348-3. 2007. Water quality-Determination of inhibitory effect of water Samples on the light emission of *Vibrio fischeri*, Part 3 method with freeze dried bacteria.

DURACIÓN: 30 MINUTOS

INDICADOR: CONCENTRACIÓN INHIBITORIA 50% (CI50)



Lactuca sativa

Planta vascular terrestre.
Representante de los
productores primarios.

PROTOCOLOS: ENSAYO DE GERMINACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA **FITOTOXICIDAD** CON SEMILLAS DE *Lactuca sativa* (OCDE 208 - ISO 17126:2005)

DURACIÓN: 120 HORAS (AGUDO)

INDICADORES: INHIBICIÓN GERMINACIÓN (IG)
INHIBICIÓN CRECIMIENTO (CE50)

RECOMENDADO PARA EVALUAR MEJORADORES DE SUELOS O COMPOST



1° CONGRESO NACIONAL
DE GESTIÓN SOSTENIBLE DE RESIDUOS
— 28 Y 29 DE NOVIEMBRE 2018 | URUGUAY —



Species-level networks (SLNs). Dunne et al. (2008)



1° CONGRESO NACIONAL
DE GESTIÓN SOSTENIBLE DE RESIDUOS
— 28 Y 29 DE NOVIEMBRE 2018 | URUGUAY —

GRACIAS POR SU ATENCIÓN !



/martinsposito

/labio-uy



LABIO
laboratorio de bioensayos

Species-level networks (SLNs). Dunne et al. (2008)