



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
“MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL”

**EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE SOLUCIONES ACUOSAS DE
IBUPROFENO Y SU POSIBLE REMOCIÓN UTILIZANDO BIOMASA
RESIDUAL DE TALLOS DE ROSAS**

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Magister en
Toxicología Industrial y Ambiental*

AUTORA:

Ing. María Verónica Saetama Gualpa. C.I.0104738596

DIRECTORA:

Dra. Luisa Mayra Vera Cabezas PhD. C.I. 0151512225

Cuenca - Ecuador

2017



RESUMEN

Los fármacos son considerados un nuevo tipo de contaminantes, por esta razón es importante investigar los efectos tóxicos que pueden producir en el medio ambiente, así como evaluar nuevas tecnologías para su remoción mediante el uso de materiales de bajo costo y fácil obtención. Este estudio tuvo como objetivos determinar el efecto tóxico de soluciones acuosas de ibuprofeno sobre un organismo acuático (*Artemia salina*) y semillas (*Allium schoenoprasum L.*, *Lactuca sativa*), y evaluar el proceso de biosorción de Ibuprofeno utilizando tallos de rosas. Los ensayos de toxicidad se llevaron a cabo exponiendo a los organismos de prueba a concentraciones de soluciones acuosas de ibuprofeno de 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mgL⁻¹. Se determinó el porcentaje de mortalidad para la *Artemia salina* y la elongación de la radícula e hipocótilo para las semillas. El porcentaje de mortalidad más elevado se presentó a la concentración de 20 mgL⁻¹, la CL₅₀ calculada fue de 17,56 mgL⁻¹. Un efecto tóxico bajo se presentó en la germinación de las semillas de *Allium schoenoprasum L.* Se produjo la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo en semillas de *Allium schoenoprasum L* y un efecto de estimulación en la elongación de la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa*. El mayor efecto de inhibición se presentó a 1 y 20 mgL⁻¹ y la mayor estimulación a 20 mgL⁻¹. Los mejores parámetros obtenidos en el estudio hidrodinámico en columna a un pH de 4,26 fueron flujo de 2,42 ml min⁻¹, masa de biosorbente de 7g y altura del lecho 33,5 cm. Se alcanzó un porcentaje de remoción de ibuprofeno del 40,49% La curva de ruptura obtenida fue ajustada a los modelos matemáticos de Thomas y de Dosis respuesta, siendo el de Dosis-Respuesta el que mejor reprodujo la curva de ruptura.

Palabras claves: Ibuprofeno, toxicidad, biosorción, tallo de rosa.



ABSTRACT

Pharmaceuticals are considered a new type of contaminants, for this reason it is important to investigate the toxic effects that they can produce in the environment, as well as to evaluate new technologies for their removal through the use of low cost and easy to obtain materials. The objective of this study was to determine the toxic effect of aqueous solutions of ibuprofen on an aquatic organism (*Artemia salina*) and seeds (*Allium schoenoprasum* L., *Lactuca sativa*), and to evaluate the biosorption process of Ibuprofen using rose stems. The toxicity tests were carried out by exposing the test organisms to concentrations of aqueous ibuprofen solutions of 20, 10, 5, 2, 1 and 0.5 mg L⁻¹. The percentage of mortality for *Artemia salina* and the elongation of the radicle and hypocotyl for the seeds were determined. The highest mortality percentage occurred at the concentration of 20 mg L⁻¹, the calculated LC50 was 17.56 mg L⁻¹. A low toxic effect was present in the germination of the seeds of *Allium schoenoprasum* L. There was inhibition in the elongation of the radicle and hypocotyl in seeds of *Allium schoenoprasum* L and a stimulation effect in the elongation of the radicle and hypocotyl of the seeds of *Lactuca sativa*. The highest inhibition effect was presented at 1 and 20 mgL⁻¹ and the highest stimulation at 20 mg L⁻¹. The best parameters obtained in the hydrodynamic study in column at a pH of 4.26 were flow of 2.42 ml min⁻¹, biosorbent mass of 7g and bed height 33.5 cm. A percentage of removal of ibuprofen of 40.49% was reached. The breakthrough curve obtained was adjusted to the mathematical models of Thomas and Dose Response, being the dose-response that best reproduced the breakthrough.

Keywords: Ibuprofen, toxicity, biosorption, rose stem.



TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	2
ABSTRACT	3
TABLA DE CONTENIDOS	4
LISTA DE TABLAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	12
AGRADECIMIENTOS	16
DEDICATORIA	17
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA	18
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	19
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES	22
2.2 FUENTES DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES.....	23
2.3 TIPOS DE CONTAMINANTES EMERGENTES.....	24
2.3.1 PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL.....	26
2.3.2 HORMONAS ESTEROIDES	26
2.3.3 DROGAS.....	27
2.3.4 RETARDANTES DE LLAMA.....	28
2.3.5 PLAGUICIDAS /PESTICIDAS	28
2.3.6 NANOMATERIALES	29
2.3.7 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS.....	29
2.4 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES	30
2.5 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS MÁS COMERCIALIZADOS	33
2.6 ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS	34
2.6.1 EFECTOS TOXICOLÓGICOS DE ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS	35
2.7 IBUPROFENO.....	36



2.7.1 EFECTOS TÓXICOS DEL IBUPROFENO	39
2.8. EVALUACIÓN DEL EFECTO ECOTOXICOLÓGICO.....	41
2.8.1 BIOENSAYOS CON <i>ARTEMIA SALINA</i>	41
2.8.2 BIOENSAYO CON SEMILLAS	42
2.9. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO PARA CONTAMINANTES EMERGENTES	43
2.9.1 ADSORCIÓN.....	44
2.9.2 BIOSORCIÓN.....	45
2.9.2.1 BIOSORBENTES.....	45
2.9.2.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE BIOSORCIÓN	46
2.9.2.3 PROPIEDADES DEL BIOSORBENTE	46
2.9.2.4 BIOSORCIÓN EN COLUMNA DE LECHO FIJO	49
2.9.2.5 MODELOS MATEMÁTICOS EN COLUMNA DE LECHO FIJO	52
2.10 REGULACIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES.....	53
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
3.1 MATERIALES Y EQUIPOS	55
3.2 REACTIVOS.....	56
3.3 METODOLOGÍA.....	57
3.3.1 TOXICIDAD DEL IBUPROFENO EN SOLUCIONES ACUOSAS.....	57
3.3.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO	57
3.3.1.2 BIOENSAYO DE LETALIDAD CON <i>ARTEMIA SALINA</i>	60
3.3.1.3 BIOENSAYO DE TOXICIDAD CON SEMILLAS DE <i>ALLIUM</i> <i>SCHOENOPRASUM L.</i> Y <i>LACTUCA SATIVA</i>	65
3.3.2 REMOCIÓN DE IBUPROFENO CON BIOMASA RESIDUAL DE TALLOS DE ROSA.	70
3.3.3 ANÁLISIS DE DATOS	79



CAPITULO IV: RESULTADOS	80
4.1 TOXICIDAD DEL IBUPROFENO EN SOLUCIONES ACUOSAS.....	80
4.1.1 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO	80
4.1.1.1 CONCENTRACIÓN DE METANOL PARA ARTEMIA SALINA	80
4.1.1.2 CONCENTRACIÓN DE METANOL PARA SEMILLAS DE ALLIUM SCHOENOPRASUM L. (CEBOLLÍN) Y LACTUCA SATIVA (LECHUGA).	81
4.1.1.3 SOLUBILIDAD DEL IBUPROFENO EN METANOL.....	83
4.1.1.4 CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO	84
4.1.2 MORTALIDAD DE LA ARTEMIA SALINA EXPUESTA A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IBUPROFENO	85
4.1.3 GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ALLIUM SCHOENOPRASUM L Y LACTUCA SATIVA TRATADAS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IBUPROFENO.....	88
4.1.3.1 VIABILIDAD DE LAS SEMILLAS	88
4.1.3.2 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN	88
4.1.3.3 ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA.....	91
4.1.3.4 ELONGACIÓN DEL HIPOCÓTILO	94
4.2. REMOCIÓN DE IBUPROFENO CON BIOMASA RESIDUAL DE TALLOS DE ROSA	98
4.2.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE	98
4.2.1.1 TAMAÑO DE PARTÍCULA PARA EL ENSAYO DE BIOSORCIÓN	98
4.2.1.2 CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE	99
4.2.2 BIOSORCIÓN EN COLUMNA.....	104
4.2.2.1 ESTUDIO HIDRODINÁMICO PARA LA ESTABILIZACIÓN DEL LECHO DE LA COLUMNA.....	104



4.2.2.2 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE IBUPROFENO	104
4.2.2.3 AJUSTE DE LOS DATOS EXPERIMENTALES A LOS MODELOS MATEMÁTICOS.....	107
CAPITULO V: DISCUSIÓN	109
5.1 CONCENTRACIÓN DE METANOL PARA BIOENSAYOS	109
5.2 CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO	111
5.3 CONTROLES NEGATIVOS	111
5.4 MORTALIDAD DE <i>ARTEMIA SALINA</i>	113
5.5 GEMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>ALLIUM SCHOENOPRASUM L.</i> (CEBOLLÍN) Y <i>LACTUCA SATIVA</i> (LECHUGA).....	113
5.5.1 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN.....	115
5.5.2 ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA	116
5.5.3 ELONGACIÓN DEL HIPOCÓTILO.....	117
5.6 REMOCIÓN DE IBUPROFENO UTILIZANDO TALLOS DE ROSA	119
5.6.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE	119
5.6.2 ESTUDIO HIDRODINÁMICO EN COLUMNA	120
5.6.3 REMOCIÓN DE IBUPROFENO	121
5.6.4 AJUSTE DE LOS DATOS EXPERIMENTALES A LOS MODELOS MATEMÁTICOS	123
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	124
6.1 CONCLUSIONES.....	124
6.2 RECOMENDACIONES	126
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	127
ANEXOS.....	148



ANEXO 1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO SEMILLAS DE CEBOLLÍN Y LECHUGA EXPUESTAS A METANOL. 148

ANEXO 2. ANALISIS PROBIT PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CL50 DE IBUPROFENO SOBRE ARTEMIA SALINA..... 150

ANEXO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA SEMILLAS DE CEBOLLÍN Y LECHUGA EXPUESTAS A SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO..... 152

ANEXO 4. PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA COMPARACIÓN ENTRE LOS CONTROLES NEGATIVOS PARA LAS SEMILLAS DE CEBOLLÍN Y LECHUGA 153

ANEXO 5. PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA COMPARACIÓN DE LA ENLONGACIÓN DE LA RADÍCULA E HIPOCÓTILO ENTRE LAS SEMILLAS EN EL CONTROL NEGATIVO Y LAS EXPUESTAS A SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO..... 154



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales clases de contaminantes emergentes y sus fuentes.....	25
Tabla 2. Productos de cuidado Personal.....	26
Tabla 3. Ocurrencia y concentración de productos farmacéuticos encontrados en efluentes, aguas dulces y subterráneas de América, Europa y Asia	32
Tabla 4. Lista de las medicinas más comercializadas en Ecuador.....	33
Tabla 5. Tipos de medicamentos más comercializados en Ecuador	34
Tabla 6. Concentraciones de Ibuprofeno en cuerpos de agua reportadas en algunos países.....	38
Tabla 7. Resumen de los datos experimentales de ecotoxicidad del ibuprofeno.	40
Tabla 8. Identificación de diversos grupos funcionales	49
Tabla 9. Expresiones matemáticas para modelos de biosorción en columna	53
Tabla 10. Concentraciones de metanol e ibuprofeno utilizadas en bioensayos	58
Tabla 11. Condiciones para la eclosión de <i>Artemia salina</i>	62
Tabla 12. Condiciones para el ensayo de toxicidad con <i>Artemia salina</i>	64
Tabla 13. Condiciones del ensayo de toxicidad con semillas de <i>Allium schoenoprasum L.</i> y <i>Lactuca sativa</i>	69
Tabla 14. Modelos matemáticos aplicados al proceso de biosorción de ibuprofeno en tallo de rosa.....	78
Tabla 15. Porcentaje de mortalidad de <i>Artemia salina</i> a diferentes concentraciones de metanol.....	80
Tabla 16. Porcentaje de germinación de Alpiste para tres lotes de semillas	81
Tabla 17. Porcentaje de germinación semillas de <i>Allium schoenoprasum L.</i> y <i>Lactuca sativa</i> a diferentes concentraciones de metanol.....	82
Tabla 18. Inhibición de la elongación de radícula e hipocótilo de semillas de <i>Allium schoenoprasum L.</i> a diferentes concentraciones de metanol.....	83
Tabla 19. Inhibición de la elongación de radícula e hipocótilo de semillas de <i>Lactuca sativa</i> a diferentes concentraciones de metanol.....	83
Tabla 20. Solubilidad de Ibuprofeno a 0.1 y 0.5% v/v de metanol	84
Tabla 21. Concentraciones de las soluciones de ibuprofeno determinadas por UV-Vis.	85



Tabla 22. Resultados del porcentaje de mortalidad de <i>Artemia salina</i> expuesta a diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	86
Tabla 23. Resultados de la CL_{50} mgL^{-1} y límites de confianza de la concentración de ibuprofeno para <i>Artemia salina</i>	86
Tabla 24. Porcentaje de Germinación y Coeficiente de variación para la radícula de los controles negativos para las semillas de <i>Allium schoenoprasum L</i> y <i>Lactuca sativa</i>	88
Tabla 25. Porcentajes de germinación de semillas de <i>Allium schoenoprasum L</i> a diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	89
Tabla 26. Porcentajes de germinación de semilla <i>Lactuca sativa</i> a diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	90
Tabla 27. Resultados de la elongación de la radícula de las semillas de <i>Allium schoenoprasum L</i> y <i>Lactuca sativa</i> expuestas diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	91
Tabla 28. Resultados de la elongación del hipocótilo de las semillas de <i>Allium schoenoprasum L</i> y <i>Lactuca sativa</i> expuestas diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	95
Tabla 29. Tamaños de partícula obtenidos para el ensayo de biosorción.....	99
Tabla 30. Resultados de la densidad real del biosorbente de tallos de rosa.....	99
Tabla 31. Resultados de la densidad aparente del biosorbente de tallos de rosa....	99
Tabla 32. Resultados de porosidad del biosorbente de tallos de rosa.....	100
Tabla 33. Valores de pH inicial y final de los ensayos.....	100
Tabla 34. Interpretación del espectro infrarrojo del tallo de rosa.....	102
Tabla 35. Resultados del estudio hidrodinámico para tres tamaños de partícula de biosorbente de tallos de rosa.....	104
Tabla 36. Condiciones para el ensayo de biosorción de ibuprofeno con tallos de rosa.....	105
Tabla 37. Resultados de concentraciones de ibuprofeno obtenidas a la salida de la columna en diferentes intervalos de tiempo.....	105
Tabla 38. Parámetros de funcionamiento de la columna calculados a partir de los datos experimentales.....	107



Tabla 39. Resultados de los parámetros cinéticos en los modelos de Thomas y Dosis respuesta en función del tiempo.....	108
Tabla 40. Resumen de mortalidad en <i>Artemia salina</i> y germinación de semillas de <i>Allium schoenoprasum</i> L. (cebollín) y <i>Lactuca sativa</i> (lechuga).	109
Tabla 41. Resumen de la longitud e inhibición de la radícula e hipocótilo de semillas de <i>Allium schoenoprasum</i> L. (cebollín) y <i>Lactuca sativa</i> (lechuga).	110
Tabla 42. Resumen de resultados en los controles negativos para los organismos de prueba.	112
Tabla 43. Resumen de la germinación radícula e hipocótilo de semillas de <i>Allium schoenoprasum</i> L. (cebollín) y <i>Lactuca sativa</i> (lechuga) expuesta a soluciones acuosas de ibuprofeno	114
Tabla 44. Resumen de la longitud, inhibición y estimulación de la radícula e hipocótilo de semillas de <i>Allium schoenoprasum</i> L. (cebollín) y <i>Lactuca sativa</i> (lechuga) expuesta a soluciones acuosas de ibuprofeno.	115



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fuentes y destino de contaminantes emergentes	24
Figura 2. Fuentes potenciales de productos farmacéuticos y cuerpos receptores ...	31
Figura 3. Estructura general de los Antiinflamatorios	34
Figura 4. Estructura molecular del Ibuprofeno	36
Figura 5. Esquema de una Columna empacada	50
Figura 6. Quistes de <i>Artemia salina</i> INVE Great Lake	60
Figura 7. Nauplios de Artemia	61
Figura 8. Procedimiento para eclosión de quistes de Artemia.....	62
Figura 9. Procedimiento para el ensayo de toxicidad con <i>Artemia salina</i>	65
Figura 10. Semillas utilizadas en el bioensayo.....	66
Figura 11. Medida de la elongación de la radícula e hipocótilo.	67
Figura 12. Procedimiento para realizar el bioensayo con semillas de <i>Allium schoenoprasum</i> L (cebollín) y <i>Lactuca sativa</i> (lechuga).....	70
Figura 13. Preparación de la biomasa residual de tallos de rosa..	71
Figura 14. Biosorbente obtenido de la biomasa residual de tallos de rosa luego de la molienda.....	72
Figura 15. Determinación de las propiedades del biosorbente.....	74
Figura 16. Esquema de la columna empacada construida para la remoción de ibuprofeno.....	75
Figura 17. Biosorción en lecho fijo para remoción de ibuprofeno con biosorbente a base de tallo de rosa..	77
Figura 18. Porcentaje de Mortalidad de <i>Artemia salina</i> a diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	86
Figura 19. (a) Curva Concentración- Mortalidad y (b) Curva basada en el modelo Probit.....	87
Figura 20. Porcentaje de germinación de las semillas de cebollín y lechuga.	90
Figura 21. Elongación de la radícula de cebollín y Lechuga en los controles negativos.	92
Figura 22. Resultado de la elongación de la radícula de cebollín expuesta a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo.	93



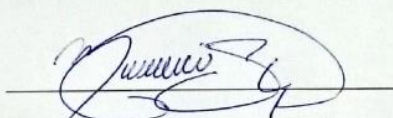
Figura 23. Resultado de la elongación de la radícula de cebollín expuesta a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo	93
Figura 24. Porcentaje de inhibición y estímulo en la elongación de la radícula de las semillas de cebollín y lechuga tratadas con diferentes concentraciones de soluciones de ibuprofeno.....	94
Figura 25. Elongación del hipocótilo de Cebollín y Lechuga en los controles negativos.	95
Figura 26. Resultado de la elongación del hipocótilo de cebollín expuesto a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo.	96
Figura 27. Resultado de la elongación del hipocótilo de la lechuga expuesto a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo	97
Figura 28. Porcentaje de inhibición y estímulo en la elongación del hipocótilo de las semillas de cebollín y lechuga tratadas con diferentes concentraciones de soluciones de ibuprofeno.....	98
Figura 29. Punto carga cero (PZC) para el biosorbente de tallos de rosa.....	101
Figura 30. Espectro infrarrojo del tallo rosa antes de la biosorción.	102
Figura 31. Espectro infrarrojo del tallo de rosa antes y después de la biosorción. .	103
Figura 32. Espectro infrarrojo del ibuprofeno.....	103
Figura 33. Curva de ruptura para la biosorción de ibuprofeno con tallos de rosa ..	106
Figura 34. Comparación de la curva de ruptura experimental y las curvas obtenidas en los modelos aplicados en función del tiempo para la biosorción del ibuprofeno en tallo de rosa.	108

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

María Verónica Saetama Gualpa en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO Y SU POSIBLE REMOCIÓN UTILIZANDO BIOMASA RESIDUAL DE TALLOS DE ROSAS", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, Enero de 2018



María Verónica Saetama Gualpa

C.I: 0104738596



Cláusula de Propiedad Intelectual

María Verónica Saetama Gualpa, autora del trabajo de titulación “EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO Y SU POSIBLE REMOCIÓN UTILIZANDO BIOMASA RESIDUAL DE TALLOS DE ROSAS” certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, Enero de 2018



María Verónica Saetama Gualpa

C.I: 0104738596



AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por permitirme cumplir esta meta.

A la Dra. Mayra Vera por su valiosa asesoría y orientación científica, por su dedicación y respaldo durante todo este trayecto.

A la Dra. María Eulalia Vanegas directora del Centro de Estudios Ambientales por permitirme ser parte de este proyecto, por la ayuda y las facilidades brindadas para el desarrollo de esta investigación.

A la Ing. Diana Brazales, Ing. Anita Astudillo, Dr. Christian Cruzat, por su invaluable ayuda y las valiosas aportaciones a este estudio.

Al Sr. Gerardo Jimbo y compañeros de trabajo por su esmerada colaboración y apoyo.

A todos los que me acompañaron durante la realización de este estudio de manera especial a Ing. Ximena Álvarez, Ing. María Augusta Atudillo, Ing. Fernando Vintimilla, Lic. Duesman Ramírez.

A mi familia por estar presente en todo momento ofreciéndome su ayuda, en especial a mis padres por enseñarme que con esfuerzo, trabajo y constancia todo es posible.

María Verónica Saetama Gualpa



DEDICATORIA

Con mucho cariño y gratitud a Ruth Cecilia, una persona maravillosa que creyó en mí y me apoyó incondicionalmente en todo momento.

A mi esposo, por el apoyo que me brinda para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales.

María Verónica Saetama Gualpa



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

mgL^{-1} : miligramos por litro

μgL^{-1} : microgramos por litro

ngL^{-1} : nanogramos por litro

AINE: Antiinflamatorios No Esteroides

C_0 : concentración inicial

C : concentración final

V_{ef} : volumen del efluente

K_{th} : constante de velocidad del modelo de Thomas

q_{th} : capacidad de adsorción en el modelo de Thomas

m : masa del biosorbente

Q : caudal de alimentación

T : tiempo de muestreo.

K_{YN} : constante de velocidad de Yoon-Nelson

T : tiempo necesario para retener el 50% del adsorbato

q_{γ} : cantidad de soluto adsorbido

q_0 : capacidad de adsorción.

α_Y : constante del modelo de Yan.

PZC: Punto de carga cero

pH: Potencial del hidrógeno

pH_{PZC} : pH en el punto de carga cero

P_{ka} : Constante de disociación

MeOH: Metanol

UV-Vis: Ultravioleta Visible

R^2 : coeficiente de determinación.

AD: Agua Destilada

$CL_{50\ 24H}$: Concentración letal 50 a las 24 horas.



CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

Actualmente se ha investigado la aparición de los llamados contaminantes emergentes en compartimentos acuáticos tanto en aguas superficiales, subterráneas e incluso agua potable. Esto es debido a que las plantas actuales de tratamiento no han sido diseñadas para la remoción de estos contaminantes, dentro de los cuales se encuentran los fármacos, que luego de ser consumidos, son metabolizados y eliminados en los efluentes domésticos y aguas residuales de hospitales, los cuales van directamente al alcantarillado (León, 2015) para posteriormente ser conducidos hacia las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Existen diversos estudios en los que se aborda la aparición de fármacos entre ellos el ibuprofeno, en aguas de río se han reportado concentraciones en rangos de 5 ng L^{-1} a 2700 ng L^{-1} (Ollers et al, 2001; Corcoran et al, 2010; Bu et al, 2013); y a la salida de las plantas de tratamiento de aguas residuales sus concentraciones varían entre 5 ng L^{-1} a 85000 ng L^{-1} (Ternes 1998, Ollers et al, 2001; Corcoran et al, 2010)

El ibuprofeno a altas y bajas concentraciones en los cuerpos de agua, es un grave problema porque podrían causar daño a los organismos presentes en ese medio y también en el suelo. En varios estudios se ha evidenciado que inclusive bajas concentraciones de ibuprofeno en el medio afectan la reproducción de vertebrados e invertebrados (Hayassi et al, 2008). En otros estudios específicamente se ha determinado que concentraciones de ibuprofeno de 100 ng L^{-1} en el medio puede retrasar la eclosión de los peces de agua dulce (Han et al, 2010). Por otra parte también se ha observado que elevadas concentraciones de ibuprofeno en el agua afectan la tasa de crecimiento de organismos como la pulga de agua (*Daphnia magna*) (Heckmann et al, 2007). También se ha encontrado evidencia que concentraciones de 300 ng L^{-1} de ibuprofeno en el agua puede producir daño en los cromosomas de especies de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Ragugnetti et al, 2011).

El ibuprofeno también puede estar presente en el suelo debido a la reutilización de las aguas residuales para actividades de riego, se han encontrado concentraciones de ibuprofeno en suelos regados con aguas residuales en rangos de $0,1 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$ a $0,94 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$ (Gibson et al, 2010). El ibuprofeno al llegar al suelo



puede acumularse y causar efectos tóxicos sobre microorganismos del suelo y plantas. González y Boltes (2014) determinaron que altas concentraciones de este fármaco pueden inhibir la elongación de la raíz de semillas de la gramínea *Sorghum bicolor*, el mismo efecto fue observado en semillas de *Lactuca sativa* (Rede et al, 2016).

En base a lo expuesto anteriormente y debido a que el ibuprofeno es uno de los medicamentos más utilizado tanto en forma doméstica como en las casas de salud, existe la probabilidad de que el agua a la salida de la planta de tratamiento de aguas residuales de Cuenca presente concentraciones de este fármaco, convirtiéndose en un grave problema por la toxicidad que puede producir sobre los organismos del ambiente. Esta investigación permitió determinar el efecto tóxico de soluciones acuosas de ibuprofeno sobre un organismo acuático y dos semillas, y evaluar el proceso de biosorción de ibuprofeno utilizando como adsorbente el tallo de rosas.

Para la investigación se formularon las siguientes hipótesis:

- Las soluciones acuosas de Ibuprofeno producirían efectos tóxicos sobre organismos acuáticos y plantas.
- La biomasa residual de los tallos de rosas utilizada como biosorbente podría remover parcial o totalmente el ibuprofeno

Los objetivos generales planteados fueron los siguientes:

- Determinar el efecto tóxico de soluciones acuosas de ibuprofeno sobre *Artemia salina*, *Allium schoenoprasum L* y *Lactuca sativa*.
- Evaluar el proceso de biosorción de la biomasa residual de los tallos de rosas para la remoción parcial o total de Ibuprofeno

Los objetivos específicos propuestos fueron:

- Determinar el porcentaje de mortalidad de la *Artemia salina* expuesta a diferentes concentraciones de soluciones acuosas de ibuprofeno.
- Determinar el porcentaje de germinación de semillas de *Allium schoenoprasum L* y *Lactuca sativa* tratadas con diferentes concentraciones de soluciones acuosas de ibuprofeno.



- Determinar la elongación del hipocótilo semillas de *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa* tratadas con diferentes concentraciones de soluciones acuosas de ibuprofeno.
- Determinar la elongación de la radícula de semillas de *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa* tratadas con diferentes concentraciones de soluciones acuosas de ibuprofeno.
- Evaluar la estabilidad del lecho de la columna utilizando diferentes alturas, tamaños de partícula y caudales
- Determinar el porcentaje de remoción de Ibuprofeno utilizando el biosorbente producido con la biomasa residual de los tallos de rosas.



CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

El agua es uno de los elementos más importantes para los seres vivos, sin embargo la calidad de los recursos hídricos se ha visto amenazada por la contaminación producida por desechos industriales, domésticos, agrícolas y productos utilizados para el bienestar del hombre, los cuales son constantemente vertidos en los ecosistemas acuáticos (Zacarías et al, 2017).

Con el avance de la ciencia y la tecnología se han creado nuevos productos químicos, orgánicos e inorgánicos, según el registro del Chemical Abstracts Service, CAS, hasta la actualidad (agosto 2017) existen 132 millones de sustancias (Chemical Abstracts Service, 2017), cifra que va incrementando continuamente. Estas sustancias han sido producidas con la finalidad de solucionar problemas de tipo industrial, mejorar la calidad de vida de las personas, ayudar al control de plagas y curar enfermedades. A pesar de estos beneficios, existen estudios que demuestran los efectos adversos de algunos compuestos no considerados como contaminantes sobre el medio ambiente (Yan et al, 2009), (Kalaji y Rastogi, 2017), (Pino et al, 2016), ya que muchos de ellos terminan en compartimentos acuáticos vitales, como agua de superficie, agua subterránea e incluso agua potable, a concentraciones comprendidas entre los ng L^{-1} y $\mu\text{g L}^{-1}$ (Matamoros y Bayona, 2006).

Generalmente los contaminantes químicos presentes en el agua, aire o suelo se encuentran regulados de acuerdo a distintas legislaciones, sin embargo, gracias a investigaciones realizadas en los últimos años y al desarrollo de métodos nuevos y sensibles, se ha podido determinar la presencia de contaminantes potencialmente peligrosos para los seres humanos y el medio ambiente (Rodríguez et al, 2017), a este tipo de sustancias se les ha llamado Contaminantes Emergentes (Barceló, 2008).



Los Contaminantes Emergentes son aquellas sustancias contaminantes que no se encuentran reguladas, pero que pueden estar sujetas a una regulación futura, de acuerdo a los estudios que se realicen y a los resultados que se obtengan sobre los efectos potenciales en el medio ambiente (Petrović, Gonzalez, Barceló, 2003). Según (Ramírez et al, 2015), también se consideran contaminantes emergentes a los grupos de sustancias que poseen alta persistencia y baja degradación en el ambiente y pueden ser dañinos para el ser humano, flora y fauna (Tadeo et al, 2012)

2.2 FUENTES DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES

Los contaminantes emergentes pueden ingresar al medio ambiente a través de algunas fuentes (Mompelat et al, 2009) como:

- Aguas residuales industriales y domésticas.
- Corrientes de agua provenientes de la agricultura, la ganadería y la acuicultura.
- Pozos sépticos.
- Efluentes domésticos y hospitalarios.

A partir de estas fuentes, los contaminantes pueden llegar a diferentes destinos y formar parte de aguas superficiales, aguas subterráneas, agua potable y suelo como se puede observar en la figura 1.

La fuente principal de entrada de los contaminantes emergentes en el medio acuático son las aguas residuales. La eliminación de los contaminantes emergentes en las plantas de tratamiento de agua residual no es completa (Barceló, 2008). Cuando se realiza el tratamiento de las aguas residuales, se produce la eliminación de microorganismos patógenos, evitando que éstos lleguen a los ríos u otras fuentes hídricas, pero los contaminantes emergentes no logran ser eliminados en la planta de tratamiento, manteniéndose presentes tanto en influentes como en afluentes, lo que genera una continua introducción de estos compuestos en el medio acuático (Peña y Castillo, 2015).

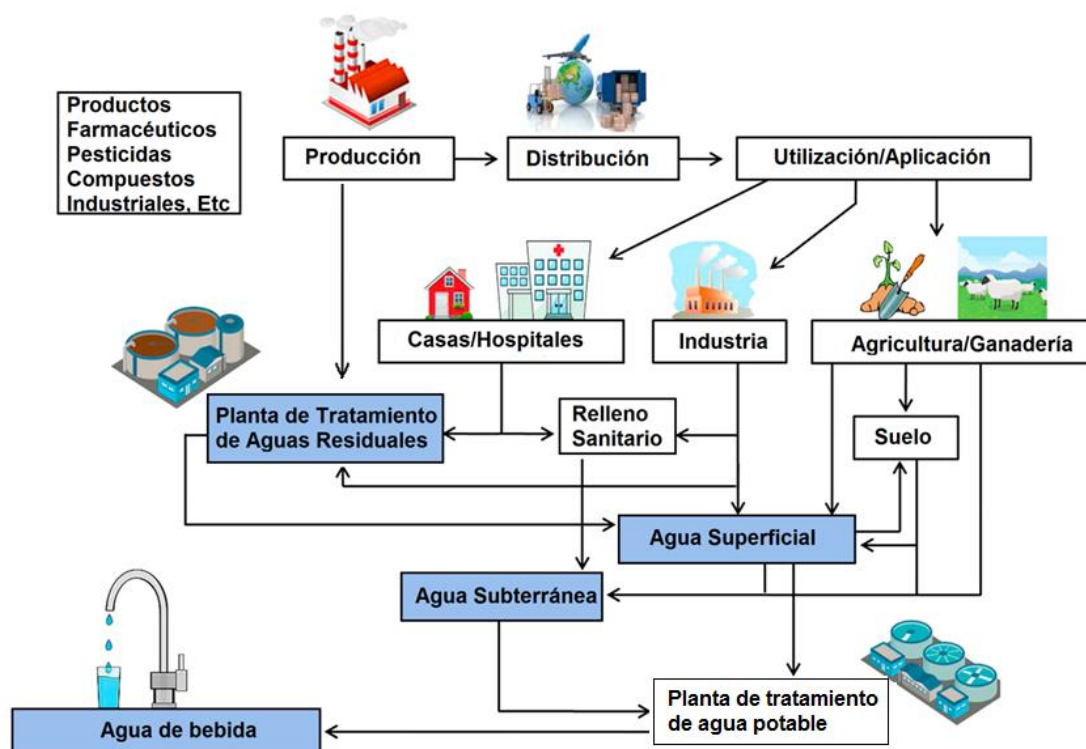


Figura 1. Fuentes y destino de contaminantes emergentes

Fuente: Recuperada de Barbosa et al.

2.3 TIPOS DE CONTAMINANTES EMERGENTES

Existen ciertas sustancias consideradas contaminantes emergentes, entre ellas tenemos: productos farmacéuticos, productos de aseo personal, hormonas esteroides, drogas, tensoactivos, productos químicos industriales, plaguicidas, biocidas, retardadores de llama y nanomateriales (Berrecil, 2012), también se incluyen edulcorantes como la sucralosa, subproductos de desinfección de agua potable y de piscinas, benzotriazoles y benzotiazoles, siloxanos, ácidos nafténicos y líquidos iónicos (Richardson y Ternes, 2011). La variedad de productos químicos liberados al medio ambiente crece significativamente con el paso de los años, es por esta razón que se están realizando investigaciones para detectar y cuantificar los contaminantes emergentes, aunque aún no existe una lista de sustancias que deben ser controladas (Zgheib et al, 2011). En la tabla 1, se muestran las principales clases de contaminantes emergentes.

**Tabla 1.** Principales clases de contaminantes emergentes y sus fuentes.

Categoría	Subclases importantes	Ejemplos	Principales fuentes
Productos Farmacéuticos	Antiinflamatorios, reguladores de lípidos, anticonvulsivos, antibióticos, β -bloqueantes y estimulantes	Paracetamol, carbamazepina, ibuprofeno, dizapam	Aguas residuales domésticas (de excreción), efluentes hospitalarios, corrientes de agua de ganadería y acuicultura.
Productos de cuidado personal	Fragancias, desinfectantes, filtros UV y repelentes de insectos	Musks policíclicas, nitromusks, 3-Benzofenona, ácido octildimetil-p-aminobenzoico.	Aguas residuales domésticas (de baño, afeitado, rociado, natación, etc.)
Hormonas esteroideas	Estrógenos	Estradiol, estrona, estriol, dietilstilbestrol	Aguas residuales domésticas (procedentes de la excreción), escorrentías de alimentación animal y acuicultura
Drogas	Drogas ilícitas	Anfetamina, cocaína, tetrahidrocanabinol	Aguas residuales domésticas (procedentes de la excreción),
Tensoactivos	Tensoactivos no iónicos	Alquilfenoles y derivados	Aguas residuales domésticas Aguas residuales industriales (de descargas de limpieza industrial)
Productos químicos industriales	Plastificantes, aditivos industriales	Ftalatos, bisfenol A, ácido perfluorooctanico, perfluorooctanosulfonato, agentes quelantes, sulfonatos aromáticos	Aguas residuales domésticas (por lixiviación del material)
Retardantes de llamas	Prevención de incendios	Esteres difenilo polibromados, ésteres organofosforados	Aguas residuales
Plaguicidas	Insecticidas, herbicidas y fungicidas	Piretroides, N,N-dietiltoluamida.	Aguas residuales domésticas (de limpieza inadecuada, escorrentía de jardines, céspedes y carreteras y etc.), riego agrícola
Biocidas	Antimicrobianos	Triclosan, Clorofeno	Aguas residuales domésticas (de baños, lavanderías, etc.)
Nanomateriales	Nanomateriales de Ingeniería	Fullerenos y nanotubos, nanopartículas de plata, oro y óxidos metálicos)	Aguas residuales

Fuente: Adaptada de Optimización de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes emergentes en aguas de abastecimiento y residuales (Berrecil, 2012) y A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater (Luo et al, 2014).

A continuación se realiza una breve revisión de algunos de los llamados contaminantes emergentes:



2.3.1 PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL

Son un grupo de compuestos utilizados para la fabricación de productos de cuidado personal, como ejemplos tenemos: dentífricos, jabones, productos cosméticos, fragancias, protectores solares, repelentes de insectos, agentes antifúngicos, antibacteriales, suplementos alimenticios y edulcorantes (Pal et al, 2014), los cuales son liberados al ambiente a través de limpieza, la ducha y el baño (Richardson et al, 2005), pudiendo encontrarse presentes en agua para consumo humano, como es el caso de los microplásticos utilizados por la industria cosmética en productos como exfoliantes, los cuales han sido encontrados en muestras de agua potable de distintos países europeos, en Estados Unidos, Uganda, India, Indonesia, Líbano y Ecuador (El Comercio, 2017).

Los productos de cuidado personal son compuestos persistentes, el principal problema es la biocumulación a altos niveles y los posibles efectos estrogénicos y endócrinos en el medio acuático (Brausch y Rand, 2011).

Tabla 2. Productos de cuidado Personal

Tipo de sustancia	Uso	Ocurrencia	Concentraciones detectadas	Referencia
Antibacteriales: Triclosan, Triclocarban	Jabones, desodorantes, cremas para la piel, pasta dentífrica.	Efluentes PTAR, Aguas superficiales	74 ngL ⁻¹ a 10µgL ⁻¹	López y Hites, 1980, Kolpin et al, 2002
Fragancias: Almizcles sintéticos, almizcles nitro, almizques policíclicos	Desodorantes, jabones, detergentes	Efluentes PTAR, Aguas superficiales	10 a 410 ngL ⁻¹	Yamagishi et al, 1981. Herber et al, 1999
N,N-diethyl-m- toluamida	Repelentes de insectos	PTAR	5 ngL ⁻¹ a 0,2 µgL ⁻¹	Sui et al, 2010. Sandstrom et al, 2005.
Conservantes:parabenos (alquil-p-hidroxivenzoatos)	Cosméticos, productos de tocador, alimentos	Efluentes PTAR, Aguas superficiales	15 a 400 ngL ⁻¹	Brausch y Rand, 2011

PTAR: Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

Fuente: Autor

2.3.2 HORMONAS ESTEROIDES

La presencia de compuestos con propiedades estrogénicas, en el agua y suelo ha generado preocupación a nivel mundial, debido a que estos compuestos pueden



interferir en la reproducción de los seres vivos. Dentro de este grupo de compuestos se encuentran las hormonas naturales como la estrona, el 17β -estradiol y el estriol y las hormonas sintéticas como el anticonceptivo 17α -etinilestradiol (Belfroid et al, 1999). En el suelo se ha detectado la presencia de progesterona, androstendiona y estrona en concentraciones de 109,7; 9,83 y $13,30 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Zhang et al, 2015), también se ha encontrado esteroides en ríos, por ejemplo andrógenos, glucocorticoides, progestágenos y estrógenos estaban presentes en concentraciones de hasta 480 ng L^{-1} , 52 ng L^{-1} , 50 ng L^{-1} 9.8 ng L^{-1} , respectivamente (Chang, Wan y Hu, 2009).

Dentro de los efectos tóxicos que producen las hormonas esteroides se ha reportado la feminización de los peces, los cambios en la reproducción y el comportamiento de algunas especies, la disminución de la cantidad de espermatozoides, el incremento del cáncer de mama y anomalías en el sistema reproductivo humano (Pereira et al, 2011).

2.3.3 DROGAS

Las drogas ilícitas como heroína, cocaína, anfetaminas, metanfetaminas, marihuana entre otras son consumidas en todo el mundo, se ha detectado la presencia de drogas y sus metabolitos en agua de río y aguas residuales (Fría et al, 2007), esto debido a que estas sustancias se descargan continuamente en aguas residuales por excreción humana o por eliminación directa de los residuos de los laboratorios que las producen (González-Mariño et al, 2012). En países como Italia, Suiza, España, Bélgica, Francia y Estados Unidos se ha detectado la presencia de cocaína en concentraciones entre 1 a 4700 ng L^{-1} en plantas de tratamiento de aguas residuales y de 0,5 a 44 ng L^{-1} en aguas superficiales, Metanfetaminas en el orden 1 a 15000 ng L^{-1} en plantas de tratamiento de aguas residuales y de 0,4 a 16 ng L^{-1} en aguas superficiales y Anfetaminas en concentraciones de 1 a 4300 ng L^{-1} para plantas de tratamiento de aguas residuales y de 1 a 309 ng L^{-1} para aguas superficiales (Pal et al, 2013).

Existen pocos estudios sobre los efectos tóxicos de las drogas ilícitas sobre los organismos vivos, se ha determinado que las anfetaminas producen un efecto tóxico



en los hepatocitos de la trucha arcoíris y la daphnia magna, en cambio la cocaína genera un daño en el ADN de pez cebra (Pal et al, 2013).

2.3.4 RETARDANTES DE LLAMA

Los retardadores de llama son sustancias químicas que se adicionan a otras potencialmente inflamables para incrementar sus propiedades de resistencia al fuego, la función de un retardante de llama es inhibir o suprimir el proceso de combustión (Díaz, 2008), con la finalidad de reducir lesiones y daños provocados por incendios (Birnbaum y Staskal, 2004), algunos retardantes de llama son: el tetrabromo bisfenol A, el hexabromociclododecano y los polibromodifeniléteres los cuales pueden ser utilizados en pinturas, muebles, plásticos, aparato eléctricos entre otros.

Se han encontrado algunas clases de retardantes de llama en aire a concentraciones de $0,02 \text{ pg m}^{-3}$ a 1240 pg m^{-3} , agua de $0,02 \text{ ng L}^{-1}$ a 18 ng L^{-1} y suelo $0,02 \text{ ng g}^{-1}$ a $60,4 \text{ ng g}^{-1}$ (Ezechiáš, Covino y Cajthaml, 2014), aunque aún no se han demostrado con certeza sus posibles efectos tóxicos a la salud y ambiente (Birnbaum, y Staskal, 2004), sin embargo se han realizado algunos estudios sobre los efectos a largo plazo como la biocumulación, alteración endocrina, lesiones gastrointestinales y modificación del comportamiento (Ezechiáš, Covino y Cajthaml, 2014).

2.3.5 PLAGUICIDAS /PESTICIDAS

Los pesticidas son una mezcla de sustancias que se utilizan para mitigar o eliminar las plagas de los cultivos. Debido a su regulación, se tiene conocimiento de su presencia y destino en el agua, sin embargo no se ha tomado en consideración sus productos de degradación que pueden llegar a ser más tóxicos que los compuestos que los generan. Dentro de los plaguicidas se encuentra los herbicidas, insecticidas y fungicidas y se aplican en el ambiente exterior (Barceló y López, 2007), algunos ejemplos de plaguicidas son: 3,4-dicloroanilín, Carbaryl y Diuron, los cuales han sido encontrados en aguas superficiales en concentraciones que oscilan



entre 1 a 96 ng L⁻¹ (Birch et al, 2015). Se ha reportado que los plaguicidas pueden ocasionar el adelgazamiento de la cáscara de huevo, en el ser humano pueden causar daños en la función reproductiva, cambios en el comportamiento, afectar la tiroides y próstata (García-Gómez et al, 2011).

2.3.6 NANOMATERIALES

El desarrollo de la ciencia y la tecnología ha dado paso a la aparición de las Nanopartículas, las cuales son utilizadas en medicina, computadoras, industria del automóvil, electrónica, industria textil. Entre las nanopartículas se encuentran los nanotubos de carbono y los óxidos metálicos como las nanopartículas de óxido de titanio, de oro y plata. Estos productos se han fabricado para obtener propiedades físicas o químicas únicas, debido a su tamaño pequeño, forma, área superficial y conductividad, tienen un tamaño comprendido entre 1 y 100 nm. (Federici et al, 2007).

Diversos estudios demuestran los graves efectos tóxicos de estas sustancias sobre los organismos a diferentes niveles tróficos, se ha determinado que las nanopartículas se acumulan en los órganos como branquias, intestino e hígado de los peces, también se depositan en los órganos de las lombrices, producen alteraciones fisiológicas digestivas y estrés oxidativo en algas, crustáceos y peces, y en plantas se produce una biomagnificación y también una afección en el crecimiento y reproducción (Ramsden et al, 2009), (Fouqueray et al, 2012).

2.3.7 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

La presencia de fármacos en el medio ambiente representa una gran preocupación debido a su toxicidad en los elementos vivos del ecosistema. Su uso a nivel hospitalario, veterinario y doméstico incrementa sus descargas y las de sus productos de transformación al ambiente (Jimenez, 2011).

En países como España, Italia, Alemania, Canadá, Brasil, Grecia y Francia se ha existen descargas al agua de aproximadamente 500 toneladas de analgésicos por



año, obteniendo concentraciones comprendidas entre de $0,22\mu\text{g L}^{-1}$ y $3,02\mu\text{g L}^{-1}$ (Heberer, 2002).

Los fármacos pueden causar daños en el sistema endócrino, causando efectos en las funciones hormonales, afectando la salud de los seres humanos y de especies animales, a pesar de encontrarse en bajas concentraciones. Según (Hoeger, 2005) se ha reportado que el diclofenaco afecta a los tejidos de las branquias y de riñones en peces de agua dulce. Antibióticos como penicilina, sulfonamidas y tetraciclinas causan resistencia en patógenos bacterianos. A pesar de que estos contaminantes se encuentran en bajas concentraciones, sus efectos son muy significativos (García y Gortaréz, 2011).

2.4 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES

Los fármacos son considerados contaminantes emergentes debido a que son sustancias no reconocidas como contaminantes en ninguna legislación ambiental a nivel mundial, pero generan gran preocupación por los posibles efectos negativos que podrían tener en los distintos compartimentos ambientales (Barceló, 2008).

En el año 1960 se detectó por primera vez la presencia de contaminantes farmacéuticos en aguas residuales de Europa y Estados Unidos, a partir de esto se han realizado varios estudios a nivel mundial en los cuales se reconoce su existencia y algunos de sus efectos perjudiciales en el medio ambiente (Kaur, 2016).

La mayoría de las sustancias farmacéuticas son biológicamente activas y afines al agua, con el objetivo de que puedan ser transportadas fácilmente por la sangre hacia los tejidos del organismo, evitando su degradación antes de producir el efecto deseado.

Una gran parte de fármacos se excreta por la orina en forma de una mezcla de metabolitos, como sustancia inalterada o conjugada con un compuesto (Halling-Sorensen et al, 1998), y a través de los efluentes, llegan hacia los sistemas acuáticos en pequeñas cantidades pero de manera continua (Ankley, 2007). Los fármacos pueden llegar así a las estaciones depuradoras de aguas residuales, en

las que no pueden ser eliminados completamente, para posteriormente salir como efluentes hacia los ríos, es por esta razón que se realizan estudios de su presencia en aguas para consumo humano (Mostesdeoca, 2015), también pueden llegar hacia aguas subterráneas o ser retenidos en el suelo (Hernando, 2006).

Los fármacos son obtenidos mediante prescripción por médicos del sector público o privado, en el caso del sector público estos se suministran de manera gratuita, también pueden ser adquiridos por automedicación en farmacias con o sin receta médica dependiendo del producto (Masache, 2016).

Se estima que alrededor de 3000 sustancias se utilizan como ingredientes para producir productos farmacéuticos, entre los que tenemos analgésicos, antibióticos, antidiabéticos, betabloqueantes, anticonceptivos, reguladores de lípidos, antidepresivos y fármacos para la impotencia. Debido a que son productos utilizados a gran escala, su presencia en el medio acuático ha ido aumentando, y se les ha podido detectar en aguas superficiales, aguas subterráneas, aguas residuales y agua potable (Li, 2014). Las fuentes potenciales de productos farmacéuticos y los cuerpos receptores de estos productos y sus metabolitos se muestran en la figura 2.

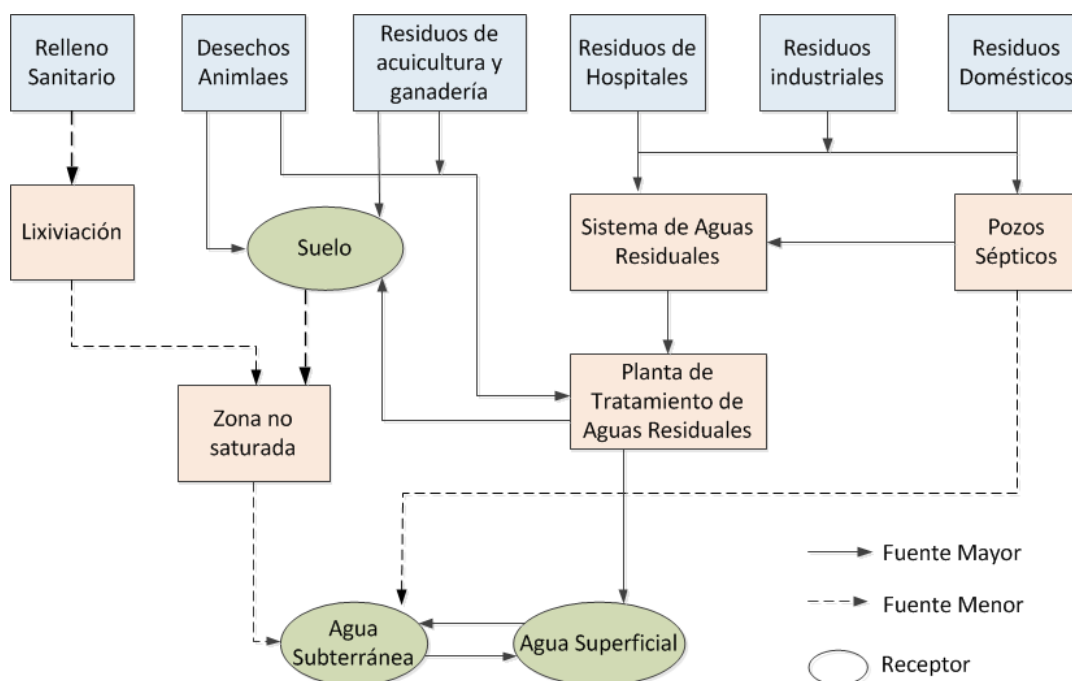


Figura 2. Fuentes potenciales de productos farmacéuticos y cuerpos receptores

Fuente: Recuperada de Li.



En varios estudios se ha evidenciado la presencia de productos farmacéuticos en el suelo, aguas superficiales, aguas subterráneas y en plantas de tratamiento de aguas residuales. En la tabla 3 se puede observar la ocurrencia y concentración de productos farmacéuticos encontrados en efluentes, aguas dulces y subterráneas de América, Europa y Asia (Li, 2014).

Tabla 3. Ocurrencia y concentración de productos farmacéuticos encontrados en efluentes, aguas dulces y subterráneas de América, Europa y Asia

Fuentes	America			Europa			Asia		
	Efluente PTAR	Agua dulce - ríos, canales	Agua subterránea	Efluente PTAR	Agua dulce, ríos, canales	Agua subterránea	Efluente, ETAR / STP	Agua dulce ríos, canales	Agua subterránea
Ubicación	Nuevo México, Balcanes	Nueva Jersey, Canadá	California, Canadá	España, Italia	España	paneuropeo	Taiwán, Corea	Taiwán, Vietnam	
Compuestos	Rango de concentración (ng L-1)								
Antibióticos									
Trimetoprim	2550	145	18	39	59,9		2000	1808	
Ciprofloxacina		77	0,28	499	nd ^a		2050		40
Sulfametoxazol	310	170	458	185	33	38	397	4330	3
Analgésicos									
Naproxen	1550	555			80,5				
Ibuprofeno	11900	203	3,97	8000	468	395	1600	30	
Acetaminofén			1890		40				
Cetoprofeno		16		940	293	2886	128	620	
Diclofenaco	4200			740	794	24	1760	62	
Ácido salicílico				3170	184				
Antiepiléptico									
Carbamazepina	1550	735	420	150	366	3600	21000	120	
Estimulantes									
Cafeína			290	300	568	4500	3180		

nd^a: Concentración no detectada.

Fuente: Adaptada de Ocurrencia, fuentes y destino de los productos farmacéuticos en el medio acuático y en el suelo (Li, 2014).

En un estudio realizado a lo largo de los ríos San Pedro, Machángara, Guayllabamba y Esmeraldas en Ecuador, se ha encontrado la presencia de contaminantes emergentes farmacéuticos, los más persistentes fueron carbamazepina y acesulfame, que resultaron ser estables a lo largo de los ríos Pedro, Guayllabamba y Esmeraldas, mientras que la concentración de la mayoría de otros contaminantes emergentes orgánicos, tales como la cafeína, sulfametoxazol, venlafaxina, O-desmetilvenlafaxina, y esteroides estrógenos, se degradó en gran medida a lo largo del flujo de 300 km (Voloshenko-Rossin et al, 2015).



2.5 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS MÁS COMERCIALIZADOS

Los analgésicos y antiinflamatorios son los productos farmacéuticos de mayor consumo a nivel mundial, por lo general su consumo se realiza por automedicación (Richardson, 2009), aunque también son considerados los más prescritos en la medicina (Hernando, 2006).

Según la Confederación Farmacéutica Argentina ocho de los diez medicamentos más dispensados en Argentina son analgésicos y analgésicos-antiinflamatorios, siendo paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno y diclofenaco los más vendidos (COFA, 2014). El Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), en un estudio determinó que el Paracetamol (analgésico-antipirético), así como los antiinflamatorios no esteroideos, entre ellos el Ibuprofeno, Diclofenaco, Ketorolaco y Acido Mefenámico son los principios activos más comercializados en Chile. En un estudio realizado por Mestanza y Pamo (1992) sobre el consumo de medicamentos y automedicación en Lima, se determinó que los antiinflamatorios (AINE's) se encontraban dentro de los grupos de medicamento más consumidos.

De acuerdo a datos del Banco Central del Ecuador, en el país existen 23 medicamentos, considerados como los más comercializados, los cuales se pueden observar en la Tabla 4.

Tabla 4. Lista de las medicinas más comercializadas en Ecuador

Medicamentos	
Diclofenaco	Azitromicina
Ácido Ascórbico	Paracetamol
Cianovobalamina+ Piridoxina+Tiamina	Etoricoxib
Naproxeno	Cefuroxima axetilo
Amoxicilina + ácido Clavulánico	Ezetimiba + Simvastatina
Ibuprofeno	Hidroclorotiazida + Losartán
Ciprofoxacino	Amlodipino
Amoxicilina	Sulfametoxazol + trimetoprima
Nimesulida	Vacunas, virus del papiloma Humano (VPH)
Meloxicam	Losatán
Atorvastina	Hierro Ferroso

Fuente: Los 23 fármacos más vendidos están en la mira de restricciones (El Universo, 2010)

A partir de esta tabla se puede determinar que los analgésicos, los antiinflamatorios y los antibióticos son los más comercializados en el Ecuador. El resumen puede

observarse en la tabla 5. En un análisis realizado por Masache (2016) en el Distrito metropolitano de Quito, se evidenció que los Antiinflamatorios son los medicamentos más adquiridos sin receta médica y también son unos de los más recetados por los médicos.

Tabla 5. Tipos de medicamentos más comercializados en Ecuador

Clases de Fármacos	Medicamentos
Analgésicos y Antinflamatorios	Diclofenaco, Ibuprofeno, Naxopreno, Nimesulida, Meloxican, Paracetamol, Etoricoxib.
Antibióticos	Ciprofloxacino, Amoxicilina, Azitromicina, Sulfametaxol
Antihipertensivos	Losartan, Amlodipino

Fuente: Autor.

2.6 ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS

Los analgésicos son fármacos utilizados para contrarrestar el dolor el alivio del dolor, entre los que se encuentran los analgésicos narcóticos, analgésicos no narcóticos y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (Bueno et al, 2012). La aspirina fue el primer antiinflamatorio descubierto 1899, desde esa fecha se han obtenido más sustancias con efecto analgésico antiinflamatorio, entre los analgésicos no narcóticos se encuentran el acetaminofén y aspirina. Los analgésicos narcóticos son: codeína, metadona, morfina y oxicodona. Entre los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se encuentran el diclofenaco, naproxeno, ibuprofeno, fenoprofeno, cetoprofeno, ácido mefenámico e indometacina (Hart y Huskisson, 1984). La estructura química de los antiinflamatorios comprende restos ácidos que están acoplados a grupos funcionales planares y aromáticos (Figura 3).

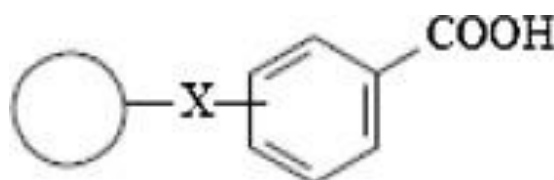


Figura 3. Estructura general de los Antiinflamatorios

Fuente: Recuperada de Kaur et al.



El consumo de analgésicos antiinflamatorios es muy alto, se estima que aproximadamente 30 millones de personas los consumen todos los días. En Alemania se utilizan, alrededor de 180 toneladas de ibuprofeno, 75 toneladas de diclofenaco y 500 toneladas de aspirina. En Inglaterra se consumen más de 78 toneladas de aspirina, 345 toneladas de ibuprofeno y 86 toneladas de diclofenaco.

En Francia se utilizan 400 toneladas de ibuprofeno, 37 toneladas de naproxeno, 10 toneladas de diclofenaco y 22 toneladas de ketoprofeno (Kaur et al, 2016).

Gómez (2006), ha reportado la presencia de metabolitos del Naxopreno, Ibuprofeno y Acetaminofén, en aguas residuales hospitalarias, también se han encontrado concentraciones de analgésicos en aguas superficiales (Farré, 2001). El diclofenaco sódico es un fármaco que se encuentran comúnmente en los ambientes acuáticos (Zhang et al, 2008).

2.6.1 EFECTOS TOXICOLÓGICOS DE ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS

Los Fármacos producen alteraciones del sistema endócrino, causando efectos en las funciones hormonales, afectando la salud de los seres humanos y de especies animales, a pesar de encontrarse en bajas concentraciones (Santos et al, 2010).

Según (Hoeger, 2005) se ha reportado que el diclofenaco afecta a los tejidos de las branquias y de riñones en peces de agua dulce. En ensayos de toxicidad crónica realizados en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) se presentaron cambios citológicos en los riñones y el hígado, branquias después de 28 días de exposición a 1 mg L^{-1} de esta sustancia, a concentraciones más altas se observaron lesiones renales, así como la bioacumulación de drogas en los riñones, hígado, branquias y el músculo (Triebkorn et al, 2004). Otro efecto del diclofenaco en los cuerpos de agua es la inhibición de la reproducción de algas y el crecimiento del fitoplancton marino (Schmitt-Jansen, 2007).

El naproxeno y sus subproductos producen inhibición en el crecimiento de organismos como la pulga de agua, el camarón duende *Thamnocephalus platyurus* y en las algas (Isidori, 2005).

El paracetamol es considerado peligroso para organismos como algas, pulgas de agua, embriones de peces, bacterias luminiscentes y ciliados (Petrie, 2015).

2.7 IBUPROFENO

El ibuprofeno, compuesto ácido 2- [3- (2-metilpropil) fenil] propanóico (figura 4), es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) del grupo del ácido propiónico, su mecanismo de acción se basa en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas COX-1 y COX-2, impidiendo la formación de prostaglandinas en el organismo, dando como resultado la disminución del dolor, la fiebre e inflamación (Rainsford, 2013).

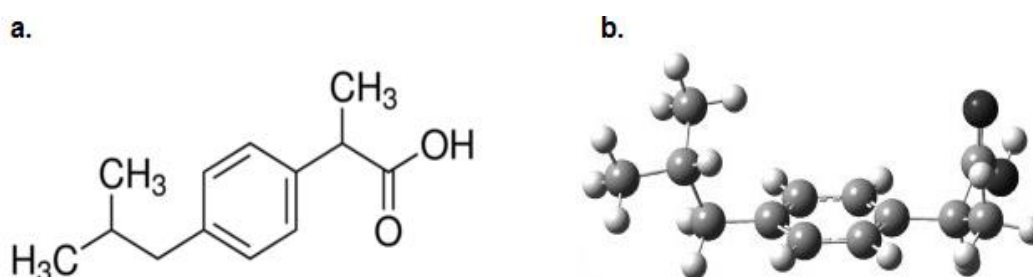


Figura 4. Estructura molecular del Ibuprofeno. (a) Estructura general. (b) Disposición de los átomos en el espacio.

Fuente: Adaptada de Mestre et al.

Las propiedades de este fármaco son las siguientes:

- Fórmula: C₁₃H₁₈O₂
- Masa molar: 206,29 g/mol
- Punto de fusión : 168,8°F (76 °C)
- Número CAS: 15687-27-1
- pka: 4,9



Este medicamento se utiliza para tratar fiebre, migraña, dolor muscular, dolor de muelas, dolor de cabeza, molestias por la menstruación y artritis (Georgaki et al, 2014). Las propiedades antiinflamatorias del ibuprofeno fueron descubiertas por el Doctor Stewart Adams, para la división de investigación de la compañía Boots a mediados del siglo XX y hoy en día es uno de los medicamentos más usados en todo el mundo, su consumo viene dado por prescripción médica o auto medicación (Rainsford, 2013). El ibuprofeno es uno de los medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2010) y también se encuentra dentro del cuadro de medicamentos básicos del Ministerio de Salud del Ecuador (MSP, 2013).

El ibuprofeno se absorbe en el tracto gastrointestinal y se metaboliza en el hígado, dando lugar a dos metabolitos el ácido (+)-2-[4'-(2-hidroxi-2-metilpropil)fenil] propiónico (metabolito A) y el ácido(+)-2-[4' -2-carboxipropil) fenil] propiónico (metabolito B) más el ibuprofeno en su forma original, éstos son eliminados por vía renal a través de la orina (Méndez et al,2008).

Debido a que el Ibuprofeno se produce y consume en grandes cantidades se ha identificado como uno de los principales productos farmacéuticos presentes en los ecosistemas acuáticos. En muchos países se ha detectado presencia de ibuprofeno y sus metabolitos en aguas dulces, de mar y efluentes de plantas depuradoras (Buser et al, 1999; Wiegel et al, 2004; Cruz et al, 2014), las concentraciones detectadas están entre los ng L^{-1} y los $\mu\text{g L}^{-1}$. Se han reportado concentraciones de ibuprofeno comprendidas entre 10 ng L^{-1} y $169 \mu\text{g L}^{-1}$ (Santos et al, 2007).

En aguas superficiales ha alcanzado niveles de hasta $5 \mu\text{g L}^{-1}$ (Ashton et al, 2004). Las concentraciones que se han medido en países europeos oscilan entre $0,042$ y $1,26 \mu\text{g L}^{-1}$ (Santos et al, 2010).

Se han reportado concentraciones relativamente más altas de Ibuprofeno en plantas de tratamiento de aguas residuales, encontrando en los afluentes hasta $84 \mu\text{g L}^{-1}$ y para efluentes hasta $22 \mu\text{g L}^{-1}$ de plantas de tratamiento de aguas residuales (Gómez et al, 2006). Un resumen de las concentraciones de ibuprofeno reportadas en algunos países se muestra en la siguiente tabla (Tabla 6).



Tabla 6. Concentraciones de Ibuprofeno en cuerpos de agua reportadas en algunos países

País	Muestra	Concentración informada (ng L ⁻¹)
España	PTAR afluente	37–168,000
	Efluente hospitalario	100–340
Suiza	PTAR afluente	100–4500
Canadá	PTAR efluente	110–6718.3
Suecia	PTAR afluente	150 - 3590
	Agua del río Høje	10–220
Brasil	Agua del río Paraíba do Sul	<10
	Agua potable	<10
Italia	Agua del río Po	ND–9.76
	Agua del río Lambro	78.50
Estados Unidos	Agua subterránea	3110
	PTAR efluente	18
Taiwán	Efluente hospitalario	119
	Efluente de la planta de producción farmacéutica	45,875
Reino Unido	PTAR afluente	1700–33,764
	Superficie del agua	<20
	Tyne río agua	144–2370
Bélgica	PTAR efluente	18–1860
Alemania	Agua de río	60–152
	Agua del río Elber	8.7–32
	Agua del lago Alster	4.9
Japón	PTAR afluente	1.41–1130
Taiwán	PTAR afluente	313–17,933
Luxemburgo	PTAR afluente	3–3080
	Agua del río Alzette	10–295
	Agua del río Mess	9–2383
Corea del Sur	PTAR efluente	10–137
	Superficie del agua	11–38
	Agua potable	<1.0
	Agua del río Mankyung	<5–414

PTAR: Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

Fuente: Adaptada de Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment (Santos et al, 2010).



Aproximadamente del 75 al 90% del ibuprofeno se elimina en las plantas de tratamiento de aguas residuales, sin embargo es un compuesto biológicamente activo e incluso en pequeñas trazas tienen un impacto negativo en el medio ambiente (Madhavan et al, 2010).

2.7.1 EFECTOS TÓXICOS DEL IBUPROFENO

Existe poca información ecotoxicológica sobre el Ibuprofeno, varios estudios han determinado los efectos tóxicos del ibuprofeno y sus metabolitos en distintos compartimentos ambientales, se ha encontrado que el ibuprofeno afecta a los organismos acuáticos inhibiendo su crecimiento como es el caso de las algas (Geiger et al, 2016; Mondal et al, 2016) y la lenteja de agua *Lemna minor* (Pomati et al, 2004); también existen estudios que evidencian los efectos adversos de este fármaco sobre la reproducción de los peces a concentraciones iguales o menores a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (Ji et al, 2013); además se ha encontrado la acumulación de ibuprofeno en organismos marinos, específicamente en los tejidos de moluscos, produciendo el deterioro de los parámetros inmunológicos, daño en el metabolismo y en el ADN de esta especie (Mezzelani et al, 2016); también se ha determinado que existe la presencia de ibuprofeno en la bilis de los peces *Abramis brama* y *Rutilus rutilus* en concentraciones de 16 a 34 ng mL^{-1} y 15 a 26 ng mL^{-1} respectivamente (Brozinski et al, 2012).

Las aguas residuales tratadas son comúnmente utilizadas en actividades de riego, pudiendo convertirse en una fuente de contaminación con medicamentos para las plantas y el suelo (Rede et al, 2016), en estudios realizados por Schmidt (2015) y González (2014) se observaron efectos tóxicos sobre semillas de *Lactuca sativa* las cuales se manifestaron en el desarrollo de la raíz; también se determinó un efecto de inhibición del crecimiento de la raíz en ensayos realizados con la semilla de *Sorghum bicolor*, una especie monocotiledónea.

Para el caso del ibuprofeno se han utilizado las siguientes especies para evaluar su toxicidad, *Lemna gibba* (planta acuática vascular); *Vibrio fischeri* (bacteria); *Lepomis macrochirus* (pez), *Daphnia magna*, *Skeletonema costatum* (alga)

(Carlsson et al, 2006). Un resumen de los datos experimentales de ecotoxicidad del ibuprofeno se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Resumen de los datos experimentales de ecotoxicidad del ibuprofeno.

Taxonomía	Especie	Evaluación Toxicológica	Dato Ecotoxicológico	Referencia
		CE ₅₀ (48 h) (inmovilización)	108 mg L ⁻¹	Cleuvers, 2008
		CE ₅₀ (48 h) (inmovilización)	101,2 mg L ⁻¹	Heckamann et al, 2007
		CE ₅₀ (48 h) (inmovilización)	10-100 mg L ⁻¹	
Crustáceo	<i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ (14 d) (reproducción)	13,4 mg L ⁻¹	
		NOEC (14 d) (supervivencia)	20 mg L ⁻¹	
		LOEC (14 d) (supervivencia)	80 mg L ⁻¹	
		LOEC (14 d) (crecimiento de la población)	20 mg L ⁻¹	
Algas	<i>D. subspicatus</i>	CE ₅₀ (inhibición del crecimiento)	315 mg L ⁻¹	Cleuvers, 2008
		CE ₅₀ (inhibición del crecimiento)	342,2 mg L ⁻¹	
Lenteja de agua	<i>Lemna minor</i>	CE ₅₀ (7 d) (inhibición del crecimiento)	22 mg L ⁻¹	Cleuvers, 2008
		CE ₅₀ (7 d) (inhibición del crecimiento)	4,01 mg L ⁻¹	Pomati, 2004
Crustáceo	<i>Gammarus pulex</i>	LOEC (comportamiento)	10 ng L ⁻¹	De Lange, et al,2006
Crustáceo	<i>T. platyurus</i>	CL ₅₀ (24 h) (mortalidad)	19,59 mg L ⁻¹	Kim et al, 2009
Pescado	<i>O. latipes</i>	CL ₅₀ (96 h) (mortalidad)	> 100 mg L ⁻¹	Pounds et al, 2008
		CL ₅₀ (72 h) (supervivencia)	17,1 mg L ⁻¹	Pounds et al, 2008
Molusco	<i>P. carinatus</i>	NOEC (21 d) (supervivencia)	5,36 mg L ⁻¹	
		NOEC (21 d) (crecimiento)	1,02 mg L ⁻¹	
		LOEC (21 d) (crecimiento)	2,43 mg L ⁻¹	
		NOEC (21 d) (reproducción)	2,43 mg L ⁻¹	
Cnidario	<i>Hydra attenuata</i>	CL ₅₀ (96 h) (morfología)	22,36 mg L ⁻¹	Quinn et al, 2008
		EC ₅₀ (96 h) (morfología)	1,65 mg L ⁻¹	
		LOEC (96 h) (morfología)	1 mg L ⁻¹	
		NOEC (96 h) (morfología)	0,1 mg L ⁻¹	
Planta/semilla	<i>R. sativus</i>	Sin datos (germinación)		Schmidt y Redshaw, 2015
Planta/semilla	<i>L. sativa</i>	Sin datos (germinación)		Schmidt y Redshaw, 2015

Fuente: Adaptada de Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment (Santos et al, 2010).



2.8. EVALUACIÓN DEL EFECTO ECOTOXICOLÓGICO

Los efectos tóxicos que producen diversos contaminantes pueden ser evaluados mediante la aplicación de bioensayos en organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas, diferentes especies como vertebrados (peces), invertebrados (*Daphnia magna*), semillas (lechuga, cebolla) y plantas (algas, lenteja de agua) son utilizados para este fin. Los efectos adversos pueden manifestarse como de inhibición del crecimiento, muerte, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos (Castillo et al, 2004).

Para el caso de estudio se utilizarán los bioensayos con *Artemia salina spp.* y con semillas, los cuales se describen a continuación.

2.8.1 BIOENSAYOS CON ARTEMIA SALINA

Artemia salina son camarones minúsculos de cuerpo blando, de color carmelita y transparentes a la luz, es un zooplancton invertebrado de perteneciente a ecosistemas marinos y lagos salados, es un organismo importante dentro de la cadena alimentaria marina (Nunes et al, 2006), el uso de este organismo en el área de la ecotoxicología inició en el año 1975 en la Universidad Ghent en Bélgica como una manera de evaluar la utilidad y fiabilidad de los diferentes métodos de ensayo de toxicidad con camarones de salmuera, posteriormente el ensayo fue sometido a críticas en un Simposio Internacional sobre el Camarón de Salmuera considerando el procedimiento lógico y bien desarrollado (Persoone y Wells, 1987).

Estos organismos se han utilizado por más de 40 años en estudios toxicológicos debido a su disponibilidad ya que es utilizada como alimento de peces y crustáceos en acuicultura (Pino y Jorge, 2010), también ofrece resultados relativamente rápidos de toxicidad con ensayos cuya duración oscila entre las 24 y 96 horas, son de fácil manipulación y mantenimiento; y se adaptan fácilmente a las condiciones de prueba (Nunes et al, 2006). Este organismo puede ser utilizado para ensayos de toxicidad a corto plazo (24 horas) y largo plazo (14 días) (Libralato et al, 2016). Este estudio



utiliza un ensayo de toxicidad a corto plazo para determinar el efecto adverso del ibuprofeno sobre este organismo.

Los nauplios de *Artemia spp.* han sido utilizados para probar la toxicidad de varios metales y producto químicos como el arsénico, el cadmio, cromo, cobalto, el cobre, níquel, estaño zinc, fármacos antibióticos, nanomateriales de ingeniería, poliestireno de tamaño nanométrico, asbestos, herbicidas de triazina, insecticidas, pesticidas, productos farmacéuticos entre otros; presentes en aguas residuales y aguas marinas (Libralato et al, 2016), sin embargo no existe información sobre los efectos de toxicidad de Ibuprofeno sobre este organismo.

La prueba de toxicidad a corto plazo con *Artemia salina* es un bioensayo basado en la determinación de la concentración del contaminante que mata el 50% de los nauplios de *Artemia* en 24 horas, esta concentración se conoce como CL₅₀-24 h. Se lleva a cabo en condiciones estáticas durante 24 h a 25 ± 1 °C, exponiendo a una población homogénea de nauplios en estado II-III incubados, a diferentes concentraciones del contaminante (Vanhaecke y Persoone, 1981).

2.8.2 BIOENSAYO CON SEMILLAS

La toxicidad de compuestos químicos sobre las plantas puede ser determinada mediante ensayos con semillas o plantas. Cuando se utilizan semillas se sugiere que deben ser de fácil acceso, rápida germinación y crecimiento, una de las especies más utilizada para ensayos de toxicidad es la *Lactuca sativa* una planta dicotiledónea (Schmidt y Redshaw, 2015; Sobrero y Ronco 2004).

El bioensayo de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa* (lechuga) es una prueba de toxicidad aguda que consiste en exponer a las semillas durante 120 horas a diferentes concentraciones de las sustancia a evaluar, con la finalidad de valorar los efectos fitotóxicos en la germinación de las semillas y en el desarrollo de plántulas en los primeros días de crecimiento. (Sobrero y Ronco, 2004). En varios estudios han utilizado otros tipos de semillas como rábano, brócoli y cebolla para determinar los efectos tóxicos de ciertos compuestos (Alvear y Abad, 2015) y



(Quiroz, y López, 2017), también se han utilizado para analizar la sensibilidad entre las especies monocotiledónea y dicotiledónea.

Los efectos fitotóxicos sobre las semillas se determinan mediante la inhibición en la germinación y en la elongación de la radícula e hipocótilo, los cuales constituyen indicadores subletales (Sobrero y Ronco, 2004). Según Bagur-González et al, (2011) si existe una reducción del 50% en las variables evaluadas en relación con el control negativo, se considera que la sustancia estudiada es altamente tóxica, bajo este criterio se ha establecido la siguiente escala:

- 0 a -0.25 baja toxicidad
- -0.25 a -0.5 moderada toxicidad
- -0.5 a -0.75 muy tóxico
- -0.75 a -1 altamente tóxico
- > 0 indican la estimulación del crecimiento de la semilla (hormesis)

En un estudio realizado por (Pino et al 2016), se utilizaron semillas de *Lactuca sativa* para evaluar el efecto tóxico en la elongación de la radícula e hipocótilo de 15 productos farmacéutico entre ellos el ibuprofeno, se determinó que semillas expuestas a 250 mg L⁻¹ presentaron radículas más delgadas y más largas que las de los controles negativos, además el ibuprofeno resultó ser uno de los más tóxicos para el alargamiento del hipocótilo.

2.9. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO PARA CONTAMINANTES EMERGENTES

En la actualidad se emplean tecnologías biológicas, químicas e híbridas para eliminar los contaminantes emergentes en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (Ahmed et al, 2017), como son: procesos de floculación, coagulación, oxidación biológica, sedimentación, oxidación avanzada, oxidación con oxidantes químicos (ozono o peróxido de hidrógeno, etc.), la oxidación fotocatalítica, procesos de membrana, la oxidación electroquímica, adsorción, biorreactores de membrana, lodos activados, microalgas, humedales y métodos combinados (Ali et



al, 2012). Sin embargo el proceso de adsorción es considerado uno de los mejores debido a su bajo costo, facilidad de obtención y operación, alta eficiencia y efectividad (Reddy et al, 2012).

Los biorreactores de membrana, los lodos activados y los procesos de aireación han demostrado ser eficaces en la eliminación de químicos de disrupción endócrina.

El proceso de lodos activados sirve para remover tensoactivos, químicos de disrupción endócrina y productos para el cuidado personal. Los productos farmacéuticos y los plaguicidas son eliminados mediante el carbón activado biológico. Los procesos de tratamiento con microalgas pueden eliminar casi todos los tipos de contaminantes emergentes (Ahmed et al, 2017).

Procesos de oxidación química tales como: ozonización, fotólisis y los procesos foto-Fenton pueden eliminar exitosamente hasta el 100% de plaguicidas y productos farmacéuticos. Los disruptores endócrinos pueden eliminarse mediante ozonización y fotocatalisis UV (Ahmed et al, 2017).

Se ha probado el uso de sistemas híbridos como la ozonización seguido de carbón activado biológico, demostrando ser eficientes en la eliminación de plaguicidas y productos farmacéuticos, otra tecnología híbrida es la ozonización ultrasonido la cual puede eliminar hasta el 100% de muchos productos farmacéuticos (Ahmed et al, 2017).

2.9.1 ADSORCIÓN

El proceso de adsorción es aquel en el que se utiliza un sólido para eliminar sustancia que se encuentra disuelta en el agua, es decir se produce una transferencia de materia del líquido o gas que contiene la sustancia a eliminar hacia el material sólido (Metcalf y Eddy, 1991). Este proceso es considerado una de las mejores tecnologías para el tratamiento de agua, siendo el carbón activado el material adsorbente más utilizado para la eliminación de diversos tipos de contaminantes del agua, sin embargo su elevado costo restringe su uso (Bhatnagar y Sillanpää, 2010).



Se han elaborado carbones activados a partir de huesos de melocotón activados con H_3PO_4 , en los que se investigó su capacidad de adsorción para tres compuestos emergentes: un estimulante (cafeína), un fármaco anti-inflamatorio (diclofenaco) y una droga psiquiátrica (carbamazepina) (Álvarez y García, 2015).

2.9.2 BIOSORCIÓN

La Biosorción es una tecnología basada en el uso de materiales de origen biológico como adsorbentes para eliminar contaminantes de soluciones acuosas y tiene las siguientes ventajas: es un proceso compatible con el medio ambiente, el material adsorbente se puede obtener fácilmente ya que su fuente son residuos o subproductos de procesos agrícolas, son materiales reciclables, muchas veces no necesitan un tratamiento químico para ser utilizados por lo que resultan menos costosos (Farooq et al, 2010).

Se ha estudiado el uso del mesocarpo del coco como agente eliminador de paracetamol en un medio acuoso con agitación (Dalfior et al, 2010). El bagazo de caña también ha sido analizado en la eliminación de paracetamol, demostrando mayor capacidad de absorción en comparación con el carbón activado y la esponja vegetal (Flores et al, 2011).

El proceso de biosorción puede ser realizado de manera discontinua en lotes o de forma continua en una columna de lecho fijo (Ortega, 2013). Este estudio se realizará en una columna de lecho fijo.

2.9.2.1 BIOSORBENTES

Los biosorbentes comúnmente están hechos de desechos agrícolas y su uso está en función de sus capacidades de adsorción, mecanismos de unión, factores operativos y métodos de tratamiento previo, existen estudios que han demostrado capacidades de adsorción iguales o incluso mayores en comparación con los adsorbentes convencionales (Nguyen et al, 2013)

Los desechos agrícolas son materiales lignocelulósicos y están compuestos por tres principales componentes estructurales: lignina, celulosa y hemicelulosa.



(Chowdhury et al, 2011). Los biosorbentes contienen grupos funcionales como carboxilo, hidroxilo, sulfhidrilo y amido que pueden atraer iones presentes en las aguas.

Diversos residuos agrícolas han sido evaluados para remover fármacos antiinflamatorios entre estos están el bagazo de uva, cáscara de cacao, huesos de melocotón y huesos de aceituna utilizados en estudios de adsorción de soluciones acuosas contaminadas con Diclofenaco (Antunes et al, 2012; Saucier et al, 2015; Álvarez et al, 2015; Larous y Meniai, 2016). Flores et al (2011) ha evaluado también el bagazo de caña para retener moléculas de Paracetamol en soluciones acuosas. Durante la revisión bibliográfica, no se encontraron estudios en los que se utilizara tallos de rosa como material adsorbente, sin embargo materiales similares como tallos de la planta de algodón (Deng et al, 2009), las cabezas y tallos de las flores de girasol (Jain et al, 2010) y tallos de maíz (Vučurović et al, 2014), han sido utilizados para eliminar diversos tipos de contaminantes como metales y colorantes orgánicos. Para la remoción de ibuprofeno se ha estudiado el uso de las flores, hojas, tallos y ramas de la especie *Parthenium hysterophorus*, la biomasa de esta planta fue modificada para obtener un carbón activado con el cual se obtuvo una adsorción del 90% de ibuprofeno (Mondal et al, 2016).

2.9.2.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE BIOSORCIÓN

La biosorción se fundamenta en la retención de las especies químicas contaminantes en un medio acuoso (adsorbatos o solutos contenidos), en un sólido adsorbente de origen biológico (biosorbente), en este proceso intervienen: la solubilidad, tamaño y porosidad de la partícula, sus grupos funcionales, pH en el punto de carga cero (pH_{ZPC}), contacto entre el biosorbente y el adsorbato en determinadas condiciones de concentración, pH, temperatura, agitación y tiempo de contacto (Flores et al, 2001).

2.9.2.3 PROPIEDADES DEL BIOSORBENTE

Es importante conocer las propiedades de los biosorbentes tales como:



Densidad Real: La densidad real es la relación que existe entre la masa de las partículas secas y el volumen real de la fase sólida. La densidad real se determina obteniendo el peso seco de la muestra y el volumen de los sólidos de la muestra, esto se realiza con un picnómetro. La densidad real siempre será mayor que la densidad aparente (Núñez, 1981).

Densidad Aparente: La densidad aparente es la relación entre el volumen y el peso seco de un material, incluyendo el espacio poroso, indica la relación del peso del material con el volumen que ocupa, a menor densidad aparente, mayor espacio poroso, lo tanto la densidad aparente, es inversamente proporcional al espacio poroso (González et al, 2016).

Porosidad: La relación entre densidad aparente y la densidad real permite interpretar la porosidad del material y el grado de compactación, por ejemplo a menor porcentaje de porosidad el material es más compacto (Núñez, 1981).

Tamaño de partícula: La capacidad de adsorción está relacionada con el tamaño de partícula, se ha evidenciado que mientras menor sea el tamaño de la partícula biosorbente podrá captar una mayor cantidad de adsorbato, sin embargo en columnas de lecho fijo puede existir pérdidas de presión, por lo que es necesario llegar a un equilibrio entre el tamaño de partícula que genera la mayor superficie de contacto y no produzca caídas de presión volviendo inoperable la columna (Rincón y Marisol, 2010).

pH de la solución acuosa: El valor del pH de la solución acuosa es un parámetro que controla los procesos de adsorción tanto en la adsorción de cationes como de aniones, la adsorción de cationes es favorecida para valores de pH superiores a 4,5, la adsorción de aniones prefiere un valor bajo de pH, entre 1,5 y 4 (Tejada-Tovar et al, 2015)

pH en el punto de carga cero (pH_{ZPC}): El pH_{ZPC} se define como el valor del pH en el cual la carga neta total de las partículas sobre la superficie del material adsorbente es cero, lo que quiere decir que la cantidad de sitios positivos y negativos es igual. Mediante el pH_{ZPC} se puede caracterizar el comportamiento del



material biosorbente, ya que cuando el pH de la disolución es menor que (pH_{ZPC}), el biosorbente se encuentra cargado positivamente, en cambio si el pH de la disolución es mayor (pH_{ZPC}) la superficie del biosorbente estará cargada negativamente. (Villa y Anaguano, 2013).

Sitios ácidos y básicos: La aplicación de los materiales adsorbentes está influenciada por su química superficial, el contenido de átomos como nitrógeno, oxígeno e hidrógeno, hacen que el material pueda presentar características ácidas, básicas u óxido reductoras. La determinación de los sitios ácidos y básicos de un biosorbente puede ser realizada usando diferentes técnicas como titulaciones ácido base conocido como el método de Boehm, espectroscopia infrarroja de reflectancia difusa con transformada de Fourier, entre otras (Briceño et al, 2007).

Grupos Funcionales: La técnica de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), sirve para determinar los grupos funcionales característicos sobre la superficie adsorbente y verificar los grupos involucrados en la retención del contaminante, es por esta razón que el análisis FTIR se realiza antes y después del proceso de biosorción. (Rangel et al.; Vera et al, 2016). El análisis muestra un espectro con diferentes números de onda correspondientes a los grupos funcionales, los espectros se registran en un FTIR dentro del rango de $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$. En la tabla 8 se indican algunos grupos funcionales con sus correspondientes número de onda.

En este estudio se analizarán las siguientes propiedades del biosorbente: densidad real, densidad aparente, porosidad, tamaño de partícula, punto de carga cero y grupos funcionales.

**Tabla 8.** Identificación de diversos grupos funcionales

GRUPO FUNCIONAL	NUMERO ONDA (cm ⁻¹)	GRUPO FUNCIONAL	NUMERO ONDA (cm ⁻¹)
OH (enlace de hidrógeno)	3100-3200	-C ≡ C-	2300-2100
OH (sin enlace de hidrógeno)	3600	-C ≡ N	~ 2250
Cetonas	1725-1700	-N=C=O	~ 2270
Aldehídos	1740-1720	-N=C=S	~ 2150
Aldehídos y cetonas α,β-insaturado	1715-1660	C=C=C	~ 1950
Ciclopentanonas	1750-1740	NH	3500-3300
Ciclobutanonas	1780-1760	C=N-	1690-1480
Ácidos carboxílicos	1725-1700	NO ₂	1650-1500 1400-1250
Esteres	1750-1735	S=O	1070-1010
Esteres α,β-insaturados	1750-1715	sulfonas	1350-1300 1150-1100
δ-Lactonas	1750-1735	Sulfonamidas y sulfonatos	1370-1300 1180-1140
γ-lactonas	1780-1760	C-F	1400-1000
Amidas	1690-1630	C-Cl	780-580
-COCl	1815-1785	C-Br	800-560
Anhidridos	1850-1740	C-I	600-500

Fuente: Técnicas de análisis y caracterización de materiales. (Faraldos y Goberna, 2011).

2.9.2.4 BIOSORCIÓN EN COLUMNA DE LECHO FIJO

La biosorción en columna de lecho fijo consiste en hacer pasar continuamente una disolución de alimentación a través de una columna empacada con material adsorbente, aquí se producen un proceso de transferencia de masa permanente entre la fase móvil que contiene la sustancia a remover y la fase sólida que constituye el biosorbente, conforme pasa el fluido que contiene la sustancia que se desea separar, el adsorbente se va saturando, hasta agotar su capacidad de adsorción (figura 5). La biosorción en columna permite una aplicación más práctica a nivel industrial, ya que en estos lugares se trabaja en condiciones continuas (Ortega, 2013).

El adsorbente se caracteriza por poseer sitios activos donde el contaminante que se desea eliminar se adsorbe por atracción de tipo eléctrico, físico, o por reacción química (Taty-Costodes et al, 2005).

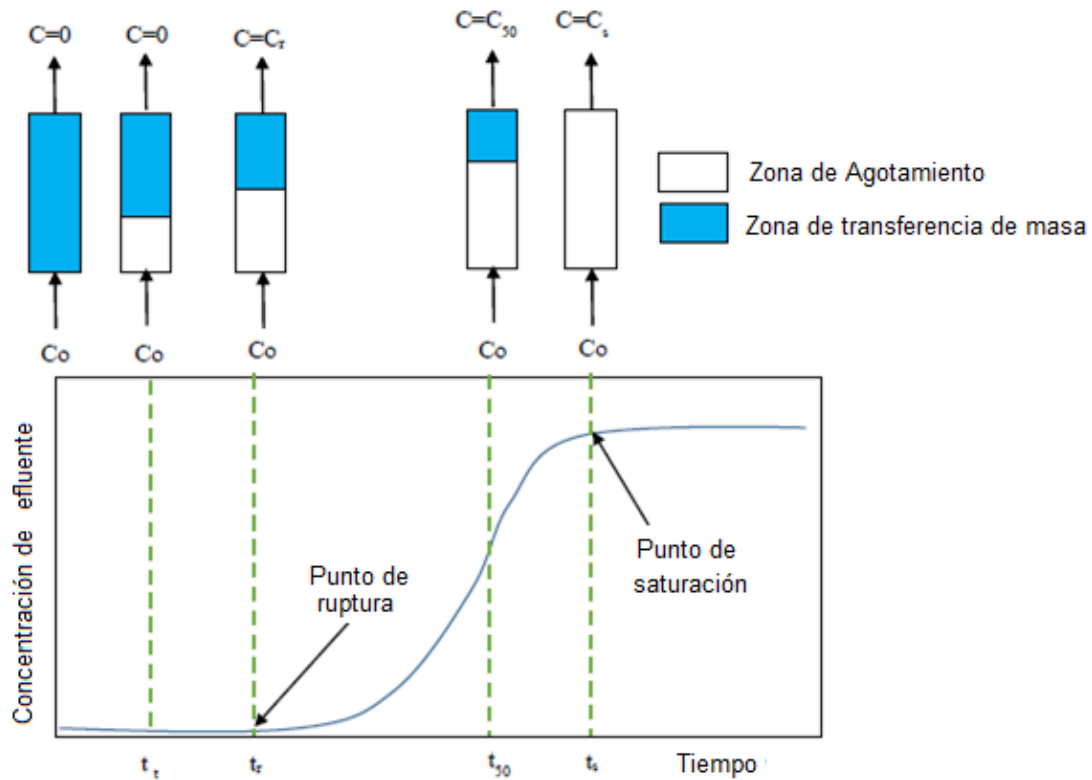


Figura 5. Esquema de una Columna empacada

Fuente: Adaptada de Ortega.

El material adsorbente debe tener cierta afinidad con la solución, una superficie específica significativa y una capacidad máxima de adsorción, la cual se expresa como masa de sorbato por masa de adsorbente, o en masa de adsorbato por litro. La capacidad máxima de adsorción está relacionada con la superficie específica del adsorbente y con el número de sitios activos presentes en la misma. La columna comúnmente es cilíndrica y el lecho adsorbente tiene una altura definida para que el tiempo de contacto sea el óptimo. El tiempo de operación y el perfil de la curva sirven para determinar cómo responde la columna de biosorción bajo los parámetros que se establezcan para el proceso, como: tamaño de partícula, altura del lecho, masa de biosorbente y caudal. (Taty-Costodes et al, 2005)



La curva de ruptura muestra el comportamiento de una columna de lecho fijo en función de la cantidad de sustancia que es posible retener y viene expresada como el cociente entre la concentración de la sustancia a la salida (C_o) y la concentración de la sustancia a la entrada de la columna (C), (C/C_o) para una altura de lecho, en función del tiempo o del volumen de efluente (Calero et al, 2012).

Según Calero et al, 2012 los parámetros de funcionamiento de la columna se pueden calcular a partir de las siguientes ecuaciones:

- Volumen del efluente:

$$V_{ef} = Q \cdot t_{total}$$

Donde:

Q es caudal que circula por la columna, ml/min

t_{total} es el tiempo total de operación de la columna, (min)

- Cantidad de sustancia retenida o capacidad máxima de la columna (q_{total}) en mg, para una concentración de alimentación establecida:

$$q_{total} = \frac{Q}{1000} \int_{t=0}^{t=t_{total}} C_R dt$$

Donde:

C_R es la concentración de la sustancia retenida (mg/l)

- Cantidad total de sustancia (m_{total}) que pasa por la columna en mg:

$$m_{total} = \frac{C_o Q t_{total}}{1000}$$

- Porcentaje de sustancia retenida por el biosorbente:

$$\% Retención = \frac{q_{total}}{m_{total}} \cdot 100$$

- Capacidad de adsorción, q_o (mg de sustancia adsorbida/g de biosorbente):

$$q_o = \frac{q_{total}}{m}$$



2.9.2.5 MODELOS MATEMÁTICOS EN COLUMNA DE LECHO FIJO

El comportamiento del proceso de biosorción en columna se puede predecir mediante el modelado matemático, con el cual se puede identificar mecanismos relevantes para el proceso, predecir los cambios debidos a las diferentes condiciones de operación y optimizar la eficiencia general del proceso de adsorción (Borba et al, 2008). Se pueden emplear tres modelos para ajustar los datos experimentales: Modelos de Thomas, Yoon – Nelson y Yan o Dosis – Respuesta (De Franco et al, 2017), (Darweesh, y Ahmed, 2017). Estos son los modelos que se aplicarán a los datos experimentales obtenidos para biosorción de ibuprofeno en el biosorbente de tallos de rosa.

Modelo de Thomas: El Modelo de Thomas es utilizado para evaluar el rendimiento de la columna, este puede ser usado para predecir la curva de ruptura y capacidad máxima de adsorción de la columna (De Franco et al, 2017).

Modelo de Yoon y Nelson: El modelo de Yoon-Nelson no requiere datos sobre la característica del adsorbato, el tipo de adsorbente y las propiedades físicas del lecho de adsorción, este modelo considera que la tasa de disminución en la probabilidad de adsorción de la molécula de adsorbato es proporcional a la probabilidad de adsorción de adsorbato y de penetración en el adsorbente (Baral et al, 2009).

Modelo de Yan o Dosis Respuesta: El modelo de Yan (o dosis-respuesta modificada) minimiza el error resultante del modelo Thomas, especialmente en períodos de tiempo de operación más bajos o más altos de la curva de ruptura (Yan et al, 2001).

Las expresiones matemáticas de cada uno de estos modelos se muestran en la tabla 9.

**Tabla 9.** Expresiones matemáticas para modelos de biosorción en columna

Modelos	Expresiones Matemáticas	Simbología
Modelo de Thomas (De Franco et al, 2017).	$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{k_{TH}}{Q} \cdot (q_{TH} \cdot m - C_0 \cdot Q \cdot t)\right)}$	C₀ : Concentración Inicial C : concentración final K_{th} : constante de velocidad del modelo de Thomas (ml/min mg) q_{th} : capacidad de adsorción en el modelo de Thomas (mg/g) m : masa del biosorbente (g) Q : caudal de alimentación (ml/min) T : tiempo de muestreo.
Modelo de Yoon y Nelson (Baral et al, 2009).	$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp(\tau - t) \cdot k_{YN}}$	K_{YN} : constante de velocidad de Yoon-Nelson (min ⁻¹) T : tiempo necesario para retener el 50% del adsorbato (min)
Modelo de Yan o Dosis Respuesta (Yan et al, 2001)	$\frac{C}{C_0} = 1 - \frac{1}{1 + \left(\frac{C_0 \cdot Q \cdot t}{q_Y \cdot m}\right)^{\alpha_Y}}$	q_Y : cantidad de soluto adsorbido (mg/ g) α_Y : constante del modelo de Yan.

Fuente: Autor

2.10 REGULACIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES

Las sustancias consideradas contaminantes emergentes, aún no se encuentran regulados por ninguna legislación, debido a que no se ha podido determinar un perfil de contaminación preciso, sin embargo existe una preocupación a nivel mundial por la presencia de estas sustancias en el medio acuático (Gorito et al, 2017).

La Legislación Europea ha intensificado el monitoreo de los contaminantes en los ecosistemas, y basándose en datos de toxicidad agua y efectos crónicos sobre el medio acuático ha publicado una lista de sustancias sujetas a vigilancia. En marzo del 2015 estableció la primera lista de observación y vigilancia de sustancias en el ámbito de la política de aguas, Decisión de Ejecución (UE) 2015/495, en la que fueron incluidos el Diclofenaco, la hormona sintética 17-alfa-etinilestradiol, las



hormonas naturales 17-beta-estradiol y estrona y tres antibióticos azitromicina, claritromicina y eritromicina, debiendo controlarse estos compuestos en agua superficiales (Barbosa et al, 2016). La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) en el 2016 publicó un plan para aumentar la seguridad y confiabilidad del agua potable, este plan aborda entre otros puntos a los contaminantes no regulados, con la finalidad de priorizar el trabajo sobre aquellos que presentan un riesgo significativo y promover el desarrollo de tecnologías innovadoras y de bajo costo para removerlos o eliminarlos (EPA, 2016).

Ecuador no dispone de suficientes estudios que permitan establecer un reglamento para la regulación de contaminantes emergentes, pero se han iniciado proyectos de investigación para su determinación en aguas residuales.

Un marco normativo para los contaminantes emergentes debería abordar a los contaminantes específicos, grupo de contaminantes, metabolitos y productos de transformación en varios compartimentos ambientales; los impactos en la salud humana, los impactos ambientales, la toxicidad y efectos combinados de las mezclas de productos; la disponibilidad y limitaciones de las investigaciones y tecnologías, las capacidades analíticas de los laboratorios y las técnicas de mitigación o remediación (Naudi et al, 2016), con esta información se podía mejorar la legislación existente, con la finalidad de proteger al ecosistema del peligro que representa la presencia de productos farmacéuticos en el medio ambiente.

Dada la problemática de las plantas de tratamiento de agua residual y el uso indiscriminado de fármacos resulta de interés realizar un estudio toxicológico para conocer el grado de afectación a los ecosistemas, así como la remoción de estos contaminantes específicamente del ibuprofeno, buscando nuevas alternativas de tratamiento terciario que sean factibles desde el punto de vista técnico, económico y ambiental.



CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio es de tipo experimental de corte transversal, con el fin de determinar el posible efecto tóxico que causaría el Ibuprofeno en soluciones acuosas y evaluar su posible remoción utilizando biomasa residual de tallos de rosas.

La metodología de investigación se desarrolló en dos etapas, en la primera se llevó a cabo la evaluación toxicológica del Ibuprofeno en soluciones acuosas a diferentes concentraciones mediante bioensayos, utilizando como organismos de prueba *Artemia salina* de INVE GLS originaria de Great Salt Lake obtenida de un proveedor nacional y dos semillas *Allium schoenoprasum L.* (monocotiledónea) y *Lactuca sativa* (dicotiledónea) de Takki Seeds adquiridas a un proveedor local; en la segunda etapa se realizó la biosorción en una columna empacada para determinar la remoción de ibuprofeno, utilizando como material adsorbente residuos de tallos de rosa clasificados y recolectados de floristerías locales.

3.1 MATERIALES Y EQUIPOS

Para la preparación de las soluciones se utilizaron: pipetas de volumétricas, vasos de precipitación, balones de aforo, Erlenmeyer cápsulas de vidrio.

Para realizar los bioensayos se utilizaron cajas Petri de 35 mm de diámetro para la Artemia y de 90 mm para las semillas.

Los Nauplios de artemia fueron transferidos a las cajas petri utilizando pipetas pasteur de 3 ml.

Como sustrato para la germinación de las semillas se utilizó papel filtro Sartorius 202 equivalente Whatman 1.

La salinidad y la temperatura fue determinada con un medidor portátil de conductividad/TDS/Salinidad/Temperatura GMH-Greisinger 3400 Series.

El pH fue medido en un pH metro Seven Compact S220 Mettler Toledo.



El peso de la sal marina fue medido en una balanza de precisión electrónica de Mettler Toledo, modelo MS 1602 y precisión 0,01g.

Los pesos de artemia, ibuprofeno y biosorbente fueron determinados en una balanza analítica electrónica de Mettler Toledo, modelo ME 204 y precisión 0,0001g. Los pesos usados para determinar densidad y porosidad fueron tomados en la misma balanza.

Las concentraciones de las soluciones acuosas de ibuprofeno fueron determinadas en un espectrofotómetro UV Visible Genesys 10S de Thermo SCIENTIFIC de rango 190 - 1100nm.

La agitación de las muestras fue realizada en un agitador vertical Benchtop Orbital Shakers. MaxQ 4000 de Thermo Scientific.

La incubación de los nauplios durante el ensayo de toxicidad, fue realizada en una estufa Memmert SN75.

La temperatura para la incubación de las semillas fue monitoreada mediante un sensor Acurite.

Los nauplios expuestos a las diferentes concentraciones de Ibuprofeno fueron observados en un microscopio corsvascopio Kimray.

El espectro para determinar los grupos funcionales de la biomasa de tallos de rosa fue obtenido utilizando un espectrofotómetro Espectrómetro Nicolet iS 5 FT-IR de marca Thermo SCIENTIFIC.

Para el montaje de la columna de biosorción se utilizó una bureta de 50 ml, de diámetro 1.5 cm y altura 70 cm.

3.2 REACTIVOS

El Ibuprofeno usado para realizar los bioensayos y la biosorción fue adquirido de Sigma Aldrich con las siguientes características: pureza > 98%, peso molecular 206.28 g / mol, CAS No. 15687-27-1, código del producto I110.



El Metanol de grado para cromatografía líquida utilizado como solvente del Ibuprofeno fue adquirido de Merck Millipore, con las siguientes características: pureza 99.9%, contenido de agua < 0.02%, masa Molar: 32,04 g/mol, CAS No.: 67-56-1, código del producto 106007.

El ácido clorhídrico e hidróxido de sodio utilizados como reguladores de pH y como agentes neutralizantes, fueron reactivos de grado analítico de Merk.

Todas las soluciones se prepararon con agua destilada tipo II.

Se empleó sal marina sin aditivos de grado comercial para la preparación de agua de mar artificial de salinidad $35 \pm 1 \text{ g L}^{-1}$.

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 TOXICIDAD DEL IBUPROFENO EN SOLUCIONES ACUOSAS

La evaluación de la toxicidad del ibuprofeno en soluciones acuosas se realizó mediante los bioensayos de Letalidad con *Artemia Salina* (Vanhaecke y Persoone, 1981; Borroto et al, 2011) y de toxicidad aguda con semillas de *Allium schoenoprasum* L. (Monocotiledónea) y *Lactuca sativa* (Dicotiledónea) (Schmidt y Redshaw, 2015).

3.3.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO

Para la aplicación de las soluciones acuosas de Ibuprofeno a los organismos de prueba, fue necesario solubilizar el medicamento en un disolvente portador, en este caso se utilizó Metanol de grado HPLC.

Las concentraciones de Ibuprofeno fueron elegidas considerando el efecto del metanol en los organismos de prueba y la solubilidad del ibuprofeno en metanol, varios autores utilizaron bajas concentraciones de metanol en sus ensayos (Pounds et al, 2007; Hills et al, 2008; Schmidt y Redshaw, 2015) (tabla 10).

**Tabla 10.** Concentraciones de metanol e ibuprofeno utilizadas en bioensayos

Concentración Metanol	Concentración Ibuprofeno	Referencia
0,1 ml L ⁻¹	0.32, 1, 3.2 mg L ⁻¹	Pounds et al, 2007
0,63%	0.01; 0.03; 0.1, 0.3 y 1 mg L ⁻¹	Hills et al, 2008
0,1%	1 mg L ⁻¹	Schmidt y Redshaw, 2015

Fuente: Autor.

Basada en esas concentraciones se realizaron pruebas del efecto sobre la mortalidad de la *Artemia salina* y la germinación y elongación de la radícula e hipocótilo de las semillas de *Allium schoenoprasum L.* y *Lactuca sativa* utilizando concentraciones de 0.1%, 0.5%, 1% y 5% v/v de metanol en agua de mar artificial y agua destilada.

Efecto de la concentración de metanol como solvente de ibuprofeno

Se realizaron ensayos para determinar la concentración de metanol que no produzca un efecto tóxico sobre la *Artemia salina* y las semillas de *Allium schoenoprasum L.* y *Lactuca sativa*, en función de:

- La mortalidad de *Artemia salina*, la cual debe ser menor al 10% con respecto al control negativo.
- La germinación de las semillas, que debe ser superior al 90%, con respecto al control negativo.
- La elongación de la radícula e hipocótilo, que no debe presentar diferencias significativas con respecto al control negativo.

Las pruebas con *Artemia salina* fueron llevadas a cabo de acuerdo a los métodos propuestos por Vanhaecke y Persoone (1981) y Rajabi, et al (2015). Consistieron en colocar 10 nauplios en cajas Petri pequeñas de 35 mm que contenían 10 ml de agua de mar artificial con metanol al 0.1%, 0.5%, 1% y 5% v/v, las cajas fueron incubadas en oscuridad durante 24 horas a una temperatura de 25 ± 1°C. La prueba se realizó por triplicado y se incluyó un control negativo que contenía 10 ml de agua de mar artificial y 10 nauplios. Al finalizar la prueba se contó el número de larvas sobrevivientes y se calculó el porcentaje de mortalidad.



Las pruebas con semillas fueron realizadas utilizando los métodos propuestos por Schmidt y Redshaw (2015), Sobrero y Ronco (2004) y consisten en colocar 20 semillas en cajas Petri de 90 mm que contenían doble papel filtro Sartorius grado 292 equivalente a Whatman 1, a cada caja se le agregó 5 ml de una solución de agua destilada con metanol al 0.1%, 0.5%, 1% y 5% v/v, las cajas fueron incubadas durante 120 horas a oscuridad a una temperatura de 22 °C. La prueba se realizó por triplicado y se incluyó un control negativo que contenía 20 semillas y 5ml de agua destilada.

Solubilidad del Ibuprofeno en metanol

Se realizaron pruebas de solubilidad del ibuprofeno, disolviendo el peso de medicamento necesario para preparar concentraciones de 100, 50 y 20 mg L⁻¹ en los porcentajes de metanol que no causaron un efecto adverso sobre los organismos de prueba.

Preparación de soluciones de ibuprofeno para bioensayos

Para la exposición de la *Artemia salina* y las semillas de *Allium schoenoprasum* L. y *Lactuca sativa*, se prepararon concentraciones nominales de 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mg L⁻¹, tomando como factor de dilución 0.5.

Para el bioensayo con *Artemia salina* se preparó 1 litro de una solución madre de 20 mg L⁻¹ de Ibuprofeno en agua de mar artificial con metanol al 0.5%. Las concentraciones de 10, 5, 2, 1, 0.5 mg L⁻¹ fueron obtenidas por diluciones sucesivas.

Para el Bioensayo con *Allium schoenoprasum* L. y *Lactuca sativa*, se preparó 1 litro de una solución madre de 20 mg L⁻¹ de Ibuprofeno en agua destilada con metanol al 0.1%. Las concentraciones de 10, 5, 2, 1, 0.5 mg L⁻¹ fueron obtenidas por diluciones sucesiva.

Determinación de concentraciones de soluciones acuosas de ibuprofeno preparadas

Las concentraciones de las soluciones de ibuprofeno preparadas para la aplicación en los bioensayos fueron verificadas en un espectrofotómetro UV Visible

Genesys 10S de Thermo SCIENTIFIC. Para realizar esta medición, se determinó la longitud de onda a la cual el medicamento presentaba la máxima absorbancia, para este fin se prepararon soluciones de 20 mg L⁻¹ de ibuprofeno: una en agua de mar artificial con metanol al 0.5% y otra en agua destilada con metanol al 0.1%. Se realizó el barrido espectral de cada una de ellas y mediante el análisis de picos en la curva de barrido, se obtuvo la longitud de onda del medicamento.

Para generar la curva de calibración, se prepararon soluciones patrón de ibuprofeno en concentraciones 20, 10, 5, 1 y 0,5 mg L⁻¹ y se determinó el valor de la absorbancia de cada solución usando el espectrofotómetro UV-VIS, con estos datos el equipo generó una curva Concentración vs Absorbancia. Las soluciones acuosas de ibuprofeno de 20, 10, 5, 2, 1 y 0,5 mg L⁻¹ preparadas para la aplicación en los bioensayos se analizaron en el espectrofotómetro obteniendo los valores de absorbancia y de concentración de las soluciones, por interpolación en la curva de calibración.

3.3.1.2 BIOENSAYO DE LETALIDAD CON *ARTEMIA SALINA*

Organismos de Prueba

Se utilizaron quistes de *Artemia salina* de INVE GSL originaria de Great Salt Lake, Utah – USA (figura 6), los cuales fueron eclosionados e incubados hasta alcanzar el estado II y III, el cual se observa en la figura 7.

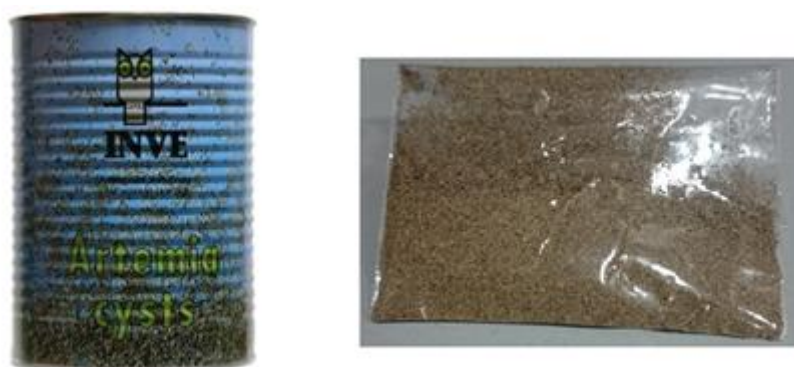


Figura 6. Quistes de *Artemia salina* INVE Great Lake

Fuente: Autor

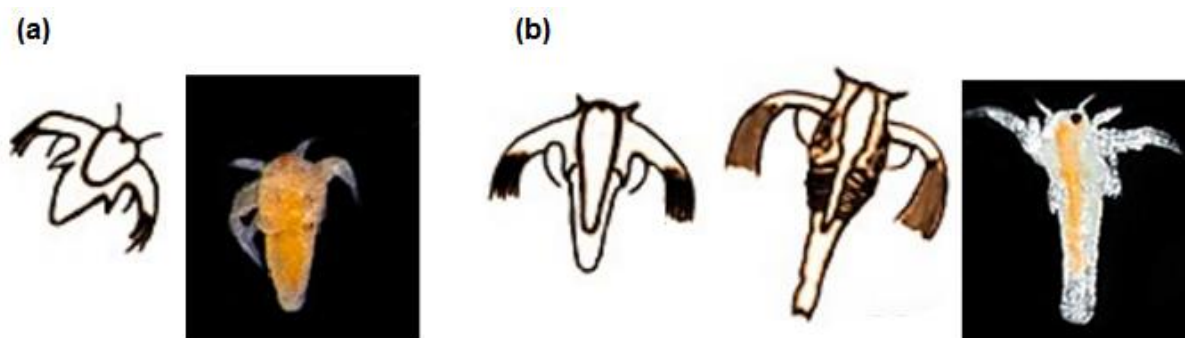


Figura 7. Nauplios de Artemia. (a) Estado I. (b) Estado II y III

Fuente: Adaptada y modificada de Vanhaecke y Persoone.

Eclosión de los quistes de *Artemia salina*

Para la eclosión de los quistes de artemia se prepararon 3 litros de una solución salina 35 g L⁻¹ salinidad, disolviendo 105 g de sal marina purificada en 3 litros de agua destilada. Esta solución salina fue sometida a aireación durante 24 horas, manteniendo un pH de 8.0 ± 0.5.

En la solución aireada se colocaron aproximadamente 1,5 g de quistes para ser incubados manteniendo una temperatura de 25 ± 1 °C y con iluminación de intensidad de al menos 500 lux. Los quistes fueron mantenidos en suspensión continua mediante aireación con la ayuda de una manguera plástica extendida hasta el fondo del recipiente. Después 24 horas se detuvo la aireación para que los nauplios en movimiento que se concentran en el fondo del recipiente, y mediante pipeteado fueron transferidos a un nuevo envase que contenía 3 litros solución salina. Esta solución con los nauplios, fue nuevamente aireada y mantenida durante exactamente 24 horas a una temperatura de 25 ± 1 °C y una iluminación de 500-1000 lux, en donde se desarrollaron hasta el estado II y algunos hasta el estado III, para luego ser utilizados en las pruebas de toxicidad. Las condiciones para la eclosión de los huevos de artemia se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Condiciones para la eclosión de *Artemia salina*

Factor	Condición
Temperatura (° C)	25 ± 1
Intensidad de luz (lux)	500 - 1000
Medio de eclosión	Agua de mar artificial
Salinidad (g L ⁻¹)	35 ± 1
pH de la solución	8.0 ± 0.5
Peso de quistes (g)	1,5
Volumen de ensayo (ml)	3000
Tiempo de incubación eclosión (h)	24
Tiempo de incubación desarrollo estado II y III (h)	24

Fuente: Autor

En la figura 8 se sintetiza el procedimiento seguido para realizar la eclosión de los quistes de artemia y su incubación hasta llegar al estado II - III.

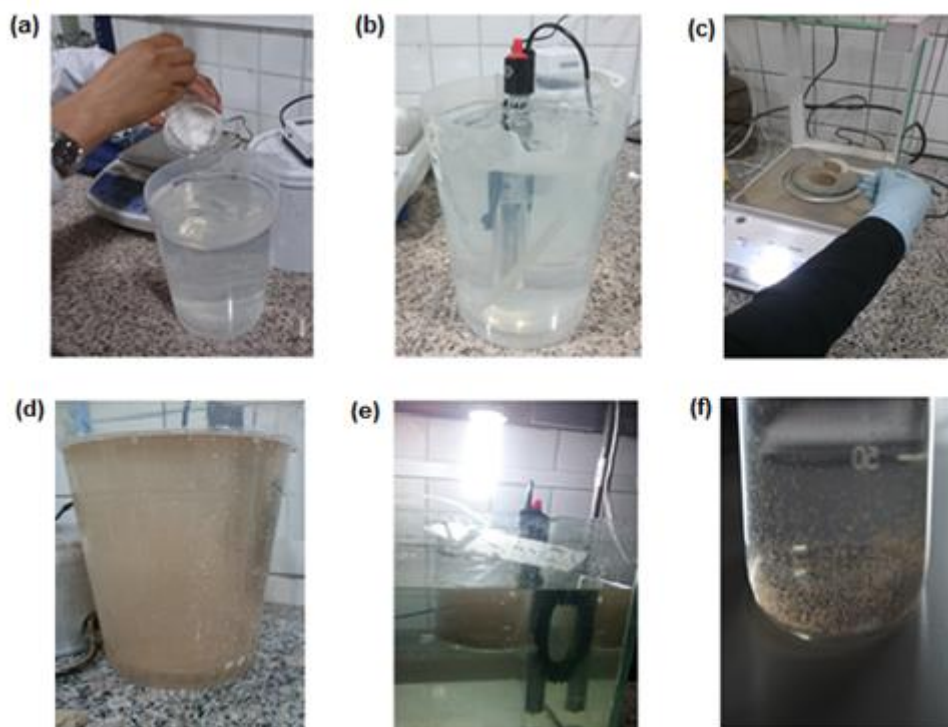


Figura 8. Procedimiento para eclosión de quistes de Artemia (a) Preparación de agua de mar artificial (b) Acondicionamiento de agua de mar artificial (c) Pesado de quistes (d) Incubación para eclosión (e) Incubación desarrollo nauplios estados II y III (f) Nauplios listos para ensayo.

Fuente: Autor



Pruebas de toxicidad con *Artemia salina*

La evaluación de la toxicidad de Ibuprofeno en *Artemia salina* se realizó tomando como referencia el método propuesto por Vanhaecke y Persoone (1981) y Rajabi, et al (2015). La prueba se basa en la determinación de la concentración que mata el 50% de los nauplios de *Artemia* en 24 horas, esta concentración se conoce como LC_{50-24h} (Vanhaecke y Persoone, 1981).

Se prepararon soluciones de prueba con diferentes concentraciones de Ibuprofeno 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mg L⁻¹ en agua de mar artificial (35 g L⁻¹) que contenía 0.5% v/v de metanol, inmediatamente antes de su uso. Para verificar que los efectos observados se atribúan al Ibuprofeno, se utilizaron dos controles negativos agua de mar artificial y solvente 0.5% v/v de metanol en agua de mar artificial. Las concentraciones de las soluciones de ibuprofeno fueron medidas en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 222 nm, antes de realizar el bioensayo.

Los ensayos con cada concentración fueron realizados por triplicado. Las cajas petri de 35 mm de diámetro, se llenaron con 10 ml de las concentraciones respectivas de Ibuprofeno y los dos controles negativos aclimatados a 25 ° C, con una pipeta pasteur se transfirieron 10 nauplios en cada caja, tomando en consideración que el agua de mar en la pipeta excediera los 0.05 ml, las cajas se cerraron e incubaron en oscuridad a una temperatura de 25 ± 1 ° C por 24 horas. Después de 24 horas se contó el número de larvas muertas en cada caja, los nauplios fueron observados utilizando un microscopio corvascopio Kimray. Los nauplios se consideraron muertos al no observar ningún movimiento en 10 segundos. El efecto tóxico para cada solución se expresó como el porcentaje de mortalidad, los porcentajes de muertes se calcularon comparando el número de sobrevivientes en el control negativo y en las soluciones de prueba (Rajabi et al ,2015). La mortalidad se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\text{Individuos vivos pruebas} - \text{Individuos vivos control}}{\text{Individuos vivos control}} \times 100$$



Con los datos de mortalidad se evaluó la Concentración Letal Media (CL₅₀) del Ibuprofeno sobre la *Artemia salina* mediante el método probit utilizando el programa SPSS. Las condiciones del ensayo de toxicidad se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Condiciones para el ensayo de toxicidad con *Artemia salina*

Factor	Condición
Inicio de la fase larvaria	Estadio Nauplio II-III
Tipo de prueba	Estático
Temperatura (° C)	25 ± 1
Intensidad de luz (lux)	0 Oscuridad
Salinidad (g L ⁻¹)	35 ± 1
Agua de dilución	Agua de mar artificial
Volumen de ensayo (ml)	10
Número de concentraciones de exposición	6
Número de nauplios expuestas	10
Número de repeticiones por concentración	3
Número de Controles	2
Tipo de control	Agua de mar artificial y Agua de mar artificial con metanol al 0.5% v/v
Punto final	Mortalidad
Duración de la prueba	24 horas
Criterios de aceptabilidad de la prueba	Mortalidad ≤ 10% en el control negativo

Fuente: Autor

En la figura 9 se resume el procedimiento seguido para realizar el bioensayo con *Artemia salina*.

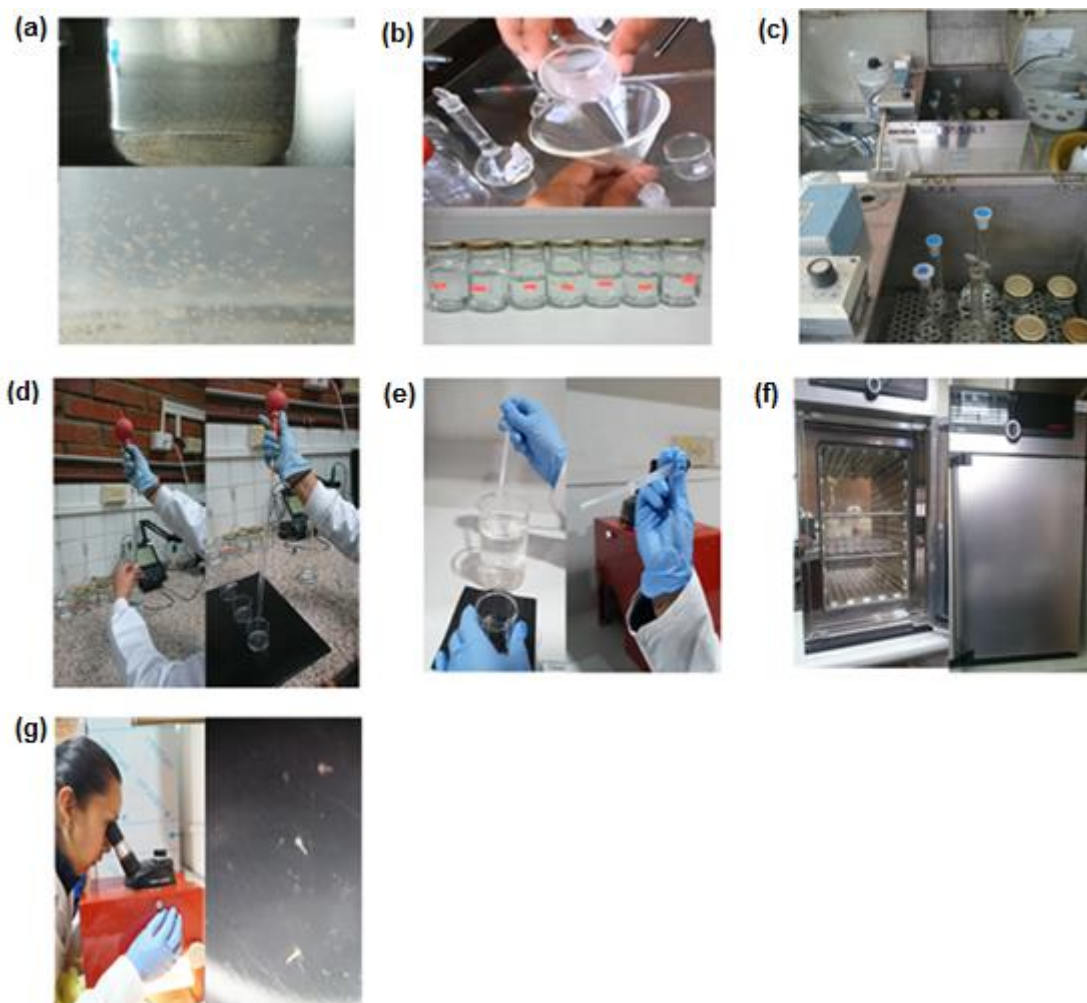


Figura 9. Procedimiento para el ensayo de toxicidad con *Artemia salina*. (a) Nauplios estado II y III. (b) Preparación de soluciones de prueba. (c) Aclimatación de soluciones. (d) Aplicación de soluciones en cajas. (e) Transferencia de Nauplios. (f) Incubación. (g) Observación y conteo.

Fuente: Autor

3.3.1.3 BIOENSAYO DE TOXICIDAD CON SEMILLAS DE ALLIUM SCHOENOPRASUM L. Y LACTUCA SATIVA

Organismos de prueba

En este ensayo se utilizaron las siguientes semillas:

- Semillas de lechuga, *Lactuca sativa*, variedad Cisco, lote 34LA, registro de Agrocalidad: 010155974801.

- Semillas de cebollín, *Allium schoenoprasum* L, variedad Kiyotaky White Long, lote 71LA, registro de Agrocalidad:0101559746001

Las semillas fueron obtenidas de Takki Seeds, a través de un distribuidor local, se adquirieron sobres de 5 g (figura 10).

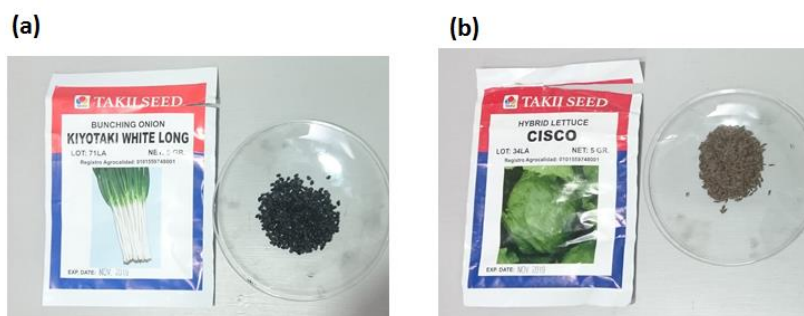


Figura 10. Semillas utilizadas en el bioensayo. (a) Cebollín. (b) Lechuga

Fuente: Autor

Verificación de la viabilidad de las semillas

Antes de realizar los bioensayos se verificó que el lote de cada semilla tenga un porcentaje de germinación mayor o igual al 90%, sincronización en la germinación y baja variabilidad de la elongación de la radícula e hipocótilo en donde el coeficiente de variación debe ser menor al 30% (Sobrero y Ronco, 2004).

Para verificar la viabilidad de las semillas se realizaron ensayos de germinación utilizando agua destilada, se realizaron tres réplicas por cada tipo de semilla. En cada caja Petri de 90 mm de diámetro se colocaron dos discos de papel filtro Sartorius grado 292 equivalente a Whatman 1, los cuales fueron humedecidos con 5 ml de agua destilada evitando la formación de burbujas de aire, se colocaron 20 semillas en cada caja Petri, se cubrieron las cajas, y se colocaron en bolsas plásticas para evitar la luz y la pérdida de humedad, bajo esas condiciones fueron incubadas 120 horas (5 días) a una temperatura de 22 ± 2 °C.

Terminado el período de incubación, se realizó el conteo del número de semillas germinadas, se midió con una regla la longitud de la radícula e hipocótilo, considerando germinadas aquellas con una longitud de radícula mayor a 1 mm se

determinó el promedio de las longitudes, la desviación estándar y se calculó el porcentaje de germinación y el coeficiente de variación.

De acuerdo a Sobrero y Ronco (2004), la medida de elongación de la radícula se considera desde el nudo correspondiente a la región más engrosada entre la radícula y el hipocótilo hasta el ápice radicular. La medida de elongación del hipocótilo se considera desde el nudo hasta el sitio de inserción de los dos cotiledones (figura 11).

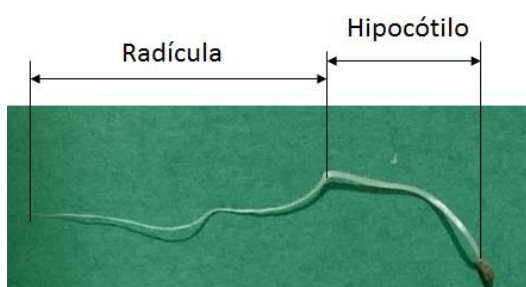


Figura 11. Medida de la elongación de la radícula e hipocótilo.

Fuente: Autor

El porcentaje de germinación se calculó en función del número de semillas germinadas y el número total de semillas colocadas en las cajas.

$$\% \text{ Germinación } (\%G) = \frac{\text{No. Semillas germinadas}}{\text{No. Total de semillas}} \times 100$$

El coeficiente de variación para la radícula en los controles negativos, se obtuvo dividiendo la desviación estándar de las longitudes para el promedio de las longitudes de la radícula e hipocótilo.

$$\text{Coeficiente de variación } (cv) = \frac{\text{Desviación estándar}}{\text{Media}} \times 100$$

Pruebas de toxicidad

La evaluación de la toxicidad de Ibuprofeno en las semillas de *Allium schoenoprasum* L. (Monocotiledónea) y *Lactuca sativa* (Dicotiledónea) se realizó en base a los métodos propuestos por Schmidt y Redshaw (2015) y Sobrero y Ronco (2004) y está basada en evaluar mediante el efecto de inhibición en la germinación y



crecimiento de la radícula y el hipocótilo en las semillas luego de 120 horas de exposición a oscuridad.

Para cada semilla se realizó el siguiente procedimiento: se prepararon soluciones de prueba con diferentes concentraciones de Ibuprofeno 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mg L⁻¹ en agua destilada que contenía 0.1% v/v de metanol, inmediatamente antes de su uso. Para verificar que los efectos observados se atribuirían al Ibuprofeno, se utilizaron dos controles negativos agua destilada y solvente 0.1% v/v de metanol en agua destilada. Las concentraciones de las soluciones de ibuprofeno fueron medidas en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 221 nm, antes de realizar el bioensayo.

Los ensayos con cada concentración fueron realizados por triplicado. En cada caja Petri de 90 mm de diámetro se colocaron dos discos de papel filtro Sartorius grado 292 equivalente a Whatman 1, los cuales fueron humedecidos con 5 ml de cada concentración evitando la formación de burbujas de aire, se colocaron 20 semillas dejando espacio suficiente entre la mismas para permitir la elongación de las raíces, las cajas fueron cubiertas y colocadas en bolsas plásticas de color negro para evitar la luz y la pérdida de humedad, bajo esas condiciones fueron incubadas 120 horas (5 días) a una temperatura de 22 ± 2 °C.

Culminado el período de exposición se realizó el conteo del número de semillas germinadas y con una regla se midió la longitud de la radícula y el hipocótilo, considerando como criterio aquellas con una longitud de radícula mayor a 1 mm. Se determinó el promedio de la longitud de la radícula e hipocótilo, la desviación estándar y el coeficiente de variación, de los controles negativos y de cada concentración

Los efectos fitotóxicos, se determinaron mediante el porcentaje de germinación y la inhibición o estimulación en la elongación de la radícula e hipocótilo.

Se calculó el porcentaje de germinación de las semillas para cada concentración con respecto al control negativo de acuerdo a Rodríguez et al, (2014) mediante la siguiente expresión:



$$\% \text{ Germinación } (\%G) = \frac{\text{No. Semillas germinadas en cada concentración}}{\text{No. Semillas germinadas en el control}} \times 100$$

El porcentaje de inhibición o estimulación en la elongación de la radícula e hipocótilo, fue calculado de acuerdo a Bagur et al (2011) mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Inhibición elongación } (\%IE) = \frac{\text{Promedio de elongación muestra} - \text{Promedio de elongación control}}{\text{Promedio de elongación control}} \times 100$$

Las condiciones del ensayo de toxicidad se muestran en la tabla 12.

Tabla 13. Condiciones del ensayo de toxicidad con semillas de *Allium schoenoprasum* L. y *Lactuca sativa*.

Factor	Condición
Temperatura (° C)	20 ± 1
Intensidad de luz (lux)	Oscuridad
Agua de dilución	Agua destilada
volumen de la solución de prueba (ml)	5
Número de concentraciones de exposición	6
Número de semillas por réplica	20
Número de réplicas	3
Tipo de control negativo	Agua destilada y metanol 0,1% v/v
Tiempo de duración de la prueba (h)	24
Efecto medido	Porcentaje de germinación, elongación de la radícula e hipocótilo
Tiempo de incubación desarrollo estado II y III (h)	24
Criterio de aceptabilidad de la prueba	Germinación > 90%, coeficiente de variación > 30% en control negativo

Fuente: Autor

En la figura 12 se resume el procedimiento seguido para realizar el bioensayo con *Artemia salina*.

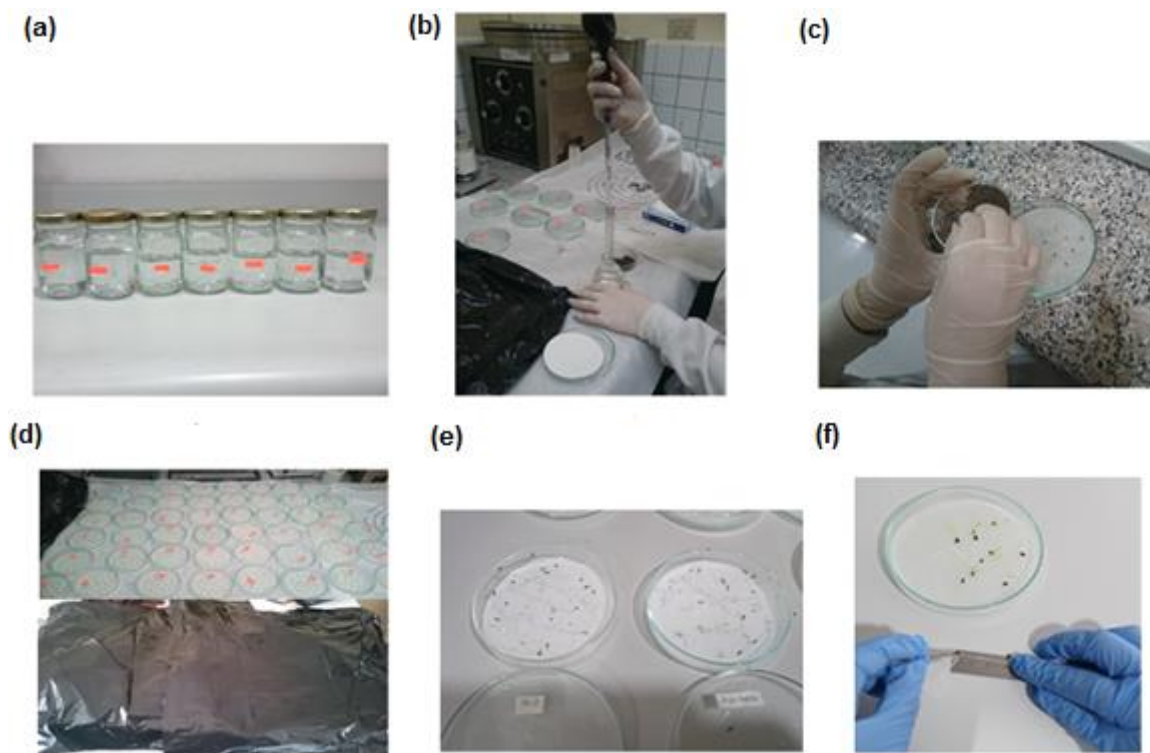


Figura 12. Procedimiento para realizar el bioensayo con semillas de *Allium schoenoprasum* L (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga). (a) Preparación de las soluciones de ibuprofeno. (b) Aplicación de soluciones en cajas petri. (c) Distribución de semillas en cajas petri. (d) Incubación de semillas. (e) Conteo de semillas germinadas. (f) Medida de elongación de radícula e hipocótilo.

Fuente: Autor

3.3.2 REMOCIÓN DE IBUPROFENO CON BIOMASA RESIDUAL DE TALLOS DE ROSA.

El estudio de la remoción del ibuprofeno en soluciones acuosas, se realizó en una columna empacada utilizando como lecho de adsorción biomasa de residuos de tallo de rosa. El biosorbente fue preparado y caracterizado antes de ser utilizado en la columna, posteriormente se determinó el tamaño de partícula, masa y caudal para estabilizar la columna.

3.3.2.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE

Preparación del biosorbente

Los tallos de rosa fueron obtenidos de floristerías locales. La preparación de los tallos fue realizada siguiendo la metodología propuesta por Vera et al (2016). Los tallos fueron seleccionados separando aquellos que se encontraban en mal estado, se retiraron las hojas y con una cuchilla se separó la corteza verde del tallo. Los tallos sin corteza se secaron al sol durante 5 días y luego en estufa a 40 °C por 5 horas para eliminar el resto de humedad. Una vez secos se procedió a la molienda en un molino manual y mediante tamizado se obtuvieron tres tamaños de partícula comprendidos entre 0.5 y 1 mm. En la figura 13 se muestran los pasos seguidos para la preparación del biosorbente.



Figura 13. Preparación de la biomasa residual de tallos de rosa. (a) Selección de tallos. (b) Retiro de hojas y cortezas. (c) Secado. (d) Molido de tallos. (e) Tamizado. (f) Separación en tres tamaños de partícula.

Fuente: Autor.

En la figura 14 se observa la estructura del biosorbente luego del proceso de molienda.



Figura 14. Biosorbente obtenido de la biomasa residual de tallos de rosa luego de la molienda.

Fuente: Autor

Caracterización del biosorbente

La caracterización del biosorbente de tallos de rosa se realizó mediante la determinación de las siguientes propiedades:

- **Densidad Real (ρ_R):** la densidad real se determinó mediante el método del picnómetro, se utilizó un picnómetro calibrado de 50 ml, y como líquido de referencia metanol de grado HPLC de densidad $0,792 \text{ gL}^{-1}$. El valor de la densidad fue obtenido luego de realizar los siguientes pesos:
 - Peso picnómetro vacío (m_p)
 - Peso del picnómetro con el biosorbente (m_{p+b})
 - Peso del picnómetro con el metanol (m_{p+MeOH})
 - Peso del picnómetro con el biosorbente y el metanol ($m_{b+b+MeOH}$)

La densidad del biosorbente fue calculada aplicando la siguiente fórmula:

$$\rho_R = \frac{m}{V} = \frac{m_{p+b} - m_p}{\frac{m_{p+MeOH} + m_{p+b} - m_p - m_{p+b+MeOH}}{d_{MeOH}}}$$

- **Densidad Aparente (ρ_A):** el valor de la densidad aparente fue obtenido mediante el método de la probeta. Se pesó una probeta vacía, luego de adicionó el biosorbente hasta un volumen determinado y se pesó la probeta con el biosorbente. Con esta determinación se obtendrá la relación del peso del



biosorbente con el volumen que ocupa en la columna. La densidad aparente fue calculada aplicando la siguiente fórmula:

$$\rho_A = \frac{P_2 - P_1}{V_P}$$

Donde:

P₁: es el peso de la probeta vacía

P₂: es el peso de la probeta con el biosorbente

V_p: es el volumen de la probeta

- **Porosidad (e):** el valor de la porosidad fue estimado mediante la relación entre la densidad aparente y la densidad real, mediante la siguiente fórmula:

$$e = 1 - \frac{\rho_A}{\rho_R} = \frac{\rho_R - \rho_A}{\rho_R}$$

- **Punto de carga cero** pH_{ZPC}: mediante el método seguido por Vera et al (2016), se determinó el valor del pH en el cual la concentración de grupos funcionales disociados con carga positiva y carga negativa se igualan.

Se colocó 50 ml de agua destilada en Erlenmeyers de 100 ml, el pH de cada solución fue regulado añadiendo cantidades adecuadas de HCl 0.1M o NaOH 0.1M para obtener pH de 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10. A estas soluciones se añadió 0.5 gramos de biosorbente, y fueron sometidas a agitación continua a 150 rpm durante 48 horas. Transcurrido este periodo de tiempo, las muestras fueron filtradas y recolectadas, y se determinó el valor pH de cada solución. El pH fue medido en un pHmetro Seven Compact S220 Mettler Toledo.

Para determinar el punto de carga cero se graficó el pH inicial vs. pH final, se trazó una diagonal y se fijó el punto donde la curva corta la diagonal correspondiente al Punto de Carga Cero.

- **Grupos funcionales:** Se determinaron los grupos funcionales característicos sobre la superficie del biosorbente de tallos de rosa y se identificaron los grupos involucrados en la retención del ibuprofeno. Los grupos funcionales en el biosorbente antes y después de la biosorción fueron analizados por Espectroscopía Infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR) utilizando un

Espectrómetro Nicolet iS 5 FT-IR. La muestra del biosorbente fue pulverizada y una pequeña cantidad fue colocada en el equipo para sus análisis, directamente se obtuvo el espectro del biosorbente.

En la figura 15 se muestran algunos pasos para la determinación de las propiedades del biosorbente.

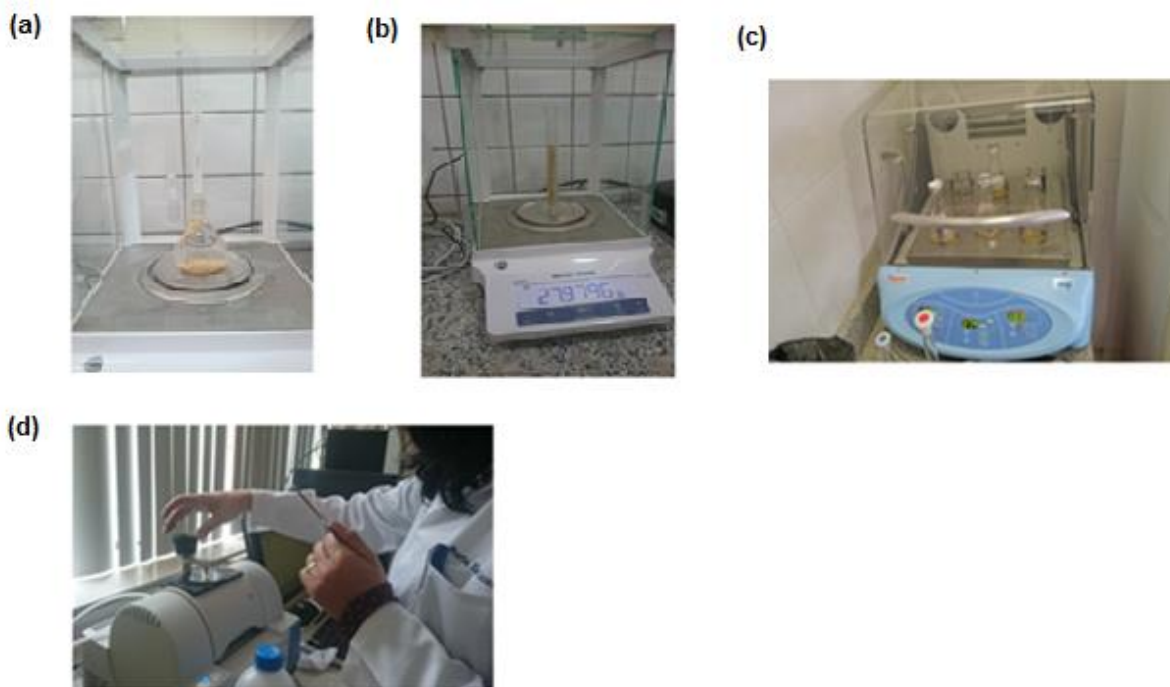


Figura 15. Determinación de las propiedades del biosorbente (a) Densidad real. (b) Densidad aparente. (c) Punto de carga cero. (d) Análisis FTIR

Fuente: Autor.

3.3.2.2 BIOSORCIÓN EN COLUMNA

Montaje de la columna

La biosorción de Ibuprofeno en biosorbente de tallos de rosa se realizó en columna de lecho fijo con flujo descendente. Antes de realizar el experimento, el biosorbente se lavó con agua destilada para eliminar impurezas superficiales y luego se sometió a un secado en estufa a 40°C durante 48 horas.

Se utilizó una columna de vidrio de 1.5 cm de diámetro y 70 cm de longitud, las partes superior e inferior de la columna contenían la cantidad de gravilla necesaria para compactar la cama, evitar la canalización y el levantamiento del lecho.

El biosorbente colocado en la columna se compacto con el objetivo de que no se formaran canalizaciones y obtener un flujo estable a través de la misma. La alimentación de la columna se realizó de manera manual con una piseta agregando la solución de manera continua, manteniendo una altura constante de la solución en la parte superior de la columna, correspondiente al 50% de la altura del lecho. La columna rellena con el biosorbente, se acopló en un soporte de hierro con una pinza de bureta. Los experimentos se llevaron a cabo a temperatura de laboratorio 18°C (figura 16).

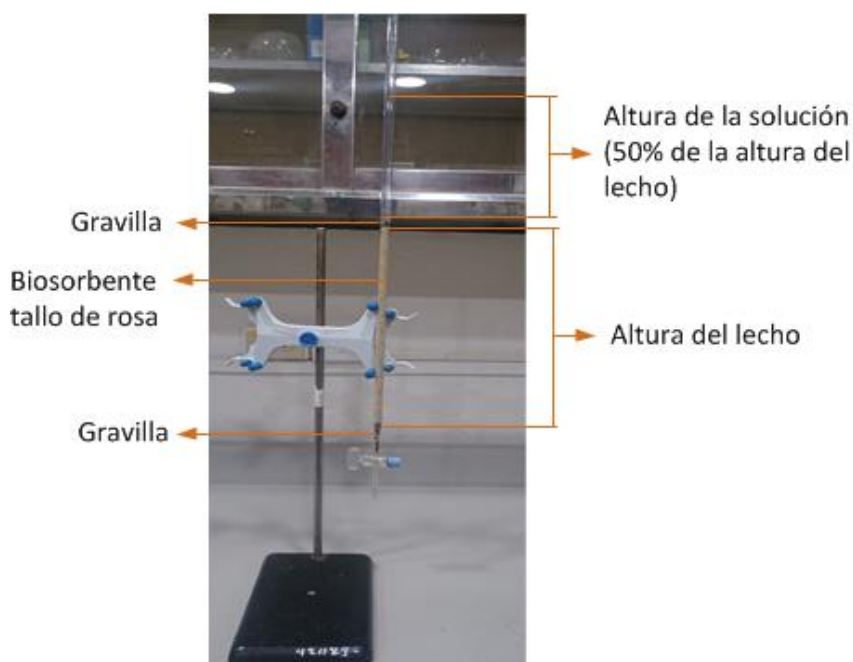


Figura 16. Esquema de la columna empacada construida para la remoción de ibuprofeno.

Fuente: Autor.

Estudio Hidrodinámico para la estabilización del lecho de la columna

Usando diferentes masas de biosorbente, se llevaron a cabo experimentos haciendo circular agua destilada por la columna con tres tamaños de partícula 1.18



mm, 0.85 mm y 0.6 mm. Se determinó tamaño de partícula, masa, altura y caudal óptimos que estabilicen el lecho de la columna y permitan un flujo volumétrico comprendido entre 1.5 y 2.5 ml min⁻¹ (Bermejo, 2016).

Determinación del porcentaje de remoción de Ibuprofeno

Con el tamaño de partícula, masa, altura de biosorbente y caudal óptimos obtenidos para la estabilización del lecho en la columna, se procedió a realizar la biosorción. Se circuló agua destilada a través de la columna rellena hasta que el agua a la salida no presentara ninguna coloración.

Se preparó una solución patrón de 60 mg L⁻¹ de ibuprofeno partir de reactivo de grado analítico, disolviendo 60 mg de ibuprofeno en 5% metanol (grado HPLC) y 95% de agua destilada (Mondal et al, 2016). La solución de ibuprofeno de 60 mg L⁻¹ se alimentó continuamente a la columna con una piseta manteniendo una altura constante de solución en la parte superior. Se recogieron 10 ml de efluente a la salida de la columna, a diferentes intervalos de tiempo hasta que la concentración permaneció constante a lo largo del tiempo (figura 17). Se midió el pH de la solución de ibuprofeno y las concentraciones a la entrada y salida de la columna, las que fueron determinadas en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 221 nm.

El comportamiento de la columna de adsorción desde el punto de vista de la cantidad de ibuprofeno que es posible retener, se determinó mediante la curva de ruptura. Con las concentraciones de las muestra obtenidas a la salida de la columna, se realizó una gráfica C/Co (Concentración final / Concentración inicial) vs el tiempo, con la cual se podría determinar el tiempo de ruptura y el tiempo de saturación o agotamiento.

Los parámetros de funcionamiento de la columna se calcularon a partir de las siguientes fórmulas:

- Volumen del efluente:

$$V_{ef} = Q \cdot t_{total}$$

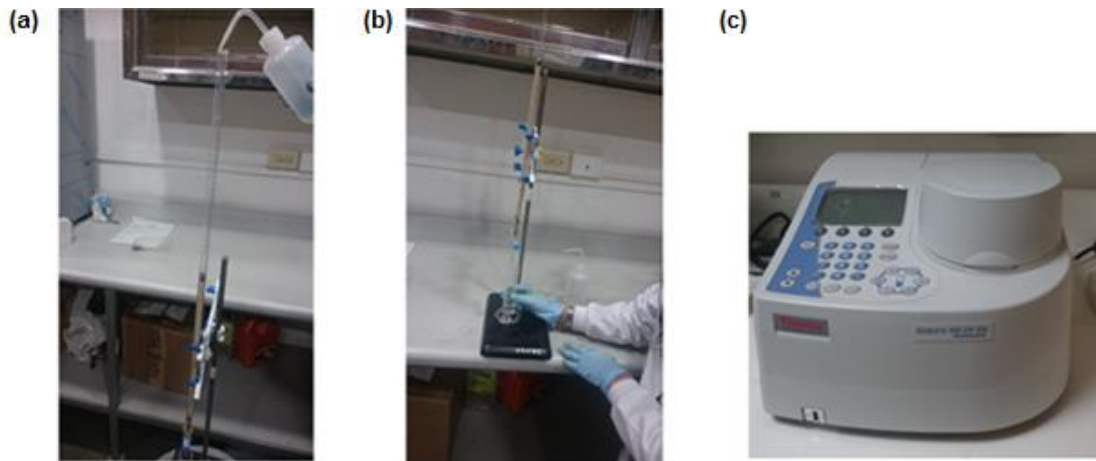


Figura 17. Biosorción en lecho fijo para remoción de ibuprofeno con biosorbente a base de tallo de rosa. (a) Alimentación de solución de ibuprofeno. (b) Recolección de muestras del efluente. (c) Determinación de concentraciones del efluente.

Fuente: Autor.

- Cantidad de ibuprofeno retenido o capacidad máxima de la columna (q_{total}) en (mg)

$$q_{total} = \frac{Q}{1000} \int_{t=0}^{t=t_{total}} C_R dt$$

- Cantidad total de ibuprofeno (m_{total}) que pasa por la columna en mg:

$$m_{total} = \frac{C_o Q t_{total}}{1000}$$

- Con estos datos se aplicó la siguiente ecuación para calcular el porcentaje de ibuprofeno retenido:

$$\% \text{ Retención} = \frac{q_{total}}{m_{total}} \cdot 100$$

Adicionalmente se determinó la capacidad de adsorción, q_o (mg de ibuprofeno/g de biosorbente):

$$q_o = \frac{q_{total}}{m}$$

Según Calero et al, 2012 el tiempo de ruptura se alcanza cuando C/C_o es 0,1 y el tiempo de saturación cuando C/C_o es superior a 0,9, sin embargo el tiempo de



ruptura debe seleccionarse de acuerdo a una norma específica respecto a la descarga y contaminante a tratar.

Ajuste de los datos experimentales a los modelos matemáticos

Para complementar el estudio de biosorción en la columna de lecho fijo utilizando biomasa residual de tallos de rosa, se utilizaron modelos matemáticos que permitieron predecir el rendimiento de una columna, calcular las constantes cinéticas y la capacidad de adsorción.

Los datos experimentales fueron adaptados a tres modelos matemáticos: Thomas Yoon Nelson y Yan o Dosis Repuesta, de acuerdo a Bermejo (2016) se graficó la forma lineal de la ecuación de cada modelo (tabla 14) para obtener los parámetros de operación de la columna y mediante el coeficiente de determinación R^2 se obtuvo el modelo que mejor ajusta los datos experimentales.

Tabla 14. Modelos matemáticos aplicados al proceso de biosorción de ibuprofeno en tallo de rosa

Modelos	Forma lineal de la ecuación	Simbología
Thomas	$\ln\left(\frac{C_o}{C} - 1\right) = \frac{K_{Th} * q_o * m_b}{Q} - \frac{K_{Th} * C_o}{Q} * V_{ef}$	<p>C_o: Concentración Inicial C: concentración final K_{th}: constante de velocidad del modelo de Thomas (ml/min mg) q_{th}: capacidad de adsorción en el modelo de Thomas (mg/g) m: masa del biosorbente (g) Q: caudal de alimentación (ml/min) T: tiempo de muestreo.</p>
Yoon y Nelson	$\ln\left(\frac{C_o}{C} - 1\right) = K_{YN} * \tau - K_{YN} * t$	<p>K_{YN}: constante de velocidad de Yoon-Nelson (min^{-1}) T: tiempo necesario para retener el 50% del adsorbato (min)</p>
Yan o Dosis Respuesta	$\ln\left(\frac{C}{C_o - C}\right) = \alpha * \ln\left(\frac{Q}{\beta}\right) + \alpha * \ln(t)$	<p>q_Y: cantidad de soluto adsorbido (mg/ g) α_Y: constante del modelo de Yan.</p>

Fuente: Autor



3.3.3 ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en las diferentes pruebas fueron procesados y analizados utilizando el programa Excel, SPSS IBM versión 20. Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis para determinar las diferencias significativas de la radícula e hipocótilo entre los controles y las diferentes concentraciones de ibuprofeno.

El software Essential FTIR ® Spectroscopy Toolbox fue utilizado para la identificación de los grupos funcionales del biosorbente de tallos de rosa.



CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 TOXICIDAD DEL IBUPROFENO EN SOLUCIONES ACUOSAS

4.1.1 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO

A continuación se presentan los resultados obtenidos para determinar la concentración de metanol que no produjo un efecto tóxico sobre la *Artemia salina* y las semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga). Se realizaron cinco experimentos, cada uno de ellos realizado por triplicado.

4.1.1.1 CONCENTRACIÓN DE METANOL PARA ARTEMIA SALINA

Se determinó la concentración de metanol que no ocasionó la muerte de más del 10% de la *Artemia salina* expuesta a diferentes concentraciones de metanol, con respecto al control negativo. El porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* obtenido para cada concentración de metanol se observa en la tabla 15. Las concentraciones de metanol que no ocasionaron la muerte de más del 10% de los nauplios de *Artemia salina* fueron 0.1 % y 0.5 % v/v de metanol con 0% de mortalidad, para las concentraciones de 1% y 5% v/v Metanol, se obtuvo un elevado porcentaje de mortalidad correspondiente al 90 y 96% respectivamente. El porcentaje de mortalidad incrementó a mayor concentración de metanol.

Tabla 15. Porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* a diferentes concentraciones de metanol.

Concentraciones	No. Nauplios por réplica	No. Nuaplios Sobrevivientes			% Mortalidad			Promedio % Mortalidad
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Contol Agua de mar artificial 35gL ⁻¹	10	10	10	10	0	0	0	0,00
0.1 % v/v Metanol	10	10	10	9	0	0	10	3,33
0.5 % v/v Metanol	10	10	9	10	0	10	0	3,33
1 % v/v Metanol	10	2	0	1	80	100	90	90,00
5 % v/v Metanol	10	0	0	2	100	100	90	96,67

R1: Réplica 1, R2: Réplica 2, R3: Réplica 3.

Fuente: Autor



4.1.1.2 CONCENTRACIÓN DE METANOL PARA SEMILLAS DE ALLIUM SCHOENOPRASUM L. (CEBOLLÍN) Y LACTUCA SATIVA (LECHUGA).

Inicialmente este trabajo de investigación proponía evaluar el efecto tóxico usando semillas de alpiste como especie monocotiledónea, sin embargo en las pruebas de germinación realizadas en diferentes lotes de alpiste, se obtuvo un porcentaje de germinación inferior al 90% comprendido entre el 42 y 65% (tabla 16) en el control negativo utilizando agua destilada, por lo que se decidió realizar la evaluación toxicológica con semillas de cebollín *Allium schoenoprasum L.*, también una especie monocotiledónea.

Tabla 16. Porcentaje de germinación de Alpiste para tres lotes de semillas

Lote	No. Semillas por Réplica	No. Semillas Germinadas			%Germinación
		R1	R2	R3	
1	20	8	12	11	52
2	20	16	10	13	65
3	20	14	7	4	42

R1: Réplica 1, R2: Réplica 2, R3: Réplica 3.

Fuente: Autor

Se determinó la concentración de metanol que no disminuya el porcentaje de germinación por debajo del 90%, e incremente o disminuya significativamente la elongación de la radícula e hipocótilo de las semillas de *Allium schoenoprasum L* (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga) con respecto al control negativo.

En la tabla tabla 17 se muestra el porcentaje de germinación obtenido para las semillas de cebollín y lechuga expuestas a diferentes concentraciones de metanol. Se obtuvo un porcentaje de geminación superior al 90% para las concentraciones de 0.1, 0.5 y 1% de v/v de metanol, para la concentración de 5% v/v de metanol un 83% de germinación para las semillas de cebollín y 88% para la semillas de lechuga.



Tabla 17. Porcentaje de germinación semillas de *Allium schoenoprasum L.* y *Lactuca sativa* a diferentes concentraciones de metanol.

Tipo de semilla	No. Semillas por réplica	Allium schoenoprasum L (Cebollín)				%Germinación	Lactuca Sativa (Lechuga)			
		No. Semillas Germinadas			%Germinación		No. Semillas Germinadas			%Germinación
		R1	R2	R3			R1	R2	R3	
Control Agua destilada	20	20	20	20	100,00	20	20	20	100,00	
0.1 % v/v Metanol	20	20	20	20	100,00	20	20	20	100,00	
0.5 % v/v Metanol	20	20	20	20	100,00	20	20	20	100,00	
1 % v/v Metanol	20	18	20	19	95,00	20	20	19	98,33	
5 % v/v Metanol	20	17	15	18	83,33	18	18	17	88,33	

R1: Réplica 1, R2: Réplica 2, R3: Réplica 3.

Fuente: Autor

Los promedios de la elongación de la radícula e hipocótilo de las semillas de *Allium schoenoprasum L.* y *Lactuca sativa* a diferentes concentraciones de metanol, se muestran en la tabla 18 y 19. Los porcentajes de metanol a los cuales no existe diferencia significativa ($p > 0,05$) para las longitudes de radícula e hipocótilo de las semillas de cebollín y lechuga fueron 0.1, 0.5 y 1% v/v de metanol, a la concentración de 5% v/v de metanol existe una diferencia significativa ($p < 0,05$), el análisis estadístico se puede revisar en el anexo 1. Las longitudes de la radícula e hipocótilo disminuyeron al incrementar la concentración de metanol.

Se observa un efecto de inhibición en las semillas tratadas con las soluciones de metanol. Con respecto al porcentaje de inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo se produjo un menor efecto de inhibición a las concentraciones de 0.1, 0.5 y 1% v/v comprendido entre el 0,1 % y 8% para los dos tipos de semillas. A la concentración de 5% v/v de metanol se observan valores altos de inhibición en la elongación en intervalos del 53 al 77%. El porcentaje de inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo incrementó a mayor concentración de metanol.



Tabla 18. Inhibición de la elongación de radícula e hipocótilo de semillas de *Allium schoenoprasum L.* a diferentes concentraciones de metanol.

Tipo de semilla	<i>Allium schoenoprasum L (Cebollín)</i>			
	Promedio elongación (mm)		% Inhibición	
	Radícula	Hipocótilo	Radícula	Hipocótilo
Control Agua destilada	16,85	27,40	-	-
0.1 % v/v Metanol	16,72	27,36	0,77	0,18
0.5 % v/v Metanol	16,03	26,98	4,87	1,57
1 % v/v Metanol	15,47	26,00	8,19	5,14
5 % v/v Metanol	3,77	9,53	77,63	65,23

Fuente: Autor

Tabla 19. Inhibición de la elongación de radícula e hipocótilo de semillas de *Lactuca sativa* a diferentes concentraciones de metanol.

Tipo de semilla	<i>Lactuca Sativa (Lechuga)</i>			
	Promedio elongación(mm)		% Inhibición	
	Radícula	Hipocótilo	Radícula	Hipocótilo
Control Agua destilada	24,40	26,67	-	-
0.1 % v/v Metanol	24,23	25,57	0,70	4,12
0.5 % v/v Metanol	23,82	25,12	2,38	5,81
1 % v/v Metanol	23,15	25,13	5,12	5,77
5 % v/v Metanol	8,23	11,90	66,27	55,38

Fuente: Autor

Las concentraciones de metanol que no causaron un efecto tóxico sobre la *Artemia salina* fueron 0,1 y 0,5% de metanol. Para las semillas *Allium schoenoprasum L* y *Lactuca sativa* fueron 0.1, 0.5 y 1% v/v de metanol.

4.1.1.3 SOLUBILIDAD DEL IBUPROFENO EN METANOL

En este estudio se trabajó con las concentraciones más bajas de metanol, por esta razón la solubilidad del ibuprofeno fue comprobada para las concentraciones de 0.1 y 0.5% v/v de metanol. En la tabla 20 se muestran los resultados de las pruebas de solubilidad a concentraciones de 100, 50 y 20 mg L⁻¹ de ibuprofeno.

**Tabla 20.** Solubilidad de Ibuprofeno a 0.1 y 0.5% v/v de metanol

Posibles controles negativos	% Metanol en Agua de mar artificial		% Metanol en Agua destilada	
	0.1	0.5	0.1	0.5
Concentración Ibuprofeno (mg L ⁻¹)	Soluble SI /NO			
100	NO	NO	NO	NO
50	NO	NO	NO	NO
20	NO	SI	SI	SI

Fuente: Autor

Se determinó que el ibuprofeno a concentraciones de 50 y 100 mg L⁻¹, no era soluble en metanol al 0,1 y 0.5% v/v de metanol en agua de mar artificial y de metanol en agua destilada. A una concentración de ibuprofeno de 20 mg L⁻¹ fue soluble en metanol al 0.5% v/v de metanol en agua de mar artificial y 0.1 y 0,5 % de metanol en agua destilada.

A partir de estos resultados y tomando en consideración el uso de la menor concentración de metanol, se trabajó con soluciones acuosas de ibuprofeno a partir de los 20 mg L⁻¹ y con concentraciones de 0.5% de metanol para el bioensayo con *Artemia salina* y 0.1% de metanol para las semillas.

4.1.1.4 CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO

Las longitudes de onda obtenidas al realizar el barrido espectral de una solución de ibuprofeno de 20 mg L⁻¹ preparada en agua de mar artificial con metanol al 0.5% y en agua destilada con metanol al 0.1% fueron 222 nm y 221 nm respectivamente. Las concentraciones medidas de las soluciones de ibuprofeno para ser utilizadas en los bioensayos y el error se muestran en la tabla 21. Se comprobó que las concentraciones de las soluciones preparadas fueron muy similares a las concentraciones nominales.



Tabla 21. Concentraciones de las soluciones de ibuprofeno determinadas por UV-Vis.

Organismo de prueba	Artemia salina		Semillas de cebollín y lechuga	
	Concentración nominal (mgL ⁻¹)	Concentración medida (mgL ⁻¹)	Error	Concentración nominal (mgL ⁻¹)
0,5	0,489	0,5 ± 0.01	0,465	0,5 ± 0.04
1	1,126	1 ± 0.1	1,15	1 ± 0.2
2	2,104	2 ± 0.1	1,91	2 ± 0.1
5	5,91	5 ± 0.9	4,66	5 ± 0.3
10	10,56	10 ± 0.6	10,24	10 ± 0.2
20	20,05	20 ± 0.05	19,6	20 ± 0.4

Fuente: Autor

4.1.2 MORTALIDAD DE LA ARTEMIA SALINA EXPUESTA A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IBUPROFENO

Se realizaron ocho experimentos cada uno de ellos por triplicado. En la tabla 22 se observan los resultados de mortalidad obtenidos al exponer a la *Artemia salina* a diferentes concentraciones de ibuprofeno. La mortalidad en los controles negativos con agua de mar artificial y solvente 0.5% v/v de metanol en agua de mar artificial fue del 0%, razón por la cual se tomó como control negativo al solvente 0.5% v/v de metanol en agua de mar artificial. El porcentaje de mortalidad en los controles negativos no excedió el 10%. El porcentaje de mortalidad más elevado corresponde a la concentración de 20 mg L⁻¹ de ibuprofeno con el 63,3% de mortalidad de nauplios de artemia. En la figura 18 se pueden observar los porcentajes de mortalidad de *Artemia salina* expuestas a diferentes concentraciones de ibuprofeno.

La concentración de ibuprofeno que produce mortalidad sobre el 50% de los nauplios de *artemia salina* en estado II-III en un periodo de exposición de 24 horas CL_{50-24h} fue 17,386 mg L⁻¹. El valor de la CL₅₀ y los límites de confianza para al 95 % se muestran en tabla 23. Los datos del análisis estadístico se pueden revisar en el anexo 2.

Tabla 22. Resultados del porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* expuesta a diferentes concentraciones de ibuprofeno.

Concentraciones	Concentraciones medidas	No. Nauplios por réplica	No. Nauplios Vivos			% Mortalidad			Promedio del % Mortalidad
			R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Control Solución salina		10	10	10	10	0	0	0	0,0
Control 0.5 %Metanol		10	10	10	10	0	0	0	0,0
0,5 mg L ⁻¹	0,489 mg L ⁻¹	10	10	9	10	0	10	0	3,3
1 mg L ⁻¹	1,126 mg L ⁻¹	10	8	10	10	20	0	0	6,7
2 mg L ⁻¹	2,104 mg L ⁻¹	10	10	9	10	0	10	0	3,3
5 mg L ⁻¹	5,910 mg L ⁻¹	10	9	9	9	10	10	10	10,0
10 mg L ⁻¹	10,56 mg L ⁻¹	10	8	8	9	20	20	10	16,7
20 mg L ⁻¹	20,05 mg L ⁻¹	10	4	4	3	60	60	70	63,3

Fuente: Autor

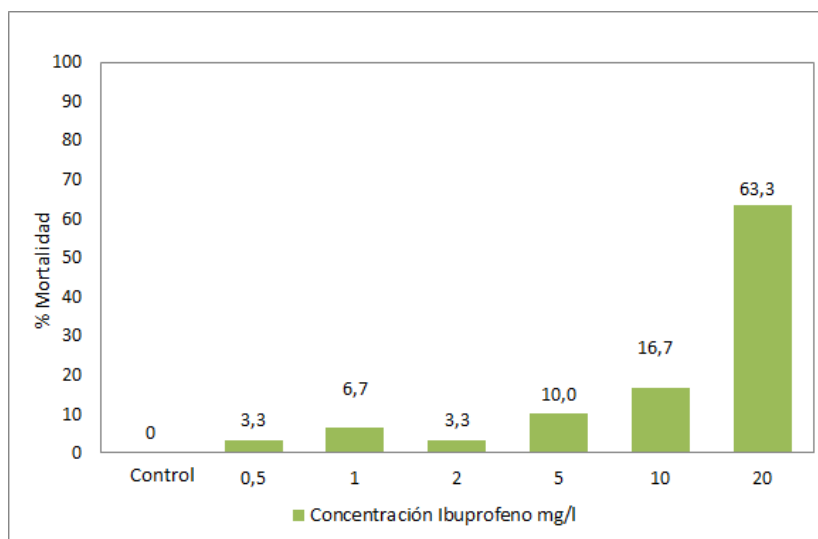


Figura 18. Porcentaje de Mortalidad de *Artemia salina* a diferentes concentraciones de ibuprofeno

Fuente: Autor.

Tabla 23. Resultados de la CL₅₀ mgL⁻¹ y límites de confianza de la concentración de ibuprofeno para *Artemia salina*.

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior
0,5	17,386	12,855	27,485

Fuente: Autor

Los datos de mortalidad y concentración presentaron un buen ajuste del modelo probit ya que el contraste de la bondad de ajuste de Pearson (1,462) para $P > 0,05$ con un nivel de confianza del 95%.

Las curvas Concentración- Mortalidad y la curva basada en el modelo Probit se muestran en la figura 19.

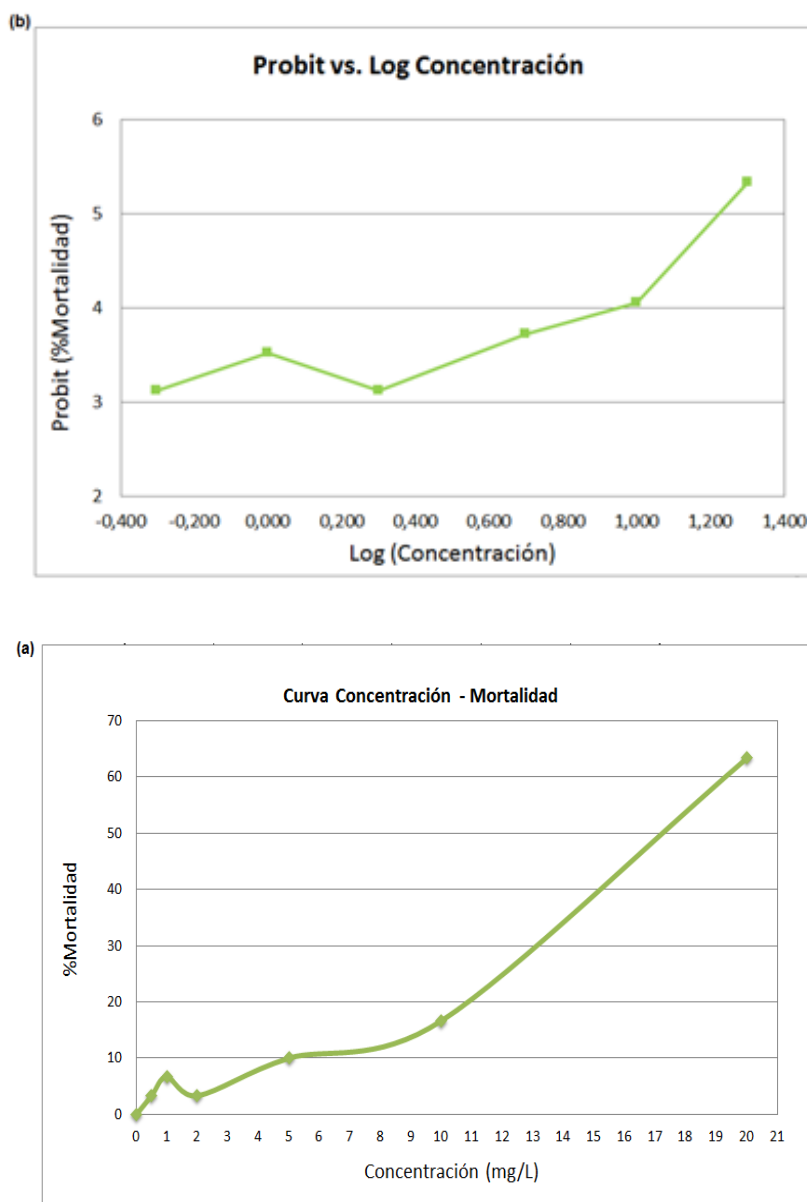


Figura 19. (a) Curva Concentración- Mortalidad y (b) Curva basada en el modelo Probit.

Fuente: Autor.



4.1.3 GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *ALLIUM SCHOENOPRASUM* L Y *LACTUCA SATIVA* TRATADAS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IBUPROFENO.

Cada experimento fue realizado por triplicado.

4.1.3.1 VIABILIDAD DE LAS SEMILLAS

Se verificó que los lotes de semilla tengan un porcentaje de germinación superior al 90% y que el coeficiente de variación de la radícula sea menor al 30%.

Para las semillas de *Allium schoenoprasum* L (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga) el porcentaje de germinación en los controles negativos con agua destilada y metanol 0,1% fue mayor al 90%. El coeficiente de variación para la radícula fue menor al 30% como se observa en la tabla 24.

Tabla 24. Porcentaje de Germinación y Coeficiente de variación para la radícula de los controles negativos para las semillas de *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa*.

Semilla	Control Negativo	%Germinación	Promedio Elongación radícula	Desviación estándar	Coeficiente de variación (CV%)
Cebollín	Agua destilada	100%	16,00	4,68	27,95
	Metanol 0.1%	100%	16,25	7,45	27,72
Lechuga	Agua destilada	96,70%	24,47	6,63	27,10
	Metanol 0.1%	96,70%	24,18	5,88	24,32

Fuente: Autor.

4.1.3.2 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN

En la tabla 25 y 26, se observan los resultados obtenidos con respecto al número de semillas germinadas, el porcentaje de germinación y el porcentaje de inhibición de las semillas de *Allium schoenoprasum* L (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga), para los controles negativos y las soluciones de 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mgL⁻¹



de ibuprofeno. Adicionalmente se calculó el porcentaje de inhibición en la germinación, el signo negativo en los resultados indica inhibición.

El porcentaje de germinación en los controles con agua destilada y solvente 0.1% v/v de metanol, no presenta ninguna diferencia siendo de 96,7% para el cebollín y 100% para la lechuga. El porcentaje de germinación en los controles negativos fue mayor al 90%.

Para las semillas cebollín a concentraciones de 1, 2 y 5 mg L⁻¹ se obtuvo un porcentaje de germinación de 84%, 89 y 86%, con una inhibición del 15,5; 10,3 y 13,8 % respectivamente, para el resto de concentraciones el porcentaje de germinación fue mayor al 90% y una inhibición menor al 2% a 0,5, 10 y 20 mg L⁻¹.

Para las semillas de lechuga el porcentaje de germinación fue mayor al 90% de ibuprofeno y la inhibición fue menor al 5% a todas las concentraciones de ibuprofeno.

Tabla 25. Porcentajes de germinación de semillas de *Allium schoenoprasum* L a diferentes concentraciones de ibuprofeno

Concentración	Concentración medida	No. Semillas por réplica	No. Semillas Germinadas			Porcentaje Germinación %	Porcentaje Inhibición %
			R1	R2	R3		
Control (AD)	-	20	20	19	19	96,7	-
Control (MeOH 0,1%)	-	20	20	19	19	96,7	-
0,5	0,465 mg L ⁻¹	20	19	20	17	96,6	-3,4
1	1,15 mg L ⁻¹	20	17	18	14	84,5	-15,5
2	1,91 mg L ⁻¹	20	17	18	17	89,7	-10,3
5	4,66mg L ⁻¹	20	17	18	15	86,2	-13,8
10	10,24 mg L ⁻¹	20	20	18	19	98,3	-1,7
20	19,6 mg L ⁻¹	20	19	18	19	96,6	-3,4

R1: Réplica 1, R2: Réplica 2, R3: Réplica 3. AD: Agua Destilada. MeOH: Metanol

Fuente: Autor

Tabla 26. Porcentajes de germinación de semilla *Lactuca sativa* a diferentes concentraciones de ibuprofeno.

Concentración	Concentración medida	No. Semillas por réplica	No. Semillas Germinadas			Porcentaje Germinación %	Porcentaje Inhibición %
			R1	R2	R3		
Control (AD)	-	20	20	20	20	100,0	-
Control (MeOH 0,1%)	-	20	20	20	20	100,0	-
0,5	0,465 mg L ⁻¹	20	19	18	20	95,0	-5,0
1	1,15 mg L ⁻¹	20	20	20	20	100,0	0,0
2	1,91 mg L ⁻¹	20	20	20	18	96,7	-3,3
5	4,66mg L ⁻¹	20	20	20	19	98,3	-1,7
10	10,24 mg L ⁻¹	20	19	20	20	98,3	-1,7
20	19,6 mg L ⁻¹	20	20	20	20	100,0	0,0

R1: Réplica 1, R2: Réplica 2, R3: Réplica 3. AD: Agua Destilada. MeOH: Metanol

Fuente: Autor

En la figura 20, se observan los porcentajes de germinación de las semillas de cebollín y lechuga para los controles negativos y las diferentes concentraciones de ibuprofeno, la línea roja indica el 90% de germinación

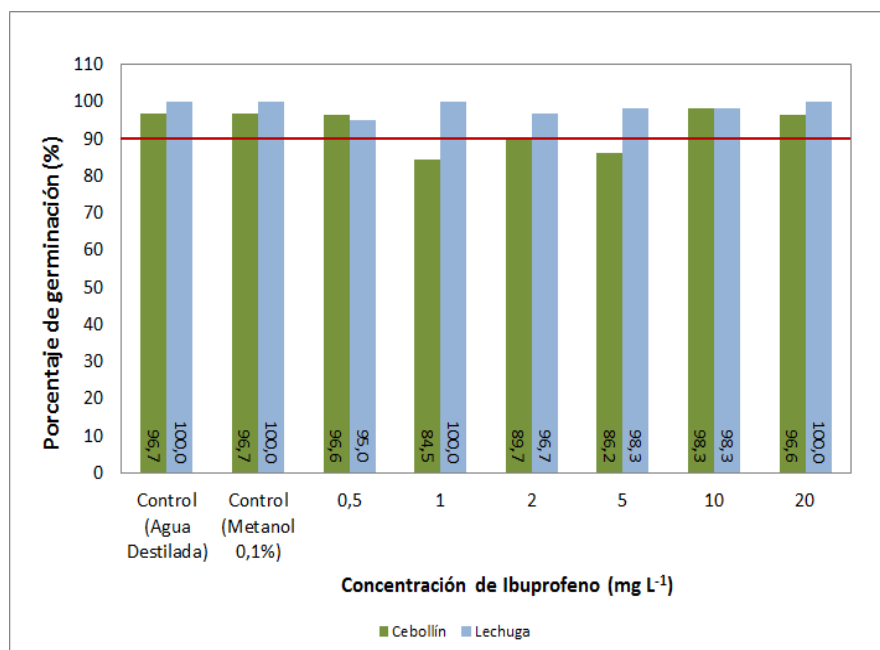


Figura 20. Porcentaje de germinación de las semillas de cebollín y lechuga.

Fuente: Autor



4.1.3.3 ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA

La tabla 27 se muestran los resultados de las medidas de la elongación de la radícula de las semillas de *Allium schoenoprasum* L (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga), expresados como la media \pm SD (desviación estándar) de ocho experimentos, cada uno de ellos realizado por triplicado, adicionalmente se calcularon los porcentajes de inhibición / estimulación en la elongación de la radícula de las semillas tratadas con soluciones de 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mg L⁻¹ de ibuprofeno. El signo negativo en los porcentajes indica inhibición y el signo positivo indica estimulación de la elongación en la radícula.

Tabla 27. Resultados de la elongación de la radícula de las semillas de *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa* expuestas diferentes concentraciones de ibuprofeno.

Tipo de Semilla	<i>Allium schoenoprasum</i> L (Cebollín)	<i>Lactuca Sativa</i> (Lechuga)	<i>Allium schoenoprasum</i> L (Cebollín)	<i>Lactuca Sativa</i> (Lechuga)
Concentración (mg L ⁻¹)	Promedio de Elongación (mm)		% Inhibición/ Estimulación Elongación	
Control Agua Destilada	16,00 \pm 5,35	24,47 \pm 6,63		
Control Metanol 0,1%	16,25 \pm 5,32	24,18 \pm 5,88	0,0	0,0
0,5	15,95 \pm 6,38	25,95 \pm 8,21	-1,8	7,3
1	13,68 \pm 7,89	43,22 \pm 9,58	-15,8	78,7
2	14,78 \pm 7,44	41,93 \pm 10,87	-9,0	73,4
5	15,75 \pm 7,99	43,35 \pm 13,29	-3,1	79,3
10	14,47 \pm 5,77	43,70 \pm 13,50	-11,0	80,7
20	13,82 \pm 5,41	48,23 \pm 8,04	-15,0	99,4

Fuente: Autor

En los controles negativos de agua destilada y metanol 0,1%, no existió diferencia significativa en la elongación de la radícula siendo 16 \pm 0,15 mm para el cebollín y 24 \pm 0,29 mm para la lechuga (P>0,05) (figura 21), esto fue comprobado estadísticamente aplicando el análisis test de Mann-Whitney. El análisis estadístico para los controles negativos se muestra en el anexo 4.

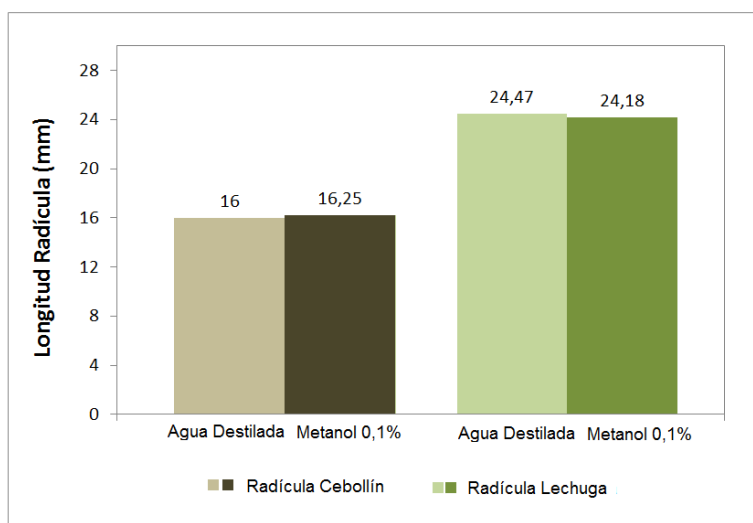


Figura 21. Elongación de la radícula de cebollín y Lechuga en los controles negativos.

Fuente: Autor

En las semillas de cebollín se presentó una disminución en la elongación de la radícula en comparación con el control negativo siendo significativamente menor para las concentraciones de 1 y 20 mg L⁻¹ ($p < 0,05$), de acuerdo al análisis estadístico Kruskal-Wallis (anexo 5). El porcentaje de inhibición más alto de la radícula se presentó a las concentraciones de 1 y 20 mgL⁻¹ correspondiente al 15,8% y 15% respectivamente, el porcentaje más bajo de inhibición se observó a las concentraciones de 0,5 mgL⁻¹ y 5 mgL⁻¹ equivalente al 1,8% y 3,1 respectivamente.

En las semillas de lechuga se presentó una estimulación en la elongación de la radícula para todas las concentraciones de ibuprofeno con respecto al control negativo, siendo significativamente mayor para las concentraciones de 1 a 20 mgL⁻¹ ($P < 0,05$) de acuerdo al análisis estadístico Kruskal-Wallis (anexo 5). El efecto de estimulación fue mayor al 50% en las concentraciones de 1 a 20 mgL⁻¹ en porcentajes comprendidos entre el 78,7 al 99,4%, el menor efecto de estimulación se presentó a la concentración de 0,5 mgL⁻¹, equivalente al 7,3%.

En la figura 22 se presenta la comparación de la elongación de la radícula del cebollín frente al control negativo.

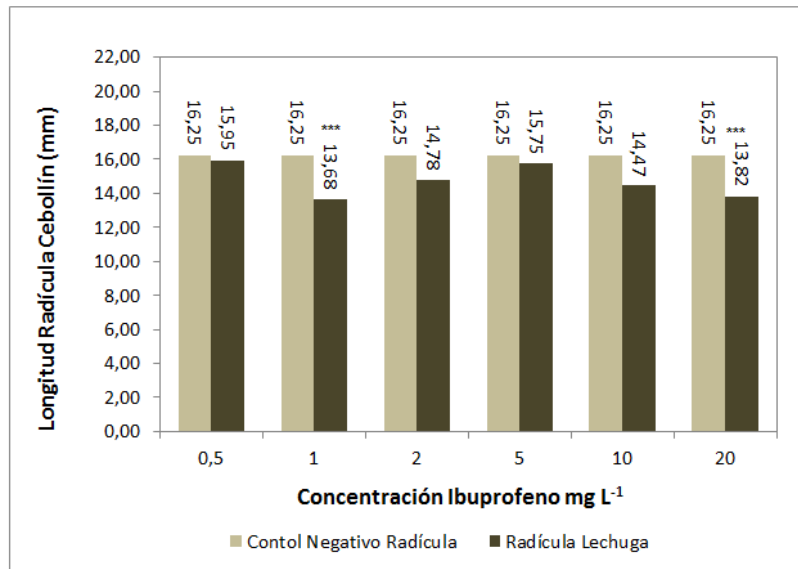


Figura 22. Resultado de la elongación de la radícula de cebollín expuesta a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo (** $P < 0,05$).

Fuente: Autor

En la figura 23 se muestra una comparación de la elongación de la radícula de la lechuga frente al control negativo.

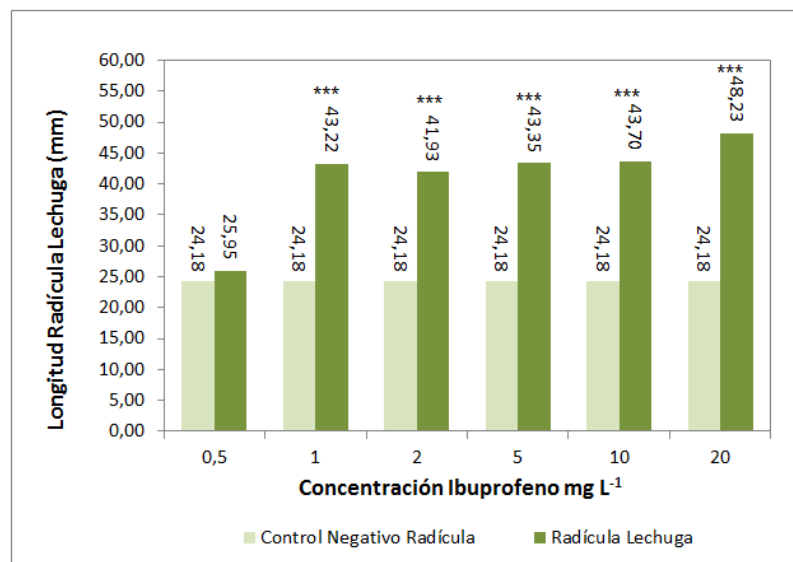


Figura 23. Resultado de la elongación de la radícula de lechuga expuesta a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo (** $P < 0,05$).

Fuente: Autor

En la figura 24 se muestran los porcentajes de inhibición y estímulo en la elongación de la radícula para las semillas de cebollín y lechuga. Un efecto de estímulo se muestra barras por encima de la línea, mientras que el efecto de inhibición se presenta en barras debajo de la línea.

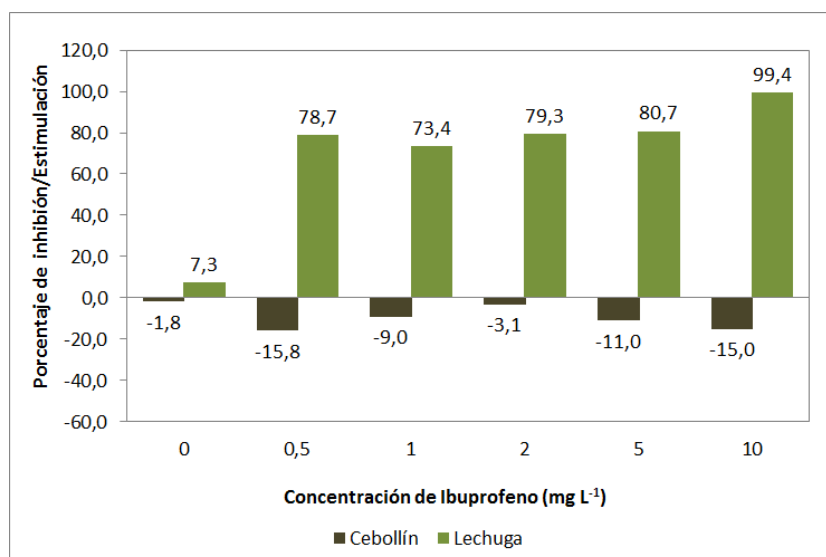


Figura 24. Porcentaje de inhibición y estímulo en la elongación de la radícula de las semillas de cebollín y lechuga tratadas con diferentes concentraciones de soluciones de ibuprofeno.

Fuente: Autor

4.1.3.4 ELONGACIÓN DEL HIPOCÓTILO

La tabla 28 se muestran los resultados de las medidas de la elongación del hipocótilo de las semillas de *Allium schoenoprasum* L (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga), expresados como la media \pm SD (desviación estándar) de ocho experimentos, cada uno de ellos realizado por triplicado, adicionalmente se calcularon los porcentajes de inhibición / estimulación en la elongación del hipocótilo de las semillas tratadas con soluciones de 20, 10, 5, 2, 1 y 0.5 mg L⁻¹ de ibuprofeno. El signo negativo en los porcentajes indica inhibición y el signo positivo indica estimulación de la elongación en la radícula.

Tabla 28. Resultados de la elongación del hipocótilo de las semillas de *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa* expuestas diferentes concentraciones de ibuprofeno.

Tipo de Semilla	<i>Allium schoenoprasum</i> L (Cebollín)	<i>Lactuca Sativa</i> (Lechuga)	<i>Allium schoenoprasum</i> L (Cebollín)	<i>Lactuca Sativa</i> (Lechuga)
Concentración (mg L ⁻¹)	Promedio de Elongación (mm)		% Inhibición/ Estimulación Elongación	
Control Agua Destilada	25,67 ± 8,82	25,47 ± 5,29		
Control Metanol 0,1%	25,38 ± 8,35	25,87 ± 4,45	0,0	0,0
0,5	24,03 ± 9,70	27,45 ± 6,22	-5,32	6,12
1	21,85 ± 12,55	28,07 ± 6,14	-13,9	8,51
2	24,00 ± 12,10	27,70 ± 6,14	-5,45	7,09
5	25,17 ± 12,33	28,15 ± 7,85	-0,84	8,83
10	24,47 ± 8,92	29,03 ± 8,54	-3,61	12,21
20	22,32 ± 8,84	29,65 ± 4,80	-12,08	14,63

Fuente: Autor

En los controles negativos de agua destilada y metanol 0,1%, no existió diferencia significativa en la elongación del hipocótilo siendo 25,67±0,29 mm para el cebollín y 25,47±0,40 mm para la lechuga (P>0,05) (figura 25), esto fue comprobado estadísticamente aplicando el análisis test de Mann-Whitney. El análisis estadístico para los controles negativos se muestra en el anexo 4.

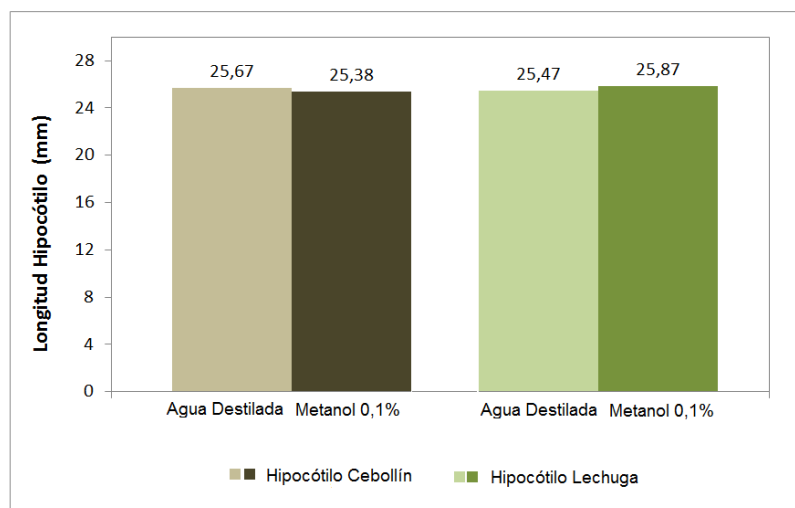


Figura 25. Elongación del hipocótilo de Cebollín y Lechuga en los controles negativos.

Fuente: Autor

En las semillas de cebollín se presentó una disminución en la elongación del hipocótilo en comparación con el control negativo siendo significativamente menor para las concentraciones de 1 y 20 mg L⁻¹ ($p < 0,05$) de acuerdo al análisis estadístico Kruskal-Wallis (anexo 5). El efecto de inhibición fue menor al 50% en todas las concentraciones. El porcentaje de inhibición más alto del hipocótilo se presentó a la concentraciones de 1 y 20 mgL⁻¹ correspondiente al 13,9% y 12,08 respectivamente y el porcentaje más bajo de inhibición se observó a la concentración de 5 mgL⁻¹ equivalente al 0,84%.

En la figura 26 se presenta la comparación de la elongación del hipocótilo del cebollín frente al control negativo.

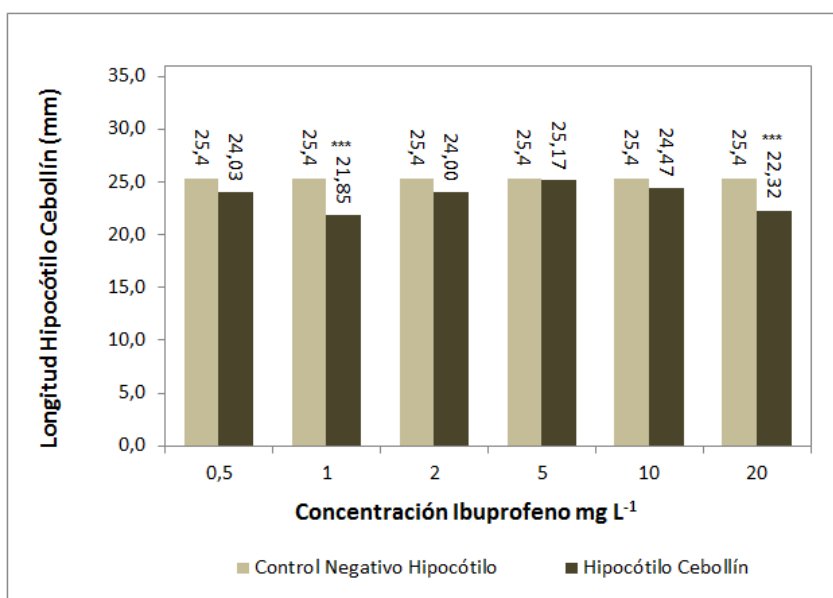


Figura 26. Resultado de la elongación del hipocótilo de cebollín expuesto a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo (***) $P < 0,05$).

Fuente: Autor

Para las semillas de lechuga se presentó una estimulación en la elongación del hipocótilo para todas las concentraciones de ibuprofeno con respecto al control negativo, siendo significativamente mayor para las concentraciones de 1 a 20 mgL⁻¹ ($P < 0,05$) de acuerdo al análisis estadístico Kruskal-Wallis (anexo 5). El efecto de estimulación fue menor al 50% en las concentraciones. El porcentaje de

estimulación más alto del hipocótilo se presentó a la concentración 20 mgL^{-1} correspondiente al 14, 63% y el porcentaje más bajo de estimulación se observó a la concentración de $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ correspondiente al 6,12 %.

En la figura 27 se muestra una comparación de la elongación de la radícula de la lechuga frente al control negativo.

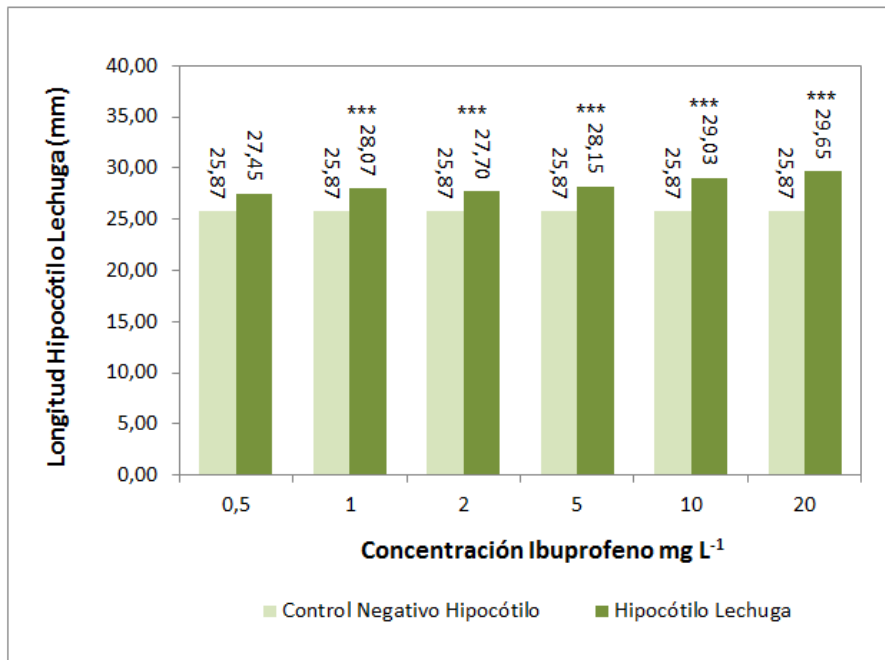


Figura 27. Resultado de la elongación del hipocótilo de la lechuga expuesto a diferentes concentraciones de ibuprofeno comparada con el control negativo (***) $P < 0,05$).

Fuente: Autor

En la figura 28 se muestran los porcentajes de inhibición y estímulo en la elongación del hipocótilo para las semillas de cebollín y lechuga. Un efecto de estímulo se muestra barras por encima de la línea, mientras que el efecto de inhibición se presenta en barras debajo de la línea.

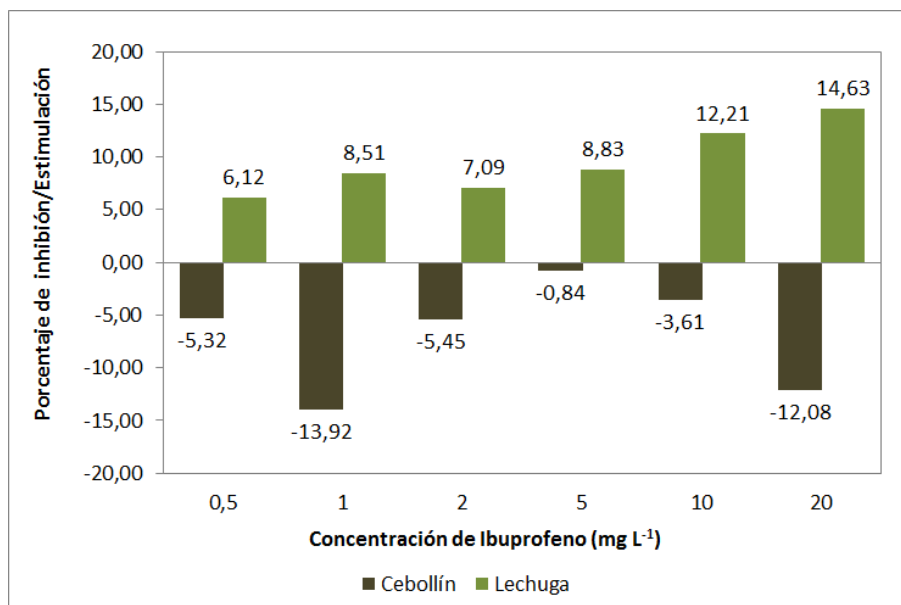


Figura 28. Porcentaje de inhibición y estímulo en la elongación del hipocótilo de las semillas de cebollín y lechuga tratadas con diferentes concentraciones de soluciones de ibuprofeno.

Fuente: Autor

4.2. REMOCIÓN DE IBUPROFENO CON BIOMASA RESIDUAL DE TALLOS DE ROSA

4.2.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE

A continuación se presentan los resultados de la preparación y caracterización de la biosorbente.

4.2.1.1 TAMAÑO DE PARTÍCULA PARA EL ENSAYO DE BIOSORCIÓN

El tamaño de partícula obtenido luego del tamizado se muestra en la tabla 29. Se obtuvieron tres tamaños de partícula, una fina de 0,6 mm, una intermedia de 0,85 mm y una gruesa de 1,18 mm, con los cuales se realizó el estudio hidrodinámico de la columna.

**Tabla 29.** Tamaños de partícula obtenidos para el ensayo de biosorción.

Número de Tamiz	Tamaño de partícula (mm)
16	1,18
20	0,85
30	0,6

Fuente: Autor

4.2.1.2 CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE

Se determinaron las siguientes propiedades del biosorbente:

Densidad Real (ρ_R)

La densidad real determinada para el biosorbente obtenido del tallo de rosas fue de $1,0911 \text{ g ml}^{-1}$. En la tabla 30 se muestran los resultados de laboratorio.

Tabla 30. Resultados de la densidad real del biosorbente de tallos de rosa.

mp (g)	mp + b (g)	mp + MEOH (g)	mp + b+ MEOH (g)	Densidad real (g ml^{-1})
43,9792	44,3991	83,6042	83,7193	1,0911

(m_p): peso picnómetro vacío, ($m_p + b$): peso del picnómetro con el biosorbente, ($m_p + m_{\text{MeOH}}$): peso del picnómetro con el metanol, ($m_b + b + m_{\text{MeOH}}$): peso del picnómetro con el biosorbente y el metanol

Fuente: Autor

Densidad Aparente (ρ_A)

La densidad aparente determinada para el biosorbente fue de $0,2541 \text{ g ml}^{-1}$. Los resultados de laboratorio se muestran en la tabla 31.

Tabla 31. Resultados de la densidad aparente del biosorbente de tallos de rosa.

mb (g)	Vocupado (ml)	Densidad aparente (g ml^{-1})
2,2541	10	0,2254

(m_b): masa del biosorbente, (Vocupado): volumen ocupado por el biosorbente en la probeta

Fuente: Autor



Porosidad (e)

La porosidad del biosorbente fue determinada mediante la relación entre la densidad real y aparente obtenidos en los resultados anteriores (tabla 32).

Tabla 32. Resultados de porosidad del biosorbente de tallos de rosa.

Densidad real (g ml ⁻¹)	Densidad aparente (g ml ⁻¹)	Porosidad
1,0911	0,2254	0,7934

Fuente: Autor

- pH en el Punto de carga cero (PZC)

El punto de carga cero fue determinado evaluando un intervalo de pH entre 4 y 10. El valor del punto de carga cero encontrado fue de 7,15. Los valores de pH para cada una de las muestras se presentan en la tabla 33.

Tabla 33. Valores de pH inicial y final de los ensayos.

No. Erlenmeyer	Peso biosorbente (g)	pH referencia	pH Inicial	pH Final
1	0,5021	4	4,08	5,69
2	0,5032	5	5,32	6,25
3	0,5014	6	6,12	7,28
4	0,5001	7	7,09	7,13
5	0,5026	8	8,30	7,46
6	0,5017	9	9,46	6,49
7	0,5004	10	10,18	7,31

Fuente: Autor

En la figura 29 se muestra el pH en el punto de carga cero (pH_{PZC}) para el biosorbente de tallos de rosa.

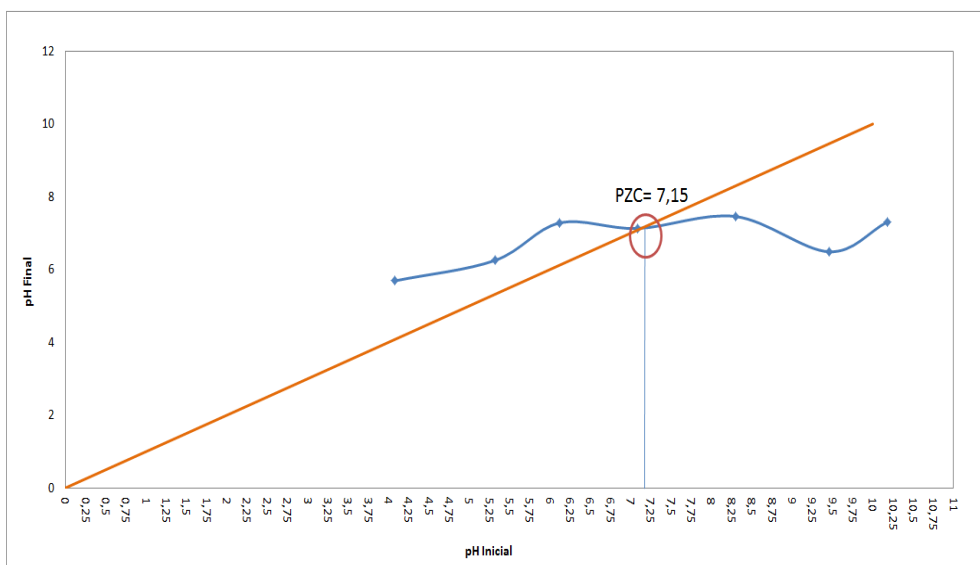


Figura 29. Punto carga cero (PZC) para el biosorbente de tallos de rosa.

Fuente: Autor.

- Grupos funcionales

El espectro infrarrojo del biosorbente de tallos de rosa se utilizó para identificar los grupos funcionales presentes en la biomasa y que pueden interferir en la adsorción del ibuprofeno.

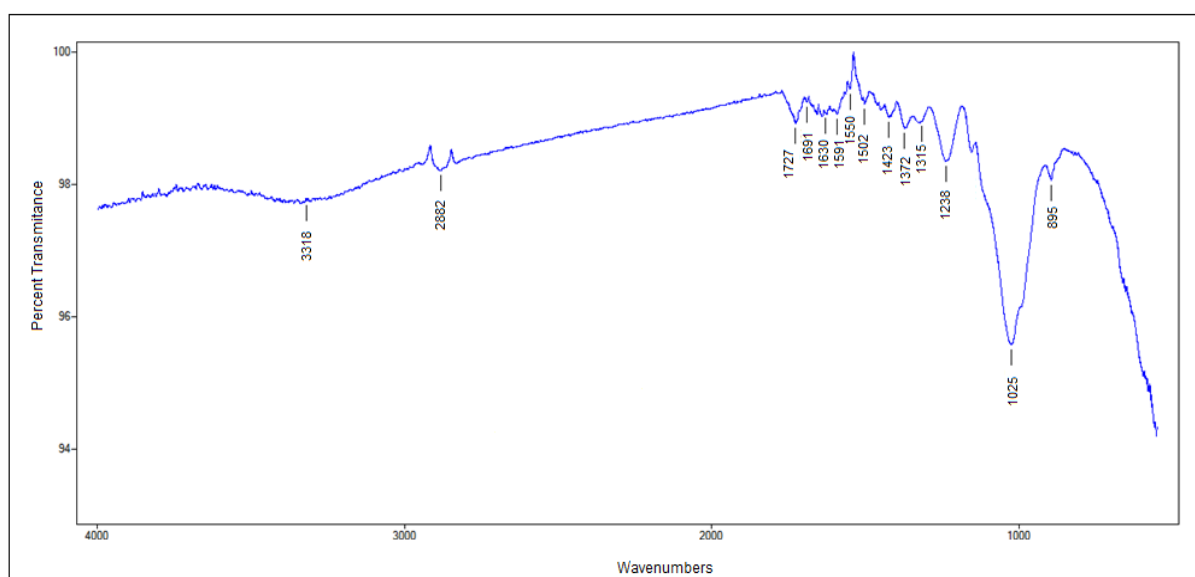
En figura 30 se muestra el espectro muestra del tallo de rosa antes de la biosorción, el cual presenta numerosos picos indicando la naturaleza compleja del material, se observa una banda amplia a 3318 cm^{-1} que corresponde a la vibración de los grupos hidroxilo $-\text{OH}$, la banda a 2881 cm^{-1} debida a vibraciones de la parte alifática $-\text{CH}$, los picos a 1727 y 1691 cm^{-1} pueden ser asignados a vibraciones del grupo carbonilo $-\text{C}=\text{O}$ y alifáticos $-\text{CH}$, la vibración a 1502 a 1630 cm^{-1} puede atribuirse a los grupos aromáticos $-\text{C}=\text{C}$, las bandas desde 1024 a 1372 cm^{-1} pueden estar relacionadas con vibraciones del grupo carbonilo $-\text{C}=\text{O}$. La vibración a 1025 cm^{-1} puede ser asignada al grupo hidroxilo de alcoholes y fenoles y la banda a 894 cm^{-1} puede deberse a un grupo aromático sustituido.

En la tabla 34 se muestran las asignaciones dadas a cada uno de los picos identificados en el espectro infrarrojo del tallo de rosa.

Tabla 34. Interpretación del espectro infrarrojo del tallo de rosa.

Pico observado (cm ⁻¹)	Grupo funcional
3318	-OH Hidroxilo
2882	-CH Alcanos
1727	-C=O Carbonilo
1691	-CH Alcanos
1630	-C=C Aromáticos
1591	-C=C Aromáticos
1550	-C=C Aromáticos
1502	-C=C Aromáticos
1423	-C=O Carbonilo
1472	-C=O Carbonilo
1315	-C=O Carbonilo
1238	-C=O Carbonilo
1025	-OH Hidroxilo
895	Sustitución grupo aromático

Fuente: Autor

**Figura 30.** Espectro infrarrojo del tallo rosa antes de la biosorción.

Fuente: Autor

Al comparar el espectro infrarrojo del tallo de rosa antes y después de la biosorción de ibuprofeno mostrado en la figura 31, se observó un incremento de la banda del grupo hidroxilo -OH y un aumento de la vibración en el grupo de los

aromáticos -C=C- . Además un nuevo pico apareció en el espectro después de la biosorción a 1709 cm^{-1} , correspondiente a la banda de 1708 cm^{-1} del espectro del ibuprofeno y atribuida al grupo carbonilo -C=O , que asociaría una implicación del grupo carbonilo en la adsorción del ibuprofeno.

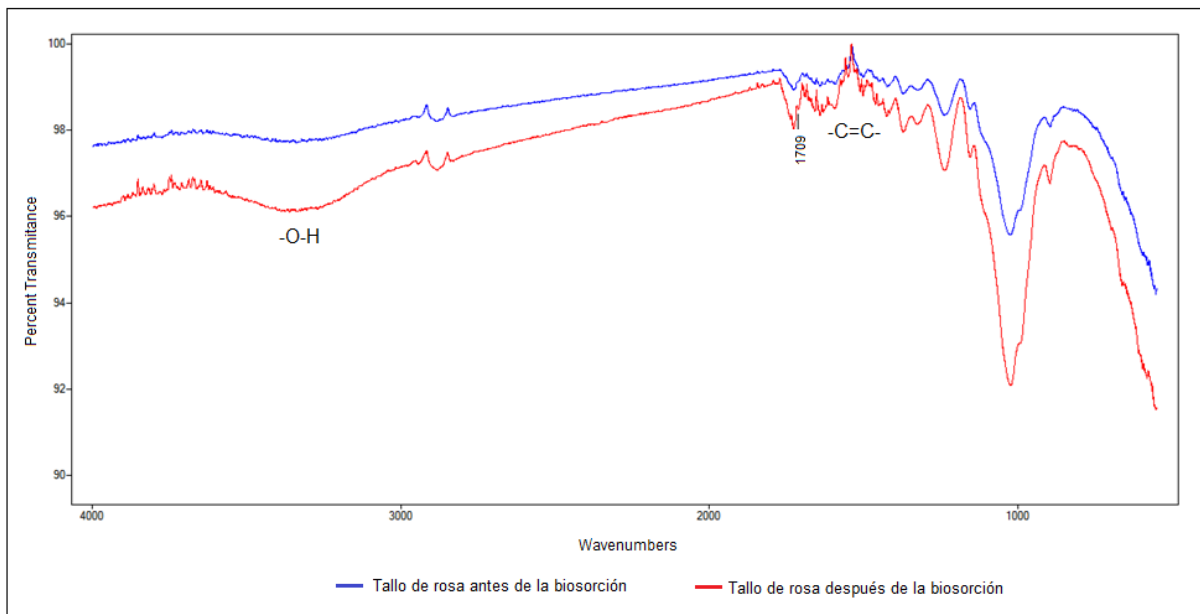


Figura 31. Espectro infrarrojo del tallo de rosa antes y después de la biosorción.

Fuente: Autor

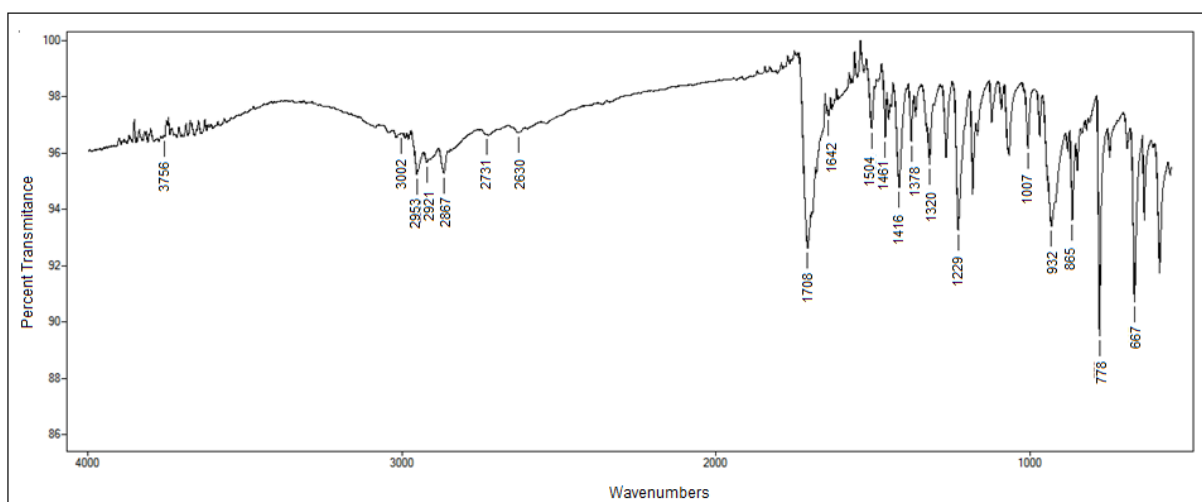


Figura 32. Espectro infrarrojo del ibuprofeno

Fuente: Autor



4.2.2 BIOSORCIÓN EN COLUMNA

4.2.2.1 ESTUDIO HIDRODINÁMICO PARA LA ESTABILIZACIÓN DEL LECHO DE LA COLUMNA

Con los tres tamaños de partículas de biosorbente obtenidas, se realizaron pruebas con masas de biosorbente comprendidas entre 6 y 7 gramos, determinando la altura y el caudal para cada una de ellas, encontrando las condiciones que permitieron la estabilidad del lecho en la columna empacada, es decir para que no se produzcan canalizaciones ni inundación de la columna manteniendo como condición que el caudal se mantuviera estable entre 1,5 y 2,5 ml min⁻¹. Los resultados de estas pruebas se muestran en la tabla 35.

Un caudal de 2,42 ml min⁻¹, fue obtenido para un tamaño de partícula de 0,85 mm, masa de 7 g y altura de 33,5 cm, bajo estas condiciones no se observaron canalizaciones ni inundación de la columna.

Tabla 35. Resultados del estudio hidrodinámico para tres tamaños de partícula de biosorbente de tallos de rosa.

Prueba	Tamaño de Partícula (mm)	Masa (g)	Altura (cm)	Caudal (ml min ⁻¹)
1	1,18	7	35	9,42
	0,85	7	33,5	2,33
	0,6	7	30,3	1,26
2	1,18	6	29	7,61
	0,85	6	26	1,36
	0,6	6	23,5	1,05

Fuente: Autor

4.2.2.2 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE IBUPROFENO

El ensayo de biosorción para remoción de ibuprofeno se desarrolló bajo las condiciones descritas en la tabla 36.



Durante el ensayo de biosorción, se recolectaron 14 muestras del efluente de la columna a diferentes intervalos de tiempo. El experimento tuvo una duración total de 320 minutos obteniendo una concentración final de 49,49 mg L⁻¹ de ibuprofeno, la concentración más baja de ibuprofeno a la salida de la columna fue de 36,57 mg L⁻¹. Los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 37.

Tabla 36. Condiciones para el ensayo de biosorción de ibuprofeno con tallos de rosa

Factor	Condición
Diámetro de columna (cm)	1,5
Masa de biosorbente (g)	7
Altura del lecho (cm)	33,5
Cuadal (ml min ⁻¹)	2,42
Punto carga cero biosorbente	7,15
Concentración inicial de Ibuprofeno	60 mg L ⁻¹ nominal/ 61,80 mg L ⁻¹ medida
pH de la solución de Ibuprofeno	4,26
pKa Ibuprofeno	4,9
Temperatura	18°C

Fuente: Autor

Tabla 37. Resultados de concentraciones de ibuprofeno obtenidas a la salida de la columna en diferentes intervalos de tiempo.

Muestra	Tiempo (min)	Concentración (mg L ⁻¹)
1	6,56	36,57
2	17,40	42,37
3	29,33	44,76
4	39,93	46,23
5	50,54	46,36
6	72,28	46,57
7	94,60	47,57
8	116,01	47,63
9	137,31	48,67
10	172,95	48,32
11	211,92	49,24
12	248,11	49,70
13	284,49	49,84
14	320,75	49,49

Fuente: Autor

Con los datos experimentales se determinó el perfil concentración - tiempo de la biosorción de ibuprofeno con tallos de rosa, el cual se muestra en la figura 33.

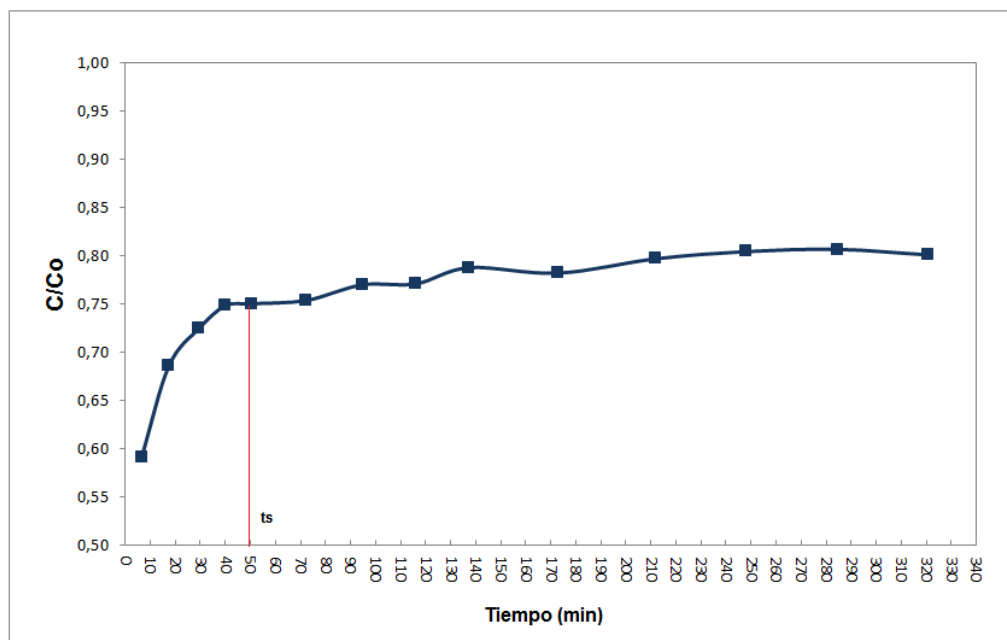


Figura 33. Curva de ruptura para la biosorción de ibuprofeno con tallos de rosa para concentración inicial: $61,8 \text{ mg L}^{-1}$, altura: $33,5 \text{ mm}$, masa biosorbente: 7 g , caudal: $2,42 \text{ ml min}^{-1}$.

Fuente: Autor

En la tabla 38 se presentan los parámetros de funcionamiento de la columna calculados a partir de los datos experimentales generados para el perfil concentración- tiempo y bajo las condiciones descritas en la tabla 36.



Tabla 38. Parámetros de funcionamiento de la columna calculados a partir de los datos experimentales.

	Parámetro	Valor
Co	Concentración inicial mg L ⁻¹	61,80
Q	Caudal (ml min ⁻¹)	777,27
t _{total}	Tiempo funcionamiento columna (min)	320,75
V _{ef}	Volumen efluente (ml)	121,2
q _{total}	Cantidad total de sustancia adsorbida (mg)	3,03
m _{total}	Cantidad de IB que pasa por la columna total (mg)	7,488
% Retención	%Ibuprofeno Retenido	40,49
q _e	Capacidad de adsorción (mg ibuprofeno/g tallo de rosa)	0,433
t _r	Tiempo de ruptura (min)	-
t _s	Tempo de saturación (min)	50

Fuente: Autor

El porcentaje de remoción de ibuprofeno obtenido utilizando la biomasa residual de tallos de rosa como biosorbente fue de 40,49%, con una capacidad de biosorción de 0,057 mg de ibuprofeno / g de tallo de rosa.

El tiempo de ruptura no se puede determinar debido a que la concentración de medicamento a la que se puede realizar el vertimiento no está legislada y el tiempo de saturación de la columna es 50 minutos.

4.2.2.3 AJUSTE DE LOS DATOS EXPERIMENTALES A LOS MODELOS MATEMÁTICOS

Como un complemento de este estudio se realizó el ajuste de los datos experimentales a los modelos de Thomas y Dosis repuesta para determinar el modelo que mejor se ajusta, el modelo del Yoon Nelson no fue aplicado debido que el tiempo requerido para retener el 50% de la concentración inicial de ibuprofeno no pudo ser obtenido de los datos experimentales.

Los valores de los parámetros de la columna y el valor del coeficiente de determinación (R²) se muestran en la tabla 39.

Tabla 39. Resultados de los parámetros cinéticos en los modelos de Thomas y Dosis respuesta en función del tiempo.

Modelo	Parámetros		
Thomas	K_{TH} (ml/mg.min)	q_0 (mg/g)	R^2
	0,1053	-0,0087	0,629
Dosis Respuesta	a	q_0 (mg/g)	R^2
	0,2444	0,016	0,942

Fuente: Autor

En la figura 35 representan las curva de ruptura experimental para el ibuprofeno y las curvas obtenidas para cada modelo.

A partir de estos datos se determinó que el modelo de Thomas no reproduce de forma aceptable los resultados obtenidos experimentalmente ya que el coeficiente de determinación es bajo. El modelo de Dosis Repuesta es el mejor representa la curva de ruptura obtenida experimentalmente ($R^2 = 0,942$).

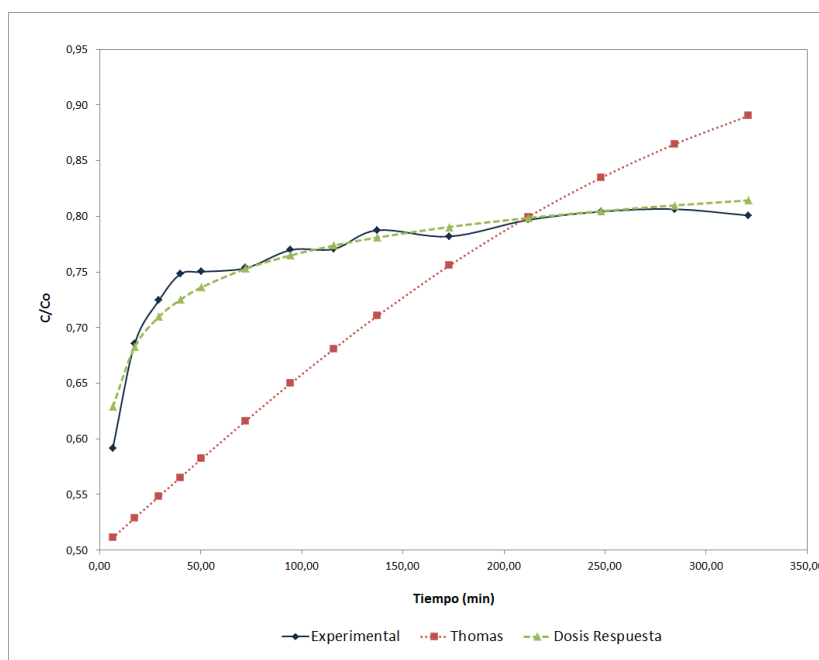


Figura 34. Comparación de la curva de ruptura experimental y las curvas obtenidas en los modelos aplicados en función del tiempo para la biosorción del ibuprofeno en tallo de rosa.

Fuente: Autor



CAPITULO V: DISCUSIÓN

5.1 CONCENTRACIÓN DE METANOL PARA BIOENSAYOS

Para la aplicación de las soluciones acuosas de ibuprofeno, fue necesario disolver el medicamento en metanol. Se realizó un análisis del efecto de la concentración de metanol sobre la *Artemia salina* y las semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga), comparando los efectos sobre los organismos de prueba con un control negativo, el objetivo fue garantizar que los resultados observados eran causados por el ibuprofeno y no por el metanol.

Se determinó que bajas concentraciones de metanol comprendidas entre el 0,1% y 0,5% v/v para *Artemia salina* y de 0,1% a 1% v/v para las semillas, no produjeron alteraciones en la mortalidad, germinación y elongación de la radícula e hipocótilo en comparación con el control negativo (tablas 40 y 41).

Tabla 40. Resumen de mortalidad en *Artemia salina* y geminación de semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga).

Concentración	Porcentaje		
	Mortalidad %	Geminación %	
	Artemia salina	Cebollín	Lechuga
Agua destilada/ Solución Salina	0,00	100	100
Metanol 0.1%	3,33	100	100
Metanol 0.5%	3,33	100	100
Metanol 1%	90,00	95,00	98,33
Metanol 5%	96,67	85,33	88,33

Fuente: Autor

Para la *Artemia salina* estas concentraciones son mayores a la determinada por Vismarra (1998), quien comprobó que a una concentración de 0,21 M (0,08%) de metanol no se producen efectos letales sobre la artemia, Pounds et al, (2008) utilizó una concentración de 0,1 ml L⁻¹ (0,01%) para su ensayos con ibuprofeno sobre un organismo acuático.



Se observó que el porcentaje de mortalidad para *Artemia salina* incrementó conforme aumentaba la concentración de metanol (tabla 39) y el porcentaje de germinación y la elongación de la radícula e hipocótilo de las semillas disminuyeron al incrementar la concentración de metanol (tabla 40).

Tabla 41. Resumen de la longitud e inhibición de la radícula e hipocótilo de semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga).

Concentración	Especie	Promedio Longitud Radícula (mm)	Promedio Longitud Hipocótilo (mm)	% Inhibición Elongación radícula	%Inhibición Elongación hipocótilo
Control AD	Cebollín	16,85	27,40	-	-
	Lechuga	24,4	26,67	-	-
Metanol 0.1%	Cebollín	16,72	27,36	0,77	0,18
	Lechuga	24,23	25,57	0,7	4,12
Metanol 0.5%	Cebollín	16,03	26,98	4,87	1,57
	Lechuga	23,82	25,12	2,38	5,81
Metanol 1%	Cebollín	15,47	26,00	8,19	5,14
	Lechuga	24,15	25,13	5,12	5,77
Metanol 5%	Cebollín	3,77***	9,53***	77,63	65,23
	Lechuga	8,23***	11,9***	66,27	55,38

Control AD: Control negativo Agua Destilada

*** Diferencia significativa ($p < 0,05$).

Fuente: Autor

Para la *Artemia salina* el efecto de toxicidad más elevado se observó a la concentración de 1% y 5% de metanol ocasionando la muerte de más del 90% de los organismos. Para las semillas a la concentración de 5% de metanol observaron valores altos de inhibición en la elongación en intervalos del 55 al 77%, esto indica que el metanol causa alteraciones en los organismos usados en los bioensayos cuando se utilizan concentraciones entre el 1% y 5% de metanol.



El uso de metanol demostró además que los organismos vivos como la *Artemia* son más sensibles a esta sustancia en comparación con los organismos inertes como las semillas, sin embargo Hillis et al, (2008) indica que el metanol es utilizado como solvente del ibuprofeno y de otros medicamentos debido a que presenta menor toxicidad para la germinación y elongación de la radícula de las semillas.

Los bioensayos se realizaron utilizando las concentraciones más bajas de metanol para evitar interferencias en los resultados y en función de estas se comprobó la solubilidad del ibuprofeno, por lo que se trabajó con soluciones acuosas de ibuprofeno a partir de los 20 mg L⁻¹, con concentraciones de 0.5% de metanol para el bioensayo con *Artemia salina* y 0.1% para las semillas.

5.2 CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO

Se determinaron las concentraciones de las soluciones acuosas de ibuprofeno preparadas (concentraciones nominales) con la finalidad de asegurar que los efectos observados en los puntos finales de los bioensayos correspondan a las concentraciones de ibuprofeno aplicadas, esto permite tener mayor confiabilidad en los resultados.

5.3 CONTROLES NEGATIVOS

En los bioensayos se utilizaron dos controles negativos: control de solución salina / agua destilada y control de solvente metanol 0,5 y 0,1%, esto garantizó que los efectos observados en los puntos finales de los bioensayos se debían a la exposición a Ibuprofeno y no al metanol, como se demostró anteriormente, causa un efectos de mortalidad e inhibición.

No se detectaron diferencias significativas entre los controles con agua y los controles del solvente en los organismos de prueba, es por esta razón que los efectos de mortalidad sobre *Artemia salina* y crecimiento e inhibición de la radícula e hipocótilo de las semillas, fueron comparados con el control del solvente. El



porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* en los controles negativos fue 0% demostrando que la concentración de metanol utilizada no causó el efecto de mortalidad. No se presentaron diferencias en los porcentajes de germinación en los controles negativos para cebollín (96,7%) y lechuga (100%) (tabla 42).

Tabla 42. Resumen de resultados en los controles negativos para los organismos de prueba.

Controles Negativos	Especie	% Mortalidad	% Germinación	Promedio Longitud Radícula (mm)	Promedio Longitud Hipocótilo (mm)
Solución Salina	Artemia salina	0	-		
Metanol 0,5%	Artemia salina	0	-		
Agua Destilada	Cebollín		96,7	16,00	25,67
Metanol 0,1%	Cebollín		96,7	16,25	25,38
Agua Destilada	Lechuga		100,00	24,47	25,47
Metanol 0,1%	Lechuga		100,00	24,18	25,87

Fuente: Autor

El uso de dos controles cuando se emplea una sustancia para disolver el medicamento asegura que las alteraciones en los organismos de prueba son debidas al medicamento, es por esta razón que algunos investigadores han utilizado dos controles en sus ensayos, por ejemplo Pounds et al, (2008) usó un control de solvente y un control de agua de dilución en su investigación sobre los efectos del ibuprofeno en un organismo vivo. Schmidt y Redshaw, (2015) utilizaron controles de agua destilada y metanol 0,1% y luego de determinar que no existieron diferencias significativas entre ambos, consideraron el uso únicamente del control de solvente para un segundo ensayo. Pino et al, (2016) en su investigación, comprobó la germinación de semillas de lechuga en los controles de metanol y los controles de agua.



5.4 MORTALIDAD DE *ARTEMIA SALINA*

En este estudio se determinó el efecto de mortalidad de la *Artemia salina* (un crustáceo de agua salada) ocasionada por el ibuprofeno luego de una exposición aguda en soluciones acuosas del medicamento. El porcentaje de mortalidad en los controles negativos fue 0% por lo que el lote de Artemia utilizado fue aceptable para el ensayo.

El porcentaje de mortalidad más elevado de nauplios de artemia ocurrió a la concentración de 20 mg L⁻¹ de ibuprofeno, equivalente al 63,3% de mortalidad, lo que evidencia que si existen efectos de toxicidad aguda con ibuprofeno. Se calculó la concentración de ibuprofeno que produce mortalidad sobre el 50% de los nauplios de *Artemia salina* en estado II-III en un periodo de exposición de 24 horas CL_{50-24h} mediante el análisis probit obteniendo como resultado 17,386 mg L⁻¹. Un resultado similar se obtuvo en un estudio realizado por Kim, et al (2008) quien expuso a un crustáceo de agua dulce a ibuprofeno determinando como concentración letal CL_{50-24h} 19,59 mg L⁻¹.

5.5 GEMINACIÓN DE SEMILLAS DE *ALLIUM SCHOENOPRASUM L.* (CEBOLLÍN) Y *LACTUCA SATIVA* (LECHUGA).

Para llevar a cabo los bioensayos con semillas es necesario utilizar lotes de calidad y certificados, de manera que se pueda obtener un porcentaje de germinación mayor al 90% y evitar que se presenten una elevada variabilidad en el crecimiento de la radícula (mayor al 30%) cuando se realiza el ensayo bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Este estudio planteó inicialmente el uso de la semilla de alpiste para evaluar el efecto del ibuprofeno sobre una especie monocotiledónea, sin embargo no se pudo obtener un lote certificado de esta semilla ya que su uso a nivel local está destinado como alimento de aves pequeñas, obteniendo porcentajes de germinación entre el 40% y 60, haciendo que esta semilla no sea apta para el bioensayo, es por esta razón que en esta investigación se utilizó un lote de semilla certificada de cebollín para evaluar los efectos tóxicos del ibuprofeno.



Se determinó que los lotes de semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga) fueron aptos para el bioensayo debido que presentaron un porcentaje de germinación de 96,7% y 100% respectivamente y un coeficiente de variación para la radícula del 27%.

También es muy importante que el ambiente en el que se incuben las semillas mantenga una temperatura constante, ya que variaciones extremas de temperatura pueden dar lugar a retrasos en la germinación y crecimiento de la radícula e hipocótilo, en este estudio la temperatura del sitio de incubación fue monitoreada constantemente permaneciendo a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$.

En la tabla 43 y 44 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en los bioensayos con semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga), los cuales son analizados en los siguientes puntos.

Tabla 43. Resumen de la germinación de semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga) expuesta a soluciones acuosas de ibuprofeno

Concentración (mg L ⁻¹)	Especie	% Germinación	% Inhibición germinación
Control MeOH 0,1%	Cebollín	96,7	-
	Lechuga	100,0	-
0,5	Cebollín	96,6	-3,4
	Lechuga	95,00	-5,0
1	Cebollín	84,5	-15,5
	Lechuga	100,0	0,0
2	Cebollín	89,7	-10,3
	Lechuga	96,6	-3,3
5	Cebollín	86,2	-13,8
	Lechuga	98,3	-1,7
10	Cebollín	98,3	-1,7
	Lechuga	98,3	-1,7
20	Cebollín	96,6	-3,4
	Lechuga	100,0	0,0

MeOH: Metanol

El signo negativo (-) indica inhibición.

Fuente: Autor



Tabla 44. Resumen de la longitud, inhibición y estimulación de la radícula e hipocótilo de semillas de *Allium schoenoprasum* L. (cebollín) y *Lactuca sativa* (lechuga) expuesta a soluciones acuosas de ibuprofeno.

Concentración (mg L ⁻¹)	Especie	Promedio Longitud Radícula (mm)	Promedio Longitud Hipocótilo (mm)	% Inhibición Elongación radícula	% Inhibición Elongación hipocótilo
Control MeOH 0,1%	Cebollín	16,25	25,38	-	-
	Lechuga	24,18	25,87	-	-
0,5	Cebollín	15,95	24,03	-1,8	-5,3
	Lechuga	25,95	27,45	7,3	6,1
1	Cebollín	13,68***	21,85***	-15,8	-13,9
	Lechuga	43,22***	28,07***	78,7	8,5
2	Cebollín	14,78	24,00	-9,0	-5,4
	Lechuga	41,93***	27,7***	73,4	7,1
5	Cebollín	15,75	25,17	-3,1	-0,8
	Lechuga	43,35***	28,15***	79,3	8,8
10	Cebollín	14,47	24,47	-11,0	-3,6
	Lechuga	43,70***	29,03***	80,7	12,2
20	Cebollín	13,82***	22,32 ***	-15,0	-12,1
	Lechuga	48,23***	29,65***	99,4	14,6

MeOH: Metanol

*** Diferencia significativa ($p < 0,05$)

El signo negativo (-) indica inhibición.

Fuente: Autor

5.5.1 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN

Se determinó el porcentaje de germinación de las semillas de cebollín y lechuga expuestas a concentraciones de 0.5, 1, 2, 5, 10 y 20 mg L⁻¹ (tabla 43).

En las semillas cebollín se presentó una ligera disminución en el porcentaje de germinación para todas las concentraciones de ibuprofeno, a las concentraciones de 1, 2 y 5 mg L⁻¹ la germinación estuvo comprendida entre el 84% al 89%, para el resto de concentraciones se obtuvo una germinación del 96% al 98%. En las semillas de lechuga se obtuvo un porcentaje de germinación mayor al 90% para todas las



concentraciones de ibuprofeno en un rango de 95% al 100%. Estos resultados muestran que en ningún caso la reducción en la germinación llegó a ser del 50% con respecto al control negativo, por lo que no fue posible calcular la concentración que produce el 50% de inhibición en la germinación, siguiendo los criterios descritos por Poi de Neiff y Ramos (2001) que indican que se pueden considerar sustancias no tóxicas a las muestras cuya germinación es mayor del 90%, tóxicas a las que presentan una germinación del 75% al 90% y muy tóxicas a las que tienen menos del 75% de germinación en relación con el control negativo, se puede concluir que hubo un efecto de toxicidad causado por el ibuprofeno en las semillas de cebollín a las concentraciones de 1, 2 y 5 mg L⁻¹, siendo el efecto tóxico más alto a 1 mg L⁻¹ con una germinación del 84% , por el contrario el ibuprofeno no causa ningún efecto tóxico sobre la germinación de las semillas de lechuga, demostrando que el cebollín, una especie monocotiledónea es más sensible al ibuprofeno que la lechuga una especie dicotiledónea, Alvear y Abad, (2015) también determinaron una mayor sensibilidad en la germinación de la semillas de cebolla sometidas a soluciones acuosas de material articulado en comparación con las de lechuga.

Los porcentajes de inhibición y por lo tanto la toxicidad en la germinación de las dos semillas fueron bajos y estuvieron comprendidos entre el 0% y el 15,5% en todos los casos, un resultado de inhibición similar fue determinado por Pino et al, (2016) al tratar semillas de lechuga con varias concentraciones de antiinflamatorios entre ellos el ibuprofeno, sin embargo las concentraciones utilizadas en este caso fueron más altas que las de este estudio llegando a los 1000 mg L⁻¹, lo que indica que incluso a concentraciones altas de ibuprofeno la germinación no se ve afectada.

5.5.2 ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA

El efecto sobre el crecimiento de la radícula de cebollín y lechuga fue diferente para cada tipo de semilla. En las semillas de cebollín se presentó una disminución del tamaño de la radícula mientras que para la lechuga se observó una estimulación del desarrollo de la radícula, con respecto al control negativo. El mismo efecto sobre las semillas de lechuga y cebolla fue determinado por Alvear y Abad, (2015) quienes concluyen que la cebolla es una especie sensible a compuesto tóxicos.



Para la longitud radicular de las semillas de cebollín, los tratamientos a 1 y 20 mg L⁻¹ presentaron diferencias significativas con respecto al control negativo ($p < 0,05$). El efecto fitotóxico sobre la radícula fue mayor a las concentraciones de 1 y 20 mg L⁻¹ correspondiente al 15,8% y 15%, los porcentajes de inhibición para todas las concentraciones fueron bajos y estuvieron comprendidos entre el 1,8% y 15,8%, estos resultados indican que en ningún caso la inhibición radicular llegó a ser del 50% con respecto al control negativo, por lo que no fue posible calcular la concentración que produce el 50% de inhibición en la radícula, bajo esta consideración el ibuprofeno a las concentraciones estudiadas no se considera altamente tóxico (Bagur-González et al, 2011) (tabla 44).

La longitud radicular de las semillas de lechuga fue significativamente mayor para las concentraciones de 1 a 20 mgL⁻¹ ($P < 0,05$), a estas concentraciones el efecto de estimulación fue mayor al 50% en porcentajes comprendidos entre el 78,7 al 99,4%, en este caso se produjo un efecto de hormesis. Según Sobrero y Ronco, (2004) la estimulación radicular no debe ser interpretada como un efecto favorable o estimulante, aunque es posible que ciertos compuesto produzcan exaltación por ser micronutrientes vegetales. Un efecto similar fue determinado por Schmidt y Redshaw, (2015) donde las semillas tratadas con una solución de 1 mg L⁻¹ de Ibuprofeno mejoraron el desarrollo de la raíz primaria de lechuga en comparación con control negativo, en otro estudio realizado por Pounds et al, (2008) a concentraciones más altas de ibuprofeno comprendidas entre 250 mgL⁻¹ y 500 mgL⁻¹ las raíces fueron más delgadas y más largas con respecto al control negativo, además presentaron manchas de tejido necrótico en las puntas de las raíces, al contrario concentraciones mayores a 1000 mgL⁻¹ ocasionaron una inhibición del 50% de la elongación de la radícula, lo que indica que concentraciones altas de ibuprofeno causan un efecto tóxico sobre la radícula.

5.5.3 ELONGACIÓN DEL HIPOCÓTILO

Los efectos en la elongación del hipocótilo de las semillas de cebollín y lechuga son similares a los obtenidos para la radícula. En las semillas de cebollín se presentó una disminución de la longitud del hipocótilo mientras que para la lechuga se



observó una estimulación en el crecimiento del hipocótilo, con respecto al control negativo.

La longitud del hipocótilo de las semillas de cebollín presentó diferencias significativas a las concentraciones de 1 y 20 mg L⁻¹ ($p < 0,05$). El efecto fitotóxico fue mayor a las concentraciones de 1 y 20 mg L⁻¹ correspondiente al 13,9% y 12,08% respectivamente. Estos resultados indican que en ninguno de los casos la inhibición llegó a ser del 50% con respecto al control negativo, por lo que no fue posible calcular la concentración que produce el 50% de inhibición en el hipocótilo, bajo esta consideración el ibuprofeno a las concentraciones estudiadas no se considera altamente tóxico para el hipocótilo del cebollín (Bagur-González et al, 2011).

Para las semillas de lechuga las diferencias significativas en la longitud del hipocótilo se presentaron a las concentraciones de 1 a 20 mg L⁻¹ ($P < 0,05$) y el mayor efecto de estimulación se produjo a la concentración 20 mg L⁻¹ correspondiente al 14,63%. Estos resultados indican que la estimulación del hipocótilo fue menor al 50% con respecto al control negativo. Se produjo un efecto de hormesis sin embargo, esto no debe interpretarse como un efecto estimulante positivo (Sobrero y Ronco 2004). Un efecto similar fue determinado por Schmidt y Redshaw, (2015) en donde las semillas tratadas con una solución de 1 mg L⁻¹ de Ibuprofeno mejoraron el desarrollo del hipocótilo de las semillas de lechuga en comparación con el control negativo, en otro estudio realizado por Pounds et al, (2008) a una concentración de 233 mg L⁻¹ se produjo la inhibición del 50% en la elongación del hipocótilo. Lo que sugiere que concentraciones elevadas de ibuprofeno produce un efecto tóxico sobre el hipocótilo.

Al comparar los efectos del ibuprofeno sobre la radícula e hipocótilo de los tipos de semillas, se observa que el efecto tóxico sobre las semillas de cebollín es mayor en la radícula que en el hipocótilo, lo mismo ocurre en el caso de la lechuga la estimulación fue mayor en la radícula, lo que sugiere que la raíz es más sensible a las soluciones acuosas de ibuprofeno, un resultado similar fue descrito por An et al, (2009) al analizar el desarrollo de las plántulas de trigo expuestas a paracetamol.



Numerosos estudios han determinado que el ibuprofeno se encuentra en concentraciones muy bajas en diferentes compartimentos acuáticos y en aguas residuales, las concentraciones detectadas están comprendidas en el orden de los $\mu\text{g L}^{-1}$ y ng L^{-1} como puede observarse en la tabla 6 presentada en este estudio. Sin embargo las concentraciones utilizadas en los ensayos toxicológicos son altas encontrándose en el rango de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ a 1000 mg L^{-1} , por lo que el efecto tóxico agudo sería muy bajo y podría desestimarse. Un análisis similar lo realizó kim et al, (2008) quien concluye que los efectos tóxicos agudos de los compuestos farmacéuticos pueden ser insignificantes en los entornos acuáticos naturales ya que las concentraciones que han ocasionado algún efecto sobre los organismos sometidos a ensayos ecotoxicológicos son muy elevadas y no se han encontrado concentraciones similares en los compartimentos acuáticos.

Por esta razón se requiere que los estudios de toxicidad de productos farmacéuticos sean realizados a largo plazo y a concentraciones lo más cerca posible de las condiciones reales para determinar los efectos de los fármacos sobre el crecimiento, reproducción y daños a nivel genético de los organismos acuáticos, en el caso de las semillas se analiza el crecimiento y desarrollo de las plántulas, además de peroxidasa, superóxido dismutasa, clorofila y proteína soluble en las plántulas germinadas tal como lo hizo An et al, (2009) con las semillas de trigo.

5.6 REMOCIÓN DE IBUPROFENO UTILIZANDO TALLOS DE ROSA

5.6.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOSORBENTE

Luego de lavar y secar la biomasa de tallos de rosa, se realizó la molienda para alcanzar tres tamaños de partícula, una fina de $0,6 \text{ mm}$, una intermedia de $0,85 \text{ mm}$ y una gruesa de $1,18 \text{ mm}$. Bermejo (2016) en su estudio con biosorbentes de bagazo de caña y cáscara de cacao sin modificación química determinó que partículas de tamaño mayores a $0,5 \text{ mm}$ y 1 mm fueron óptimas para la operación de la columna, obteniendo capacidades de adsorción elevadas en la remoción de metales.

Dentro de la caracterización del biosorbente se obtuvo una densidad real de $1,0911 \text{ g ml}^{-1}$, densidad aparente de $0,2541 \text{ g ml}^{-1}$ y porosidad de $0,7934$. La densidad real



del material se encuentra dentro del intervalo reportado por González et al, (2016) comprendido entre 1,05 y 1,19 g ml⁻¹. La densidad aparente es baja y por lo tanto el espacio poroso del biosorbente es alto (González et al, 2016), al ser alto el valor de la porosidad indica que el material es poco compacto (Núñez, 1981), es por esta razón que la masa del adsorbente ocupará un mayor espacio en la columna.

Se determinó el pH en el punto de carga zero (pHPZC) del biosorbente cuyo valor fue 7,15; este parámetro permitió caracterizar el comportamiento del material biosorbente. Según Mondal et al, (2016) cuando el pH de la disolución es menor que pH_{ZPC}, el biosorbente se encuentra cargado positivamente, en este caso se trabajó al pH de preparación de la solución de 4,26, por lo tanto el tallo de rosa se encontraba cargado positivamente en su superficie.

Se identificaron los grupos activos presentes en la superficie del biosorbente por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR). En el análisis FTIR las vibraciones correspondían a los grupos hidroxilo, carbonilo, aromáticos y alifáticos. Estos grupos están relacionadas con compuestos orgánicos tales como los carbohidratos de celulosa, hemicelulosa y la lignina. (Treviño y Gómez, 2002). Los grupos principales presentes en el tallo de rosa fueron carbonilo y aromático. Espectros similares al tallo de rosa (figura 30) han sido reportados por Cabrera et al, (2016) para residuos de cáscara de coco, paja de la caña de azúcar y el meollo del bagazo de caña.

5.6.2 ESTUDIO HIDRODINÁMICO EN COLUMNA

Los parámetros estudiados para obtener un buen diseño hidrodinámico fueron: tamaño de partícula, masa y altura del biosorbente en la columna. Muchos investigadores reportan que la velocidad de flujo a través de la columna debe estar entre 1,5 y 2,5 ml min⁻¹, para que se logre un buen tiempo de retención y una mayor adsorción. Es importante que en la columna no ocurra canalización ni inundación por lo que el estudio reporto un buen diseño hidrodinámico a una altura de 33,5 cm, masa de 7 g, tamaño de partícula de 0,85 mm y flujo 2,42 ml min⁻¹.



5.6.3 REMOCIÓN DE IBUPROFENO

Las condiciones experimentales de este estudio fueron: concentración inicial del fármaco: 60 mg L⁻¹, masa: 7 g, altura: 33,5 cm, caudal: 2,42 ml min⁻¹, diámetro de columna 1,5 cm, se trabajó al pH de la disolución 4,26, pKa ibuprofeno 4,9.

En la curva de ruptura obtenida se determinó que el tiempo de saturación del biosorbente fue de 50 min, a partir de este tiempo la concentración del ibuprofeno a la salida de la columna se volvió constante, el tiempo de ruptura no pudo ser determinado debido a que la concentración del medicamento a la que se puede realizar el vertimiento no está legislada. La curva de ruptura se encuentra desplazada al origen y la saturación se alcanzó rápidamente, de acuerdo a Darweesh y Ahmed, (2017) este efecto puede deberse a que altas velocidades de flujo aceleran el tiempo de ruptura y la saturación del lecho, ya que en su estudio demostró que a medida que disminuye la velocidad de flujo, el adsorbato tiene tiempo suficiente para difundirse a través de los poros y produce una mayor capacidad de adsorción.

El porcentaje de remoción de ibuprofeno obtenido en las condiciones experimentales descritas en la tabla 38 fue de 40,49%, con una capacidad de adsorción de 0,433 mg de ibuprofeno / g de tallo de rosa; 7,48 mg fue la máxima cantidad de ibuprofeno que puede ser adsorbida por el tallo de rosa.

Se han reportado porcentajes de remoción de ibuprofeno mayores al 70% utilizando bioadsorbentes hechos de residuos de aceituna (Baccar et al, 2012) y la biomasa de la planta *Parthenium hysterophorus* (Mondal et al, 2016), en ambos casos los materiales fueron activados. La capacidad de adsorción del tallo de rosa es baja en comparación con otros tipos de adsorbentes reportados para remover ibuprofeno cuyas capacidades de adsorción estuvieron comprendidas entre 13 a 239 mg g⁻¹ según Álvarez et al, 2016, sin embargo estos adsorbentes obtenidos de residuos agrícolas también fueron activados y sintetizados en laboratorio. No se encontraron estudios relacionadas con la remoción de ibuprofeno utilizando adsorbentes sin modificación, sin embargo una remoción del 40% con un material sin activación puede considerarse buena.



Al analizar la influencia del pH de la solución, el pH en el punto de carga cero (pH_{PZC}), y la constante de disociación (Pka) del ibuprofeno en el mecanismo de biosorción de acuerdo al estudio realizado por Mondal et al, 2016, se determinó que al pH de la solución 4,26 la molécula de ibuprofeno se encuentra mayormente en su forma neutra y ligeramente aniónica, ya que el pH de la solución es menor a la constante de disociación (Pka) ($\text{pH} < \text{Pka}$) y a pH 4 el ibuprofeno comienza a convertirse en su forma aniónica con el 11% de moles, el punto de carga cero es de 7.15, encontrándose la superficie del biosorbente cargada positivamente. Estos resultados demuestran que existe una alta posibilidad de que el ibuprofeno sea absorbido por el tallo de rosa en las condiciones planteadas en el trabajo. Mondal et al (2016) determinó que a pH 2 se obtiene un porcentaje de remoción de ibuprofeno del 90%, a este valor de pH el ibuprofeno se encuentra en su forma neutra, demostrando que el medicamento es adsorbido preferentemente en su forma neutra y que una disminución de pH incrementa la adsorción, un resultado similar fue determinado por Mestre et al, (2017).

Los grupos funcionales que intervienen en la adsorción del ibuprofeno en el tallo de rosa fue a analizada mediante los espectros FTIR del tallo de rosa antes y después de la biosorción (figura 31) se determinó incremento de la banda del grupo hidroxilo -OH y un aumento de la vibración en el grupo de los aromáticos -C=C , que puede ser un indicativo de la interacción del tallo de rosa con el ibuprofeno, un nuevo pico apareció en el espectro después de la biosorción a 1709 cm^{-1} y se atribuye al grupo carbonilo, esta banda al ser contrastada con la presente en el espectro del ibuprofeno (figura 32) correspondiente a 1708 cm^{-1} y atribuida también al grupo carbonilo -C=O , asociaría la participación del grupo carbonilo en la adsorción del ibuprofeno. La adsorción del medicamento involucra interacciones entre las molécula que poseen dobles enlaces C=C y C=O , Saucier et al, (2015) plantea que el mecanismo de adsorción de los medicamentos se debe a los enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals y enlaces π . Bahamon et al, (2017) indica que la mayor absorción de ibuprofeno podría estar relacionada con la menor cantidad de sitios oxigenados en los carbones activados, y que estos grupos polares



pueden interactuar con el anillo aromático de ibuprofeno en un enlace donante-receptor.

5.6.4 AJUSTE DE LOS DATOS EXPERIMENTALES A LOS MODELOS MATEMÁTICOS

Los datos experimentales obtenidos para la curva de ruptura permitieron realizar el ajuste de las curvas para los modelos de Thomas y de Yan o Dosis Respuesta, el modelo del Yoon Nelson no pudo ser aplicado ya que el tiempo requerido para retener el 50% de la concentración inicial del ibuprofeno no pudo ser obtenido de los datos experimentales.

Los resultados muestran que el modelo de Thomas presenta un valor bajo de R^2 (0,629), lo que refleja poca correlación para los datos experimentales. Por otro lado una mejor correlación se obtuvo para el modelo de Dosis Respuesta con R^2 (0,942) mostrando que este modelo reproduce de forma aceptable la curva de ruptura para los datos experimentales, aunque existen diferencias entre la capacidad de adsorción determinada experimentalmente y encontrada en el modelo. Estos resultados son similares a los obtenidos por otros investigadores (Calero et al, 2012) y (Bermejo, 2016).



CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

El metanol usado como solvente de ibuprofeno causó efectos sobre la *Artemia salina*, las semillas de cebollín y lechuga, la determinación de la concentración de metanol que no ocasiona efectos sobre los organismos de prueba fue fundamental para obtener resultados reales en la evaluación toxicológica.

La *Artemia salina* fue más sensible al metanol en comparación con las semillas, se determinó que el uso de concentraciones menores a 0,5% v/v de metanol para *Artemia* y menores a 1% para semillas pueden ser usadas sin ocasionar efectos tóxicos sobre estos organismos.

El uso dos controles negativos al trabajar con un solvente, aseguró que los efectos observados sobre los organismos de prueba fueron producidos por el ibuprofeno.

Las soluciones acuosas de ibuprofeno causaron la mortalidad de los Nauplios de *Artemia salina*, en el orden del 3,3 al 63,3%. A la concentración de 20 mg L⁻¹ se presentó alta toxicidad causando la mortalidad del más del 50% de los nauplios correspondiente al 63,3% luego de 24 horas de exposición. La CL_{50-24h} calculada fue de 17,386 mg L⁻¹.

Las soluciones acuosas de ibuprofeno causaron un efecto tóxico sobre la germinación de las semillas de *Allium schoenoprasum* L (cebollín) a las concentraciones de 1, 2 y 5 mg L⁻¹, con porcentajes de germinación comprendidos entre el 84% y 89%, el efecto tóxico más alto ocurrió a la concentración de 1 mg L⁻¹ con una germinación del 84%. En las semillas de *Lactuca sativa* no provocó ningún efecto tóxico sobre la germinación siendo mayor al 90% en todos los casos.

El Ibuprofeno influyó en el crecimiento de la raíz e hipocótilo de las semillas de cebollín y lechuga. En el cebollín provocó una disminución de la longitud y en la lechuga una estimulación del desarrollo de la radícula e hipocótilo.



Las concentraciones de ibuprofeno estudiadas resultaron ser de baja toxicidad para las semillas de cebollín ya el efecto de inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo fue menor al 25% en todos los casos. El efecto de inhibición más elevado ocurrió a las concentraciones de 1 y 20 mg L⁻¹.

El efecto de estimulación del crecimiento de la radícula e hipocótilo de las semillas de lechuga fue mayor al 50% en el caso de radícula y menor al 25% para el hipocótilo, la estimulación más alta ocurrió a la concentración de 20 mg L⁻¹.

Las semillas de cebollín fueron más sensibles a la exposición de soluciones acuosas de ibuprofeno en comparación con las semillas de lechuga.

La raíz fue más sensible a la exposición de soluciones acuosas de ibuprofeno, en las dos semillas.

Las propiedades del biosorbente obtenidas fueron densidad real: 1,0911 gml⁻¹, densidad aparente: 0,2541 g ml⁻¹ y porosidad: 0,7934. E pH en el punto de carga zero (pHPZC): 7,15. Los grupos funcionales presentes en la superficie del tallo de rosa fueron: hidroxilo, carbonilo, aromáticos y alifáticos, siendo el grupo carbonilo y aromáticos los principales.

La estabilidad de la columna se obtuvo para un caudal de 2,42 ml min⁻¹, un tamaño de partícula de 0,85 mm, masa de 7 g y altura de 33,5 cm

El porcentaje de remoción de ibuprofeno obtenido utilizando el tallo de rosa fue de 40,49%, demostrando que la biosorción es una buena alternativa de tratamiento.

La interacción del ibuprofeno con el tallo de rosa puede estar relacionada con los grupos aromáticos y carbonilo presentes en el biosorbente mediante puentes de hidrógeno.



6.2 RECOMENDACIONES

Ampliar los estudios de toxicidad con medicamentos a exposiciones a largo plazo y con concentraciones lo más cercanas a las determinadas en los diferentes compartimentos ambientales.

Realizar estudios de toxicidad de los subproductos producidos por el ibuprofeno, para determinar sus efectos sobre el medio ambiente.

Los estudios de toxicidad de los fármacos y sus subproductos deben realizarse en matrices reales.

Realizar un escalado del proceso de biosorción, reproduciendo las condiciones obtenidas a nivel de laboratorio



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ahmed, M. B., Zhou, J. L., Ngo, H. H., Guo, W., Thomaidis, N. S., & Xu, J. (2017). Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: a critical review. *Journal of hazardous materials*, 323, 274-298.

Akar, S. T., Yilmazer, D., Celik, S., Balk, Y. Y., & Akar, T. (2015). Effective biodecolorization potential of surface modified lignocellulosic industrial waste biomass. *Chemical Engineering Journal*, 259, 286-292.

Ali, I., Asim, M., & Khan, T. A. (2012). Low cost adsorbents for the removal of organic pollutants from wastewater. *Journal of environmental management*, 113, 170-183.

Alonso, J. M. Q., Quero-Pastor, M. J., & Merino, A. A. (2015). Tratamientos avanzados para la eliminación de fármacos en aguas superficiales. *Revista de Salud Ambiental*, 15, 18-21.

Álvarez-Torrellas, S., Rodríguez, A., Ovejero, G., & García, J. (2016). Comparative adsorption performance of ibuprofen and tetracycline from aqueous solution by carbonaceous materials. *Chemical Engineering Journal*, 283, 936-947

Álvarez Torrellas Silvia, García Lovera Rafael, Escalona Néstor, Sepúlveda Catherine, Sotelo José Lui, García Juan. (2016). Chemical-activated carbons from peach stones for the adsorption of emerging contaminants in aqueous solutions .

Alvear, N. G., & Terán, M. A. (2015). Análisis preliminar de la fitotoxicidad del material particulado sedimentable de la zona urbana de Cuenca. *Maskana*, 6(1), 39-52.

Ankley GT, Brooks BW, Huggett DB. & Sumpter JP. (2007). Repeating History: pharmaceuticals in the environment.

Antunes, M., Esteves, V. I., Guégan, R., Crespo, J. S., Fernandes, A. N., & Giovanela, M. (2012). Removal of diclofenac sodium from aqueous solution by Isabel grape bagasse. *Chemical engineering journal*, 192, 114-121.



Arslan-Alaton, I.; Dogruel, S.; Baykal, E.; Gerone, G. (2004). Combined chemical and biological oxidation of penicillin formulation effluent. *Journal of Environment Manager*

Ashton, D., Hilton, M., & Thomas, K. V. (2004). Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Science of the Total Environment*, 333(1), 167-184.

Bagur-González, M. G., Estepa-Molina, C., Martín-Peinado, F., & Morales-Ruano, S. (2011). Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal (loid) s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of soils and sediments*, 11(2), 281-289.

Baccar, R., Sarrà, M., Bouzid, J., Feki, M., & Blánquez, P. (2012). Removal of pharmaceutical compounds by activated carbon prepared from agricultural by-product. *Chemical engineering journal*, 211, 310-317.

Bahamon, D., Carro, L., Guri, S., & Vega, L. F. (2017). Computational study of ibuprofen removal from water by adsorption in realistic activated carbons. *Journal of colloid and interface science*, 498, 323-334.

Balmer, M. E., Buser, H. R., Müller, M. D., & Poiger, T. (2005). Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. *Environmental science & technology*, 39(4), 953-962.

Baral, S. S., Das, N., Ramulu, T. S., Sahoo, S. K., Das, S. N., & Chaudhury, G. R. (2009). Removal of Cr (VI) by thermally activated weed *Salvinia cucullata* in a fixed-bed column. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2), 1427-1435.

Barbosa, M. O., Moreira, N. F., Ribeiro, A. R., Pereira, M. F., & Silva, A. M. (2016). Occurrence and removal of organic micropollutants: an overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water research*, 94, 257-279.

Barceló, D., & López, M. J. (2008). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. *Panel Científico-Técnico de seguimiento de la política de aguas*, 1, 24.



Becerril Bravo, J. E. (2009). Contaminantes emergentes en el agua. Tema del mes. Petrović, M., Gonzalez, S., & Barceló, D. (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), 685-696.

Belfroid, A. C., Van der Horst, A., Vethaak, A. D., Schäfer, A. J., Rijs, G. B. J., Wegener, J., & Cofino, W. P. (1999). Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Science of the Total Environment*, 225(1), 101-108.

Bermejo Campos, D. F. (2016). Remoción de plomo y cadmio presente en aguas residuales mineras mediante biosorción en columnas con bagazo de caña y cáscara de cacao (Bachelor's thesis).

Becerril Bravo, J. E. (2012). Optimización de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes emergentes en aguas de abastecimiento y residuales.

Bhatnagar, A., & Sillanpää, M. (2010). Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment—a review. *Chemical Engineering Journal*, 157(2), 277-296.

Birnbaum, L.S., & Staskal, D.F. (2004). Brominated flame retardants: cause for concern. *Environmental Health Perspectives*.

Birch, G. F., Drage, D. S., Thompson, K., Eaglesham, G., & Mueller, J. F. (2015). Emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, a food additive and pesticides) in waters of Sydney estuary, Australia. *Marine pollution bulletin*, 97(1), 56-66.

Blog de Ingeniería Química <https://simulacionblog.com/modelo-matematico-de-una-columna-de-adsorcion/>

Borba, C. E., da Silva, E. A., Fagundes-Klen, M. R., Kroumov, A. D., & Guirardello, R. (2008). Prediction of the copper (II) ions dynamic removal from a medium by using



mathematical models with analytical solution. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 366-372.

Brausch, J. M., & Rand, G. M. (2011). A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere*, 82(11), 1518-1532.

Briceño, N. O., Guzmán, M. Y., & Díaz, J. D. J. (2007). Grupos superficiales en materiales carbonosos. Caracterización por diferentes técnicas. *Revista colombiana de química*, 36(1).

Brozinski, J. M., Lahti, M., Meierjohann, A., Oikari, A., & Kronberg, L. (2012). The anti-inflammatory drugs diclofenac, naproxen and ibuprofen are found in the bile of wild fish caught downstream of a wastewater treatment plant. *Environmental science & technology*, 47(1), 342-348.

Bueno, M. M., Gomez, M. J., Herrera, S., Hernando, M. D., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. R. (2012). Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution*, 164, 267-273.

Buser, H. R., Poiger, T., & Müller, M. D. (1999). Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental science & technology*, 33(15), 2529-2535.

Cabrera Rodríguez, E., León Fernández, V., Montano Pérez, A. D. L. C., & Dopico Ramírez, D. (2016). Caracterización de residuos agroindustriales con vistas a su aprovechamiento. *Centro Azúcar*, 43(4), 27-35.

Calero, M., Hernáinz, F., Ronda, A., & Martín-Lara, M. A. (2012). Biosorción de cobre con corteza de pino en columna de lecho de fijo: optimización de las variables del proceso. *Afinidad*, 69(559)

Calles, J. (2017). Los nuevos contaminantes del agua. Obtenido de: <http://agua-ecuador.blogspot.com/2016/10/los-nuevos-contaminantes-del-agua.html> Blog Agua en el Ecuador.



Carlsson, C., Johansson, A. K., Alvan, G., Bergman, K., & Kühler, T. (2006). Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of the total environment*, 364(1), 67-87.

Castillo Morales, G., Rojas Clemente, J. J., Mills, D., Kunoh, H., Keen, N. T., Mayama, S., ... & Waller, G. R. (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicación* (No. 615.907 E59). Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México, DF (México). IDRC, Ottawa (Canadá).

Cazar Ramirez, M. E., Schmeda-Hirschmann, G., & Astudillo Saavedra, L. (2006). *Fungicidas y Bactericidas de microorganismos de suelo*.

Chang, H., Wan, Y., & Hu, J. (2009). Determination and source apportionment of five classes of steroid hormones in urban rivers. *Environmental science & technology*, 43(20), 7691-7698.

Charles, J., Sancey, B., Morin-Crini, N., Badot, P. M., Degiorgi, F., Trunfio, G., & Crini, G. (2011). Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(7), 2057-2064.

Chemical Abstracts Service. (2017). CAS: A Division of the American Chemical Society. Recuperado de: [http:// www.cas.org/content/counter](http://www.cas.org/content/counter).

Chowdhury, S., Mishra, R., Saha, P., & Kushwaha, P. (2011). Adsorption thermodynamics, kinetics and isosteric heat of adsorption of malachite green onto chemically modified rice husk. *Desalination*, 265(1), 159-168

Corcoran, J., Winter, M. J., & Tyler, C. R. (2010). Pharmaceuticals in the aquatic environment: a critical review of the evidence for health effects in fish. *Critical reviews in toxicology*, 40(4), 287-304.

Cruz Esteban, S., Cruz López, L., A Malo, E., Valle Mora, J., Infante Matha, D. M., Santiesteban Hernández, A., ... & Bello Mendoza, R. (2014). *Presencia De Anti-*



Inflamatorios No Esteroideos en Cuerpos de Agua Superficial de Tapachula, Chiapas, México. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: investigación, desarrollo y práctica*, 7(2).

Dalfior Bruna Miurim, Vaughan Jennings Marcus Vinicius Licínio, Geliane dos Santos Gonçalves, Madsom de Godoi Pereira, Rodrigo Moretto Galazzi, Priscilla da Cruz Cosmo, Araceli Verónica Flores Nardy Ribeiro, Joselito Nardy Ribeiro. (2013). Evaluation of coconut mesocarp for removing paracetamol in aqueous medium by batch experiments. *Revista Analytica*.

Darweesh, T. M., & Ahmed, M. J. (2017). Adsorption of ciprofloxacin and norfloxacin from aqueous solution onto granular activated carbon in fixed bed column. *Ecotoxicology and environmental safety*, 138, 139-145

Darweesh, T. M., & Ahmed, M. J. (2017). Batch and fixed bed adsorption of levofloxacin on granular activated carbon from date (*Phoenix dactylifera* L.) stones by KOH chemical activation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 50, 159-166.

Daughton, C. G., & Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. *Environmental health perspectives*, 107(Suppl 6), 907.

De Franco, M. A. E., de Carvalho, C. B., Bonetto, M. M., de Pelegrini Soares, R., & Féris, L. A. (2017). Removal of amoxicillin from water by adsorption onto activated carbon in batch process and fixed bed column: Kinetics, isotherms, experimental design and breakthrough curves modelling. *Journal of Cleaner Production*.

De Lange, H. J., Noordoven, W., Murk, A. J., Lürling, M. F. L. L. W., & Peeters, E. T. H. M. (2006). Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 78(3), 209-216.

Deng, H., Yang, L., Tao, G., & Dai, J. (2009). Preparation and characterization of activated carbon from cotton stalk by microwave assisted chemical activation—application in methylene blue adsorption from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 166(2), 1514-1521.



Díaz Esperanza, Alonso Rocío, Valenciano Rosa, Martínez Inger. (2008). Determinación de retardantes de llama bromados en plásticos de equipos eléctricos y electrónicos.

El Comercio. (2017). Hallan micropartículas de plástico en agua potable de 14 países, entre ellos Ecuador. Recuperado de: <http://www.elcomercio.com/tendencias/particulas-plastico-aguapotable-paises-ecuador.htm>

El Universo. (2010). Los 23 fármacos más vendidos están en la mira de restricciones. Recuperado de: <http://www.eluniverso.com/2010/12/20/1/1356/23-farmacos-mas-vendidos-estan-mira-restricciones.html>

Ezechiáš, M., Covino, S., & Cajthaml, T. (2014). Ecotoxicity and biodegradability of new brominated flame retardants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 110, 153-167.

Faraldos, M., & Goberna, C. (Eds.). (2011). Técnicas de análisis y caracterización de materiales. Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Farooq, U., Kozinski, J. A., Khan, M. A., & Athar, M. (2010). Biosorption of heavy metal ions using wheat based biosorbents—a review of the recent literature. *Bioresource technology*, 101(14), 5043-5053.

Farré, M. (2001). Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *En: J. Chromatogr. A. 2001*.

Federici, G., Shaw, B. J., & Handy, R. D. (2007). Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic toxicology*, 84(4), 415-430. Bour, A.,

Flores Nardy Ribeiro, A. V., Belisário, M., Moretto Galazzi, R., Cazoni Balthazar, D., Godoi Pereira, M. D., & Nardy Ribeiro, J. (2011). Evaluation of two bioadsorbents for removing paracetamol from aqueous media. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14(6), 7.



Fouqueray, M., Dufils, B., Vollat, B., Chaurand, P., Botta, C., Abacci, K., ... & Garric, J. (2012). Effects of aged TiO₂ nanomaterial from sunscreen on *Daphnia magna* exposed by dietary route. *Environmental pollution*, 163, 55-61.

Frias Chicharro, Ana; Gonzalez-Alonso, Silvia; Montero Rubio, Juan Carlos y Valcarcel Rivera, Yolanda. (2014). Estimación del consumo de drogas de abuso y sus metabolitos a partir de su presencia en el agua residual de Talavera de la Reina y en el río Tajo. *Rev. Esp. Salud Publica*.

García Alvear, N. B., & Abad Terán, M. E. (2015). Análisis preliminar de la fitotoxicidad del material particulado sedimentable de la zona urbana de Cuenca.

García-Gómez, C., Gortáres-Moroyoqui, P., & Drogui, P. (2011). Contaminantes emergentes: efectos y tratamientos de remoción. *Química Viva*, 10(2).

Geiger, E., Hornek-Gausterer, R., & Saçan, M. T. (2016). Single and mixture toxicity of pharmaceuticals and chlorophenols to freshwater algae *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 129, 189-198.

Georgaki, I., Vasilaki, E., Katsarakis, N., 2014. A Study on the degradation of carbamazepine and ibuprofen by TiO₂& ZnO photocatalysis upon UV/Visible-Light irradiation. *Am. J. Anal. Chem.* 05, 518e534.

Gibson, R., Durán-Álvarez, J. C., Estrada, K. L., Chávez, A., & Cisneros, B. J. (2010). Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*, 81(11), 1437-1445.

Goertzen, S. L., Thériault, K. D., Oickle, A. M., Tarasuk, A. C., & Andreas, H. A. (2010). Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination. *Carbon*, 48(4), 1252-1261.

Gómez, M. (2006). Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *En: Journal of Chromatography. A. 2006. Vol. 1114, No. 2.*



González Velandia, K. D., Daza Rey, D., Caballero Amado, P. A., & Chadae Martínez, G. (2016). Evaluation of the physical and chemical properties of organic solid waste for use in the preparation of paper. *Luna Azul*, (43), 499-517.

González - Mariño, I., Quintana, J. B., Rodríguez, I., González-Díez, M., & Cela, R. (2012). Screening and selective quantification of illicit drugs in wastewater by mixed-mode solid-phase extraction and quadrupole-time-of-flight liquid chromatography–mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 84(3), 1708-1717.

González-Naranjo, V., & Boltes, K. (2014). Toxicity of ibuprofen and perfluorooctanoic acid for risk assessment of mixtures in aquatic and terrestrial environments. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(6), 1743-1750.

Greene, J. C., Bartels, C. L., Warren-Hicks, W. J., Parkhurst, B. R., & Linder, G. L. (1988). Protocols for short-term toxicity screening of hazardous-waste sites (No. PB-88-235510/XAB; EPA-600/3-88/029). Environmental Protection Agency, Corvallis, OR (USA). Environmental Research Lab.

Halden, R. U., & Paull, D. H. (2005). Co-occurrence of triclocarban and triclosan in US water resources. *Environmental Science & Technology*, 39(6), 1420-1426.

Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lutzhøft HC, Jørgensen SE (1998) *Chemosphere*.

Han, S., Choi, K., Kim, J., Ji, K., Kim, S., Ahn, B., & Giesy, J. P. (2010). Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. *Aquatic Toxicology*, 98(3), 256-264.

Harrison, E.Z., Oakes, S.R., Hysell, M., Hay, A., 2006. Organic chemicals in sewage sludges. *Sci. Total Environ.* 367, 481–497

Hart, F. D., & Huskisson, E. C. (1984). Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs*, 27(3), 232-255.



Hayashi, Y., Heckmann, L. H., Callaghan, A., & Sibly, R. M. (2008). Reproduction recovery of the crustacean *Daphnia magna* after chronic exposure to ibuprofen. *Ecotoxicology*, 17(4), 246-251.

Heberer, T., Gramer, S., & Stan, H. J. (1999). Occurrence and Distribution of Organic Contaminants in the Aquatic System in Berlin. Part III: Determination of Synthetic Musks in Berlin Surface Water Applying Solid-phase Microextraction (SPME) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *CLEAN–Soil, Air, Water*, 27(3), 150-156.

Heberer, T. (2002). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology*, 266(3), 175-189.

Heckmann, L. H., Callaghan, A., Hooper, H. L., Connon, R., Hutchinson, T. H., Maund, S. J., & Sibly, R. M. (2007). Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology letters*, 172(3), 137-145.

Hernando, M. D.; Mezcua, M.; Fernández Alba, A. R. Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*.

Hoeger, B., Köllner, B., Dietrich, D. R., & Hitzfeld, B. (2005). Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). *Aquatic Toxicology*, 75(1), 53-64.

Homem, V.; Santos, L. (2001). Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices - A review. *Journal of Environmental Management*, v. 92, p. 2304-2347, 2011.

Hwang, S., and Cutright, T. J. (2002). "Biodegradability of aged pyrene and phenanthrene in a natural soil." *Chemosphere*.

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., & Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the total environment*, 346(1), 87-98.



Jain, M., Garg, V. K., & Kadirvelu, K. (2010). Adsorption of hexavalent chromium from aqueous medium onto carbonaceous adsorbents prepared from waste biomass. *Journal of Environmental Management*, 91(4), 949-957.

Ji, K., Liu, X., Lee, S., Kang, S., Kho, Y., Giesy, J. P., & Choi, K. (2013). Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on hormones and genes of the hypothalamic-pituitary-gonad axis, and reproduction of zebrafish. *Journal of hazardous materials*, 254, 242-251.

Jiménez Cartagena, C. (2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. *Revista lasallista de investigación*, 8(2).

Jones-Lepp, T. L., Alvarez, D. A., Petty, J. D., & Huckins, J. N. (2004). Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography–electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(4), 427-439.

Kalaji, H. M., & Rastogi, A. (2017). Pharmaceutical Compounds: An Emerging Pollutant (A Review on Plant-pharmaceuticals Interaction). *CHIANG MAI JOURNAL OF SCIENCE*, 44(2), 287-297.

Kaur, A., Umar, A., & Kansal, S. K. (2016). Heterogeneous photocatalytic studies of analgesic and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Applied Catalysis A: General*, 510, 134-155.

Kim, J. W., Ishibashi, H., Yamauchi, R., Ichikawa, N., Takao, Y., Hirano, M., & Arizono, K. (2009). Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). *The Journal of toxicological sciences*, 34(2), 227-232.

Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999– 2000: A national reconnaissance. *Environmental science & technology*, 36(6), 1202-1211.



Larous, S., & Meniai, A. H. (2016). Adsorption of Diclofenac from aqueous solution using activated carbon prepared from olive stones. *International Journal of Hydrogen Energy*.

Libralato, G., Prato, E., Migliore, L., Cicero, A. M., & Manfra, L. (2016). A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. *Ecological Indicators*, 69, 35-49.

Lindström, A., Buerge, I. J., Poiger, T., Bergqvist, P. A., Müller, M. D., & Buser, H. R. (2002). Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. *Environmental science & technology*, 36(11), 2322-2329.

Li, W. C. (2014). Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution*, 187, 193-201.

Lopez-Avila, V., & Hites, R. A. (1980). Organic compounds in an industrial wastewater. Their transport into sediments. *Environmental Science & Technology*, 14(11), 1382-1390.

Madhavan, J., Grieser, F., & Ashokkumar, M. (2010). Combined advanced oxidation processes for the synergistic degradation of ibuprofen in aqueous environments. *Journal of Hazardous Materials*, 178(1), 202-208.

Marković, M., Jović, M., Stanković, D., Kovačević, V., Roglić, G., Gojgić-Cvijović, G., & Manojlović, D. (2015). Application of non-thermal plasma reactor and Fenton reaction for degradation of ibuprofen. *Science of the Total Environment*, 505, 1148-1155.

Masache Galván, C. A. (2016). Análisis estratégico sobre el consumo y comercialización de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos genéricos y de marca en el Distrito Metropolitano de Quito (Master's thesis, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Maestría en Planificación y Dirección Estratégica.).



- Matamoros, V., & Bayona, J. M. (2006). Elimination of pharmaceuticals and personal care products in subsurface flow constructed wetlands. *Environmental science & technology*, 40(18), 5811-5816.
- McAvoy, D. C., Schatowitz, B., Jacob, M., Hauk, A., & Eckhoff, W. S. (2002). Measurement of triclosan in wastewater treatment systems. *Environmental toxicology and chemistry*, 21(7), 1323-1329.
- Méndez-Arriaga, F., Torres-Palma, R. A., Pétrier, C., Esplugas, S., Gimenez, J., & Pulgarin, C. (2008). Ultrasonic treatment of water contaminated with ibuprofen. *Water Research*, 42(16), 4243-4248.
- Mestanza, F., & Pamo, O. (1992). Estudio muestral del consumo de medicamentos y automedicación en Lima Metropolitana. *Rev. méd. hered*, 3(3), 101-8.
- Mestre, A. S., Pires, J., Nogueira, J. M. F., & Carvalho, A. P. (2007). Activated carbons for the adsorption of ibuprofen. *Carbon*, 45(10), 1979-1988.
- Metcalf, L., Eddy, H. P., & Tchobanoglous, G. (1991). *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*. McGraw-Hill, New York.
- Mezzelani, M., Gorbi, S., Da Ros, Z., Fattorini, D., d'Errico, G., Milan, M., ... & Regoli, F. (2016). Ecotoxicological potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in marine organisms: Bioavailability, biomarkers and natural occurrence in *Mytilus galloprovincialis*. *Marine environmental research*.
- Mompelat, S., Le Bot, B., & Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment international*, 35(5), 803-814.
- Mondal, S., Aikat, K., & Halder, G. (2016). Biosorptive uptake of ibuprofen by chemically modified *Parthenium hysterophorus* derived biochar: Equilibrium, kinetics, thermodynamics and modeling. *Ecological Engineering*, 92, 158-172
- Mondal, S., Bobde, K., Aikat, K., & Halder, G. (2016). Biosorptive uptake of ibuprofen by steam activated biochar derived from mung bean husk: Equilibrium, kinetics,



thermodynamics, modeling and eco-toxicological studies. *Journal of Environmental Management*, 182, 581-594.

Mouchet, F., Silvestre, J., Gauthier, L., & Pinelli, E. (2015). Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: A review. *Journal of hazardous materials*, 283, 764-777.

Naidu, R., Espana, V. A. A., Liu, Y., & Jit, J. (2016). Emerging contaminants in the environment: Risk-based analysis for better management. *Chemosphere*, 154, 350-357.

Naidu, R., Jit, J., Kennedy, B., & Arias, V. (2016). Emerging contaminant uncertainties and policy: The chicken or the egg conundrum. *Chemosphere*, 154, 385-390.

Núñez Solís Jorge (1981). *Fundamentos de Edafología*. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José Costa Rica.

Nguyen, T. A. H., Ngo, H. H., Guo, W. S., Zhang, J., Liang, S., Yue, Q. Y., & Nguyen, T. V. (2013). Applicability of agricultural waste and by-products for adsorptive removal of heavy metals from wastewater. *Bioresource Technology*, 148, 574-585.

Ollers, S., Singer, H. P., Fässler, P., & Müller, S. R. (2001). Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. *Journal of chromatography A*, 911(2), 225-234.

Ortega, G. C. (2013). Adsorción por lote y en una columna de lecho fijo del colorante B39 sobre carbón activado granular. *Prospectiva*, 11(1), 66-75.

Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M., & Gin, K. Y. H. (2014). Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environment international*, 71, 46-62.



Pal, R., Megharaj, M., Kirkbride, K. P., & Naidu, R. (2013). Illicit drugs and the environment—a review. *Science of the Total Environment*, 463, 1079-1092.

Peck, A. M. (2006). Analytical methods for the determination of persistent ingredients of personal care products in environmental matrices. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 386(4), 907-939.

Peña-Álvarez, A., & Castillo-Alanís, A. (2015). Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 18(1), 29-42.

Pereira, R. O., Postigo, C., de Alda, M. L., Daniel, L. A., & Barceló, D. (2011). Removal of estrogens through water disinfection processes and formation of by-products. *Chemosphere*, 82(6), 789-799.

Persoone, G., & Wells, P. G. (1987). Artemia in aquatic toxicology: a review. *Artemia research and its applications*, 1, 259-275.

Petrie, B., Barden, R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2015). A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research*, 72, 3-27.

Pietrini, F., Di Baccio, D., Aceña, J., Pérez, S., Barceló, D., & Zacchini, M. (2015). Ibuprofen exposure in *Lemna gibba* L.: Evaluation of growth and phytotoxic indicators, detection of ibuprofen and identification of its metabolites in plant and in the medium. *Journal of hazardous materials*, 300, 189-193.

Pino Pérez, Oriela, & Jorge Lazo, Fanny. (2010). ENSAYO DE ARTEMIA: ÚTIL HERRAMIENTA DE TRABAJO PARA ECOTOXICÓLOGOS Y QUÍMICOS DE PRODUCTOS NATURALES. *Revista de Protección Vegetal*, 25(1), 34-43

Pino, M. R., Muñiz, S., Val, J., & Navarro, E. (2016). Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of *Lactuca sativa* and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(22), 22530-22541.



Pomati, F., Netting, A. G., Calamari, D., & Neilan, B. A. (2004). Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology*, 67(4), 387-396.

Pounds, N., Maclean, S., Webley, M., Pascoe, D., & Hutchinson, T. (2008). Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Ecotoxicology and environmental Safety*, 70(1), 47-52.

Quinn, B., Gagné, F., & Blaise, C. (2008). An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of the total environment*, 389(2), 306-3.

Quiroz, C. J. C., & Lopez, A. V. (2017). Aplicación de bioensayos en la medición de toxicidad por metales pesados en fuentes superficiales de agua para consumo humano. *CIENCIA & DESARROLLO*, (10).

Ragugnetti, M., Adams, M. L., Guimarães, A. T., Sponchiado, G., de Vasconcelos, E. C., & de Oliveira, C. M. R. (2011). Ibuprofen genotoxicity in aquatic environment: an experimental model using *Oreochromis niloticus*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 218(1-4), 361-364.

Rainsford, K. D. (2013). *Ibuprofen: pharmacology, therapeutics and side effects*. Springer Science & Business Media.

Rajabi, S., Ramazani, A., Hamidi, M., & Naji, T. (2015). *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 20

Ramsden, C. S., Smith, T. J., Shaw, B. J., & Handy, R. D. (2009). Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. *Ecotoxicology*, 18(7), 939-951.

Rangel, V. M. M., Martínez-Flores, H. E., Martínez, R. C., & Cuevas, R. A. BIOSORCIÓN DE ARSENICO (V) UTILIZANDO RESIDUOS DE LIMÓN (*Citrus aurantifolia* var. *swingle*).



Reddy, D. H. K., Seshaiyah, K., Reddy, A. V. R., & Lee, S. M. (2012). Optimization of Cd (II), Cu (II) and Ni (II) biosorption by chemically modified *Moringa oleifera* leaves powder. *Carbohydrate Polymers*, 88(3), 1077-1086.

Rede, D., Santos, L. H., Ramos, S., Oliva-Teles, F., Antão, C., Sousa, S. R., & Delerue-Matos, C. (2016). Ecotoxicological impact of two soil remediation treatments in *Lactuca sativa* seeds. *Chemosphere*, 159, 193-198

Richardson, S. D., & Ternes, T. A. (2011). Water analysis: emerging contaminants and current issues. *Analytical chemistry*, 83(12), 4614-4648.

Rincón, R., & Marisol, J. (2010). Estudio del proceso de biosorción de colorantes sobre Borra (Cuncho) de café (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).

Rodriguez, O., Peralta-Hernandez, J. M., Goonetilleke, A., & Bandala, E. R. (2017). Treatment Technologies for Emerging Contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*.

Rodríguez, P., Giraldo, L., & Moreno, J. C. (2010). Influencia del pH sobre la adsorción en carbón activado de Cd (II) y Ni (II) desde soluciones acuosas. *Revista Colombiana de Química*, 39(3), 401

Rubio Ainhoa, Chica Edwin, Peñuela Gustavo Antonio. (2013). Procesos de tratamiento de aguas residuales para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes. *Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science* 2013.

Sandstrom, M. W., Kolpin, D. W., Thurman, E. M., & Zaugg, S. D. (2005). Widespread detection of N, N-diethyl-m-toluamide in US Streams: Comparison with concentrations of pesticides, personal care products, and other organic wastewater compounds. *Environmental toxicology and chemistry*, 24(5), 1029-1034.

Santos, J. L., Aparicio, I., & Alonso, E. (2007). Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). *Environment International*, 33(4), 596-601.



Santos, L. H., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of hazardous materials*, 175(1), 45-95.

Saucier, C., Adebayo, M. A., Lima, E. C., Cataluña, R., Thue, P. S., Prola, L. D., ... & Dotto, G. L. (2015). Microwave-assisted activated carbon from cocoa shell as adsorbent for removal of sodium diclofenac and nimesulide from aqueous effluents. *Journal of hazardous materials*, 289, 18-27.

Schmidt, W., Redshaw, C.H., 2015. Evaluation of biological endpoints in crop plants after exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): implications for phytotoxicological assessment of novel contaminants. *Ecotoxicol. Environ.Saf.* 112, 212e222

Schmitt-Jansen, M., Bartels, P., Adler, N., & Altenburger, R. (2007). Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387(4), 1389-1396.

Taty-Costodes, V. C., Fauduet, H., Porte, C., & Ho, Y. S. (2005). Removal of lead (II) ions from synthetic and real effluents using immobilized *Pinus sylvestris* sawdust: adsorption on a fixed-bed column. *Journal of Hazardous Materials*, 123(1), 135-14.

Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, Á., & Garcés-Jaraba, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecnología*, 18(34), 109-123.

Thomas, K. V., & Hilton, M. J. (2004). The occurrence of selected human pharmaceutical compounds in UK estuaries. *Marine pollution bulletin*, 49(5), 436-444.

Treviño Cardona, B. I., & Gómez de la Fuente, I. (2002). Obtención de fases del cemento utilizando desechos agrícolas e industriales. *Ciência Uanl*, 5(2).

Triebkorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Köhler, H. R., & Schwaiger, J. (2004). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part II.



Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology*, 68(2), 151-166.

Unrine, J. M., Shoults-Wilson, W. A., Zhurbich, O., Bertsch, P. M., & Tsyusko, O. V. (2012). Trophic transfer of Au nanoparticles from soil along a simulated terrestrial food chain. *Environmental science & technology*, 46(17), 9753-9760.

U.S. EPA, 1996. Ecological effects test guidelines(OPPTS 850.4200): Seed germination/root elongation toxicity test

Vanhaecke, P., Persoone, G., 1981. Report on an intercalibration exercise on a short-term standard toxicity test with *Artemia nauplii*, 370–376.

Vera, L., Uguña, M. F., García, N., Flores, M., Vázquez, V., & Aloma, I. (2016). Desarrollo de materiales sorbentes para la eliminación de metales pesados de las aguas residuales mineras. *Afinidad*, 73(574).

Vera, L., Uguña, M. F., García, N., Marittza, F., & Vázquez, V. (2016). Eliminación de los metales pesados de las aguas residuales mineras utilizando el bagazo de caña como biosorbente. *Afinidad*, 73(573).

Villa, F. A. A., & Anaguano, A. H. (2013). Determinación del punto de carga cero y punto isoeléctrico de dos residuos agrícolas y su aplicación en la remoción de colorantes/Determination of the point of zero charge and isoelectric point of two agricultural wastes and their application in the removal of colorants/Determinação do ponto de carga zero e ponto isoelétrico de dois resíduos agrícolas e sua aplicação na remoção de corantes. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 4(2), 27.

Vismara Claudio (1998), Effects of methanol, ethanol and n-propanol on development of *Artemia salina* cysts, In *Chemosphere*, Volume 37, Issues 14–15, 1998, Pages 3027-3034, ISSN 0045-6535.

Voloshenko-Rossin, A., Gasser, G., Cohen, K., Gun, J., Cumbal-Flores, L., Parra-Esmeraldas rivers. (2015). Emerging pollutants in the Esmeraldas watershed in Ecuador: discharge and attenuation of emerging organic pollutants along the San Pedro–Guayllabamba–. *Environmental Science: Processes & Impacts* Morales



Vučurović, V. M., Razmovski, R. N., Miljić, U. D., & Puškaš, V. S. (2014). Removal of cationic and anionic azo dyes from aqueous solutions by adsorption on maize stem tissue. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(4), 1700-1708.

Weigel, S., Berger, U., Jensen, E., Kallenborn, R., Thoresen, H., & Hühnerfuss, H. (2004). Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. *Chemosphere*, 56(6), 583-592.

Wiegel, S., Aulinger, A., Brockmeyer, R., Harms, H., Löffler, J., Reincke, H., ... & Wanke, A. (2004). Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere*, 57(2), 107-126

Yamagishi, T., Miyazaki, T., Horii, S., & Kaneko, S. (1981). Identification of musk xylene and musk ketone in freshwater fish collected from the Tama River, Tokyo. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(1), 656-662.

Yan, G., Viraraghavan, T., & Chen, M. (2001). A new model for heavy metal removal in a biosorption column. *Adsorption Science & Technology*, 19(1), 25-43.

Yan, S., Subramanian, S. B., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Zhang, T. C. (2009). Emerging contaminants of environmental concern: source, transport, fate, and treatment. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, 14(1), 2-20.

Yang, Y., Ok, Y. S., Kim, K. H., Kwon, E. E., & Tsang, Y. F. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment*, 596, 303-320.

Zacarias, V. H. R., Machuca, M. A. V., Soto, J. L. M., Equihua, J. L. P., Cardona, A. A. V., Calvillo, M. D. L., & González, J. V. (2017). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano industriales de morelia, michoacán, méxico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(2), 221-235.



Zgheib, S., Moilleron, R., Saad, M., & Chebbo, G. (2011). Partition of pollution between dissolved and particulate phases: what about emerging substances in urban stormwater catchments?. *Water Research*, 45(2), 913-925.

Zhang, F. S., Xie, Y. F., Li, X. W., Wang, D. Y., Yang, L. S., & Nie, Z. Q. (2015). Accumulation of steroid hormones in soil and its adjacent aquatic environment from a typical intensive vegetable cultivation of North China. *Science of the Total Environment*, 538, 423-430.



ANEXOS

ANEXO 1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO SEMILLAS DE CEBOLLÍN Y LECHUGA EXPUESTAS A METANOL.

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos			
	Concentraciones_Metanol	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	Metanol 0,1%	60	60,56
	Control Agua Destilada	60	60,44
	Total	120	
Hipocótilo_Cebollín	Metanol 0,1%	59	59,30
	Control Agua Destilada	60	60,69
	Total	119	

Estadísticos de contraste ^{a,b}		
	Radícula_Cebollín	Hipocótilo_Cebollín
Chi-cuadrado	,000	,049
gl	1	1
Sig. asintót.	,985	,825

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones_Metanol

Rangos			
	Concentraciones_Metanol	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	Metanol 0,5%	60	57,80
	Control Agua Destilada	60	63,20
	Total	120	
Hipocótilo_Cebollín	Metanol 0,5%	60	58,06
	Control Agua Destilada	60	62,94
	Total	120	

Estadísticos de contraste ^{a,b}		
	Radícula_Cebollín	Hipocótilo_Cebollín
Chi-cuadrado	,728	,593
gl	1	1
Sig. asintót.	,394	,441

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones_Metanol

Rangos			
	Concentraciones_Metanol	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	Metanol 1%	60	57,38
	Control Agua Destilada	60	63,63
	Total	120	
Hipocótilo_Cebollín	Metanol 1%	60	60,05
	Control Agua Destilada	60	60,95
	Total	120	

Estadísticos de contraste ^{a,b}		
	Radícula_Cebollín	Hipocótilo_Cebollín
Chi-cuadrado	,972	,020
gl	1	1
Sig. asintót.	,324	,887

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones_Metanol



Rangos

	Concentraciones_Metano	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	Metanol 5 %	60	41,62
	Control Agua Destilada	60	79,38
	Total	120	
Hipocótilo_Cebollín	Metanol 5 %	60	30,50
	Control Agua Destilada	60	90,50
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Cebollín	Hipocótilo_Cebollín
Chi-cuadrado	35,491	89,490
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones_Metano

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	Metanol 0,1 %	60	60,89
	Control Agua destilada	60	60,11
	Total	120	
Hipocótilo_Lechuga	Metanol 0,1 %	60	57,93
	Control Agua destilada	60	63,08
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lechuga	Hipocótilo_Lechuga
Chi-cuadrado	,015	,662
gl	1	1
Sig. asintót.	,902	,416

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	Metanol 0,5 %	60	59,16
	Control Agua destilada	60	61,84
	Total	120	
Hipocótilo_Lechuga	Metanol 0,5 %	60	55,29
	Control Agua destilada	60	65,71
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lechuga	Hipocótilo_Lechuga
Chi-cuadrado	,179	2,701
gl	1	1
Sig. asintót.	,672	,100

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	Metanol 1 %	60	57,29
	Control Agua destilada	60	63,71
	Total	120	
Hipocótilo_Lechuga	Metanol 1 %	60	56,56
	Control Agua destilada	60	64,44
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lechuga	Hipocótilo_Lechuga
Chi-cuadrado	1,025	1,547
gl	1	1
Sig. asintót.	,311	,214

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones



Rangos				Estadísticos de contraste ^{a,b}			
Concentraciones		N	Rango promedio		Radícula_Lec huga	Hipocótilo_Le chuga	
Radícula_Lechuga	Metanol 5%	60	30,85	Chi-cuadrado	87,418	78,050	
	Control Agua destilada	60	90,15		gl	1	1
	Total	120			Sig. asintót.	,000	,000
Hipocótilo_Lechuga	Metanol 5%	60	32,49	a. Prueba de Kruskal-Wallis			
	Control Agua destilada	60	88,51	b. Variable de agrupación: Concentraciones			
	Total	120					

ANEXO 2. ANALISIS PROBIT PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CL50 DE IBUPROFENO SOBRE ARTEMIA SALINA

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		6
Rechazados	Perdidos	0
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		1

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Concentración	4,385	1,831	2,395	,017	,796	7,974
Intersección	-5,439	2,250	-2,417	,016	-7,688	-3,189

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

Covarianzas y correlaciones de estimaciones de los parámetros

		Concentración	Respuesta natural
		n	
PROBIT	Concentración	3,353	,480
	Respuesta natural	,021	,001

Covarianzas (abajo) y correlaciones (arriba).

Estimación de tasa de respuesta natural

	Grupo control		Estimación	Error típico
	Número de sujetos	Número de respuestas		
PROBIT	30	0	,054	,024



Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	1,462	3	,691 ^a

a. Como el nivel de significación es mayor que ,050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para log (Concentración) ^a		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
,010	5,125	,024	8,932	,710	-1,616	,951
,020	5,914	,053	9,693	,772	-1,275	,986
,030	6,476	,087	10,215	,811	-1,059	1,009
,040	6,934	,127	10,629	,841	-,896	1,026
,050	7,330	,172	10,981	,865	-,764	1,041
,060	7,685	,223	11,293	,886	-,652	1,053
,070	8,011	,279	11,576	,904	-,554	1,064
,080	8,314	,342	11,837	,920	-,466	1,073
,090	8,599	,411	12,082	,934	-,386	1,082
,100	8,871	,487	12,314	,948	-,312	1,090
,150	10,089	,980	13,355	1,004	-,009	1,126
,200	11,176	1,699	14,308	1,048	,230	1,156
,250	12,201	2,709	15,267	1,086	,433	1,184
,300	13,201	4,084	16,324	1,121	,611	1,213
,350	14,201	5,889	17,617	1,152	,770	1,246
,400	15,220	8,123	19,433	1,182	,910	1,289
,450	16,276	10,589	22,375	1,212	1,025	1,350
,500	17,386	12,855	27,485	1,240	1,109	1,439
,550	18,572	14,639	35,991	1,269	1,166	1,556
,600	19,859	16,030	49,334	1,298	1,205	1,693
,650	21,284	17,208	69,923	1,328	1,236	1,845
,700	22,897	18,305	102,298	1,360	1,263	2,010
,750	24,774	19,412	155,474	1,394	1,288	2,192
,800	27,046	20,611	249,152	1,432	1,314	2,396
,850	29,959	22,010	433,523	1,477	1,343	2,637
,900	34,074	23,818	873,539	1,532	1,377	2,941
,910	35,150	24,266	1035,025	1,546	1,385	3,015
,920	36,358	24,759	1244,633	1,561	1,394	3,095
,930	37,733	25,310	1524,643	1,577	1,403	3,183
,940	39,331	25,935	1912,760	1,595	1,414	3,282
,950	41,236	26,662	2477,805	1,615	1,426	3,394
,960	43,592	27,537	3359,068	1,639	1,440	3,526
,970	46,674	28,644	4884,179	1,669	1,457	3,689
,980	51,111	30,175	8036,282	1,709	1,480	3,905
,990	58,976	32,736	17627,112	1,771	1,515	4,246

a. Base del logaritmo = 10.



ANEXO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA SEMILLAS DE CEBOLLÍN Y LECHUGA EXPUESTAS A SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO

Estadísticos Descriptivos

Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Radicula_Cebollín	Control Agua Destilada	60	16,0000	5,34885	,69053	14,6182	17,3818	,00	26,00
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	16,2500	5,31587	,68628	14,8768	17,6232	,00	25,00
	0,5 mgL-1	60	15,9500	6,37640	,82319	14,3028	17,5972	,00	28,00
	1 mgL-1	60	13,6833	7,88797	1,01833	11,6457	15,7210	,00	25,00
	2 mgL-1	60	14,7833	7,43809	,96025	12,8619	16,7048	,00	30,00
	5 mgL-1	60	15,4833	8,17705	1,05565	13,3710	17,5957	,00	31,00
	10 mgL-1	60	14,4667	5,76508	,74427	12,9774	15,9559	,00	24,00
	20 mgL-1	60	13,8167	5,41339	,69887	12,4182	15,2151	,00	24,00
	Total	480	15,0542	6,58216	,30043	14,4638	15,6445	,00	31,00
Hipocótilo_Cebollín	Control Agua Destilada	60	25,6667	8,82152	1,13885	23,3878	27,9455	,00	41,00
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	25,3833	8,35259	1,07832	23,2256	27,5410	,00	40,00
	0,5 mgL-1	60	24,0333	9,70229	1,25256	21,5270	26,5397	,00	40,00
	1 mgL-1	60	21,8500	12,54662	1,61976	18,6089	25,0911	,00	47,00
	2 mgL-1	60	24,0000	12,09847	1,56191	20,8746	27,1254	,00	44,00
	5 mgL-1	60	24,7500	12,64995	1,63310	21,4822	28,0178	,00	44,00
	10 mgL-1	60	24,4667	8,91859	1,15138	22,1628	26,7706	,00	45,00
	20 mgL-1	60	22,3167	8,84038	1,14129	20,0330	24,6004	,00	36,00
	Total	480	24,0583	10,38953	,47421	23,1265	24,9901	,00	47,00

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Radicula_Lechuga	Control Agua destilada	60	24,4667	6,62933	,85584	22,7541	26,1792	6,00	41,00
	Control solvente Metanol 0,1%	60	24,1833	5,88158	,75931	22,6640	25,7027	2,00	37,00
	0,5 mgL-1	60	25,9500	8,20588	1,05937	23,8302	28,0698	,00	42,00
	1 mgL-1	60	43,2167	9,57945	1,23670	40,7420	45,6913	4,00	56,00
	2 mgL-1	60	41,9333	10,86569	1,40275	39,1264	44,7402	,00	63,00
	5 mgL-1	60	43,3500	13,28925	1,71564	39,9170	46,7830	,00	62,00
	10 mgL-1	60	43,7000	13,50367	1,74332	40,2116	47,1884	,00	59,00
	20 mgL-1	60	48,2333	8,03882	1,03781	46,1567	50,3100	6,00	59,00
	Total	480	36,8792	13,63412	,62231	35,6564	38,1020	,00	63,00
Hipocotilo_Lechuga	Control Agua destilada	60	25,4667	5,28659	,68250	24,1010	26,8323	4,00	33,00
	Control solvente Metanol 0,1%	60	25,8667	4,45492	,57513	24,7158	27,0175	4,00	33,00
	0,5 mgL-1	60	27,4500	6,22032	,80304	25,8431	29,0569	,00	39,00
	1 mgL-1	60	28,0667	6,14201	,79293	26,4800	29,6533	2,00	38,00
	2 mgL-1	60	27,7000	6,14045	,79273	26,1138	29,2862	,00	40,00
	5 mgL-1	60	28,1500	7,84992	1,01342	26,1222	30,1778	,00	39,00
	10 mgL-1	60	29,0250	8,53925	1,10241	26,8191	31,2309	,00	39,00
	20 mgL-1	60	29,6500	4,79698	,61929	28,4108	30,8892	5,00	37,00
	Total	480	27,6719	6,41413	,29276	27,0966	28,2471	,00	40,00



ANEXO 4. PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA COMPARACIÓN ENTRE LOS CONTROLES NEGATIVOS PARA LAS SEMILLAS DE CEBOLLÍN Y LECHUGA

Diferencias Significativas en controles negativos para Cebollín y Lechuga

Prueba de Mann-Whitney

Rangos				Estadísticos de contraste ^a			
Cebollín		N	Rango promedio	Suma de rangos	Radícula	Hipocótilo	
Radícula	Control Agua Destilada	60	59,04	3542,50	U de Mann-Whitney	1712,500	1753,500
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	61,96	3717,50	W de Wilcoxon	3542,500	3583,500
	Total	120			Z	-,461	-,244
Hipocótilo	Control Agua Destilada	60	61,28	3676,50	Sig. asintót. (bilateral)	,645	,807
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	59,73	3583,50			
	Total	120					

a. Variable de agrupación: Cebollín

Diferencias Significativas en controles negativos para Lechuga

Rangos				Estadísticos de contraste ^a			
Concentraciones		N	Rango promedio	Suma de rangos	Radícula_Lechuga	Hipocotilo_Lechuga	
Radícula_Lechuga	Control Agua destilada	60	60,45	3627,00	U de Mann-Whitney	1797,000	1696,500
	Control solvente Metanol 0,1%	60	60,55	3633,00	W de Wilcoxon	3627,000	3526,500
	Total	120			Z	-,016	-,545
Hipocotilo_Lechuga	Control Agua destilada	60	58,78	3526,50	Sig. asintót. (bilateral)	,987	,585
	Control solvente Metanol 0,1%	60	62,23	3733,50			
	Total	120					

a. Variable de agrupación: Concentraciones



ANEXO 5. PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA COMPARACIÓN DE LA ENLONGACIÓN DE LA RADÍCULA E HIPOCÓTILO ENTRE LAS SEMILLAS EN EL CONTROL NEGATIVO Y LAS EXPUESTAS A SOLUCIONES ACUOSAS DE IBUPROFENO.

Diferencias Significativas entre controles negativos y concentraciones de ibuprofeno para Cebollín

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos				Estadísticos de contraste ^{a,b}		
	Concentraciones	N	Rango promedio		Radícula_Ce bollín	Hipocótilo_Ce bollín
Radícula_Cebollín	0,5 mgL-1	60	60,42	Chi-cuadrado	,001	,375
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	60,58	gl	1	1
	Total	120		Sig. asintót.	,979	,540
Hipocótilo_Cebollín	0,5 mgL-1	60	58,56	a. Prueba de Kruskal-Wallis		
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	62,44	b. Variable de agrupación: Concentraciones		
	Total	120				

Rangos				Estadísticos de contraste ^{a,b}		
	Concentraciones	N	Rango promedio		Radícula_Ce bollín	Hipocótilo_Ce bollín
Radícula_Cebollín	1 mgL-1	60	55,63	Chi-cuadrado	7,372	6,134
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	65,38	gl	1	1
	Total	120		Sig. asintót.	,024	,087
Hipocótilo_Cebollín	1 mgL-1	60	57,13	a. Prueba de Kruskal-Wallis		
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	63,88	b. Variable de agrupación: Concentraciones		
	Total	120				

Rangos				Estadísticos de contraste ^{a,b}		
	Concentraciones	N	Rango promedio		Radícula_Ce bollín	Hipocótilo_Ce bollín
Radícula_Cebollín	2 mgL-1	60	58,39	Chi-cuadrado	,443	,015
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	62,61	gl	1	1
	Total	120		Sig. asintót.	,506	,902
Hipocótilo_Cebollín	2 mgL-1	60	60,11	a. Prueba de Kruskal-Wallis		
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	60,89	b. Variable de agrupación: Concentraciones		
	Total	120				



Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	5 mgL-1	60	60,50
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	60,50
	Total	120	
Hipocótulo_Cebollín	5 mgL-1	60	62,71
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	58,29
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Ce bollín	Hipocótulo_Ce bollín
Chi-cuadrado	,000	,485
gl	1	1
Sig. asintót.	1,000	,486

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	10 mgL-1	60	55,09
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	65,91
	Total	120	
Hipocótulo_Cebollín	10 mgL-1	60	58,08
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	62,92
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Ce bollín	Hipocótulo_Ce bollín
Chi-cuadrado	2,919	,581
gl	1	1
Sig. asintót.	,088	,446

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Cebollín	20 mgL-1	60	52,25
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	68,75
	Total	120	
Hipocótulo_Cebollín	20 mgL-1	60	54,02
	Control Solvente Metanol 0,1%	60	66,98
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Ce bollín	Hipocótulo_Ce bollín
Chi-cuadrado	6,793	4,183
gl	1	1
Sig. asintót.	,009	,041

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Diferencias Significativas entre controles negativos y concentraciones de ibuprofeno para Lechuga

Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	0,5 mgL-1	60	65,01
	Control solvente Metanol 0,1%	60	55,99
	Total	120	
Hipocotilo_Lechuga	0,5 mgL-1	60	69,08
	Control solvente Metanol 0,1%	60	51,92
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lec huga	Hipocotilo_Le chuga
Chi-cuadrado	2,021	7,365
gl	1	1
Sig. asintót.	,155	,007

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones



Rangos

Concentraciones		N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	1 mgL-1	60	88,11
	Control solvente Metanol 0,1%	60	32,89
	Total	120	
Hipocotilo_Lechuga	1 mgL-1	60	71,58
	Control solvente Metanol 0,1%	60	49,43
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lec huga	Hipocotilo_Le chuga
Chi-cuadrado	75,711	12,276
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

Concentraciones		N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	2 mgL-1	60	87,18
	Control solvente Metanol 0,1%	60	33,82
	Total	120	
Hipocotilo_Lechuga	2 mgL-1	60	70,44
	Control solvente Metanol 0,1%	60	50,56
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lec huga	Hipocotilo_Le chuga
Chi-cuadrado	70,697	9,898
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,002

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

Concentraciones		N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	5 mgL-1	60	84,43
	Control solvente Metanol 0,1%	60	36,57
	Total	120	
Hipocotilo_Lechuga	5 mgL-1	60	72,47
	Control solvente Metanol 0,1%	60	48,53
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lec huga	Hipocotilo_Le chuga
Chi-cuadrado	56,862	14,275
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones

Rangos

Concentraciones		N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	10 mgL-1	60	85,44
	Control solvente Metanol 0,1%	60	35,56
	Total	120	
Hipocotilo_Lechuga	10 mgL-1	60	79,13
	Control solvente Metanol 0,1%	60	41,88
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lec huga	Hipocotilo_Le chuga
Chi-cuadrado	61,778	34,623
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones



Rangos

	Concentraciones	N	Rango promedio
Radícula_Lechuga	20 mgL-1	60	89,46
	Control solvente Metanol 0,1 %	60	31,54
	Total	120	
Hipocotilo_Lechuga	20 mgL-1	60	76,50
	Control solvente Metanol 0,1 %	60	44,50
	Total	120	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Radícula_Lechuga	Hipocotilo_Lechuga
Chi-cuadrado	83,245	25,656
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Concentraciones