



Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Ambientales
Ingeniería Ambiental



Aproximación a la evaluación del riesgo ecológico por nanopartículas de cobre en cuerpos de agua dulce.

Habilitación presentada para optar al título de Ingeniero Ambiental

Joaquín René Cisternas Parra

Profesor Guía: Dra. Roberto Urrutia Pérez

Concepción (Chile), 2026.



**“APROXIMACIÓN A LA EVALUACIÓN DEL RIESGO ECOLÓGICO POR
NANOPARTICULAS DE COBRE EN CUERPOS DE AGUA DULCE”**

Profesor Guía: Dr. Roberto Urrutia Pérez

Profesor Comisión: Dra. Carolina Baeza Freer

Profesor Comisión: Dr. Mauricio Aguayo Arias

CONCEPTO: APROBADO CON DISTINCIÓN MÁXIMA

Conceptos que se indica en el Título

- ✓ Aprobado por Unanimidad : (En Escala de 4,0 a 4,9)
- ✓ Aprobado con Distinción (En Escala de 5,0 a 5,6)
- ✓ Aprobado con Distinción Máxima (En Escala de 5,7 a 7,0)

Concepción, junio 2026

Índice de contenido

1. 7

2. 7

2.1 8

2.2 8

2.3 ¡Error! Marcador no definido.

3. 9

Riesgo ecológico9

Riesgo ecológico en cuerpos de agua dulce9

Determinación del riesgo ecológico9

Contaminantes emergentes9

Nanopartículas10

Aplicaciones de las nanopartículas13

Problemas ambientales asociados14

Nanopartículas de cobre15

Síntesis de nanopartículas de cobre16

Síntesis física y química16

Síntesis verde16

Síntesis mediada por extractos de plantas y frutas17

Síntesis mediada por bacterias y hongos17

Síntesis mediada por algas17

Toxicidad de nanopartículas de cobre en el ambiente17

Mecanismo de acción18

Daphnia Magna y Hormésis.19

Nanopartículas de cobre en Daphnia Magna20

Bioacumulación en Daphnia Magna22

Nanopartículas durante la pandemia de COVID-1922

4. 23

Bioensayo de toxicidad aguda24

Bioensayo de toxicidad aguda25

Bioensayo de toxicidad crónica26

5. 26

6. 30

6.1 **¡Error! Marcador no definido.**

6.1.1 **¡Error! Marcador no definido.**

6.1.2 30

6.1.3 31

6.2 33

6.2.1 34

6.2.2 34

6.2.3 34

6.2.4 40

6.3 **¡Error! Marcador no definido.**

6.3.1 **¡Error! Marcador no definido.**

6.3.2 **¡Error! Marcador no definido.**

6.3.3 **¡Error! Marcador no definido.**

6.3.4 **¡Error! Marcador no definido.**

7. 44

Bibliografía46

Índice de tablas

Tabla 1: Características de nanopartículas basadas en metales 11

Tabla 2: Efectos medioambientales de las nanopartículas a base de metales 14

Tabla 3: Factores relacionados con la toxicidad de las nanopartículas de cobre en Daphnia Magna	20
Tabla 4: Efecto agudo y crónico de nanopartículas de cobre	21
Tabla 5 Concentración letal media	33
Tabla 6 Concentraciones subletales	34
Tabla 7 " Resumen de datos de ensayo de toxicidad crónica".....	35
Tabla 8 Concentraciones de nanopartículas en agua dulce.....	43
Tabla 9 Riesgos Biológicos	44

Índice de ilustraciones

39

39

1. INTRODUCCION

La intensificación de la actividad industrial y tecnológica ha venido teniendo un impulso en el desarrollo y uso de nanopartículas de cobre (Cu-NPs) en múltiples aplicaciones, estas van desde la electrónica hasta la biomedicina. Pero este avance también plantea desafíos ambientales, en especial en los ecosistemas de agua dulce, donde las propiedades únicas de las Cu-NPs pueden llegar a generar impactos ecológicos de una gran escala, esto debido a su alta capacidad de interactuar con los componentes biológicos y fisicoquímicos del medio ambiente, estas partículas de cobre pueden causar efectos desfavorables que exceden los alcances de las evaluaciones ambientales tradicionales, resaltando una necesidad de una comprensión más profunda de sus implicancias ecológicas.

El riesgo ecológico asociado a las Cu-NPs se define como la probabilidad de que estas partículas actúen como agentes estresores y alteren la estructura y funcionalidad de los ecosistemas acuáticos. el crustáceo *Daphnia magna*, una especie importante en las cadenas tróficas de cuerpos de agua dulce, ha sido altamente vinculado como un organismo modelo en estudios eco toxicológicos, esto debido a su sensibilidad a contaminantes, que lo convierte en un bioindicador perfecto para evaluar los impactos agudos y crónicos de las Cu-NPs en el ambiente acuático, estos estudios son importantes para identificar concentraciones peligrosas que afectan la movilidad, reproducción y bioacumulación en esta especie, proporcionando información para establecer niveles de exposición seguros.

Este trabajo tiene como objetivo desarrollar una evaluación integral del riesgo ecológico asociado a la exposición a Cu-NPs en ecosistemas de agua dulce, la metodología propuesta combina mediciones experimentales con revisiones bibliográficas, incluyendo tanto los efectos directos en *Daphnia magna* como las implicaciones más amplias para la biodiversidad.

2. HIPOTESIS y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

La incorporación de nanopartículas de cobre (Cu-NPs) en el medio acuático induce efectos adversos en *Daphnia magna* que se manifiestan de forma dependiente de la concentración.

Se prevé que debido a la alta toxicidad que tienen las Cu-NPs es posible que los niveles ambientales de estas partículas tienen un alto riesgo ecológico para los organismos acuáticos.

2.2 Objetivo general

Evaluar el riesgo ecológico de la presencia de nanopartículas de cobre (Cu-NPs) en ecosistemas de agua dulce, mediante la determinación de sus efectos tóxicos, agudos y crónicos, sobre *Daphnia magna*.

2.3 Objetivos específicos

- Determinar la concentración letal media (LC_{50}) de nanopartículas de cobre que inhibe la movilidad del 50 % de los neonatos de *Daphnia magna* tras 48 horas de exposición.
- Establecer las concentraciones sin efecto observable (NOEC) y con efecto observable mínimo (LOEC) de nanopartículas de cobre sobre la reproducción de *Daphnia magna* en un bioensayo crónico de 21 días.
- Determinar el riesgo ecológico de la presencia de nanopartículas de cobre en los ecosistemas acuáticos.

3. MARCO TEORICO

Riesgo ecológico

La evaluación de riesgo ecológico (ERE) puede ser definida como el proceso que evalúa la probabilidad de que se produzcan (o se estén produciendo) efectos ecológicos contraproducentes, como resultado de la exposición a uno o más agentes factores que pongan en estrés al ecosistema, producto del desarrollo de actividades humanas en los ecosistemas (MMA,2014), en su abordaje se pretende realizar una determinación de la probabilidad de que un estresor genere o haya generado un efecto adverso sobre el ecosistema, así como establecer las medidas adecuadas para su control, a lo que se pretende llegar con este proceso es el permitir a los gestores de riesgos identificar, priorizar y, en última instancia, gestionar los riesgos (Demetrio,2012).

Riesgo ecológico en cuerpos de agua dulce

Los cuerpos de agua dulce son comprendidos como concentraciones de agua con baja salinidad (Torres Niño & Manrique Sandoval, 2019). Estos cuerpos de agua ubicados en la superficie terrestre y en algunas ocasiones del subsuelo incluyen dentro de su definición a: lagos, estanques, ríos, arroyos, ciénagas, marismas, pantanos, humedales y manantiales, y su importancia se centra en la sobrevivencia de distintos organismos. Es pilar fundamental del ecosistema en el desarrollo de la vida, la energía y alimentación (Horacio & María Laura, 2022), en el escenario actual y futuro de cambio climático, la biodiversidad de ecosistemas de agua dulce en Chile enfrenta amenazas sin precedentes y su conservación depende constantemente de la mantención y manejo de sus cuencas hidrográficas (Habit et al.,2019).

Determinación del riesgo ecológico

$$C = CA / EC50 \text{ o } LC50 \text{ o } LOEC \text{ o } NOEC$$

Contaminantes emergentes

Se logra definir como contaminantes emergentes a todas las sustancia químicas que logran bajo ciertas condiciones y características crear contaminación en el medio ambiente

(Medran Rangel et al., 2023), y que además de esto sea dificultoso el poder ejecutar una vigilancia o control de forma sistemática o programada (Aguinaga Martínez, 2023). Los contaminantes emergentes, en su mayor proporción, son compuestos químicos que provienen de origen industrial, farmacéuticos, pesticidas, formación natural por la degradación de otros compuestos, concentraciones de hormonas, drogas, entre otros compuestos que con el tiempo pueden ir aumentando esta lista de contaminantes emergentes.

Esto dicho en otras palabras, son sustancias de preocupación emergente, que se producen por actividades humanas que afectan sistemas o ecosistemas terrestres y/o acuáticos y la intensidad en que se afectan dichos ecosistemas pueden ser variables (Montilla et al., 2004), los contaminantes emergentes incluyen en la actualidad grandes desafíos para el manejo del agua y otros recursos naturales, ya que estos pueden tener efectos desfavorables en la salud de los humanos, en la vida silvestre y en los ecosistemas acuáticos y terrestres.

El deber y desarrollo de las futuras líneas de investigación deben focalizarse los avances de la tecnología en lograr mejorar los métodos de seguimiento y monitoreo ante la presencia de estos elementos químicos emergentes, que permitan desarrollar estrategias de prevención, manejo y regulación para mitigar de forma efectiva posibles afecciones al medio ambiente (Stülten et al., 2008).

Nanopartículas

Las nanopartículas son una gran clase de materiales que incluyen sustancias particuladas que tienen una dimensión inferior a 100 nm como mínimo, dependiendo de la forma general, estos materiales pueden ser 0D, 1D, 2D o 3D (Khan et al., 2019). Su clasificación se realiza según su forma, tamaño y características químicas, estas incluyen: nanopartículas basadas en carbono, metal, cerámica, lípidos, semiconductores y poliméricas (Altammar, 2023).

Las nanopartículas basadas en metales están formadas únicamente por precursores metálicos, estos corresponden a, cobre, plata, oro, zinc, aluminio, e hierro (Khan et al., 2019). A continuación, se presenta la siguiente tabla, la cual muestra algunas características de las nanopartículas basadas en metales

Tabla 1: Características de nanopartículas basadas en metales

Nanopartícula	Tamaño óptimo	Forma	Toxicidad	Solubilidad
Cobre	1-100 nm	Cubos, bastones, tetraedro, esferas	Baja	Mínima a pH 9-11, aunque por encima de un pH de 11, la solubilidad de CuO aumenta debido a la formación de complejos con iones de hidróxido
Plata	1-100 nm	Esférica, bastones, triangulo, hexgonal, flor	Baja	Buena solubilidad en agua y estabilidad coloidal a largo plazo
Zinc	1-100 nm	Estructura hexagonal policristalina	Baja	0,3–3,6 mg/L en medio acuoso
Hierro	1-100 nm	Esferas, bastones	Baja	Insoluble en agua y soluciones inorgánicas

Aluminio	1-100 nm	Nanoesferas, nanocubos	Baja	Insoluble en agua y soluble en acetona y etanol
Oro	1-100 nm	Esférica, triangulo, hexágono y bastines	Baja	Gran solubilidad en disolventes orgánico

Nota: Adaptado de “*A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges*”, por Altammar (2023).

Aplicaciones de las nanopartículas

Las aplicaciones de las nanopartículas son varias, estas incluyen aplicaciones en la industria del medioambiente, industria farmacéutica, industria alimentaria, industria electrónica y automotriz e industria de defensa (Altammar, 2023).

- **Industria medioambiental:** En esta industria, las nanopartículas son efectuadas en proceso de biorremediación, sensores en el entorno y catalizadores en el medio ambiente (Altammar, 2023).
- **Industria farmacéutica:** Las nanopartículas tienen propiedades físicas y químicas especiales debido a su pequeño tamaño, esto las convierte en factores interesantes para su uso en algunas aplicaciones farmacéuticas, las cuales incluyen: administración de fármacos, ingeniería de tejidos, antimicrobianos, etc. (Altammar, 2023).
- **Industria agrícola:** estas al poseer una capacidad de alterar el sector agrícola, las nanopartículas se utilizan en diversas razones, entre ellas: pesticidas y herbicidas, fertilizantes, seguridad alimentaria, purificación del agua, conservación de alimentos y fortificación de alimentos (Altammar, 2023).
- **Industria electrónica:** Utilizadas en aplicaciones eléctricas como: tecnología de visualización y almacenamiento, procesamiento químico, separación y purificación (Altammar, 2023).
- **Industria de defensa:** Se pueden utilizar para realizar mejoras en la eficiencia y en el rendimiento de las operaciones de procesamiento y síntesis de sustancias químicas. Sus potencias incluyen: sensores, recubrimientos protectores, armas, fabricación y almacenamiento de energía (Altammar, 2023).

Problemas ambientales asociados

La emisión de nanopartículas a base de metales comienza desde la producción de materia prima, la fabricación del producto, el uso y la gestión de residuos. El aumento de la producción de esta, las cuales son liberadas al medio ambiente puede tener consecuencias toxicológicas graves (Tabla 2). Además, la falta de conocimiento sobre las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas limita el desarrollo de enfoques sistematizados para el análisis de las nanopartículas en medios ambientales complejos. Al final del ciclo de vida del producto, es poco probable que las nanopartículas permanezcan ligados a los productos. La evidencia indica que las nanopartículas alcanzan aguas residuales, lodos de depuración y lixiviados de vertederos (Ameen et al., 2021) mediante tres escenarios de emisión: liberadas durante la producción de productos y materias primas habilitados para nanotecnología, durante la aplicación y después de la eliminación de productos que contienen nanopartículas (Tolaymat et al., 2017).

Tabla 2: Efectos medioambientales de las nanopartículas a base de metales

Tipo de nanopartícula	Modelo	Impacto en el medio ambiente
ZnO	Muestra de suelo y semillas de soja	Estrés oxidativo, influencia dependiente del tamaño de la partícula y la concentración en el rendimiento de las semillas y peroxidación lipídica
Ag y CeO₂	Especies acuáticas: Neonatos de <i>Daphnia magna</i> , peces, carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	Ambas partículas pueden ingresar al cuerpo después de la ingestión

Ag y Fe₂O₃	<i>Trifolium repens</i>	Reducción de la biomasa, de la adquisición de nutrientes y del contenido de glomalina
Cu	Suelo cambisols	Disminución de actividad enzimática en cambios
Au	Ratón	Fatiga, pérdida de apetito, pérdida de peso, columna torcida, pérdida de integridad pulmonar

Nota: Adaptado de: “*Impact of Metal-Based Nanoparticles on Cambisol Microbial Functionality, Enzyme Activity, and Plant Growth*”, por Kolesnikov et al. (2021), “*Human and environmental impacts of nanoparticles: a scoping review of the current literatura*”, por Kumah et al. (2023) y “*Assessment of the In Vivo Toxicity of Gold Nanoparticles*”, por Y. S. Chen et al. (2009).

Estimaciones elaboradas en 2010, mencionan que, entre 260000 y 390000 toneladas de materiales nanoestructurados, de los cuales entre el 63% - 91% terminaron en rellenos, mientras que entre el 8%-28% terminaron en suelos y entre un 0,4%-7% terminaron en cuerpos de agua (Medina et al., 2015).

Nanopartículas de cobre

Las nanopartículas de cobre son reconocidas por ser pequeñas partículas de cobre con dimensiones en el rango de la nanotecnología, tamaños que van desde 1 a 100 nanómetros, se identifican por presentar propiedades distintas, si se realiza una comparación con las mismas partículas, pero de mayor tamaño en el cobre, estas nanopartículas, tienen características bactericidas antimicrobianas que son capaces de poder eliminar microorganismos (Sánchez

Sanhueza & Bello Toledo, 2018), esto ha llevado a la investigación y aplicación en diversas situaciones por su amplio uso en diferentes materias de la ciencia, como; superficies, textiles, medicina, cuidado personal y ambiental, electrónica, como la catálisis, y otros campos debido a su mayor área superficial y propiedades electrónicas únicas asociadas con su tamaño nanométrico (Guzmán Duxtan et al., 2020).

En algunas ocasiones, el uso de nanopartículas tiene posibilidades de producir efectos adversos para la salud y el medio ambiente, es por ello de la importancia de considerar fuentes de investigación que tomen consideración de los comportamientos, propiedades, impactos, costos beneficios, y del mayor uso que se le podría otorgar a las nanopartículas de cobre.

Síntesis de nanopartículas de cobre

La síntesis de nanopartículas de cobre debe realizarse mediante un método apropiado, para realizar esta síntesis existe una gran cantidad de métodos, entre estos se incluyen: síntesis física y química y síntesis verde (mediada por extracto de plantas y frutas, bacterias y hongos y algas) (Harishchandra et al., 2020).

Síntesis física y química

Los principales métodos implementados para la producción a gran escala se realizan a través de métodos físicos (fresado mecánico, ablación láser y pulverización catódica) y métodos químicos (estado sólido, estado líquido, fase gaseosa, métodos biológicos y otros métodos), el método Top-down es un método en el que el material a granel es el material inicial que se cataboliza para volver más pequeño el tamaño de la partícula, el método mecanoquímico requiere precursores de cobre, sales para la dilución y como material de partida que se muelen en un molino de bolas a temperatura ambiente, lo que da como resultado, nanopartículas de óxido de cobre (II).

Síntesis verde

Es un método alternativo, el cual es simple, rentable y reproducible, y que además de esto, proporciona un producto estable, este es un método que no requiere alta energía, presión,

temperatura o productos químicos tóxicos, ya que el enfoque ascendente para la síntesis verde es similar al de la reducción química de nanopartículas, la diferencia es que el agente reductor químico se reemplaza con extractos de plantas, frutas, flores y algas (Harishchandra et al., 2020).

Síntesis mediada por extractos de plantas y frutas

Proceso que inicia con la mezcla de extractos naturales con una solución de metal. con la reducción bioquímica de la sal se observa un cambio de color en la solución que indica la síntesis de nanopartículas (Harishchandra et al., 2020).

Síntesis mediada por bacterias y hongos

Proceso que involucra algunos mecanismos por los cuales los microorganismos prosperan para crecer con metales tóxicos que pueden conducir a la síntesis de nanopartículas como subproducto del mecanismo de reducción, debido a que estos microbios tienden a producir enzimas que reducen el metal tóxico así se da un resultado de la formación de nanopartículas (Harishchandra et al., 2020).

Síntesis mediada por algas

Estudio llamado como ficonanotecnología, el cual consiste en la formación extracelular de nanopartículas mediadas por algas, es un método económico, ecológico, energéticamente eficiente y menos tóxico para reducir las nanopartículas metálicas (Harishchandra et al., 2020).

Toxicidad de nanopartículas de cobre en el ambiente

Las emisiones antropogénicas de nanopartículas de cobre incluyen relaves mineros, fundiciones, fundiciones de hierro y combustión de fuentes incidentales, estas emisiones incorporan la mayor parte del cobre elemental e iónico en el medio ambiente, existen dos fuentes principales que se liberan al medio ambiente, estas corresponden a, el flujo de las plantas de tratamiento de aguas residuales y los sistemas agrícolas, los productos de cuidado personal que contienen cobre se eliminan a través del proceso que debe de tener las aguas residuales y alcantarillado también llamadas aguas servidas, donde algunas partículas se eliminan, pero otras

vuelven a ingresar al suministro de agua potable, en la industria de la agricultura, las nanopartículas de cobre se utilizan como fertilizantes y pesticidas para controlar patógenos debido a su capacidad de unirse a la pared celular, estando adheridas a las paredes celulares, liberan iones e inducen la aparición de membranas permeables (Ameh & Sayes, 2019).

En un ambiente acuático, la toxicidad de las nanopartículas difiere en un entorno de agua de mar o agua dulce, esto debido a sus propiedades fisicoquímicas, las aguas de mar tienen una alta alcalinidad y una gran fuerza iónica, Además de esto, también contienen diversas materias orgánicas naturales y coloides. Se pueden esperar altas concentraciones de materia orgánica en la zona costera. Las nanopartículas agregadas pueden hundirse hasta el fondo del océano debido a que el peso específico es mayor que el del agua, posteriormente estas podrían acumularse en las microcapas superficiales de los océanos. Los animales marinos y los organismos acuáticos que viven en la microcapa superficial están expuestos a las nanopartículas. Con el tiempo, también se acumulan en el sedimento y se exponen a los organismos que viven en el sedimento. La alta fuerza iónica en el agua de mar provocará un aumento en la agregación, en comparación con el agua dulce (Akalin, 2021)

Mecanismo de acción

Las nanopartículas pueden causar un daño físico a los humanos y a los animales, como bloqueo de intestinos, alteración de la alimentación y producir efectos tóxicos, cuando se ingieren, pueden interactuar con macromoléculas biológicas e interferir en el proceso normal de transmisión de señales de membrana, e incluso pueden provocar nanoagujeros en la membrana celular o bloquear canales iónicos en la membrana celular, afectando la absorción de nutrientes y la salida de excrementos (Hu et al., 2017).

Al cambiar las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas de cobre se puede cambiar la respuesta tóxica de estas (Ameh & Sayes, 2019), algunos mecanismos de toxicidad consisten en: estrés oxidativo, daño al ADN, peroxidación lipídica, daño a la membrana, daño mitocondrial, posible lixiviación de iones meta y disolución (Crisan et al., 2021). La generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el estrés oxidativo son mecanismos toxicológicos que también son

comunes para el daño celular generado por las nanopartículas. Pequeñas cantidades de nanopartículas de cobre pueden generar grandes cantidades de ROS como O^{2-} , OH y H_2O_2 . Una vez que las nanopartículas de cobre ingresan a las mitocondrias, desencadenan la perturbación de la membrana y la generación de ROS. Las nanopartículas de cobre que ingresan al ácido nucleico pueden liberar más Cu^{2+} que provoca daño oxidativo y daño al ADN (Crisan et al., 2021).

Daphnia Magna y Hormésis.

Se debe comprender que la *Daphnia magna*, es un crustáceo planctónico de agua dulce. Clasificado como un organismo fundamental en los ecosistemas acuáticos, debido a su importante rol en el ciclo alimenticio de organismos superiores (Capaul & Ebert, 2003). Se comprende su taxonomía como: Reino; Animalia, Filo; Arthropoda, Subfilo; Crustacea, Clase; Branchiopoda, Orden; Diplostraca, Suborden; Cladocera, Familia; Daphniidae, Género; *Daphnia*, Especie; *D. magna* (Zhang & Tan, 2023). Su tipo de reproducción es mediante un proceso llamado partenogénesis (Zarria-Romero et al., 2023), que es una forma de reproducción asexual.

En la partenogénesis, las hembras producen descendencia sin necesidad de fertilización por parte de los machos. En concepto simple, la reproducción de los óvulos no fertilizados por medio de este proceso, los embriones son viables y pueden convertirse en individuos completamente formados. Sus condiciones ambientales deben comprender características puntuales como la temperatura, la reproducción de *daphnia magna* se reconoce por la influencia de temperaturas cálidas las que generalmente promueven su desarrollo y una aceleración en la reproducción, mientras que en bajas temperaturas se ve retardado el proceso reproductivo (Sanchez et al., 1998).

Se entiende por hormésis de *daphnia magna* al fenómeno biológico en el cual la exposición a un agente tóxico resulta en beneficio o con una serie de respuestas adaptativas positivas en dicho organismo realizados por la *daphnia magna*, al mismo tiempo, se comprende que a niveles más altos de exposición logran ser resultados negativos (Stanley et al., 2013). La *daphnia magna*, que es un pequeño crustáceo acuático, la hormesis hace referencia a situaciones en las que la exposición a bajos niveles de las sustancias tóxicas podrían tener efectos positivos sobre su salud, reproducción

o resistencia a futuros estresores o la evaluación de factores negativos dependiendo el tiempo de la exposición (Li & Tan, 2011).

Nanopartículas de cobre en *Daphnia Magna*

(Tabla 3).

Tabla 3: Factores relacionados con la toxicidad de las nanopartículas de cobre en *Daphnia Magna*

Autor	Factor	Efecto
Xiao et al. (2018)	Ph	A menor pH mayor toxicidad y viceversa
Xiao et al. (2018)	Carbono orgánico disuelto	Aumento de carbono orgánico disuelto disminuye toxicidad
Xiao et al. (2018)	Cationes de Cu	Aumento de concentraciones, aumenta toxicidad
Adam et al. (2015)	Iones de Cu	Toxicidad influenciada por iones de Cu
Song et al. (2015)	Tamaño de <i>Daphnia Magna</i>	Menor longitud, mayor toxicidad de nanopartículas de Cu
Song et al. (2015)	Forma de nanopartícula	Forma de bastón causa menor toxicidad
Saif et al. (2016)	Tipo de síntesis	La síntesis a partir de extracto acuoso de hojas de

		<i>Pterospermum acerifolium</i> es menos tóxico
--	--	--

Nota: Adaptado de: “*The chronic toxicity of CuO nanoparticles and copper salt to Daphnia magna*” , por Adam et al. (2015), “*Impact of water chemistry on the particle-specific toxicity of copper nanoparticles to Daphnia magna*” ,por Xiao et al. (2018), “*Assessing toxicity of copper nanoparticles across five cladoceran species*”, por Song et al. (2015) y “*Plant Mediated Green Synthesis of CuO Nanoparticles: Comparison of Toxicity of Engineered and Plant Mediated CuO Nanoparticles towards Daphnia magna*” por Saif et al. (2016).

Además de esto, las investigaciones encontradas apuntan a varios efectos en la interacción nanopartículas de cobre y *Daphnia Magna* la cual varía según el grado de exposición. En la siguiente tabla se observan algunos de ellos.

Tabla 4: Efecto agudo y crónico de nanopartículas de cobre

Autor	Tipo de exposición	Efecto
Adam et al. (2015)	Crónica (1,04 mg Cu/L x 21 días)	Alteración de reproducción y crecimiento
Wu et al. (2017)	Crónica (0,07 y 0,15 mg Cu/L x 14 días)	Mayor mortalidad, menor reproducción
Sørensen et al. (2016)	Aguda (0,2 – 2 y 20 mg Cu/L) por 1-2-3 horas	Menor reproducción, inmovilidad

Nota: Elaboración propia a partir de artículos citados.

Una particularidad importante de las concentraciones de las nanopartículas de cobre, es que concentraciones por debajo de 0,05 mg/L, se acumulan, mientras que en altas concentraciones (mayores a 0,1 mg/L), las partículas en lugar de los iones, desempeñan un papel dominante en el proceso de acumulación (Xiao et al., 2015), siendo estas nanopartículas, mucho menos tóxicas para *Daphnia magna* en comparación con iones disueltos (Arratia et al., 2019).

Bioacumulación en *Daphnia Magna*

La bioacumulación de nanopartículas en *Daphnia magna* es importante para lograr comprender sus efectos ecológicos, las partículas, al dispersarse y suspenderse en el agua, ingresan a través de la boca, llegando al intestino tras formar agregados con coloides o microorganismos, las nanopartículas más pequeñas pegadas a la superficie de *Daphnia magna* también pueden penetrar directamente en las células a través de la piel (Hu et al., 2017). En el caso de las nanopartículas de cobre, se han reportado niveles de bioacumulación de 59,52 µg/g (Tao et al., 2013), 439 µg/g y 641 µg/g (Fan et al., 2012).

Nanopartículas durante la pandemia de COVID-19

Durante la pandemia de COVID-19, las nanopartículas se destacaron como herramientas de vital importancia para lograr abordar muchos de los desafíos propuestos en la contención del virus, la protección de la salud pública y el tratamiento de la enfermedad, lascompara, como las de cobre y plata, fueron las más sobresalientes por su actividad antimicrobiana y antiviral, estas partículas demostraron la capacidad de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y desestabilizar membranas lipídicas, logrando inactivar microorganismos como el SARS-CoV-2 (Chircov et al., 2021). Debido al descubrimiento de estas propiedades, se incorporaron en mascarillas, guantes, recubrimientos hospitalarios y sistemas de filtración, logrando reducir la posibilidad de propagación del virus y mejorando los materiales preventivos.

En el ámbito del diagnóstico, las nanopartículas potenciaron biosensores y pruebas rápidas, incrementando la sensibilidad y precisión en la detección del virus, esto permitió una identificación

oportuna del SARS-CoV-2 y contribuyó a contener su transmisión (Zhu et al., 2021). Por otro lado, en el área terapéutica, nanopartículas como las de óxido de cobre se investigaron como vehículos para liberar fármacos de manera dirigida y controlada, mostrando un gran potencial para desarrollar tratamientos más efectivos.

Bioensayos

Los bioensayos de toxicidad son experimentos biológicos enmarcados en un diseño estructurado específico de evaluación para medir los efectos tóxicos de sustancias químicas o agentes presentes en el ambiente de los organismos vivos (Ulloa Ewert, 2011), este tipo de ensayos son utilizados especialmente en algunos tipos de evaluaciones las cuales buscan determinar la seguridad ambiental y la salud humana (Rodríguez et al., 2022). Los bioensayos de toxicidad son realizados en una variedad de organismos, desde microorganismos, plantas y especies más difíciles de analizar (R. Nelson & C.G. Couto, 2010).

Se entiende que los bioensayos de toxicidad son una parte importante de las evaluaciones de riesgos ambientales, se observa la importancia de su proceso, ya que permiten medir diferentes concentraciones de una sustancia, además de esto también se logra analizar el cómo afectan la viabilidad, el crecimiento, la reproducción y otros aspectos biológicos de los organismos en donde son expuestos (Vera Delgado et al., 2016).

Desde su aplicación, los bioensayos de toxicidad se llevan a cabo de diferentes formas y niveles de organización biológica, comenzando desde el nivel molecular hasta el nivel de diferentes poblaciones (Ángel Juárez-Maya et al., 2021). Los bioensayos de toxicidad permiten evaluar los efectos a niveles celulares, en cambio otros tipos de bioensayos se han utilizado en organismos enteros (García-Alcalde et al., 2023). Elegir el tipo de organismo y los parámetros con que se realizara la medición, dependen de los objetivos del estudio y también del tipo de sustancia a la cual se le planea realizar la medición (Stadler, 2009). Estos objetivos planteados en los ensayos son importantes para entender los riesgos ambientales y poder identificar los límites de seguridad para la exposición a diferentes sustancias químicas (Hernández-Valencia et al., 2017). Además de esto, los ensayos son principalmente usados para evaluar las distintas regulaciones y medidas de

control necesarias para proteger la salud, el ambiente y diferentes factores que pueden verse interferidos por efectos tóxicos (Vera Delgado et al., 2016).

Bioensayo de toxicidad aguda

El bioensayo de toxicidad aguda se define como un tipo específico de investigación que utiliza organismos vivos para evaluar los efectos desfavorables de una sustancia en un corto período de exposición, este método permite determinar las concentraciones de una sustancia que generan respuestas tóxicas inmediatas, como letalidad o alteraciones fisiológicas, en un organismo modelo. (Díaz et al., 2021), la cual es diseñada para evaluar los efectos tóxicos en periodos inmediatos o también conocidos como momentos agudos de una sustancia química que tiene proceso en un organismo vivo (Castañedo et al., 2019). Este tipo de experimento es diseñado para evaluar efectos adversos que ocurren en un lapso corto de tiempo después de la exposición a una sustancia tóxica, debe realizarse en un período breve y controlado, permitiendo identificar respuestas inmediatas en el organismo expuesto. (Jeannette Silva et al., 2003). Mayormente este tipo de bioensayo comprende una exposición de un grupo de organismos en distintas concentraciones de sustancias en observación durante un período transitorio o agudo (Vivien Pentreath et al., 2015). Los organismos normalmente utilizados en este tipo de ensayos varían desde microorganismos, bacterias y algas hasta organismos más complejos, como invertebrados acuáticos o vertebrados pequeños, seleccionados en función de su sensibilidad a la sustancia a la cual son expuestos y su representatividad ecológica. (Ramírez et al., 2009). Para ello, se debe evaluar una amplia variedad de parámetros biológicos, que se han descrito como la mortalidad, los tipos de comportamientos, capacidad de reproducción y variables propias de los organismos que impacta la salud posterior a la exposición (Gómez--Beltrán et al., 2023).

Los bioensayos de toxicidad aguda son investigaciones diseñadas para evaluar los efectos adversos rápidos provocados por una sustancia tras una única exposición o, en algunos casos, exposiciones periódicas de corta duración, estos ensayos son importantes para lograr identificar y analizar parámetros de seguridad, permitiendo establecer límites de exposición que garanticen la protección de la salud humana y del medio ambiente, la relevancia de estos bioensayos radica en su capacidad para responder a situaciones relacionadas con exposiciones químicas, documentando

y clasificando sustancias peligrosas, además de esto también facilitan la toma de decisiones responsables y la implementación de medidas rápidas que disminuyan riesgos potenciales y mitigan consecuencias graves en escenarios críticos. (Alvarez Reyes et al., 2023).

Bioensayo de toxicidad aguda

Un bioensayo de toxicidad crónica, como su nombre lo indica, es un tipo de experimentación biológica diseñado para evaluar las posibles consecuencias tóxicas que pueden generarse por la exposición prolongada a una sustancia química en un organismo, este ensayo permite analizar efectos acumulativos o de largo plazo, que podrían no ser evidentes en exposiciones agudas. (Albizzi et al., 2021). A diferencia del concepto del bioensayo de toxicidad aguda presentado anteriormente, los de exposición crónica se centran en los efectos o impactos a lo largo o durante todo el período prolongado de tiempo (Jara Miranda, 2021). Este tipo de experimentación expone a los organismos a bajas concentraciones de la sustancia durante un período prolongado, que puede extenderse desde semanas hasta meses, esto permite evaluar los efectos acumulativos y las posibles alteraciones biológicas que ocurren con el tiempo. (Pérez Aragón et al., 2021), Al igual que lo presentado en los bioensayos agudos, se debe observar y registrar diferentes variables y parámetros biológicos durante el tiempo de exposición; crecimiento, reproducción, longevidad y otras composiciones propias del organismo expuesto.

La importancia de este tipo de bioensayo es utilizado para comprender efectos acumulativos y/o sumativos que ocurren en un periodo largo de exposición a sustancias químicas en los organismos como también en los ecosistemas (Legator, 1983). Estos ensayos son fundamentales para evaluar los riesgos potenciales que pueden surgir en la salud humana y el medio ambiente debido a la exposición continua a ciertas sustancias químicas durante largos períodos de tiempo, permiten identificar efectos acumulativos y crónicos que podrían pasar desapercibidos en estudios de corto plazo. (Schultz & Kennedy, 1976). Al igual que los bioensayos agudos, los bioensayos de toxicidad crónica permiten establecer límites de exposición seguros y aportan a la formulación de las regulaciones para proteger la salud humana y ambiental. Estos ensayos se llevan a cabo en diferentes formas y niveles tróficos, utilizando organismos

característicos de la cadena alimentaria, esto es importante para comprender el cómo una sustancia química puede afectar los ecosistemas y sus interacciones biológicas.

Bioensayo de toxicidad crónica

Un bioensayo de toxicidad crónica es un tipo de experimento biológico diseñado para evaluar los efectos tóxicos de una sustancia química en un organismo durante un periodo prolongado de exposición (Albizzi et al., 2021). A diferencia del concepto del bioensayo de toxicidad aguda presentado anteriormente, los de exposición crónica se centran en los efectos o impactos a lo largo o durante todo el período prolongado de tiempo (Jara Miranda, 2021). En este tipo de experimentación, los organismos son expuestos a bajas concentraciones de una sustancia durante un periodo que puede variar desde semanas hasta meses (Pérez Aragón et al., 2021). Durante este tiempo, se registran diversos parámetros biológicos como el crecimiento, la reproducción, la longevidad y otras características específicas del organismo. Estos datos permiten evaluar cómo la exposición crónica afecta su bienestar y funcionamiento.

Estos ensayos son importantes para comprender los efectos acumulativos y sumativos de la exposición prolongada a sustancias químicas, tanto en los organismos individuales como en los ecosistemas (Legator, 1983), estos ensayos y análisis son de gran utilidad para evaluar posibles riesgos en la salud y en el medio ambiente que tenga posibilidades exposición continua a ciertas sustancias químicas por un largo tiempo (Schultz & Kennedy, 1976). Al igual que en los bioensayos agudos, permiten determinar los límites de exposición con márgenes de seguridad y en la formulación de regulaciones para la salud, cabe resaltar que se debe mencionar que este tipo de bioensayo son llevados en ejecución de distintas formas y niveles tróficos, empleando organismos de la cadena alimentaria principalmente para comprender; cómo una sustancia puede afectar a los ecosistemas.

4. MATERIALES Y METODOLOGÍA

5.1 Preparación de la solución stock de nanopartículas de cobre

Se utilizó una suspensión comercial de nanopartículas de cobre (Cu-NPs) identificada como stock N°8, con una concentración nominal de 256 mg/L. Para los bioensayos, se preparó una

solución base de 10 mg/L a partir del stock original. Para ello, se diluyeron 39 mL del stock en 961 mL de agua reconstituida (según norma NCh2083.Of1999), obteniendo un volumen total de 1 L.

5.2 Preparación de las concentraciones de exposición

A partir de la solución base (10 mg/L), se prepararon las concentraciones necesarias para los bioensayos agudos y crónicos mediante diluciones seriadas con agua reconstituida. El agua reconstituida se preparó según la norma chilena NCh2083.Of1999, disolviendo los siguientes reactivos en 1 L de agua destilada:

- NaHCO_3 : 2,59 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 4,93 g
- KCl: 0,23 g
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 11,76 g

El pH final del medio fue ajustado a $7,8 \pm 0,2$ y el oxígeno disuelto se mantuvo por sobre el 80 % de saturación.

Bioensayo agudo:

Se establecieron cinco concentraciones de exposición:

- **0,6 mg/L**
- **0,3 mg/L**
- **0,15 mg/L**
- **0,05 mg/L**
- **0,025 mg/L**

Además, se incluyó un **control negativo** compuesto únicamente por agua reconstituida sin nanopartículas.

Bioensayo crónico:

Se prepararon cinco tratamientos a partir de diluciones volumétricas del stock original en agua reconstituida:

- **6,25 %** (25 mL stock en 400 mL)
- **12,5 %** (50 mL en 400 mL)
- **25 %** (100 mL en 400 mL)
- **50 %** (200 mL en 400 mL)
- **100 %** (400 mL en 400 mL)

El control consistió en 400 mL de agua reconstituida más alimento (microalgas *Selenastrum capricornutum* y suplemento proteico).

5.3 Organismo modelo: *Daphnia magna*

Se utilizaron neonatos de *Daphnia magna* (Fig. 4), obtenidos de cultivos mantenidos en el Laboratorio de Bioensayos del CREA. Los cultivos se realizaron según los lineamientos de la norma NCh2083.Of1999 y ISO 10706:2000. Los organismos se mantuvieron en agua reconstituida, con renovación del medio tres veces por semana y alimentación diaria con microalgas (*S. capricornutum*) y suplemento proteico (harina de pescado, levadura y alfalfa). Las condiciones de cultivo fueron:

- Temperatura: 20 ± 1 °C
- Fotoperiodo: 16 h luz / 8 h oscuridad
- Densidad máxima: 10 organismos por 100 mL

Solo se utilizaron neonatos menores de 24 horas de edad, seleccionados al inicio de cada ensayo para garantizar homogeneidad biológica.

5.4 Bioensayo de toxicidad aguda

El bioensayo agudo se realizó siguiendo la norma NCh2083.Of1999. En cada tratamiento, se introdujeron 20 neonatos de *D. magna*, distribuidos en cuatro réplicas (5 organismos por recipiente de 10 mL), lo que garantizó una densidad de 5 neonatos por 10 mL. Los recipientes se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura (20 ± 1 °C) y fotoperiodo (16 h luz / 8 h oscuridad) durante 48 horas, sin renovación del medio ni alimentación.

La inmovilidad (ausencia de movimiento de apéndices torácicos durante 15 segundos) se registró a las 24 y 48 horas. Un organismo se consideró inmóvil si no respondía a estímulos mecánicos suaves. Los datos se utilizaron para calcular la concentración letal media (LC_{50}) mediante el software Probit (versión EPA 1993).

5.5 Bioensayo de toxicidad crónica

El bioensayo crónico se realizó de acuerdo con la norma ISO 10706:2000. Se utilizaron 10 réplicas por tratamiento, cada una con 1 neonato en 40 mL de medio de exposición. El ensayo tuvo una duración de 21 días, con renovación del medio y alimentación cada 48 horas.

La alimentación consistió en:

- 2 mL de suspensión de *S. capricornutum* (densidad: 1×10^6 células/mL)

- 1 mL de suplemento proteico

Durante el ensayo, se registraron día por medio:

- Supervivencia
- Número de crías por hembra

Al finalizar, se calcularon las concentraciones NOEC (No Observed Effect Concentration) y LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) mediante el test de Dunnett ($\alpha = 0,05$), comparando cada tratamiento con el control.

5.6 Caracterización de las nanopartículas

Las nanopartículas de cobre utilizadas fueron caracterizadas previamente mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), confirmando un tamaño promedio inferior a 100 nm y morfología esférica. La concentración nominal del stock (256 mg/L) fue verificada mediante espectrometría de absorción atómica (AAS).

5.7 Análisis bibliográfico de niveles ambientales

Para complementar los resultados experimentales, se realizó una revisión sistemática de literatura científica sobre la presencia ambiental de Cu-NPs. Se utilizaron los siguientes buscadores académicos:

- Scopus
- Web of Science
- Google Scholar
- ScienceDirect
- PubMed

Las palabras clave empleadas en las búsquedas fueron:

- “copper nanoparticles environmental concentration”
- “CuNPs freshwater levels”
- “Daphnia magna copper nanoparticles toxicity”
- “LOEC NOEC copper nanoparticles”

Se priorizaron artículos publicados entre 2010 y 2024, en revistas indexadas, con enfoque en agua dulce, sedimentos y efluentes de plantas de tratamiento. Los datos recolectados se utilizaron para estimar el cociente de riesgo ($RQ = \text{concentración ambiental} / \text{NOEC}$) y evaluar el riesgo ecológico potencial.

5. RESULTADOS

5.1 Determinación del LC_{50} de nanopartículas de cobre en *Daphnia magna*.

Con el fin de evaluar la toxicidad aguda de las nanopartículas de cobre (Cu-NPs), se realizó un bioensayo de 48 h siguiendo la norma NCh2083.Of1999, utilizando neonatos de *Daphnia magna* menores de 24 h de edad. Las concentraciones ensayadas fueron: 0,6; 0,3; 0,15; 0,05 y 0,025 mg/L, preparadas a partir de una solución stock de Cu-NPs (256 mg/L).

La inmovilidad de los organismos fue registrada a las 24 y 48 h. Los datos obtenidos a las 48 h se procesaron mediante el software Probit (EPA, 1993) para calcular la concentración letal media (LC_{50}), definida como la concentración que provoca inmovilidad en el 50 % de la población expuesta.

El análisis arrojó un valor de $LC_{5048h} = 0,21$ mg/L ($IC_{95\%}$: 0,17 – 0,26 mg/L). Este resultado indica que concentraciones superiores a 0,21 mg/L generan efectos tóxicos agudos significativos en *D. magna*.

5.1.1 Procedimiento experimental

- **Organismos utilizados:**

En cada solución se introdujeron 20 neonatos de *Daphnia magna* menores de 24 horas, distribuidos en cuatro recipientes. Esto garantizó una densidad máxima de 5 neonatos por cada 10 mL de muestra.

- **Almacenamiento y condiciones:**

Los recipientes fueron colocados en un ambiente controlado con luz y temperatura constantes.

- **Conteos y registro:**

- A las 24 horas, se contabilizó el número de neonatos inmóviles en cada recipiente y se registraron los datos.
- Los recipientes fueron devueltos al ambiente controlado, y a las 48 horas se realizó un segundo conteo para evaluar la inmovilidad de los organismos.

5.1.2 Procesamiento de datos

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el software Probit, que permitió calcular el LC50, es decir, la concentración de la sustancia que causa inmovilidad en el 50 % de los organismos expuestos en el bioensayo.

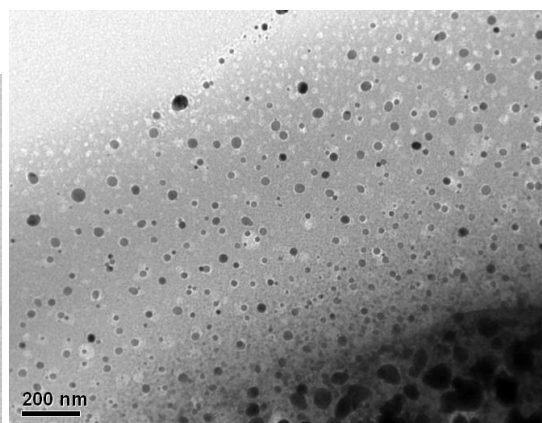
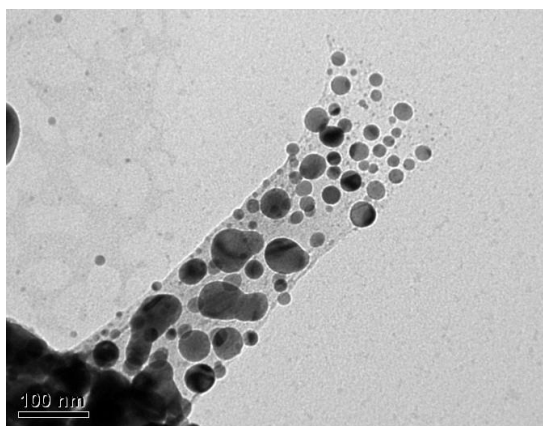
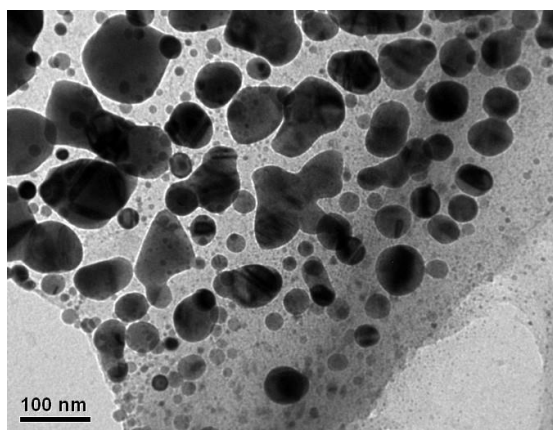


Figura 1 *Estándar de cobre*



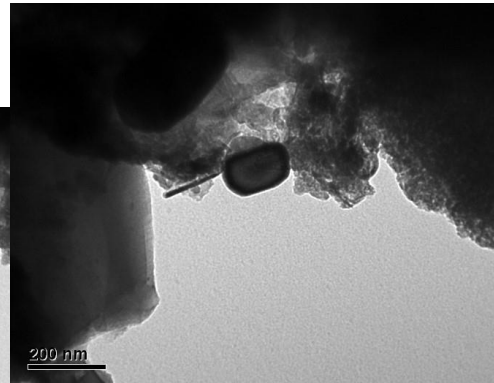
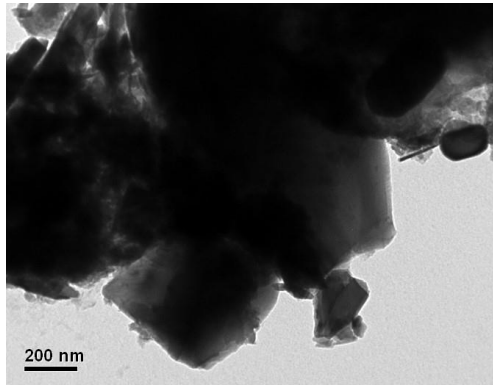


Figura 2. *Solución Stock de cobre*

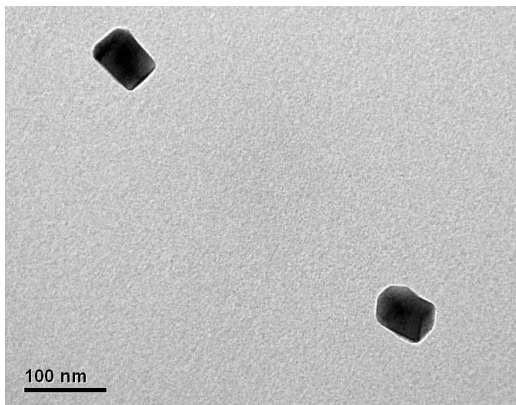


Tabla 5 Concentración letal media

Nanopartículas	Cu-NPs	Ag-NPs	ZnO-NPs	TiO ₂ -NPs
Concentración LC50	210 µg/L	30 µg/L	760 µg/L	4.500 µg/L

Nota: Elaboración propia a partir de artículos citados.

5.2 Determinación de concentraciones límites de nanopartículas de cobre en organismos expuestos (LOEC y NOEC)

Determinación de NOEC y LOEC en el bioensayo crónico

En el bioensayo crónico (21 días, norma ISO 10706:2000), se evaluó el efecto de las Cu-NPs sobre la reproducción de *D. magna*. Se utilizaron seis tratamientos, expresados como porcentaje de la solución base (mg/L): 0 % (control), 6,25 %, 12,5 %, 25 %, 50 % y 100 %, equivalentes a 0; 0,0975; 0,195; 0,39; 0,78 y 1,56 µg/L, respectivamente.

El parámetro medido fue el número promedio de crías por hembra. Los datos se compararon con el control mediante el test de Dunnett ($\alpha = 0,05$). Los resultados mostraron que:

- En el tratamiento de 50 % (mg/L), no se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto al control (valor $t = 2,47$; $p > 0,05$).
- En el tratamiento de 100% (mg/L), se detectó una reducción significativa en la reproducción (valor $t = 2,97$; $p > 0,05$).

Por lo tanto, se establecieron los siguientes umbrales:

- **NOEC (Concentración sin efecto observable): 50% (mg/L)**
- **LOEC (Concentración con efecto observable mínimo): 100 % (mg/L)**

Estos valores son fundamentales para la evaluación del riesgo ecológico, ya que definen el rango de concentración en el que las Cu-NPs comienzan a afectar funciones vitales de *D. magna*.

Tabla 6 Concentraciones subletales

Nanopartículas	Cu-NPs	Ag-NPs	ZnO-NPs	TiO2-NPs
Concentración LOEC	1,56 µg/L	0,5 µg/L	125 µg/L	17,6 µg/L
Concentración NOEC	0,78 µg/L	0,1 µg/L	58 µg/L	8,8 µg/L

Nota: Elaboración propia a partir de artículos citados.

Análisis de los controles y promedio de efectos en el bioensayo crónico

En el desarrollo del bioensayo crónico, se realizó un análisis detallado de las concentraciones de nanopartículas de cobre y su impacto en los organismos expuestos, destacando la importancia de los controles y los promedios de efectos obtenidos en cada nivel de toxicidad crónica.

5.2.1 Configuración experimental

Se establecieron cinco concentraciones de nanopartículas de cobre, acompañadas de un control sin nanopartículas, en un ambiente controlado y siguiendo la normativa ISO 10706:2000. Las concentraciones utilizadas fueron:

- 400 mL en 400 mL, 200 mL en 400 mL, 100 mL en 400 mL, 50 mL en 400 mL y 25 mL en 400 mL.
- El control consistió únicamente en agua reconstituida con alimento para las *Daphnia magna*.

5.2.2 Resultados y análisis REVISAR LA EDICION DE LOS RESULTADOS. HAY MEZCLA DE NUMERACION

1. Control de Referencia:

- El control permitió establecer una línea base de comparación, asegurando que los efectos observados en los tratamientos con nanopartículas de cobre fueran atribuibles únicamente a la presencia de estas partículas.

- El promedio de efectos en el control mostró valores consistentes y sin variaciones significativas, confirmando la estabilidad de las condiciones experimentales.

2. Promedio de Efectos por Nivel de Toxicidad Crónica:

- Los niveles de toxicidad crónica se analizaron agrupando los datos según las concentraciones y observando el promedio de efectos (reproducción) en las *Daphnia magna*.
- Los valores se presentan en la tabla resumen adjunta, que incluye el promedio de efectos y la desviación estándar para cada nivel de toxicidad crónica.

3. Relación entre Toxicidad y Efectos:

- Se observó una relación dosis-respuesta, donde el aumento de la concentración de nanopartículas incrementó los efectos adversos en los organismos.
- El control mostró un promedio mínimo de efectos, mientras que las concentraciones más altas exhibieron mayores impactos en la reproducción de los organismos.

Tabla 7: Resumen de datos de ensayo de toxicidad crónica.

Tratamiento (% o mg/L)	Volumen (mL)		Promedio	S.D	Varianza	Valor t (test Dunnett)	
	Muestra	Agua de dilución					
Control	0	400	41.8	5.05	25.51		
6.25%	25	375	41.6	5.14	26.48	0.05	
12.5%	50	350	40.2	11.7	136.62	0.44	
25%	100	300	34.8	9.22	85.06	1.96	
50%	200	200	33.0	6.23	38.88	2.47	
100%	400	0	31.2	8.24	67.95	2,97	

Fuente: Elaboración propia

Los datos de la tabla resumen incluyen tratamientos con diferentes concentraciones de nanopartículas, junto con los efectos promedio observados, la desviación estándar (SD), la varianza, y el valor t obtenido mediante el test de Dunnett. A continuación, se presenta un análisis detallado:

1. Control (0%)

- **Volumen de muestra:** 0 mL (sin nanopartículas).
- **Promedio de efectos:** 41.8.
- **Desviación estándar:** 5.05 (baja variabilidad).
- **Varianza:** 25.51.
- **Valor t:** No aplica, ya que es el punto de referencia.

Los organismos no muestran efectos adversos en el control, y las respuestas son parecidas.

2. Tratamiento del 6.25%

- **Volumen de muestra:** 25 mL.
- **Promedio de efectos:** 41.6.
- **Desviación estándar:** 5.14 (similar al control).
- **Varianza:** 26.48.
- **Valor t:** 0.05.

Los efectos observados son prácticamente iguales al control, donde la variabilidad que se muestra es baja y sin diferencias significativas (valor t cercano a 0).

3. Tratamiento del 12.5%

- **Volumen de muestra:** 50 mL.
- **Promedio de efectos:** 40.2.
- **Desviación estándar:** 11.7 (incremento significativo en la variabilidad).
- **Varianza:** 136.62 (la más alta de todas las concentraciones).

- **Valor t:** 0.44.

Se empieza a observar una ligera disminución en el promedio de efectos, con un aumento notable en la variabilidad. Esto indica que algunos organismos comienzan a ser afectados por las nanopartículas.

4. Tratamiento del 25%

- **Volumen de muestra:** 100 mL.
- **Promedio de efectos:** 34.8.
- **Desviación estándar:** 9.22.
- **Varianza:** 85.06.
- **Valor t:** 1.96.

Hay una disminución más pronunciada en el promedio de efectos, con una variabilidad intermedia. El valor t indica una diferencia significativa respecto al control.

5. Tratamiento del 50%

- **Volumen de muestra:** 200 mL.
- **Promedio de efectos:** 33.0.
- **Desviación estándar:** 6.23 (reducción en la variabilidad).
- **Varianza:** 38.88.
- **Valor t:** 2.47.

La disminución en el promedio de efectos continúa, pero la variabilidad se reduce, indicando respuestas más consistentes entre los organismos.

- **Tratamiento del 100%**
- **Volumen de muestra:** 400 mL.
- **Promedio de efectos:** 31.2.
- **Desviación estándar:** 8.24 (ligero incremento en la variabilidad).
- **Varianza:** 67.95.

- **Valor t:** 2.97.

El promedio de efectos es el más bajo, indicando un impacto duro en los organismos, la variabilidad aumenta ligeramente, pero las diferencias respecto al control son las más significativas (valor t más alto).

Concluyendo lo anteriormente hablado.

- **Tendencia General:**

Los datos muestran que a medida que aumenta la concentración, el promedio de efectos en los organismos disminuye, lo que indica una mayor toxicidad. Esto sugiere que las concentraciones más altas tienen un impacto más severo en los organismos expuestos.

- **Variabilidad:**

La desviación estándar alcanza sus valores más altos en las concentraciones intermedias (12.5% y 25%), lo que refleja una mayor heterogeneidad en las respuestas de los organismos. Esto podría deberse a factores individuales o a variaciones en la sensibilidad biológica frente a esas concentraciones.

- **Significancia:**

Los valores de t aumentan con la concentración, siendo más altos en el tratamiento de 100%, lo que confirma diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo control.

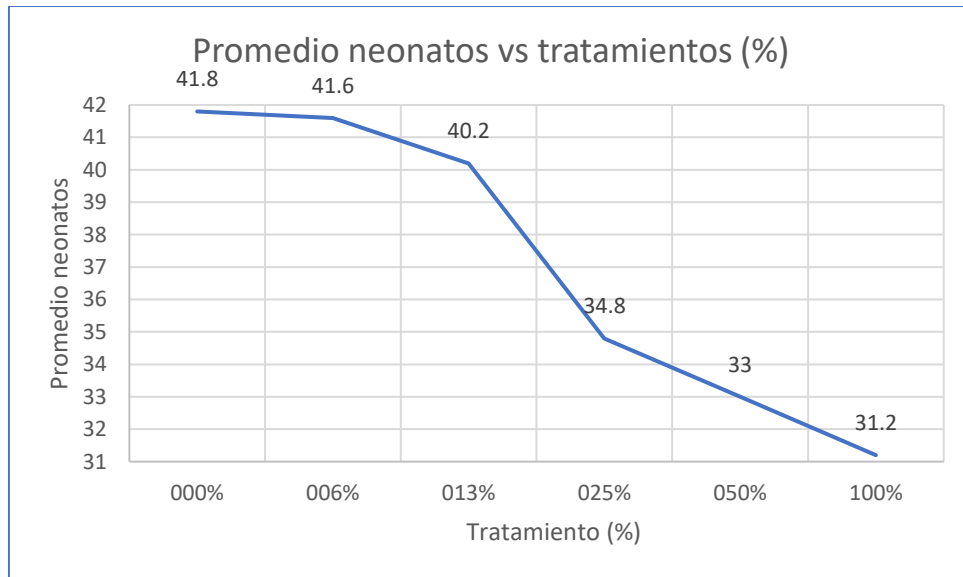


Figura 1 "Promedio de efectos vs Tratamiento". Fuente: Elaboración propia

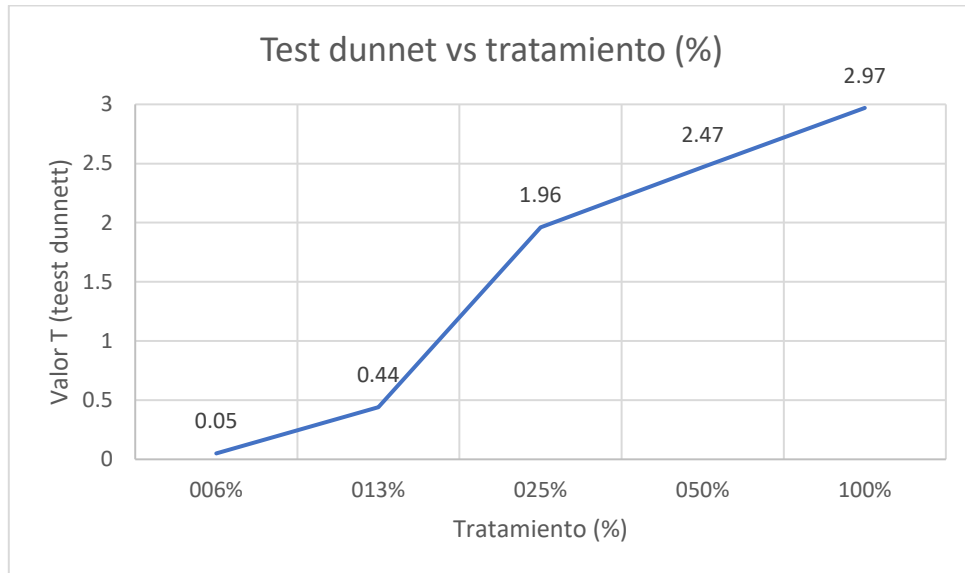


Figura 2 "Valor t vs Tratamiento". Fuente: Elaboración propia

5.2.3 Visualización de resultados

Se generó un gráfico de barras que ilustra el promedio de efectos en cada nivel de toxicidad crónica, destacando las siguientes observaciones:

- Los niveles bajos de toxicidad (cerca del control) mostraron mínimos efectos adversos.
- Las concentraciones más altas presentaron un aumento progresivo en los efectos, con márgenes de error representados por la desviación estándar.

6.3 Evaluación del riesgo ecológico

La evaluación del riesgo ecológico en este estudio se limita a la determinación de los umbrales de toxicidad obtenidos experimentalmente en el laboratorio, tal como se estableció en

los lineamientos de la investigación. Este enfoque permite identificar las concentraciones críticas que representan un peligro potencial para los organismos acuáticos, utilizando a *Daphnia magna* como bioindicador.

El análisis se basa en los siguientes valores toxicológicos determinados en los bioensayos:

- Toxicidad Aguda (LC_{50}): 210 $\mu\text{g/L}$.
- Toxicidad Crónica (NOEC): 0,78 $\mu\text{g/L}$.
- Toxicidad Crónica (LOEC): 1,56 $\mu\text{g/L}$.

Análisis de la toxicidad aguda El valor de LC_{50} a las 48 horas de 0,21 mg/L indica que las nanopartículas de cobre presentan una alta toxicidad aguda para *Daphnia magna*. Este parámetro establece el límite de concentración por encima del cual se espera una mortalidad (o inmovilidad) significativa inmediata (50 %) en la población expuesta. Desde el punto de vista del riesgo ecológico, este valor bajo sugiere que liberaciones puntuales de nanopartículas, incluso en pequeñas cantidades, tienen el potencial de causar impactos letales rápidos en el zooplancton.

Análisis de la toxicidad crónica En cuanto a la exposición a largo plazo (21 días), se determinó una Concentración Sin Efecto Observable (NOEC) de 0,78 $\mu\text{g/L}$ y una Concentración Mínima con Efecto Observable (LOEC) de 1,56 $\mu\text{g/L}$. Estos valores definen el rango de seguridad para la reproducción de la especie. El hallazgo de que los efectos reproductivos adversos (disminución de crías) solo se manifiestan estadísticamente a partir de los 1,56 $\mu\text{g/L}$ sugiere que, bajo las condiciones específicas de este bioensayo crónico, *Daphnia magna* toleró concentraciones inferiores a las que resultaron letales en la fase aguda, un comportamiento que podría estar asociado a factores de agregación de las partículas o adaptación fisiológica durante la exposición prolongada.

El objetivo de este análisis es realizar una identificación las concentraciones ambientales de nanopartículas de cobre (CuNPs) y establecer los valores de referencia LOEC y NOEC, esenciales para la evaluación del riesgo ecológico, este análisis resulta importante para determinar el impacto potencial de estas partículas en ecosistemas acuáticos, terrestres y atmosféricos.

Concentraciones ambientales de nanopartículas de cobre

Las CuNPs están presentes en diferentes compartimentos ambientales debido a su uso en productos industriales, agrícolas y de consumo. Las concentraciones más reportadas son:

- Agua residual tratada: Hasta 145 µg/L en efluentes cercanos a fuentes industriales, como plantas de tratamiento de aguas residuales (Bäuerlein et al., 2017).
- Sedimentos: En ambientes acuáticos, las concentraciones oscilan entre 2 y 80 µg/kg, dependiendo de la proximidad a fuentes emisoras (Garner et al., 2016).
- Suelos agrícolas: En suelos tratados con pesticidas y fertilizantes con CuNPs, se registran niveles de 1 a 5 mg/kg, afectando el microbiota local (Gottschalk & Nowack, 2011).

Valores de referencia: LOEC y NOEC

La evaluación del riesgo requiere comparar las concentraciones ambientales con los valores de referencia:

- LOEC: Entre 20 y 50 µg/L en sistemas acuáticos, donde se observan efectos en fitoplancton y microfauna (Bäuerlein et al., 2017).
- NOEC: Entre 5 y 10 µg/L, niveles sin impactos significativos en organismos acuáticos sensibles (Garner et al., 2016).

Métodos de Detección y Cuantificación

Para medir y analizar las CuNPs, se utilizan técnicas avanzadas:

- SP-ICP-MS: Detecta partículas individuales de 1–100 nm, ideal para medir CuNPs en agua y sedimentos (Bäuerlein et al., 2017).
- SEM/EDX: Analiza la morfología y composición de CuNPs en sedimentos y suelos (Hao et al., 2020).
- Modelos predictivos como nanoFate: Simulan la acumulación de nanopartículas en diferentes compartimentos ambientales, proporcionando estimaciones regionales (Garner et al., 2016).

Tabla 8 Concentraciones de nanopartículas en agua dulce

CUADRO COMPARATIVO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	
NANOPARTÍCULA	RANGO TÍPICO DE CONCENTRACIÓN ESTIMADA (PEC)
Plata (Ag-NPs)	0.1 a 10 ng/L
Óxido de Zinc (ZnO-NPs)	1 a 500 ng/L
Dióxido de Titanio (TiO ₂ -NPs)	1 a 20 µg/L

Nota: Elaboración propia a partir de artículos citados.

Evaluación de riesgo ecológico

El riesgo ecológico se evalúa mediante el índice de cociente de riesgo (RQ):

$$RQ = \frac{\text{ConcentracionAmbiental}(CA)}{LOEC}$$

- Si $RQ > 1$: El riesgo es significativo y requiere intervención.
- Si $RQ \leq 1$: El riesgo es bajo o aceptable.

Ejemplo:

- Concentración ambiental detectada: 145 µg/L.
- LOEC para especies acuáticas sensibles: 1,56 µg/L.

$$RQ = \frac{145}{1,56} = 92,95$$

Resultado: Riesgo significativo, justifica medidas de mitigación.

Tabla 9 Riesgos Biológicos

Nanopartículas	Cu-NPs	Ag-NPs	ZnO-NPs	TiO ₂ -NPs
Concentración LOEC	1,56 µg/L	0,5 µg/L	125 µg/L	17,6 µg/L
Concentración ambiental (CA)	145 µg/L	0,01 µg/L	0,5 µg/L	17,6 µg/L
Cociente de riesgo $Q=CA/LOEC$	92,94	0,02	0,004	1

Nota: Elaboración propia a partir de artículos citados.

6. CONCLUSIONES

La presente investigación permitió evaluar el riesgo ecológico de las nanopartículas de cobre (Cu-NPs) en ecosistemas de agua dulce utilizando a *Daphnia magna* como bioindicador. A partir de los bioensayos realizados y los resultados obtenidos, se concluye lo siguiente:

- Alta toxicidad aguda: Se determinó que las nanopartículas de cobre poseen una elevada capacidad para inhibir la movilidad de *Daphnia magna* en exposiciones de corta duración. El valor de la Concentración Letal Media (LC_{50}) a las 48 horas fue de 210 µg/L, lo que indica que concentraciones muy bajas de este contaminante son suficientes para afectar la supervivencia de la mitad de la población expuesta. Este hallazgo identifica a la mortalidad aguda como el punto crítico más sensible en la evaluación de riesgo de estas partículas.
- Efectos crónicos sobre la reproducción: En el bioensayo de 21 días, se establecieron los límites de toxicidad crónica sobre la capacidad reproductiva. Se determinó una Concentración Sin Efecto Observable (NOEC) de 0,78 µg/L y una Concentración Mínima con Efecto Observable (LOEC) de 1,56 µg/L. Estos resultados demuestran que, bajo las condiciones experimentales de este estudio, *Daphnia Magna* mostró una tolerancia reproductiva a concentraciones muy inferiores a las que resultan letales en la fase aguda, observándose efectos adversos significativos en el bioensayo de mayor concentración (100 %).
- Confirmación de la hipótesis: Se acepta la hipótesis planteada, ya que la exposición a la concentración ambiental observada de Cu-NPs indujo efectos adversos en *Daphnia Magna*

que se manifestaron de forma dependiente de la concentración. Tal como se previó, las nanopartículas provocaron tanto toxicidad aguda (inmovilidad) como toxicidad crónica (reducción de la reproducción en altas dosis), confirmando que su presencia constituye una alta probabilidad de riesgo ecológico para la estabilidad de los organismos en ecosistemas de agua dulce.

- Evaluación del riesgo ecológico: La determinación del riesgo ecológico, basada exclusivamente en los datos experimentales obtenidos, sugiere que el peligro principal de las Cu-NPs para *Daphnia Magna* radica tanto en su toxicidad letal inmediata (aguda), como en sus efectos subletales reproductivos a concentraciones bajas. Mientras que el organismo pudo mantener su reproducción en concentraciones de hasta 0,78 µg/L, la mortalidad aguda ocurrió a niveles mucho mayores (210 µg/L). Por lo tanto, se deben tener en consideración ambos parámetros para poder gestionar medidas de control para estas Cu-NPs y así garantizar la protección efectiva del ecosistema acuático.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Adam, N., Vakurov, A., Knapen, D., & Blust, R. (2015). The chronic toxicity of CuO nanoparticles and copper salt to *Daphnia magna*. *Journal Of Hazardous Materials*, 283, 416-422. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.09.037>
- Aguinaga Martínez, M. V. (Director). (2023, julio 7). *Desarrollo de nuevos métodos analíticos para la extracción, preconcentración y determinación de contaminantes emergentes en muestras ambientales* (edsndl.uns.edu.ar.oai.repositorio.bc.uns.edu.ar.123456789.6479). Networked Digital Library of Theses & Dissertations. <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/6479>
- Akalin, G. O. (2021). Interaction of copper (II) oxide nanoparticles with aquatic organisms: uptake, accumulation, and toxicity. *Toxicological & Environmental Chemistry Reviews*, 103(4), 342-381. <https://doi.org/10.1080/02772248.2021.1926463>
- Ameh, T., & Sayes, C. M. (2019). The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review. *Environmental Toxicology And Pharmacology*, 71, 103220. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103220>
- Ameen, F., Alsamhary, K., Alabdullatif, J. A., & ALNadhari, S. (2021). A review on metal-based nanoparticles and their toxicity to beneficial soil bacteria and fungi. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 213, 112027. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112027>
- ALBIZZI, A., DIODATO, S., & GONZÁLEZ GARRAZA, G. (2021). El uso de bioensayos crónicos en *Daphnia magna* para la evaluación ambiental de un arroyo urbano en Tierra del Fuego (Argentina). *Ecologia Austral*, 31(2), 277-277-288. Academic Search Ultimate. <https://doi.org/10.25260/EA.21.31.2.0.1241>

- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers In Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
- Alvarez Reyes, G., Horruitiner, T. B., & Arias Lafargue, T. (2023). ESTUDIO PRELIMINAR DE LA TOXICIDAD AGUDA DE BIOLUBRICANTES HIDRÁULICOS FORMULADOS CON ACEITE DE JATROPHA CURCAS MODIFICADO. *Centro Azúcar*, 50(2), 1-1-10. Academic Search Ultimate.
- Ángel Juárez-Maya, M., Delia Ortega-Arenas, L., González-Hernández, H., Lagunes-Tejeda, Á., Fernando Solis-Aguilar, J., & Hugo García-Méndez, V. (2021). Toxicidad y Selectividad de Insecticidas Sobre Cochinilla Rosada del Hibisco y sus Enemigos Naturales. *Southwestern Entomologist*, 46(2), 479-479-496. Academic Search Ultimate. <https://doi.org/10.3958/059.046.0217>
- Arratia, F., Olivares-Ferretti, P., García-Rodríguez, A., Marcos, R., & Carmona, E. R. (2019). Comparative toxic effects of copper-based nanoparticles and their microparticles in *Daphnia magna* by using natural freshwater media. *New Zealand Journal Of Marine And Freshwater Research*, 53(3), 460-469. <https://doi.org/10.1080/00288330.2019.1598447>
- Capaul, M., & Ebert, D. (2003). PARASITE-MEDIATED SELECTION IN EXPERIMENTAL DAPHNA MAGNA POPULATIONS. *Evolution*, 57(2), 249-249-260. Environment Complete. [https://doi.org/10.1554/0014-3820\(2003\)057\[0249:PMSIED\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1554/0014-3820(2003)057[0249:PMSIED]2.0.CO;2)
- Castañedo, Z. A., Águila, E., Marrero, O., Meneses-Marcel, A., Sifontes, S., Seijo, M., & Santana, A. (2019). Bioensayo de toxicidad aguda en tres biomodelos utilizando compuestos de referencia. *Revista de Toxicología*, 36(2), 128-128-133. Fuente Académica Plus.

- Chen, Y. S., Hung, Y. C., Liao, I., & Huang, G. S. (2009). Assessment of the In Vivo Toxicity of Gold Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 4(8). <https://doi.org/10.1007/s11671-009-9334-6>
- Crisan, M. C., Teodora, M., & Lucian, M. (2021). Copper Nanoparticles: Synthesis and Characterization, Physiology, Toxicity and Antimicrobial Applications. *Applied Sciences*, 12(1), 141. <https://doi.org/10.3390/app12010141>
- Diaz, D. G., Navarrete Rodríguez, G., Castañeda Chávez, M. del R., Galaviz Villa, I., & Sosa Villalobos, C. A. (2021). TOXICIDAD AGUDA DEL HERBICIDA PARAQUAT EN *Oreochromis niloticus* (CICHLIDAE) Y *Macrobrachium olfersii* (PALAEMONIDAE). *Acta Biológica Colombiana*, 26(2), 178-178-185. Academic Search Ultimate. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n2.84792>
- García-Alcalde, M., Minaya, D., Alvarino, L., Iannaccone, J., & Rodríguez, A. (2023). Ensayos ecotoxicológicos para evaluar antibióticos y ansiolíticos en el ambiente acuático. *Producción Más Limpia*, 18(1), 64-64-84. Fuente Académica Plus. <https://doi.org/10.22507/pml.v18n1a5>
- Gómez--Beltrán, D. A., Pérez Montes, J. E., & Villar, D. (2023). Impacto ecológico del insecticida fipronil: Valoración de riesgos en humanos. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 70(1), 65-65-84. Veterinary Source. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v70n1.100631>
- Guzmán Duxtan, A. J., Rengifo Maraví, J. C., & Echevarría Muñoz, J. M. (2020). SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE (NPs Cu) POR EL MÉTODO POLIOL ASISTIDO VÍA MICROONDAS (MW). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 86(4), 412-412-427. Fuente Académica Plus.
- Harishchandra, B. D., Pappuswamy, M., Pu, A., Shama, G., A, P., Arumugam, V. A., Periyaswamy, T., & Sundaram, R. (2020b). Copper Nanoparticles: A Review on Synthesis,

Characterization and Applications. Asian Pacific Journal Of Cancer Biology, 5(4), 201-210. <https://doi.org/10.31557/apjcb.2020.5.4.201-210>

- Hernández-Valencia, I., Lárez, L. M., & García, J. V. (2017). EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE UN SUELO CONTAMINADO CON DIFERENTES TIPOS DE CRUDOS SOBRE LA GERMINACIÓN DE DOS PASTOS TROPICALES. *BIOAGRO*, 29(2), 73-73-82. Food Science Source.
- Horacio, T., & María Laura, O. (2022). Minerales mayoritarios y elementos traza en carne de pescado de agua dulce y salada. *Compendium of Veterinary Sciences / Compendio de Ciencias Veterinarias*, 12(1), 32-32-42. Veterinary Source. <https://doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2022.12.01.32>
- Hu, Y., Wang, Y., & Lin, D. (2017). A review of the toxicity of nanoparticles to *Daphnia magna*; Chinese Science Bulletin (Chinese Version), 62(24), 2734-2748. <https://doi.org/10.1360/n972017-00476>
- Jara Miranda, C. M. (2021). *Evaluación de la toxicidad crónica del sector medio del Río Itata en organismos bioindicadores Daphnia magna mediante técnicas de fraccionamiento*. (rds.11594.9678). Repositorio de Tesis. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/9678>
- Jeannette Silva, Guillermo Torrejón, Enrique Bay-Schmith, & Alberto Larrain. (2003). CALIBRACION DEL BIOENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON DAPNIA PULEX (CRUSTACEA: CLADOCERA) USANDO UN TOXICO DE REFERENCIA CALIBRATION OF THE ACUTE TOXICITY BIOASSAY WITH DAPNIA PULEX (CRUSTACEA:CLADOCERA)USING A REFERENCE TOXICANT. *Gayana*, 67(1), 87-87-96. Directory of Open Access Journals.
- Kolesnikov, S., Timoshenko, A., Minnikova, T., Tsepina, N., Kazeev, K., Akimenko, Y., Zhadobin, A., Shuvaeva, V., Rajput, V. D., Mandzhieva, S., Sushkova, S., Minkina, T., Dudnikova, T., Mazarji, M., Alamri, S., Siddiqui, M. H., & Singh, R. K. (2021). Impact of

Metal-Based Nanoparticles on Cambisol Microbial Functionality, Enzyme Activity, and Plant Growth. *Plants*, 10(10), 2080. <https://doi.org/10.3390/plants10102080>

- Kumah, E. A., Fopa, R. D., Harati, S., Boadu, P., Zohoori, F. V., & Pak, T. (2023). Human and environmental impacts of nanoparticles: a scoping review of the current literature. *BMC Public Health*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-023-15958-4>
- Legator, M. S. (1983). *Effects of Chronic Exposures to Pesticides on Animal Systems*. Janice E. Chambers , James D. Yarbrough. *The Quarterly Review of Biology*, 58(3), 479-480. <https://doi.org/10.1086/413528>
- Li, S., & Tan, Y. (2011). Hormetic response of cholinesterase from *Daphnia magna* in chronic exposure to triazophos and chlorpyrifos. *Journal of Environmental Sciences*, 23(5), 852-859. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60516-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60516-5)
- Medina, M., Galván, L., & Reyes, R. (2015). Las nanopartículas y el medio ambiente. *Universidad Ciencia y Tecnología*, 19(74), 49-58. <http://ve.scielo.org/pdf/uct/v19n74/art05.pdf>
- Medran Rangel, A., Medran Rangel, E., Wickboldt Stark, F., de Borba Pereira, P., & Machado Machado, F. (2023). O USO DE BIOCHAR PARA REMOÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUAS CONTAMINADAS. *Journal of Interdisciplinary Debates*, 4(3), 62-62-82. Academic Search Ultimate. <https://doi.org/10.51249/jid.v4i03.1471>
- Montilla, F., Morallón, E., De Battisti, A., Barison, S., Daolio, S., & Vázquez, J. L. (2004). Preparation and Characterization of Antimony-Doped Tin Dioxide Electrodes. 3. XPS and SIMS Characterization. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(41), 15976-15981. <https://doi.org/10.1021/jp048674+>

- Pérez Aragón, B., Álvarez Zeferino, J. C., & Vázquez Morillas, A. (2021). *Desarrollo de una Metodología para la Determinación de la Toxicidad por Microplásticos en Daphnia magna*. (161269677). 13(11), 443-443-448. Complementary Index. <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edb&AN=161269677&site=eds-live>
- R. Nelson & C.G. Couto. (2010). *Medicina interna en pequeños animales* (808907). eBook Collection (EBSCOhost). <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=808907&site=eds-live>
- Ramírez, D. W., Rondón, B. I., Vidal, B. H., & Eslava, M. P. (2009). TOXICIDAD AGUDA Y LESIONES HISTOPATOLÓGICAS EN CACHAMA BLANCA (*Piaractus brachipomus*) EXPUESTAS A LA MEZCLA DE HERBICIDA ROUNDUP® MÁS SURFACTANTE COSMOFLUX® 411F. *Revista MVZ Córdoba*, 14(1), 1563-1563-1575. Academic Search Ultimate.
- Rodríguez, Y. D., Díaz, S. A., Díaz, M. D., Trasancos, L. R., Cañete, C. C., & Silva, R. R. (2022). Evaluación de la toxicidad y biodegradabilidad de un fluido base agua para su disposición final. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 43(1), 38-38-47. Fuente Académica Plus.
- Sanchez, M., Ferrando, M. D., Sancho, E., & Andreu-Moliner, E. (1998). *Evaluation of a Daphnia magna renewal life-cycle test method with diazinon* (edsagr.US1999004414; Vol. B33, Número 6). AGRIS. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1999004414>
- Sánchez Sanhueza, G., & Bello Toledo, H. (2018). *Microbiota bacteriana asociada a conducto radicular con diagnóstico de periodontitis apical crónica persistente y rol de nanopartículas de cobre como nuevo antimicrobiano endodóntico / Gabriela Alejandra Sánchez Sanhueza ; profesora guía: Helia Bello Toledo*.

(cbu.oai.edge.bibliotecasudec.folio.ebsco.com.fs00001060.0e68e615.2edb.422a.ba72.63f43aae58af). Catálogo de Bibliotecas UdeC. <http://repositorio.udec.cl/handle/11594/3343>

- Saif, S., Tahir, A., Asim, T., & Chen, Y. (2016). Plant Mediated Green Synthesis of CuO Nanoparticles: Comparison of Toxicity of Engineered and Plant Mediated CuO Nanoparticles towards *Daphnia magna*. *Nanomaterials*, 6(11), 205. <https://doi.org/10.3390/nano6110205>
- Schultz, T. W., & Kennedy, J. R. (1976). CYTOTOXIC EFFECTS OF THE HERBICIDE 3-AMINO-1,2,4-TRIAZOLE ON *DAPHNIA PULEX* (CRUSTACEA:CLADOCERA). *The Biological Bulletin*, 151(2), 370-385. <https://doi.org/10.2307/1540669>
- Song, L., Vijver, M. G., De Snoo, G. R., & Peijnenburg, W. J. (2015). Assessing toxicity of copper nanoparticles across five cladoceran species. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 34(8), 1863-1869. <https://doi.org/10.1002/etc.3000>
- STADLER, T. (2009). Método de diagnóstico para el monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de «picudo del algodónero», *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 68(1/2), 231-231-239. Academic Search Ultimate.
- Stanley, J. K., Perkins, E. J., Habib, T., Sims, J. G., Chappell, P., Escalon, B. L., Wilbanks, M., & Garcia-Reyero, N. (2013). The Good, the Bad, and the Toxic: Approaching Hormesis in *Daphnia magna* Exposed to an Energetic Compound. *Environmental Science & Technology*, 47(16), 9424-9433. <https://doi.org/10.1021/es401115q>
- Stülten, D., Zühlke, S., Lamshöft, M., & Spiteller, M. (2008). Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. *Science of The Total Environment*, 405(1), 310-316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.036>
- Tao, X., He, Y., Fortner, J. D., Chen, Y., & Hughes, J. B. (2013). Effects of aqueous stable fullerene nanocrystal (nC60) on copper (trace necessary nutrient metal): Enhanced toxicity

and accumulation of copper in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 92(9), 1245-1252.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.056>

- Tolaymat, T., Genaidy, A., Abdelraheem, W., Dionysiou, D., & Andersen, C. (2017). The effects of metallic engineered nanoparticles upon plant systems: An analytic examination of scientific evidence. *The Science Of The Total Environment*, 579, 93-106.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.229>
- Torres Niño, J. D., & Manrique Sandoval, D. (2019). La Educación Jurídica Ambiental, en la Reducción de los Impactos Ambientales en las Zonas Protectoras de Cuerpos de Agua Dulce. *Revista Daena: International Journal of Good Conscience*, 14(1), 279-279-300. Fuente Académica Plus.
- Ulloa Ewert, M. S. (2011). *Bioensayo de toxicidad con zinc y extractos de lodo urbano durante la etapa de germinación en distintas especies agrícolas*. Catálogo de Bibliotecas UdeC.
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=sso&db=cat09074a&AN=cbu.oai.edge.bibliotecasudec.folio.ebsco.com.fs00001060.e7da6b38.bad0.45a1.b7f3.f47183d82e5e&lang=es&site=eds-live&scope=site&custid=s7489523>
- Vera Delgado, H. E., Vera Baque, C. G., Bello Moreira, Í. P., Tipán Alcívar, J. C., Mendoza García, G. E., & Del Carmen Avellan Chancay, M. (2016). Bioensayos para potenciar extractos vegetales y controlar insectos-plagas del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). *Avances en Investigacion Agropecuaria*, 20(3), 17-17-32. Business Source Ultimate.
- Vivien Pentreath, Elena González, Mercedes Barquín, Stella Maris Ríos, & Susana Perales. (2015). Bioensayo de toxicidad aguda con plantas nativas para evaluar un derrame de petróleo. *Revista de Salud Ambiental*, 15(1). Directory of Open Access Journals.
<https://doaj.org/article/b6558d3a17ed4d5fa2ee4a69d62a9ba0>
- Wu, F., Bortvedt, A., Harper, B. J., Crandon, L. E., & Harper, S. L. (2017). Uptake and toxicity of CuO nanoparticles to *Daphnia magna* varies between indirect dietary and direct

waterborne exposures. *Aquatic Toxicology*, 190, 78-86.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.06.021>

- Xiao, Y., Vijver, M. G., Chen, G., & Peijnenburg, W. J. G. M. (2015). Toxicity and Accumulation of Cu and ZnO Nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*, 49(7), 4657-4664. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00538>
- Xiao, Y., Peijnenburg, W. J., Chen, G., & Vijver, M. G. (2018). Impact of water chemistry on the particle-specific toxicity of copper nanoparticles to *Daphnia magna*. *The Science Of The Total Environment*, 610-611, 1329-1335.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.188>
- Zarria-Romero, J. Y., Ocampo-Anticon, J.-A., Pinotti, C. N., Passamani, E. C., Checca-Huaman, N.-R., Castro-Merino, I.-L., Pino, J., Shiga, B., & Ramos-Guivar, J. A. (2023). Ecotoxicological properties of functionalized magnetic graphene oxide and multiwall carbon nanotubes in *Daphnia magna*. *Ceramics International*, 49(10), 15200-15200-15212. Academic Search Ultimate. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.01.102>
- Zhang, L., & Tan, H. (2023). Genotoxic Effects on *Daphnia magna* Fed with Aquatic Green Algae Exposed to Silver Nanoclusters. *Water (20734441)*, 15(18), 3172-3172-3182. Environment Complete. <https://doi.org/10.3390/w15183172>
- Garner, K. L., Suh, S., & Keller, A. A. (2016). Assessing the risk of engineered nanomaterials in the environment. *Environmental Science & Technology*, 50(17), 9424–9432. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04141>
- Hao, L., Zhou, X., & Liu, J. (2020). Release of ZrO₂ nanoparticles from ZrO₂ polymer nanocomposite in wastewater treatment processes. *Environmental Pollution*, 256, 113432. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113432>
- Bäuerlein, P. S., Emke, E., Tromp, P., Hofman, J. A. M. H., Carboni, A., Schooneman, F., & van Wezel, A. P. (2017). Is there evidence for man-made nanoparticles in the Dutch

environment? *Science of the Total Environment*, 576, 273–283.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.206>

- Keller, A. A., Lazareva, A., Preda, M., & Suh, S. (2013). Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(6), 1–17.
<https://doi.org/10.1007/s11051-013-1692-4>
- Hassellöv, M., & Kaegi, R. (2009). Analysis and characterization of manufactured nanoparticles in aquatic environments. *Environmental Pollution*, 157(4), 1111–1112.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.005>
- Nowack, B., & Bucheli, T. D. (2012). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, 150(5), 1256–1261.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.032>
- Gottschalk, F., & Nowack, B. (2011). The release of engineered nanomaterials to the environment. *Science of the Total Environment*, 409(23), 4793–4801.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.07.023>
- Peralta-Videa, J. R., Zhao, L., Lopez-Moreno, M. L., de la Rosa, G., Hong, J., & Gardea-Torresdey, J. L. (2011). Nanomaterials and the environment: A review for the biennium 2008–2010. *Journal of Hazardous Materials*, 186(2–3), 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.020>