

SISTEMAS DE CLASIFICACION DE LA CONTAMINACION I¹⁾

TECNOLOGIA DE PUNTA

Científicos de varios países han propuesto diversos sistemas cuantitativos o semicuantitativos para la evaluación y jerarquización de el **grado de contaminación ambiental** y de la **toxicidad de desechos vertidos al ambiente**.

La mayoría de los sistemas de clasificación de la **contaminación de ambientes naturales** se basan en una serie (más o menos extensa) de parámetros físicos/químicos, biológicos/bacteriológicos y ecotoxicológicos (p.ej., conceptos tríada-ameba). Por el otro lado, los sistemas de clasificación de la **toxicidad de desechos (sólidos o líquidos)** se basan en la evaluación de la toxicidad aguda/crónica (y en algunos casos también la genotoxicidad) a uno o más organismos de experimentación (p.ej., Equitox-PEEP, pT)

Algunas de las limitaciones de los sistemas actuales de clasificación de la contaminación/toxicidad son las siguientes:

1. La mayoría de los sistemas se basan en la evaluación de valores de la mediana (LC ó EC 50) o de umbral de efecto (G).
2. Virtualmente todas las pruebas de toxicidad utilizados son bioensayos “convencionales” que requieren el cultivo/mantenimiento continuo de “stocks” vivientes de las especies experimentales.
3. Consecuentemente, su aplicación se restringe a (unos pocos) laboratorios muy especializados y no se efectúan rutinariamente (ni “en el espacio” ni “en el tiempo”).
4. Hasta ahora, ninguno de los diferentes sistemas de clasificación de toxicidad ha sido aceptado de forma “generalizada”.

POTENCIAL DEL USO DE MICROBIOENSAYOS PARA BIOMONITOREO ECOTOXICOLOGICO RUTINARIO

Base lógica:

Debido a que no es necesario cultivar ni mantener los organismos experimentales, su fácil uso, estandarización y bajos costos, los microbioensayos tienen mejor

¹⁾ traducido del inglés por Pablo Mayorga Sagastume. Publicado en Fita4 Programme. 2000. Sustainable development, water quality and human health. International Workshop, Budapest, Hungary, 7-8 December 2000.

potencial que los bioensayos convencionales para ser utilizados rutinariamente en sistemas simples y rápidos de clasificación de riesgo/toxicidad.

CARACTERISTICAS CLAVE DE LOS microbioensayos:

SIMPLICIDAD – RAPIDEZ – CONFIABILIDAD –BAJOS COSTOS

PROPUESTA

Se proponen dos diferentes sistemas de evaluación/clasificación:

- uno para la determinación “bruta” del grado de contaminación tóxica de sistemas acuáticos naturales, y
- otro para la “cuantificación” de la toxicidad de desechos antes de ser liberados a ambientes acuáticos

Ambos sistemas se basan en la aplicación de una batería de microbioensayos de corto tiempo de exposición (1-3 días). La batería está compuesta de especies experimentales pertenecientes a diferentes grupos filogenéticos, incluyendo [al menos] las siguientes categorías de biota:

- Microalgas (Algaltokit F) (72h)
- Protistas (Protoxkit F) (24h)
- Rotíferos (Rotoxkit F acute) (24h)
- Crustáceos (Daphtoxkit F magna (48 h) o Thamnotoxkit F (24 h))

Si es posible, esta batería debería ampliarse con un microbioensayo utilizando bacterias.

NOTA: Debido al “corto” tiempo de exposición, las clasificaciones de riesgo/toxicidad expresan únicamente efectos “agudos”.

SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE RIESGO PARA AGUAS NATURALES

Campo de aplicación (ejemplos):

Todas las aguas dulces naturales

- aguas inmóviles (lagunas, lagos, reservorios de agua, aguas subterráneas, agua “del grifo”)
- aguas móviles (ríos, riachuelos)

También es posible, por extensión:

- aguas pluviales, escorrentía horizontal y percolados
- agua intersticial en sedimentos

Principio del sistema de clasificación

Determinación, en **un paso**, del riesgo de toxicidad aguda de aguas naturales con **muestras no diluidas**, utilizando una batería de microbioensayos.

Sistema de evaluación

El sistema de clasificación se basa en **dos valores**:

1. la jerarquización en 5 clases de riesgos de toxicidad aguda, y
2. en un **punteo ponderado** para cada clase de riesgo.

Clases de riesgos agudos

Después de la determinación del **efecto porcentual** (EP) obtenido con cada uno de los microbioensayos aplicados a muestras no diluidas, el agua analizada se coloca en uno de los 5 rangos de clases, basados en la **más alta toxicidad** encontrada en al menos uno de los ensayos efectuados. Estas clases son:

Clase I: no hay riesgo agudo = ninguno de los ensayos mostró efectos tóxicos (*i.e., un efecto significativamente mayor que los controles*)

- **Clase II: riesgo agudo leve** = un EP estadísticamente significativo se obtuvo en al menos un ensayo, pero el nivel de efecto es menor al 50%

NOTA: Para determinar si el EP observado en la muestra de agua es significativamente diferente del EP en el control, se deben analizar los datos con un programa estadístico. Alternativamente, se puede utilizar el nivel de efecto del 20% como el EP más bajo con un efecto tóxico significativo.

- **Clase III: riesgo agudo** = el EP50 es alcanzado o excedido en por lo menos un ensayo, pero el nivel de efecto está por debajo del 100%

- **Clase IV: riesgo agudo alto** = el EP100 es alcanzado en por lo menos un ensayo
-
- **Clase V: riesgo agudo muy alto** = el EP100 es alcanzado en todos los ensayos

Punteos ponderados

Un punteo ponderado se calcula para cada clase de riesgo para indicar la importancia cuantitativa (ponderación) de la toxicidad en esa clase. El punteo ponderado se expresa en %, en el rango de 25% (si sólo un ensayo en la batería alcanzó el nivel de toxicidad de esa clase) a 93 % (si todos los ensayos excepto uno alcanzaron el nivel de toxicidad para esa clase).

NOTA: La base lógica para este punteo adicional es que mientras más alto el punteo ponderado, esto expresa un mayor riesgo de toxicidad del agua en la clase en cuestión.

Cálculo de los punteos ponderados

1. Asignación del punteo de un ensayo para los resultados de efecto de cada microbioensayo de la batería.

- Efecto tóxico no significativo = punteo 0
- Efecto tóxico significativo pero < EP50 = punteo 1
- \geq EP50, pero <EP100 = punteo 2
- EP100 = punteo 3

2. Cálculo de los punteos ponderados de clase

$$\text{Punteo ponderado de clase} = \frac{\sum \text{punteos de todos los ensayos}}{n}$$

donde n = número de ensayos efectuados.

3. Cálculo del punteo ponderado de clase en %

$$\text{Punteo ponderado de clase en \%} = \frac{\text{Punteo de clase}}{\text{Punteo ponderado de clase máximo}} \times 100$$

Ejemplo práctico

Ensayo	% efecto	Punteo del ensayo
Bacterias	< 20	0
Microalgas	35	1
Protistas	72	2
Rotíferos	60	2
Crustáceos	100	3

Clasificación:

La muestra de agua del ejemplo pertenece a la clase IV (riesgo agudo alto), pues el nivel de efecto de 100% se obtuvo en al menos un ensayo (crustáceos).

$$\text{Punteo ponderado de clase} : \frac{0 + 1 + 2 + 2 + 3}{5} = \frac{8}{5} = 1.6$$

$$\text{Punteo ponderado de clase en \%} : \frac{1.6 \times 100}{3} = 53\%$$

COROLARIOS:

1. *En caso que se utilicen 2 microbioensayos con crustáceos, sólo se deberá tomar en cuenta para los cálculos el ensayo con el más alto valor de efecto.*
2. *Cuando se de un estímulo de crecimiento en vez de inhibición de crecimiento de algas, los puntos se deben asignar al potencial de eutroficación del agua analizada, por tanto a un "riesgo indirecto."*

SISTEMA DE CALASIFICACION DE TOXICIDAD PARA DESECHOS VERTIDOS EN AMBIENTES ACUATICOS

Dominio de aplicación:

Todo tipo de desecho líquido vertido en aguas naturales, sin tratamiento o después de un tratamiento. Por extensión, también se pueden utilizar para:

- lixiviados/percolados de vertederos de basura (controlados o no controlados)
- lixiviados/percolados de suelos contaminados

Principio del sistema de clasificación

Determinación y cuantificación en dos pasos, de la toxicidad aguda de los desechos líquidos o lixiviados con una batería de microbioensayos.

- En el **primer paso**, se determina la toxicidad de muestras no diluidas.
- En el **segundo paso**, se efectúan pruebas de toxicidad en una serie de diluciones de las muestras, con los microbioensayos que presentaron más de 50% de efecto con la muestra no diluida.

Sistema de evaluación

El sistema propuesto se basa en **dos valores**: una jerarquización de toxicidad aguda en 5 clases, y un punteo ponderado para cada clase de toxicidad.

Clases de toxicidad aguda

Los resultados de efectos obtenidos con cada microbioensayo se transforman en Unidades Tóxicas (UT) con la fórmula: $UT = [1/LC50] \times 100$ (o $[1/EC50] \times 100$)

Las muestras se clasifican en una de las siguientes categorías, en base al número más alto de UT encontrado en uno de los ensayos de la batería.

- **Clase I: no hay toxicidad aguda** = ninguno de los ensayos presentó efectos tóxicos (i.e., un valor de efecto significativamente más alto que en los controles)
- **Clase II: toxicidad aguda leve** = el efecto porcentual observado en por lo menos un ensayo de toxicidad es significativamente más alto que en el control, pero está por debajo del 50% (< 1 UT).

NOTA: Para determinar si el efecto porcentual observado en la muestra de desecho es significativamente diferente al control, se deberían analizar los datos con un programa estadístico. Alternativamente, se puede utilizar el un nivel de efecto del 20% como el EP más bajo que se considera que tiene un efecto tóxico significativo.

- **Clase III: toxicidad aguda** = la LC50 o EC50 es alcanzado o excedido en por lo menos un ensayo, pero en la dilución 10x de la muestra, el efecto es menor que 50% ($= 1-10$ UT)
- **Clase IV: toxicidad aguda alta** = la LC50 o EC50 es alcanzado en la dilución 10x en por lo menos un ensayo, pero no en la dilución 100x ($= 10-100$ UT)

- **Clase V: toxicidad aguda muy alta** = la LC50 o EC50 es alcanzada en la dilución 100x en por lo menos un ensayo (= >100 UT)

Punteos ponderados

Un punteo ponderado se calcula para cada ensayo de toxicidad para indicar la importancia cuantitativa (ponderación) de la toxicidad en esa clase. Este punteo ponderado se expresa en % y su rango va desde 25% (si sólo un ensayo en la batería alcanzó el nivel de toxicidad de esa clase) a 93% (si todos los ensayos, excepto uno, alcanzaron el nivel de toxicidad de esa clase).

NOTA: El principio lógico para este segundo tipo de punteo es que, mientras más alto el punteo ponderado de clase, expresa un más alto el riesgo de toxicidad la muestra de desecho en la clase en cuestión.

Cálculo de los punteos ponderados de clase

1. Asignación de un punteo de ensayo o de resultados del efecto de cada microbioensayo de la batería.

- Efecto tóxico no significativo = punteo 0
- Efecto tóxico significativo, pero < L(E)C50 (= < 1 UT) = punteo 1
- 1 - 10 UT = punteo 2
- 10 – 100 UT = punteo 3
- > 100 UT = punteo 4

2. Cálculo de los punteos ponderados de clase

$$\text{Punteo ponderado de clase} = \frac{\sum \text{punteo de todos los ensayos}}{n}$$

donde n = número de ensayos efectuados

3. Cálculo del punteo ponderado de clase en %

$$\text{Punteo ponderado de clase (en \%)} = \frac{\text{Punteo ponderado de clase}}{\text{Punteo máximo de clase}} \times 100$$

Ejemplo práctico

Ensayo	UT	Punteo del ensayo
Bacterias	12	3
Microalgas	2	2
Protistas	< 1	1
Rotíferos	55	3
Crustáceos	27	3

Clasificación:

La muestra analizada se clasifica en la clase IV (toxicidad aguda alta) porque el número de UT en la prueba más sensible se sitúa entre 10 y 100.

$$\text{Punteo ponderado de clase: } \frac{3 + 2 + 1 + 3 + 3}{5} = \frac{12}{5} = 2.4$$

$$\text{Punteo ponderado de clase (en \%): } \frac{2.4 \times 100}{3} = 80\%$$