

Anexo Uso preservación de flora y fauna

1. Bioensayos

Los bioensayos son pruebas derivadas de la toxicología clásica aplicadas al diagnóstico ambiental en ecosistemas acuáticos que se sospechan contaminados por fuentes naturales o antrópicas. Se usan como complemento a los ensayos fisicoquímicos y constituyen una herramienta destinada a identificar elementos biológicos en riesgo por contaminación física y química, asociada a elementos tóxicos, compuestos tóxicos, mezclas de compuestos tóxicos y sus transformaciones en el ambiente. Los bioensayos son empleados para establecer niveles tolerables de exposición, en donde se considera la inexistencia de efectos adversos significativos sobre la “abundancia, producción y persistencia de las poblaciones y los ecosistemas” (Castillo, 2004).

Según Schuijt (2021), los ensayos (eco)toxicológicos se definen como sistemas de ensayo que exponen los componentes biológicos a un medio ambiente y, posteriormente, evalúan los efectos biológicos de los estresores químicos a través de diferentes niveles de organización biológica, desde el molecular hasta las comunidades y los ecosistemas.

Estas pruebas van desde la medición de las respuestas suborgánicas en modelos *in vitro* hasta los efectos a nivel de ecosistema *in vivo*, e incluyen métodos basados en los efectos, pruebas de toxicidad (estándar) bioensayos, biomarcadores, así como experimentos en micro y mesocosmos, y pueden realizarse en laboratorios o sobre el terreno (*in situ*). La integración de las pruebas de ecotoxicidad que miden los efectos biológicos en las prácticas de vigilancia podría superar las limitaciones de los índices ecológicos y de la vigilancia basada en sustancias químicas por tres vías:

- i. Proporcionando una evaluación más completa y realista de la exposición y las respuestas de los organismos acuáticos a los factores de estrés químico (Altenburger et al., 2019; Brack et al., 2019; Lam, 2009; Wernersson et al., 2015),
- ii. ayudando a desentrañar los mecanismos subyacentes que provocan efectos adversos en los ecosistemas acuáticos (Leusch et al., 2014b; van der Oost et al., 2017) y, por último,
- iii. al funcionar como señal de alerta temprana que permite tomar medidas preventivas (Martínez-Haro et al., 2015). Esto hace que los métodos ecotoxicológicos sean herramientas adecuadas para la evaluación del riesgo tanto prospectiva como retrospectiva.

En los bioensayos, la toxicidad se refiere a la exposición de una población de organismos a una condición ambiental de interés a evaluar, la cual puede ser un elemento químico o físico o la mezcla de varios de estos. Generalmente las poblaciones utilizadas para estas pruebas son plantas, algas, hongos, invertebrados (moluscos, anélidos, larvas de insectos, etc.), anfibios, peces y mamíferos (Council, 2014). Los ensayos sobre organismos de prueba se realizan bajo condiciones experimentales específicas y controladas (Castillo, 2004).

El Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA o GHS, por el acrónimo de Global Harmonized System en inglés), es una iniciativa aprobada en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo (CNUMAD, 1992). La primera versión del SGA se adoptó en 2002. La última versión (7) es del año 2017 (ONU, 2017).

Es preciso establecer, que mediante el Decreto 1496 del 6 de agosto de 2018 se adopta para Colombia el SGA “Por el cual se adopta Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos y se dictan otras disposiciones en materia de seguridad química”. Además, mediante Resolución N° 2075 del 02 de agosto de 2019, y en el marco de la Decisión 804 de 2015 de la Comunidad Andina de Naciones, se adopta el “Manual Técnico Andino para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola (PQUA)”. Los titulares de registros de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola - PQUA tendrán un período máximo de 60 meses, para adaptar el etiquetado al Sistema Globalmente Armonizado (SGA).

Este sistema establece criterios armonizados para clasificar sustancias y mezclas con respecto a sus peligros físicos, para la salud y para el medio ambiente. Estos criterios armonizados pueden ser empleados como herramientas para la prevención de los potenciales efectos a la salud humana y el ambiente, siendo este su uso a lo largo del presente documento.

El presente documento es aplicable a las aguas continentales y busca:

- Presentar y explicar los tipos de ensayos
- Orientar la interpretación de la toxicidad acuática
- Establecer un procedimiento para derivar los criterios de calidad a partir del uso de bioensayos.

Lo anterior, con lo que se presenta a continuación.

1.1. Tipos de ensayos

Aunque la mayoría de las sustancias químicas están presentes en bajas concentraciones, plantean problemas ecotoxicológicos al aparecer en mezclas complejas con productos de transformación y sustancias químicas que pueden interactuar entre sí. Para complicar aún más las cosas, la detección de sustancias químicas en el medio ambiente mediante análisis químico no significa necesariamente que sean biodisponibles, ni que vayan a causar efectos detectables o perjudiciales en los sistemas biológicos. Por lo tanto, para evaluar el riesgo de que las mezclas de sustancias químicas puedan perjudicar a los ecosistemas acuáticos, el monitoreo químico será cada vez menos informativo y proporcionará un vínculo débil con los efectos ecológicos (Schuijt L.M., 2021).

De hecho, el monitoreo químico no suele hacerse solo, sino en combinación con el monitoreo ecológico. Los índices ecológicos son el método más común a nivel global, para evaluar el estado ecológico e implican muestreo de organismos en el sistema monitoreado para evaluar puntos finales estructurales o funcionales. Los índices resumen la diversidad de especies en un solo

valor y sirven además para describir el estado ecológico general (Siddig et al., 2016). Por lo tanto, la principal ventaja del monitoreo ecológico es la alta relevancia ecológica, ya que proporciona información completa sobre el ecosistema e integra el efecto global de los estresores químicos, incluidos los efectos de las mezclas y la biodisponibilidad. Sin embargo, una desventaja de los índices ecológicos es su limitada capacidad para identificar efectos subyacentes que causan efectos ecológicos negativos.

Actualmente hay consenso en que se necesitan métodos complementarios como los ensayos (eco)toxicológicos (Figura 1-1), que podrían proporcionar un puente entre el monitoreo químico y los índices ecológicos (Altenburger et al., 2019; Brack et al., 2019; Lam, 2009; Wernersson et al., 2015).

Los ensayos ecotoxicológicos pueden clasificarse según el nivel de organización biológica que mide:

(A). Respuestas sub-orgánicas, de todo el organismo y de la población/comunidad.

(B1). El muestreo ambiental, utilizando métodos activos o métodos pasivo; a partir del cual, la muestra puede concentrarse. Como alternativa, los organismos pueden ser capturados o enjaulados y expuestos en el campo.

(B2). Una vez muestreados los organismos o el agua pueden realizarse pruebas (eco)toxicológicas que midan las respuestas a nivel sub-orgánico mediante bioensayos in vitro.

(B3). A nivel de todo el organismo.

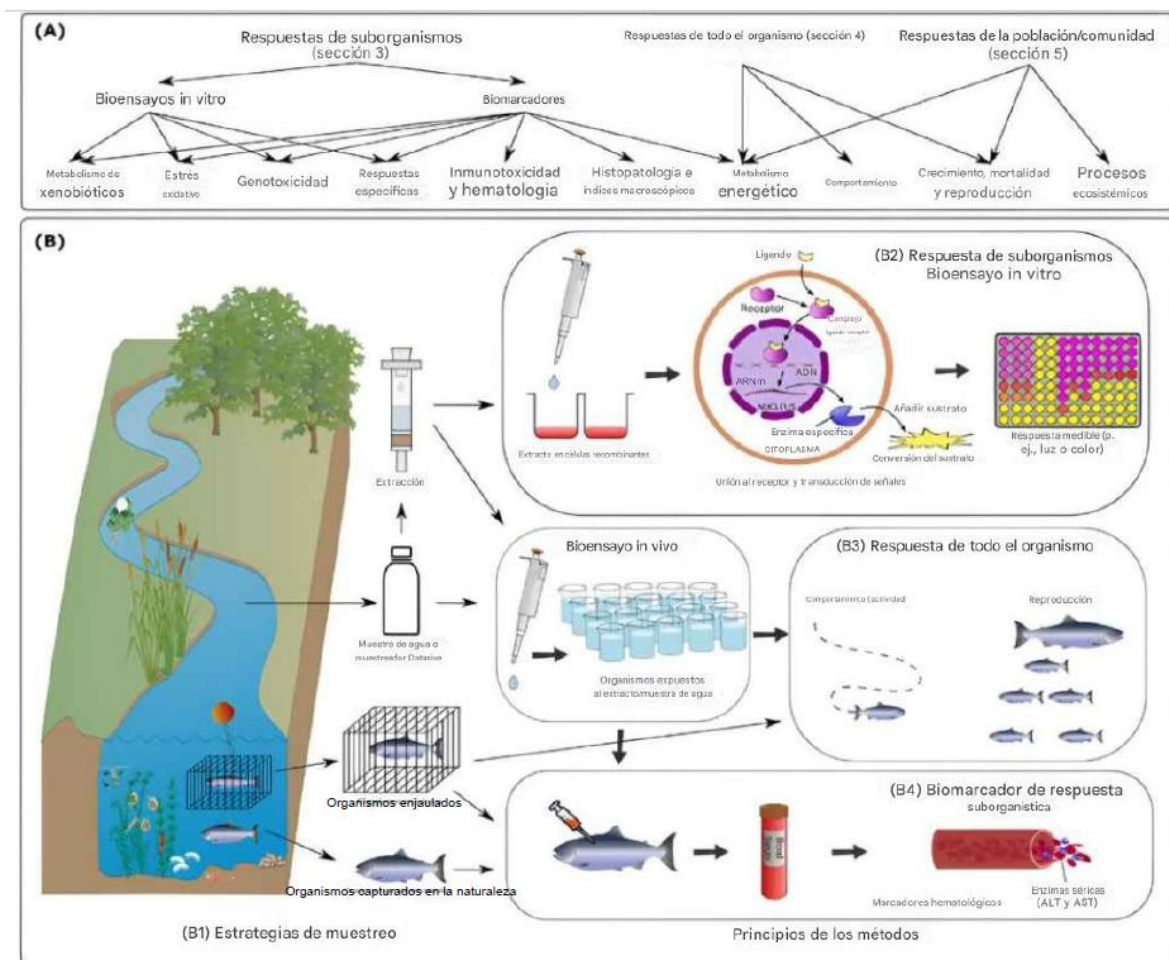
(B4). Biomarcadores.

La toxicidad acuática es la propiedad intrínseca de una sustancia de provocar efectos nocivos en los organismos acuáticos tras la exposición a una sustancia en el medio acuático. La toxicidad acuática aguda mide los efectos resultantes tras una breve exposición, es decir, dentro de un periodo corto (minutos, horas o algunos días) en relación con el periodo de vida del organismo empleado en el ensayo). La toxicidad acuática crónica mide los efectos resultantes de la exposición en el medio determinadas en relación con el ciclo de vida del organismo, exposición que representa una porción significativa de la vida del organismo normalmente >10% del ciclo de vida (Castillo, 2004). Los ensayos de toxicidad crónica requieren de la identificación de “efectos tóxicos a largo plazo relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia” (Castillo, 2004).

La toxicidad se evalúa a través de bioensayos, los cuales son pruebas en condiciones controladas derivadas de la toxicología clásica aplicadas al diagnóstico ambiental en ecosistemas acuáticos que se sospechan contaminados por fuentes naturales o antrópicas, y que se usan como complemento a los ensayos fisicoquímicos y constituyen una herramienta destinada a identificar elementos biológicos en riesgo por contaminación física y química, asociada a elementos tóxicos, compuestos tóxicos, mezclas de compuestos tóxicos y sus transformaciones en el ambiente. Los bioensayos son empleados para establecer niveles tolerables de exposición, en donde se considera la inexistencia de efectos adversos significativos

sobre la “abundancia, producción y persistencia de las poblaciones y los ecosistemas” (Castillo, 2004).

Figura 1-1 Categorización de las pruebas (eco)toxicológicas y principios para evaluar las respuestas al estrés químico en los ecosistemas acuáticos.

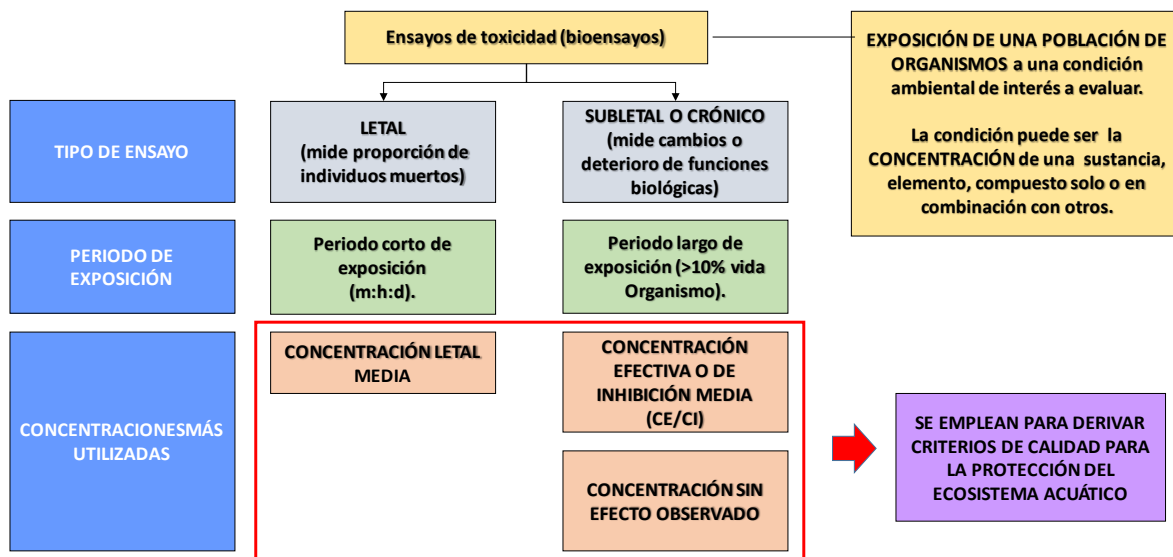


Tomado de: Adaptado de Schuijt et. al. (2021). Traducción no oficial.

Los bioensayos son empleados para medir la toxicidad acuática aguda y la toxicidad acuática crónica (subletal) (ver Figura 1-2). A partir de los bioensayos se determinan las concentraciones de un tóxico que causan un grado de efecto particular sobre los organismos expuestos a partir del análisis de la curva dosis – respuesta (ver Figura 1-3). En la Tabla 1-1 se presentan las definiciones para toxicidad acuática (aguda y crónica), las definiciones de las diferentes concentraciones empleadas para la evaluación de toxicidad, los organismos que se someten a los ensayos normalizados de las directrices de ensayo de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE) o equivalente. Las concentraciones más utilizadas son concentración la letal (CL), efectiva o inhibitoria (CE/CI) y la concentración sin efecto observado (CSEO). Concentraciones que son empleados en la generación de criterios de calidad para

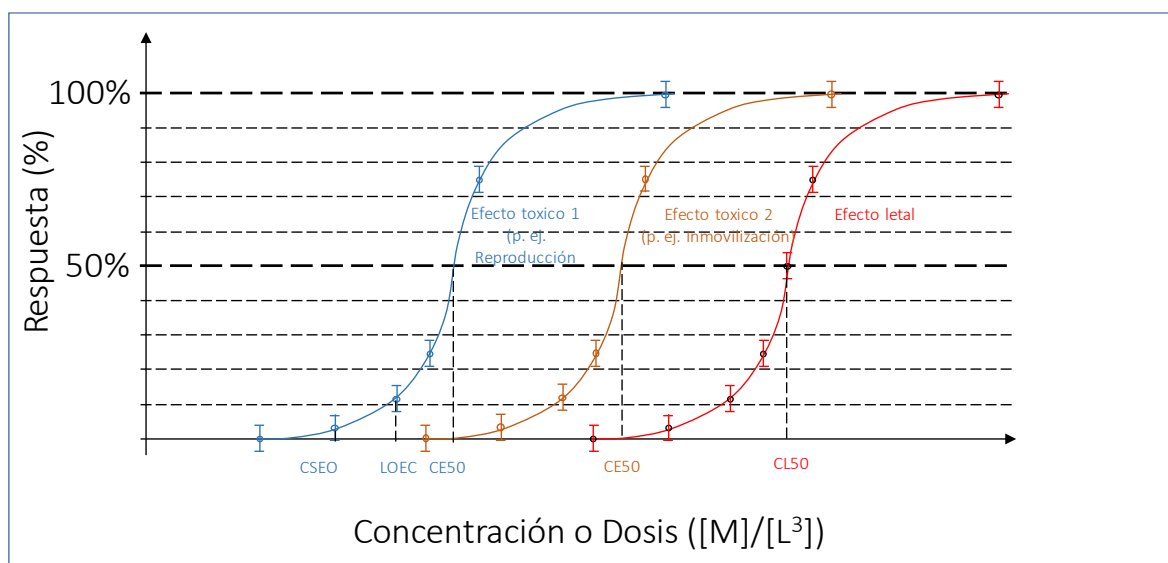
protección de la vida acuática. No obstante, se establece que los ensayos de toxicidad aguda, en condiciones controladas son los más usados a nivel mundial, porque son más fáciles y cuentan con una mayor estandarización de los procedimientos, métodos y los resultados respecto a los efectos subletales o crónicos.

Figura 1-2 Tipos de ensayos



Fuente: Elaboración propia.

Figura 1-3 Curva dosis – respuesta



Fuente: Elaboración propia.

En los bioensayos se emplean principalmente a ensayos normalizados, a saber, peces, crustáceos y algas, “especies representativas que abarcan toda una gama de niveles tróficos y taxones. No obstante, también pueden considerarse datos de otros organismos, siempre que representen a una especie y correspondan a efectos experimentales equivalentes.” (ONU, 2017).

Tabla 1-1 Toxicidad aguda y crónica

Toxicidad acuática aguda: es la propiedad intrínseca de una sustancia de provocar efectos nocivos en los organismos acuáticos tras una breve exposición a esa sustancia en el medio acuático			
Organismo que se somete a los ensayos normalizados*	peces	crustáceos	algas u otras plantas acuáticas
Tipo de concentración para la evaluación de toxicidad acuática aguda / directriz de ensayo	CL50 en 96 horas para los peces (Directriz 203 de la OCDE o equivalente)	CE50 en 48 horas para crustáceos (Directriz 202 o equivalente)	CE50 en 72 o 96 horas para algas (Directriz 201 o equivalente)
Definición	CL50: concentración letal media, concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima letal para el 50% de los organismos de ensayo.	CE50/CI50: concentración efectiva o de inhibición media. Concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima afecta al 50% de los organismos de ensayo.	
Toxicidad acuática crónica: es la propiedad intrínseca de una sustancia de provocar efectos nocivos en los organismos acuáticos durante exposiciones en el medio determinadas en relación con el ciclo de vida del organismo			
Organismo que se somete a los ensayos normalizados*	peces	crustáceos	algas u otras plantas acuáticas
Tipo de concentración para la evaluación de toxicidad acuática crónica / directriz de ensayo	CSEO o CEx crónicas equivalente (Directrices de la OCDE 210 (Fase temprana de la vida de los peces))	CSEO o CEx crónicas equivalente (Directrices de la OCDE 202, parte 2, o 211 (Reproducción de las dafnias))	CSEO o CEx crónicas equivalente (Directrices de la OCDE 201 (inhibición del crecimiento de las algas)).
Definición	CSEO (NOEC en inglés): concentración sin efecto observado, es la concentración de ensayo inmediatamente inferior a la concentración más baja que produce efectos adversos estadísticamente significativos en un ensayo. La CSEO no tiene efectos adversos estadísticamente significativos en comparación con el testigo. CEx: Es la concentración que causal el x% de la respuesta.		
*Los organismos que se someten a ensayos normalizados, a saber, peces, crustáceos y algas, son especies representativas que abarcan toda una gama de niveles tróficos y taxones. No obstante, también pueden considerarse datos de otros organismos, siempre que representen a una especie y correspondan a efectos experimentales equivalentes.			

Fuente: Elaborada a partir de (ONU, 2017).

Es preciso establecer que el SGA establece criterios basados en Directrices de ensayo de la OCDE, no obstante, permite el uso de experimentos equivalentes.

1.2. Interpretación de la toxicidad acuática

Para interpretar la toxicidad acuática, se deben emplear los criterios de clasificación de peligros a corto plazo (agudo) y peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático establecidos en el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA) en su versión más reciente (ONU, 2017) o la que la modifique o sustituya.

Con base en esta clasificación, se establece que cuando una sustancia se clasifique en cualquiera de las categorías de peligro agudo o crónico para el medio acuático, se deben establecer criterios de calidad para el uso preservación de flora y fauna por parte de la Autoridad Ambiental.

1.2.1. Toxicidad acuática aguda

En la Tabla 1-2 se relacionan los principales criterios de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA – versión 7) con relación al peligro a corto plazo (agudo), los cuales permiten clasificar una sustancia en tres categorías (aguada 1 a 3) a partir del uso de datos de toxicidad para peces (CL_{50}), crustáceos y algas u otras plantas acuáticas (CE_{50}). El ensayo de inhibición de crecimiento de las algas es un ensayo crónico de la CE_{50} se considera un valor agudo para propósitos de la clasificación.

Tabla 1-2 Clasificación y etiquetado para peligro a corto plazo (agudo) para el medio ambiente acuático

Peligro a corto plazo (agudo) para el medio ambiente acuático						
Categorías de peligro a corto plazo (agudo) para el medio ambiente acuático	Palabra de advertencia	Indicaciones de peligro	Código de indicación de peligro	CL ₅₀ 96h (para peces)	CE ₅₀ 48 h (para crustáceos)	CE _{r50} 72 o 96 h (para algas u otras plantas acuáticas)
				(Directriz de ensayo 203 de la OCDE o equivalente)	(Directriz de ensayo 202 de la OCDE o equivalente)	(Directriz de ensayo 201 de la OCDE o equivalente)
Agudo 1 (Nota 2)	Atención	Muy tóxico para los organismos acuáticos	H400	<= 1 mg/L (y/o)	<= 1 mg/L (y/o)	<= 1 mg/L (Nota 3)
				La categoría aguda 1 puede subdividirse en algunos sistemas reguladores para incluir un rango inferior con un C(E)L ₅₀ <=0.1 mg/L		
Agudo 2	Sin palabra de advertencia	Tóxico para los organismos acuáticos	H401	>1 pero <=10 mg/L (y/o)	>1 pero <=10 mg/L (y/o)	>1 pero <=10 mg/L (Nota 3)
Agudo 3	Sin palabra de advertencia	Nocivo para los organismos acuáticos	H402	>10 pero <=100 mg/L (y/o)	>10 pero <=100 mg/L (y/o)	>10 pero <=100 mg/L (Nota 3)
				Algunos sistemas reguladores pueden ampliar este rango más allá de una C(E)L ₅₀ de 1001 mg/L introduciendo otra categoría.		
<p>Nota 1: Los organismos que se someten a ensayos normalizados, a saber, peces, crustáceos y algas, son especies representativas que abarcan toda una gama de niveles tróficos y taxones. No obstante, también pueden considerarse datos de otros organismos, siempre que representen a una especie y correspondan a efectos experimentales equivalentes.</p> <p>Nota 2: Cuando se clasifican sustancias en las categorías Aguda 1 y/o Crónica 1, es necesario indicar al mismo tiempo el factor M adecuado para aplicar el método sumatorio.</p> <p>Nota 3: Cuando la toxicidad para las algas CE_{r50} sea más de 100 veces inferior a la de la especie de sensibilidad más próxima y se haga una clasificación basada únicamente en ese efecto, convendrá verificar si esa toxicidad es representativa de la toxicidad para plantas acuáticas. Si se ha demostrado que esto no ocurre, deberá recabarse la opinión de los expertos para decidir si se clasifica o no la sustancia. La clasificación debería basarse en la CE₅₀. Cuando las condiciones de determinación de la CE₅₀ no se especifiquen y no se haya registrado ninguna CE_{r50}, la clasificación deberá basarse en la CE₅₀ más baja disponible.</p> <p>Se deben tener en cuenta las consideraciones establecidas en el SGA para los criterios de clasificación de metales y compuestos inorgánicos</p>						

Fuente: Elaborada a partir de (ONU, 2017)

1.2.2. Toxicidad acuática crónica

Para la determinación de la toxicidad acuática crónica se emplea un enfoque secuencial de acuerdo con los siguiente:

1. Se determina si existe información sobre toxicidad crónica que permita la clasificación de peligros a largo plazo.
2. Se emplean datos sobre toxicidad aguda y datos sobre el comportamiento y destino de la sustancia en el ambiente (degradabilidad y bioacumulación) para la clasificación de peligros a largo plazo.

1.2.2.1. *Potencial de bioacumulación y degradación ambiental*

En la Tabla 1-3 se resumen las definiciones, criterios y ensayos empleados para la determinación del potencial de bioacumulación y la degradación medioambiental. Lo anterior, debido a que son necesarios para la clasificación de los peligros a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático de acuerdo con el SGA (ONU, 2017).

Tabla 1-3 Criterios para definir el potencial de bioacumulación y la degradación medioambiental

Potencial de bioacumulación			
La bioacumulación es la concentración de elementos, compuestos, o mezclas de compuestos en organismos vivos cuando la fuente es el agua. La determinación de la bioacumulación puede realizarse por mediciones directas o empleando propiedades fisicoquímicas de los químicos orgánicos que tienen una relación directa con la respuesta fisiológica de los organismos (Arnot & Gobas, 2006). Para la evaluación de la bioacumulación se emplean principalmente los siguientes aspectos. Coeficiente de partición octanol-agua (Kow) (empleado en compuestos orgánicos); Factor de bioconcentración (BCF por sus siglas en ingles)			
Criterio de clasificación	Ensayo	Descripción	Criterio
Factor de bioconcentración (FBC)	Se determinará mediante Directriz de ensayo 305 de la OCDE	El factor de bioconcentración es un valor adimensional que se determina mediante ensayo de laboratorio, y determinado como la relación de concentración una sustancia química o elemento en los tejidos de los organismos (como mg / kg) y la concentración de la sustancia química en el medio circundante (como mg/L o mg/Kg). Para la determinación de la bioconcentración en agua se emplean generalmente peces, debido a que son adecuados para determinar el potencial de bioacumulación de sustancias con muy baja solubilidad en agua (OECD, 2020).	Potencial de bioacumulación basado en un FBC ≥ 500 obtenido experimentalmente
Coeficiente de reparto octanol/agua expresado como log Kow	Estimación directa mediante directrices de ensayo 107 (1995), 117 (1989) o 123 de la OCDE	El coeficiente de partición n-octanol/agua (Kow), es un cociente adimensional que expresa la relación de la concentración de una sustancia química en n-octanol y la concentración de una sustancia química en agua en equilibrio, a una temperatura especificada. Su valor está inversamente relacionado con la solubilidad en agua y directamente proporcional al peso molecular de una sustancia (ChemSafetyPro, 2020). Los valores de Kow (o el logaritmo de Kow) sirven para predecir la tendencia de un compuesto orgánico a adsorberse en organismos vivos, por lo que determina el potencial de bioacumulación. Las sustancias con un log Kow elevado tienden a baja solubilidad en agua y tienden a alojarse en tejidos grasos, teniendo por tanto un potencial de bioacumulación en los organismos	$\log Kow \geq 4$ con la condición de que este indicador sea un descriptor apropiado del potencial de bioacumulación de la sustancia. Los valores medidos de log Kow prevalecen sobre los valores estimados, y los valores medidos del FBC lo hacen sobre los valores de log Kow.

Degradación medioambiental			
Criterio de clasificación	Ensayo	Descripción	Criterio
Ensayos de biodegradabilidad	Los ensayos de biodegradabilidad (A hasta F) de la Directriz de ensayo 301 de la OCDE (OCDE, 1992)	<p>La biodegradabilidad es la capacidad intrínseca de una sustancia a ser transformada en una estructura química más simple por vía microbiana (Ottenbrite y Albertsson, 1992). Las sustancias que se degradan con rapidez desaparecen con rapidez de medio ambiente.</p> <p>Para su evaluación la directriz de ensayo 301 tiene métodos que busca analizar tres niveles sucesivos de ensayo: las pruebas de biodegradabilidad inmediata, de biodegradabilidad intrínseca y de simulación (OCDE, 1992).</p>	<p>Rápidamente degradables si en estudios de biodegradación fácil de 28 días se obtienen los siguientes niveles de biodegradación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 70% en ensayos basados en Carbono Orgánico Disuelto 60% del máximo teórico en ensayos basados en la desaparición de oxígeno o en la generación de CO₂.
Cociente DBO ₅ (5 días) /DQO	Análisis fisicoquímicos	<p>Cuando no se disponga de ensayos de biodegradabilidad, estudios de simulación sobre biodegradabilidad o estudios sobre terreno, etc. Se podrá emplear el cociente DBO₅/DQO para determinar el potencial de biodegradación.</p>	Degradación rápida cuando el cociente DBO ₅ (5 días) /DQO ≥ 0,5
<p>* Una sustancia podrá considerarse rápidamente degradable si se dispone de otra información científica que demuestre que la sustancia puede degradarse (biótica y/o abióticamente) en el medio en una proporción >70% en un periodo de 28 días.</p>			

Fuente: Elaborada a partir de (OECD, 2020), (ChemSafetyPro, 2020) y (OCDE, 1992).

A continuación, se detalla cada uno de los enfoques de acuerdo con la disponibilidad de información.

1.2.2.2. Cuando se dispone de datos adecuados sobre la toxicidad crónica

En la Tabla 1-4 se relacionan los principales criterios de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA – versión 7) en relación con el peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático de acuerdo con lo siguiente:

1. Cuando se disponen datos adecuados de toxicidad crónica para los tres niveles tróficos y se conoce su degradabilidad se clasifica de manera directa empleando la Tabla 1-4.
2. Cuando se disponen datos adecuados de toxicidad crónica para uno o dos niveles tróficos y se conoce su degradabilidad se clasifica empleando la Tabla 1-4, y además se evalúa la clasificación sobre toxicidad aguda de la Tabla 1-5, y se aplica el resultado más estricto de la categoría de peligro.

Tabla 1-4 Clasificación y etiquetado para peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático

Categorías de peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático	Palabra de advertencia	Indicaciones de peligro	Código de indicación de peligro	Sustancias para las que se dispone de datos adecuados sobre la toxicidad crónica		
				CSEO o CEx crónicas (para peces)	CSEO o CEx crónicas (para crustáceos)	CSEO o CEx crónicas (para algas u otras plantas acuáticas)
				Directrices de ensayo 210 (Fases tempranas de la vida del pez) de la OCDE	Directrices de ensayo 211 (Reproducción de la Daphnia) de la OCDE	Directrices de ensayo 201 (Inhibición del crecimiento de las algas) de la OCDE
Crónico 1 (Nota 2)	Atención	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H410	Sustancias no rápidamente degradables (≤ 0.1 mg/L (y/o)) Sustancias rápidamente degradables (≤ 0.01 mg/L (y/o))	Sustancias no rápidamente degradables (≤ 0.1 mg/L (y/o)) Sustancias rápidamente degradables (≤ 0.01 mg/L (y/o))	Sustancias no rápidamente degradables (≤ 0.1 mg/L) Sustancias rápidamente degradables (≤ 0.01 mg/L)
Crónico 2	Sin palabra de advertencia	Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H411	Sustancias no rápidamente degradables (≤ 1 mg/L (y/o)) Sustancias rápidamente degradables (≤ 0.1 mg/L (y/o))	Sustancias no rápidamente degradables (≤ 1 mg/L (y/o)) Sustancias rápidamente degradables (≤ 0.1 mg/L (y/o))	Sustancias no rápidamente degradables (≤ 1 mg/L) Sustancias rápidamente degradables (≤ 0.1 mg/L)
Crónico 3	Sin palabra de advertencia	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H412	Sustancias rápidamente degradables (≤ 1 mg/L (y/o))	Sustancias rápidamente degradables (≤ 1 mg/L (y/o))	Sustancias rápidamente degradables (≤ 1 mg/L)
<p>Nota 1: Los organismos que se someten a ensayos normalizados, a saber, peces, crustáceos y algas, son especies representativas que abarcan toda una gama de niveles tróficos y taxones. No obstante, también pueden considerarse datos de otros organismos, siempre que representen a una especie y correspondan a efectos experimentales equivalentes.</p> <p>Nota 2: Cuando se clasifican sustancias en las categorías Aguda 1 y/o Crónica 1, es necesario indicar al mismo tiempo el factor M adecuado para aplicar el método sumatorio.</p> <p>Nota 3: Para las sustancias no rápidamente degradables la ausencia de degradabilidad rápida se basa en que no se produce una biodegradabilidad fácil o en otra prueba de ausencia de degradación rápida. Cuando no se disponga de datos útiles sobre la degradabilidad, ya sean datos determinados experimentalmente o estimaciones, se considerará que la sustancia no es rápidamente degradable.</p> <p>* También se pueden emplear otros ensayos validados y aceptados internacionalmente. Deberán utilizarse las concentraciones sin efectos observados (CSEO) u otras CEx equivalentes.</p> <p>** Se deben tener en cuenta las consideraciones establecidas en el SGA para los criterios de clasificación de metales y compuestos inorgánicos</p>						

Fuente: Elaborada a partir de (ONU, 2017)

1.2.2.1. Cuando NO se dispone de datos adecuados sobre la toxicidad crónica

En la Tabla 1-4 se relacionan los principales criterios de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA – versión 7) en relación con el peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático cuando se disponen datos sobre toxicidad aguda y se conoce la degradabilidad y potencial de bioacumulación.

Tabla 1-5 Clasificación y etiquetado para peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático

Categorías de peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático	Palabra de advertencia	Indicaciones de peligro	Código de indicación de peligro	Sustancias para las que no se dispone de datos adecuados sobre la toxicidad crónica		
				CL ₅₀ 96h (para peces)	CE ₅₀ 48 h (para crustáceos)	CE _{r50} 72 o 96 h (para algas u otras plantas acuáticas)
				(Directriz de ensayo 203 de la OCDE o equivalente)	(Directriz de ensayo 202 de la OCDE o equivalente)	(Directriz de ensayo 201 de la OCDE o equivalente)
Crónico 1 (Nota 2)	Atención	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H410	<= 1 mg/L (y/o)	<= 1 mg/L (y/o)	<= 1 mg/L (Nota 3)
				y la sustancia no es rápidamente degradable y/o el FBC determinado experimentalmente es ≥ 500 (o, en su defecto el log Kow ≥ 4) (Nota 4 y 5)		
Crónico 2	Sin palabra de advertencia	Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H411	>1 pero <=10 mg/L (y/o)	>1 pero <=10 mg/L (y/o)	>1 pero <=10 mg/L (Nota 3)
				y la sustancia no es rápidamente degradable y/o el FBC determinado experimentalmente es ≥ 500 (o, en su defecto el log Kow ≥ 4) (Nota 4 y 5)		
Crónico 3	Sin palabra de advertencia	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H412	>10 pero <=100 mg/L (y/o)	>10 pero <=100 mg/L (y/o)	>10 pero <=100 mg/L (Nota 3)
				y la sustancia no es rápidamente degradable y/o el FBC determinado experimentalmente es ≥ 500 (o, en su defecto el log Kow ≥ 4) (Nota 4 y 5)		
Crónico 4	Sin palabra de advertencia	Puede ser nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos	H413	Esta clasificación se introduce para cuando los datos disponibles no permitan una clasificación, pero estos susciten alguna preocupación.		
				Las sustancias poco solubles para las que no se haya registrado toxicidad aguda en concentraciones inferiores o iguales a su solubilidad en agua y que no se degraden rápidamente y tengan un log Kow ≥ 4, lo que indica un potencial de bioacumulación, se clasificarán en esta categoría, a menos que la información científica demuestre que la clasificación no es necesaria. Esa información podría ser un FBC determinado experimentalmente < 500, o unas CSEO de toxicidad crónica > 1 mg/L, o datos que indiquen una degradación rápida en el medio ambiente.		
<p>Nota 1: Los organismos que se someten a ensayos normalizados, a saber, peces, crustáceos y algas, son especies representativas que abarcan toda una gama de niveles tróficos y taxones. No obstante, también pueden considerarse datos de otros organismos, siempre que representen a una especie y correspondan a efectos experimentales equivalentes.</p> <p>Nota 2: Cuando se clasifican sustancias en las categorías Aguda 1 y/o Crónica 1, es necesario indicar al mismo tiempo el factor M adecuado para aplicar el método sumatorio.</p> <p>Nota 3: Cuando la toxicidad para las algas CE_{r50} sea más de 100 veces inferior a la de la especie de sensibilidad más próxima y se haga una clasificación basada únicamente en ese efecto, convendrá verificar si esa toxicidad es representativa de la toxicidad para plantas acuáticas. Si se ha demostrado que esto no ocurre, deberá recabarse la opinión de los expertos para decidir si se clasifica o no la sustancia. La clasificación debería basarse en la CE_{r50}. Cuando las condiciones de determinación de la CE₅₀ no se especifiquen y no se haya registrado ninguna CE_{r50}, la clasificación deberá basarse en la CE₅₀ más baja disponible.</p> <p>Nota 4: Para las sustancias no rápidamente degradables la ausencia de degradabilidad rápida se basa en que no se produce una biodegradabilidad fácil o en otra prueba de ausencia de degradación rápida. Cuando no se disponga de datos útiles sobre la degradabilidad, ya sean datos determinados experimentalmente o estimaciones, se considerará que la sustancia no es rápidamente degradable.</p> <p>Nota 5: Potencial de bioacumulación basado en un FBC≥ 500 obtenido experimentalmente o, en su defecto, un log Kow≥4 con la condición de que este indicador sea un descriptor apropiado del potencial de bioacumulación de la sustancia. Los valores medidos de log Kow prevalecen sobre los valores estimados, y los valores medidos del FBC lo hacen sobre los valores de log Kow</p>						
*Se deben tener en cuenta las consideraciones establecidas en el SGA para los criterios de clasificación de metales y compuestos inorgánicos						

Fuente: Elaborada a partir de (ONU, 2017)

En la Tabla 1-6 se resumen la clasificación de las sustancias peligrosas para el medio ambiente acuático.

Tabla 1-6 Criterios de clasificación de las sustancias peligrosas para el medio ambiente acuático

Categorías de clasificación			
Peligro a corto plazo (agudo) (Nota 1)	Peligro a largo plazo (crónico) (Nota 2)		
	Se dispone de datos adecuados sobre la toxicidad crónica		No se dispone de datos adecuados sobre la toxicidad crónica (Nota 1)
	Sustancias que no se degradan rápidamente (Nota 3)	Sustancias que se degradan rápidamente (Nota 3)	
Categoría Aguda 1 C(E)L50≤1,00	Categoría Crónica 1 CSEO o CEx ≤ 0,1	Categoría Crónica 1 CSEO o CEx ≤ 0,01	Categoría Crónica 1 C(E)L50≤ 1,00 y ausencia de degradabilidad rápida y/o FBC≥ 500 o, en su defecto, log Kow≥4
Categoría Aguda 2 1,00<C(E)L50≤10,0	Categoría Crónica 2 0,1<CSEO o CEx≤1	Categoría Crónica 2 0,01 <CSEO o CEx ≤ 0,1	Categoría Crónica 2 1,00<C(E)L50≤ 10,0 y ausencia de degradabilidad rápida y/o FBC≥ 500 o, en su defecto, log Kow≥4
Categoría Aguda 3 10,0 <C(E)L50≤ 100		Categoría Crónica 3 0,1 <CSEO o CEx ≤ 1	Categoría Crónica 3 10,0<C(E)L50≤ 100 y ausencia de degradabilidad rápida y/o FBC≥ 500 o, en su defecto, log Kow≥4
	Categoría Crónica 4 (Nota 4), (Nota 5) Ausencia de toxicidad aguda y de degradabilidad rápida, y FBC ≥ 500 o, en su defecto, log Kow ≥ 4, a menos que las CSEO> 1 mg/L		
Nota 1: Rango de toxicidad aguda basado en los valores de C(E)L50 en mg/L para peces, crustáceos y/o algas u otras plantas acuáticas (o estimación de la relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) si no se dispone de datos experimentales).			
Nota 2: Las sustancias se clasifican en las diversas categorías crónicas, a menos que se disponga de datos adecuados sobre la toxicidad crónica para los tres niveles tróficos por encima de la solubilidad en agua o de 1 mg/L. (Por "adecuados" se entiende que los datos proporcionan una cobertura suficiente del efecto que interesa. En general, ello supondría disponer de datos medidos en ensayos, pero para evitar una cantidad de ensayos innecesaria, en algunos casos pueden utilizarse también datos estimados, por ejemplo, la (Q)SAR o, en los casos más claros, opiniones de expertos.)			
Nota 3: Rango de toxicidad crónica basado en los valores de la CSEO o en los valores equivalentes de la CEx en mg/L para peces o crustáceos u otras medidas reconocidas de toxicidad crónica.			
Nota 4: El sistema también introduce una clasificación de tipo "red de seguridad" (denominada categoría Crónica 4) para los casos en que los datos disponibles no permitan la clasificación con arreglo a los criterios establecidos, pero exista, sin embargo, algún motivo de preocupación.			
Nota 5: Las sustancias poco solubles para las que no se haya registrado toxicidad aguda en el límite de solubilidad y que no sean rápidamente degradables y presenten un potencial de bioacumulación se clasificarán en esta categoría a menos que se demuestre que la clasificación no es necesaria en razón de los peligros a largo plazo para el medio ambiente acuático.			

Fuente: Elaborada a partir de (ONU, 2017)

1.2.3. Criterios de clasificación de mezclas

Para la clasificación de las mezclas, se emplean las categorías anteriormente presentadas para clasificar los peligros al medio ambiente, es decir las categorías Aguda 1 a 3 y Crónica 1 a 4. Lo anterior a partir de los siguientes supuestos: para las categorías Aguda y/o Crónica 1 los "componentes relevantes" de una mezcla son los que están presentes en una concentración igual o superior a 0,1% (peso/peso); en el caso de los demás componentes aquellos presentes en una concentración igual o superior a 1% (peso/peso). Lo anterior, a menos que exista la presunción (por ejemplo, en el caso de componentes muy tóxicos) de que un componente presente en una concentración inferior a 0,1% puede ser relevante para clasificar la mezcla según los peligros que presenta para el medio ambiente acuático.

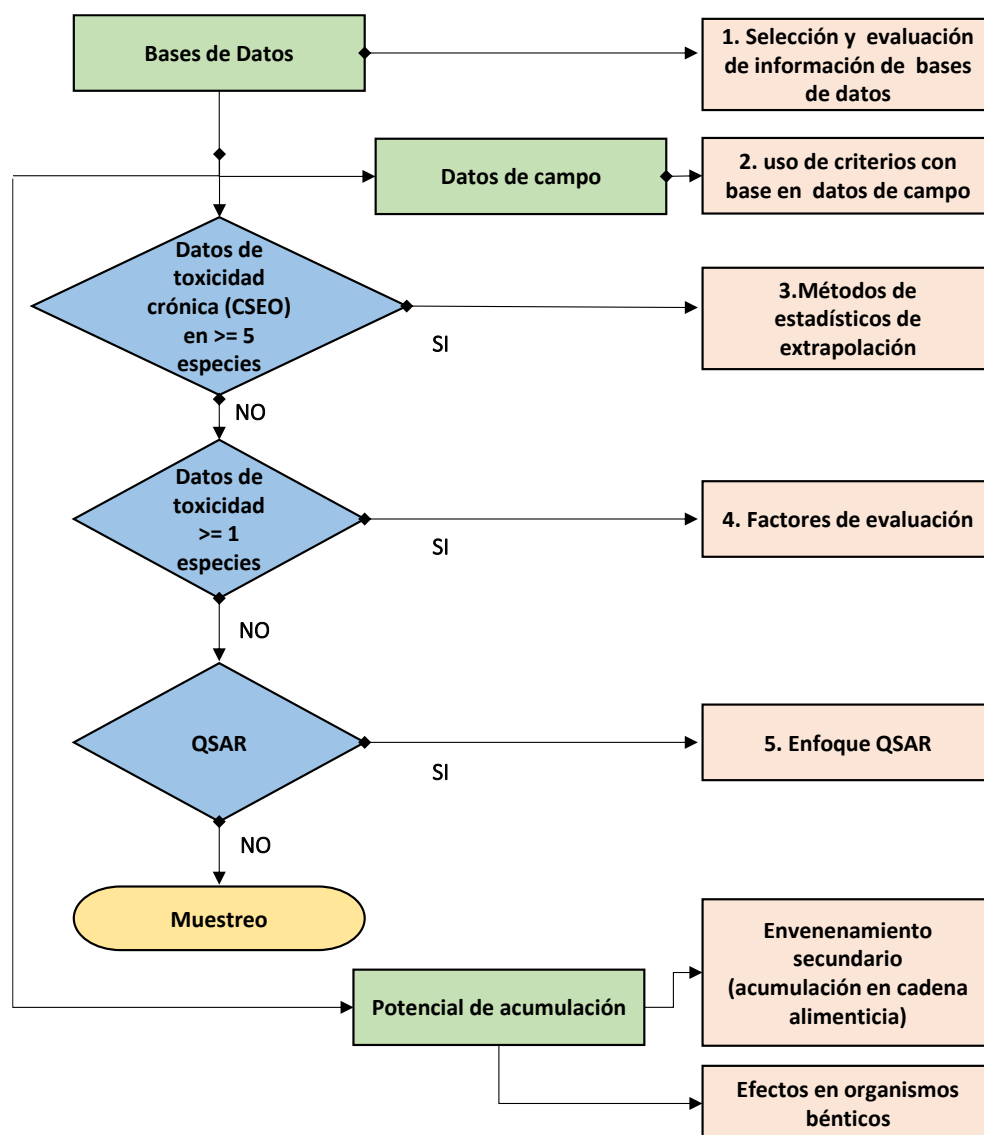
La clasificación de las muestras se realiza de acuerdo con lo establecido en el numeral 4.1.3 sobre criterios de clasificación de mezclas del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (ONU, 2017), en donde se menciona que dependiendo del tipo de información disponible sobre la propia mezcla y sus componentes se desarrolla la siguiente secuencia:

- Clasificación basada en datos sobre la toxicidad de la mezcla.
- Clasificación basada en los principios de extrapolación
- Clasificación basada en el método de la "suma de los componentes clasificados".
- La aplicación de una "fórmula de adición".

1.3. Procedimiento para derivar los criterios de calidad a partir del uso de bioensayos

En la Figura 1-4 se resume el procedimiento que deberán emplear las Autoridades Ambientales para derivar los criterios de calidad para el uso preservación de flora y fauna a partir de los resultados de bioensayos, lo anterior con base en las orientaciones del documento OCDE para la evaluación de efectos acuáticos (OECD, 1995).

Figura 1-4 Procedimiento para derivar los criterios de calidad para el uso preservación de flora y fauna



Fuente: Adaptado de (OECD, 1995). Traducción no oficial.

A continuación, se detallan las diferentes etapas del procedimiento.

1.3.1. Evaluación y selección de información de bases de datos

Para evaluar los efectos sobre los ecosistemas acuáticos es preciso determinar propiedades fisicoquímicas y toxicidad del químico a partir de bases de datos. Lo anterior con el objetivo de anticipar efectos sobre el ecosistema y determinar si existen peligros a corto plazo (agudo de las

categorías 1, 2 o 3) o a largo plazo (crónicos de las categorías 1, 2, 3 o 4) sobre el ecosistema acuático.

Por lo anterior, a partir del uso de bases de datos la Autoridad Ambiental debe recopilar la información que trata el numeral 1.2, para clasificar los peligros sobre el ecosistema y definir la necesidad de establecer criterios de calidad para este uso, en relación con una sustancia específica.

En la definición de criterios de calidad, se deben considerar especies de al menos:

- Familias de peces óseos,
- familia de crustáceos planctónicos o nadadores
- familia de crustáceos bentónicos,
- familia de moluscos gasterópodos o bivalvos,
- familias de anélidos,
- familia de otro phylum animal diferente, por ejemplo, de insectos;
- así como al menos, una especie de alga o macrófita.

Una vez definido el tipo de peligro, la Autoridad Ambiental debe emplear alguno de los siguientes métodos para definir el criterio de calidad.

- Fuentes de información

Para establecer los diferentes aspectos relacionados con la toxicidad, bioacumulación y degradación ambiental, pueden ser consultados en bases de datos abiertas (algunas de las cuales se citan en la Tabla 1-7.

Tabla 1-7 Base de datos de información

Nombre de la base de datos	Descripción	URL
PubChem	base de datos abierta de compuestos químicos del instituto nacional de salud de Estados unidos (National Institute of Health (NIH))	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
ECOTOX Knowledgebase (EPA)	Repositorio global de estudios ecotoxicológicos experimentales en más de 12 000 especies. Incluye datos de toxicidad aguda y crónica, efectos en peces, plantas, aves, invertebrados, anfibio	https://cfpub.epa.gov/ecotox/
CompTox Chemicals Dashboard (EPA)	Plataforma que integra miles de datos toxicológicos computacionales, analíticos y experimentales. Incluye QSAR, rutas metabólicas, fuentes de exposición, valores toxicológicos, identificación estructural, PFAS, pesticidas y contaminantes emergentes.	https://comptox.epa.gov/dashboard/
OECD – eChemPortal	Portal que integra datos toxicológicos y ambientales de múltiples agencias regulatorias del mundo. Incluye estudios experimentales, clasificación de peligros, degradación ambiental, bioacumulación, ecotoxicidad y toxicidad humana.	https://www.echemportal.org/echemportal/

Nombre de la base de datos	Descripción	URL
PubChem (NIH)	La mayor base global de datos químicos y biológicos: propiedades, rutas metabólicas, bioactividad, toxicidad, estudios de laboratorio, regulaciones, interacciones biológicas.	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
National Pesticide Information Center	Bases de datos y hojas de producto e ingredientes activos	http://npic.orst.edu/index.es.html
Pesticide Properties DataBase (PPDB)	base de datos con es una base de datos que contiene propiedades fisicoquímicas datos toxicológicos de salud humana y ecotoxicológicos de pesticidas la cual ha sido desarrollada por la Unidad de Investigación de Agricultura y Medio Ambiente (AERU) de la Universidad de Hertfordshire	https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm
-	Manual de evaluación de la contaminación del suelo. Apéndice 3 Hojas de datos sobre los plaguicidas	http://www.fao.org/3/x2570s/X2570S08.htm
IPCS INCHEM	es herramienta que integra base de datos de organismos internacionales, para acceso público producido a través de la cooperación entre el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS) y el Centro Canadiense de Salud y Seguridad Ocupacional	http://www.inchem.org/#/search?rpp=10&q=aldrin&p=1&f=Cas_ALL_ss%5B%22309-00-2%22%5D
ECHA	European Chemicals Agency de la Unión Europea Base de datos oficial de la Unión Europea con información regulatoria REACH, CLP, propiedades físico-químicas, toxicidad, ecotoxicidad, clasificación de peligros, dossier completos y evaluaciones de riesgo químico	https://echa.europa.eu/es/home
OPP Pesticide Ecotoxicity Database	USEPA Pesticide Ecotoxicity Database	ipmcenters.org
ECHEMPortal	Portal mundial de información sobre sustancias químicas	https://echemportal.org/echemportal/ghs-search/by-name

Fuente: Elaboración propia.

1.3.2. Criterios basados en ensayos de campo

A diferencia de los métodos que evalúan respuestas a nivel sub-orgánico, las pruebas de ecotoxicidad que evalúan las respuestas a nivel de todo el organismo y de la población o la comunidad, incluyen tanto la evaluación de los efectos letales como los subletales, medidos tradicionalmente como puntos finales (por ejemplo, efectos en la supervivencia o en la reproducción), y no tradicionales (por ejemplo, el comportamiento; Ver Figura 1-1, parte B3). Las pruebas que evalúan las respuestas de todo el organismo suelen incluir una sola especie (Connon et al., 2012), mientras que las pruebas que consideran la exposición simultánea de múltiples especies, por ejemplo, mediante el uso de microcosmos y mesocosmos, pueden evaluar las respuestas a nivel de población/comunidad. Una gran ventaja de las pruebas multiespecíficas es que las interacciones entre especies, como la competencia y la depredación, y las cadenas alimentarias que dan lugar a la bioacumulación, se incluyen en el montaje experimental. Estas interacciones no se dan en los ensayos mono-específicos.

La US-EPA desde la década de los noventa, ha reconocido que los criterios nacionales de calidad del agua pueden no reflejar con exactitud las condiciones específicas del lugar debido a las características físicas y/o químicas de este, y a la sensibilidad de las especies biológicas de un lugar determinado. En consecuencia, la EPA creó procedimientos para obtener criterios de calidad del agua específicos para cada sitio (US EPA, 1994a). Los criterios específicos del lugar están permitidos por la normativa y están sujetos a la revisión y aprobación de la EPA. Por ejemplo, los estados tienen la facultad de ajustar los criterios de vida acuática para los metales

a fin de reflejar las condiciones específicas del lugar mediante el uso de una relación de efecto del agua. Este es una forma para tener en cuenta las diferencias entre la toxicidad del metal en el agua de dilución de laboratorio utilizada para las pruebas de toxicidad y su toxicidad en el agua del sitio o del lugar específico. En 1994, la EPA publicó unas directrices provisionales sobre la determinación y el uso de los coeficientes de efecto del agua para los metales.

Teniendo en cuenta el contexto anterior, para la aplicación de los métodos de bioensayos en el sitio (in vivo) es pertinente seguir los siguientes pasos:

- Considerar condiciones de referencia de acuerdo con la clasificación de ecosistemas acuáticos: Los criterios de calidad se enfocan a determinar el estado relativo del recurso hídrico, basándose en la investigación de la salud y la diversidad de su biota residente cuando se compara, en parte, con masas de agua de referencia similares que se sabe que no están deterioradas o están mínimamente deterioradas por las actividades humanas. El deterioro de la masa de agua se juzgará por su desviación de los criterios que se deriven del proceso de establecimiento. Por tal razón, los criterios de calidad ayudan a establecer objetivos de calidad destinados a conservar o restaurar la integridad biológica. De esta forma, los criterios de calidad del agua se articulan con los reglamentos aplicables a los vertimientos de fuentes puntuales y no puntuales.
- Identificar factores de estrés: los criterios de calidad del agua se utilizan para determinar los límites máximos de vertimientos puntuales a cuerpos de agua; reglamento que aplica a los permisos de vertimientos de aguas residuales. Por tanto, se considera pertinente identificar las sustancias contaminantes potenciales, asociadas a la fuente contaminante o actividad generadora de aguas residuales; por ejemplo, asociada a desechos humanos, comida triturada de los fregaderos, las aguas de lavados y de baño, grasas y aceites, productos químicos tóxicos, los metales y plaguicidas, principalmente.
- Muestreos biológicos: las características bióticas como las físicas del hábitat de interés se estudian, utilizando métodos estandarizados para cada clasificación de ecosistemas acuáticos. El estudio debe incluir sitios deteriorados y poco deteriorados, y se debe muestrear dos o más grupos biológicos (por ejemplo, infauna, peces, epifauna, macrófitos, plancton). Las evaluaciones biológicas complementan las evaluaciones físicas y químicas de la calidad del agua, al reflejar los efectos acumulados de las actividades humanas en una masa de agua, incluidas las posibles causas de esos efectos. Posteriormente, pueden utilizarse pruebas químicas y de toxicidad, así como evaluaciones más precisas del hábitat, para identificar las causas probables y sus fuentes, y derivado de ello, sugerir medidas correctivas.
- Los bioensayos deben provenir de laboratorios acreditados de acuerdo con la Resolución 104 de 2022 del IDEAM, o aquella que la modifique, adicione o sustituya.

1.3.3. Métodos de estadísticos de extrapolación

Los métodos estadísticos de extrapolación se emplean cuando se tienen al menos 5 datos de concentración crónica (CSEO) y permiten determinar el nivel máximo tolerable (nivel en el que no se esperan efectos adversos) para especies/géneros de diferentes niveles de sensibilidad y especies/géneros que no fueron analizadas del ecosistema acuático. Estos métodos asumen que la variación de la sensibilidad de las especies/géneros analizados son representativa del ecosistema. Para ellos es posible emplear los métodos de extrapolación que se presentan a continuación.

◇ Concentración de peligro (HCp)

Dos métodos son empleados para determinar la concentración (HC que representa un riesgo bajo (p) para la mayoría de las especies del ecosistema acuático. Estos métodos defieren en los supuestos en relación con la forma de la curva de distribución empleada para evaluar la sensibilidad de las especies, es decir, que el método Aldenberg y Slob (1993) emplea una distribución log-logística, en tanto el método Wagner y Lokke (1991) emplea una distribución log-normal para determinar la HCp, que es la concentración que representa un riesgo para el p por ciento de las especies.

Antes emplear estos métodos de extrapolación se debe realizar la prueba de Kolmogorov-Smirnov que permite medir el grado de concordancia existente entre la distribución de un conjunto de datos y una distribución teórica específica (distribución normal), con ello se garantiza una adecuada protección de las especies. Esta prueba se puede realizar mediante programas estadísticos como SPSS o mediante el uso de herramientas en Excel. Esta prueba de normalidad basada en el valor absoluto de la máxima diferencia (D) entre la distribución acumulada observada (P y la teórica (F(X)), se acepta el ajuste de la función si el valor $k > D_{\text{máximo}}$.

Tabla 1-8 Parámetros de la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov

Sigla	Descripción del parámetro	Ecuación
P	Para un número N de datos de CSEO, la probabilidad acumulada observada empírica de cada dato, se calcula al ordenarlos e identificarlos (R) desde "1" para el más bajo a "N" para el más alto.	$P = \frac{R}{(N + 1)}$
u	Media aritmética, la suma de los números de X dividida por cuántos números se promedian, es decir N. Función Promedio en Excel.	$u = \frac{\sum_{i=1}^N CSEO}{N}$
S	Desviación estándar de los N valores de X Función DESVESTA en Excel.	$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (CSEO - u)^2}{N - 1}}$
F(X)	Frecuencia teórica acumulada a partir de la función de probabilidad. La función de distribución log-normal (Wagner y Lokke (1991)): es aquella donde la variable positiva cuyo logaritmo tiene una distribución normal.	-

Sigla	Descripción del parámetro	Ecuación
	F(X) (Función DISTR.NORM. N en Excel empleando los parámetros $(x, u, S, VERDADERO)$) La función de distribución log-logística (Aldenberg y Slob (1993)) es aquella donde la variable cuyo logaritmo tiene una distribución logística.	
D	D= Valor absoluto de la diferencia entre la frecuencia observada y la frecuencia teórica.	$D = P - F(X) $
k	Valor obtenido de la tabla Kolmogorov-Smirnov a partir N y el nivel de confiabilidad deseado (0.05). Ver Tabla 1-9.	-

Fuente: Elaborado a partir de (OECD, 1995)

Tabla 1-9 Valores de k para una confiabilidad de 0.05

n	$\alpha = 0.05$	n	$\alpha = 0.05$
1	0.975	21	0.287
2	0.842	22	0.281
3	0.708	23	0.275
4	0.624	24	0.269
5	0.563	25	0.264
6	0.519	26	0.259
7	0.483	27	0.254
8	0.454	28	0.25
9	0.43	29	0.246
10	0.409	30	0.242
11	0.391	31	0.238
12	0.375	32	0.234
13	0.361	33	0.231
14	0.349	34	0.227
15	0.338	35	0.224
16	0.327	36	0.221
17	0.318	37	0.218
18	0.309	38	0.215
19	0.301	39	0.213
20	0.294	40	0.21
		> 40	$1.36\sqrt{n}$

Fuente: (OECD, 1995)

La HC₅ para un conjunto de datos de al menos 5 especies se determina de acuerdo con lo que se presenta en la Tabla 1-10.

Tabla 1-10 Parámetros del método Aldenberg y Slob (1993) y el método Wagner y Lokke (1991)

Sigla	Descripción del parámetro	Ecuación
\overline{CSEO}	El valor medio geométrico de las pruebas de CSEO (concentración con efecto observado) realizadas para m especies. Debe calcularse como la media geométrica de todos los valores crónicos disponibles para la especie.	La media geométrica de n números es la raíz n del producto de los números. $\overline{CSEO} = \sqrt[n]{CSEO(1) * CSEO(2) * \dots * CSEO(m)}$
T	Factor de extrapolación	$T = \exp^{(S_m * K)}$
Sm	Desviación estándar de los logaritmos naturales de la CSEO para m especies.	—
k	Valor que establece el límite de tolerancia para una distribución logística o normal. En la Tabla 1-11 se presentan los valores de k para los métodos Aldenberg y Slob (1993) y el método Wagner y Lokke (1991) con el objetivo de garantizar una protección del 95% de las especies.	—
HC ₅	La HC ₅ , se considera el límite de concentración que se espera sea perjudicial para una comunidad determinada (p=0.05=5%), y que se considera equivalente al nivel máximo tolerable, en donde se asume que el ecosistema está adecuadamente protegido. Esta concentración tiene el objetivo de garantizar una protección del 95% de las especies.	$HC_5 = \frac{\overline{CSEO}}{T}$

Fuente: Elaborado a partir de (OECD, 1995)

Tabla 1-11 Valores de k para una protección del 95% de las especies.

Valores de k para un nivel de confianza del 95%		
m	Aldenberg y Slob (1993)	Método Wagner y Lokke (1991)
5	4.47	4.21
6	3.93	3.71
7	3.59	3.40
8	3.37	3.19
9	3.19	3.03
10	3.06	2.91
11	2.96	2.82
12	2.87	2.74
13	2.80	2.67
14	2.74	2.61
15	2.68	2.57
20	2.49	2.40
30	2.28	2.22
50	2.10	2.07
100	1.95	1.93
200	1.85	1.84
500	1.76	1.73

Fuente: (OECD, 1995)

◇ Stephen et al. (1985) (Método adaptado de EPA, 1985)

El valor crítico final estimado a partir de CSEO de al menos ocho familias, es una estimación de la concentración máxima tolerable correspondiente a una probabilidad acumulada de 0.05 en los valores de toxicidad crónica para los géneros con los que se han realizado ensayos, por esto tiene el objetivo proteger el 95 por ciento de los géneros taxonómicos para los que se han realizado ensayos crónicos.

La estimación del valor crítico final (FCV por sus siglas en inglés) se realiza empleando el siguiente procedimiento:

- 1. Determinación de valor medio crónico de la especie.
- 2. Determinación de valor medio crónico de cada género (GMCV) y determinar el número de datos de GMCV (N)
- 3. Seleccione los GMCV que tengan probabilidades acumuladas más cercanas a 0.05 (si hay menos de 59 GMCV se emplean los 4 menores GMCV).
- 4. Ordenar los GMCV seleccionados e identificarlos (R) desde "1" para el más bajo GMCV a "N" para el más grande GMCV.
- 6. Estimar la probabilidad acumulada (P)
- 5. Empleando P y GMCV determinar la Desviación estándar (S), los parámetros L y A y Calcular el valor crítico final (FCV).

Tabla 1-12 Parámetros del método Stephen et al. (1985)

Sigla	Descripción del parámetro	Ecuación
SMCV	El valor medio crónico de la especie (SMCV por sus siglas en inglés) debe calcularse como la media geométrica de todos los valores crónicos disponibles para la especie.	La media geométrica de N números es la raíz enésima del producto de los N números.
GMCV	Para cada género para el que se dispone de uno o más SMCV, el valor medio crónico del género (GMCV por sus siglas en inglés) debe calcularse como la media geométrica de los SMCV disponibles para el género.	La media geométrica de N números es la raíz enésima del producto de los N números.
P	Para un número N de datos de GMCV, la probabilidad acumulada de cada GMCV se calcula al ordenarlos e identificarlos (R) desde "1" para el más bajo GMCV a "N" para el más alto GMCV.	$P = \frac{R}{(N + 1)}$
S	Desviación estándar de los logaritmos naturales de para el conjunto de géneros.	$S = \sqrt{\frac{\sum (\ln GMCV)^2 - \frac{(\sum \ln GMCV)^2}{4}}{\sum P - \frac{(\sum \sqrt{P})^2}{4}}}$
L	El parámetro L es función de GMCV, S y P	$L = \frac{\sum (\ln GMCV) - S * \sum \sqrt{P}}{4}$
A	El parámetro A es función de S y L	$A = S * \sqrt{0.05} + L = S * 0.223606 + L$
FCV	El valor crónico final (FCV por sus siglas en inglés) se define en términos de valor medio geométrico crónico del género.	$FCV = e^A$

Fuente: Elaborado a partir de (OECD, 1995)

1.3.4. Factores de evaluación

Los factores de evaluación son empleados cuando existen datos limitados de toxicidad acuática (datos de toxicidad en más de una especie), y es necesario estimar concentraciones empíricamente derivadas que se consideren equivalentes al nivel máximo tolerable.

Según US EPA (US EPA, 1972) “Los ensayos de toxicidad aguda o de corto plazo no son un indicativo de las concentraciones de un tóxico son inofensivos bajo condiciones de exposición a largo plazo.” (p. 121). Sin embargo, para cada tóxico es posible determinar de manera experimental y a partir del análisis de la curva dosis- respuesta, la relación entre la concentración segura y la concentración aguda letal, es decir, el factor de aplicación. No obstante, para la mayoría de los tóxicos, el nivel seguro no ha sido determinado, y debe predecirse mediante aproximaciones. Estas aproximaciones se incorporan a través de un factor de evaluación que sirve para extrapolar las siguientes condiciones: Exposición corta a exposición larga (tiempo de exposición); CSEO a condiciones de campo; concentraciones de efectos agudos a CSEO. Por lo anterior, por cada extrapolación se emplea un factor de 10.

En la Tabla 1-13 se presentan factores de evaluación establecidos por OCDE (1995) según el número de especies de diferentes niveles tróficos (alga, crustáceo, pez) y el tipo de ensayos empleado (concentración letal media, concentración efectiva o de inhibición, concentración a la cual no se observa efecto).

Tabla 1-13 Factores de evaluación

Guidance document for aquatic effects assessment (1995)	
Información Disponible	Factor de evaluación
Basado en un conjunto de datos de CL ₅₀ /CE ₅₀ /IC ₅₀ o estimaciones QSAR aguda de una o dos especies acuáticas	1000
Basado en un conjunto de datos de CL ₅₀ /CE ₅₀ /IC ₅₀ o estimaciones QSAR aguda que contengan al menos un alga, un crustáceo y un pez.	100
Basado en un conjunto de datos de CSEO o estimaciones QSAR para toxicidad crónica que contengan al menos un alga, un crustáceo y un pez.	10
Si se dispone de <3 valores de CSEO, se aplican los factores de evaluación respectivos y se selecciona el valor más bajo de los dos.	

Fuente: (OECD, 1995).

1.3.5. Enfoque QSAR

Se basa en que el efecto tóxico de una sustancia depende de su composición elemental y la estructura de esta. La toxicidad de los compuestos orgánicos puede ser pronosticada a partir de sus propiedades fisicoquímicas, dichas predicciones se basan en la comparación de estructura similar (OECD, 1995), o cuantitativas (Quality Structure-Activity Relationship, QSAR)

Desde el año 1992 la OCDE a través del Informe sobre relaciones cuantitativas entre estructura y actividad (QSAR) en la evaluación de los efectos acuáticos (OECD, 1992) ha establecido lineamientos para promover el conocimiento y la mejora de los procedimientos para la evaluación los efectos acuáticos, en particular en la aplicación de relaciones estructura-actividad cuantitativas para estimar los datos de toxicidad acuática cuando no existe información para un compuesto, para validar los resultados de un bioensayo, entre otros.

En este enfoque, se emplea información de un punto final de uno o varios productos químicos para predecir el punto final de otro producto químico que se considera similar estructura o sobre la base del mismo modo o mecanismos de acción. La extrapolación se puede utilizar para evaluar las propiedades fisicoquímicas, toxicidad y la ecotoxicidad de forma cualitativa o cuantitativa.

En el SGA (ONU, 2017) se establece que este enfoque debe limitarse a cuando no se disponga de ensayos y cuando las relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) se encuentren validadas para la toxicidad acuática y el logaritmo del coeficiente de reparto octanol/agua (Log (K_{ow})).

En OCDE (1992), se establecieron en su momento dos clases de sustancias químicas para las que existen experiencias QSAR validadas en el área de evaluación de efectos acuáticos, y se establecen las limitaciones y dificultades en su aplicación. Las dos clases de productos químicos: Clase I: los que actúan por narcosis; Clase II: los fenoles y las aminas aromáticas primarias.

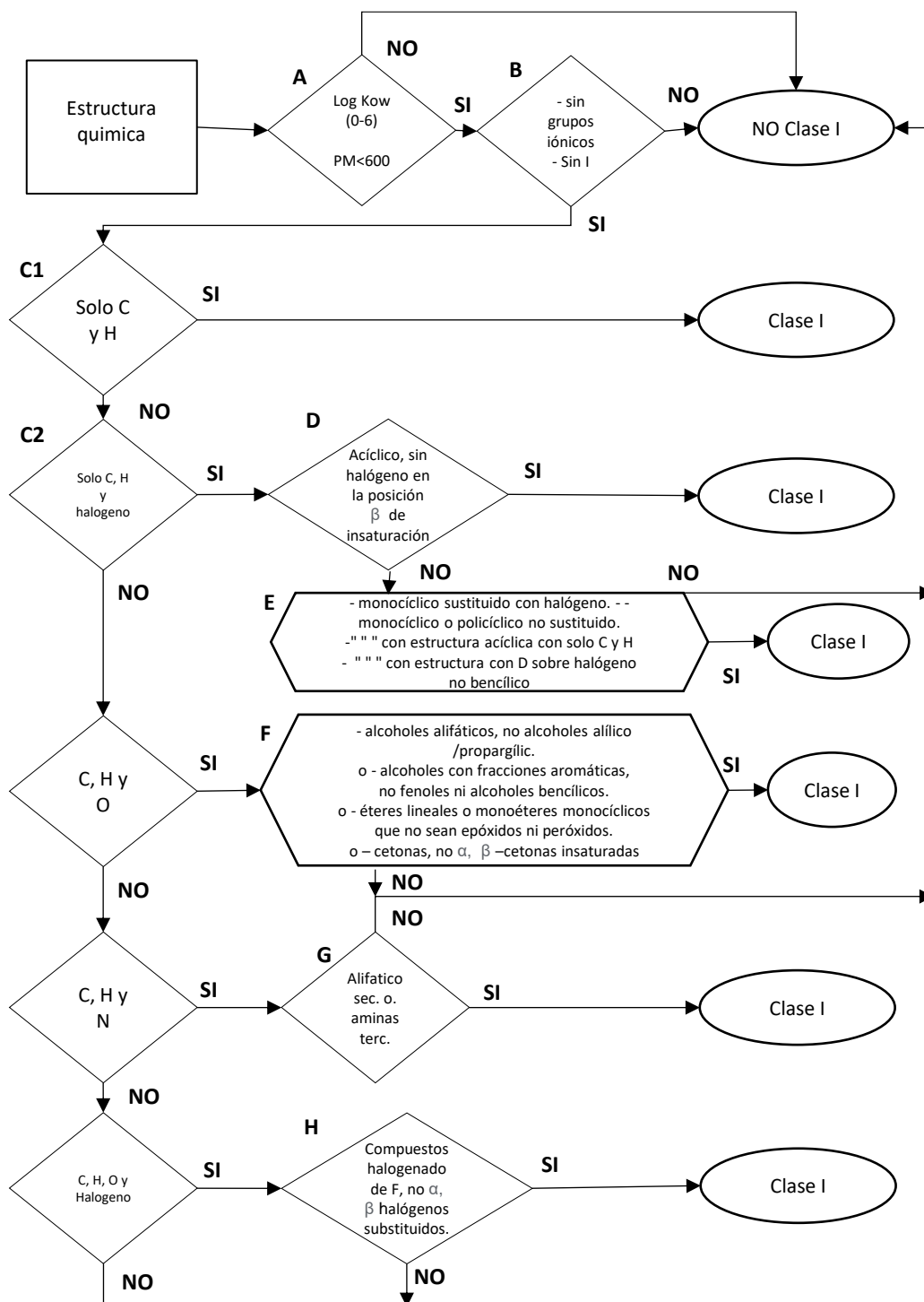
◊ Clase I: QSARs para químicos que actúan por narcosis

En este grupo se encuentran los compuestos químicos orgánicos que consisten en carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y/o halógenos (exceptuando el yodo), que tienen un modo de acción narcótico efecto fisiológico reversible no específico), que es un efecto de toxicidad mínima o de referencia. Para esta grupo fueron seleccionadas varias clases de compuestos orgánicos con ecuaciones QSAR de toxicidad mínima, a partir de los cuales se identificaron ecuaciones QSAR para los siguientes puntos finales: toxicidad aguda y crónica para peces; toxicidad aguda y crónica para anfibios; toxicidad aguda y crónica para artrópodos; toxicidad crónica para moluscos; toxicidad crónica para celenterados; toxicidad crónica para algas; toxicidad crónica para hongos; toxicidad crónica para protozoos; toxicidad crónica para bacterias.

Para este grupo las ecuaciones emplean el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) como descriptor químico predominante, ecuaciones que pueden ser empleadas teniendo en cuenta lo siguiente:

- Se pueden aplicar a productos químicos orgánicos relativamente no reactivos, como alcoholes, cetonas, éteres, alcanos clorados no reactivos y compuestos aromáticos. Sin embargo, es importante reconocer que la presencia de ciertas subestructuras dentro de una molécula en una de estas clases químicas puede resultar en una sustancia química mucho más reactiva;
- Las ecuaciones predicen la concentración de efectos mínimos o de referencia de cada sustancia química orgánica;
- Las diferencias en las sensibilidades de las especies son muy pequeñas para esta clase particular de productos químicos.
- Dentro de este grupo se clasifican compuestos con $\text{Log}(K_{ow})$ entre 0 y 6; masa molecular menor o igual a 600 Dalton y que tienen una constante de Ley de Henry adimensional menor a 10^{-2} . Lo anterior, en conjunto con restricciones de su estructura molecular de acuerdo con lo establecido en la Figura 1-5.

Figura 1-5 Esquema de clasificación de compuestos de la Clase I



Fuente: Adaptado de (OECD, 1995). Traducción no oficial.

Las ecuaciones están representadas de la siguiente forma:

$$\text{Log BE} = a * \log \text{Kow} + b$$

Donde:

BE: BE es el efecto de referencia que representa los CL50, CE50, NOLC (no-observed lethal concentration) o CSEO para un determinado punto final de toxicidad. Datos expresados en mol/l;
a: es el coeficiente de regresión; b es la intersección.

En la Tabla 1-14 se presentan los coeficientes e intercepción de las regresiones para cada punto final, para una lista de especies comunes en cuerpos de agua.

Tabla 1-14 Ecuaciones QSAR para químicos Clase I

Especies	BE	Punto final	rango Log Kow	a	b
Bacterias					
<i>Clostridium botulinum</i>	CSEO	24h crecimiento de la población	0.77 - 6.11	-0.82	-0.29
<i>Bacillus subtilis</i>	CE50	30m germinación de esporas	-0.77 - 4.57	-0.64	-1.03
<i>Pseudomonas putida</i>	CSEO	6h crecimiento de la población	-0.25 - 2.72	-0.64	-1.60
<i>Microcystis aeruginosa</i>	CSEO	192h multiplicación celular	-0.25 - 2.72	-0.62	-2.33
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	CSEO	15m luminiscencia	-1.31 - 4.14	-0.68	-1.52
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	CE50	15m luminiscencia	-0.77 - 4.66	-1.01	-0.73
Protozoos					
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	CE50	48h proliferación	-0.77 - 5.58	-0.80	-0.80
Hongos					
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CSEO	24h uso de glucosa	-0.77 - 1.56	-0.78	-0.35
Algas					
<i>Skeletonema costatum</i>	CE50	96h crecimiento de la población	1.48 - 4.60	-0.72	-0.94
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	CE50	48h multiplicación celular	0.76 - 3.53	-0.86	-0.93
<i>Selenastrum capricornutum</i>	CE50	72/96h crecimiento de la población	2.19 - 4.05	-1.00	-1.23
celenterados					
<i>Hydra oligactis</i>	NOLC	48h supervivencia	-0.25 - 2.72	-0.86	-1.35
Moluscos					
<i>Lymnea stagnalis</i>	NOLC	48h supervivencia	-0.25 - 2.72	-0.86	-1.38
Artrópodos					
<i>Nitocra spinipes</i>	CL50	96h supervivencia	-0.77 - 5.13	-0.78	-1.14
<i>Daphnia magna</i>	CSEO	18-21d reproducción	-0.24 - 5.18	-1.04	-1.70
<i>Daphnia magna</i>	CSEO	18-21d crecimiento	-0.24 - 5.18	-1.07	-1.75
<i>Daphnia magna</i>	CE50	48h supervivencia	-1.36 - 5.18	-0.95	-1.19
<i>Aedes aegypti</i>	CL50	48h & 4h supervivencia	-1.36 - 2.72	-1.09	-0.36
<i>Aedes aegypti</i>	NOLC	48h & 4h supervivencia	-0.25 - 2.72	-0.69	-1.42
<i>Culex pipiens</i>	NOLC	48h supervivencia	-0.25 - 2.72	-0.86	-1.28
Peces					
<i>Alburnus alburnus</i>	CL50	96h supervivencia	-1.77 - 4.57	-0.75	-1.12
<i>Brachydanio rerio</i>	CSEO	28d crecimiento larvario	-2.90 - 5.18	-1.06	-1.42
<i>Pimephales promelas</i>	CL50	96h supervivencia	-1.24 - 5.13	-0.85	-1.41
<i>Pimephales promelas</i>	CSEO	28d crecimiento larvario	-0.46 - 4.07	-1.04	-1.96
<i>P. promelas / B. rerio</i>	CSEO	28-32d crecimiento	0.46 - 5.24	-0.87	-2.35
<i>Poecilia reticulata</i>	CL50	7 & 14d supervivencia	-1.36 - 5.18	-0.87	-1.19
Anfibios					
<i>Ambystoma mexicanum</i>	NOLC	48h supervivencia	-0.25 - 2.72	-0.88	-1.19
<i>Rana catesbiana</i>	CL50	96h supervivencia	-0.68 - 4.14	-0.86	-1.31

Especies	BE	Punto final	rango Log Kow	a	b
<i>Rana temporaria</i>	NOLC	30m supervivencia	-0.77 - 2.97	-1.09	-0.77
<i>Xenopus laevis</i>	NOLC	48h supervivencia	-0.25 - 2.72	-0.90	-1.09
<i>Xenopus laevis</i>	CL50	48h supervivencia	-1.36 - 2.83	-0.85	-1.84

Fuente: (OECD, 1995)

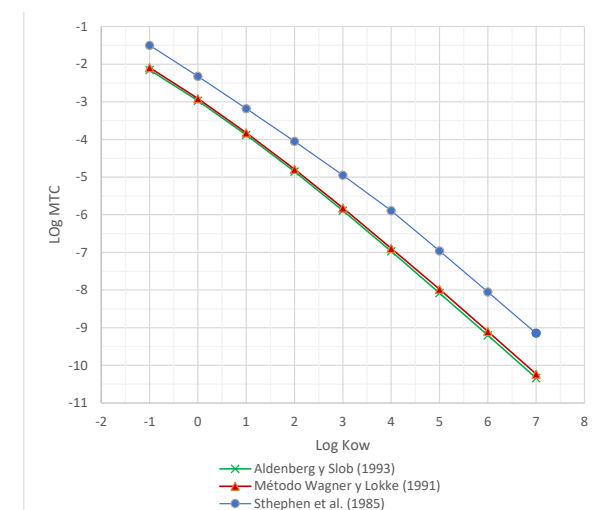
Además, a partir del uso las ecuaciones QSAR para químicos Clase I como entrada de los métodos de estadísticos de extrapolación presentados anteriormente, OCDE (1995) determinó las concentraciones máximas tolerables para los tres métodos descritos y en función del coeficiente de partición octanol-agua (Kow).

Tabla 1-15 Concentraciones máximas tolerables (MTC por sus siglas en inglés) calculadas para los diferentes métodos de extrapolación.

log Kow	log HC5 para un nivel de confianza del 95%		FCV
	Aldenberg y Slob (1993)	Método Wagner y Lokke (1991)	Stephen et al. (1985)
-1.00	-2.15	-2.09	-1.50
0.00	-2.97	-2.91	-2.32
1.00	-3.88	-3.82	-3.18
2.00	-4.85	-4.79	-4.05
3.00	-5.89	-5.82	-4.95
4.00	-6.97	-6.89	-5.89
5.00	-8.08	-7.98	-6.96
6.00	-9.20	-9.10	-8.05
7.00	-10.34	-10.23	-9.15
Valor k	2.53	2.42	

Fuente: (OECD, 1995)

Figura 1-6 Concentraciones máximas tolerables vs Log Kow



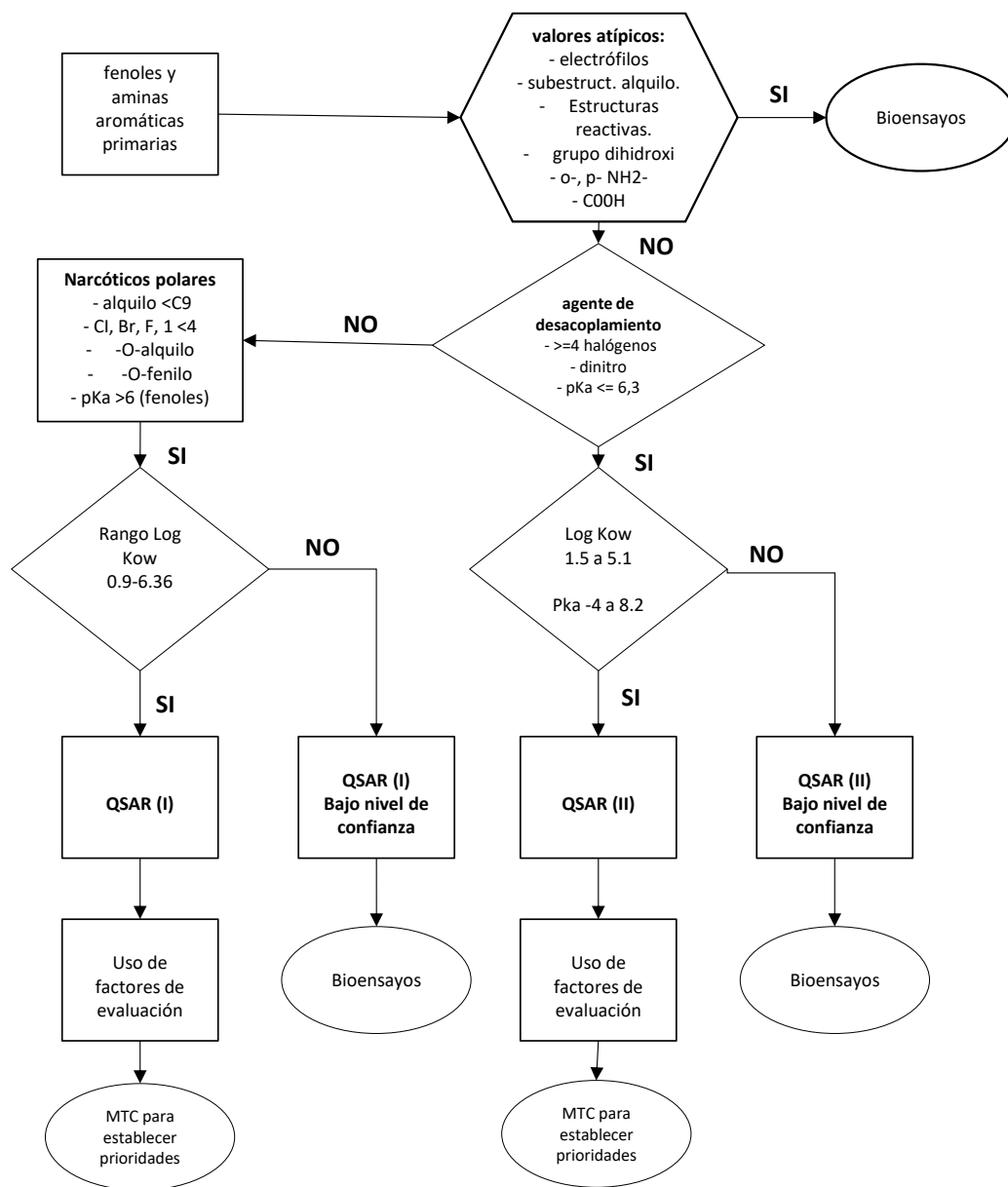
Fuente: Elaborado a partir de (OECD, 1995)

◇ Clase II: QSARs para fenoles y aminas aromáticas primarias

En La Clase II se encuentran compuestos que no son reactivos en condiciones fisiológicas normales y no interactúan con receptores específicos en un organismo, pero son ligeramente más tóxicos que la toxicidad de referencia entre los que se encuentran: fenoles no ácidos o débilmente ácidos; aminas aromáticas y anilinas; aminas primarias alifáticas; piridinas débilmente básicas.

Para su uso el compuesto a analizar debe ser clasificado con respecto a su modo de acción para garantizar que se seleccione el QSAR más apropiado, y empleando el esquema de decisión de la Figura 1-7 que consta las siguientes etapas: identificación de fenoles y aminas aromáticas primarias para los que no se pueden recomendar predicciones QSAR; identificar aquellos agentes de desacoplamiento para los que se recomiendan QSAR; por último, identificar aquellos fenoles y aminas aromáticas primarias de los que se puede suponer que son narcóticos polares.

Figura 1-7 Diagrama de decisión para la aplicación de QSARs en la Clase II



Fuente: Adaptado de (OECD, 1995). Traducción no oficial.

En la Tabla 1-16 se presentan las ecuaciones QSAR para químicos Clase II.

Tabla 1-16 Ecuaciones QSAR para químicos Clase II

Especies	Concentración	Punto final	rango Log Kow	Ecuación	Fuente
QSAR (I): Sustancias químicas tipo Narcóticos polares (fenoles, anilinas) Los requisitos estructurales relacionados con esta ecuación son: fenoles y aminas aromáticas con varios substitutos, excepto derivados con cuatro o más anillos, halógenos substituidos y dos o más grupos nitro.					
Pimephales promelas	CL50	96h supervivencia	0.9-6.36	$\log LC50 \text{ (mmol/l)} = -0.65 \log Kow + 0.7$	Veith and Broderius (1987)
QSAR (II): Sustancias químicas que actúan como desacopladores de la fosforilación oxidativa. Los requisitos estructurales relacionados con esta ecuación son: fenoles substituidos con alquilo (incluidos los insaturados), cloro, bromo, nitro, metoxi, amino, fenoxi, N-acetilo y combinaciones.					
Pimephales promelas	CL50	96h supervivencia	0.96-5.04	$\log LC50 \text{ (mmol/l)} = -0.59 \log Kow - 0.2$	(Schultz et al., 1986)
QSAR (II): Sustancias químicas que actúan como desacopladores de la fosforilación oxidativa. Los requisitos estructurales relacionados con esta ecuación son: fenoles y anilinas (aminas aromáticas primarias) substituidos con cuatro o más anillos halógenos substituidos o dos o más grupos nitro.					
Pimephales promelas	CL50	96h supervivencia	1.54-5.12 pKa (-4.0-8.2)	$\log LC50 \text{ (mmol/l)} = -0.67 \log Kow + 0.05$	US EPA ERL-Duluth (Bradbury, unpublished)

Fuente: (OECD, 1995)

◇ QSAR Caja de Herramientas (Toolbox)

El Proyecto OCDE (Q)SAR, que es financiado por la Unión Europea, ha sido desarrollado para promover la aplicación práctica de los enfoques (Q)SAR para la evaluación de químicos en contextos regulatorios por parte de gobiernos y la industria. Es así, como se resalta las experiencias de los países miembros de la OCDE (Unión Europea, Canadá, Estados Unidos, Dinamarca, Países Bajos, Australia, Alemania, Italia, Japón, Reino Unido, entre otros) con respecto al uso de modelos (Q)SAR en la evaluación química y su uso programas regulatorios, incluidos la evaluación de efectos a los ecosistemas acuáticos. Se destaca su uso en programas regulatorios como: Programa de químicos de alto volumen de producción (HPV por sus siglas en ingles) de la OCDE; Programa de químicos de alto volumen de producción (HPV por sus siglas en ingles) de la US-EPA; Registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias químicas (REACH) en la Unión Europea; Registro de sustancias químicas por parte de la Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas de la EPA.

A través del Proyecto OCDE (Q)SAR se han desarrollado informes y documentos de orientación de la OCDE sobre el uso de los modelos (Q)SA y la Caja de herramientas (Q)SAR de la OCDE (<https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecdquantitativestructure-activityrelationshipsprojectqsars.htm>). Esta caja de herramientas, que es actualizada periódicamente, en su última versión (4.5) de octubre de 2021 está integrada por 59 bases de datos que contienen aproximadamente 100 000 productos químicos con más de 3 millones de puntos de datos medidos. Se destaca que la base de datos cuenta con información sobre ecotoxicología de 23 137 sustancias y 1 349 467 valores de punto final.

En esta herramienta puede ser empleada de acuerdo con lo siguiente (ver serie sobre pruebas y evaluación No. 102: Documento de orientación para utilizar la caja de herramientas de la aplicación de (Q)SAR de la OCDE para desarrollar categorías químicas según la guía sobre agrupación de la OCDE de químicos):

- identificar la información existente para un compuesto específico que está registrado en la base de datos
- determinar para compuestos nuevos parámetros como degradación ambiental y toxicidad acuática aguda a través del uso de modelos (Q)SAR basados en las propiedades fisicoquímicas de entrada, clases químicas y ecuaciones de regresión de la información existente en la base de datos.