



FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA DE INGENIERÍA EN MEDIOAMBIENTE

CARRERA DE INGENIERÍA

AMBIENTAL

EVALUACIÓN DEL EFECTO TÓXICO DEL  
IBUPROFENO TRATADO MEDIANTE  
OXIDACIÓN FOTOCATALÍTICA EN  
*Selenastrum capricornutum*

Trabajo de título para optar al título de Ingeniera  
Ambiental

Autora: Helena Mariana Rojas Requena

Profesor guía: Dr. Hernán Gaete

Profesor coguía: Dr. Juan Ojeda

Valparaíso, 18 de julio del 2025

## Agradecimientos

A mis profesores guía, por ser más que docentes. Porque supieron estar en el punto exacto entre el acompañamiento cercano y la confianza plena en mis capacidades. Me dejaron brillar, sin miedo a equivocarme, y gracias a eso, me sentí capaz y logre un trabajo del cual estoy orgullosa. Confiaron en mí, y también en lo que me enseñaron años atrás, esa coherencia y dedicación por la docencia la valoro profundamente.

A mi abuela, mi ternura en este mundo. Celebraste todo en mí, incluso cuando ni yo lo hacía. Extraño tu calidez cada día. Te dedico este logro con todo mi corazón. Donde estés, sé que brindamos juntas.

A mi mamá, mi motor. Aun en los momentos difíciles, me diste todo lo bonito que pudiste y más. Eres inmensamente brillante, fuerte y generosa. Me enseñaste más de lo que imaginas, y me inspiras a ser mejor, gracias por tanto.

A mi papá, gracias por darme tus ojos para mirar el mundo con esa sensibilidad ambiental. Eres quien sembró en mí esta pasión por proteger el medio ambiente, por identificar las vulnerabilidades y fortalezas de este planeta donde vivimos. Y gracias también por darme a mi hermano, quien sin saberlo me enseña a cuidar desde otro lugar. Gracias infinitas a ambos.

Finalmente, a quienes han estado con gestos silenciosos, palabras oportunas o compañía incondicional, también les agradezco profundamente. A quienes me sostuvieron sin hacer ruido, pero con una presencia que lo dijo todo. Y a esa persona que ha sido abrigo en los días difíciles y alegría en los momentos buenos, gracias por estar.

## Resumen

Los contaminantes emergentes, como algunos productos farmacéuticos, representan una preocupación creciente debido a su persistencia en los cuerpos de agua y su potencial efecto adverso sobre los organismos acuáticos. Estos agentes contaminantes pueden llegar a los ecosistemas acuáticos a través de la descarga de agua residuales que contienen fármacos. Entre los organismos que pueden ser afectados por estos compuestos están las microalgas que son claves en las tramas tróficas acuáticas. Por lo anterior, se ha propuesto el uso de Procesos de Oxidación Catalítica (POAs), basados en reacciones oxidativas que buscan degradar contaminantes orgánicos recalcitrantes. Si bien en algunos casos los compuestos son degradados aún existe desconocimiento si los productos de degradación pudieran ser más tóxicos que los originales.

Para ello, los bioensayos de toxicidad son herramientas que permiten determinar los efectos tanto de agentes químicos individuales y en mezclas complejas como los efluentes industriales y/o domésticos. Uno de los más comúnmente utilizados es el de inhibición de crecimiento en la microalga *Selenastrum capricornutum*, dada su sensibilidad y representatividad ecológica.

Con el fin de evaluar el impacto del tratamiento fotocatalítico sobre la toxicidad del ibuprofeno, se diseñó un estudio en el que se aplicó fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y radiación UV-A, utilizando como organismo bioindicador a *Selenastrum capricornutum*. Se estableció y mantuvo un cultivo de esta microalga y se validó el protocolo experimental mediante la exposición a dicromato de potasio como tóxico de referencia, obteniéndose un valor de  $\text{CE}_{50}$  dentro del rango exigido por la norma NCh 2706 (0,40–1,30 mg/L).

La evaluación toxicológica consistió en exponer *S. capricornutum* a distintas concentraciones de ibuprofeno (10, 15, 20 y 30 mg/L), con y sin tratamiento fotocatalítico. Se calcularon la tasa de crecimiento y el porcentaje de inhibición celular, y los datos fueron analizados estadísticamente mediante pruebas de Mann-Whitney U y ANOVA de un factor. En ambos ensayos, el tratamiento fotocatalítico redujo significativamente la inhibición del crecimiento celular, observándose este efecto en todas las concentraciones evaluadas en el segundo ensayo.

En conclusión, los resultados obtenidos muestran que la fotocatalisis heterogénea con  $\text{TiO}_2$  y luz UV-A no solo permite la degradación del ibuprofeno en solución, sino que también contribuye a disminuir su toxicidad sobre organismos fotosintéticos como *Selenastrum capricornutum*, lo que posiciona a la fotocatalisis como una alternativa prometedora para la remoción de contaminantes emergentes, mientras que *Selenastrum capricornutum* actúa como organismo indicador para evaluar los posibles efectos ecotoxicológicos asociados al tratamiento y al fármaco.

# Índice

1. Introducción .....	1
1.1. Presencia y efectos de los PPCPs.....	2
1.2. Ibuprofeno .....	4
1.3. Procesos de Oxidación Catalítica (POAs).....	7
1.4. Bioensayo de toxicidad.....	9
2. Problema .....	11
3. Objetivos.....	12
3.1. Objetivo general .....	12
3.2. Objetivos específicos.....	12
4. Materiales y Métodos.....	13
4.1. Reactivos y productos químicos .....	13
4.2. Organismo seleccionado .....	13
4.3. Cultivo inicial de <i>Selenastrum capricornutum</i> .....	14
4.3.1. Medio de cultivo .....	14
4.3.2. Preparación del cultivo inicial.....	15
4.4. Diseño experimental bioensayo con tóxico de referencia ( $K_2Cr_2O_7$ ).....	16
4.4.1. Preparación de la solución stock de $K_2Cr_2O_7$ .....	16
4.4.2. Preparación de los bioensayos .....	16
4.5. Diseño experimental bioensayos con Ibuprofeno.....	17
4.5.1. Preparación de soluciones de Ibuprofeno .....	18
4.5.2. Aplicación del tratamiento fotocatalítico sobre las soluciones .....	18
4.5.3. Preparación y montaje de los bioensayos.....	19
4.6. Cálculos de concentración celular y parámetros de crecimiento celular.....	21
4.6.1. Determinación directa con cámara de Neubauer .....	21
4.6.2. Estimación espectrofotométrica y curva de calibración .....	22
4.6.3. Ecuaciones aplicadas .....	23
4.7. Análisis estadístico .....	24
4.7.1. Mann-Whitney U .....	24
4.7.2. ANOVA.....	25
5. Resultados y discusión .....	27
5.1. Efecto del tóxico de referencia ( $K_2Cr_2O_7$ ) sobre el crecimiento celular .....	27
5.2. Determinación de toxicidad del ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico ....	29
5.2.1. Análisis estadístico Ensayo 1.....	30

5.2.2. Análisis estadístico Ensayo 2.....	32
6. Conclusión.....	36
7. Referencias bibliográficas.....	37

## Índice de figuras

Figura 1.1 Fármacos frecuentemente detectados en el ambiente (Traducida de Cizmas et al., 2015). .....	3
Figura 1.2 Estructura química del ibuprofeno. (PubChem (s.f.)).....	5
Figura 1.3 Vías de entrada del ibuprofeno al medio ambiente. El ibuprofeno llega al suelo o a cuerpos de agua desde diferentes fuentes, como hospitales, fábricas, animales y hogares. (Traducida de Jan-Roblero & Cruz-Maya, 2023). .....	6
Figura 1.4 Mecanismo de reacción foto-inducida con TiO <sub>2</sub> y UV. (Albarrán & Mendoza, 2022) .....	8
Figura 4.1 Selenastrum capricornutum observada mediante microscopía óptica (Laboratorio de Ecotoxicología, Universidad de Valparaíso). .....	14
Figura 4.2 Esquema del diseño experimental para la evaluación de toxicidad del ibuprofeno sobre Selenastrum capricornutum, con y sin tratamiento fotocatalítico. Elaborado con IA. .	17
Figura 4.3 Cámara de aplicación de radiación UV-A.....	19
Figura 4.4 Cámara de Neubauer improved Hirschmannlab lab.....	21
Figura 4.5 Cuadriculas en cámara Neubauer para conteo celular. ....	21
Figura 4.6 Curva de calibración relación entre el número de células por mililitro (cél/ml) con absorbancia a 750 nm.....	22
Figura 4.7 Ecuaciones para el cálculo de la tasa de crecimiento. (NCh 2706 Of 2002). .....	23
Figura 4.8 Ecuación para calcular el % de inhibición celular. (NCh 2706 Of 2002). .....	24
Figura 4.9 Cálculo del volumen de inóculo para obtener la densidad celular inicial.....	24
Figura 5.1 Relación entre la concentración de dicromato de potasio y la inhibición del crecimiento de la microalga.....	28
Figura 5.2 Comparación de la tasa específica de crecimiento poblacional de Selenastrum capricornutum expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 1. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor. ....	31
Figura 5.3 Comparación del porcentaje de inhibición poblacional de Selenastrum capricornutum, expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 1. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor. ....	32
Figura 5.4 Comparación de la tasa específica de crecimiento poblacional de Selenastrum capricornutum expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 2. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor. ....	33
Figura 5.5 Comparación del porcentaje de inhibición poblacional de Selenastrum capricornutum, expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 2. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor .....	34

## Índice de tablas

Tabla 4.1 Concentraciones de nutrientes en medio de cultivo final para <i>Selenastrum capricornutum</i> (NCh 2706 Of 2002). .....	15
Tabla 4.2 Preparación de soluciones para Ensayo 1 sin radiación.....	19
Tabla 4.3 Preparación de soluciones para Ensayo 2 sin radiación.....	20
Tabla 4.4 Preparación de soluciones para Ensayo 1 con radiación. Condición con tratamiento fotocatalítico (10 g/L de TiO <sub>2</sub> ). Soluciones filtradas antes del ensayo. ....	20
Tabla 4.5 Preparación de soluciones para Ensayo 2 con radiación. Condición con tratamiento fotocatalítico (3,33 g/L de TiO <sub>2</sub> ). Soluciones filtradas antes del ensayo. ....	20
Tabla 5.1 Concentración celular y tasa de crecimiento de la microalga <i>Selenastrum capricornutum</i> a las 96 h.....	27
Tabla 5.2 Tasa de crecimiento e inhibición de <i>Selenastrum capricornutum</i> expuesta a ibuprofeno, con y sin tratamiento fotocatalítico (Ensayo 1).....	29
Tabla 5.3 Tasa de crecimiento e inhibición de <i>Selenastrum capricornutum</i> expuesta a ibuprofeno, con y sin tratamiento fotocatalítico (Ensayo 2).....	29
Tabla 5.4 Resultados de la prueba de Mann-Whitney U para el efecto del tratamiento fotocatalítico.....	30
Tabla 5.5 Resultados de la prueba de Mann-Whitney U para el efecto del tratamiento fotocatalítico.....	32

## Acrónimos

CE50: Concentración efectiva máxima media (50%)

CI20: Concentración de inhibición del 20%

AINE: Antiinflamatorio no esteroideo

EPA: Agencia de Protección Ambiental / Environmental Protection Agency

PPCPs: Fármacos y productos de cuidado personal / Pharmaceuticals and Personal Care Products

PFAS: Sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas

CEs: Contaminantes emergentes

PTAR: Planta de tratamiento de aguas residuales

POAs: Procesos de oxidación avanzada

IBU: Ibuprofeno

# 1. Introducción

En la actualidad, el desafío ambiental enfrenta nuevas problemáticas y aristas que antes no se habían considerado. Un ejemplo de ello son los contaminantes emergentes (CEs), también denominados contaminantes de preocupación emergente (CEC, por sus siglas en inglés). Estos se definen como sustancias químicas no detectadas previamente en el agua o presentes en niveles inesperados. Incluyen productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, compuestos perfluoroalquilados y polifluoroalquilados (PFAS), surfactantes, microorganismos, microplásticos y disruptores endocrinos, entre otros. A menudo no regulados, estos contaminantes pueden encontrarse en aguas residuales, reutilizadas o potables, y representan un desafío debido a su complejidad de medición y a sus múltiples fuentes (EPA, 2024). Por su parte, Esplugas et al. (2007) identifican a los contaminantes emergentes como sustancias no reguladas y asociadas a diversas problemáticas medioambientales. Además, destacan que la emisión de estos contaminantes ha adquirido una relevancia global significativa.

Dentro de los contaminantes emergentes, existen los llamados Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal (PPCPs, por sus siglas en inglés), esta subcategoría de los CEs ha recibido particular atención debido a su uso extendido y liberación al medioambiente. Estas son sustancias utilizadas para la salud personal o razones cosméticas, así como productos empleados en la agroindustria para mejorar el crecimiento o la salud del ganado (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2024). Los PPCPs ingresan al medio ambiente a través de diversas rutas, siendo las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) una de las principales fuentes. Sin embargo, los métodos convencionales no eliminan completamente estos contaminantes, lo que permite su presencia en cuerpos de agua en concentraciones de ng/L a µg/L.

Otras rutas de entrada al ambiente incluyen procesos como la fabricación de fármacos, la aplicación de biosólidos en suelos agrícolas, la escorrentía superficial desde terrenos tratados con lodos, y la lixiviación de contaminantes desde vertederos. Además, los medicamentos veterinarios utilizados en la agroindustria pueden ingresar a cuerpos de agua a través del manejo de residuos animales, mientras que los productos de cuidado personal aplicados externamente alcanzan los sistemas acuáticos mediante el desagüe de duchas, piscinas y lavabos (Ebele et al., 2017).

La preocupación aumenta con el impresionante crecimiento sostenido que el mercado farmacéutico ha mostrado en los últimos años, impulsado por avances tecnológicos y científicos, consolidándose como un pilar importante de la economía mundial. Según proyecciones, se espera que el mercado global de fabricación farmacéutica crezca a una tasa compuesta anual del 7,63% entre 2023 y 2030, alcanzando un valor de 929.900 millones de dólares en 2028. Un aspecto clave en este contexto es que, en 2022, las ventas directas al público, como en farmacias, representaron solo el 77,51% del mercado, impulsadas por el aumento de la automedicación y la popularidad de los medicamentos de venta libre como una opción accesible y económica (Grand View Research, 2020). No solo los mercados establecidos aportan en el acceso a medicamentos, la venta irregular de medicamentos

representa un problema de salud pública creciente, donde se estima que en Chile un 30% de los medicamentos adquiridos en ferias libres o a través de redes sociales corresponden a productos ilegales o sin control sanitario (Universidad de Chile, 2023). Esta situación aumenta la posibilidad de un consumo inadecuado y, en consecuencia, una mayor excreción y disposición final de fármacos al medioambiente, potenciando la contaminación de cuerpos de agua.

## 1.1. Presencia y efectos de los PPCPs

Desde una perspectiva ecosistémica, la presencia persistente de PPCPs en cuerpos de agua constituye una preocupación ambiental creciente. Su uso inevitable y acelerado ha llevado a su detección en diversos espacios, tales como, aguas fluviales, agua potable, suelos y sedimentos, entre otros recursos hídricos en China (Xu et al., 2019).

En Sudáfrica Archer et al. (2017) investigaron el destino de los PPCPs y otros contaminantes emergentes en una planta de tratamiento de aguas residuales, evaluando su presencia y persistencia en aguas residuales y ambientales. El estudio confirmó la detección de 55 contaminantes emergentes (CEs) en el afluente, 41 en el efluente y 40 en aguas superficiales localizados tanto aguas arriba como aguas abajo de la planta de tratamiento. Además, identificaron que algunos fármacos pueden persistir en el ambiente y tener efectos hormonales en organismos acuáticos. En el río Elba, en Dresde-Hosterwitz Alemania, se identificaron 54 PPCPs por encima del límite de cuantificación, con concentraciones de hasta 1270 ng/L. La principal fuente de estos contaminantes son los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, los cuales no logran eliminarlos completamente antes de su descarga en cuerpos de agua (Adomat & Grischek, 2024).

Chile no es la excepción a esta problemática. Al medir la concentración acumulada de diversos fármacos en 137 cuencas fluviales en el mundo, Santiago de Chile se ubica en el percentil 60, alcanzando concentraciones de alrededor de 4000 ng/L (Wilkinson et al., 2022). En el río Biobío también se monitorearon tres localidades de la cuenca (Santa Bárbara, Los Ángeles y Concepción), donde se identificó y cuantificó la presencia de medicamentos en diferentes etapas del tratamiento del agua en esta región. Obteniendo como resultado la presencia de alrededor de 16 fármacos en las muestras referidas a las aguas servidas, mientras que para el caso de las aguas destinadas a consumo humano los resultados fueron positivos para dos fármacos, esto evidencia la efectividad parcial de los sistemas de tratamiento existentes, pero simultáneamente la necesidad de regulaciones específicas para abordar los contaminantes emergentes en el país (Henríquez, 2012).

Los efectos ambientales de los PPCPs son diversos, se ha documentado que pudiesen causar estrés oxidativo, cambios histológicos y citológicos, incluso inhibición de hormonas y enzimas en vertebrados. El fitoplancton y los invertebrados se consideran particularmente sensibles a la toxicidad aguda de medicamentos, especialmente los analgésicos. También se evidencia que, aunque los tratamientos actuales pueden reducir las concentraciones de algunos contaminantes, ciertos compuestos bioactivos persisten en los efluentes. Estos contaminantes presentes en aguas residuales representan un riesgo claro para los ecosistemas de agua dulce, marina y terrestre (Cizmas et al., 2015).

Según la base de datos de productos farmacéuticos en el medio ambiente recopilada por la Agencia Federal de Medio Ambiente de Alemania (Umweltbundesamt, en adelante UBA, 2024), se han medido un total de 992 sustancias farmacéuticas diferentes (incluyendo principios activos y productos de transformación) en concentraciones superiores a los límites de detección de los métodos analíticos empleados, revelando así patrones regionales de contaminación.

Asimismo, una revisión exhaustiva realizada por Torrente Villacampa (2023), basada en más de 100 estudios sobre la monitorización de medicamentos en aguas residuales —apoyada por los datos de la UBA—, identificó 271 compuestos detectados al menos una vez, de los cuales 47 son considerados peligrosos. Los cinco fármacos más frecuentemente reportados en estos estudios son: ciprofloxacino (38 estudios), sulfametoxazol (36), diclofenaco (34), ibuprofeno (29) y trimetoprima (27). En este sentido, Cizmas et al. (2015) también identifica, agrupa y resume los fármacos más comúnmente detectados en el medioambiente según sus categorías terapéuticas observado en la Figura 1.1.

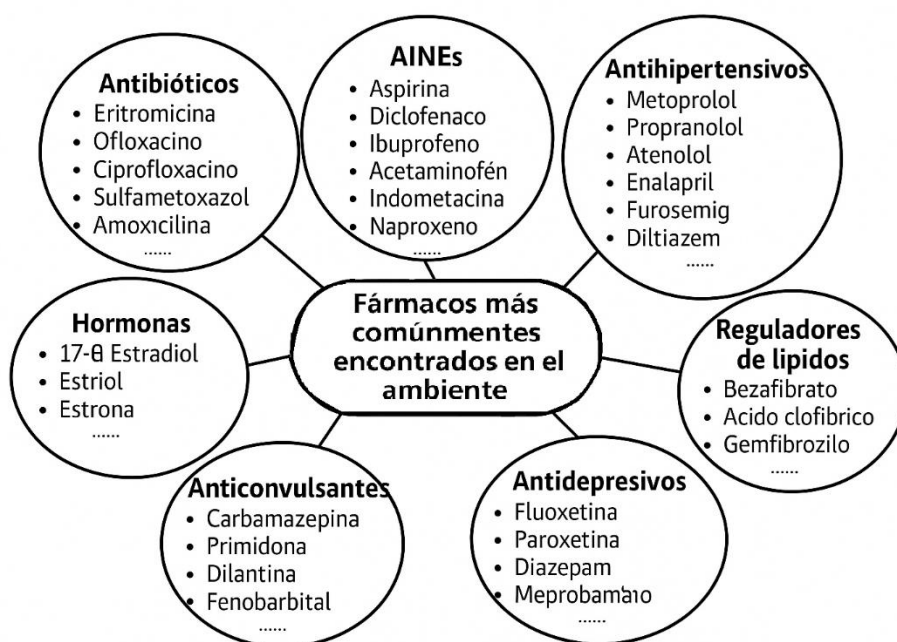


Figura 1.1 Fármacos frecuentemente detectados en el ambiente (Traducida de Cizmas et al., 2015).

En los últimos años, además de identificar los fármacos en cuerpos de aguas, numerosos estudios han documentado sus efectos tóxicos en organismos acuáticos, evidenciando impactos subletales y alteraciones fisiológicas incluso a concentraciones ambientalmente relevantes.

Por ejemplo, en estudios realizados bajo condiciones controladas de laboratorio (in vitro), peces *Argyrosomus regius* expuestos a fluoxetina (0,3–3 µg/L) durante 15 días presentaron daño en el ADN hepático, incremento en la peroxidación lipídica e inhibición de mecanismos de desintoxicación. Asimismo, el diclofenaco generó un aumento significativo en el daño genético y el estrés oxidativo, mientras que el propranolol indujo alteraciones bioquímicas

asociadas a la inhibición de enzimas antioxidantes y mecanismos de defensa celular (Duarte et al., 2020).

De forma similar, Sehonova et al. (2019) en un estudio realizado en condiciones de laboratorio, reportaron que el pez cebra *Danio rerio* mostró alteraciones en su comportamiento natatorio tras la exposición a sertralina en un rango de 0,1 a 1000 µg/L, lo que podría comprometer su capacidad de alimentación o evasión de depredadores. Aunque estos efectos se evidenciaron principalmente a altas concentraciones, el estudio reveló que la expresión de ARNm asociada a rutas neurológicas y de estrés celular se vio significativamente alterada incluso en concentraciones ambientalmente relevantes (niveles bajos). En otro estudio, embriones de *Danio rerio* expuestos a venlafaxina mostraron despigmentación y deformidades espinales a concentraciones entre 16 y 10.000 ng/L (Rodrigues et al., 2020).

En niveles tróficos más bajos, *Daphnia magna* expuesta a citalopram (10 µg/L) en condiciones de laboratorio (in vitro) mostró una disminución significativa en su actividad de nado, así como evidencia de estrés oxidativo. Evaluaron específicamente cómo las características del sedimento suspendido influyen en la biodisponibilidad del fármaco. Aunque esta disminuyó con mayores contenidos de carbono orgánico y sedimento fino, los efectos biológicos se mantuvieron, lo que demuestra que la toxicidad no depende únicamente de la carga corporal del compuesto, sino también de su interacción con la matriz ambiental (Yang et al., 2018).

En el caso de microalgas, Xie et al. (2022) evaluaron la toxicidad de fluoxetina (FLX) sobre *Chlorella pyrenoidosa* en laboratorio (in vitro), observando una notable sensibilidad de esta especie. Durante los primeros días de exposición (hasta 4 días), se registraron disminuciones significativas en la eficiencia fotosintética (valores de Fv/Fm e Y(II)), en los contenidos de pigmentos, y un aumento en el estrés oxidativo medido mediante niveles elevados de MDA (contenido de malondialdehído).

Por otro lado, Hernández-Zamora et al. (2025) estudiaron los efectos del diclofenaco sobre la microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* en laboratorio (in vitro), reportando una EC<sub>50</sub> de 16.57 mg/L y una inhibición celular a partir de los 6.25 mg/L en las primeras 72 h. Además del efecto sobre el crecimiento, el diclofenaco provocó alteraciones en la producción de pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides), y en los niveles de proteínas y lípidos celulares, lo que sugiere un impacto negativo en los procesos metabólicos y fotosintéticos de esta especie. Los resultados de estas investigaciones evidencian la sensibilidad de las microalgas frente a contaminantes emergentes como fármacos antiinflamatorio no esteroideo (AINEs).

## 1.2. Ibuprofeno

Entre los fármacos más utilizados en el mundo se encuentran los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), dentro de los cuales el ibuprofeno (IBU) destaca por ser generalmente prescrito para curar la fiebre, la inflamación, el dolor o lesiones menores y su consumo mundial es de aproximadamente 200 toneladas por año (Farhadi et al., 2020).

El ibuprofeno es un AINEs ampliamente utilizado a nivel mundial debido a sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Es considerado un medicamento de amplio espectro o “todoterreno”, eficaz frente a una variedad de afecciones comunes como dolores

de cabeza, musculares y fiebre. Su combinación de eficacia terapéutica y bajo riesgo relativo de efectos adversos en comparación con otros AINE ha favorecido su alta disponibilidad tanto bajo prescripción médica como en la automedicación, consolidándolo como uno de los fármacos más consumidos a nivel global (Salud Militar, 2020).

Debido a que es ampliamente utilizado para tratar afecciones comunes en la población, logra un elevado consumo mundial, lo cual se refleja en proyecciones de mercado, donde se estima que el mercado global de ibuprofeno alcanzará los 0,12 mil millones de dólares en 2032, creciendo a una tasa anual compuesta de 2,7% durante el periodo 2024-2032 (Business Research Insights, 2024).

Desde el punto de vista fisicoquímico, el ibuprofeno presenta una solubilidad moderada en agua (aproximadamente 21 mg/L a 25 °C) y una constante de disociación ácida (pKa) de alrededor de 4,9, características que lo clasifican como un compuesto ligeramente ácido. Su estructura molecular incluye un grupo carboxilo que le confiere cierta naturaleza anfipática, lo que influye en su comportamiento en medios acuáticos. Además, posee un coeficiente de reparto octanol-agua (log Kow) de aproximadamente 3,97, lo cual indica una tendencia moderada a la bioacumulación, aunque este potencial puede variar en función de si se encuentra en forma ionizada, dependiendo del pH ambiental (Avdeef, 2001; PubChem, s.f.). Estas propiedades condicionan su persistencia, movilidad y distribución en matrices ambientales como aguas superficiales y sedimentos. La Figura 1.2 muestra la estructura química del ibuprofeno, cuya fórmula molecular es  $C_{13}H_{18}O_2$ , su estructura incluye un grupo carboxilo (-COOH) y un anillo aromático sustituido.

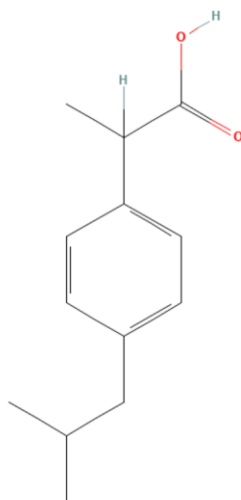


Figura 1.2 Estructura química del ibuprofeno. (PubChem (s.f.)).

Jan-Roblero & Cruz-Maya (2023) destacan que el ibuprofeno se ha convertido en uno de los contaminantes emergentes más persistentes. Su uso masivo, junto a su limitada capacidad de degradación ambiental, ha facilitado su constante presencia en diversos ecosistemas. La Figura 1.3 ilustra las principales rutas mediante las cuales el ibuprofeno, tanto en su forma original o a través de sus metabolitos (subproductos), ingresa al ambiente. Procedente de hogares, hospitales, industrias o incluso uso veterinario, llega a cuerpos de agua y suelos a través de excreciones, desechos sólidos o aguas residuales. Durante su tránsito por plantas

de tratamiento, puede transformarse en compuestos aún más tóxicos, como 1-hidroxibuprofeno, 2-hidroxibuprofeno, 3-hidroxibuprofeno, carboxibuprofeno y ácido carboxihidratropico, los que eventualmente terminan acumulándose en el medio ambiente.

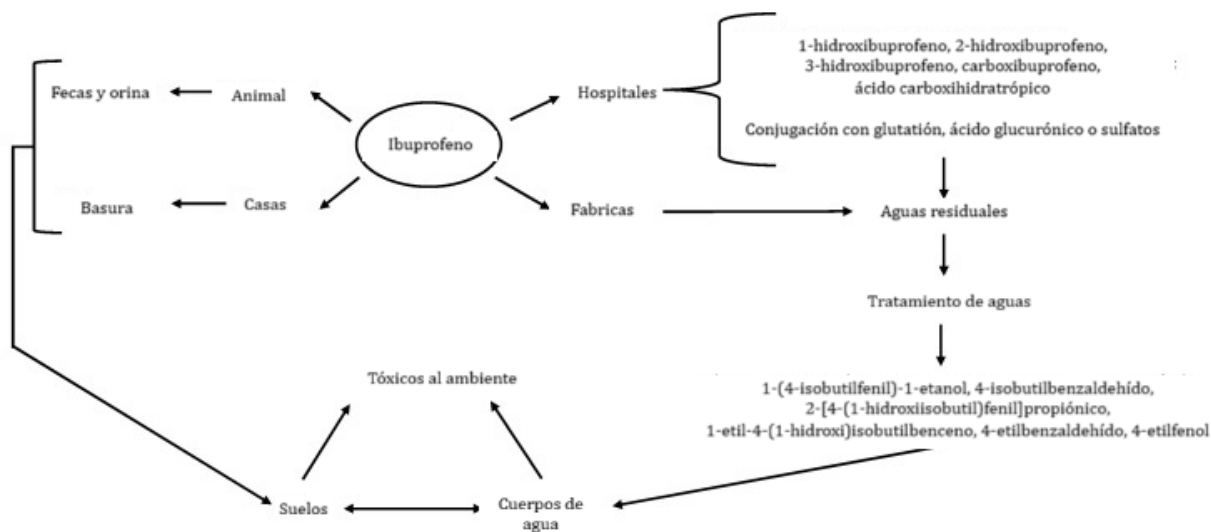


Figura 1.3 Vías de entrada del ibuprofeno al medio ambiente. El ibuprofeno llega al suelo o a cuerpos de agua desde diferentes fuentes, como hospitales, fábricas, animales y hogares. (Traducida de Jan-Roblero & Cruz-Maya, 2023).

En el norte de Portugal, se llevó a cabo un estudio pionero que monitoreó la presencia de ibuprofeno en distintas matrices hídricas, incluyendo aguas superficiales, lixiviados de vertederos, efluentes hospitalarios y aguas residuales tratadas. Se detectaron concentraciones máximas de 723 ng/L en aguas superficiales del río Lima, 3.868 ng/L en efluentes hospitalarios, 616 ng/L en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, y hasta 48.720 ng/L en lixiviados de vertederos (Paíga et al., 2012).

En España, Ferrando-Climent et al. (2012) evaluaron la presencia de fármacos en la cuenca del río Ebro, analizando muestras en 17 estaciones de tratamiento de aguas residuales y en aguas superficiales. El ibuprofeno fue uno de los contaminantes más comúnmente detectados, con concentraciones de hasta 1.160 ng/L en efluentes.

Del mismo modo, en un monitoreo realizado en el río Noyyal (India), Praveen et al. (2021) detectaron la presencia de diversos fármacos, incluido el ibuprofeno, en múltiples estaciones de muestreo. Las concentraciones de este compuesto alcanzaron hasta 1.387 ng/L, siendo más frecuentes en zonas cercanas a descargas urbanas e industriales. Este hallazgo refuerza la evidencia sobre la persistencia del ibuprofeno en ambientes acuáticos impactados por actividades antropogénicas. Tales concentraciones reflejan no solo su uso masivo, sino también su liberación continua al medio ambiente, especialmente a través de los efluentes provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales.

Ante este escenario, surge una creciente preocupación respecto a los efectos que estas concentraciones podrían generar en los ecosistemas acuáticos. Diversos estudios han documentado impactos negativos incluso a niveles ambientalmente relevantes. Por ejemplo, en peces se ha demostrado que el ibuprofeno puede inducir efectos genotóxicos. En un estudio realizado con *Oreochromis niloticus*, la exposición a 300 ng/L, una concentración

típica de efluentes tratados, provocó un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos en células sanguíneas, tanto bajo condiciones agudas (48 horas) como subcrónicas (10 días), siendo esta última la más afectada. Estos resultados indican que la genotoxicidad del ibuprofeno se intensifica con el tiempo de exposición, y refuerzan la necesidad de considerar los efectos a largo plazo en las evaluaciones de riesgo ambiental de este compuesto (Ragugnetti et al., 2011).

Por otro lado, se ha observado efectos tóxicos del ibuprofeno sobre microalgas, organismos clave en la base de las redes tróficas acuáticas. Ramos Fariña, (2015) en estudios de toxicidad aguda con *Scenedesmus quadricauda* expuesta a este compuesto, presenta una inhibición significativa del crecimiento celular a concentraciones iguales o superiores a 200 mg/L, con una  $IC_{50}$  de 364,75 mg/L. Esta exposición también provocó una disminución en pigmentos fotosintéticos y en la actividad celular, además de cambios morfológicos evidentes, como pérdida de estructura cenobial y de coloración. De forma similar, *Pseudokirchneriella subcapitata* mostró una  $Cl_{20-72h}$  de 12.7 mg/L al ibuprofeno, confirmando su sensibilidad a este AINE (Moraga & Gaete, 2024). Ambos estudios refuerzan la preocupación sobre los efectos ecotoxicológicos del ibuprofeno, especialmente en organismos fotosintéticos acuáticos.

Como podemos observar, diversas investigaciones han demostrado que las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAs) convencionales presentan una eficiencia limitada en la remoción de compuestos farmacéuticos, como el ibuprofeno, debido a que estos no fueron diseñados para eliminar contaminantes orgánicos de baja biodegradabilidad y alta persistencia. Estudios como los de Mella (2022) y Caimanque (2024) evidencian que, aunque los tratamientos biológicos convencionales pueden reducir parcialmente la carga de estos contaminantes, una fracción significativa permanece en el efluente tratado, contribuyendo a su acumulación en cuerpos receptores. Esta situación se ve agravada por la constante liberación de fármacos al medioambiente, proveniente de excreciones humanas y animales, vertidos hospitalarios e industriales, los cuales no son completamente degradados en los procesos actuales.

En este contexto, han surgido diversas alternativas orientadas a la disminución de compuestos contaminantes en medios acuáticos. Entre ellas, los Procesos de Oxidación Avanzada (POAs) han recibido especial atención debido a su capacidad para degradar eficientemente contaminantes orgánicos persistentes antes de su descarga final.

### 1.3. Procesos de Oxidación Catalítica (POAs)

Los POAs son metodologías donde se acelera la conversión de reactivos a productos en presencia de un catalizador. Este proceso es crucial en aplicaciones industriales y medioambientales, ya que permite transformar compuestos nocivos en sustancias menos perjudiciales, reduciendo así el impacto ambiental asociado (StudySmarter, s.f.).

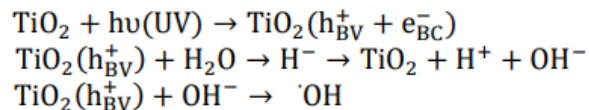
Los POAs se caracterizan por la generación de especies altamente reactivas, como los radicales hidroxilos ( $\bullet OH$ ), capaces de degradar compuestos orgánicos recalcitrantes presentes en el agua. Como señala Giwa et al. (2021), el uso de catalizadores permite mejorar la eficiencia de procesos como la ozonización o la activación de peróxido de hidrógeno, optimizando la degradación de contaminantes y reduciendo costos energéticos.

Diversos POAs han sido investigados como estrategias efectivas para la degradación de contaminantes farmacéuticos en aguas residuales. Algunos de ellos son, la fotocatalisis heterogénea que destaca por su eficiencia y bajo costo, aunque sufre limitaciones por la baja absorción en el espectro visible. La ozonización, por su parte, es altamente eficaz y rápida, pero es propensa a generar subproductos no deseados y presenta altos costos operacionales. Otros procesos como la oxidación Fenton (basada en peróxido de hidrógeno y sales de hierro) ofrecen buenas tasas de eliminación a pH controlado, mientras que la fotólisis UV directa es menos eficaz cuando se aplica sola. En este sentido, la combinación de técnicas, como UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o TiO<sub>2</sub>/ozono, han demostrado sinergias que mejoran significativamente la remoción de fármacos persistentes como el diclofenaco, la carbamazepina y el ibuprofeno, el POA más adecuado dependerá de las características del contaminante, la matriz del agua y las condiciones operacionales. (Waris & Farooqi, 2024).

En particular, un método que ha cobrado particular interés es la fotocatalisis heterogénea, la cual se ha posicionado como una técnica prometedora. Este proceso emplea un semiconductor, generalmente dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), activado por luz ultravioleta. Al ser irradiado con luz de energía adecuada, el TiO<sub>2</sub> genera pares electrón-hueco (e<sup>-</sup>/h<sup>+</sup>), los cuales reaccionan con especies presentes en el medio (como H<sub>2</sub>O y OH<sup>-</sup>) para formar radicales hidroxilo (•OH), responsables de la oxidación de los contaminantes. Este mecanismo fotoinducido, catalizado por un material estable, convierte a la fotocatalisis en una tecnología amigable con el medio ambiente y eficaz para la degradación de una amplia gama de compuestos orgánicos (Albarrán & Mendoza, 2022). El mecanismo se ilustra en la Figura 1.4.

### Fotocatálisis

#### Formación del radical OH.



*Figura 1.4 Mecanismo de reacción foto-inducida con TiO<sub>2</sub> y UV. (Albarrán & Mendoza, 2022)*

Estos procesos han demostrado altas tasas de degradación y una notable efectividad en matrices acuosas. Por ejemplo, Cabrera et al. (2021) mostraron que el uso de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) activado por luz UV permite eliminar contaminantes emergentes con eficiencias superiores al 90% bajo condiciones controladas. Además, destacan que la integración de POAs, como la fotocatalisis heterogénea, con tratamientos convencionales puede mejorar significativamente la calidad del agua tratada, especialmente al abordar contaminantes que no son removidos eficazmente en los sistemas actuales.

En esta línea, Mella (2022) logró una remoción del 99% de ciprofloxacino y del 96% de moxifloxacino mediante irradiación con luz UV-A sobre TiO<sub>2</sub> durante seis horas. Además, se evidenció que los procesos combinados, como la adsorción–fotólisis y la adsorción–fotocatálisis aplicadas a soluciones acuosas de ambos antibióticos, permiten alcanzar degradaciones superiores al 88% y 91%, respectivamente. El sistema más eficiente fue la adsorción–fotólisis con carbón activado, alcanzando un factor de remoción de 0,99.

Por su parte, Mohamed et al. (2018) reportaron que la fotodegradación completa de ibuprofeno, naproxeno y cetirizina requirió 120, 40 y 25 minutos, respectivamente, utilizando una membrana de nanofibras PAN-MWCNT/TiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, cuya eficiencia se mantuvo estable durante los ensayos. Estos resultados refuerzan el potencial de la fotocatalisis como estrategia para remover contaminantes farmacéuticos resistentes a tratamientos convencionales. Estos resultados refuerzan el potencial de las tecnologías basadas en fotocatalisis para el tratamiento de aguas residuales, pero también resaltan la necesidad de evaluar la toxicidad residual tras la remoción de fármacos, con el fin de garantizar la inocuidad ambiental del efluente tratado

Específicamente en el caso del ibuprofeno, Jan-Roblero y Cruz-Maya (2023) advierten que, aunque algunos estudios sugieren que ciertos productos intermedios podrían ser menos tóxicos que el compuesto original, existe evidencia de que varios metabolitos pueden persistir en el ambiente, bioacumularse e incluso generar efectos adversos comparables o superiores al propio ibuprofeno. Parte del fármaco o sus conjugados (con glutatión, ácido glucurónico o sulfatos) puede hidrolizarse, liberando nuevamente ibuprofeno activo. Además, procesos como la cloración pueden generar compuestos aún más tóxicos, incluyendo 1-hidroxiibuprofeno, 2-hidroxiibuprofeno, 3-hidroxiibuprofeno, carboxiibuprofeno, ácido carboxihidratropoico, 1-(4-isobutilfenil)-1-etanol, 4-isobutilbenzaldehído, 2-[4-(1-hidroxiisobutil)fenil]propiónico, 1-etil-4-(1-hidroxi)isobutilbenceno, 4-etilbenzaldehído y 4-etilfenol. Estos productos secundarios tienden a acumularse en suelos y cuerpos de agua, elevando el riesgo ecológico asociado a este contaminante emergente.

En este sentido, resulta esencial complementar los estudios de degradación con bioensayos que evalúen el impacto ecológico real de los contaminantes y sus metabolitos. Como lo destaca Ferrando-Climent et al. (2012), el ibuprofeno y otros fármacos comúnmente presentes en aguas residuales pueden formar productos de transformación que persisten en el ambiente y, en algunos casos, pueden presentar una toxicidad comparable o incluso superior al compuesto original

#### 1.4. Bioensayo de toxicidad

Las pruebas de toxicidad se usan para evaluar los efectos adversos de un compuesto químico sobre organismos vivos bajo condiciones estandarizadas y reproducibles, lo que permite comparaciones con otros compuestos químicos o especies evaluadas. En este sentido, los organismos acuáticos más adecuados aplicados a este proyecto serán las microalgas ya que son parte del primer eslabón de la cadena trófica en los sistemas acuáticos. Particularmente, se ha verificado la sensibilidad del fitoplancton a los efluentes industriales y ha demostrado ser una herramienta válida en el monitoreo y control de los programas de reducción de toxicidad, considerándose un indicador primario de contaminación (Bafana et al., 2011). La microalga *Selenastrum capricornutum* es sensible a sustancias tóxicas y por ello se utiliza en pruebas de toxicidad acuáticas. Este organismo ha sido ampliamente recomendado por diferentes agencias reguladoras del medio ambiente por mostrar alta y constante sensibilidad a tóxicos, alta disponibilidad, estabilidad genética, uniformidad en las poblaciones, representatividad del nivel trófico y es de fácil cultivo (EPA, 1994; OECD 1984; ISO, 1989; APHA, 1998). Además, es relevante mencionar que los estudios sobre algas analizan los efectos sobre el "crecimiento de la población", que no son efectos sobre organismos

individuales, sino, a nivel de grupo, dando relevancia a la respuesta en su comportamiento como grupo social (Słoczyńska et al., 2023).

Estudios recientes han demostrado que este tipo de estudios evidencian como diversos fármacos presentes en el ambiente pueden generar efectos tóxicos subletales en organismos vegetales y algas. Pino et al. (2016) evaluaron la fitotoxicidad de 15 fármacos comunes sobre la germinación de *Lactuca sativa* y la fotosíntesis de *Chlamydomonas reinhardtii*. Aunque la germinación de semillas mostró baja sensibilidad (inhibición <12 % incluso a 1000 mg·L<sup>-1</sup>), se observaron efectos significativos sobre el crecimiento de la radícula e hipocótilo, especialmente con propranolol, diclofenaco y ácido salicílico, con valores de CE<sub>50</sub> inferiores a 1000 mg·L<sup>-1</sup>. En el caso de *C. reinhardtii*, se registró una disminución en el rendimiento fotosintético, siendo el ácido salicílico el compuesto más tóxico, seguido de ibuprofeno y paracetamol. Estos hallazgos evidencian la necesidad de estudiar no solo la presencia de estos contaminantes en aguas residuales, sino también su impacto ecológico a nivel trófico primario.

La microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* ha sido ampliamente utilizada en estudios ecotoxicológicos debido a su sensibilidad a diversos contaminantes acuáticos. Aunque muchos ensayos se enfocan en sustancias específicas como fármacos o pesticidas, también se ha demostrado su utilidad frente a matrices ambientales complejas. Por ejemplo, Huarachi-Olivera et al. (2019) evaluaron la toxicidad del agua del río Majes, contaminada con metales (Al, Fe y Mn) y materia orgánica, observando una inhibición significativa del crecimiento algal, con valores de CE<sub>50</sub> entre 57,4% y 60,7% de dilución. Este tipo de estudios refuerzan el valor de *P. subcapitata* como bioindicador eficaz en ambientes expuestos a múltiples presiones antrópicas, como es el caso de cuerpos receptores de aguas residuales donde también pueden encontrarse contaminantes emergentes como los fármacos.

## 2. Problema

La presencia de productos farmacéuticos en el medio acuático se ha convertido en una preocupación ambiental relevante debido a su persistencia y potencial toxicidad para los organismos que habitan los ecosistemas acuáticos. Estos compuestos ingresan al ambiente principalmente a través de la excreción humana, la eliminación inadecuada de medicamentos no utilizados y su aplicación en la agroindustria. Como resultado, se han detectado diversas concentraciones de fármacos en aguas superficiales y subterráneas, con una fuerte relación con los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Sin embargo, muchos de estos contaminantes no son completamente eliminados en los tratamientos convencionales, permitiendo su acumulación y afectación a los ecosistemas acuáticos.

Los fármacos han sido clasificados como contaminantes emergentes que pueden alterar el equilibrio ecológico de cuerpos de agua, impactando especialmente a los productores primarios, como las microalgas. Dado que estos organismos son la base de la cadena trófica acuática, cualquier alteración en su desarrollo y función puede repercutir en los niveles tróficos superiores. En respuesta a esta problemática, se han investigado tratamientos avanzados como la fotocatalisis heterogénea para la degradación de estos compuestos. No obstante, si bien este método es prometedor, existe la posibilidad de que los productos resultantes de la degradación sean más tóxicos que el compuesto original, lo que genera incertidumbre sobre su efectividad ambiental.

En este contexto, se desconoce el impacto que tiene la fotocatalisis heterogénea sobre la toxicidad de ibuprofeno en organismos acuáticos. Por ello, es fundamental evaluar no solo la eficiencia del proceso en la eliminación de estos compuestos, sino también sus efectos en la toxicidad residual mediante bioensayos con microalgas. Esta información, permitirá también determinar el riesgo ecológico de este tipo de compuestos en los ecosistemas acuáticos continentales de agua dulce.

## 3. Objetivos

### 3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la fotocatalisis heterogénea sobre la toxicidad del Ibuprofeno, a través de la tasa de crecimiento poblacional de la microalga de agua dulce *Selenastrum capricornutum*.

### 3.2. Objetivos específicos

1. Implementar el bioensayo de toxicidad con la microalga de agua dulce *Selenastrum capricornutum*, mediante el tóxico de referencia.
2. Determinar el efecto del ibuprofeno sobre la microalga *S.capricornutum*, luego de ser irradiado en presencia de  $\text{TiO}_2$ .
3. Analizar el efecto de ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico sobre la microalga *S. capricornutum*.

## 4. Materiales y Métodos

El desarrollo experimental requirió el uso de diversos instrumentos, equipos y materiales de laboratorio. Para garantizar condiciones asépticas durante la manipulación de soluciones y cultivos, las actividades se realizaron dentro de una cabina de bioseguridad de flujo laminar.

La evaluación de la densidad celular de *Selenastrum capricornutum* se llevó a cabo mediante dos métodos: (i) conteo directo en cámara de Neubauer (marca Improved Hirschmannlab), apoyado por observación en microscopio óptico Euromex BioBlue.Lab, modelo BB.4260; y (ii) espectrofotometría, utilizando mediciones de absorbancia óptica para estimar indirectamente la concentración celular.

Para la preparación de soluciones y medios de cultivo se utilizó vidriería estándar de laboratorio: matraces Erlenmeyer y aforados, pipetas, micropipetas con sus respectivas puntas, y frascos de vidrio tipo Schott. Todo el material fue previamente esterilizado en autoclave (calor húmedo) vertical, tipo de puerta manual, con una capacidad de 150 litros, operado a una presión de trabajo de 0,217 MPa (aproximadamente 2,17 atm), la esterilización se realiza durante 20 minutos a 121 °C.

Para la etapa de exposición a radiación, se empleó una cámara especialmente acondicionada del Laboratorio de Fotoquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, equipada con seis tubos LED Philips TL-D 18W ACTINIC BL (UV-A). La incubación de los bioensayos se realizó en una cámara de luz con tres tubos LED T8 Glasstube de 9W (6000 K, 800 lúmenes por tubo), ubicada en el Laboratorio de Ecotoxicología de la misma casa de estudios.

Finalmente, para la remoción del dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) posterior al tratamiento fotocatalítico, las muestras fueron filtradas utilizando filtros de jeringa estériles de membrana de acetato de celulosa (CA) con poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , lo que permitió separar eficientemente las partículas de  $\text{TiO}_2$  sin alterar la composición líquida para los análisis posteriores.

### 4.1. Reactivos y productos químicos

En cuanto a los reactivos utilizados, se emplearon cinco soluciones stock para la preparación del medio de cultivo, todas formuladas con reactivos de grado analítico (NCh 2706 Of 2002). El fármaco modelo seleccionado fue ibuprofeno (ácido 2-[4-(2-metilpropil)fenil]propanoico), provisto por la marca Rutter, y su disolución se facilitó mediante etanol absoluto (99,9 %) como cosolvente. Como tóxico de referencia se utilizó dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) para validar la sensibilidad del bioensayo, mientras que el tratamiento de las soluciones contaminadas se efectuó utilizando dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) en fase anatasa, con tamaño de partícula inferior a 25 nm.

### 4.2. Organismo seleccionado

Los bioensayos fueron realizados con *Selenastrum capricornutum*, una microalga ampliamente utilizada como indicador de calidad de agua desde la década de 1950, debido

a su fácil cultivo, rápido crecimiento, sensibilidad a los tóxicos, representatividad en el medio acuático y características morfológicas estables bajo condiciones controladas (Instituto Nacional de Normalización, 2002). Las poblaciones iniciales de microalgas utilizadas en el presente estudio provienen de cultivos del laboratorio de Ficología del Depto. de Botánica de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción.

La Figura 4.1 corresponde a una imagen microscópica tomada durante este estudio, que muestra las microalgas *Selenastrum capricornutum* utilizadas en los bioensayos.

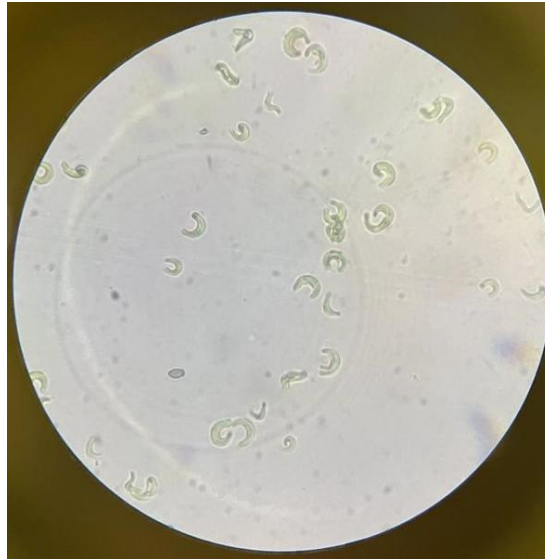


Figura 4.1 *Selenastrum capricornutum* observada mediante microscopía óptica (Laboratorio de Ecotoxicología, Universidad de Valparaíso).

### 4.3. Cultivo inicial de *Selenastrum capricornutum*

Para establecer el cultivo inicial de *Selenastrum capricornutum* y evaluar su respuesta al dicromato de potasio como compuesto tóxico de referencia y posteriormente al ibuprofeno, se siguieron los parámetros establecidos en la norma NCh 2706 Of 2002, *Calidad de agua Bioensayo de inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con Selenastrum capricornutum (Raphidocelis subcapitata)*. Este protocolo fue adaptado a los recursos disponibles y las características del Laboratorio de Ecotoxicología de la Escuela de Ingeniería en Medioambiente de la Universidad de Valparaíso.

#### 4.3.1. Medio de cultivo

El medio de cultivo se construyó en base a lo estipulado en la NCh 2706 Of. 2002, a partir de 5 soluciones stock compuestas de acuerdo con lo indicado en la norma. Tanto las soluciones stock como el material de vidrio utilizado en los ensayos fueron sometidos a una esterilización realizada durante 20 minutos a 121 °C, con el objetivo de garantizar la eliminación de posibles contaminantes microbiológicos. Posteriormente, las soluciones fueron almacenadas en condiciones estériles hasta su uso.

A partir de estas soluciones se construyó el medio de cultivo en dos matraces de 500mL donde se extrajo 2500 uL (2,5 mL) de solución stock 1 y 500 uL (0,5 mL) de las soluciones stock de la 2 a la 5. Se utilizó una micropipeta y una pipeta graduada para la cuantificación de los volúmenes. Como resultado, se obtuvo un medio final con las concentraciones indicadas en la Tabla 4.1, correspondiente a los nutrientes requeridos por *Selenastrum capricornutum* según la NCh 2706 Of. 2002.

Tabla 4.1 Concentraciones de nutrientes en medio de cultivo final para *Selenastrum capricornutum* (NCh 2706 Of 2002).

Nutriente	Concentración final en medio de cultivo
<b>Solución stock 1: macronutrientes (mg/L)</b>	
NaNO <sub>3</sub>	127,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,22
<b>Solución stock 2: macronutrientes (mg/L)</b>	
MgCl <sub>2</sub> ·6 H <sub>2</sub> O	12,16
CaCl <sub>2</sub> ·2 H <sub>2</sub> O	4,41
MgSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	14,7
<b>Solución stock 3: Fe – EDTA (µg/L)</b>	
FeCl <sub>3</sub> ·6 H <sub>2</sub> O	160
Na <sub>2</sub> EDTA·2 H <sub>2</sub> O	300
<b>Solución stock 4: Elementos traza (µg/L)</b>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	185,5
MnCl <sub>2</sub> ·4 H <sub>2</sub> O	415,6
ZnCl <sub>2</sub>	3,27
CoCl <sub>2</sub> ·6 H <sub>2</sub> O	1,43
CuCl <sub>2</sub> ·2 H <sub>2</sub>	0,012
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2 H <sub>2</sub> O	0,71
Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	2,39
<b>Solución stock 5: NaHCO<sub>3</sub> (mg/L)</b>	
NaHCO <sub>3</sub>	15

#### 4.3.2. Preparación del cultivo inicial

El cultivo inicial de *Selenastrum capricornutum* se estableció a partir de microalgas previamente conservadas en refrigeración. Para su reactivación y crecimiento, se procedió a su traslado y siembra en medio de cultivo estéril, siguiendo las condiciones establecidas en la norma NCh 2706.

En un matraz Erlenmeyer de 125 mL, bajo condiciones estériles en campana de flujo laminar, se adicionaron 50 mL de medio de cultivo previamente preparado y esterilizado. Posteriormente, se inoculó 1 mL de la suspensión de microalgas provenientes del stock refrigerado. El cultivo fue mantenido en condiciones controladas iluminadas artificialmente bajo un sistema compuesto por tres tubos T8 LED Glasstube de 9W, con una temperatura de color de 6000°K y una intensidad luminosa de 800 lúmenes para favorecer su crecimiento y adaptación al medio.

#### 4.4. Diseño experimental bioensayo con tóxico de referencia ( $K_2Cr_2O_7$ )

Siguiendo la metodología descrita en la norma NCh 2706, se realizó un ensayo de toxicidad utilizando dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) como compuesto tóxico de referencia.

##### 4.4.1. Preparación de la solución stock de $K_2Cr_2O_7$

Se preparó una solución con una concentración de 100 mg/L de dicromato de potasio, disolviendo 0,0105 g (masado en balanza analítica) del compuesto en 100 mL de agua destilada, asegurando una correcta solubilización mediante agitación.

##### 4.4.2. Preparación de los bioensayos

Se prepararon cinco matraces Erlenmeyer de 125 mL, en los cuales se adicionó medio de cultivo estéril, el inóculo de microalgas y diferentes concentraciones del tóxico de referencia. Para lograr las concentraciones necesarias en cada ensayo, se realizaron los siguientes cálculos.

**Para 0,15 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ :**

$$\frac{50 \text{ ml} \cdot 0,15 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} = 0,075 \text{ ml} = 75 \text{ uL}$$

**Para 0,5 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ :**

$$\frac{50 \text{ ml} \cdot 0,5 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} = 0,25 \text{ ml} = 250 \text{ uL}$$

**Para 2 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ :**

$$\frac{50 \text{ ml} \cdot 2 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} = 1 \text{ ml} = 1000 \text{ uL}$$

Obteniendo la siguiente distribución para cada ensayo:

**Control (B):** 1 mL del cultivo inicial + aforo a 50 mL de medio de cultivo

**Tratamientos con  $K_2Cr_2O_7$ :**

**T2 (0,15 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ ):** 0,075 mL de la solución stock + 1 mL del cultivo inicial (microalgas) + aforo a 50 mL con medio de cultivo

**T3 (0,5 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ ):** 0,25 mL de la solución stock + 1 mL del cultivo inicial (microalgas) + aforo a 50 mL con medio de cultivo

**T4 (2 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ ):** 1 mL de la solución stock + 1 mL del cultivo inicial (microalgas) + aforo a 50 mL con medio de cultivo

Todos los tratamientos fueron mantenidos bajo las mismas condiciones de iluminación y agitación que el cultivo inicial, hasta el cuarto día cuando ya se cumplieron las 96h de

exposición, tiempo que define la NCh 2706 Of 2002 para el conteo de concentración celular y se además se obtuvo signos visibles de crecimiento, como el cambio de color del medio a un tono verdoso.

#### 4.5. Diseño experimental bioensayos con Ibuprofeno

La evaluación del efecto tóxico del ibuprofeno se realizó mediante bioensayos con la microalga *Selenastrum capricornutum*, siguiendo los protocolos establecidos en la norma NCh 2706 Of 2002. Estos mismos protocolos fueron aplicados previamente para los ensayos con el tóxico de referencia, y validados en condiciones controladas de temperatura y luz continua en el Laboratorio de Ecotoxicología de la Escuela de Ingeniería en Medioambiente de la Universidad de Valparaíso. A diferencia de los ensayos de referencia, los bioensayos con ibuprofeno tuvieron como objetivo evaluar la disminución de toxicidad luego de aplicar un tratamiento fotocatalítico de degradación.

Para este estudio se diseñaron dos tipos de ensayos: uno con ibuprofeno sin tratamiento y otro con ibuprofeno sometido a un proceso de fotocatalisis heterogénea. En ambos casos, se evaluaron efectos tóxicos a través del crecimiento de la microalga expuesta durante 96 horas. Se utilizaron concentraciones crecientes del fármaco (10, 15, 20 y 30 mg/L), además de controles para cada ensayo.

El tratamiento fotocatalítico consistió en la exposición del ibuprofeno a radiación UV-A en presencia de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) en suspensión, en dos concentraciones: 1,5 g/150 mL (10 g/L) y 0,5 g/150 mL (3,33 g/L).

En la Figura 4.2 se muestra el diseño experimental completo, diferenciando entre las condiciones con y sin tratamiento fotocatalítico.

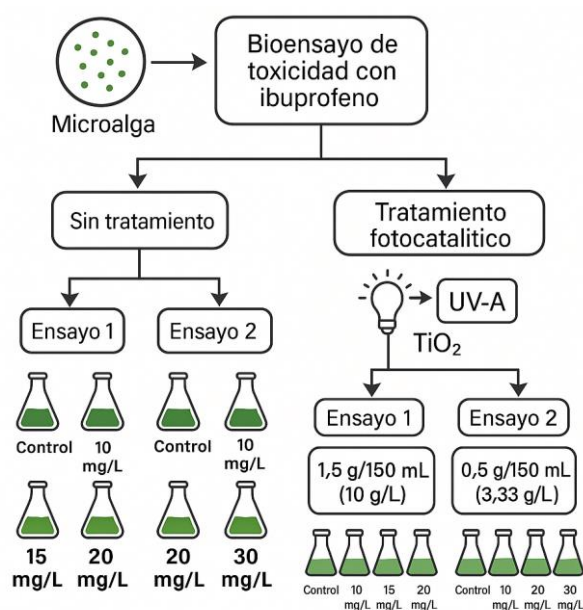


Figura 4.2 Esquema del diseño experimental para la evaluación de toxicidad del ibuprofeno sobre *Selenastrum capricornutum*, con y sin tratamiento fotocatalítico. Elaborado con IA.

#### 4.5.1. Preparación de soluciones de Ibuprofeno

Para los ensayos se preparó una solución madre a partir de ibuprofeno puro. Debido a su baja solubilidad en agua, se utilizó etanol como cosolvente orgánico, manteniendo la concentración final de etanol por debajo del 2% en cada ensayo, conforme a lo reportado por Moraga y Gaete (2024). En un matraz Erlenmeyer de 100 mL se disolvieron 0,2 g de ibuprofeno en etanol, obteniendo una solución madre de 2000 mg/L, que fue utilizada para preparar las soluciones requeridas en los distintos tratamientos.

Las soluciones de ensayo se prepararon en matraces de 125 mL, ajustando un volumen final a 50 mL por réplica, compuesto por medio de cultivo y el volumen correspondiente de la solución madre de ibuprofeno, según la concentración deseada.

Si bien las concentraciones de ibuprofeno detectadas en ambientes acuáticos suelen encontrarse en el rango de nanogramos por litro, hasta 723 ng/L en aguas superficiales (Paíga et al., 2012), 1.160 ng/L en efluentes de plantas de tratamiento (Ferrando-Climent et al., 2012) y 1.387 ng/L en zonas impactadas por descargas urbanas e industriales (Praveen et al., 2021), en el presente estudio se utilizaron concentraciones mayores con el fin de establecer una curva dosis-respuesta sobre el crecimiento de *Selenastrum capricornutum*.

Esta decisión metodológica responde a la necesidad de establecer una relación dosis-respuesta del fármaco sobre el crecimiento de *Selenastrum capricornutum*. Así, el objetivo no es replicar condiciones ambientales, sino generar un marco experimental que permita evaluar el efecto del tratamiento fotocatalítico sobre la toxicidad residual. Para ello se consideró lo establecido por Moraga & Gaete, (2024) quien identificó una respuesta sobre microalgas de agua dulce del CI20 (concentración de inhibición al 20%) en 12,7 mg/L de ibuprofeno en 72h. Por ello se utilizaron concentraciones dentro del rango de 10 a 30 mg/L.

#### 4.5.2. Aplicación del tratamiento fotocatalítico sobre las soluciones

El proceso de degradación se realizó en la cámara de radiación UV-A del Laboratorio de Fotoquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, equipada con 6 tubos LED Philips TL-D 18W ACTINIC BL Figura 4.3. Para cada concentración de ibuprofeno, se prepararon sistemas de tratamiento en matraces de 200 mL con 150 mL de solución, que representaban las tres réplicas de cada ensayo de 50 mL. Las soluciones se mantuvieron en agitación continua durante 1 h 30 min bajo una intensidad UV de 0,8 mW/m<sup>2</sup>.

Se utilizó dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>, anatasa, tamaño < 25 nm) en suspensión, a una concentración de 1,5 g/150 mL para el ensayo 1 con radiación y 0,5 g/150 mL para el ensayo 2 con radiación. Estas concentraciones se definieron en base a estudios previos que reportan eficiencias óptimas de degradación en valores cercanos (Mella, 2022; Narváez & Cohen, 2012).

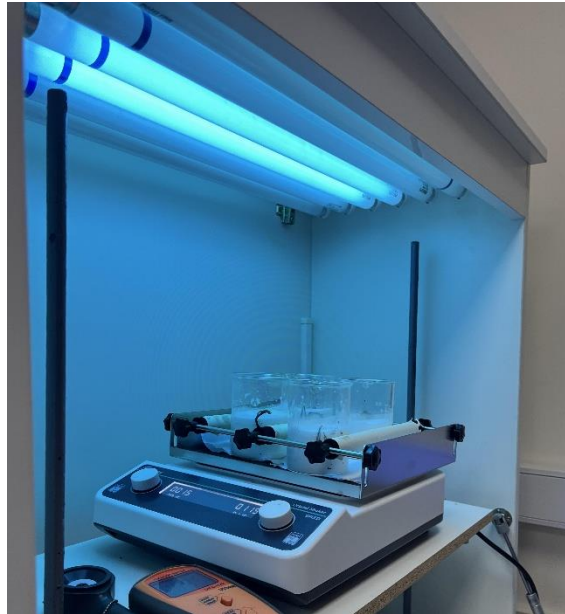


Figura 4.3 Cámara de aplicación de radiación UV-A

#### 4.5.3. Preparación y montaje de los bioensayos

Tras la preparación de las soluciones de ibuprofeno (irradiadas y no irradiadas), se procedió al montaje de los ensayos toxicológicos. Cada ensayo se realizó en matraces de 125 mL con un volumen final de 50 mL por réplica. A cada matraz se le incorporaron: medio de cultivo, el inóculo de microalgas y la solución correspondiente de ibuprofeno.

La concentración inicial del inóculo se ajustó a aproximadamente 50.000 células/mL, siguiendo la fórmula definida en la norma NCh 2706 Of 2002. Para cada condición experimental se consideraron tres réplicas biológicas, incluyendo sus respectivos controles sin ibuprofeno.

Los matraces fueron incubados bajo condiciones constantes de luz continua y temperatura controlada, con agitación manual diaria para evitar la sedimentación y promover la oxigenación. Se realizaron cuatro ensayos: dos sin tratamiento fotocatalítico (Ensayo 1 y Ensayo 2) y dos con tratamiento (Ensayo 1 irradiado y Ensayo 2 irradiado), según el diseño experimental previamente descrito.

Las proporciones exactas utilizadas en cada preparación se detallan en las Tabla 4.2 y Tabla 4.3.

#### Ensayo 1 sin radiación

Tabla 4.2 Preparación de soluciones para Ensayo 1 sin radiación.

Concentración final de ibuprofeno (mg/L)	Volumen solución madre de ibuprofeno (mL)	Medio de cultivo (mL)	Inoculo (mL) microalga
C	0	49,75	0,25
10	0,25	49,5	0,25
15	0,375	49,375	0,25
20	0,5	49,25	0,25

## Ensayo 2 sin radiación

Tabla 4.3 Preparación de soluciones para Ensayo 2 sin radiación.

Concentración final de ibuprofeno (mg/L)	Volumen solución madre de ibuprofeno (mL)	Medio de cultivo (mL)	Inoculo (mL) microalga
Control	0	49,8	0,2
10	0,25	49,55	0,2
20	0,5	49,3	0,2
30	0,75	49,05	0,2

En el caso de las soluciones sometidas a fotocatalisis, una vez finalizado el tratamiento, se procedió a su filtración para eliminar el  $\text{TiO}_2$  en suspensión. Para ello se utilizaron filtros de jeringa BIOFIL FPV203030 con membrana de PVDF de  $0,22 \mu\text{m}$  y 30 mm de diámetro, libres de DNasa/RNasa y pirogénicos, aplicados con jeringas de 20 mL también estériles.

Las proporciones exactas utilizadas en cada preparación se detallan en las Tabla 4.4 y Tabla 4.5.

## Ensayo 1 con radiación

Tabla 4.4 Preparación de soluciones para Ensayo 1 con radiación. Condición con tratamiento fotocatalítico (10 g/L de  $\text{TiO}_2$ ). Soluciones filtradas antes del ensayo.

Concentración final de ibuprofeno (mg/L)	Volumen solución madre de ibuprofeno (mL)	Medio de cultivo (mL)	$\text{TiO}_2$ (g) en suspensión	Inoculo (mL) microalga
Control	0	49,5	1,5	0,5
10	0,25	49,25	1,5	0,5
15	0,375	49,125	1,5	0,5
20	0,5	49	1,5	0,5

## Ensayo 2 con radiación

Tabla 4.5 Preparación de soluciones para Ensayo 2 con radiación. Condición con tratamiento fotocatalítico (3,33 g/L de  $\text{TiO}_2$ ). Soluciones filtradas antes del ensayo.

Concentración final de ibuprofeno (mg/L)	Volumen solución madre de ibuprofeno (mL)	Medio de cultivo (mL)	$\text{TiO}_2$ (g) en suspensión	Inoculo (mL) microalga
Control	0	49,5	0,5	0,5
10	0,25	49,25	0,5	0,5
20	0,5	49	0,5	0,5
30	0,75	48,75	0,5	0,5

## 4.6. Cálculos de concentración celular y parámetros de crecimiento celular

### 4.6.1. Determinación directa con cámara de Neubauer

Para realizar el conteo celular se utilizó Cámara de Neubauer improved Hirschmannlab lab, como la de la Figura 4.4.



Figura 4.4 Cámara de Neubauer improved Hirschmannlab lab.

Para ello, se siguió los criterios de conteo de bordes definidos. Este método consiste en contar bajo microscopio células por cada cuadrícula, sin contar aquellas células que se encuentren tocando los bordes inferior y derecho, pero si los que estén en el borde superior e izquierdo, las cuadrículas que se deben contar son las que están en el recuadro rojo como se observa en la Figura 4.5. De los 4 valores de células contadas se calcula un promedio y este se multiplica por el volumen contenido en la cuadrícula, el cual es de 1 mm x 1 mm x 1 mm, que es finalmente 0,1  $\mu\text{L}$ .

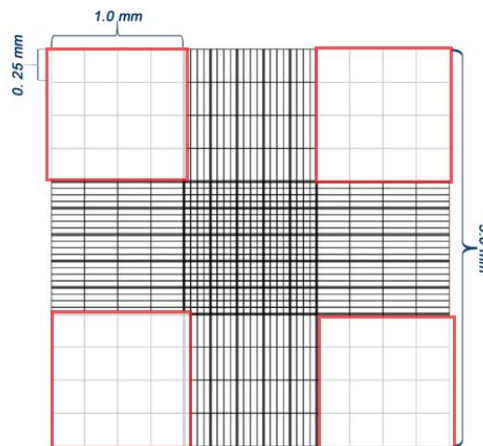


Figura 4.5 Cuadrículas en cámara Neubauer para conteo celular.

#### 4.6.2. Estimación espectrofotométrica y curva de calibración

Para estimar la densidad celular de *Selenastrum capricornutum* durante los bioensayos de toxicidad, se elaboró una curva de calibración relacionando el número de células por mililitro (cél/ml) con la absorbancia medida a 750 nm, utilizando un espectrofotómetro.

Se prepararon cinco diluciones seriadas a partir de un cultivo stock en fase exponencial. Para cada dilución, se determinó el número de células mediante conteo directo con cámara de Neubauer y se midió la absorbancia correspondiente. Los resultados se tabularon y graficaron para construir la curva.

La ecuación de la recta obtenida fue:

$$y = 6 \times 10^{-8} \cdot x + 0,0109, \text{ con un coeficiente de determinación } R^2 = 0,9921,$$

donde:

- y es la absorbancia medida,
- x es la concentración celular en cel/mL.

Este alto valor de  $R^2$  indica una fuerte correlación lineal (Figura 4.6) entre la absorbancia y el número de células, permitiendo estimar de forma indirecta la densidad celular en las muestras de los bioensayos a partir de sus lecturas de absorbancia.

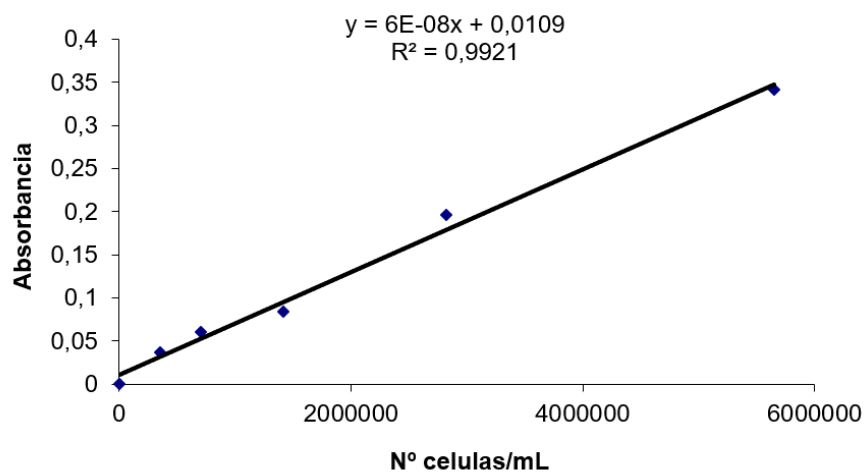


Figura 4.6 Curva de calibración relación entre el número de células por mililitro (cél/ml) con absorbancia a 750 nm.

### 4.6.3. Ecuaciones aplicadas

Una vez determinada la densidad celular de *Selenastrum capricornutum* a partir de la curva de calibración absorbancia/número de células, se procedió a calcular los parámetros de crecimiento e inhibición siguiendo lo establecido por la norma NCh 2706 Of 2002.

#### Tasa específica de crecimiento

La tasa de crecimiento ( $\mu$ ) o su equivalente en base logarítmica decimal ( $k$ ) se calcula a partir de la variación de la densidad celular inicial ( $N_0$ ) y final ( $N_n$ ) durante el período de incubación ( $t_n$ ), según la expresión de la Figura 4.7.

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n} \quad \text{ó} \quad k = 3,322 \frac{\log N_n - \log N_0}{t_n}$$

en que:

$t_n$  = tiempo transcurrido entre el inicio y fin del bioensayo;

$N_0$  = densidad celular inicial nominal;

$N_n$  = densidad celular al final del bioensayo.

Figura 4.7 Ecuaciones para el cálculo de la tasa de crecimiento. (NCh 2706 Of 2002).

Esta tasa permite evaluar el crecimiento algal en cada tratamiento y comparar con el control, estableciendo posibles efectos tóxicos de las muestras tratadas.

#### Porcentaje de inhibición del crecimiento

A partir del valor de la tasa de crecimiento se calcula el porcentaje de inhibición ( $I_{\mu i}$ ) respecto al control según la Figura 4.8.

$$I_{\mu_i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \times 100$$

en que:

$I_{\mu_i}$  = porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento para la concentración  $i$ ;

$\mu_i$  = tasa de crecimiento promedio para la concentración  $i$ ;

$\mu_c$  = tasa de crecimiento promedio para el control.

*Figura 4.8 Ecuación para calcular el % de inhibición celular. (NCh 2706 Of 2002).*

### Cálculo del volumen de inóculo

Con la fórmula expuesta en la Figura 4.9 se calculó el inóculo requerido para asegurar una densidad celular inicial adecuada ( $\sim 10^4$  células/mL), la cual nos otorga el volumen de inóculo ( $V_i$ ) añadido a cada unidad experimental.

$$V_i = \frac{N_i \times V_t}{N_{cs}}$$

en que:

$V_i$  = volumen de inóculo en cada matraz, expresado en mililitros, ml;

$N_i$  = densidad celular inicial en cada matraz, (células  $\cdot$  ml $^{-1}$ );

$V_t$  = volumen de solución en cada matraz;

$N_{cs}$  = densidad celular en el cultivo stock.

*Figura 4.9 Cálculo del volumen de inóculo para obtener la densidad celular inicial.*

Este procedimiento permite estandarizar la inoculación y asegurar la comparabilidad entre tratamientos y controles.

## 4.7. Análisis estadístico

### 4.7.1. Mann-Whitney U

Para evaluar el efecto del tratamiento fotocatalítico sobre la tasa de crecimiento y el porcentaje de inhibición celular de *Selenastrum capricornutum* expuesta a ibuprofeno, se aplicó la prueba estadística no paramétrica de Mann-Whitney U. Esta prueba fue

seleccionada debido a la naturaleza de los datos obtenidos, característica frecuente en bioensayos ecotoxicológicos, donde la alta variabilidad biológica y los tamaños de muestra reducidos justifican el uso de pruebas no paramétricas, permitiendo así garantizar resultados estadísticamente válidos.

La finalidad del análisis aplicado fue determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin tratamiento fotocatalítico, excluyendo los controles debido a que estos no contenían ibuprofeno y, por tanto, son valores muy similares entre sí, lo que podía distorsionar la comparación real entre los efectos del contaminante y el tratamiento aplicado.

Cabe señalar que la prueba de Mann-Whitney U requiere un número mínimo de datos por grupo, por lo que en este estudio se aplicó para evaluar el efecto global del tratamiento fotocatalítico, sin desagregar los resultados por cada concentración específica en los ensayos. Esta aproximación permitió realizar una comparación robusta entre grupos experimentales, priorizando la identificación de patrones generales de respuesta frente al contaminante y su remoción.

#### 4.7.2. ANOVA

De forma complementaria, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, mediante el software Microsoft Excel, para evaluar diferencias en la tasa de crecimiento y el porcentaje de inhibición celular entre los grupos experimentales con y sin tratamiento fotocatalítico, en ambos ensayos realizados. Aunque ANOVA requiere el cumplimiento de ciertos supuestos, como la normalidad de los datos y la homogeneidad de varianzas, en este estudio fue empleado con fines exploratorios, permitiendo identificar patrones generales de variación y reforzar los hallazgos obtenidos mediante métodos no paramétricos.

Este análisis aportó una visión complementaria respecto a la distribución de los datos, permitiendo además evaluar la consistencia de los efectos del tratamiento entre ensayos independientes, así como respaldar los resultados obtenidos a través de la prueba de Mann-Whitney U. Para el análisis global, el tamaño muestral fue de  $n = 9$  por grupo, lo que, si bien es limitado, resulta aceptable para identificar tendencias relevantes, siempre que los resultados sean interpretados con cautela.

En cuanto al análisis por concentraciones (10-15-20 mg/L y 10-20-30 mg/L), se utilizó un tamaño muestral de  $n = 3$  por grupo, correspondiente a las tres réplicas. En este caso, se optó únicamente por aplicar ANOVA de un factor, debido a que la prueba de Mann-Whitney U no es adecuada para tamaños muestrales tan pequeños, ya que requiere una cantidad mínima de datos por grupo para generar resultados válidos.

La aplicación combinada de pruebas estadísticas no paramétricas y paramétricas se consideró adecuada en función del tipo y distribución de los datos obtenidos, así como del tamaño muestral disponible. Mientras la prueba de Mann-Whitney U permitió contrastar diferencias globales entre tratamientos bajo supuestos más flexibles, el ANOVA fue utilizado como complemento exploratorio que permitió abordar tanto comparaciones generales como específicas por concentración. Buscando así maximizar la utilidad de los datos disponibles y

proporcionar una base estadística sólida para la posterior interpretación de los efectos del tratamiento fotocatalítico sobre la microalga *Selenastrum capricornutum*.

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Efecto del tóxico de referencia ( $K_2Cr_2O_7$ ) sobre el crecimiento celular

Para la realización de los bioensayos se monitoreó el estado del cultivo de *Selenastrum capricornutum* tras su reactivación desde refrigeración. Al sexto día se observó una coloración verdosa en el medio, indicativa de crecimiento activo, y se realizó el primer conteo celular utilizando una cámara de Neubauer. El promedio fue de 496,5 células por 0,1  $\mu$ L, equivalente a una concentración de  $4,97 \times 10^6$  células/mL. Este cultivo fue utilizado como stock activo para la preparación de los bioensayos, asegurando un crecimiento constante durante todo el trabajo experimental.

Una vez establecido el cultivo base, se procedió con los ensayos de validación utilizando el tóxico de referencia. Según lo establecido por la NCh 2706 Of 2002., las microalgas fueron expuestas durante 96 horas a distintas concentraciones de dicromato de potasio. Finalizado el periodo de exposición, se realizó el conteo celular y se calcularon los parámetros necesarios para evaluar la sensibilidad del ensayo, cuyos resultados se presentan en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1 Concentración celular y tasa de crecimiento de la microalga *Selenastrum capricornutum* a las 96 h.

Concentración de Dicromato de Potasio mg/L	Concentración celular inicial cel/uL	Concentración celular cel/uL a las 96 h.	Tasa de crecimiento	Porcentaje de inhibición
0	99,4	1747,5	0,717	0%
0,15	99,4	550	0,428	40,32%
0,5	99,4	470	0,388	45,81%
2	99,4	132,5	0,072	89,97%

*Los cálculos previos de porcentajes de inhibición celular y tasa de crecimiento para las tres concentraciones de dicromato de potasio, permite establecer la gráfica de distribución. En la*

Figura 5.1 se presenta la relación entre la concentración de dicromato de potasio y el porcentaje de inhibición en el crecimiento de *Selenastrum capricornutum*, el cual varió entre un 45 % y un 95 %.

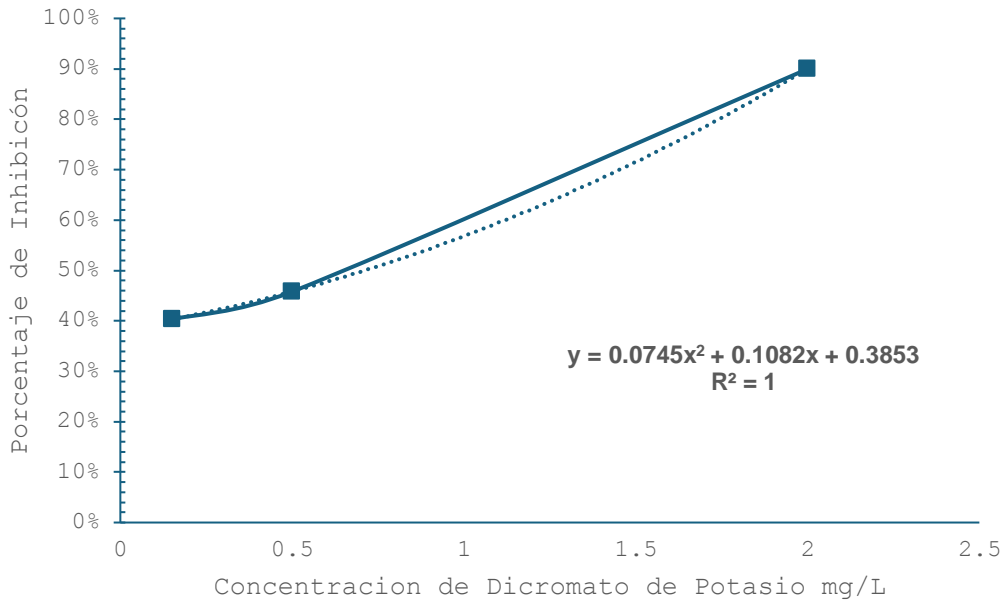


Figura 5.1 Relación entre la concentración de dicromato de potasio y la inhibición del crecimiento de la microalga.

A partir del análisis se determinó una  $CE_{50}$  (concentración efectiva media) de 0,71 mg/L a las 96 horas, valor que se encuentra dentro del rango establecido por la norma NCh 2706 Of 2002 (0,40–1,30 mg/L).

$$CE_{50}: 50 = 7,4478x^2 + 10,825x + 38,533$$

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

$$x = \frac{-10,825 + 21,42}{2 \cdot 7,4478} = 0,711$$

Los resultados obtenidos con el dicromato de potasio confirman la sensibilidad adecuada del bioensayo, con una  $CE_{50}$  de 0,71 mg/L a las 96 h, valor que se encuentra dentro del rango exigido por la NCh 2706 Of 2002 (0,40–1,30 mg/L). Este hallazgo valida el uso de *Selenastrum capricornutum* como organismo indicador en condiciones controladas y respalda la fiabilidad del sistema experimental implementado.

Este ensayo cumple una doble función: no solo valida el crecimiento inicial del cultivo base, sino que también garantiza que el sistema de ensayo cuenta con la sensibilidad suficiente para evaluar la toxicidad de otros compuestos, como el ibuprofeno, bajo condiciones similares. Por tanto, estos resultados establecen una base técnica confiable para el desarrollo de los ensayos posteriores.

## 5.2. Determinación de toxicidad del ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico

El efecto tóxico del ibuprofeno sobre *Selenastrum capricornutum* se evidenció en los cuatro ensayos realizados, tanto con soluciones sin tratar como con aquellas sometidas a fotocátalisis. Si bien se observó una tendencia general concentración-respuesta, con mayor inhibición del crecimiento poblacional a medida que aumentaba la concentración del fármaco, esta relación no fue tan marcada ni lineal como la registrada en el ensayo con el tóxico de referencia, dicromato de potasio.

A pesar de esa menor linealidad, el efecto del ibuprofeno fue claro en el rango de concentraciones evaluado, especialmente en los ensayos sin tratamiento, donde la inhibición fue mayor a partir de 20 mg/L. En contraste, las muestras sometidas a tratamiento fotocatalítico mostraron una disminución evidente en la inhibición del crecimiento, incluso en las concentraciones más altas. Esta diferencia destaca visualmente el impacto positivo del tratamiento sobre la viabilidad del organismo fotosintético.

La Tabla 5.2 y la Tabla 5.3 presentan un resumen comparativo de la inhibición del crecimiento registrada en cada concentración, con y sin tratamiento. Estos datos constituyen la base para el análisis estadístico que se presenta en la siguiente sección

Tabla 5.2 Tasa de crecimiento e inhibición de *Selenastrum capricornutum* expuesta a ibuprofeno, con y sin tratamiento fotocatalítico (Ensayo 1).

Concentración IBU (mg/L)	Tasa de crecimiento sin tratamiento	Porcentaje de inhibición sin tratamiento	Tasa de crecimiento con tratamiento	Porcentaje de inhibición con tratamiento
C	1,127	0%	0,966	0%
10 mg/L	0,980	13%	0,917	5%
15 mg/L	0,982	13%	0,923	4%
20 mg/L	0,921	18%	0,867	10%

Tabla 5.3 Tasa de crecimiento e inhibición de *Selenastrum capricornutum* expuesta a ibuprofeno, con y sin tratamiento fotocatalítico (Ensayo 2).

Concentración IBU (mg/L)	Tasa de crecimiento sin tratamiento	Porcentaje de inhibición sin tratamiento	Tasa de crecimiento con tratamiento	Porcentaje de inhibición con tratamiento
C	0,944	0%	1,016	0%
10 mg/L	0,595	37%	1,009	1%

Concentración IBU (mg/L)	Tasa de crecimiento sin tratamiento	Porcentaje de inhibición sin tratamiento	Tasa de crecimiento con tratamiento	Porcentaje de inhibición con tratamiento
20 mg/L	0,634	33%	0,935	8%
30 mg/L	0,641	32%	0,842	17%

La clara disminución de crecimiento poblacional observada (Tabla 5.2 y Tabla 5.3) pudiera deberse a algunas interacciones morfofisiológicas entre el ibuprofeno y la microalga. Por ejemplo, Moro et al. (2014) observaron que en *Scenedesmus rubescens* se producen deformaciones en la ultraestructura celular (como plasmólisis, inclusiones citoplasmáticas y desintegración de cloroplastos) junto con una disminución significativa del contenido de clorofila y un aumento de carotenoides, lo cual evidencia un estado de estrés celular inducido por el fármaco. Además, estudios en modelos de membranas fosfolipídicas han demostrado que el ibuprofeno puede incorporarse a la bicapa lipídica y “endurecer” la membrana, aumentando su rigidez y disminuyendo su fluidez, lo que afecta el transporte de nutrientes y los procesos de señalización celular (Jaksch et al., 2014). En conjunto, estas alteraciones estructurales y funcionales explican la disminución en la tasa de crecimiento observada en bioensayos con *Selenastrum capricornutum*.

Si bien en el presente estudio no se realizaron análisis morfológicos ni fisiológicos, los resultados ecotoxicológicos obtenidos, basados en la tasa de crecimiento celular, permiten inferir que el ibuprofeno podría generar alteraciones similares a las descritas por otros autores en microalgas expuestas a este fármaco. Análisis del efecto del ibuprofeno con y sin tratamiento sobre la microalga *S. capricornutum*.

### 5.2.1. Análisis estadístico Ensayo 1

El análisis estadístico global del ensayo 1 mediante la prueba de Mann-Whitney U reveló diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin tratamiento fotocatalítico, tanto en la tasa de crecimiento específica como en el porcentaje de inhibición celular de *Selenastrum capricornutum* expuesta a ibuprofeno. Para ambas variables, los valores de U fueron menores al U crítico ( $U = 12$  y  $U = 6,5$ , respectivamente;  $p < 0,05$ ), lo que indica que la fotocatalisis heterogénea con UV-A y  $TiO_2$  tuvo un efecto positivo general en la respuesta biológica de la microalga, reduciendo el impacto tóxico del fármaco (Tabla 5.4).

Tabla 5.4 Resultados de la prueba de Mann-Whitney U para el efecto del tratamiento fotocatalítico.

Variable analizada	Grupo 1	Grupo 2	$n_1 = n_2$	U	U crítico ( $\alpha = 0.05$ )	p	¿Significativo?
Tasa de crecimiento celular	Sin trat.	Con trat.	9	12	17	0.01185	Sí

Variable analizada	Grupo 1	Grupo 2	$n_1 = n_2$	U	U crítico ( $\alpha = 0.05$ )	p	¿Significativo?
% de inhibición celular	Sin trat.	Con trat.	9	6.5	17	0.00268	Sí

Sin embargo, al realizar el análisis por concentraciones específicas mediante ANOVA de un factor para los datos del ensayo 1, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos con y sin tratamiento en las concentraciones evaluadas. Esto sugiere que, aunque el tratamiento mejora globalmente la respuesta algal, su efecto no fue suficientemente marcado o consistente en cada concentración individual como para superar el umbral de significancia estadística con el tamaño muestral disponible ( $n = 3$  por grupo), esto solo ocurre con el ensayo 1.

En la Figura 5.2, se observan los resultados del análisis aplicado, y se puede inferir que la alta variabilidad dentro de los grupos y el tamaño reducido de muestra impidieron detectar diferencias significativas a nivel individual (por concentración).

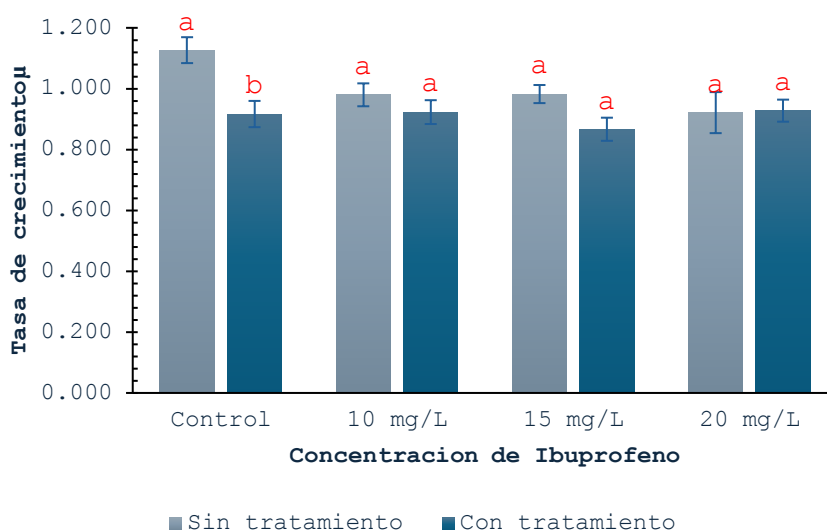


Figura 5.2 Comparación de la tasa específica de crecimiento poblacional de *Selenastrum capricornutum* expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 1. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor.

Lo observado anteriormente se refuerza en la Figura 5.3, donde se muestran los análisis de diferencias significativas específicamente sobre los valores de porcentajes de inhibición celular. Si bien en general se evidenció una disminución porcentual importante tras el tratamiento (sobre todo en 10 y 15 mg/L de 13% a 5% y de 13% a 4%, respectivamente), solo a 15 mg/L presenta diferencias significativas según ANOVA ( $p < 0,05$ ).

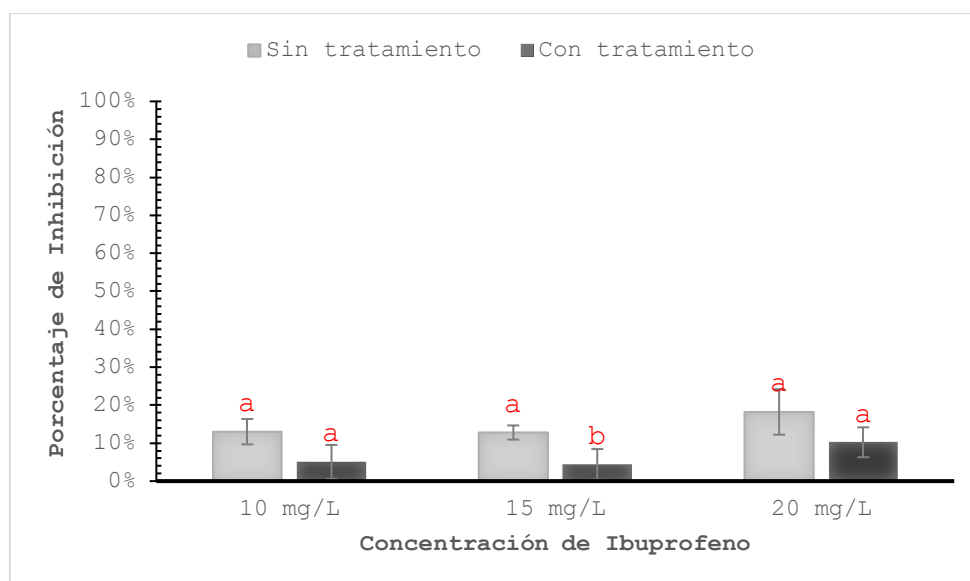


Figura 5.3 Comparación del porcentaje de inhibición poblacional de *Selenastrum capricornutum*, expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 1. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor.

Estos resultados sugieren que el tratamiento fotocatalítico tiene un efecto beneficioso general en la mitigación de la toxicidad del ibuprofeno, aunque su eficacia puede variar según la concentración y otros factores experimentales como la estabilidad del fármaco, la sensibilidad del organismo y las condiciones operacionales del sistema fotocatalítico (concentración de  $\text{TiO}_2$ ). La baja sensibilidad estadística del ANOVA en este contexto ( $n = 3$  por grupo) también limita la capacidad de detectar efectos sutiles en cada concentración, por lo que los resultados deben interpretarse con cautela y en conjunto con el análisis global.

### 5.2.2. Análisis estadístico Ensayo 2

En el ensayo 2, la prueba global de Mann-Whitney U mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin tratamiento fotocatalítico tanto en la tasa de crecimiento celular como en el porcentaje de inhibición, considerando en conjunto las concentraciones de 10, 20 y 30 mg/L de ibuprofeno. Para ambas variables, se obtuvo  $U = 0$ , con un valor de  $p \approx 3,23 \times 10^{-5}$ , lo que indica un efecto claro del tratamiento con  $\text{TiO}_2$  y radiación UV-A sobre la microalga *Selenastrum capricornutum*, reduciendo significativamente la toxicidad del ibuprofeno Tabla 5.5.

Tabla 5.5 Resultados de la prueba de Mann-Whitney U para el efecto del tratamiento fotocatalítico.

Variable analizada	Grupo 1	Grupo 2	$n_1 = n_2$	U	U crítico ( $\alpha = 0.05$ )	p	¿Significativo?
Tasa de crecimiento celular	Sin trat.	Con trat.	9	0	17	$3.23 \times 10^{-5}$	Sí

Variable analizada	Grupo 1	Grupo 2	$n_1 = n_2$	U	U crítico ( $\alpha = 0.05$ )	p	¿Significativo?
% inhibición celular	Sin trat.	Con trat.	9	0	17	$3.23 \times 10^{-5}$	Sí

A diferencia del ensayo 1, en el ensayo 2 los análisis específicos por concentración mediante ANOVA de un factor sí evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en todas las concentraciones evaluadas. En la Figura 5.4, se observa un incremento en la tasa de crecimiento celular en los grupos tratados con respecto a los no tratados, especialmente marcado a 10 y 20 mg/L. Estos resultados reflejan que la fotocatalisis heterogénea logró mitigar el efecto tóxico del ibuprofeno, permitiendo una mayor proliferación algal bajo condiciones controladas de exposición.

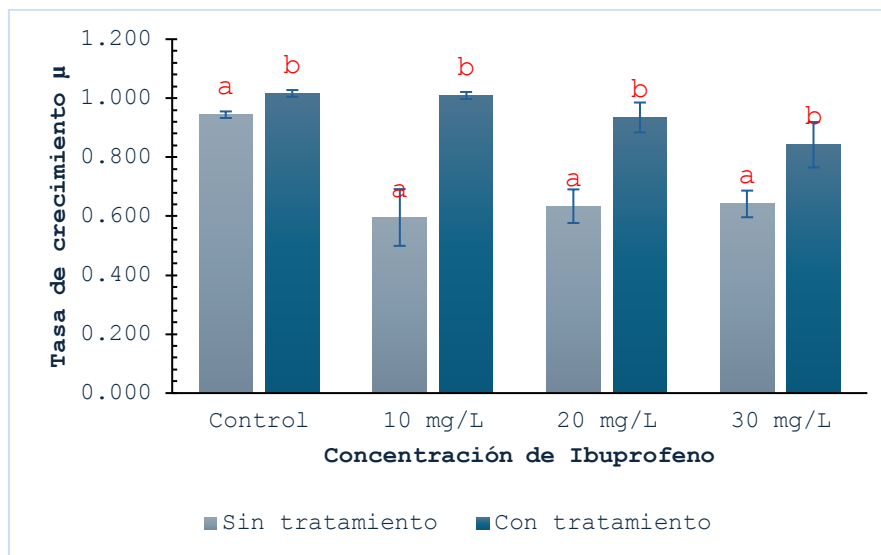


Figura 5.4 Comparación de la tasa específica de crecimiento poblacional de *Selenastrum capricornutum* expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 2. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor.

De forma complementaria, los valores del porcentaje de inhibición celular presentaron una disminución consistente en los grupos con tratamiento, pasando de 37% a 1% en 10 mg/L, de 33% a 8% en 20 mg/L y de 32% a 17% en 30 mg/L. Todas estas diferencias fueron estadísticamente significativas, como se muestra en la Figura 5.5.

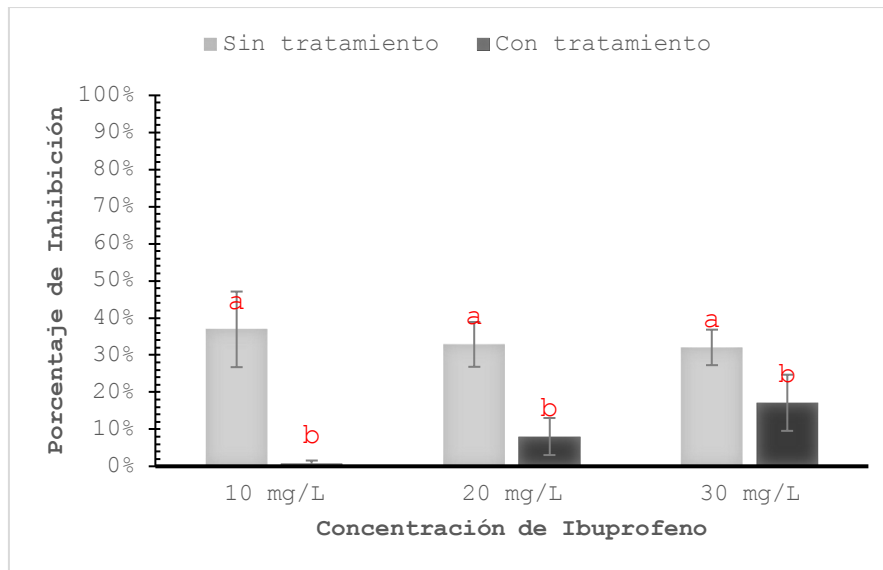


Figura 5.5 Comparación del porcentaje de inhibición poblacional de *Selenastrum capricornutum*, expuesta a ibuprofeno con y sin tratamiento fotocatalítico por concentración en el Ensayo 2. Las letras (a–b) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ), según ANOVA de un factor

Los resultados del segundo ensayo complementan y fortalecen la evidencia observada en el primero, demostrando una mayor consistencia en la respuesta de *Selenastrum capricornutum* frente al tratamiento fotocatalítico con UV-A/TiO<sub>2</sub>. En particular, la reducción de la inhibición celular en las concentraciones más elevadas sugiere que, bajo las condiciones operacionales utilizadas, el sistema logró mitigar de forma más efectiva la toxicidad del ibuprofeno.

A diferencia del primer ensayo (Tabla 5.4), donde se obtuvieron valores de  $p$  de 0,012 y 0,0027 aproximadamente, en este caso se observó una mayor robustez estadística en las diferencias entre grupos, lo que indica una respuesta más definida al tratamiento (Tabla 5.5), con valores de  $p$  de  $3,23 \times 10^{-5}$  en ambos casos. Esta diferencia podría atribuirse, al menos en parte, al ajuste en la concentración de dióxido de titanio utilizada: mientras que en el primer ensayo se aplicó una dosis de 10 g/L, en el segundo se redujo a 3,33 g/L. Este cambio buscó optimizar el equilibrio entre eficiencia fotocatalítica y posibles interferencias asociadas al exceso de catalizador, lo que habría favorecido un sistema más estable y una respuesta más representativa del efecto del tratamiento.

Los resultados obtenidos se alinean con investigaciones previas que destacan la eficacia de la fotocatalisis heterogénea con TiO<sub>2</sub> en la degradación de ibuprofeno en soluciones acuosas. Por ejemplo, Miranda et al. (2021) observaron una eliminación completa del ibuprofeno en menos de 5 minutos utilizando 0,03 g/L de TiO<sub>2</sub> bajo irradiación UV, en condiciones optimizadas de pH (~5), mientras que Mohamed et al. (2018) reportaron una fotodegradación completa en un tiempo de exposición de 120 minutos. Estos antecedentes evidencian que diversos estudios han reportado tasas de remoción superiores al 90 % en condiciones controladas de laboratorio.

Aunque no se realizó una cuantificación directa de la concentración residual de ibuprofeno, los resultados ecotoxicológicos permiten inferir una disminución efectiva de la fracción tóxica del fármaco en las muestras tratadas. Esta interpretación se respalda en estudios previos que

han documentado la remoción parcial o incluso completa de fármacos mediante tratamientos de oxidación avanzada, como la fotocatalisis heterogénea (Esplugas et al., 2007). En este contexto, la incorporación de bioensayos resulta fundamental, ya que permite evaluar no solo la presencia del contaminante original, sino también el efecto de sus productos de transformación sobre organismos sensibles.

Este enfoque subraya la importancia de no limitar los estudios de remediación ambiental a análisis químicos cuantitativos, ya que una remoción aparente de contaminantes no garantiza necesariamente una reducción de la toxicidad. En muchos casos, los productos intermedios generados durante el tratamiento pueden mantener o incluso aumentar la toxicidad del medio, por lo que incorporar evaluaciones biológicas es crucial para validar verdaderamente la eficacia ambiental de las tecnologías aplicadas.

Por otro lado, los resultados obtenidos evidencian que la efectividad del tratamiento fotocatalítico no solo depende de las condiciones de irradiación o del tipo de contaminante, sino también del diseño experimental del sistema y de parámetros como la dosis del catalizador, el tiempo de exposición, y la composición de la matriz acuosa. Esto resalta la necesidad de ajustar cuidadosamente las condiciones del proceso fotocatalítico a las características específicas de cada fármaco y al objetivo del tratamiento, sea este la mineralización completa, la reducción de toxicidad, o la transformación parcial del compuesto.

Finalmente, si bien la fotocatalisis ha demostrado ser una técnica prometedora para la remoción de contaminantes emergentes como el ibuprofeno, no debe considerarse una solución única o universal. Existen otras metodologías de degradación —como la ozonización, el peróxido de hidrógeno activado, o la biodegradación asistida— que podrían ofrecer mejores resultados dependiendo del tipo de contaminante y del contexto operativo. La integración de herramientas químicas y biológicas será clave para avanzar hacia soluciones más efectivas, sostenibles y seguras en el tratamiento de aguas contaminadas.

## 6. Conclusión

Los resultados obtenidos evidencian que la fotocatalisis heterogénea con  $\text{TiO}_2$  y radiación UV-A permite reducir significativamente la toxicidad del ibuprofeno en soluciones acuosas. La microalga *Selenastrum capricornutum* mostró una menor inhibición del crecimiento celular frente a las muestras tratadas, lo que sugiere una disminución efectiva de la fracción tóxica del compuesto tras el proceso de oxidación avanzada.

Es importante destacar que la eficacia del tratamiento fotocatalítico no fue homogénea entre ambos ensayos realizados (Ensayo 1 y Ensayo 2). En el segundo ensayo se observó una mayor diferenciación entre condiciones tratadas y no tratadas, especialmente en el análisis por concentración. Este resultado podría asociarse al ajuste en la concentración del catalizador, lo que reafirma la necesidad de diseñar sistemas de fotocatalisis adaptados a las propiedades específicas de cada fármaco y a los objetivos del tratamiento.

La metodología fue validada mediante el uso de dicromato de potasio como tóxico de referencia, cumpliendo con los rangos establecidos por la norma chilena NCh 2706. Esto permitió confirmar la sensibilidad del organismo modelo y la confiabilidad del ensayo ecotoxicológico aplicado.

Los hallazgos obtenidos respaldan el uso de la fotocatalisis como una alternativa viable para el tratamiento de fármacos, especialmente en escenarios donde es prioritario disminuir la toxicidad antes de la descarga a cuerpos receptores. No obstante, se hace necesario complementar este tipo de evaluaciones con la identificación de productos intermedios y su correspondiente análisis toxicológico, con el fin de evitar la generación de subproductos potencialmente más nocivos.

Finalmente, este estudio pone en valor la necesidad de integrar enfoques farmacológico-químicos ecotoxicológicos y de ingeniería ambiental en la evaluación de tecnologías de remediación. Solo mediante una mirada interdisciplinaria será posible avanzar hacia soluciones que no solo eliminen compuestos químicos, sino que también aseguren la protección de los ecosistemas acuáticos.

## 7. Referencias bibliográficas

- Adomat, Y., & Grischek, T. (2024). Occurrence, fate and potential risks of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Elbe River water during water treatment in Dresden, Germany. *Environmental Challenges*, 15, 100938. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2024.100938>
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2024). Productos de cuidado personal. Recuperado de <https://www.aemps.gob.es/biocidas-y-cuidado-personal/productos-de-cuidado-personal/>
- Albarrán, G., & Mendoza, E. (2022). Procesos de oxidación avanzados para la purificación de agua: Revisión. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 13(2), 21-41. Recuperado de <https://www.executivebs.org/publishing.cl/aci/2022/Vol13/Nro2/2-ACI1394-21-full.pdf>
- APHA. (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20th edition). Washington DC, 1325.
- Archer, E., Petrie, B., Kasprzyk-Hordern, B., & Wolfaardt, G. M. (2017). The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. *Chemosphere*, 174, 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.101>
- Avdeef, A. (2001). Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state). *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1, 277–351. [https://refp.cohlife.org/\\_chem\\_data/Alex%20Avdeef%20Absorption%20and%20Drug%20Development%20Solubility,%20Permeability%20and%20Charge%20State.pdf](https://refp.cohlife.org/_chem_data/Alex%20Avdeef%20Absorption%20and%20Drug%20Development%20Solubility,%20Permeability%20and%20Charge%20State.pdf)
- Business Research Insights. (2024). Ibuprofen market size, share, growth, and trends, 2032. Recuperado de <https://www.businessresearchinsights.com/es/market-reports/ibuprofen-market-110972>
- Cabrera, J., Marcoval, M. A., Díaz-Jaramillo, M., et al. (2021). Single and combined effects of cypermethrin and UVR pre-exposure in the microalgae *Phaeodactylum tricornutum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(3), 507–516. <https://doi.org/10.1007/s00244-021-00889-1>
- Caimanque Acuña, A. (s.f.). Eliminación de amoxicilina adsorbido sobre un sistema fotocatalítico formado por dióxido de titanio dopado por plata y soportado en alúmina (Unidad de Investigación para optar al título de Químico Farmacéutico). Universidad de Valparaíso, Facultad de Farmacia, Escuela de Química y Farmacia.
- Cizmas, L., Sharma, V. K., Gray, C. M., & McDonald, T. J. (2015). Pharmaceuticals and personal care products in waters: Occurrence, toxicity, and risk. *Environmental Chemistry Letters*, 13(4), 381–394. <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0524-4>
- Duarte, I. A., Montes, R., Gorga, M., Petrovic, M., Barceló, D., Piña, B., & López de Alda, M. (2020). Chronic exposure to pharmaceuticals in fish under environmentally realistic

- conditions: Sublethal effects and potential biomarkers. *Science of the Total Environment*, 734, 136564. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136564>
- Ebele, A. J., Abdallah, M. A. E., & Harrad, S. (2017). Productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP) en el medio acuático de agua dulce. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>
- EPA. (1994). Environmental Protection Agency. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. Test method Green alga, *Selenastrum capricornutum*, growth test. EPA/600/4-91/002.
- Espugas, S., Bila, D., Krause, L., & Dezotti, M. (2007). Ozonation and Advanced Oxidation Technologies to Remove Endocrine Disrupting Chemicals (ED-Cs) and Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Water Effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 149, 631-642. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.073>
- Farah, M. A., Aouled, Z., & Al-Malack, M. H. (2024). Intensificación de la eliminación de diclofenaco mediante membrana líquida soportada y ozonización. *Journal of Water Process Engineering*, 56, 103568. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352186423004650>
- Farhadi, N., Tabatabaie, T., Ramavandi, B., & Amiri, F. (2020). Optimización y caracterización de zeolita-titanato para la eliminación de ibuprofeno mediante sonicación/peróxido de hidrógeno/actividad ultravioleta. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67, 105122. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105122>
- Ferrando-Climent, L., Collado, N., Buttiglieri, G., Gros, M., Rodríguez-Roda, I., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2012). Comprehensive study of ibuprofen and its metabolites in activated sludge batch experiments and aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 438, 404–413. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.073>
- Giwa, A., Yusuf, A., Balogun, H.A., Sambudi, N.S., Bilad, M.R., Adeyemi, I., Chakraborty, S., & Curcio, S. (2021). Recent advances in advanced oxidation processes for removal of contaminants from water: A comprehensive review. *Process Safety and Environmental Protection*, 146, 220-256.
- Grand View Research (2022-2023). Pharmaceutical manufacturing market size, share & trends analysis report by drug development type, by formulation, by route of administration, by therapy area, by prescription, by age group, and segment forecasts, 2020–2027. Recuperado el 23 de enero de 2025, de <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/pharmaceutical-manufacturing-market/segmentation>
- Henriquez, V. (2012). Presencia de contaminantes emergentes en aguas y su impacto en el ecosistema. Estudio de caso: productos farmacéuticos en la cuenca del río Bio Bío, región del Bio Bío, Chile. Universidad de Chile, Santiago de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/102748>
- Hernández-Zamora, M., Cruz-Castillo, L. M., Martínez-Jerónimo, L., & Martínez-Jerónimo, F. (2025). El diclofenaco produce diversos efectos tóxicos en organismos acuáticos de diferentes niveles tróficos, incluidas microalgas, cladóceros y peces. *Water*, 17(10), 1489. <https://doi.org/10.3390/w17101489>

- Huarachi-Olivera, R., Flores-Aguilar, R., Ríos-Barrientos, E., & Robles-Vargas, D. (2019). Evaluación de la calidad del agua del río Majes mediante un bioensayo con *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecología y Desarrollo Sustentable*, (0), 175. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.175>
- Instituto Nacional de Normalización (2002). Norma Chilena Oficial NCh2706.Of2002: Calidad de agua - Bioensayo de inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con *Selenastrum capricornutum* (*Raphidocelis subcapitata*). Instituto Nacional de Normalización.
- ISO. (1989). Water quality-fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subpicatus* and *Selenastrum capricornutum*. ISO 8692. International Organization for Standardization.
- Jaksch, S., Salditt, T., Rheinstädter, M. C., & Ollinger, C. (2014). *Ibuprofen incorporation into phospholipid membranes studied by neutron scattering*. arXiv preprint arXiv:1406.3616. <https://arxiv.org/abs/1406.3616>
- Jan-Roblero, J.; Cruz-Maya, J.A. Ibuprofen: Toxicology and Biodegradation of an Emerging Contaminant. *Molecules* 2023, 28, 2097. <https://doi.org/10.3390/molecules28052097>
- Mella Muñoz, M. (2022). Fotodegradación directa de ciprofloxacino y moxifloxacino sobre carbón activado, alúmina y sílice (Unidad de Investigación II para optar al título de Químico Farmacéutico). Universidad de Valparaíso, Facultad de Farmacia, Escuela de Química y Farmacia.
- Miranda, M. O., Cabral Cavalcanti, W. E., Barbosa, F. F., de Sousa, J. A., da Silva, F. I., Pergher, S. B. C., & Braga, T. P. (2021). Photocatalytic degradation of ibuprofen using titanium oxide: Insights into the mechanism and preferential attack of radicals. *RSC Advances*, 11(44), 27720–27733. <https://doi.org/10.1039/D1RA04340D>
- Mohamed, A., Salama, A., Nasser, W. S., & Uheida, A. (2018). Photodegradation of ibuprofen, cetirizine, and naproxen by PAN-MWCNT/TiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> nanofiber membrane under UV light irradiation. *Environmental Sciences Europe*, 30(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0177-6>
- Moraga, V., & Gaete, H. (2024). Evaluación ecotoxicológica de las interacciones entre paracetamol e ibuprofeno sobre la microalga de agua dulce *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 40, 495–502. <https://doi.org/10.20937/RICA.55124>
- Moro I, Matozzo V, Piovan A, Moschin E, Vecchia FD. Morpho-physiological effects of ibuprofen on *Scenedesmus rubescens*. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014 Sep;38(2):379-87. doi: 10.1016/j.etap.2014.06.005. Epub 2014 Jul 24. PMID: 25128768.
- Narváez Campo, L., & Cohen Rodríguez, J. D. (2012). Aplicación de la fotocatalisis heterogénea solar para la degradación de residuos farmacéuticos en efluentes líquidos. Universidad de Cartagena. <https://repositorio.unicartagena.edu.co/handle/11323/3363>

- Núñez, A. (2024). Efecto de la radiación UV sobre la toxicidad del diclofenaco y paracetamol en semillas de *Lactuca sativa*. Trabajo de título, Escuela de Ingeniería en Medioambiente, Universidad de Valparaíso.
- OECD. (1984). Organization of economic cooperation and development. Guideline for testing of chemicals. Alga, Growth Inhibition Test.
- Paíga, P., Santos, L. H. M. L. M., Amorim, C. G., Araújo, A. N., Montenegro, M. C. B. S. M., Pena, A., & Delerue-Matos, C. (2012). Pilot monitoring study of ibuprofen in surface waters of north of Portugal. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(4), 2410–2420. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1128-1>
- Pino, A., Ochoa-Herrera, V., & Pino, N. (2016). Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on *Lactuca sativa* L. and *Lolium perenne* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 22036–22044. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7446-y>
- Praveenkumareddy, Y., Vimalkumar, K., Ramaswamy, B. R., Kumar, V., Singhal, R. K., Basu, H., Gopal, C. M., Vandana, K. E., Bhat, K. M., Udayshankar, H. N., & Balakrishna, K. (2021). Assessment of non-steroidal anti-inflammatory drugs from selected wastewater treatment plants of Southwestern India. *Emerging Contaminants*, 7, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2021.01.001>
- PubChem. (s. f.). Ibuprofen (CID 3672). National Center for Biotechnology Information. Recuperado de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibuprofen>
- Ragunetti, M., Adam, M. L., Guimarães, A. T. B., Sponchiado, G., Matias, B. F., & Vargas, V. M. F. (2011). Ibuprofen genotoxicity in aquatic environment: An experimental model using *Oreochromis niloticus*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 218(1), 361–364. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0698-0>
- Ramos Fariña, P. (2015). Evaluación de la toxicidad de fármacos antiinflamatorios no esteroideos sobre la microalga *Scenedesmus quadricauda*. Trabajo Fin de Grado, Universidad de Santiago de Compostela. [https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/14855/RamosFarina\\_Paula\\_TFG\\_2015.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/14855/RamosFarina_Paula_TFG_2015.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Rodrigues, P., Cunha, V., Oliva-Teles, L., Ferreira, M., Guimarães, L., 2020. Norfluoxetine and venlafaxine in zebrafish larvae: single and combined toxicity of two pharmaceutical products relevant for risk assessment. *J. Hazard. Mater.* 400. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123171>
- Salud Militar. (2020). Uso racional de medicamentos: Ibuprofeno como ejemplo. *Revista Salud Militar*, 2(1), 27–32. Recuperado de <https://revistasaludmilitar.uy/ojs/index.php/Rsm/article/view/21/20>
- Sehonová, P., Plhalová, L., Blahová, J., Divišová, L., Tichý, F., & Svobodová, Z. (2019). The effects of antidepressants venlafaxine, sertraline and amitriptyline on early life stages of zebrafish (*Danio rerio*) and African clawed frog (*Xenopus tropicalis*). *Environmental Pollution*, 254, 112999. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.112999>

- StudySmarter (s.f.). Oxidación catalítica. Recuperado el 24 de marzo de 2025, de <https://www.studysmarter.es/resumenes/ingenieria/ingenieria-quimica/oxidacion-catalitica/>
- Torrente Villacampa, C. (2023, septiembre 1). Casi 300 fármacos detectados en aguas residuales de hospitales. *El Mundo*. <https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/salud/2023/09/01/64f0af38fdddffef888b45bb.html>
- U.S. Environmental Protection Agency (2024, noviembre 21). Treatment and control of drinking water contaminants research. Recuperado de <https://www.epa.gov/water-research/treatment-and-control-drinking-water-contaminants-research>.
- Umweltbundesamt. (2024). Base de datos sobre productos farmacéuticos en el medio ambiente. <https://www.umweltbundesamt.de/en/database-pharmaceuticals-in-the-environment-0>
- Universidad de Chile. (2022, septiembre 6). La peligrosa venta de medicamentos ilegales. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. <https://quimica.uchile.cl/noticias/210302/la-peligrosa-venta-de-medicamentos-ilegales>
- Wilkinson, J. L., Boxall, A. B. A., Kolpin, D. W., Leung, K. M. Y., Lai, R. W. S., Galbán-Malagón, C., & Teta, C. (2022). Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(8), e2113947119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2113947119>
- Wu, S., Tong, C., & Liu, J. (2025). Obesogenic effects of six classes of emerging contaminants. *Journal of Environmental Sciences*, 151, 252–272. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2024.03.032>
- Xie, S., Wang, T., Guo, L., Wang, Z., & Zhou, Y. (2022). Ecotoxicological evaluation of pharmaceutical mixtures using algal bioassays: Single and combined effects on *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 236, 114045. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114045>
- Yang, H., Lu, G., Yan, Z., Liu, J., & Dong, H. (2018). Influence of suspended particulate matter characteristics on the bioaccumulation and biological effects of citalopram in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 207, 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.091>