Universidad Católica de Santa María

Facultad de Arquitectura e Ingenierías Civil y del Ambiente

Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental

Evaluación de la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante-floculante para la remoción de manganeso (Mn) y arsénico (As) en aguas sintéticas: análisis fisicoquímico, ecotoxicológico y molecular.

Tesis presentada por:

Ayme Vega, Ana Fiorela

ORCID: 0009-0008-8733-1836

Ramos Choquegonza, Daniela Isabel

ORCID: 0009-0003-9803-5278

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

Asesor:

Dr. Arenazas Rodriguez, Armando Jacinto

ORCID: 0000-0002-0940-2204

Arequipa – Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA AMBIENTAL

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 23 de Septiembre del 2026

Dictamen: 019194-C-EPIA-2026

Visto el borrador del expediente 019194, presentado por:

2021404512 - RAMOS CHOQUEGONZA DANIELA ISABEL
2021220532 - AYME VEGA ANA FIORELA

Titulado:

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL MUCÍLAGO DE OPUNTIA FICUS-INDICA COMO COAGULANTE-FLOCULANTE PARA LA REMOCIÓN DE MANGANESO (MN) Y ARSÉNICO (AS) EN AGUAS SINTÉTICAS: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO, ECOTOXICOLÓGICO Y MOLECULAR.

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO AMBIENTAL

29727348 - LAZARTE ARREDONDO SONIA
DICTAMINADOR

43297964 - CAMPOS OLAZAVAL LIZBETH MARIANELLA
DICTAMINADOR

43238145 - BENEGAS LLANOS ROSARIO CAROLINA
DICTAMINADOR

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL MUCÍLAGO DE OPUNTIA FICUS-INDICA COMO COAGULANTE-FLOCULANTE PARA LA REMOCIÓN DE MANGANESO (MN) Y ARSÉNICO (AS) EN AGUAS SINTÉTICAS: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO, ECOTOXICOLÓG

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%	15%	6%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
2	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1%
4	apirepositorio.unh.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco Trabajo del estudiante	<1%
6	repositorio.unaj.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	Submitted to Universidad Nacional de Juliaca Trabajo del estudiante	<1%
8	docs.google.com Fuente de Internet	<1%
9	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
10	repositorio.upsc.edu.pe Fuente de Internet	<1%
11	repositorio.unah.edu.pe Fuente de Internet	<1%
12	repositorio.unica.edu.pe Fuente de Internet	<1%
13	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1%
14	repositorio.unjfsc.edu.pe Fuente de Internet	<1%

Dedicatoria

En primer lugar, a Dios, por acompañarme, escucharme y permitirme cumplir uno de mis más grandes sueños.

A mi mamá, mi persona incondicional, quien iluminó mi camino y me enseñó que no hay nada imposible en la vida, que siempre podemos soñar tan alto como queramos y luchar por aquello que deseamos, si hoy llego hasta aquí, es porque siempre sentí detrás de mí tu confianza. Este logro lleva mucho de ti, de tus enseñanzas y de la mujer que me enseñaste a ser.

A mi papá, el hombre que me enseñó los valores que hoy forman parte de quien soy: la puntualidad, la disciplina, el respeto y la fortaleza. Aquel que, aun con dolores sale a trabajar, de quien aprendí a cumplir con mis responsabilidades y a mantenerme firme ante las dificultades. Quizá muchas de tus enseñanzas las comprendí con el paso de los años, pero hoy sé que gran parte de lo que soy se construyó con ellas.

A mi hermano, por abrirme camino mientras crecía, por cuidarme, acompañarme y aconsejarme cuando estaba haciendo las cosas mal. Se que, sin importar cuánto crezcamos o hacia dónde nos lleve la vida, siempre habrá entre nosotros ese vínculo que nació mucho antes de que pudiéramos entender lo que significaba tenernos el uno al otro.

A mis abuelos, por enseñarme a adaptarme a cada circunstancia de la vida, a Guillermo, por ser altruista; a mi angelito Juana por su bondad y humildad; a Isabel, por ser hacendosa; y de Gerardo, quien también me acompaña desde el cielo, a ser trabajadora. Cada uno, desde su propia historia, dejó en mí una enseñanza que llevaré siempre.

A mi compañera de tesis, de aventuras y, sobre todo, a mi mejor amiga, Anita, a quien dedico y agradezco esta tesis por acompañarme incondicionalmente en cada dificultad y por apoyarme convirtiendo este camino en parte de nuestra historia.

A quienes en la distancia me apoyaron y creyeron en mí; así como mis gatitas que en aquellas trasnochadas me acompañaban con su calor y cariño.

Daniela Isabel Ramos Choquegonza

Dedicatoria

A mi papá, Félix, por ser uno de los pilares de mi vida, por motivarme y apoyarme siempre. Gracias por enseñarme, con tu ejemplo, que los sueños sí se cumplen con esfuerzo y perseverancia. Sé que muchos de tus logros significaron sacrificios, días lejos de casa y momentos sin compartir con nosotros para brindarnos un mejor futuro. Verte cumplir tus propios sueños me enseñó a luchar por los míos. Eres mi mayor admiración y mi ejemplo de vida.

A mi mamá, Nora, por nunca dejarme caer, por sostener mi mano en los momentos difíciles y por enseñarme a creer en mí y en que los sueños sí se cumplen. Gracias por ser mi refugio, mi fortaleza y por acompañarme siempre con tu amor incondicional.

A mis hermanos, porque una de mis mayores ilusiones es verlos crecer, cumplir sus sueños y llegar mucho más lejos de lo que imaginan. Espero ser para ustedes un ejemplo de que, con esfuerzo y perseverancia, todo sueño puede hacerse realidad. Siempre creeré en ustedes.

A Dani, mi mejor amiga y mi compañera en este proceso, gracias por estar a mi lado en cada momento, por escucharme, apoyarme y compartir conmigo las alegrías, las preocupaciones y cada desafío. Gracias por hacer que este camino fuera más bonito y llevadero.

A todos ustedes, gracias por creer en mí incluso cuando yo misma dudé. Este logro lleva una parte de cada uno de ustedes y de todos los sacrificios, amor y apoyo que me permitieron llegar hasta aquí.

Ana Fiorela Ayme Vega

AGRADECIMIENTOS

Con admiración, respeto y gratitud. Al culminar esta etapa tan importante de nuestras vidas, queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a nuestro asesor de tesis, el Dr. Armando Jacinto Arenazas Rodríguez, a quien con cariño llamamos "profito", por acompañarnos durante este largo camino con dedicación, paciencia y compromiso.

Su apoyo constante, orientación y confianza en nuestras capacidades fueron fundamentales para avanzar con seguridad y perseverancia en cada etapa de este proceso. Valoramos profundamente su disposición, su compromiso y la manera en que hizo suyo nuestro proyecto, acompañándonos y respaldándonos en cada etapa, procurando que nunca nos faltara lo necesario para alcanzar esta meta.

Más allá de su labor como asesor, agradecemos también de todo corazón la calidad humana que nos demostró a lo largo de este proceso. Nos sentimos afortunadas de haber contado con un asesor que no solo compartió sus conocimientos, sino que sobre todo estuvo presente, nos escuchó, nos respaldó y creyó en nosotras. Nos llevamos no solo aprendizajes académicos, sino también el recuerdo de una persona que hizo de este camino una experiencia más humana y significativa.

Gracias por ser parte de este logro y por dejar una huella importante en nuestra formación profesional y personal.

Con profundo cariño, querido profito.

Daniela y Ana

RESUMEN

La contaminación de recursos hídricos por arsénico (As) y manganeso (Mn) representa un problema ambiental que compromete la calidad del recurso hídrico y hace necesario el desarrollo de alternativas sostenibles para su tratamiento. Esta investigación se planteó con el objetivo de evaluar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante-floculante para la remoción de arsénico y manganeso en aguas sintéticas mediante un análisis fisicoquímico, ecotoxicológico y molecular. Se prepararon aguas sintéticas con dos niveles de concentración de metales (0.02 mg/L de As + 0.60 mg/L de Mn y 0.06 mg/L de As + 2.00 mg/L de Mn), las cuales fueron tratadas con dos condiciones de preparación del extracto acuoso de *Opuntia ficus-indica*, denominadas extracto 50 y extracto 70, a partir de 400 g de parénquima fresco y 400 mL de agua, y 560 g de parénquima fresco y 240 mL de agua, respectivamente. En todos los tratamientos se aplicaron 40 mL de extracto por cada 500 mL de agua sintética, equivalente a una dosis de 8 % (v/v) de extracto acuoso. La eficiencia del tratamiento se determinó mediante la cuantificación de arsénico y manganeso por ICP-OES, así como mediante la evaluación del pH y la turbidez. Posteriormente, la calidad del agua tratada fue analizada mediante bioensayos con *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*; en este último se evaluó la expresión relativa de los genes SOD y Vitelogenina mediante RT-qPCR. Los mayores porcentajes de remoción se obtuvieron en los tratamientos con mayor concentración inicial de metales, alcanzando valores promedio de 82,50 % para arsénico y 62,22 % para manganeso; en contraste, los tratamientos con bajas concentraciones iniciales presentaron porcentajes de remoción negativos, debido a que las concentraciones finales superaron las iniciales. Los bioensayos demostraron que *Lemna minor* y *Daphnia magna* no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos; sin embargo, *Danio* rerio fue el organismo más sensible, mostrando alteraciones conductuales y fisiológicas. Desde la perspectiva molecular, en *Danio rerio* se observó una disminución de la expresión relativa del gen SOD y una sobreexpresión del gen Vitelogenina, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Se concluye que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* constituye una alternativa sostenible para la remoción de arsénico y manganeso en aguas sintéticas; sin embargo, la evaluación de su desempeño debe complementarse con análisis ecotoxicológicos y moleculares para identificar de manera integral la calidad ambiental del agua tratada.

Palabras clave: *Opuntia ficus-indica*, biocoagulante, ecotoxicología.

ABSTRACT

Water contamination by arsenic (As) and manganese (Mn) represents an environmental problem that compromises water quality and highlights the need to develop sustainable treatment alternatives. This study aimed to evaluate the efficiency of *Opuntia ficus-indica* mucilage as a coagulant-flocculant for the removal of arsenic and manganese from synthetic water through physicochemical, ecotoxicological, and molecular analyses. Synthetic water samples were prepared with two metal concentration levels (0.02 mg/L of As + 0.60 mg/L of Mn and 0.06 mg/L of As + 2.00 mg/L of Mn). These samples were treated with two aqueous extract preparation conditions of *Opuntia ficus-indica*, referred to as Extract 50 and Extract 70, prepared using 400 g of fresh parenchyma and 400 mL of water, and 560 g of fresh parenchyma and 240 mL of water, respectively. In all treatments, 40 mL of extract were applied per 500 mL of synthetic water, equivalent to an 8% (v/v) dose of aqueous extract. Treatment efficiency was determined by quantifying arsenic and manganese using ICP-OES, as well as by evaluating pH and turbidity. Subsequently, the quality of the treated water was assessed through bioassays with *Lemna minor*, *Daphnia magna*, and *Danio rerio*. In the latter species, the relative expression of the SOD and vitellogenin genes was evaluated using RT-qPCR. The highest removal percentages were obtained in treatments with higher initial metal concentrations, reaching average values of 82.50% for arsenic and 62.22% for manganese. In contrast, treatments with low initial concentrations showed negative removal percentages because the final concentrations exceeded the initial concentrations. The bioassays showed that *Lemna minor* and *Daphnia magna* did not present statistically significant differences among treatments; however, *Danio rerio* was the most sensitive organism, exhibiting behavioral and physiological alterations. From a molecular perspective, a decrease in the relative expression of the SOD gene and an overexpression of the vitellogenin gene were observed in *Danio rerio*, although these differences were not statistically significant. It is concluded that *Opuntia ficus-indica* mucilage represents a sustainable alternative for the removal of arsenic and manganese from synthetic water; however, the assessment of its performance should be complemented with ecotoxicological and molecular analyses to comprehensively identify the environmental quality of the treated water.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*, biocoagulant, ecotoxicology.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO I 4

1. Planteamiento del problema 5

1.1. Planteamiento del problema y su relevancia 5

1.2. Justificación de la investigación 7

1.2.1. Justificación Ambiental 7

1.2.2. Justificación Social 8

1.2.3. Justificación económica 8

1.2.4. Justificación tecnológica 9

1.2.5. Político/institucional 10

1.3. Objetivos de la investigación 10

1.3.1. Objetivo general 10

1.3.2. Objetivos específicos 10

1.4. Hipótesis 11

CAPÍTULO II 12

2. Fundamento teórico 13

2.1. Estado del arte 13

2.2. Marco teórico 15

2.2.1. Agua 15

2.2.2. Metales pesados en agua 16

2.2.3. Arsénico (As) 17

2.2.4. Manganeso (Mn) 18
2.2.5. Métodos de tratamiento de agua 18
2.2.5.1. *Métodos convencionales* 19
2.2.6. Mucílago de *Opuntia ficus-indica* 19
2.2.6.1. *Origen y características* 19
2.2.6.2. *Clasificación taxonómica* 20
2.2.6.3. *Composición química* 21
2.2.6.4. *Aplicaciones en tratamiento de agua* 21
2.2.6.5. *Interacciones coloidales, doble capa eléctrica y potencial zeta en sistemas acuosos* 22
2.2.7. Procesos de coagulación-floculación 23
2.2.7.1. *Coagulación* 23
2.2.8. Mecanismos de coagulación 23
2.2.8.1. *Neutralización de carga* 23
2.2.8.2. *Puentes de polímeros* 24
2.2.8.3. *Barrido* 24
2.2.8.4. *Floculación* 24
2.2.9. Adsorción de metales pesados 25
2.2.9.1. *Procesos de adsorción* 25
2.2.10. Factores influyentes 25
2.2.11. Interacción con el mucílago 26
2.2.12. Ecotoxicología 28
2.2.13. Ecotoxicidad 28
2.2.14. Organismos Biomarcadores 29
2.2.15. Toxicidad Aguda y Crónica 30
2.2.15.1. *Aguda* 30

2.2.15.2. *Crónica* 30
2.3. Marco legal 31
CAPíTULO III 33
3. METODOLOGÍA 34
3.1. Tipo y nivel de investigación 34
3.2. Metodología de la investigación 34
3.2.1. Preparación de metales para aguas sintéticas 34
3.2.2. Preparación de turbidez sintética 37
3.2.3. Preparación de las muestras experimentales 38
3.2.3.1. *Preparación de muestras (cóctel de metales)* 38
3.2.4. Caracterización fisicoquímica del efluente 40
3.2.5. Extracción del mucílago de *Opuntia ficus-indica* 41
3.2.5.1. *Lugar de procedencia* 41
3.2.5.2. *Limpieza y acondicionamiento del material* 42
3.2.5.3. *Obtención del coagulante natural (mucílago)* 43
3.2.5.4. *Proceso de coagulación y floculación* 45
3.2.6. Análisis de metales por ICP.OES 49
3.2.7. Selección del tratamiento para bioensayos ecotoxicológicos 49
3.2.8. Evaluaciones ecotoxicológicas 50
3.2.8.1. *Acondicionamiento de organismos* 50
3.2.8.2. *Ensayos ecotoxicológicos* 52
3.2.9. Procesamiento de datos 62
3.2.9.1. *Análisis de la eficiencia de remoción* 62
3.2.9.2. *Análisis fisicoquímico* 62
3.2.9.3. *Análisis ecotoxicológico* 62
CAPÍTULO IV 69

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES 70
4.1. Remoción de metales 70
4.2. Evaluación de parámetros fisicoquímicos 71
4.3. Bioensayo con *Lemna minor* 73
4.4. Bioensayo con *Daphnia magna* 75
4.5. Bioensayo con *Danio rerio* 77
4.6. Efectos *moleculares sobre la expresión de los genes SOD y vitelogenina* 80
4.6.1. *Análisis de curvas de amplificación de ensayo* 80
4.7. Discusión de resultados obtenidos 84
4.7.1. *Remoción de arsénico (As) y manganeso (Mn)* 84
4.7.2. *Determinación de pH* 87
4.7.3. *Remoción de turbidez* 88
4.7.4. *Inhibición del crecimiento Lemna minor* 89
4.7.5. *Inmovilización con Daphnia magna* 91
4.7.6. *Bioensayo con Danio rerio* 93
4.7.6.1. *Comportamiento irregular* 93
4.7.6.2. *Ventilación irregular* 95
4.7.6.3. *Aislamiento social y pigmentación anormal* 97
4.7.6.4. *Pruebas moleculares* 99
- *Expresión del gen SOD* 99
CAPÍTULO V **104**
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 105
5.1. Conclusiones 105
5.2. Recomendaciones 106
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **108**
ANEXOS **132**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estándares de calidad ambiental (ECA) *16*

Tabla 2. Clasificación taxonómica de Opuntia ficus-indica. *20*

Tabla 3. Contenido de mucílago en Opuntia ficus-indica según literatura reciente *21*

Tabla 4. Composición química del mucílago de Opuntia ficus-indica *21*

Tabla 5. Factores experimentales del estudio. *46*

Tabla 6. Unidades experimentales del diseño. *46*

Tabla 7. Signos de comportamiento en peces. *57*

Tabla 8. Formato de registro de signos de comportamiento en Danio rerio. *65*

Tabla 9. Porcentaje de incidencia de signos de comportamiento. *67*

Tabla 10. Remoción de metales (arsénico y manganeso) después del tratamiento *70*

Tabla 11. Efectos del tratamiento de coagulación (50%-ALTO) sobre Lemna minor. *73*

Tabla 12. Efectos del tratamiento de coagulación sobre Daphnia magna *75*

Tabla 13. Efectos del tratamiento de coagulación (50%-ALTO) sobre Danio rerio. *77*

Tabla 14. Valores de Cq del ensayo final. *82*

Tabla 15. Valores de Cq normalizados (ΔCq). *82*

Tabla 16. Expresión relativa (RQ) por grupo. *84*

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Esquema del procedimiento de preparación de agua sintética turbia.....38*

Figura 2. *Mapa de puntos de muestreo.....42*

Figura 3. *Esquema de obtención de cladodios de Opuntia ficus-indica para la extracción de mucílago.....43*

Figura 4. *Esquema de recolección y procesamiento de cladodios de Opuntia ficus-indica. 45*

Figura 5. *Esquema de la prueba de jarras para los procesos de coagulación y floculación. 48*

Figura 6. *Esquema del proceso de aclimatación de Daphnia magna (pulga de agua).....51*

Figura 7. *Esquema del proceso de aclimatación de Lemna minor (lenteja de agua).....51*

Figura 8*. Esquema del proceso de aclimatación de Danio rerio (pez cebra). 52*

Figura 9. *Esquema del ensayo de inmovilización aguda de Daphnia magna. 54*

Figura 10. *Sistema de Esquema del sistema experimental para bioensayos Lemna minor. ..55*

Figura 11. *Esquema del bioensayo ecotoxicológico agudo con Danio rerio. 57*

Figura 12. *Esquema del procedimiento de extracción y conservación de hígados de Danio rerio para análisis molecular. 61*

Figura 13. *Esquema metodológico general para la evaluación de la eficiencia del mucílago de Opuntia ficus-indica como coagulante-floculante en la remoción de arsénico y manganeso en aguas sintéticas mediante análisis fisicoquímico, ecotoxicológico y molecular. 68*

Figura 14. *Porcentaje de remoción de metales (arsénico y manganeso). 71*

Figura 15. *Variación de pH en cada tratamiento. 72*

Figura 16. *Porcentaje de remoción de turbidez en cada tratamiento. 72*

Figura 17. *Porcentaje de inhibición del crecimiento radicular por efecto del tratamiento de coagulación sobre Lemna minor. 75*

Figura 18. *Porcentaje de inmovilización por efecto del tratamiento de coagulación sobre Daphnia magna.....76*

Figura 19. *Porcentaje de comportamiento anormal por efecto del tratamiento de coagulación sobre Danio rerio.....78*

Figura 20. *Porcentaje de ventilación irregular por efecto del tratamiento de coagulación sobre Danio rerio.....78*

Figura 21. *Porcentaje de otros efectos (aislamiento social y pigmentación anormal) por efecto del tratamiento de coagulación sobre Danio rerio.....79*

Figura 22. *Curvas de amplificación por cada gen A) B-actina (Housekeeping), B) SOD, C) Vitelogenina.....81*

Figura 23. *Normalización ΔCq contra B- actina.....83*

Figura 24. *Expresión de genes de interés A) Expresión relativa por grupo, B) Cambio porcentual aproximado respecto al control/calibrador. 84*

ANEXOS

ANEXO 1. *Panel Fotográfico* *133*

ANEXO 2. *Reporte de registros.* *143*

ANEXO 3*. Informes* *149*

INTRODUCCIÓN

El agua constituye un recurso fundamental para el desarrollo de la vida, la estabilidad de los ecosistemas y el progreso de las actividades productivas. Sin embargo, el aumento de las actividades antrópicas, especialmente la minería, la industria y la agricultura intensiva, ha impulsado significativamente al deterioro de la calidad de los recursos hídricos debido a la incorporación de diversos contaminantes, dentro de los cuales preponderan metales pesados y metaloides (Benalia et al., 2024). Dentro de ellos, el manganeso (Mn) y el arsénico (As) constituyen una preocupación ambiental debido a su movilidad, toxicidad y capacidad de bioacumulación, características que contribuyen a su permanencia en los ecosistemas acuáticos y su incorporación a la cadena alimentaria, generando efectos adversos sobre la biodiversidad y la salud humana (Xu et al., 2024). En la región de Arequipa, diferentes reportes de monitoreo han identificado la presencia de estos elementos en cuerpos de agua superficiales, lo que pone de manifiesto la necesidad de desarrollar alternativas eficientes para su tratamiento. En el Perú, el Decreto Supremo N.° 004-2017-MINAM establece los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua.

A lo largo del tiempo, la remoción de metales pesados se ha realizado a través procesos fisicoquímicos convencionales como la precipitación química, la adsorción con materiales sintéticos y la coagulación-floculación empleando coagulantes químicos. No obstante, estas tecnologías presentan limitaciones relacionadas con sus elevados costos operacionales, el consumo de reactivos, la generación de lodos residuales y el potencial impacto ambiental asociado a su utilización. En consecuencia, durante los últimos años se ha incrementado el interés por investigar materiales naturales que permitan desarrollar procesos de tratamiento más sostenibles, eficientes y económicamente viables (Meftah et al., 2025).

Entre las alternativas propuestas destaca el mucílago de *Opuntia ficus-indica*, un biopolímero natural obtenido de los cladodios de esta especie, ampliamente distribuida en el sur del Perú (Vargas-Solano et al., 2022). Su composición, rica en polisacáridos y grupos funcionales como carboxilos e hidroxilos, le confiere propiedades coagulantes, floculantes y adsorbentes que favorecen la remoción de partículas suspendidas y metales presentes en el agua mediante mecanismos de neutralización de carga, formación de puentes poliméricos, intercambio iónico y adsorción superficial (Otálora et al., 2022). Estas características han despertado un creciente interés científico por su potencial aplicación como alternativa a los coagulantes químicos convencionales en procesos de tratamiento de agua.

Aunque diversas investigaciones han demostrado la eficacia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* para reducir la turbidez y remover determinados contaminantes, la gran parte de estos estudios se ha limitado a evaluar parámetros fisicoquímicos, sin considerar si el agua tratada conserva efectos tóxicos sobre los organismos acuáticos. Esta limitación evidencia la necesidad de desarrollar investigaciones con un enfoque integral que, además de cuantificar la remoción de contaminantes, permitan determinar la respuesta biológica de diferentes organismos bioindicadores y evaluar alteraciones moleculares asociadas a la exposición residual de los contaminantes (Mukaila et al., 2025a). La integración de análisis fisicoquímicos, ecotoxicológicos y moleculares proporciona una evaluación más completa de la eficiencia y seguridad de los tratamientos aplicados (Calisi, 2023). En este contexto, la presente investigación tuvo como propósito evaluar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante-floculante para la remoción de manganeso (Mn) y arsénico (As) en aguas sintéticas representativas de la región de Arequipa, mediante la integración de análisis fisicoquímicos, bioensayos ecotoxicológicos con *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*, así como la evaluación de biomarcadores moleculares relacionados con el estrés oxidativo y la disrupción endocrina. De este modo, se busca generar evidencia científica que

promueva al desarrollo de tecnologías de tratamiento más sostenibles y bajo impacto ambiental, promoviendo el aprovechamiento de recursos naturales de origen vegetal y fortaleciendo las estrategias de gestión de la calidad del agua.

CAPÍTULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema y su relevancia

En el sur del Perú, la calidad de los recursos hídricos se ha visto progresivamente afectada por la presencia de metales pesados derivados principalmente de actividades antrópicas como la minería, la agricultura intensiva y procesos industriales. En particular, en nuestra región de Arequipa, distritos de la cuenca oriental como Characato, Yarabamba, Mollebaya y el valle de Tambo presentan concentraciones elevadas de manganeso (Mn) y arsénico (As) en cuerpos de agua superficiales y manantiales utilizados para riego, consumo animal y, en algunos casos, consumo humano. De acuerdo con reportes de la ANA (2021) se registraron excedencias de los ECA'S, en diversas estaciones de monitoreo. Para el manganeso, cuyo ECA es de 0,2 mg/L, la estación TOM01 del río Tambo presentó una concentración de 1,23 mg/L, valor que supera aproximadamente seis veces el límite establecido establecidos. Asimismo, la estación CCA04, ubicada en el río Chili aguas abajo de la ciudad de Arequipa, también registró concentraciones superiores al estándar permitido. Respecto al arsénico, cuyo ECA corresponde a 0,1 mg/L, se reportaron en diez estaciones de monitoreo; destacando la estación QFI01 (Quebrada Fierro), con una concentración de 0,075 mg/L, y la estación CCA03 del río Chili, con una concentración de 0,018 mg/L.

El manganeso y el arsénico son contaminantes de alta preocupación debido a su persistencia, movilidad en medios acuáticos y capacidad de bioacumulación, por sus características fisicoquímicas. El Mn, en ambientes con baja disponibilidad de oxígeno, se presenta en formas solubles, lo que facilita su dispersión, mientras que el arsénico puede presentarse en diferentes estados de oxidación (As^{3+} y As^{5+}), (Chaudhary et al., 2024), siendo el primero más tóxico y móvil. Esta variabilidad dificulta su remoción mediante tratamientos convencionales, ya que su comportamiento depende de factores como el pH, el potencial

redox y la presencia de otras sustancias en el medio acuático (Wang et al., 2022). Estos metales según Mukaila et al. (2025) pueden generar alteraciones neurológicas y afectar el desarrollo de organismos acuáticos, en caso del As actúa como un carcinógeno humano, asociado a enfermedades crónicas y distintos tipos de cáncer en pulmón, vejiga y piel, (Rahaman et al., 2021). La exposición prolongada a estos elementos a través del agua representa una problemática sanitaria relevante, especialmente en poblaciones que dependen directamente de fuentes hídricas naturales para sus actividades cotidianas, ya que, pueden bioacumularse en organismos acuáticos, generando efectos ecotoxicológicos que alteran las cadenas tróficas y afectan la biodiversidad, (H. Ali et al., 2019). A pesar de la magnitud del problema, las tecnologías convencionales empleadas para la remoción de metales pesados, como la precipitación química, la adsorción y la filtración avanzada, presentan limitaciones importantes relacionadas con sus altos costos, requerimientos técnicos y generación de residuos secundarios, lo que dificulta su implementación en zonas rurales o con recursos limitados, (Razzak et al., 2022). Esta situación evidencia la necesidad de desarrollar alternativas de tratamiento sostenibles, eficientes y de bajo costo que se adapten a las condiciones locales.

En este contexto, el uso de coagulantes naturales como el mucílago de *Opuntia ficus-indica*, especie ampliamente distribuida en el sur del Perú, surge como una alternativa prometedora debido a su accesibilidad, bajo costo y capacidad (Vargas-Solano et al., 2022), porque está compuesto principalmente por polisacáridos, presenta grupos funcionales como carboxilos e hidroxilos que favorecen la adsorción y remoción de metales pesados mediante mecanismos de complicación e intercambio iónico (Alazaiza et al., 2025; Mondal et al., 2023). Estas propiedades permiten su aplicación en procesos de coagulación–floculación, reduciendo la concentración de contaminantes en el agua.

A pesar del creciente interés por el uso del biocoagulantes naturales en el tratamiento de aguas contaminadas, la mayoría de las investigaciones se ha enfocado principalmente en determinar la eficiencia de remoción de contaminantes mediante parámetros fisicoquímicos, omitiendo la determinación de posibles efectos tóxicos residuales mediante bioensayos ecotoxicológicos, limitando así una valoración completa de la eficacia y seguridad del tratamiento (López Maldonado, 2016). Asimismo, el empleo de organismos bioindicadores como *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio* permite identificar efectos biológicos que no siempre son evidentes mediante análisis químicos convencionales (Calisi, 2023; OCDE, 2026). En este contexto, la presente investigación propone evaluar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante-floculante para la remoción de arsénico y manganeso en aguas sintéticas representativas de Arequipa, integrando análisis fisicoquímicos, ecotoxicológicos y moleculares con el fin de determinar la eficacia y seguridad del tratamiento propuesto.

1.2. Justificación de la investigación

1.2.1. *Justificación Ambiental*

Desde una perspectiva ambiental, la presente investigación busca contribuir a la mitigación de la contaminación hídrica por manganeso (Mn) y arsénico (As) en la región de Arequipa, tomando como referencia escenarios de contaminación reportados en estudios de monitoreo y diagnósticos ambientales de la cuenca Quilca–Chili. Para ello, se plantean niveles experimentales de contaminación que permitan evaluar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* frente a diferentes concentraciones de estos metales de interés ambiental.

En este sentido, Martínez-Cruz et al. (2021a) señalan que los biocoagulantes derivados de *Opuntia ficus-indica* representan una alternativa sostenible frente a coagulantes convencionales, debido a su menor impacto ambiental y generación reducida de residuos, ya

que posee capacidad de remover metales pesados mediante interacciones fisicoquímicas con sus grupos funcionales. Estudios recientes como el de Vargas-Solano et al. (2022), evidencian que este biopolímero permite la remoción efectiva de metales como manganeso y arsénico en cuerpos de agua contaminados. Asimismo, Alzharani, (2024) indica que materiales derivados de *Opuntia ficus-indica* presentan alta eficiencia en la adsorción de metales pesados, lo que reduce significativamente su impacto ambiental. De esta manera, se favorece la conservación de los ecosistemas acuáticos y se contribuye al cumplimiento del ODS 6 y ODS 13.

1.2.2. *Justificación Social*

Esta investigación responde a la necesidad de reducir los riesgos asociados a la exposición de metales pesados en poblaciones que dependen de fuentes hídricas contaminadas para actividades agrícolas, pecuarias y, en algunos casos, consumo indirecto.

La presencia de Mn y As, según Hossain et al. (2025) representa una amenaza para la salud pública, incluyendo enfermedades crónicas, riesgos carcinogénicos y la seguridad alimentaria, dado que estos contaminantes pueden incorporarse a la cadena trófica. En este sentido, el uso de *Opuntia ficus-indica*, permite desarrollar soluciones de bajo costo y fácil implementación, favoreciendo el acceso a tecnologías de tratamiento en comunidades. Por tanto, esta investigación beneficiará directamente a pobladores, agricultores y usuarios de recursos hídricos, contribuyendo a mejorar su calidad de vida y fortaleciendo la resiliencia frente a problemáticas ambientales, en concordancia con el ODS 3 (salud y bienestar) y el ODS 6.

1.2.3. *Justificación económica*

Desde la perspectiva económica, la investigación plantea una alternativa que puede reducir significativamente los costos asociados al tratamiento de aguas contaminadas, Koul et

al. (2022), lo destaca debido a su bajo costo de producción, disponibilidad y menor impacto en los costos operativos en comparación con los coagulantes químicos convencionales. En este contexto, el mucílago de *Opuntia ficus-indica* se posiciona como una opción eficiente y accesible, especialmente en regiones donde esta especie es abundante, como el sur del Perú, permitiendo reducir significativamente la dependencia de insumos importados y optimizar los procesos de tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados como el manganeso (Mn) y arsénico (As). Asimismo, Saleem et al. (2018), señalan que la aplicación de biopolímeros naturales en procesos de coagulación-floculación no solo disminuye los costos de operación, sino que también favorece la sostenibilidad económica en sistemas de tratamiento descentralizados, especialmente en comunidades rurales. Esto contribuye a mejorar en la calidad del agua y la reducción de gastos asociados a problemas de salud y pérdidas en actividades agrícolas, promoviendo un enfoque de economía circular y desarrollo sostenible, en concordancia con el ODS 8 (trabajo decente y crecimiento económico).

1.2.4. *Justificación tecnológica*

Esta investigación aporta al desarrollo de tecnologías innovadoras para el tratamiento de aguas contaminadas, es por ello que S. K. Ali et al. (2025a), mencionan que el uso de coagulantes naturales de origen vegetal en procesos de coagulación-floculación presenta una alta eficiencia en la remoción de contaminantes, constituyendo una alternativa sostenible frente a los coagulantes químicos convencionales. En este contexto, el mucílago de *Opuntia ficus-indica* permite optimizar los procesos de tratamiento debido a su capacidad como biopolímero natural, su disponibilidad y bajo costo. Asimismo, la incorporación de bioensayos eco toxicológicos junto con análisis fisicoquímicos fortalece la evaluación integral del agua tratada, permitiendo validar tanto la eficiencia como la seguridad del tratamiento. De esta manera, la investigación contribuye al desarrollo tecnológico sostenible en el tratamiento de aguas, alineándose con el ODS 9 (industria, innovación e infraestructura).

1.2.5. *Político/institucional*

La incorporación de herramientas de modelización de distribución de especies en la planificación de la conservación y restauración ecológica representa un aporte importante para la gestión institucional de los ecosistemas andinos, ya que proporciona una base cuantitativa que facilita la toma de decisiones en política ambiental. Estos enfoques permiten identificar áreas prioritarias para la conservación, restauración y monitoreo bajo distintos escenarios futuros (Guisan et al., 2013; McSHEA, 2014).

Al proporcionar escenarios de cambio en la distribución del hábitat, estos enfoques ayudan a los gestores públicos y privados a estimar los riesgos ecológicos, evaluar impactos y diseñar medidas de respuesta sustentadas en evidencia (Guisan et al., 2013). Además, la integración de los resultados con actores como gobiernos, ONG y comunidades fortalece la cooperación interinstitucional y mejora la gobernanza ambiental, apoyando las políticas más eficaces para la conservación de ecosistemas altoandinos (McSHEA, 2014).

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. *Objetivo general*

Evaluar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante-floculante en la remoción de manganeso (Mn) y arsénico (As) en aguas sintéticas representativas de la región de Arequipa.

1.3.2. *Objetivos específicos*

- Determinar las condiciones experimentales para la elaboración de aguas sintéticas contaminadas con concentraciones definidas de manganeso y arsénico, mediante la aplicación de sales analíticas de $NaAsO_2$ y $MnSO_4 \cdot H_2O$.

- Obtener el mucílago de *Opuntia ficus-indica* para su aplicación como coagulante-floculante en la remoción de manganeso y arsénico mediante el ensayo de jarras.
- Evaluar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* mediante la determinación del porcentaje de remoción de manganeso y arsénico, así como de los parámetros fisicoquímicos del agua tratada.
- Evaluar el efecto ecotoxicológico después del tratamiento con mucílago de *Opuntia ficus-indica* mediante bioensayos con *Lemna minor, Daphnia magna* y *Danio rerio*.
- Evaluar la expresión molecular de biomarcadores en hígado de *Danio rerio* después del tratamiento con mucílago de *Opuntia ficus-indica*.

1.4. Hipótesis

Dado que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* posee propiedades coagulantes y floculantes naturales, es probable que pueda ser utilizado como una alternativa eficiente para la remoción de manganeso (Mn) y arsénico (As) en aguas sintéticas representativas de la región de Arequipa, logrando una disminución significativa en sus concentraciones y reduciendo la toxicidad residual en organismos acuáticos *como Lemna minor, Daphnia magna y Danio rerio*.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. Estado del arte

La contaminación por metales pesados en cuerpos de agua representa una de las problemáticas ambientales más críticas a nivel global, debido a su persistencia, toxicidad y capacidad de bioacumulación en los ecosistemas acuáticos, (Nahar et al., 2022). Elementos como el arsénico (As), plomo (Pb), mercurio (Hg) y manganeso (Mn) han sido ampliamente reportados en fuentes hídricas contaminadas, generando efectos adversos tanto en organismos acuáticos como en la salud humana (Byeon et al., 2021); (Kotnala et al., 2025). Frente a ello, en los últimos años se ha intensificado la búsqueda de alternativas sostenibles, económicas y biodegradables para el tratamiento de aguas, destacando el uso de biocoagulantes y bioadsorbentes de origen vegetal. En este contexto, el mucílago de *Opuntia ficus-indica* ha emergido como uno de los materiales naturales más estudiados por su alta eficiencia en procesos de coagulación-floculación. Se ha demostrado su capacidad para remover turbidez, sólidos suspendidos y ciertos contaminantes inorgánicos presentes en el agua. Ravele et al. (2025) señalan que los coagulantes naturales de origen vegetal presentan ventajas significativas frente a los coagulantes químicos tradicionales, debido a su baja toxicidad, biodegradabilidad y menor impacto ambiental. De manera similar, El Bouaidi et al. (2022) resaltan su potencial en sistemas de tratamiento descentralizados, especialmente en zonas rurales donde el acceso a tecnologías convencionales es limitado.

Específicamente, el mucílago de *Opuntia ficus-indica* ha sido ampliamente investigado por su composición rica en polisacáridos, principalmente ácido galacturónico, además de grupos funcionales como carboxilos e hidroxilos, los cuales favorecen la interacción con partículas coloidales y metales pesados, (Sepúlveda et al., 2007).

En la misma línea, otros autores han evaluado su desempeño en comparación con coagulantes convencionales. S. K. Ali et al. (2025b) encontraron que el mucílago *de Opuntia ficus-indica* puede igualar o incluso superar la eficiencia del sulfato de aluminio en la remoción de turbidez, con la ventaja adicional de no alterar significativamente el pH del agua tratada. Además de su uso como coagulante, Vargas-Solano et al. (2022b) evaluaron la remoción de metales pesados en agua utilizando mucílago de *Opuntia ficus-indica*, encontrando una reducción significativa de contaminantes metálicos en condiciones experimentales controladas. Estos resultados confirman su potencial como material biosorbente, atribuido a su estructura polimérica y capacidad de intercambio iónico, en la misma línea, Flores-Trujillo et al. (2021) demostraron su capacidad de biosorción de Pb eliminándolo hasta el 90%, mientras que Maity et al. (2020) destacaron que su estructura polimérica favorece la retención de contaminantes a través de mecanismos de complicación e intercambio iónico.

Por otro lado, se han desarrollado estudios complementarios utilizando materiales alternativos como hidrogeles y biopolímeros modificados. Hu et al. (2025) desarrollaron hidrogeles flotantes con alta capacidad de adsorción de iones metálicos, mientras que D. Choque-Quispe et al. (2022) evaluaron la combinación de almidón de papa con mucílago de *Opuntia ficus-indica*, observando un incremento en la capacidad de adsorción, aunque factores como la temperatura de secado pueden afectar negativamente su desempeño.

En el ámbito ecotoxicológico, el uso de bioindicadores ha cobrado gran relevancia para evaluar los efectos de los metales pesados en los ecosistemas acuáticos. Organismos como *Danio rerio* (pez cebra), *Daphnia magna* y *Lemna minor* son ampliamente utilizados debido a su sensibilidad, facilidad de cultivo y rápida respuesta a contaminantes, (Calisi, 2023; OCDE, 2026). Yan et al. (2025) destacan que el pez cebra es un modelo biológico clave para

estudios toxicológicos por su transparencia embrionaria y similitud genética con vertebrados superiores.

En relación con la toxicidad específica de los metales, Byeon et al. (2021) reportaron que el arsénico genera efectos tanto agudos como crónicos en organismos acuáticos, afectando procesos fisiológicos, reproductivos y moleculares. Por su parte, Hernández et al. (2015) evidenciaron que el manganeso puede inducir alteraciones en el metabolismo del calcio en embriones de *Danio rerio*, dependiendo de su forma química y tiempo de exposición. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de evaluar la calidad del agua no solo desde una perspectiva fisicoquímica, sino también biológica.

En conjunto, la literatura evidencia un creciente interés por el uso de materiales naturales como el mucílago de *Opuntia ficus-indica* para el tratamiento de aguas contaminadas, así como la necesidad de integrar evaluaciones eco toxicológicas que permitan comprender el impacto real de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos. Sin embargo, aún existen vacíos de investigación respecto a la eficiencia del mucílago en la remoción específica de metales como el manganeso bajo distintas condiciones experimentales, así como su efecto combinado en bioindicadores acuáticos, lo cual justifica el desarrollo del presente estudio

2.2. Marco teórico

2.2.1. *Agua*

El agua es un recurso esencial para la vida, los ecosistemas y el desarrollo de las actividades humanas. Su disponibilidad en condiciones adecuadas de calidad es fundamental para el consumo humano, la agricultura, la industria y el equilibrio Ambiental, (UNESCO World Water Assessment, 2023). Sin embargo, debido al crecimiento poblacional y al

aumento de las actividades industriales y extractivas, la calidad del agua se ha visto significativamente afectada en las últimas décadas.

2.2.2. *Metales pesados en agua*

Los metales pesados entre ellos el arsénico (As) y el manganeso (Mn) representan una amenaza ecológica importante debido a su persistencia, toxicidad y capacidad de acumularse en los cuerpos receptores acuáticos. Estas sustancias en actividades de minería, industriales o de agricultura intensiva están presentes en concentraciones elevadas, afectando la calidad del agua para consumo y riego (Custodio et al., 2020). Aunque, en condiciones naturales o alteradas, estas concentraciones pueden superar los niveles permitidos por organismos nacionales y estándares internacionales, (Mori Sosa et al., 2025) encontraron concentraciones de arsénico en la cuenca del Caplina que superan los valores recomendados, lo que evidencia la necesidad de monitoreo continuo y estrategias de remediación.

En este sentido, la Tabla 1 muestra los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua correspondientes a la Categoría 3 (riego de vegetales y bebida de animales), donde se establecen los límites máximos permisibles de los principales parámetros físicos, químicos y metales pesados presentes en el agua en el Perú.

Tabla 1. Estándares de calidad ambiental (ECA)

Parámetros	Unidad de medida	D1: Agua para riego vegetales		D2: Bebida de animales
		Agua para riego restringido (c)	Agua para riego no restringido	Bebida de animales
Arsénico	mg/L		0.1	0.2
Bario	mg/L		0.7	—

Berilio	mg/L	0.1	0.1
Boro	mg/L	1	5
Cadmio	mg/L	0.01	0.05
Cobre	mg/L	0.2	0.5
Cobalto	mg/L	0.05	1
Cromo total	mg/L	0.1	1
Hierro	mg/L	5	—
Litio	mg/L	2.5	2.5
Manganeso	mg/L	0.2	0.2
Mercurio	mg/L	0.001	0.01
Níquel	mg/L	0.2	1
Plomo	mg/L	0.05	0.05
Selenio	mg/L	0.02	0.05
Zinc	mg/L	2	24

Nota. *Tomado de (MINAM, 2017).*

2.2.3. *Arsénico (As)*

Considerado un metaloide distribuido generalmente en la corteza terrestre, el arsénico está presente tanto por causas naturales, llámese actividades volcánicas o erosión geológica, como antropogénicas la conocida minería, combustión de combustibles fósiles, etc, (Patel et al., 2023). En aguas naturales, principalmente existe en formas inorgánicas: arseniato As (V) y arsenito As (III); entre ellas, esta última es más móvil y generalmente más tóxica como lo indica Ghosh et al. (2022) esta toxicidad depende de su forma química. As (III) generalmente es más tóxico que As (V) debido a su mayor capacidad de penetración celular, (Byeon et al.,

2021). En organismos acuáticos, puede generar estrés oxidativo y efectos letales, afectar el crecimiento, reproducción e inducir daños celulares, (Ghosh et al., 2022).

2.2.4. *Manganeso (Mn)*

El manganeso es un elemento esencial para la vida, por ello es el décimo más abundante en la corteza terrestre. Su presencia en aguas superficiales varía entre<1 hasta 1 700 µg/L, excepto en aguas subtóxicas o contaminadas donde puede superar los 30 mg/L, (Binet et al., 2023). El ciclo del Mn incluye procesos naturales como la erosión y el transporte fluvial, y está muy influenciado por actividades como minería e industria (Dey et al., 2023), es así como, en niveles elevados pueden causar efectos perjudiciales en la vida acuática, incluyendo inmunosupresión, alteraciones en circulación o en funciones fisiológicas de peces y crustáceos, Binet et al. (2023) determinó que ciertos corales adultos son especialmente sensibles, con una concentración efectiva media (EC_{50}) de 824 µg/L, evidenciando toxicidad aguda notable.

2.2.5. *Métodos de tratamiento de agua*

El tratamiento del agua comprende un conjunto de procesos físicos, químicos y biológicos diseñados para remover contaminantes y mejorar la calidad del recurso hídrico. Estos procesos se aplican dependiendo del tipo de contaminación presente, siendo los más comunes aquellos relacionados con turbidez, materia orgánica, microorganismos y metales pesados. En este contexto, el tratamiento de aguas contaminadas es fundamental para garantizar su reutilización y protección de la salud humana y los ecosistemas. Los métodos de tratamiento pueden clasificarse en convencionales y no convencionales, siendo los primeros ampliamente utilizados en plantas de tratamiento de agua potable y residual, mientras que los segundos incluyen tecnologías emergentes más sostenibles y de menor impacto ambiental (Lichtfouse et al., 2022).

2.2.5.1. *Métodos convencionales*

Los métodos convencionales de tratamiento de agua incluyen procesos como la coagulación-floculación, sedimentación, filtración y desinfección. Estos sistemas son eficaces para la remoción de sólidos suspendidos, turbidez y microorganismos, y son ampliamente utilizados a nivel mundial debido a su eficiencia y disponibilidad tecnológica.

Sin embargo, estos métodos suelen requerir el uso de coagulantes químicos como el sulfato de aluminio, los cuales pueden generar lodos residuales y posibles efectos secundarios en el ambiente. Por esta razón, en los últimos años se ha incrementado el interés por el uso de coagulantes naturales como alternativas más sostenibles (Saleem & Bachmann, 2019). Asimismo, estudios recientes han demostrado que los sistemas convencionales pueden ser menos eficientes en la remoción de contaminantes emergentes como metales pesados o compuestos tóxicos en bajas concentraciones, lo que ha impulsado la búsqueda de tecnologías complementarias o alternativas (Khaliha et al., 2023).

2.2.6. *Mucílago de Opuntia ficus-indica*

2.2.6.1. *Origen y características*

El *Opuntia ficus-indica*, conocido comúnmente como tuna, nopal o penca de tuna, es una especie perteneciente a la familia Cactaceae, ampliamente distribuida en regiones áridas y semiáridas de América, especialmente en México, Perú, Bolivia y Chile. Esta especie ha sido cultivada desde tiempos precolombinos debido a su alta adaptabilidad a condiciones climáticas extremas y su importancia alimentaria, medicinal y ambiental. De acuerdo con Lichtfouse et al. (2022), el nopal es una de las especies más representativas de los ecosistemas áridos andinos, destacando por su capacidad de almacenamiento de agua y

producción de compuestos bioactivos como el mucílago, el cual ha sido recientemente estudiado como alternativa sostenible en procesos de tratamiento de agua.

El mucílago presente en los cladodios (pencas) corresponde a un biopolímero natural de tipo hidrocoloide, el cual ha despertado interés científico por su capacidad de actuar como coagulante-floculante en sistemas acuosos contaminados.

2.2.6.2. *Clasificación taxonómica*

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Opuntia ficus-indica.*

Categoría	Clasificación
Reino	*Plantae*
División	*Magnoliophyta*
Clase	*Magnoliopsida*
Orden	*Caryophyllales*
Familia	*Cactaceae*
Género	*Opuntia*
Especie	*Opuntia ficus-indica*

Fuente: (USDA Plants Database Plant Profile General, n.d.)

El *Opuntia ficus-indica* es un arbusto suculento que puede alcanzar entre 1.5 y 5 metros de altura. Sus tallos modificados, conocidos como cladodios o pencas, presentan una estructura carnosa que permite la acumulación de agua y nutrientes. Las pencas contienen células especializadas donde se encuentra el mucílago, el cual es un hidrocoloide viscoso compuesto principalmente por polisacáridos. Este compuesto puede representar entre 5% y 15% del peso fresco del cladodio, dependiendo de la edad de la planta y condiciones ambientales (Kurniawan et al., 2020).

Tabla 3. Contenido de mucílago en *Opuntia ficus-indica* según literatura reciente.

Estudio/fuente	Tipo de muestra	Contenido de mucílago (%)	Condición experimental
(Alazaiza et al., 2025)	Cladodio fresco	8 – 12%	Zona árida, México
(Carmen Fernández-Martínez et al., 2024a)	Penca madura	10 – 15%	Andes peruanos

2.2.6.3. *Composición química*

El mucílago de *Opuntia ficus-indica* está compuesto principalmente por polisacáridos complejos de naturaleza aniónica, donde predominan los ácidos urónicos. Estos componentes le confieren capacidad de interacción con contaminantes presentes en el agua, especialmente metales pesados como Mn^{2+} y especies de arsénico (As^{3+} y As^{5+}), mediante mecanismos de adsorción y complejación (Mukaila et al., 2025).

Tabla 4. *Composición química del mucílago de Opuntia ficus-indica.*

Componente	Rango (%)	Función
Ácido galacturónico	30 – 45%	Sitios activos de unión con metales
Arabinosa	15 – 25%	Estructura del polisacárido
Galactosa	10 – 20%	Estabilidad del gel
Ramnosa	5 – 10%	Flexibilidad molecular
Proteínas	1 – 5%	Adsorción secundaria
Minerales (Ca, Mg, K)	trazas	Interacción iónica

Fuente. (Alazaiza et al., 2025; Carmen Fernández-Martínez et al., 2024a; Kurniawan et al., 2020; Sykora et al., 2021)

2.2.6.4. *Aplicaciones en tratamiento de agua*

El mucílago de *Opuntia ficus-indica* ha sido ampliamente investigado como coagulante-floculante natural en el tratamiento de aguas superficiales, residuales e

incluso aguas sintéticas contaminadas con metales pesados. Su mecanismo de acción se basa en la desestabilización de partículas coloidales mediante neutralización de carga, formación de puentes poliméricos y adsorción de contaminantes, (Martínez-Cruz et al., 2021b).

El mucílago actúa principalmente mediante tres mecanismos: Neutralización de carga: interacción de grupos carboxilo con iones metálicos. Puente de polímeros: formación de redes que agrupan partículas. Adsorción superficial: retención de metales pesados en la matriz del biopolímero. (Carmen Fernández-Martínez et al., 2024)

2.2.6.5. *Interacciones coloidales, doble capa eléctrica y potencial zeta en sistemas acuosos*

En los sistemas acuosos naturales y sintéticos, las partículas coloidales presentan cargas superficiales que determinan su estabilidad en suspensión. Estas interacciones están gobernadas por la teoría DLVO (Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek), la cual establece que la estabilidad coloidal resulta del balance entre las fuerzas de atracción de Van der Waals y las fuerzas de repulsión electrostática. De acuerdo con Liu et al. (2023) el mucílago de *Opuntia ficus-indica* presenta un potencial zeta negativo de aproximadamente −23.63 mV, lo que confirma su naturaleza aniónica y su comportamiento como polielectrolito en medio acuoso.

Este potencial eléctrico se origina por la presencia de grupos funcionales como carboxilos ($-COO^-$) e hidroxilos (-OH), (Salmanzadeh-Jamadi et al., 2024), los cuales se ionizan en solución acuosa, generando una doble capa eléctrica alrededor de las partículas coloidales, (Martínez-Cruz et al., 2021; Otálora, Wilches-Torres, Lara, Cifuentes, et al., 2022b).

2.2.7. *Procesos de coagulación-floculación*

Los procesos de coagulación y floculación son etapas fundamentales en el tratamiento de aguas, especialmente para la remoción de partículas coloidales, metales pesados como el manganeso (Mn) y metaloides como el arsénico (As). Estos procesos según Amiri et al. (2022) permiten la desestabilización de las partículas suspendidas y su posterior aglomeración en flóculos más grandes, facilitando su separación mediante sedimentación o filtración.

2.2.7.1. *Coagulación*

La coagulación es el proceso químico mediante el cual se desestabilizan las partículas coloidales presentes en el agua mediante la adición de coagulantes. Estas partículas suelen presentar carga superficial negativa, lo que genera fuerzas de repulsión electrostática que impiden su agregación natural. Al adicionar coagulantes, generalmente de naturaleza catiónica o polielectrolitos naturales, se neutraliza dicha carga, reduciendo la potencial zeta y permitiendo la interacción entre partículas (Bratby, 2015). Este proceso ocurre en tiempos muy cortos y constituye la etapa inicial para la formación de agregados más grandes llamados microflóculos, los cuales posteriormente serán estabilizados en la etapa de floculación.

2.2.8. *Mecanismos de coagulación*

El proceso de coagulación puede explicarse a través de distintos mecanismos que actúan de manera conjunta dependiendo del tipo de coagulante, la dosis aplicada y la calidad del agua.

2.2.8.1. *Neutralización de carga*

Este mecanismo consiste en la reducción de las fuerzas de repulsión electrostática entre partículas coloidales mediante la adsorción de iones positivos provenientes del

coagulante. Al neutralizarse la carga superficial, las partículas pierden estabilidad y pueden acercarse entre sí para formar agregados (DLVO) (Condori Quilla&Pacohuanaco Chata, 2025).

2.2.8.2. *Puentes de polímeros*

Este mecanismo ocurre cuando se utilizan polímeros de alto peso molecular. Las cadenas poliméricas se adsorben sobre varias partículas simultáneamente, formando "puentes" que conectan los coloides y favorecen la formación de flóculos más resistentes y grandes, (Montero Flores, 2025).

2.2.8.3. *Barrido*

El mecanismo de barrido se produce cuando existe una alta dosis de coagulante, generándose precipitados metálicos (como hidróxidos) que atrapan físicamente las partículas suspendidas durante su formación y sedimentación, actuando como una red de arrastre, (Condori Quilla&Pacohuanaco Chata, 2025).

2.2.8.4. *Floculación*

La floculación es un proceso físico–químico complementario en el cual las partículas ya desestabilizadas durante la coagulación se agrupan para formar flóculos de mayor tamaño y peso, (Condori Quilla&Pacohuanaco Chata, 2025). Esto se logra mediante una agitación lenta que favorece la colisión entre partículas, así como mediante la acción de floculantes poliméricos que facilitan la unión entre ellas (Zaharia et al., 2024). En esta etapa, los flóculos formados adquieren dimensiones suficientes para ser removidos eficientemente por sedimentación o filtración.

2.2.9. *Adsorción de metales pesados*

La adsorción es uno de los mecanismos más eficientes y ampliamente utilizados en la remoción de metales pesados presentes en el agua, debido a su alta capacidad de eliminación, bajo costo operativo y compatibilidad con materiales naturales. Este proceso es especialmente relevante en la eliminación de contaminantes como el manganeso (Mn) y el arsénico (As), los cuales presentan alta toxicidad incluso a bajas concentraciones en sistemas acuáticos (Choque-Quispe et al., 2026a).

2.2.9.1. *Procesos de adsorción*

La adsorción es un fenómeno fisicoquímico en el cual los contaminantes presentes en fase líquida se acumulan en la superficie de un sólido adsorbente. Este proceso ocurre en la interfase sólido–líquido y puede involucrar interacciones físicas débiles (fisisorción) o enlaces químicos más fuertes (quimisorción), dependiendo de la naturaleza del adsorbente y del contaminante. En el tratamiento de aguas, los metales pesados pueden ser retenidos mediante complejación superficial, intercambio iónico o atracción electrostática. La presencia de grupos funcionales como hidroxilos (-OH), carboxilos (-COOH) y aminos ($-NH_2$) en los materiales adsorbentes favorece la formación de complejos estables con iones metálicos, mejorando su remoción del medio acuoso, (Martínez-Cruz et al., 2021; Otálora et al., 2022a).

Estudios recientes destacan que los procesos de adsorción están estrechamente relacionados con los mecanismos de coagulación–floculación, especialmente cuando se utilizan biopolímeros naturales, ya que ambos procesos pueden ocurrir simultáneamente durante la formación de flóculos, (Martínez-Cruz et al., 2021; Otálora et al., 2022).

2.2.10. *Factores influyentes*

La eficiencia del proceso de adsorción depende de diversos factores fisicoquímicos:

- pH del medio: determina la especiación química de los metales y la carga superficial del adsorbente. En el caso del arsénico, su forma química cambia significativamente con el pH, afectando su afinidad por superficies activas.
- Concentración inicial del contaminante: influye en la saturación de los sitios activos del adsorbente.
- Tiempo de contacto: condiciona el equilibrio entre adsorbato y adsorbente.
- Temperatura: puede favorecer o reducir la cinética del proceso dependiendo de su naturaleza endotérmica o exotérmica.
- Área superficial del adsorbente: a mayor porosidad y superficie activa, mayor capacidad de adsorción.

En sistemas basados en materiales naturales, estos factores son especialmente relevantes debido a la heterogeneidad estructural de los biopolímeros (Y. Choque-Quispe et al., 2026).

2.2.11. *Interacción con el mucílago*

El mucílago de *Opuntia ficus-indica* actúa principalmente como biocoagulante-floculante, mediante puenteo polimérico y barrido de flóculo, mecanismos en los que sus grupos carboxilo e hidroxilo favorecen la unión de las partículas en suspensión. La retención directa de iones sobre el polímero se considera complementaria.

Los grupos carboxilo del mucílago solo adquieren carga negativa al desprotonarse (Ec. 1), mientras que los hidroxilos permanecen neutros:

$$R–COOH \rightleftharpoons R–COO^{-} + H^{+} \quad \text{(Ec. 1)}$$

El Mn^{2+}, por ser un catión divalente, puede ser retenido por los grupos carboxilato mediante complejación e intercambio iónico (Ec. 2), lo que concuerda con la participación de los grupos carbonilo, carboxilo e hidroxilo reportada por Vargas-Solano et al. (2022):

$$2\ R–COO^- + Mn^{2+} \rightarrow (R–COO)_2Mn \quad \text{(Ec. 2)}$$

El arsenito de sodio, al disolverse, libera Na^+ y AsO_2^- (Ec. 3). En medio ácido, este se convierte en ácido arsenioso (Ec. 4), un ácido débil con $pKa_1 \approx 9{,}2$ (Ec. 5), por lo que a pH inferior a ese valor el As(III) predomina como H_3AsO_3 neutro y no como anión (Chaudhary et al., 2024).

$$NaAsO_2 \rightarrow Na^+ + AsO_2^- \quad \text{(Ec. 3)}$$

$$AsO_2^- + H^+ + H_2O \rightleftharpoons H_3AsO_3 \quad \text{(Ec. 4)}$$

$$H_3AsO_3 \rightleftharpoons H_2AsO_3^- + H^+,\ pKa_1 \approx 9{,}2 \quad \text{(Ec. 5)}$$

Al carecer de carga, el As(III) ni es atraído ni repelido electrostáticamente por el polímero. Su retención se involucra a través de interacciones débiles, como puentes de hidrógeno con los grupos –OH y –COOH, y su asociación al flóculo formado durante la coagulación.

Su mecanismo de acción incluye principalmente:

- Adsorción superficial: los iones metálicos se fijan en los grupos funcionales del mucílago.
- Intercambio iónico: los cationes como Mn^{2+} pueden reemplazar otros iones presentes en la estructura del biopolímero.
- Formación de puentes poliméricos: que favorecen la captura de partículas contaminantes dentro de la red del flóculo.

- Barrido físico (sweep floc): donde los contaminantes quedan atrapados durante la sedimentación de los flóculos formados, (Otálora et al., 2022).

Además, investigaciones recientes indican que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* puede remover eficientemente contaminantes como turbidez, color y metales pesados, posicionándose como una alternativa sostenible frente a coagulantes químicos tradicionales como el sulfato de aluminio o cloruro férrico (Choque-Quispe et al., 2026a; Martínez-Cruz et al., 2021).

2.2.12. *Ecotoxicología*

La ecotoxicología es la rama de la ciencia que estudia los efectos de los contaminantes químicos y físicos sobre los organismos vivos, especialmente en ecosistemas acuáticos. Su importancia en el tratamiento de aguas radica en que no solo evalúa la remoción de contaminantes, sino también el impacto biológico residual que pueden generar sustancias como el manganeso (Mn), el arsénico (As) y los coagulantes utilizados en los procesos de tratamiento (Martin & McCallum, 2021).

En este contexto, la evaluación ecotoxicológica permite determinar si un agua tratada es realmente segura para el ambiente, analizando respuestas biológicas en organismos modelo representativos de diferentes niveles tróficos

2.2.13. *Ecotoxicidad*

La ecotoxicidad se define como la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos en organismos vivos, alterando procesos fisiológicos, reproductivos o incluso provocando mortalidad. En el caso de metales pesados como el arsénico y el manganeso, estos pueden generar estrés oxidativo, alteraciones enzimáticas y bioacumulación en organismos acuáticos (Schuijt et al., 2021).

2.2.14. *Organismos Biomarcadores*

Los indicadores ecotoxicológicos son parámetros biológicos, fisiológicos o moleculares medidos en organismos expuestos a contaminantes que permiten identificar y cuantificar efectos en la mortalidad, inhibición del crecimiento, alteraciones reproductivas, biomarcadores moleculares como la actividad enzimática o el daño al ADN, (Sykora et al., 2021). En peces cebra, se utilizan biomarcadores como glutatión reductasa y catalasa para evaluar estrés oxidativo y daño celular, (Ribeiro et al., 2020). Estos indicadores nos permiten analizar la presencia y biodisponibilidad de contaminantes en señales biológicas que reflejan el riesgo real para el ecosistema.

Se emplean especies sensibles para evaluar la calidad del agua, entre ellas:

- *Lemna minor*

Es una planta acuática ampliamente utilizada en estudios ecotoxicológicos por su rápida reproducción y sensibilidad a contaminantes. Permite evaluar efectos sobre el crecimiento, biomasa y clorofila. Esta especie es especialmente útil para detectar toxicidad por metales pesados, ya que absorbe directamente contaminantes del agua a través de su superficie, reflejando cambios en su tasa de crecimiento como indicador de estrés ambiental (ISO/DIS 20079., 2004)

- *Daphnia magna*

Es uno de los organismos más utilizados en ecotoxicología acuática. Su alta sensibilidad a contaminantes la convierte en un excelente indicador de toxicidad aguda. Se emplea principalmente para evaluar inmovilidad o mortalidad en periodos cortos de exposición (24–48 horas), lo que permite determinar la concentración letal media (LC50). Es particularmente sensible a metales como As y Mn, así como a residuos de coagulantes químicos (Zhang et al., 2021).

- *Danio rerio*

Es un organismo modelo vertebrado ampliamente utilizado en toxicología ambiental. Su desarrollo embrionario transparente permite observar efectos toxicológicos en etapas tempranas de vida. Se utiliza para evaluar efectos subletales como malformaciones, alteraciones del desarrollo y cambios fisiológicos causados por contaminantes presentes en el agua tratada. Es especialmente relevante en estudios de metales pesados debido a su alta sensibilidad durante la etapa embrionaria (Colijn et al., 2022).

2.2.15. *Toxicidad Aguda y Crónica*

2.2.15.1. *Aguda*

La toxicidad aguda se refiere a los efectos adversos que ocurren tras una exposición corta a altas concentraciones de una sustancia. Generalmente se evalúa en periodos de 24 a 96 horas y se expresa mediante indicadores como la LC50 o EC50. En ecotoxicología acuática, la toxicidad aguda permite identificar rápidamente sustancias peligrosas para organismos como *Daphnia magna* o *Danio rerio*, especialmente frente a metales pesados como arsénico y manganeso (Directrices Para El Ensayo de Productos Químicos | OCDE, 2025).

2.2.15.2. *Crónica*

La toxicidad crónica se produce por exposiciones prolongadas a bajas concentraciones de contaminantes. Este tipo de toxicidad puede generar efectos acumulativos como inhibición del crecimiento, alteraciones reproductivas y daños genéticos. Organismos como *Lemna minor* y *Danio rerio* son comúnmente utilizados para evaluar estos efectos a largo plazo, permitiendo determinar impactos subletales que no son visibles en pruebas agudas (Newman, 2021; ISO 20079:2021).

2.3. Marco legal

En el Perú, la Ley N.º 28611 (2005) establece el marco normativo para la protección del ambiente, promoviendo el uso sostenible de los recursos naturales y la aplicación de tecnologías limpias. Esta ley respalda el uso de alternativas ecológicas como el mucílago de *Opuntia ficus-indica* en el tratamiento de aguas contaminadas, al fomentar soluciones que reduzcan el impacto ambiental. Por otro lado, la Ley N.º 29338 (2009) Ley de los Recursos Hídricos, la cual regula el uso y la gestión integrada del agua superficial, subterránea, continental y bienes asociados con la finalidad de articular la actuación del Estado y los particulares en su prevención. Además, La Ley N° 31075 ratifica a la ANA como el organismo oficial adscrito al MIDAGRI y mantiene vigentes sus facultades legales para dictar normas y procedimientos sobre el agua.

Por su parte, el artículo 3 de la Ley N° 29338 declara de interés nacional la gestión del agua, exigiendo que el manejo de cuencas y acuíferos sea eficiente y sostenible para garantizar su conservación y calidad.

En el ámbito técnico y metodológico, la NTP ISO 5667-16 proporciona lineamientos para la realización de ensayos biológicos en agua, asegurando la validez de los resultados en estudios de toxicidad. Asimismo, las OECD Guidelines for the Testing of Chemicals establecen protocolos estandarizados para evaluar la toxicidad en organismos acuáticos, mientras que los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, (2026) garantizan que los ensayos sean confiables, reproducibles y trazables.

La guía 202 OECD, (2004), establece el ensayo de inmovilización en *Daphnia magna*, el cual permite determinar la toxicidad aguda mediante la evaluación de la incapacidad de movimiento de los organismos expuestos durante un periodo corto. Este método es

altamente sensible y se utiliza como indicador temprano de contaminación en medios acuáticos.

Por su parte, la guía 221 OECD, (2006) regula el ensayo de inhibición del crecimiento en *Lemna minor*, basado en la evaluación de la tasa de crecimiento de esta planta acuática en presencia de contaminantes. Este ensayo permite identificar efectos subletales asociados a la exposición a sustancias tóxicas, siendo relevante para evaluar el impacto sobre organismos fotosintéticos.

Asimismo, la guía 203 OCDE, (2025) establece el ensayo de toxicidad aguda en peces, el cual se fundamenta en la determinación de la mortalidad de los organismos expuestos durante un periodo de hasta 96 horas, así como en la observación de alteraciones comportamentales. Este ensayo es fundamental para evaluar el impacto de contaminantes en niveles tróficos superiores.

Es así que, a nivel internacional, las directrices de la Organización Mundial de la Salud establecen parámetros de calidad del agua que sirven como referencia global para la evaluación de contaminantes, complementadas por los lineamientos de la United States Environmental Protection Agency, que proporcionan criterios científicos para la interpretación de resultados toxicológicos y la determinación de riesgos en organismos vivos

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de investigación

La presente investigación adopta un enfoque cuantitativo, de tipo aplicada y de nivel explicativo, ya que busca evaluar experimentalmente la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante-floculante en la remoción de metales pesados (Mn y As) en aguas sintéticas que simulan condiciones de contaminación presentes en la región de Arequipa. Este tipo de investigación se orienta a la solución de problemas ambientales concretos, específicamente la necesidad de alternativas sostenibles frente al uso de coagulantes químicos convencionales, en concordancia con lo señalado por Roberto Hernández Sampieri et al. (1991), quienes definen la investigación aplicada como aquella que busca resolver problemas prácticos mediante la generación de conocimiento científico.

El estudio presenta un diseño experimental de tipo pretest-postest, en el cual se analiza la calidad del agua antes y después del tratamiento, permitiendo comparar los efectos del mucílago en diferentes concentraciones. Asimismo, los bioensayos ecotoxicológicos con *Daphnia magna, Lemna minor* y *Danio rerio* se realizarán bajo un diseño completamente aleatorizado (DCA), considerando como tratamientos el control y las concentraciones de exposición del 25 %, 50 % y 100 % del sobrenadante tratado, con sus respectivas réplicas experimentales, siguiendo los principios de diseño experimental descritos por Gupta et al. (2026) y Snedecor (1989).

3.2. Metodología de la investigación

3.2.1. Preparación de metales para aguas sintéticas

Las soluciones sintéticas contaminadas se elaboraron a partir de arsenito de sodio ($NaAsO_2$) y sulfato de manganeso monohidratado ($MnSO_4 \cdot H_2O$). Para ello, se elaboraron soluciones madre (stock) de cada compuesto a una concentración de 1000 mg/L.

Posteriormente, mediante diluciones de las soluciones stock, se obtuvieron dos niveles de contaminantes para los ensayos experimentales: un nivel bajo, con concentraciones de 0.02 mg/L de arsénico (As) y 0.6 mg/L de manganeso (Mn), y un nivel alto, con concentraciones de 0.06 mg/L de arsénico y 2.0 mg/L de manganeso, valores establecidos como escenarios experimentales de contaminación baja y alta, tomando como referencia información reportada por el ANA (2021) para la cuenca Quilca – Chili (PIRS 2024), con la finalidad de simular condiciones de contaminación metálica en laboratorio.

Para conocer y llegar a las concentraciones iniciales de arsénico y manganeso se realizó el cálculo del porcentaje presente en las sales analíticas siendo el siguiente:

Manganeso – desde sulfato de manganeso ($MnSO_4 \cdot H_2O$)

Pesos atómicos:

- Mn = 54.94 g/mol
- S = 32.06 g/mol
- O_4 = 64 g/mol
- H_2O = 18 g/mol

Peso molecular $MnSO_4 \cdot H_2O$:

$$54.94_{\frac{g}{mol}} + 32.06_{\frac{g}{mol}} + 64_{\frac{g}{mol}} + 18_{\frac{g}{mol}}$$

$$peso\ molecular\ total = 169.00_{g/mol}$$

Fracción de Mn en $MnSO_4 \cdot H_2O$:

$$\frac{54.94_{g/mol}}{169.00_{g/mol}} * 100$$

$$= 32.51\%$$

Debido a que el manganeso representa el 32.51 % de la masa molecular del sulfato de manganeso monohidratado ($MnSO_4 \cdot H_2O$), se calculó la masa requerida de la sal para preparar una solución stock de 1000 mg/L de Mn.

Arsénico – desde arsenito de sodio ($NaAsO_2$)

$$\frac{1_g}{0.3251_{g/mol}}$$

$$= 3.076_g$$

Peso molecular $MnSO_4 \cdot H_2O$:

- Pesos atómicos:
- Na = 22.99
- As = 74.92
- O_2 = 32

$$22.99_{\frac{g}{mol}} + 74.92_{\frac{g}{mol}} + 32_{\frac{g}{mol}}$$

$$peso\ molecular\ total = 129.91_{g/mol}$$

Fracción de arsénico:

$$\frac{74.92_{g/mol}}{129.91_{g/mol}}$$

$$= 0.576_g$$

Debido a que el arsénico representa el 57.6 % de la masa molecular del arsenito de sodio ($NaAsO_2$), se calculó la masa requerida de la sal para preparar una solución stock de 1000 mg/L de As.

$$\frac{1_g}{0.576_{g/mol}}$$

$$= 1.736_g$$

Entonces se pesaron 3.076 g de sulfato de manganeso monohidratado ($MnSO_4 \cdot H_2O$) y 1.736 g de arsenito de sodio ($NaAsO_2$), en una balanza analítica (RADWAG-AS220.R2) sobre una luna de reloj, los cuales se vertieron en una fiola de vidrio de 1 L respectivamente y adicionó agua destilada hasta diluir la sal, acto seguido se enrasara la fiola ajustando el menisco con la línea de aforo para su posterior almacenamiento en botellas ámbar de 1 L respectivamente rotuladas, en el cuarto de frio del laboratorio E - 405, hasta su uso en los ensayos experimentales.

3.2.2. Preparación de turbidez sintética

Siguiendo el protocolo descrito por el procedimiento validado para el estudio, se preparó una solución de turbidez sintética utilizando caolín como material generador de partículas en suspensión, debido a que este mineral presenta composición estable, tamaño de partícula fino y comportamiento coloidal similar al de los sólidos suspendidos presentes en aguas naturales, (Avornyo et al., 2024).

Se pesaron 5 g de caolín de la marca Merck en una balanza analítica marca RADWAG-AS220.R2, y se adicionaron en un balde de plástico de 10 L de agua destilada, obteniéndose una concentración inicial de 0,5 g/L reportada como adecuada para generar suspensiones con turbidez, (Y. Li et al., 2024). Dicha mezcla fue sometida a agitación constante durante 1 hora en un agitador magnético marca VWR 984VW4CH SEUS, con la finalidad de dispersar homogéneamente las partículas de caolín, (Shahzadi et al., 2024).

Posteriormente, se dejó reposar durante 24 horas para permitir la hidratación y estabilización del sistema coloidal (Figura 1), reduciendo variaciones en la turbidez inicial de los ensayos. Culminado el tiempo de reposo se medió la turbidez cada 5 minutos durante 90 minutos, en un turbidímetro marca HACH-TL2300, para encontrar el punto de estabilidad y

asegurar que las diferencias observadas en la remoción de turbidez se atribuyan exclusivamente al efecto del coagulante evaluado, (Avornyo et al., 2024).

Figura 1. *Esquema del procedimiento de preparación de agua sintética turbia.*



3.2.3. Preparación de las muestras experimentales

3.2.3.1. *Preparación de muestras (cóctel de metales)*

A partir de la solución Stock de 1000 mg/L que definimos antes de las dos sales, se calcularon los volúmenes en microlitros de As y Mn de la siguiente manera:

Para el cóctel de nivel bajo en un volumen de 500 mL:

Objetivo:

- As = 0.02 mg/L
- Mn = 0.6 mg/L

Volumen final para 500 mL = 0.5 L

Cálculo:

- Arsénico

$$0.02mg/L\ x\ 0.5L = 0.01mg$$

El stock es 1 mg/mL:

$$0.01mg = 0.01mL = 10\mu L$$

$$0.6_{mg/L} * 0.5_L = 0.3_{mg}$$

- Manganeso

$$0.6_{mg/L} * 0.5_L = 0.3_{mg}$$

$$0.3_{mg} = 0.3_{mL} = 300_{uL}$$

Para el nivel bajo se dosificaron 10 uL de As en beakers de 500 mL mediante una micropipeta de volumen variable (10-300 µL). Asimismo, se adicionaron 300 µL de manganeso empleando una micropipeta variable de (100-1000 µL). En ambos casos se utilizó instrumentos marca BRAND modelo Transferpette pro, asegurando la exactitud volumétrica requerida.

Para el cóctel nivel alto en un volumen de 500mL:

Objetivo:

- As = 0.06 mg/L
- Mn =2.0 mg/L

  Volumen final para 500mL = 0.5L

Calculo

- Arsénico

$$0.06_{mg/L} * 0.5_L = 0.03_{mg}$$

$$0.03_{mg} = 0.03_{mL} = 30_{uL}$$

- Manganeso

$$2.0_{mg/L} * 0.5_{L} = 1.0_{mg}$$

$$1.0_{mg} = 1.0_{mL} = 1000_{uL}$$

En cuanto al nivel alto, se adicionó 30 µL de As en beakers de 500 mL utilizando una micropipeta de volumen variable de 10-300 µL. De igual manera, se dosificaron 1000 µL de Mn empleando una micropipeta de 100-1000 µL. De la misma manera en ambos procedimientos se utilizaron instrumentos marca BRAND modelo Transferpette pro, asegurando la exactitud volumétrica requerida.

Tras la adición de los metales en ambos niveles (bajo y alto), se incorporaron 460 mL de agua sintética turbia previamente preparada. Para asegurar la precisión del volumen, se utilizaron probetas de vidrio debidamente graduadas

3.2.4. Caracterización fisicoquímica del efluente

Tras la preparación del agua sintética contaminada, se realizó la caracterización fisicoquímica inicial del influente mediante la determinación del pH y la turbidez, parámetros fundamentales para establecer las condiciones de partida del sistema y evaluar posteriormente la eficiencia del proceso de coagulación-floculación.

El pH será medido utilizando un multiparámetro ISOLAB previamente calibrado con soluciones buffer estándar de pH 4,00; 7,00 y 10,00 para garantizar la exactitud y confiabilidad de las mediciones, dado que el pH influye directamente en la especiación química de los metales y en el desempeño del coagulante natural (Vargas-Solano et al., 2022c). Antes de cada medición, el electrodo fue enjuagado con agua destilada para evitar contaminación cruzada entre muestras y asegurar lecturas reproducibles. Posteriormente, el electrodo se introdujo en cada beaker con agua sintética hasta obtener un valor estable, el cual fue registrado en las hojas de control correspondientes, (Baatache et al., 2025).

Simultáneamente se determinó la turbidez utilizando un turbidímetro marca HACH-TL2300, previamente calibrado con cinco estándares de turbidez trazables. Para este procedimiento se extrajo una alícuota del agua sintética hasta llenar la línea de enrase de la celda de muestra; posteriormente, esta se colocó en el equipo para anotar el nivel de turbidez inicial, siguiendo el protocolo establecido por Otálora, Wilches-Torres, Lara, Gómez Castaño, et al. (2022c).

3.2.5. Extracción del mucílago de *Opuntia ficus-indica*

Para la elaboración del coagulante natural, se recolectaron diez (10) cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica*), con una edad promedio entre tres y cuatro meses, seleccionados en función de su estado de madurez fisiológica y condiciones físicas adecuadas, tales como ausencia de daños mecánicos, enfermedades o deshidratación.

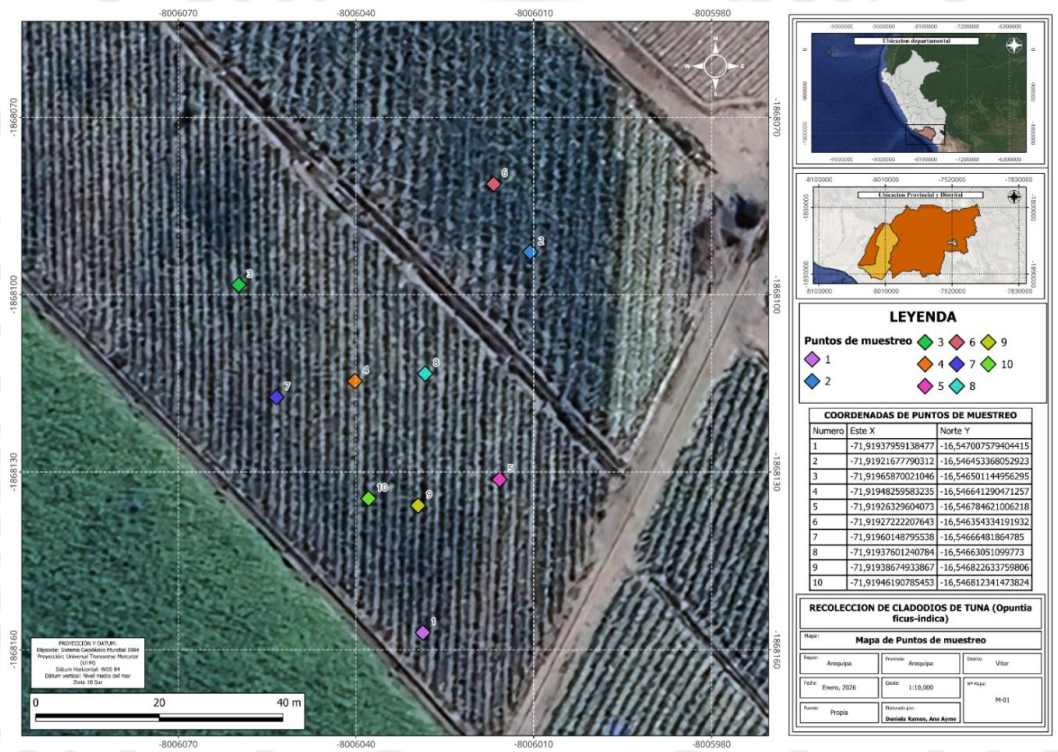
La selección de cladodios en este rango de edad se fundamenta en que presentan un mayor contenido de mucílago y una composición polisacarídica óptima para procesos de coagulación, tal como lo reportan, (Carmen Fernández-Martínez et al., 2024; Chávez Vásquez & Cholán Minchán, 2018) quienes señalan que la madurez del cladodio influye directamente en el rendimiento y calidad del mucílago extraído.

3.2.5.1. *Lugar de procedencia*

Los cladodios se obtuvieron del sector de La Joya, Arequipa en el mes de enero zona caracterizada por la disponibilidad de este residuo agrícola (Figura 2), esta zona como lo indican Solange et al. (2022), presentan amplias áreas de cultivo de *Opuntia ficus-indica*, asociadas principalmente a sistemas de producción agroindustrial y aprovechamiento de biomasa vegetal, así como a la producción de cochinilla, lo que la convierte en un punto representativo para la obtención de materia prima vegetal en estudios ambientales y biotecnológicos.

La recolección se realizó mediante el uso de un instrumento cortante, efectuando un corte en la base del cladodio para evitar daños estructurales en el tejido vegetal, así mismo, durante el proceso se emplearon guantes para prevenir la contaminación del material. Posteriormente transportadas en condiciones adecuadas, evitando su deterioro, hasta el laboratorio multidisciplinario E – 405 de la UCSM

Figura 2. *Mapa de puntos de muestreo.*



3.2.5.2. *Limpieza y acondicionamiento del material*

Los cladodios recolectados fueron lavados con agua de grifo en el laboratorio multidisciplinario E - 405 de la UCSM con la finalidad de eliminar impurezas superficiales, polvo y material adherido. Posteriormente, mediante el uso de un instrumento cortante previamente desinfectado, se procedió a la remoción de espinas y al pelado manual del cladodio, realizando un corte horizontal cuidadoso para retirar la epidermis y obtener el parénquima medular.

Seguidamente, el tejido vegetal fue seccionado en cubos uniformes de 1 cm^3 utilizando un cuchillo estéril, con el objetivo de homogenizar el material y facilitar la posterior extracción del mucílago. Esta reducción de tamaño permitió incrementar el área de contacto del tejido vegetal, optimizando la liberación de polisacáridos solubles durante el proceso de maceración, tal como lo reportan (Chávez Vásquez & Cholán Minchán, 2018), se almacenaron en recipientes, (Figura 3).

Figura 3. *Esquema de obtención de cladodios de Opuntia ficus-indica para la extracción de mucílago.*



3.2.5.3. <u>*Obtención del coagulante natural (mucílago)*</u>

En recipientes tipo beaker de 500 mL se prepararon cubos de cladodios de *Opuntia ficus-indica* de aproximadamente 1 cm^3, los cuales fueron pesados utilizando una balanza de precisión marca Precisa, donde se emplearon 400 g y 560 g de material vegetal para cada extracción, respectivamente.

Posteriormente, Se prepararon dos proporciones de extracción del mucílago de *Opuntia ficus-indica*. Para el primer tratamiento se utilizaron 400 g de parénquima fresco y 400 mL de agua, mientras que para el segundo se emplearon 560 g de parénquima fresco y

240 mL de agua. Estas condiciones fueron denominadas experimentalmente como extracto 50 y extracto 70, respectivamente, de acuerdo con la proporción de parénquima respecto a la masa total aproximada de la mezcla de extracción, considerando una densidad del agua cercana a 1 g/mL. En ambos casos, el material vegetal fue previamente cortado en cubos de aproximadamente 1 cm^3, posteriormente macerado durante 48 horas y filtrado manualmente mediante gasa. La fracción líquida obtenida fue utilizada directamente como extracto acuoso en los ensayos de coagulación-floculación.

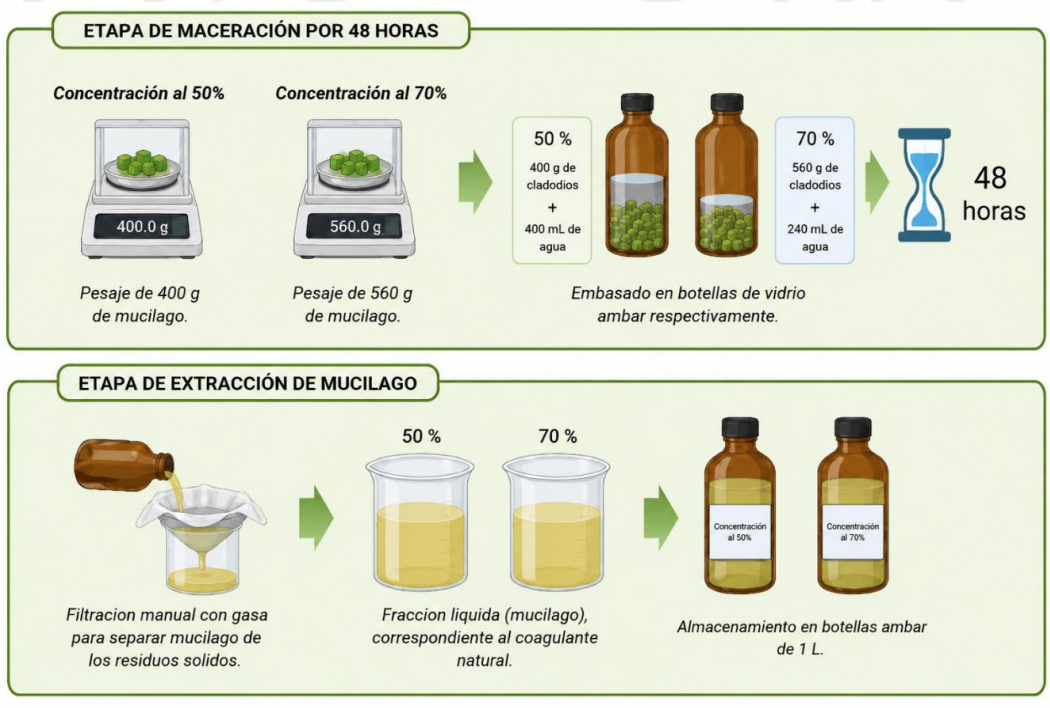
La selección de estas concentraciones se fundamenta en la adaptación metodológica del estudio de Chávez Vásquez&Cholán Minchán (2018), donde se evidenció la eficacia del mucílago en la remoción de contaminantes en diferentes condiciones de preparación. Sin embargo, en dicho estudio se evaluaron múltiples rangos de concentración, en el presente trabajo, se optó por estandarizar dos concentraciones representativas con el fin de reducir la dispersión experimental y definir condiciones óptimas de extracción para aplicaciones posteriores, manteniendo la capacidad funcional del biopolímero como agente coagulante–floculante en estos dos sistemas acuosos diferenciados, (Mukaila et al., 2025c).

Para la extracción al 50, se colocaron 400 g de parénquima en botellas ámbar de 1 L, (Quintero-García et al., 2021), adicionando 400 mL de agua de grifo. Para la extracción al 70, se emplearon 560 g de parénquima y 240 mL de agua de grifo.

Ambas soluciones permanecieron en maceración durante 48 horas siendo un tiempo intermedio equilibrado para extracción y estabilidad del mucílago, determinado en base a Van Rooyen et al. (2024), donde se evidencia que periodos entre 24 y 72 horas permiten una mayor liberación de polisacáridos hidrosolubles mediante procesos de hidratación progresiva y ruptura parcial de la pared celular, incrementando el rendimiento del biopolímero sin requerir tratamientos térmicos que puedan degradar su estructura funcional.

Pasado el tiempo de maceración se retiró de la botella ámbar el material formado y filtró manualmente con una gasa en donde se separó la fracción líquida (mucílago) de los residuos sólidos, obteniéndose el extracto acuoso utilizado como coagulante natural, el cual verteremos en botellas ámbar de 1 L para su almacenamiento y posterior aplicación (Chávez Vásquez&Cholán Minchán, 2018).

Figura 4. *Esquema de recolección y procesamiento de cladodios de Opuntia ficus-indica.*



a

e coagulación y floculación

Una vez obtenido el coagulante natural (mucílago de *Opuntia ficus-indica*) y preparada el agua sintética contaminada, se llevó a cabo el proceso de coagulación-floculación mediante ensayos de jarras (Jar Test), considerando como variables principales la condición de preparación del extracto acuoso y el nivel de contaminación del cóctel metálico, para ello se elaboró un cuadro con los factores experimentales y sus respectivos niveles se presentan en la (Tabla 5) en la cual se tuvo referencias de investigaciones similares a la de Koul et al. (2022) así como la distribución de las unidades experimentales (Tabla 6).

Siguiendo la metodología propuesta por Chávez Vásquez&Cholán Minchán (2018), se estableció una dosis de extracto acuoso equivalente al 8 % (v/v) del volumen total de la muestra, equivalente a 40 mL de dosis de mucílago por cada 500 mL de volumen de trabajo, porcentaje seleccionado a partir de pruebas preliminares y reportado como una dosificación efectiva para favorecer la interacción entre los polisacáridos del mucílago y las partículas suspendidas y especies metálicas presentes en el agua, (Figura 5).

Tabla 5. *Factores experimentales del estudio.*

Factor	Nombre	Unidad	Nivel bajo	Nivel alto
A	Condición de preparación del extracto acuoso	g de parénquima fresco/mL de agua	400/400	560/240
B	Nivel del cóctel metálico As–Mn	mg/L	As 0.02 + Mn 0.6	As 0.06 + Mn 2.0

Nota: La dosis de extracto acuoso aplicada fue constante en todos los tratamientos, equivalente al 8 % (v/v), correspondiente a 40 mL de extracto por cada 500 mL de muestra. El volumen de trabajo fue de 500 mL y se consideraron dos réplicas por tratamiento. Los niveles denominados extracto 50 y extracto 70 corresponden a las condiciones de preparación del extracto acuoso, empleando 400 g de parénquima fresco y 400 mL de agua, y 560 g de parénquima fresco y 240 mL de agua, respectivamente.

Tabla 6. *Unidades experimentales del diseño.*

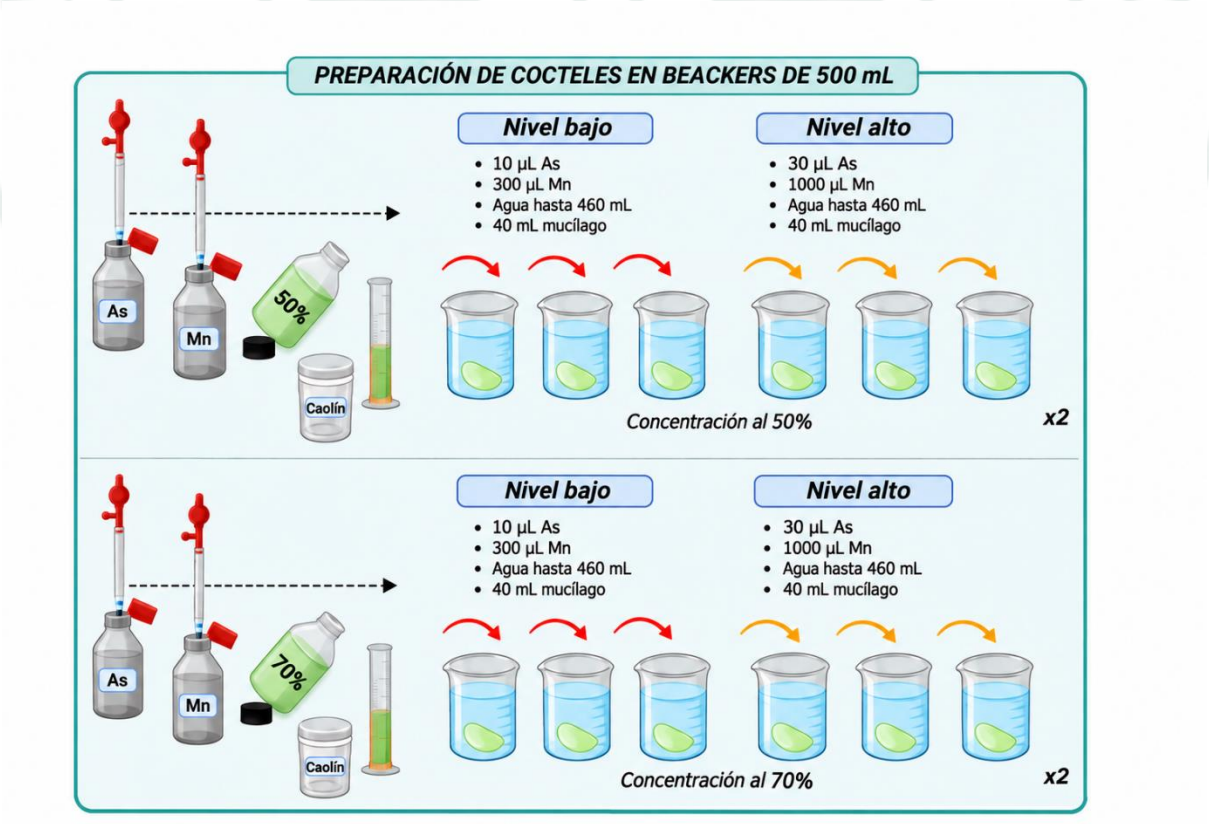
Tratamiento	Mucílago	Nivel de cóctel	Réplica	Volumen de trabajo	Stock As	Stock Mn	Volumen de mucílago	Volumen de cóctel
T1	Extracto 50	Bajo	R1	500 mL	10 µL	300 µL	40 mL	368 mL

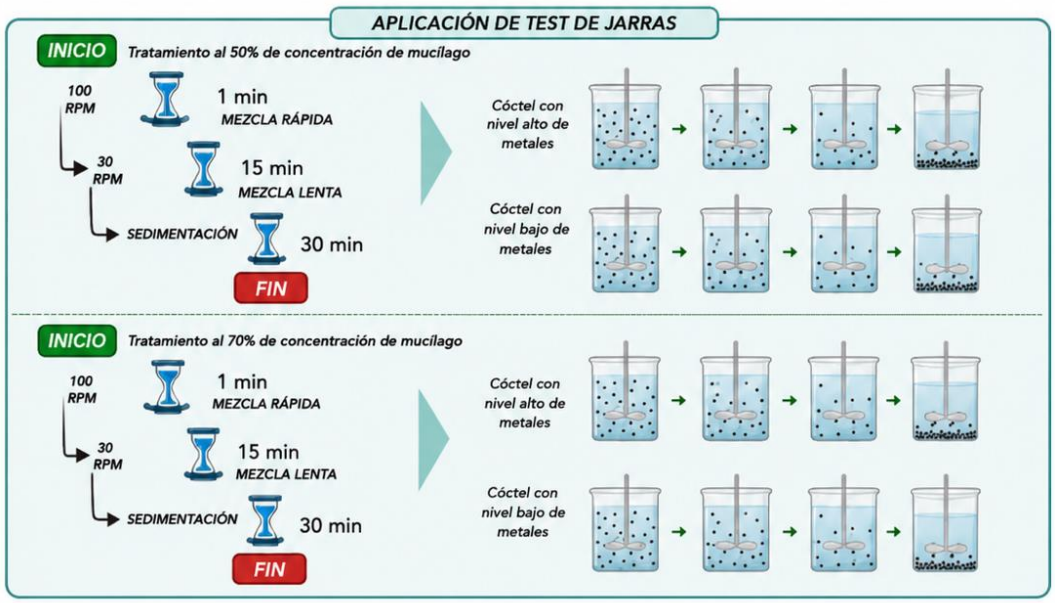
T1	Extracto 50	Bajo	R2	500 mL	10 µL	300 µL	40 mL	368 mL
T1	Extracto 50	Bajo	R3	500 mL	10 µL	300 µL	40 mL	368 mL
T2	Extracto 50	Alto	R1	500 mL	30 µL	1000 µL	40 mL	368 mL
T2	Extracto 50	Alto	R2	500 mL	30 µL	1000 µL	40 mL	368 mL
T2	Extracto 50	Alto	R3	500 mL	30 µL	1000 µL	40 mL	368 mL
T3	Extracto 70	Bajo	R1	500 mL	10 µL	300 µL	40 mL	368 mL
T3	Extracto 70	Bajo	R2	500 mL	10 µL	300 µL	40 mL	368 mL
T3	Extracto 70	Bajo	R3	500 mL	10 µL	300 µL	40 mL	368 mL
T4	Extracto 70	Alto	R1	500 mL	30 µL	1000 µL	40 mL	368 mL
T4	Extracto 70	Alto	R2	500 mL	30 µL	1000 µL	40 mL	368 mL
T4	Extracto 70	Alto	R3	500 mL	30 µL	1000 µL	40 mL	368 mL

Figura 5. *Esquema de la prueba de jarras para los procesos de coagulación y floculación.*

Una vez establecidos los factores y niveles, se trabajó un diseño experimental multifactorial 2×2×3, considerando como factores el nivel de cóctel contaminante y la dosis de mucílago, con el objetivo de evaluar su efecto sobre la variable de respuesta “Remoción de metales”. Este diseño permitió analizar la interacción entre los factores sin incrementar innecesariamente el número de ensayos, optimizando así tiempo y recursos.

El Factor A (condición de preparación del extracto acuoso) se evaluó en dos niveles, correspondientes al extracto 50 y al extracto 70. Por su parte, el Factor B (nivel del cóctel metálico) se evaluó en dos niveles: bajo, correspondiente a As (0.02 mg/L) + Mn (0.6 mg/L), y alto, correspondiente a As (0.06 mg/L) + Mn (2.0 mg/L). Cada tratamiento fue realizado por triplicado con la finalidad de garantizar la precisión y exactitud de los resultados experimentales. En total, se desarrollaron 8 unidades experimentales (Jar Test), producto de la combinación de los niveles de ambos factores y sus respectivas réplicas.





3.2.6. Análisis de metales por ICP-OES

Con el objetivo de cuantificar la concentración de metales disueltos, las muestras fueron sometidas a análisis mediante espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), realizados en el laboratorio ALAB, laboratorio certificado por el Instituto Nacional de Calidad (INACAL). Las muestras fueron filtradas previamente a través de membranas de 0,45 µm mediante filtración al vacío utilizando una bomba de vacío ISOLAB, donde se separó la fracción disuelta de los metales y eliminar partículas en suspensión que puedan interferir con la medición, por requerimiento de ALAB.

3.2.7. Selección del tratamiento para bioensayos ecotoxicológicos

Una vez obtenidos los resultados fisicoquímicos e ICP-OES de los tratamientos evaluados mediante prueba de jarras, se seleccionó el tratamiento (% de mucílago) que presentó la mayor eficiencia de remoción simultánea de arsénico (As) y manganeso (Mn) y la reproducibilidad de los resultados entre réplicas.

El sobrenadante proveniente del tratamiento seleccionado fue utilizado como medio de prueba para los bioensayos ecotoxicológicos con *Daphnia magna, Lemna minor y Danio rerio*. A partir de dicho sobrenadante se prepararon las concentraciones de exposición de 100 %, 50 % y 25 %, utilizando agua declorinada como diluyente, además de un grupo control constituido únicamente por agua declorinada.

La selección de un único tratamiento permitió evaluar la toxicidad residual del efluente tratado bajo las condiciones más eficientes de coagulación-floculación obtenidas

experimentalmente, determinando si la remoción fisicoquímica de los contaminantes se traduce en una disminución efectiva del riesgo ecotoxicológico para organismos acuáticos no destinatarios de diferentes niveles tróficos.

Ajuste de pH del agua tratada

Previo a la realización de los bioensayos ecotoxicológicos, el sobrenadante obtenido del tratamiento de coagulación-floculación con mucílago de *Opuntia ficus-indica* fue sometido a un ajuste de pH hasta alcanzar un valor de 7,0. Este procedimiento se realizó con la finalidad de establecer condiciones de pH controladas para la exposición de los organismos y evitar que posibles variaciones de este parámetro influyeran en las respuestas ecotoxicológicas observadas. Para ello, se utilizó una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a 1 N, adicionada gradualmente hasta alcanzar el valor establecido, verificándose mediante un multiparámetro ISOLAB. Posteriormente, el agua acondicionada fue utilizada para preparar las concentraciones de exposición del 100 %, 50 % y 25 %, empleando agua declorinada como diluyente, para los bioensayos con *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*.

3.2.8. Evaluaciones ecotoxicológicas

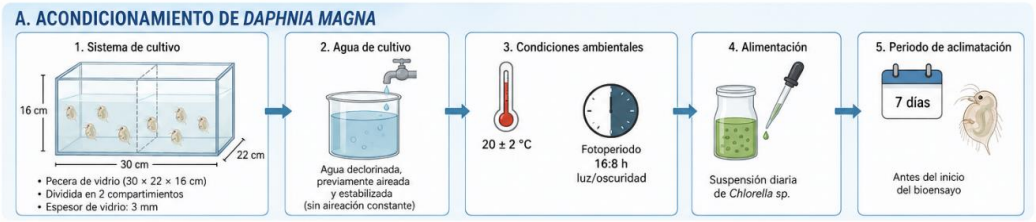
3.2.8.1. *Acondicionamiento de organismos*

Antes de la exposición a los tratamientos experimentales, se realizó el acondicionamiento de los organismos modelo en el Laboratorio Multidisciplinario de la UCSM, específicamente en el laboratorio E-405 bajo condiciones ambientales controladas que aseguraron la estabilidad biológica de los organismos antes del inicio de los bioensayos eco toxicológicos.

En primer lugar, los organismos *Daphnia magna* (pulga de agua), de acuerdo con la guía 202 OECD (2004), *Daphnia sp*. Acute Immobilisation Test, fueron mantenidos en un sistema de cultivo dentro de una pecera de vidrio de 30cm de largo, 22 cm de ancho y 16 cm de alto, con un espesor de vidrio de 3 mm, dividida internamente en dos compartimientos de 15 cm cada uno, donde fueron separados por grupos experimentales. Los organismos fueron mantenidos en agua declorinada, previamente aireada y estabilizada, sin aireación mecánica constante, evitando corrientes fuertes que puedan generar estrés fisiológico. La temperatura de mantenimiento se mantuvo en 20 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo controlado de 16:8 horas

luz/oscuridad, con alimentación diaria mediante suspensión de *Chlorella sp.* en concentraciones adecuadas (Figura 6).

Figura 6. *Esquema del proceso de aclimatación de Daphnia magna (pulga de agua).*



En segundo lugar, *Lemna minor* (lenteja de agua), según la guía 221 OECD (2006), *Lemna sp*. Growth Inhibition Test, fue acondicionada una bandeja plástica con agua declorinada y previamente esterilizadas con alcohol al 70%. Las bandejas fueron mantenidas bajo iluminación controlada mediante foco LED de 10–20 W, asegurando una intensidad lumínica homogénea, con fotoperiodo de 16:8 horas de luz/oscuridad y temperatura ambiente estable. Las bandejas fueron ubicadas en un área libre de contaminación directa, permitiendo un crecimiento uniforme de las frondas. Se realizaron monitoreos periódicos de la densidad de frondas y su estado fisiológico durante un periodo de aclimatación de 7 días antes del inicio del bioensayo (Figura 7).

Figura 7. *Esquema del proceso de aclimatación de Lemna minor (lenteja de agua).*



Finalmente, juveniles macho de *Danio rerio* (pez cebra), conforme a la guía OCDE 203, (2025) Fish, Acute Toxicity Test, fueron acondicionados en un total de 56 individuos distribuidos en acuarios de vidrio de 30 cm × 22 cm × 16 cm, con espesor de 3 mm, divididos internamente en dos compartimientos de 15 cm cada uno para la separación de grupos

experimentales. El sistema se mantuvo con aireación continua mediante bombas de oxígeno y piedras difusoras, además de un sistema de calentamiento controlado mediante termostato sumergible de 25 W, manteniendo la temperatura entre 24–26 °C. El agua declorinada fue renovada parcialmente cada 48 horas para garantizar su calidad y estabilidad fisicoquímica, evitando la acumulación de metabolitos.

Durante el periodo de aclimatación, comprendido por 7 días, los organismos fueron alimentados de forma controlada con *Artemia* sp., previamente mantenida en un sistema independiente bajo condiciones similares de agua y aireación. La alimentación se realizó de manera individualizada, administrando aproximadamente una *Artemia* por pez, utilizando pipetas Pasteur de plástico para su dosificación, con el fin de evitar el exceso de materia orgánica en el sistema, (Calisi, 2023). El fotoperiodo se mantuvo en condiciones controladas de 12:12 horas luz/oscuridad, asegurando la estabilidad ambiental del sistema experimental previo al inicio de los bioensayos ecotoxicológicos. (Figura 8).

Figura 8. *Esquema del proceso de aclimatación de Danio rerio (pez cebra).*



Todos los organismos fueron sometidos a este periodo con la finalidad de reducir el estrés por manipulación y adaptación al ambiente experimental, garantizando la confiabilidad, reproducibilidad y validez de los resultados que se obtuvieron.

3.2.8.2. *Ensayos ecotoxicológicos*

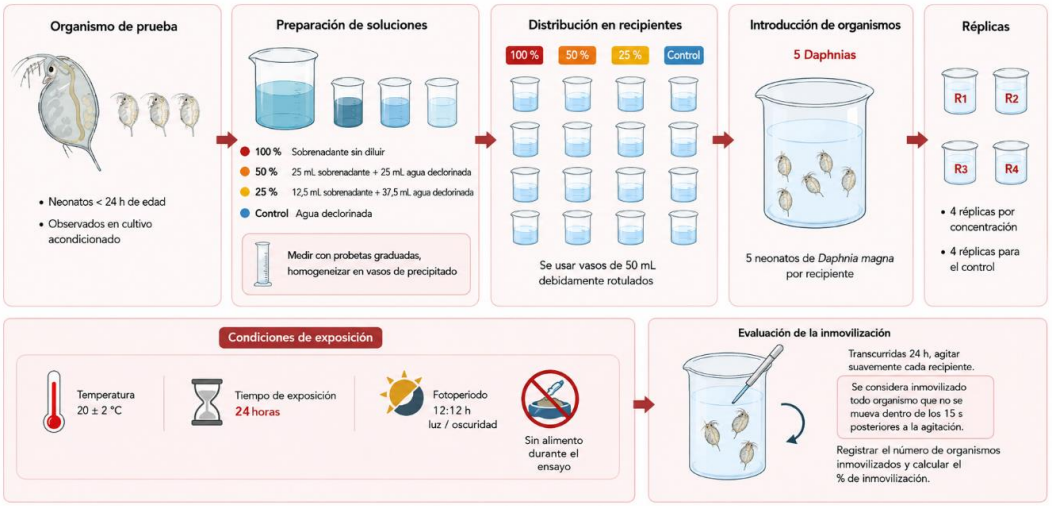
- Ensayo de inmovilización de *Daphnia magna*

El bioensayo de inmovilización de *Daphnia magna* que se realizó fue agudo de corta duración basado en metodologías estandarizadas (ISO 6341; OECD 202) y en el enfoque experimental de microescala propuesto por Park et al. (2023), quienes emplean diluciones de muestras de aguas residuales para la evaluación rápida de toxicidad.

Se utilizaron para ello neonatos de *Daphnia magna* (< 24 horas de edad) previamente acondicionados en laboratorio. El ensayo se desarrolló en recipientes de plástico con capacidad para 50 mL de solución sobrenadante, mediante concentraciones de exposición que se prepararon a partir de la solución sobrenadante en tres niveles: 100% de sobrenadante, correspondiente a la muestra sin dilución; 50%, preparada mediante la mezcla de 25 mL de solución sobrenadante con 25 mL de agua declorinada; y 25%, obtenida a partir de 12.5 mL de solución sobrenadante con 37.5 mL de agua declorinada. Estas soluciones fueron medidas con probetas graduadas de vidrio, homogenizadas en vasos de precipitado y posteriormente distribuidas en los recipientes de ensayo debidamente rotulados.

Cada tratamiento contó con cuatro réplicas por concentración, incluyendo un grupo control constituido por cuatro recipientes adicionales que contenían únicamente agua declorinada. Las condiciones de exposición se mantuvieron a una temperatura de 20 ± 2 °C y un fotoperiodo de 12:12 horas luz/oscuridad, sin suministro de alimento durante el periodo experimental, siguiendo el diseño de exposición aguda descrito por Park et al. (2023). En cada unidad experimental se introdujeron cinco neonatos de *Daphnia magna* por réplica, los cuales fueron expuestos a las diferentes concentraciones previamente preparadas. El periodo de exposición tuvo una duración de 24 horas. Al finalizar dicho periodo, se registró el número de organismos inmovilizados en cada unidad experimental. Se consideró inmovilizado todo individuo incapaz de nadar o desplazarse dentro de los 15 segundos posteriores a una ligera agitación del recipiente, aun cuando presente movimientos de las antenas u otras estructuras corporales, (Figura 9).

Figura 9. *Esquema del ensayo de inmovilización aguda de Daphnia magna.*



Los resultados fueron expresados como porcentaje de inmovilización por concentración evaluada, permitiendo estimar el efecto tóxico del medio de prueba.

- Ensayo de ecotoxicidad en *Lemna minor*

El bioensayo con *Lemna minor* fue de corta duración basado en metodologías ISO 20079, con adaptaciones de microescala en condiciones de cultivo controlado, siguiendo el enfoque propuesto Park et al. (2023), quienes emplean volúmenes reducidos de solución para evaluaciones rápidas de toxicidad vegetal en sistemas acuáticos. Para ello se utilizaron frondas sanas previamente acondicionadas en laboratorio, recipientes plásticos alargados de cultivo, pipetas Pasteur, micropipetas, agua declorinada, soluciones diluidas del medio de prueba, pinzas finas de disección y papel filtro.

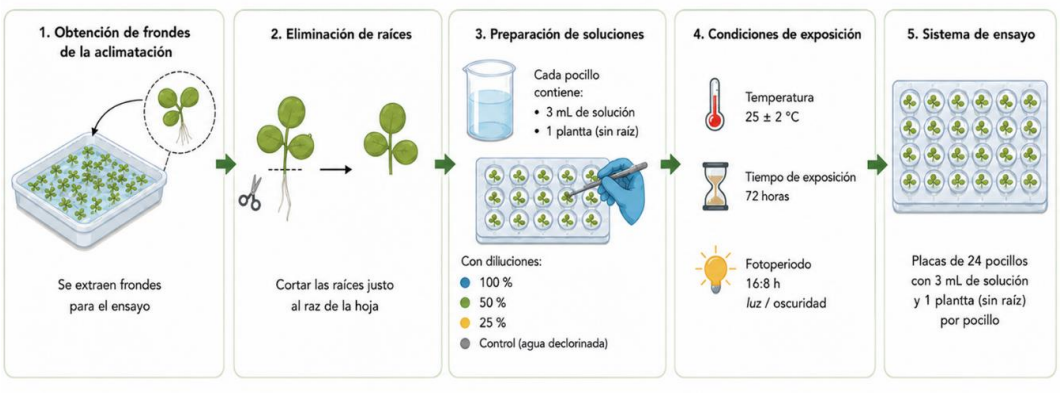
Los organismos seleccionados fueron manipulados cuidadosamente con ayuda de pinzas finas estériles, eligiendo únicamente individuos sanos, de coloración homogénea y sin daño visible. Antes de la exposición, cada fronde fue separado de la colonia madre y se procedió a la eliminación de las raíces mediante un corte limpio a nivel del nodo basal utilizando tijeras de disección estériles, asegurando que todas las frondes inicien el ensayo en condiciones morfológicas similares y sin variabilidad asociada al sistema radicular previo.

El ensayo se desarrolló en placas multipocillos de 24 unidades, en las cuales se adicionarán 3 mL de cada dilución del medio de prueba. Estos recipientes fueron dispuestos bajo iluminación artificial proporcionada mediante focos LED de luz blanca, colocados a una distancia uniforme para asegurar una irradiancia homogénea en todos los tratamientos.

Las condiciones experimentales se mantuvieron bajo un fotoperiodo de 16:8 horas luz/oscuridad y una temperatura de 25 ± 2 °C. En cada pocillo se colocó un organismo con dos frondas de *Lemna minor* previamente seleccionada, verificando que flote libremente sobre la superficie de la solución de ensayo sin adherirse a las paredes del recipiente. La siembra se realizó al inicio del experimento (tiempo 0 h), registrándose la condición inicial de cada organismo. Posteriormente, las frondas permanecieron expuestas durante 72 horas.

Al finalizar el periodo de exposición, se cuantificaron el número final de frondas en cada unidad experimental, así como la longitud de la raíz más larga regenerada. Asimismo, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento respecto al grupo control, con la finalidad de evaluar los posibles efectos fitotóxicos residuales de los tratamientos sobre el crecimiento y desarrollo de *Lemna minor*. Finalmente, se evaluó la regeneración radicular mediante la medición de la longitud de la raíz más larga desarrollada en cada unidad experimental (Figura 10).

Figura 10. *Sistema de Esquema del sistema experimental para bioensayos Lemna minor.*



- Ensayo con *Danio rerio*

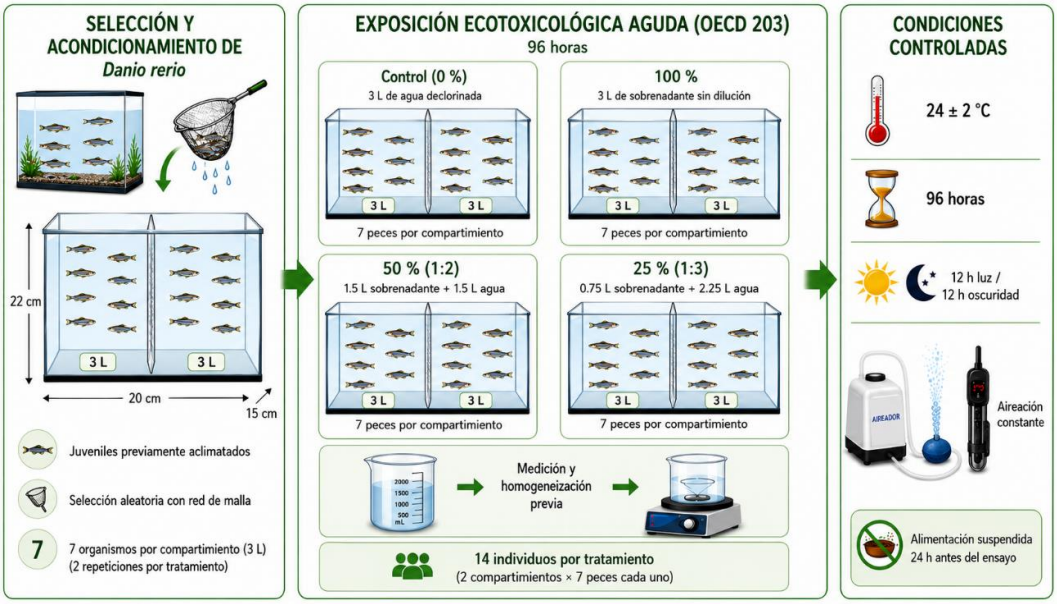
La prueba de toxicidad aguda con *Danio rerio* se realizaron siguiendo las directrices establecidas por la OECD 203 para la evaluación de toxicidad en peces bajo condiciones de laboratorio controlado. Para ello, se utilizaron juveniles machos previamente acondicionados en el laboratorio.

Las unidades experimentales estuvieron constituidas por peceras de vidrio de 20 cm de largo, 22 cm de ancho y 16 cm de alto, con un espesor de 3 mm, las cuales estaban divididas internamente en dos compartimientos iguales de 15 cm de longitud cada uno, permitiendo la separación de tratamientos dentro de un mismo sistema. Cada uno de estos acuarios tuvieron una capacidad de 6 litros, distribuidos en dos compartimientos de 3 litros cada uno. Los organismos fueron mantenidos en acuarios independientes con aireación constante mediante sistemas de oxigenación artificial el cual fue implementado con termostatos de 25 W, piedras filtradoras, sonda y motor aireador silencioso de cuatro salidas marca SOBO, asegurando la adecuada disponibilidad de oxígeno disuelto durante las 96 horas de periodo experimental. Las condiciones de mantenimiento se establecieron a una temperatura de 24 ± 2 °C, con fotoperiodo de 12:12 horas luz/oscuridad y parámetros de calidad de agua controlados, durante el periodo de aclimatación. La alimentación de los organismos fue suspendida 24 horas antes del inicio de la exposición experimental.

El diseño experimental consistió en la exposición de los organismos a diferentes concentraciones del efluente, preparadas a partir de la solución sobrenadante en tres niveles: 100 % sin dilución, 50 % correspondiente a una dilución 1:2 y 25% correspondiente a una dilución 1:3, además de un grupo control constituido únicamente por agua declorinada. Todas las soluciones fueron medidas con recipientes de plástico graduados y homogenizadas antes de su incorporación a las peceras.

En cada acuario correspondiente a una concentración específica se colocaron 7 individuos de *Danio rerio*, por cada compartimiento de 3 litros de tratamiento con dos repeticiones cada uno. La selección de los organismos se realizó de manera aleatoria mediante una red de malla desde la pecera de acondicionamiento, garantizando que todos los individuos tengan la misma probabilidad de ser asignados a cualquiera de los tratamientos y minimizando así posibles sesgos de selección (Figura 11).

Figura 11. *Esquema del bioensayo ecotoxicológico agudo con Danio rerio.*



Durante el periodo de exposición (96 horas), se realizaron observaciones periódicas cada 12 horas para registrar cambios en signos del compartimiento (Tabla 7).

Tabla 7. *Signos de comportamiento en peces.*

Signos de comportamiento
Mortalidad
Orientación horizontal anormal
Orientación vertical anormal
Pérdida de control de flotabilidad
Aislamiento social/relación y canibalismo
Ventilación irregular

Pigmentación pálida
Edema

El endpoint principal del ensayo fue la mortalidad definida como la ausencia total de movimiento incluso tras una leve estimulación mecánica, (OECD 203, 2025). Al finalizar el periodo experimental, los resultados fueron expresados como porcentaje de mortalidad por concentración evaluada, lo que permitió estimar el efecto toxicológico agudo del medio de prueba.

- Análisis molecular en hígado de *Danio rerio*

El procedimiento se ejecutó después de la aprobación correspondiente por parte del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Católica de Santa María (UCSM), cumpliendo los principios de bienestar animal, reducción del número de organismos utilizados y minimización del sufrimiento durante todas las etapas del estudio.

Finalizado el bioensayo agudo de 96 horas, se seleccionaron aleatoriamente siete individuos de *Danio rerio* por tratamiento, considerando ambas repeticiones experimentales, para el análisis molecular.

Los peces fueron retirados cuidadosamente con una red de malla y transferidos a un recipiente previamente acondicionado con agua a temperatura de 0–4 °C, preparada mediante una proporción aproximada de 5 partes de hielo y 1 parte de agua, evitando el contacto directo de los organismos con los fragmentos de hielo. Este procedimiento corresponde a eutanasia por enfriamiento rápido (rapid chilling). Los organismos permanecieron en el baño frío al menos 10 minutos después del cese del movimiento opercular, o por mayor tiempo en caso no se visualiza claramente dicho movimiento (Leary&Johnson, 2020).

La disección se realizó bajo un estereomicroscopio marca MOTIC®, utilizando pinzas, bisturíes N° 11 y alfileres entomológicos previamente esterilizados y desinfectados con alcohol al 70 %. Cada organismo fue colocado sobre una superficie de disección estéril previamente acondicionada bajo el estereomicroscopio. El pez fue ubicado en posición lateral, de modo que se observe claramente la región opercular, la aleta pectoral y la zona ventral abdominal. Con las pinzas y tijeras de disección estériles, se retiraron cuidadosamente el opérculo del lado expuesto para facilitar la visualización de la región anterior del cuerpo. Seguidamente, se removió la aleta pectoral del mismo lado y, de ser necesario, la aleta ventral o inferior, con el fin de despejar el área de disección y evitar interferencias durante la apertura de la cavidad abdominal (X. Li et al., 2022).

Luego, se realizó una incisión ventral fina desde la región abdominal posterior hacia la zona anterior, siguiendo la línea media del vientre, procurando no profundizar excesivamente para evitar la ruptura del tracto digestivo, vesícula biliar u otros órganos internos (X. Li et al., 2022). La pared corporal fue abierta cuidadosamente con pinzas, exponiendo la cavidad visceral. Una vez abierta la cavidad, se identificó el hígado por su localización en la región anterior-ventral del pez, cercano al intestino y a la vesícula biliar, y por su apariencia blanda y ligeramente pigmentada. El hígado fue separado cuidadosamente con pinzas finas estériles, evitando arrastrar tejido intestinal, contenido biliar o restos de sangre que puedan contaminar la muestra molecular (Kang et al., 2022).

Cada hígado extraído fue transferido inmediatamente a microtubos eppendorf estériles que contenían 1,5 mL de RNAlater, previamente rotulados según tratamiento y réplica. Con el fin de obtener una cantidad suficiente de tejido para el análisis molecular, las siete muestras hepáticas correspondientes a cada tratamiento fueron agrupadas en dos microtubos: el primero contenía cuatro hígados y el segundo tres hígados, obteniéndose en total dos muestras compuestas por tratamiento, (Fuentealba-Villarroel et al., 2025). Durante todo el

procedimiento de disección y almacenamiento, los microtubos se mantuvieron sobre hielo para preservar la integridad del tejido. Posteriormente, fueron almacenados a −80 °C hasta su procesamiento para extracción de ARN y posterior análisis molecular (Figura 12).

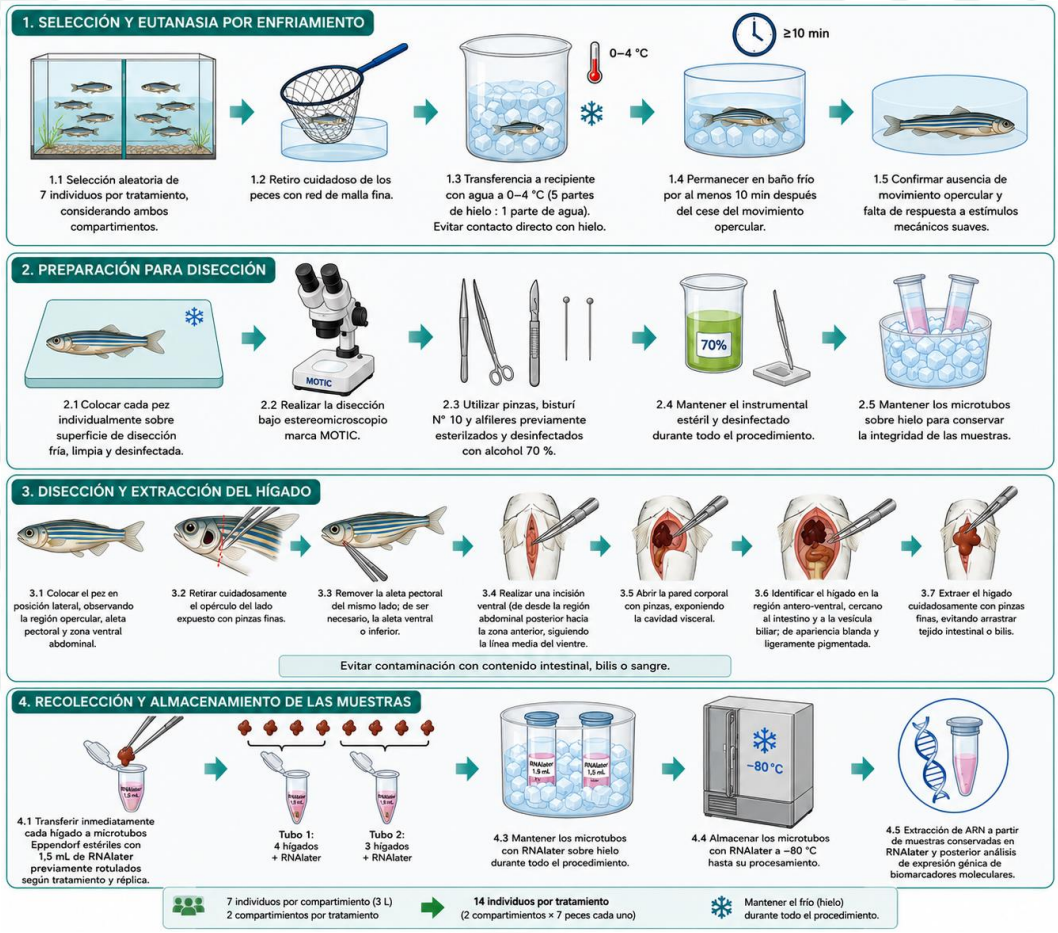
Esta conservación permitió reducir la degradación del ARN y mantener la calidad de las muestras destinadas a la evaluación de biomarcadores asociados a detoxificación, estrés oxidativo y respuesta celular (Fuentealba-Villarroel et al., 2025).

Posteriormente, las muestras hepáticas conservadas en RNAlater y almacenadas a −80 °C fueron destinadas al análisis molecular de biomarcadores asociados a la exposición a metales pesados. El ARN total fue extraído mediante el reactivo TRIZOL siguiendo las especificaciones del fabricante y posteriormente cuantificado mediante espectrofotometría para evaluar su concentración y pureza. Además, los productos fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 %, visualizados bajo luz ultravioleta y documentados.

A partir del ARN obtenido se sintetizó ADN complementario (cDNA) utilizando el kit GoScript Reverse Transcription System. Posteriormente, se realizó una rt-PCR cuantitativa empleando dos cebadores específicos para el gen superóxido dismutasa (SOD) y el de la vitelogenina (Vgt); además, utilizó el gen constitutivo de la B-actina como control (Housekeeping). El superóxido dismutasa (SOD) fue utilizado como biomarcador de estrés oxidativo asociado a la exposición a contaminantes metálicos, mientras que la vitelogenina (Vgt) fue considerada como un biomarcador complementario de respuesta fisiológica general. Debido a que el estudio se desarrolló con mayoría de ejemplares machos de *Danio rerio,* cualquier variación en la expresión de Vgt fueron interpretados como una respuesta biológica asociada a los tratamientos evaluados y no exclusivamente como un indicador de disrupción endocrina. El análisis de la expresión de SOD y Vgt permitió evaluar la respuesta molecular de *Danio rerio* frente a la exposición a las aguas tratadas, contribuyendo a determinar si el

tratamiento con mucílago de *Opuntia ficus-indica* reduce los efectos biológicos asociados a la presencia de arsénico y manganeso. El análisis de la expresión de SOD permitió determinar si la exposición a las aguas tratadas genera respuestas moleculares asociadas a estrés por metales pesados y contribuyó a evaluar la eficacia ambiental del mucílago de *Opuntia ficus-indica* como alternativa natural para la remoción de arsénico y manganeso.

Figura 12. Esquema del procedimiento de extracción y conservación de hígados de *Danio rerio* para análisis molecular.



3.2.9. Procesamiento de datos

Los datos que se obtuvieron durante las diferentes etapas experimentales fueron organizados en hojas de cálculo en Microsoft Excel y posteriormente procesados mediante los programas IBM SPSS Statistics, R Project for Statistical Computing y GraphPad Prism.

3.2.9.1. *Análisis de la eficiencia de remoción*

Para cada tratamiento se calculó el porcentaje de remoción de arsénico, manganeso y turbidez mediante la siguiente expresión:

$$\%\ Remocion = \frac{C_i - C_f}{C_i} * 100$$

donde:

- Ci: concentración inicial del parámetro evaluado.
- Cf: concentración final del parámetro después del tratamiento.

Los resultados fueron expresados como media ± desviación estándar de tres réplicas por tratamiento.

3.2.9.2. *Análisis fisicoquímico*

Se evaluaron las variaciones en pH, turbidez antes y después del tratamiento. Asimismo, se calculó la eficiencia de remoción y se compararon los resultados entre los tratamientos con mucílago extraído al 50 % y 70 %, así como entre los niveles bajo y alto del cóctel metálico.

3.2.9.3. *Análisis ecotoxicológico*

Considerando que el proyecto ya fue aprobado y ejecutado bajo el diseño experimental establecido, no se modificaron las concentraciones de exposición empleadas en

los bioensayos. Por ello, los resultados ecotoxicológicos fueron interpretados principalmente como porcentaje de efecto observado para cada concentración evaluada (25 %, 50 % y 100 %). La estimación de CL_{50} o CE_{50}, de corresponder, será reportada únicamente como valor referencial y no como endpoint principal, reconociendo como limitación metodológica el número reducido de diluciones empleadas.

- *Daphnia magna*

Se determinó el porcentaje de inmovilización a las 24 horas mediante la siguiente expresión:

$$\%\ Inmovilizacion = \frac{N_i}{N_t} * 100$$

donde:

- Ni: número de organismos inmovilizados.
- Nt: número total de organismos expuestos.

- *Lemna minor*

Se cuantificó el número de frondas inicial y final, la longitud radicular y el porcentaje de inhibición del crecimiento:

$$\%\ Inhibicion = \frac{C - T}{C} * 100$$

donde:

- C: valor promedio del control.
- T: valor promedio del tratamiento.

- *Danio rerio*

Para evaluar los efectos subletales durante el bioensayo de toxicidad aguda, se registraron observaciones cada 12 horas (07:00 h y 19:00 h) durante las 96 horas de exposición. En cada evaluación se registró en un formato (Tabla 8), la presencia o ausencia de signos de alteración conductual y fisiológica en los organismos expuestos.

Tabla 8. *Formato de registro de signos de comportamiento en Danio rerio.*

Fecha	Hora	Tratamiento	Réplica	º de peces evaluados	Mortalidad (n)	Orientación horizontal anormal (n)	Orientación vertical anormal (n)	Pérdida de flotabilidad (n)	Aislamiento social / canibalismo (n)	Ventilación irregular (n)	Pigmentación pálida (n)	Edema (n)	Observaciones
dd/mm/aaaa	07:00	Control	R1	7									
dd/mm/aaaa	19:00	Control	R1	7									
dd/mm/aaaa	07:00	25 %	R1	7									
dd/mm/aaaa	19:00	25 %	R1	7									
dd/mm/aaaa	07:00	50 %	R1	7									
dd/mm/aaaa	19:00	50 %	R1	7									
dd/mm/aaaa	7:00	100 %	R1	7									
dd/mm/aaaa	9:00	100 %	R1	7									

| | | |

Tratamiento	n evaluados	Mortalidad (%)	Orientación horizontal anormal (%)	Orientación vertical anormal (%)	Pérdida de flotabilidad (%)	Aislamiento social / canibalismo (%)	Ventilación irregular (%)	Pigmentación pálida (%)	Edema (%)
Control	14	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25 %	14	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx
50 %	14	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx
100 %	14	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx

Tabla 9. *Porcentaje de incidencia de signos de comportamiento.*

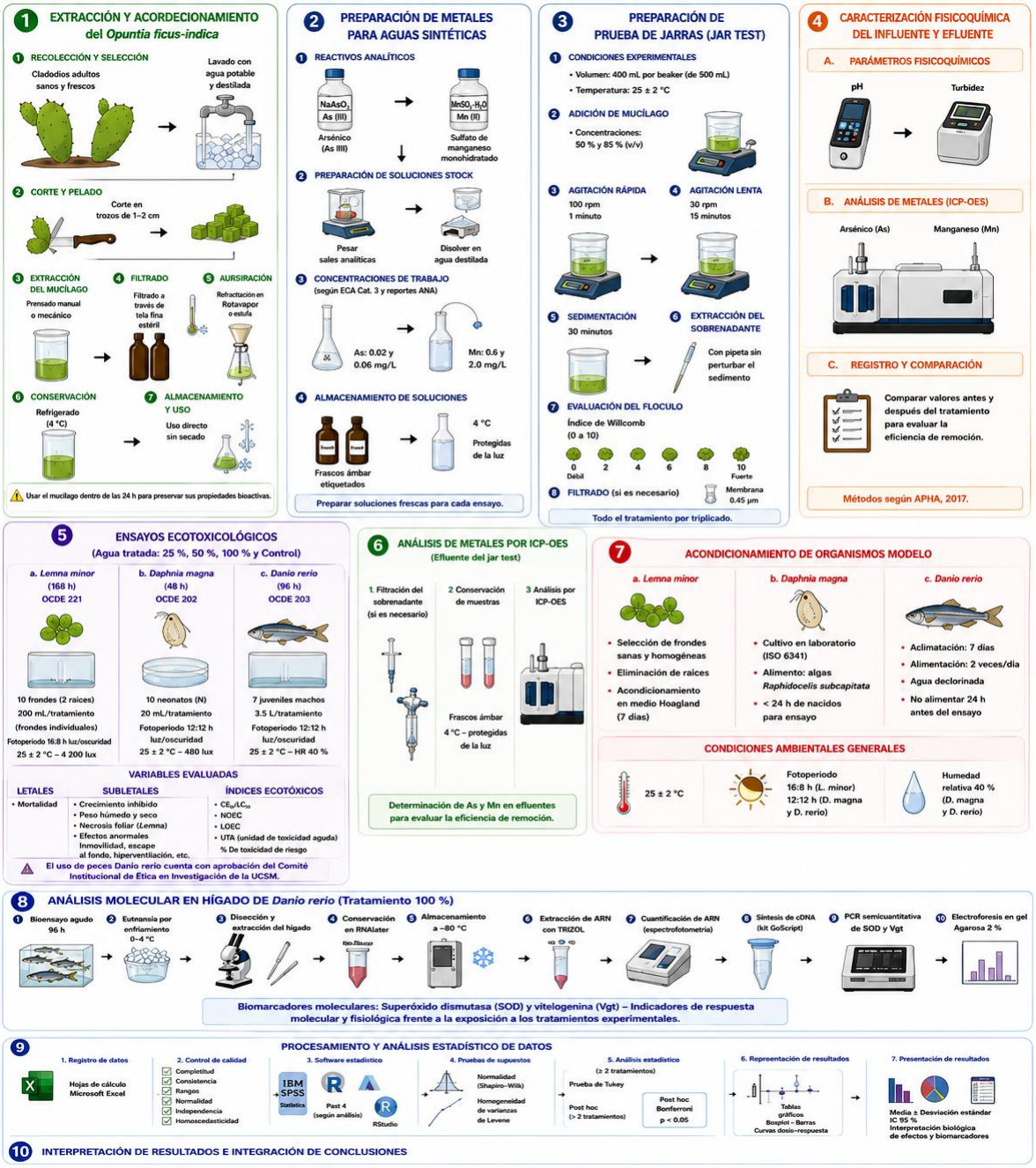
Antes del análisis estadístico, se evaluaron la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Cuando se cumplan estos supuestos, se ejecuta un análisis de varianza factorial de dos vías (ANOVA de dos factores), considerando como factores principales la condición de preparación del extracto acuoso (extracto 50 y extracto 70) y el nivel del cóctel metálico (bajo y alto), así como la interacción entre ambos factores.

En caso de encontrarse diferencias significativas, se aplica la prueba post hoc de Tukey para identificar diferencias entre tratamientos. Cuando los datos no cumplan los supuestos de normalidad u homogeneidad de varianzas, se emplean pruebas no paramétricas equivalentes, como Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples de Dunn. En todos los casos se consideraron un nivel de significancia de $p<0,05$.

Los resultados fueron presentados como media ± desviación estándar y representados mediante tablas y gráficos comparativo.

Esquema metodológico

Figura 13. *Esquema metodológico general para la evaluación de la eficiencia del mucílago de Opuntia ficus-indica como coagulante-floculante en la remoción de arsénico y manganeso en aguas sintéticas mediante análisis fisicoquímico, ecotoxicológico y molecular.*



CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Remoción de metales

La Tabla 10 nos muestra la remoción de metales utilizados (manganeso y arsénico) en un nivel alto (2 y 0.06 mg respectivamente) y bajo (0.60 mg de manganeso y 0.02 mg de arsénico), en cada tratamiento con *Opuntia ficus-indica* (Tuna) como coagulante-floculante (extracto 50 y extracto 70). Se observa que los tratamientos que tuvieron mayor eficiencia en la remoción de metales fueron los extractos 70 y 50 + cantidades altas de arsénico (0.06 mg) y manganeso (2 mg), obteniendo un porcentaje de remoción promedio de 82.5% y 77.75 % de arsénico, 62.22% y 59.21% de manganeso, respectivamente.

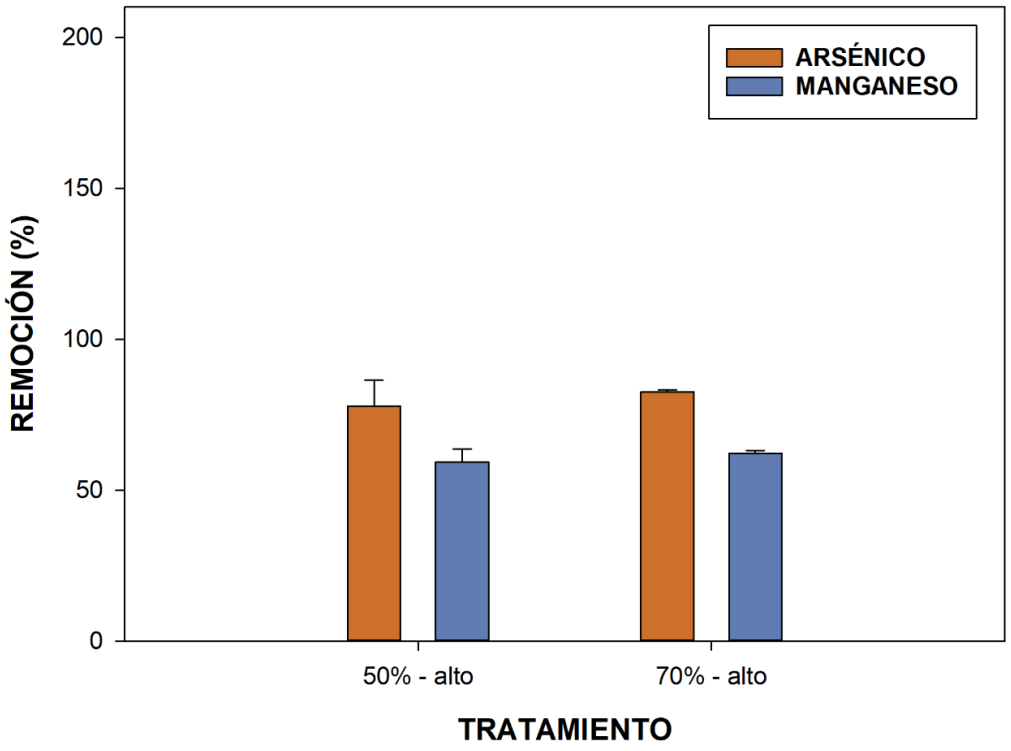
Tabla 10. *Remoción de metales (arsénico y manganeso) después del tratamiento.*

Código de laboratorio	Tratamiento	As inicial	As final	Mn inicial	Mn final	Remoción As (%)	Remoción Mn (%)
M-26-25501	50% + alto	0.06	0.0097	2.00	0.87870	83.83	56.07
M-26-25502	50% + alto	0.06	0.0170	2.00	0.75320	71.67	62.34
M-26-25503	50% + bajo	0.02	0.0348	0.60	0.83220	-74.00	-38.70
M-26-25504	50% + bajo	0.02	0.0402	0.60	1.61460	-101.00	-169.10
M-26-25505	70% + alto	0.06	0.0102	2.00	0.76790	83.00	61.61
M-26-25506	70% + alto	0.06	0.0108	2.00	0.74360	82.00	62.82
M-26-25507	70% + bajo	0.02	0.0397	0.60	1.41140	-98.50	-135.23
M-26-25508	70% + bajo	0.02	0.0316	0.60	1.08270	-58.00	-80.45

En la Figura 14 se puede observar que los tratamientos que obtuvieron un porcentaje alto de remoción fueron los que contenían mayor cantidad de metales (50% + 0.06 mg As + 2 mg Mn; 70% + 0.06 mg As + 2 mg Mn), lo cual demostró una mayor eficiencia de remoción

de metales. Por otro lado, los tratamientos con concentración baja de metales presentaron valores negativos al calcular el porcentaje de remoción en algunas réplicas. Estos valores se obtuvieron debido a que las concentraciones finales fueron superiores a las concentraciones iniciales, lo que indica que no se produjo remoción del metal, sino un incremento de su concentración en el agua tratada (50% + 0.02 mg As + 0.6 mg Mn; 70% + 0.02 mg As + 0.6 mg Mn).

Figura 14. *Porcentaje de remoción de metales (arsénico y manganeso).*

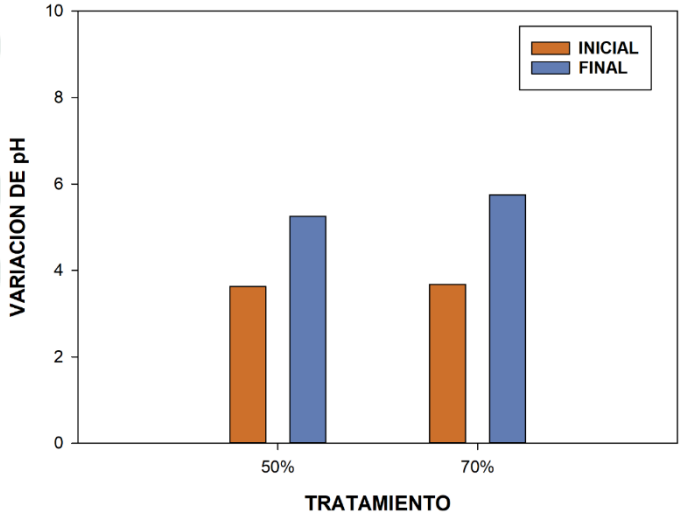


4.2. Evaluación de parámetros fisicoquímicos

Se muestra la variación del pH final después de realizar cada tratamiento para remoción de metales con el coagulante-floculante (*O. ficus-indica*), que los tratamientos con extracto 50 y extracto 70 presentaron aumentos de 1.62 y 2.07 unidades de pH, respectivamente. En consecuencia, los valores finales de pH fueron superiores a los registrados inicialmente, evidenciándose un mayor incremento en el tratamiento con

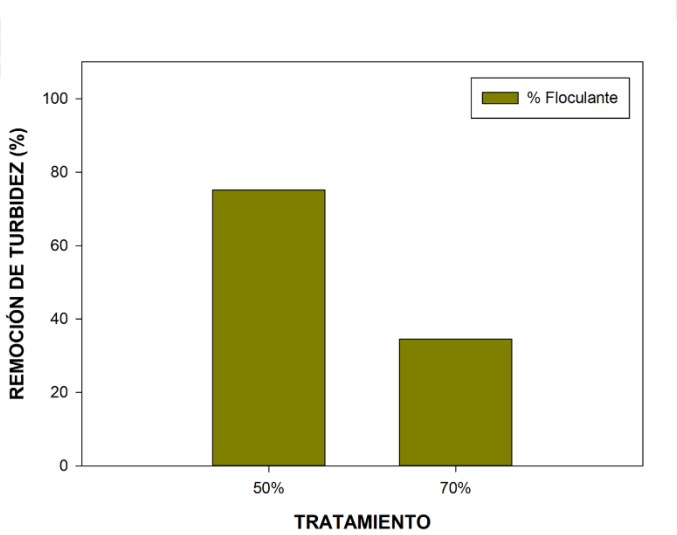
mucílago al 70 %; este comportamiento indica que la incorporación del mucílago de *O. ficus-indica* produjo una modificación del pH del agua tratada, siendo más pronunciada a la mayor concentración de mucílago utilizada (Figura 15).

Figura 15. *Variación de pH en cada tratamiento.*



La Figura 16 muestra los porcentajes de remoción de turbidez obtenido por cada tratamiento con los extractos 50 y 70, donde se resalta que la mayor eficiencia lo tuvieron los tratamientos que contenían un 50% de coagulante-floculante obteniendo un valor de 75.15% de remoción, mientras que los tratamientos con 70% de concentración de tuna obtuvieron solo un 34.55% de remoción de turbidez.

Figura 16. *Porcentaje de remoción de turbidez en cada tratamiento.*



4.3. Bioensayo con *Lemna minor*

Se muestran los resultados de la exposición a diferentes dosis del tratamiento con tuna de 50% + 0.06mg As + 2mg Mn, (Tabla 11), donde se denota que la longitud radicular (cm) fue mayor en el control (0.34 ± 0.02 cm); mientras que en las diferentes dosis los valores estuvieron entre 0.15 y 0.17 cm; obteniendo el valor más alto la de 50% con 0.17 ± 0.04 cm. Además, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas; de acuerdo con esto el NOEC fue de 100%, indicando un bajo efecto tóxico de este tratamiento en *Lemna minor*. Por otro lado, se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento radicular donde los valores más altos de inhibición lo obtuvieron las concentraciones de 25 y 100% con un valor de 56.31%.

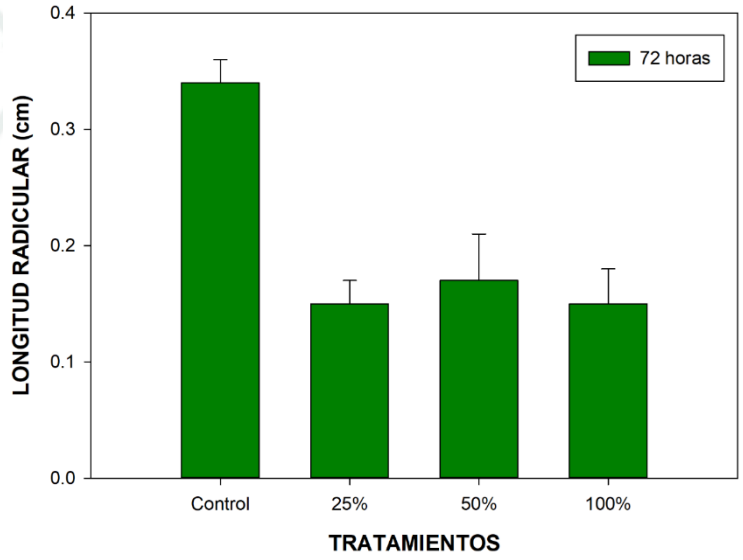
Tabla 11. *Efectos del tratamiento de coagulación (50%-ALTO) sobre Lemna minor.*

BIOENSAYO ECOTOXICOLÓGICO (72 h)			
Lemna minor			
TRATAMIENTOS			
DOSIS (%)	LONGITUD RADICULAR		INHIBICION DEL CRECIMIENTO (%)
	PROMEDIO ± D.E	SIG	PROMEDIO
CONTROL	0.34 ± 0.02	a	-
25%	0.15 ± 0.03	a	56.31
50%	0.17 ± 0.04	a	51.46
100%	0.15 ± 0.02	a	56.31
NOEC	100%		-
LOEC	ND		-
$DL_{(50)}$	-		-
S-W	0.79		-
p.	0.008		-
K-W	6.78		-
p.	0.08		-

Nota. S-W: Shapiro wilk, K-W: Kruskal wallis, p: significancia, NOEC: Concentración sin efecto observado, LOEC: Concentración con el efecto observado más bajo, Potencia: 64.38%

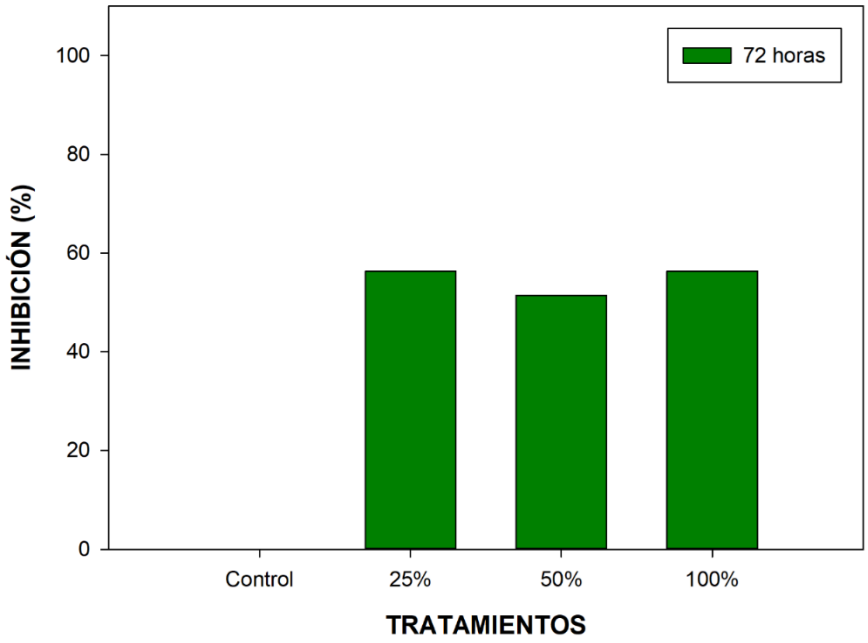
La Figura 17 nos muestra el efecto del tratamiento con tuna de 50% + 0.06mg As + 2mg Mn en diferentes dosis sobre el crecimiento radicular (cm) promedio en *Lemna minor*, donde se observa que el mayor crecimiento lo obtuvo el control con agua declorada (0.34 cm) seguido de la dosis de 50% con un valor de 0.17 cm, mientras que las dosis de 25 y 50% obtuvieron un valor igual de 0.15 cm.

Figura 17. Longitud radicular por efecto del tratamiento de coagulación sobre *Lemna minor*.



La Figura 18 presenta los porcentajes de inhibición del crecimiento radicular correspondientes a las tres dosis evaluadas; resaltando la dosis de 50% que resgistró el menor porcentaje de inhibición con un valor de 51.46%, mientras que las de 25 y 100% obtuvieron un valor porcentual igual de 56.31%, lo cual nos muestra un efecto tóxico en estas dos últimas dosis mencionadas.

Figura 17. *Porcentaje de inhibición del crecimiento radicular por efecto del*



tratamiento de coagulación sobre Lemna minor.

4.4. Bioensayo con *Daphnia magna*

En la Tabla 12 se muestra los efectos letales (inmovilización) de las diferentes dosis del tratamiento con tuna de 50% + 0.06mg As + 2mg Mn sobre *Daphnia magna*, donde se denota que hubo un mayor porcentaje de inmovilización en la mayor dosis de 100% con un valor de 25.00 ± 25.17%; en contraste la menor dosis (25%) obtuvo un valor menor de 10.00 ± 11.55%; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, hallando un NOEC de 100% (baja toxicidad).

Tabla 12. *Efectos del tratamiento de coagulación sobre Daphnia magna.*

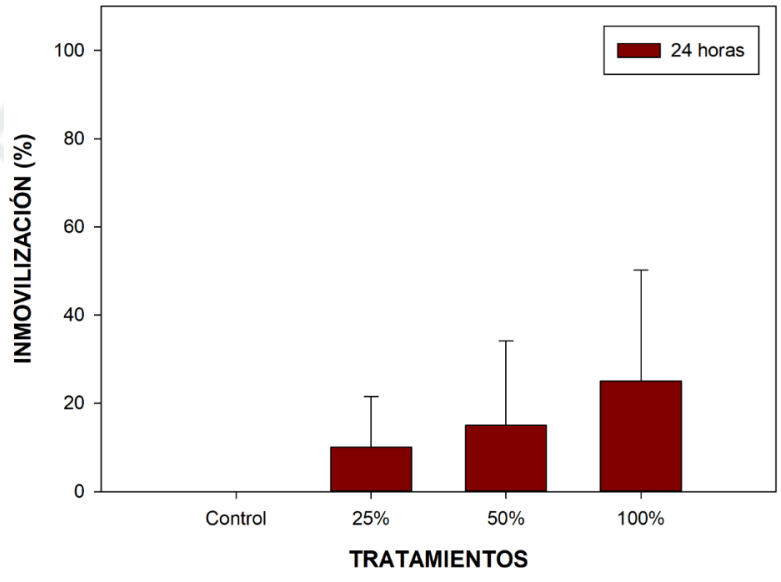
BIOENSAYO ECOTOXICOLÓGICO (24 h)		
Daphnia magna		
TRATAMIENTOS		
DOSIS (%)	INMOVILIZACIÓN	
	PROMEDIO ± D.E	SIG

CONTROL	0.00 ± 0.00	a
25%	10.00 ± 11.55	a
50%	15..00 ± 19.15	a
100%	25.00 ± 25.17	a
NOEC	100%	
LOEC	ND	
$DL_{(50)}$	-	
S-W	0.73	
p.	0.000	
K-W	4.53	
p.	0.21	

Nota. S-W: Shapiro wilk, K-W: Kruskal wallis, p: significancia, NOEC: Concentración sin efecto observado, LOEC: Concentración con el efecto observado más bajo, Potencia: 64.38%

En la Figura 19 se muestra el porcentaje de inmovilización de *Daphnia magna* por efecto de diferentes dosis del tratamiento de coagulación (50% + 0.06mg As + 2mg Mn), donde se puede ver que el porcentaje iba aumentando mientras la concentración era mayor, mostrando una relación directamente proporcional entre la dosis y el porcentaje de inhibición, siendo la más resaltante la dosis de 100% con un valor porcentual de 25%.

Figura 18. *Porcentaje de inmovilización por efecto del tratamiento de coagulación sobre Daphnia magna*



.

4.5. Bioensayo con *Danio rerio*

Se puede observar los efectos evaluados en *Danio rerio* expuestos a diferentes dosis del tratamiento de coagulación escogido (50% + 0.06mg As + 2mg Mn), donde el efecto de comportamiento anormal se denota en todos los tratamientos en una relación directamente proporcional obteniéndose diferencias estadísticamente significativas con un valor de 100 ± 0.00% en la última dosis evaluada; el segundo efecto evaluado (ventilación irregular) se contabilizó en el 100% de los organismos en todas las dosis experimentales; por otro lado, se evaluaron otros parámetros como Aislamiento social y Pigmentación anormal que mostraron un mayor porcentaje en la dosis de 50% (71.43 ± 32.99%); encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes dosis; además, el LOEC para los parámetros de comportamiento anormal y otros efectos fue de 25%, denotando una alta toxicidad. Cabe resaltar que no hubo mortalidad en ningún tratamiento (Tabla 13).

Tabla 13. *Efectos del tratamiento de coagulación (50%-ALTO) sobre Danio rerio.*

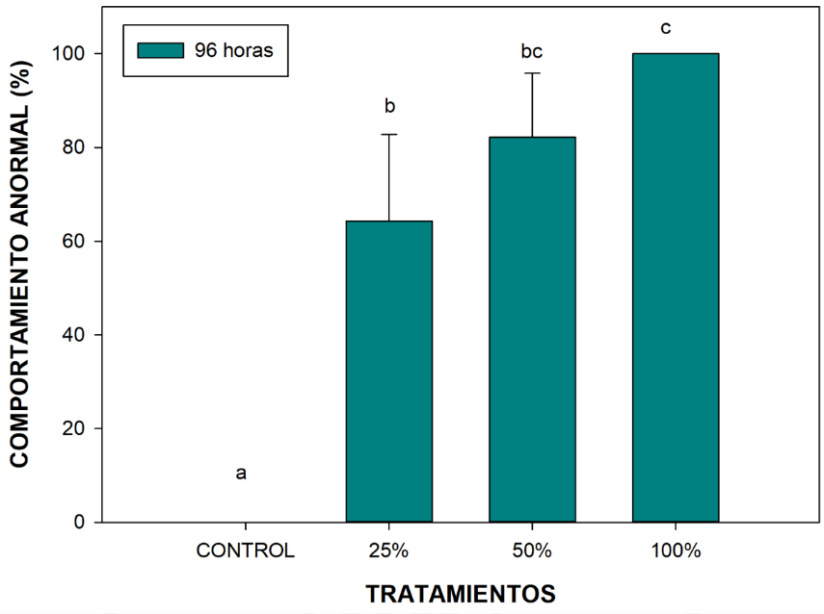
BIOENSAYO ECOTOXICOLÓGICO (96h)						
Danio rerio						
TRATAMIENTOS						
DOSIS (%)	COMPORTAMIENTO ANORMAL		VENTILACION IRREGULAR		OTROS EFECTOS	
	PROMEDIO ± D.E	SIG	PROMEDIO ± D.E	SIG	PROMEDIO ± D.E	SIG
CONTROL	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	-	00.00 ± 00.00	a
25%	64.29 ± 18.44	b	100.00 ± 0.00	-	35.71 ± 34.01	b
50%	82.14 ± 13.68	bc	100.00 ± 0.00	-	71.43 ± 32.99	c
100%	100.00 ± 0.00	c	100.00 ± 0.00	-	25.00 ± 29.45	d
NOEC	<25%		ND		<25%	
LOEC	25%		ND		25%	
$DL_{(50)}$	-		-		-	
S-W	0.82		0.56		0.89	
p.	0.05		0.000		0.239	
F.	119.16					
p.	0.00					

K-W	-	-	275.66
p.	-	-	0.00

Nota. S-W: Shapiro wilk, K-W: Kruskal wallis, p: significancia, NOEC: Concentración sin efecto observado, LOEC: Concentración con el efecto observado más bajo, Potencia: 74.87%

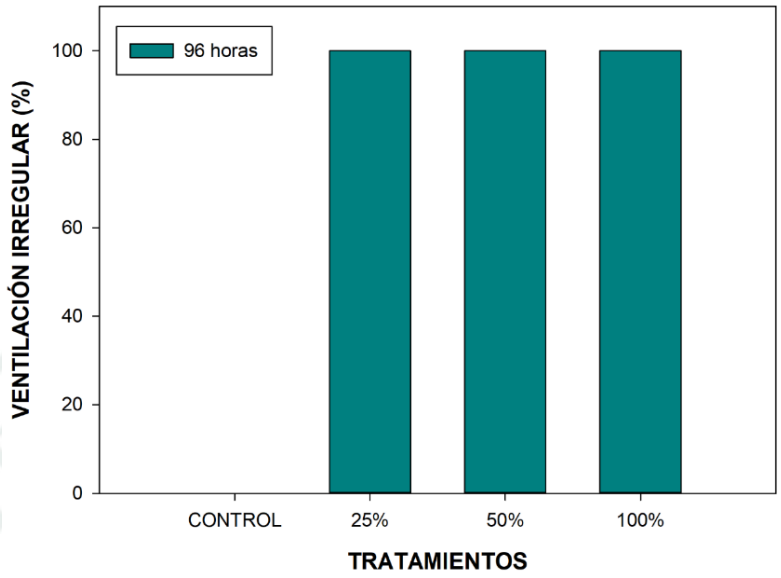
La Figura 20 muestra el porcentaje de comportamiento anormal (hipoactividad, reacción anormal a estímulos y natación anormal en la columna de agua) en *Danio rerio* por efecto de las diferentes dosis del tratamiento de coagulación con tuna de 50% + 0.06mg As + 2mg Mn; se denotó una relación directa entre la concentración y el porcentaje de organismos afectados, donde en el mayor tratamiento (100%) este efecto evaluado se presentó en la totalidad de organismos; por otro lado, las concentraciones de 25 y 50% obtuvieron un valor de 64.29 y 82.14%.

Figura 19. *Porcentaje de comportamiento anormal por efecto del tratamiento de coagulación sobre Danio rerio.*



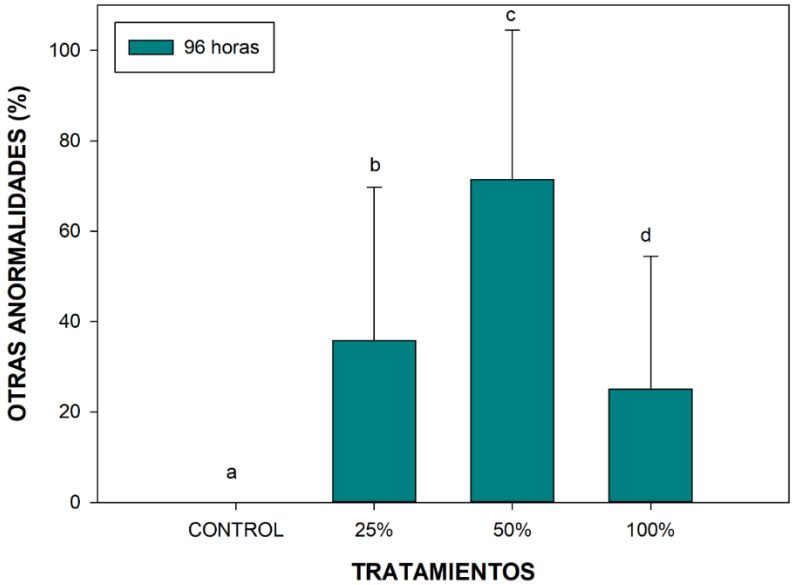
De acuerdo con la Figura 21 se destaca que en todas las dosis del tratamiento de coagulación (50% + 0.06mg As + 2mg Mn) se presentó el efecto de ventilación irregular en el 100% de los individuos evaluados, lo que nos demostró una toxicidad elevada.

Figura 20. *Porcentaje de ventilación irregular por efecto del tratamiento de coagulación sobre Danio rerio.*



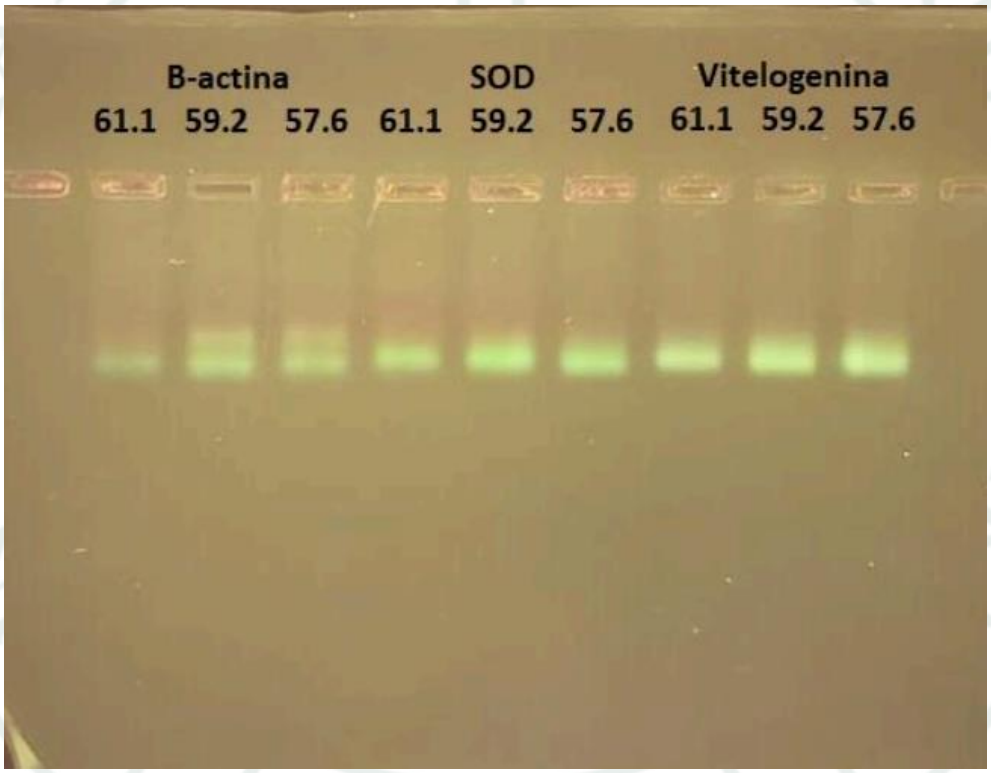
Se muestra el porcentaje de otros efectos evaluados en *Danio rerio* como aislamiento social y pigmentación anormal, donde los valores obtenidos en las tres dosis evaluadas (25, 50 y 100%) fueron de 35.71, 71.43 y 25% respectivamente, destacando el tratamiento de 50% quien obtuvo un valor alto sobrepasando a la mitad de la población; de acuerdo con el procesamiento estadístico se obtuvo que los tratamientos fueron diferentes significativamente (Figura 22).

Figura 21. *Porcentaje de otros efectos (aislamiento social y pigmentación anormal) por efecto del tratamiento de coagulación sobre Danio rerio.*



4.6. Efectos *moleculares sobre la expresión de los genes SOD y vitelogenina*

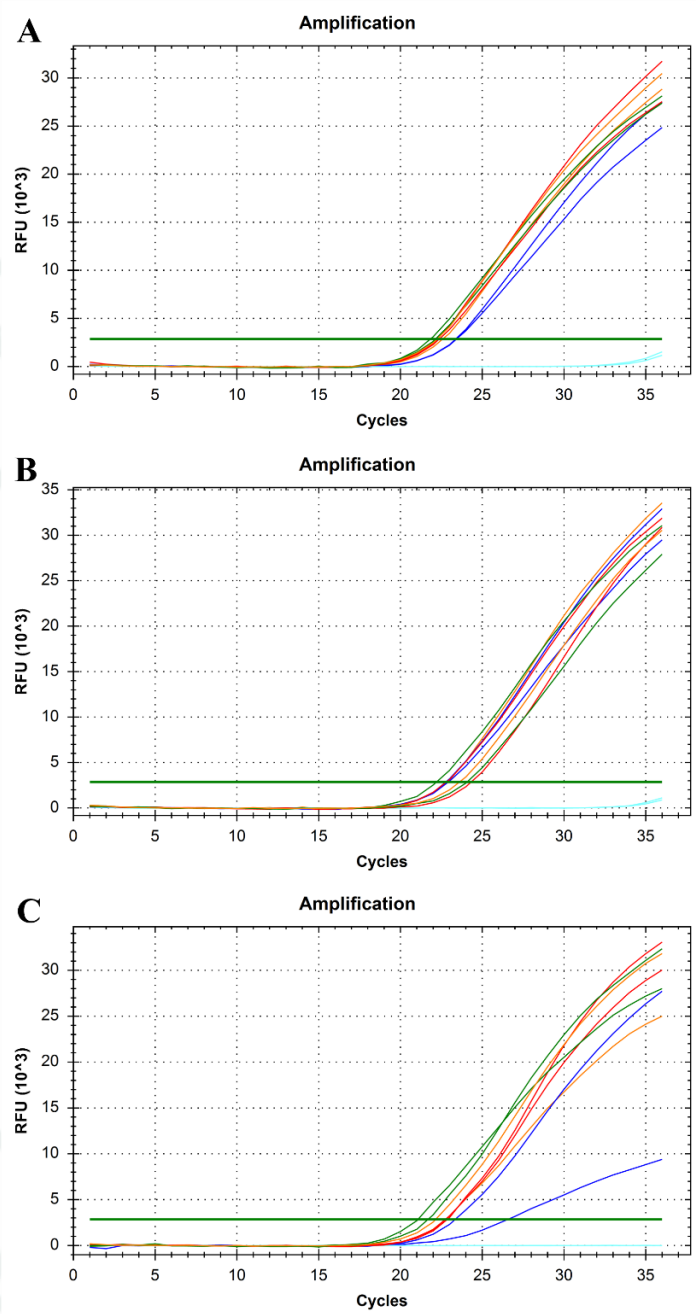
Para la prueba molecular se evaluaron tres genes: B-actina (Housekeeping), SOD (Superóxido dismutasa) y Vitelogenina. Se evaluó la temperatura mediante una evaluación de gradiente seguida de una electroforesis; para esto se evaluaron tres temperaturas. Se puede observar que en las temperaturas de 57.6 y 59.2 °C el gen B-actina mostró una doble banda, mientras la temperatura en que los tres genes evaluados mostraron una sola banda fue de 61.1 °C, por esta razón se eligió esta última para el ensayo.



Por otro lado, se evaluó la eficiencia de amplificación para los tres genes donde B-actina, SOD y Vitelogenina tuvieron valores de 148, 116.74 y 116.23 % respectivamente; al no ser cercanos ni igual a 100 se encontraron fuera de rango; de acuerdo con esto se calculó la expresión mediante el método de Pfaffl.

4.6.1. *Análisis de curvas de amplificación de ensayo*

Figura 22. *Curvas de amplificación por cada gen A) B-actina (Housekeeping), B) SOD, C) Vitelogenina.*



Las curvas de amplificación obtenidas en la RT-PCR por cada gen (Figura 23), nos muestra que el ensayo es válido ya que todas las curvas de las dosis y controles evaluados tiene un Ct entre 21-23 para B-actina, entre 22 y 25 para SOD y entre 21 y 27 para Vitelogenina; por lo tanto, se concluye un estado válido del proceso de amplificación de cada muestra (Figura 23 y Tabla 14).

Tabla 14. *Valores de Cq del ensayo final.*

GRUPO	Cq B-actina	Cq SOD	Cq Vitelogenina
CONTROL	23.42	22.92	26.57
CONTROL	23.37	22.77	23.35
25%	22.37	22.80	22.74
25%	22.25	24.32	22.87
50%	21.83	22.20	21.07
50%	22.14	24.07	21.69
100%	22.23	23.61	22.15
100%	22.58	22.84	22.76

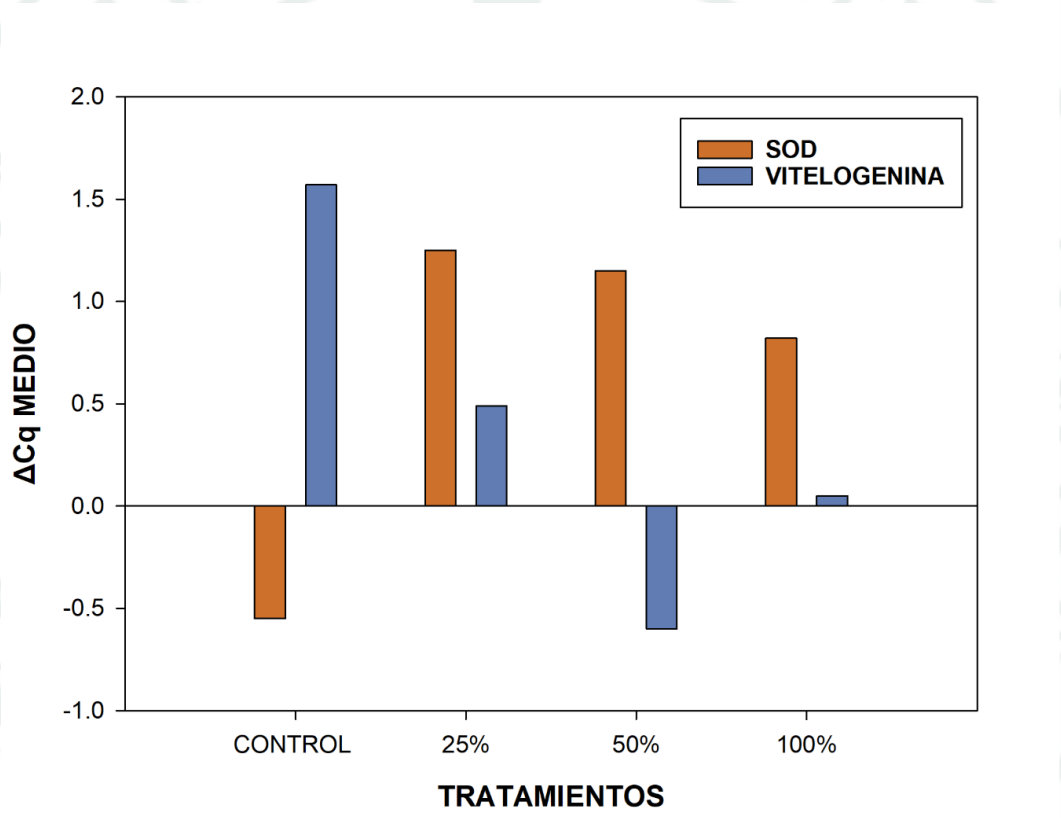
Se normalizaron los valores de Cq con respecto a nuestro gen control constitutivo (B-actina), donde de acuerdo con los valores promedio se observa que en el caso del gen SOD estuvo presente en mayor cantidad en el control seguido de la dosis de 100% (-0.55 y 0.82); mientras que la Vitelogenina se presentó en mayor cantidad en la dosis de 50 y 100% (-0,60 y 0.05) (Tabla 15 y Figura 24).

Tabla 15. *Valores de Cq normalizados (ΔCq).*

GRUPO	ΔCq SOD	ΔCq Vitelogenina	$\overline{x}$ ΔCq SOD	$\overline{x}$ ΔCq Vitelogenina
CONTROL	-0.50	3.15	-0.55	1.57
CONTROL	-0.60	-0.02		
25%	0.43	0.37	1.25	0.49
25%	2.07	0.62		
50%	0.37	-0.76	1.15	-0.60

50 %	1.93	-0.45		
100 %	1.38	-0.08	0.82	0.05
100 %	0.26	0.18		

Figura 23. *Normalización ΔCq contra B- actina.*



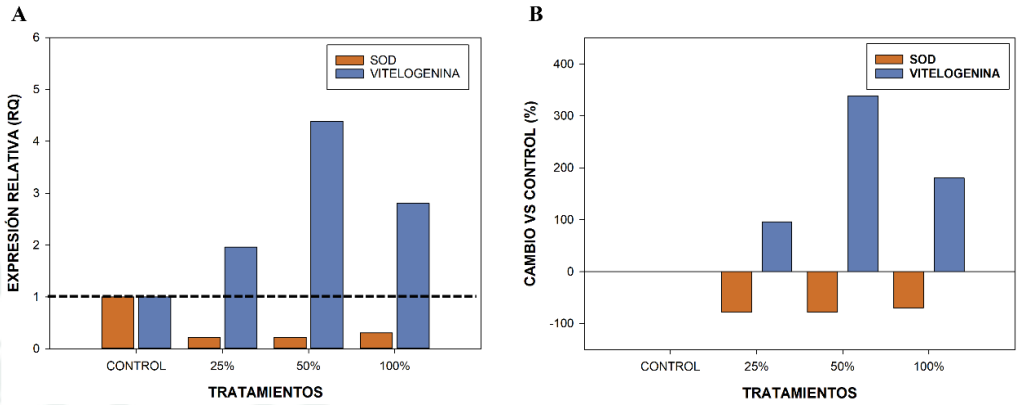
Se observa la expresión relativa por dosis evaluada donde se concluye que en el caso del gen SOD la expresión relativa en todas las dosis evaluadas fue menor que la del control (1.0), destacando la dosis de 25 % donde la expresión fue más baja (0.214). En contraste con el gen de la Vitelogenina se puede observar que en todas las dosis evaluadas sobrepasó el valor del control siendo el más resaltante el tratamiento de 50% con un valor de 4.387, seguido por la dosis de 100% con un valor de 2.806 (Tabla 16, Figura 25 A). Al evaluar el cambio de cada gen con respecto al control se encontró que el SOD disminuyó en todas las dosis (25, 50 y 100%) con valores porcentuales de -78.6, -77.8 y -69.6 respectivamente; mientras la Vitelogenina aumentó la expresión con respecto al control

con valores de 95.9, 338.7 y 180.6 en cada dosis respectivamente (Figura 25 B). Se realizo un ANOVA con ajuste de Bonferroni en el cual no se hallaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 16. *Expresión relativa (RQ) por grupo.*

GRUPO	RQ geom. SOD	Cambio SOD (%)	RQ geom. Vitelogenina	Cambio Vitelogenina (%)
CONTROL	1	0	1	0
25%	0.214	-78.6	1.959	95.9
50%	0.22	-77.8	4.387	338.7
100%	0.304	-69.6	2.806	180.6

Figura 24. *Expresión de genes de interés A) Expresión relativa por grupo, B) Cambio porcentual aproximado respecto al control/calibrador.*



4.7. Discusión de resultados obtenidos

4.7.1. *Remoción de arsénico (As) y manganeso (Mn)*

Los resultados obtenidos evidencian que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* presenta potencial como biocoagulante-floculante para la remoción de arsénico (As) y manganeso (Mn) en aguas sintéticas. Los mayores porcentajes de remoción se registraron en los tratamientos correspondientes al nivel alto del cóctel metálico, alcanzando valores promedio de 82,50 % para As y 62,22 % para Mn, lo que indica que el mucílago presentó capacidad de remoción bajo las condiciones experimentales evaluadas.

En el caso del arsénico, los resultados muestran una mayor eficiencia de remoción respecto al manganeso. En los tratamientos con concentración inicial alta, las remociones registradas alcanzaron valores de 83,83 % y 71,67 % para extracto 50, mientras que con el extracto 70 se obtuvieron valores de 83,00 % y 82,00 % en las réplicas reportadas. Para Mn, los porcentajes obtenidos estuvieron entre 56,07 % y 62,82. Esta diferencia en la eficiencia puede estar relacionada con la distinta interacción de ambos elementos con los sitios activos presentes en el mucílago, los grupos carboxilo (–COOH), hidroxilo (–OH) y carbonilo (C=O) pueden participar en procesos de interacción con los contaminantes, favoreciendo mecanismos como la complejación, el intercambio iónico y la atracción electrostática, que contribuyen a la formación de flóculos y a su posterior separación del agua, (Liu et al., 2025).

González-Avilez et al. (2024) demostraron que la concentración de ácidos urónicos del mucílago constituye uno de los principales factores que determinan la eficiencia de remoción de metales pesados, alcanzando porcentajes de remoción de hasta 90,26 %, debido al incremento de sitios activos disponibles para la interacción con los contaminantes. Mukaila et al. (2025b) y Liu et al. (2025), reportaron que los polisacáridos de *Opuntia ficus-indica* presentan capacidad de interacción con especies metálicas debido a la presencia de grupos funcionales como carboxilo e hidroxilo, identificados mediante espectroscopía FTIR. Estos antecedentes respaldan la capacidad observada en el presente estudio y permiten considerar al mucílago de *O. ficus-indica* como una alternativa de origen natural para el tratamiento de aguas contaminadas.

Aunque el tratamiento elaborado con el extracto 70 presentó los mayores porcentajes de remoción, la diferencia respecto al extracto 50 fue reducida. Por ello, no se puede afirmar que una mayor proporción de parénquima fresco durante la preparación del extracto produzca necesariamente un aumento sustancial de la eficiencia de remoción. Desde una perspectiva de aplicabilidad, este resultado es relevante, debido a que el extracto 50 alcanzó eficiencias

cercanas a las obtenidas con el extracto 70. Considerando que ambos tratamientos fueron evaluados bajo una dosis constante de 8 % (v/v), equivalente a 40 mL de extracto por cada 500 mL de muestra, el empleo del extracto 50 podría representar una alternativa técnicamente viable bajo las condiciones evaluadas.

Por otro lado, el mayor porcentaje de remoción observado para el arsénico respecto al manganeso puede estar asociado con la diferente afinidad de ambos elementos por los grupos funcionales presentes en el mucílago. La literatura indica que la eficiencia del proceso depende no solo de la composición del biopolímero, sino también de factores como el pH, la concentración inicial del metal y la disponibilidad de sitios activos para la adsorción. En este sentido, González-Avilez et al. (2024), observaron que tanto la concentración inicial de los metales como el pH influyen significativamente en la capacidad de remoción del mucílago, debido a que estos parámetros modifican las condiciones del equilibrio de adsorción. Por tanto, la eficiencia obtenida en el presente estudio debe interpretarse considerando las condiciones específicas de las aguas sintéticas evaluadas.

En los tratamientos con menores concentraciones iniciales de As y Mn se observaron valores negativos al calcular el porcentaje de remoción en determinadas réplicas. Estos valores se presentaron cuando la concentración final medida fue superior a la concentración inicial, por lo que matemáticamente representan un incremento de la concentración registrada y no una remoción efectiva. Este comportamiento fue más evidente en los tratamientos de baja concentración, lo que evidencia una mayor variabilidad del sistema bajo estas condiciones. En consecuencia, estos resultados deben interpretarse con cautela, considerando que pequeñas diferencias entre las concentraciones inicial y final pueden generar variaciones importantes en el porcentaje calculado. Esta tendencia también ha sido reportada por Mukaila et al. (2025b) para el mucílago de *Opuntia ficus-indica*, donde la concentración inicial del metal constituye un factor determinante en la eficiencia de remoción.

4.7.2. *Determinación de pH*

El incremento del pH observado después de la aplicación del mucílago de *Opuntia ficus-indica indica* que este biocoagulante modificó las condiciones fisicoquímicas del agua durante el proceso de coagulación-floculación. En el presente estudio, el tratamiento al 70 % produjo un mayor incremento del pH respecto al 50 %, lo que evidencia una mayor modificación del pH a medida que aumentó la concentración de mucílago. Estas interacciones, como señalan Gaviria-Bedoya & Ainhoa Rubio-Clemente (2024a) favorecen la formación de puentes poliméricos y flóculos, modificando las condiciones del medio durante el proceso de coagulación-floculación. Este comportamiento ha sido descrito para el mucílago de *Opuntia ficus-indica*, cuyo mecanismo de coagulación ocurre principalmente mediante adsorción y puenteo entre partículas, asociado con la presencia de grupos carboxilo e hidroxilo en su estructura polisacarídica, (Otálora, Wilches-Torres, Lara, Cifuentes, et al., 2022c).

El aumento del pH observado también se explica por la naturaleza química del mucílago. Durante la coagulación, los grupos funcionales del biopolímero interactúan con especies metálicas y partículas coloidales, reduciendo parcialmente la concentración de protones libres en el medio y favoreciendo un ambiente menos ácido, (Manchi, 2025).

A pesar del incremento registrado, los valores finales de pH permanecieron en un rango ácido, alcanzando valores aproximados de 5,26 y 5,74 para los tratamientos con extracto al 50 y 70 respectivamente. Esto indica que, aunque el mucílago modificó el pH del agua tratada, no actuó como un agente neutralizante capaz de llevar el medio hacia valores cercanos a la neutralidad. Este comportamiento coincide con los estudios de Márquez et al. (2023) y Muguerza Salazar et al. (2023), que señalan que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* puede producir modificaciones del pH durante el tratamiento.

4.7.3. *Remoción de turbidez*

La mayor eficiencia de remoción de turbidez obtenida con el mucílago de *Opuntia ficus-indica* al 50 % demuestra que el incremento de la concentración del biocoagulante no implica necesariamente una mayor capacidad de clarificación del agua. En el presente estudio, el tratamiento al 50 % alcanzó una remoción de 75,15 %, mientras que el tratamiento al 70 % redujo su eficiencia a 34,55 %, evidenciando que la concentración óptima del mucílago fue la del tratamiento al 50 %. Este comportamiento indica que el proceso de coagulación-floculación depende de un equilibrio entre la cantidad de biopolímero disponible y la estabilidad de las partículas suspendidas, por lo que un exceso de mucílago puede disminuir la eficiencia del tratamiento.

Este mecanismo de remoción se atribuye principalmente a la adsorción y al puenteo interparticular, favorecidos por polisacáridos ricos en ácido galacturónico y grupos funcionales carboxilo e hidroxilo. Estos compuestos permiten la unión entre partículas coloidales, promoviendo la formación de flóculos de mayor tamaño que posteriormente sedimentan. Sin embargo, cuando la concentración del biopolímero supera la dosis óptima, el exceso de cadenas poliméricas puede recubrir completamente la superficie de las partículas, impidiendo la formación de puentes entre ellas y provocando su restabilización, (Okoro et al., 2021). Este fenómeno, conocido como sobredosificación (overdosing), ha sido ampliamente descrito para biocoagulantes vegetales y explica la disminución de la eficiencia observada en el tratamiento al 70 %.

Los resultados obtenidos concuerdan con Otálora, Wilches-Torres, Lara, Cifuentes, et al. (2022c), quienes evaluaron el mucílago de *Opuntia ficus-indica* como biocoagulante en aguas sintéticas y demostraron que la remoción de turbidez depende significativamente de la dosis aplicada y del pH del sistema, alcanzando una eficiencia máxima de 82,7 % bajo

condiciones óptimas. Asimismo, mediante análisis de potencial zeta, FTIR y microscopía electrónica, estos autores confirmaron que el mecanismo predominante corresponde a la adsorción y al puenteo polimérico, evidenciando que el aumento excesivo de la dosis no mejora la coagulación, sino que puede afectar negativamente la formación de flóculos, (Gaviria-Bedoya & Ainhoa Rubio-Clemente, 2024b).

4.7.4. *Inhibición del crecimiento Lemna minor*

Los resultados obtenidos evidenciaron que la exposición de *Lemna minor* al agua tratada mediante coagulación-floculación con mucílago de *Opuntia ficus-indica* produjo una disminución de la longitud radicular respecto al control; sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las dosis evaluadas ($p = 0,08$), obteniéndose un NOEC del 100 %. Aunque la inhibición del crecimiento radicular osciló entre 51,46 y 56,31 %, estos valores no fueron suficientes para establecer un efecto tóxico estadísticamente detectable bajo las condiciones experimentales del ensayo. Este comportamiento coincide con lo establecido por la OECD (2004), la cual señala que la determinación del NOEC constituye un criterio fundamental para identificar concentraciones que no producen efectos biológicos significativos sobre el crecimiento de *Lemna*. Asimismo, Conradi et al. (2025a) demostraron que efluentes mineros tratados adecuadamente permitieron un crecimiento de *Lemna minor* estadísticamente indistinguible del control, evidenciando que la disminución de la toxicidad del agua puede reflejarse en la ausencia de diferencias significativas en los parámetros de crecimiento.

La reducción del crecimiento radicular observada respecto al control podría estar relacionada con la presencia residual de arsénico y manganeso después del tratamiento, debido a que ambos elementos pueden afectar procesos fisiológicos esenciales en las plantas acuáticas. Sin embargo, esta relación no puede establecerse como causal a partir de los

resultados obtenidos, considerando que las concentraciones residuales de los contaminantes fueron reducidas y que el crecimiento de *Lemna minor* puede verse influenciado por otras características fisicoquímicas del medio. Ferreira et al. (2023) evaluaron los efectos de concentraciones crecientes de manganeso (0, 0.2, 0.5 y 0.7 mM, equivalentes aproximadamente a 0, 10.99, 27.47 y 38.46 mg/L) sobre *Lemna minor*, observando que las concentraciones de 0.5 y 0.7 mM ocasionaron mayores alteraciones morfológicas, como clorosis, necrosis, enrollamiento foliar y reducción del sistema radicular. Asimismo, los autores reportaron una disminución en el surgimiento de individuos jóvenes a mayores concentraciones de Mn, evidenciando una respuesta de la especie frente al incremento de este metal. Van Dyck et al. (2023) demostraron que la respuesta fisiológica de esta macrófita frente al manganeso depende de la concentración de exposición, observando que niveles elevados reducen significativamente el crecimiento, los pigmentos fotosintéticos y modifican el metabolismo del almidón, mientras que concentraciones menores no generan efectos estadísticamente detectables. Entonces, la menor longitud radicular observada en el presente estudio podría estar relacionada con la presencia residual de arsénico y manganeso en el agua tratada, así como con las características fisicoquímicas del medio, más que con un efecto directo del mucílago utilizado como biocoagulante.

Asimismo, no debe descartarse la influencia de las características propias del extracto de mucílago empleado durante el tratamiento. Al tratarse de un extracto acuoso obtenido a partir de tejido vegetal fresco, su incorporación al agua puede aportar componentes solubles de origen vegetal que podrían influir en la respuesta fisiológica de *Lemna minor*. Por ello, la disminución de la longitud radicular no debería atribuirse exclusivamente a los metales residuales, sino interpretarse como una posible respuesta a las características del agua tratada en su conjunto. Sin embargo, debido a que el presente estudio no incluyó un tratamiento

constituido únicamente por mucílago en ausencia de arsénico y manganeso, no es posible determinar el efecto específico del extracto sobre el crecimiento de *Lemna minor*.

De manera similar, Narayan et al. (2024) señalaron, con base en lo reportado por ((Duester et al., 2011), que *Lemna minor* puede presentar reducción del crecimiento en presencia de arsénico a concentraciones superiores a 2 mg/L. En el presente estudio, las concentraciones residuales de As fueron considerablemente inferiores a este valor, por lo que la menor longitud radicular observada difícilmente podría atribuirse únicamente a la presencia de este metal.

Los resultados también concuerdan con estudios recientes que destacan la elevada sensibilidad de *Lemna minor* como organismo modelo para evaluar la recuperación ecológica de aguas tratadas. Vulpe et al. (2025) observaron que, tras la eliminación de metales mediante un sistema avanzado de tratamiento, las plantas recuperaron su capacidad de crecimiento hasta alcanzar valores similares al control, concluyendo que la disminución de la fitotoxicidad depende principalmente de la reducción de la biodisponibilidad de los contaminantes y no únicamente de su concentración total, (Conradi et al., 2025a). De forma similar, Ferreira et al. (2023) señala que *Lemna minor* constituye uno de los bioindicadores más sensibles para evaluar la calidad ambiental de aguas tratadas, debido a que responde rápidamente a cambios en la disponibilidad de metales, nutrientes y otras variables fisicoquímicas.

4.7.5. *Inmovilización con Daphnia magna*

La exposición de *Daphnia magna* al agua tratada con mucílago de *Opuntia ficus-indica* produjo un incremento gradual de la inmovilización conforme aumentó la dosis del tratamiento (10, 15 y 25 %); sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0,21$), determinándose un NOEC del 100 %. Estos resultados indican que,

aunque persistió una respuesta biológica frente al agua tratada, la magnitud del efecto no fue suficiente para establecer una concentración con efecto observable bajo las condiciones del ensayo. De acuerdo con la OECD (2004, Test No. 202), el NOEC representa la concentración más alta que no ocasiona efectos adversos estadísticamente detectables sobre la inmovilización de *Daphnia*. Asimismo, Czub et al. (2021) destacan que la inmovilización constituye uno de los indicadores más sensibles para evaluar la toxicidad aguda de contaminantes acuáticos y que su interpretación debe considerar tanto la magnitud del efecto como su significancia estadística.

La tendencia creciente de inmovilización observada en este estudio puede explicarse por la presencia residual de arsénico y manganeso después del tratamiento. Ghosh et al. (2024) demostraron que la exposición de *Daphnia magna* al arsénico reduce progresivamente la supervivencia, el tamaño corporal, la reproducción y la frecuencia cardiaca, además de inducir daño genotóxico, observando que estos efectos aumentan conforme se incrementa la concentración del contaminante. De manera similar, Kerdoun et al. (2024) evaluaron la sensibilidad de D. magna frente a 22 metales y confirmaron que tanto el arsénico como el manganeso generan inmovilización dependiente de la concentración, aunque su toxicidad es considerablemente menor que la de metales como mercurio, cobre o cadmio.

Los resultados también evidencian que el proceso de coagulación-floculación disminuyó la toxicidad aguda del agua tratada, ya que incluso la dosis del 100 % presentó una inmovilización promedio de solo 25 %, sin alcanzar diferencias significativas respecto a las demás dosis. Este comportamiento coincide con Yuan et al. (2020), quienes observaron que materiales empleados para el tratamiento de aguas no produjeron toxicidad aguda significativa en *Daphnia magna* cuando lograban reducir la disponibilidad de contaminantes, manteniéndose supervivencias superiores al 90 %. Del mismo modo, Burgos et al. (2025) señalaron que la disminución de la toxicidad en efluentes contaminados depende

principalmente de la reducción de la fracción biodisponible de los metales y no únicamente de su concentración total, destacando la utilidad de *Daphnia magna* como organismo centinela para verificar la eficacia ambiental de tecnologías de tratamiento.

Aunque no se determinaron un LOEC ni una DL_{50}, Ghosh et al. (2024) coincide que exposiciones subletales al arsénico generan alteraciones tempranas en parámetros fisiológicos como el ritmo cardiaco y la capacidad reproductiva antes de producir mortalidad masiva, indicando que la inmovilización constituye una respuesta inicial al estrés químico. Asimismo, Czub et al. (2021) reportaron que diversos compuestos arsenicales pueden provocar inmovilización en *Daphnia magna* incluso antes de alcanzar concentraciones letales, por lo que este parámetro resulta especialmente útil para detectar toxicidad residual en bioensayos agudos. En consecuencia, la ligera tendencia observada en el presente estudio podría representar una respuesta temprana al estrés ocasionado por las concentraciones remanentes de arsénico y manganeso, sin llegar a producir un efecto tóxico agudo estadísticamente significativo.

4.7.6. *Bioensayo con Danio rerio*

4.7.6.1. *Comportamiento irregular*

Los resultados obtenidos evidenciaron que el tratamiento de coagulación-floculación con mucílago de *Opuntia ficus-indica* produjo alteraciones conductuales en *Danio rerio*, observándose una respuesta dependiente de la concentración. El porcentaje de comportamiento anormal aumentó progresivamente desde 64.29 % en la dosis del 25 %, hasta alcanzar el 100 % en el tratamiento al 100 %, presentando diferencias estadísticamente significativas y un LOEC del 25 %. Las principales alteraciones registradas comprendieron hipoactividad, respuesta anormal frente a estímulos y natación anormal en la columna de

agua, evidenciando que, pese a la reducción de arsénico y manganeso obtenida mediante el tratamiento, persistieron efectos biológicos detectables en los organismos expuestos.

Las alteraciones del comportamiento constituyen indicadores sensibles para evaluar efectos subletales en peces, debido a que pueden representar respuestas tempranas frente a la exposición a contaminantes antes de que se manifiesten efectos letales o daños histológicos evidentes. En este sentido, los cambios en la actividad locomotora y en los patrones de natación pueden emplearse como biomarcadores comportamentales para detectar alteraciones asociadas a la exposición a contaminantes (Porras-Rivera et al., 2024). Por ello, la hipoactividad y las modificaciones en la natación observadas en la presente investigación podrían estar relacionadas con una respuesta de *Danio rerio* frente a las condiciones del agua tratada. Bedrossiantz et al. (2023) señala que estos cambios conductuales reflejan procesos tempranos de neurotoxicidad y pueden utilizarse como indicadores confiables del deterioro fisiológico ocasionado por metales y otros contaminantes presentes en el medio acuático.

La respuesta dosis-dependiente indica que el incremento de la concentración del agua tratada produjo una mayor afectación de los mecanismos responsables del control locomotor. Así como, Firdous et al. (2024) demostró que la disminución de la velocidad de nado, la hipoactividad y la pérdida de coordinación representan respuestas características de procesos neurotóxicos asociados con el desequilibrio oxidativo y la alteración de neurotransmisores. Izyurov et al. (2024) señala que las alteraciones locomotoras constituyen uno de los biomarcadores más consistentes para detectar daño funcional del sistema nervioso, debido a que reflejan cambios en circuitos dopaminérgicos, serotoninérgicos y colinérgicos involucrados en el control del movimiento y de la respuesta frente al ambiente.

Aunque en la presente investigación los organismos fueron expuestos al agua tratada y no a soluciones puras de metales, los resultados son compatibles con los mecanismos

descritos para la neurotoxicidad inducida por arsénico y manganeso. Putnala et al. (2026) indica que este comportamiento produce alteraciones dependientes de la dosis y del tiempo en la velocidad de nado, la duración de la inmovilidad y el comportamiento socioafectivo, indicando que incluso concentraciones ambientalmente relevantes pueden comprometer el desempeño locomotor de los peces. Estos autores atribuyen dichos cambios a la alteración de la neurotransmisión y al incremento del estrés oxidativo, mecanismos que podrían contribuir a explicar las respuestas conductuales registradas en el presente estudio.

Por otra parte, la elevada sensibilidad observada en *Danio rerio* coincide con la tendencia descrita en investigaciones recientes sobre biomarcadores conductuales en peces. Hasan et al. (2025) destaca que diferentes contaminantes ambientales, aun perteneciendo a grupos químicos distintos, convergen en mecanismos fisiopatológicos similares caracterizados por estrés oxidativo, alteraciones en la neurotransmisión, cambios en la actividad de acetilcolinesterasa y modificaciones de la locomoción, la ansiedad y la interacción social. Esta convergencia explica por qué el comportamiento constituye un biomarcador altamente sensible para detectar efectos subletales independientemente del tipo de contaminante presente en el agua, (Izyurov et al., 2024).

4.7.6.2. *Ventilación irregular*

La ventilación irregular observada en todos los organismos expuestos al agua tratada evidenció que este fue uno de los primeros signos fisiológicos de respuesta al estrés generado por la exposición residual a arsénico y manganeso. Aunque el tratamiento con mucílago de *Opuntia ficus-indica* redujo la concentración de ambos metales, la persistencia de este comportamiento indica que las concentraciones remanentes fueron suficientes para activar mecanismos compensatorios relacionados con la respiración. En peces, las modificaciones en la frecuencia o el patrón ventilatorio constituyen respuestas reflejas destinadas a mantener el

intercambio gaseoso y el equilibrio homeostático cuando existe una alteración ambiental o fisiológica. Perry et al. (2023) describen que la ventilación branquial es un mecanismo altamente regulado que responde rápidamente a cambios en la disponibilidad de oxígeno y a diferentes factores estresantes, razón por la cual su alteración representa uno de los indicadores fisiológicos más sensibles en estudios ecotoxicológicos.

Desde el punto de vista fisiológico, la ventilación irregular puede reflejar una respuesta del organismo frente al estrés generado por contaminantes, debido a que los peces pueden modificar sus patrones respiratorios ante cambios en las condiciones ambientales. Las alteraciones en la frecuencia y amplitud de los movimientos ventilatorios pueden constituir respuestas tempranas frente al estrés químico y emplearse como biomarcadores no invasivos de exposición a contaminantes, (Wang et al., 2024).

Perry et al. (2023) señalan que estos ajustes ventilatorios constituyen respuestas compensatorias esenciales para sostener el metabolismo aeróbico cuando la función respiratoria se encuentra comprometida. De manera similar, Kämmer et al. (2024) demostraron que la exposición a compuestos neurotóxicos modifica significativamente los parámetros respiratorios de *Danio rerio*, especialmente durante las etapas en las que la respiración depende principalmente de las branquias, confirmando que la ventilación es un biomarcador altamente sensible frente al estrés químico.

En consecuencia, la ventilación irregular debe interpretarse como un biomarcador subletal de alta sensibilidad que evidencia la presencia de un estrés residual, más que como un indicador de toxicidad aguda. Este resultado complementa la elevada eficiencia del biocoagulante en la remoción de metales, pero también pone de manifiesto la importancia de incorporar biomarcadores fisiológicos en la evaluación de tecnologías de tratamiento de agua, ya que estos permiten identificar alteraciones funcionales antes de que se manifiesten efectos

letales o disminuya la supervivencia (Uusi-Heikkilä et al., 2024; Wang et al., 2013). En este contexto, Ventura-Lima et al. (2009) destacan que los cambios en la ventilación constituyen una de las primeras respuestas homeostáticas de los peces frente a condiciones ambientales adversas, debido a que buscan mantener el intercambio gaseoso y el equilibrio ácido-base. Asimismo, Çelebi et al. (2023) señalan que *Danio rerio* es uno de los modelos biológicos más sensibles para detectar respuestas fisiológicas tempranas frente a contaminantes acuáticos, lo que respalda el empleo de biomarcadores conductuales y fisiológicos como herramientas complementarias en la evaluación ecotoxicológica de tecnologías de tratamiento de agua.

4.7.6.3. *Aislamiento social y pigmentación anormal*

Los resultados post tratamiento con *Opuntia ficus-indica* al 50 % y con nivel alto de contaminación presentó el mayor porcentaje de efectos subletales de aislamiento social y pigmentación anormal a comparación de 25% y 100%.

Sugiriendo que la concentración alta de contaminantes genera un nivel de estrés suficiente para activar respuestas adaptativas en peces debido a que reflejan alteraciones en procesos neurobiológicos y fisiológicos antes de que ocurran efectos letales. El comportamiento de los “otros efectos”, correspondientes al aislamiento social y la pigmentación anormal, presentó un patrón no monotónico, con valores de 35,71 %, 71,43 % y 25,00 % para las exposiciones de 25 %, 50 % y 100 %, respectivamente. Por tanto, el incremento de la concentración del agua tratada no produjo un aumento progresivo de estos signos. Este comportamiento puede estar relacionado con la naturaleza multifactorial de las respuestas conductuales y fisiológicas de los peces, las cuales no necesariamente presentan una relación lineal con la concentración de exposición. La mayor frecuencia observada en la concentración intermedia podría reflejar una respuesta biológica diferencial frente a las

condiciones del medio; sin embargo, con los resultados disponibles no es posible establecer un mecanismo específico que explique la disminución observada en la concentración del 100 %. En consecuencia, este patrón debe interpretarse como una respuesta no monotónica y no como evidencia de una menor toxicidad de la concentración más alta.

Ionescu et al. (2025) habla que se debe a la alteración de circuitos neuronales relacionados con la ansiedad, la exploración y la comunicación entre individuos, sobre el sistema nervioso central.

Ma et al. (2024) demostraron que la exposición crónica a arsenito de sodio reduce la cohesión del cardumen, la socialización y la memoria en *Danio rerio*, acompañándose de alteraciones histopatológicas en el telencéfalo y el mesencéfalo, así como cambios en la expresión de genes relacionados con el comportamiento social y el desarrollo neuronal. De manera similar, Putnala et al. (2025a) mostró que la exposición temprana al arsénico induce estrés oxidativo, apoptosis y alteraciones en las vías dopaminérgicas, serotoninérgicas y colinérgicas, comprometiendo la respuesta social y otras funciones neuroconductuales del pez cebra, ello coincide con los resultados del presente estudio y sugieren que el aislamiento social podría representar una manifestación temprana de neurotoxicidad ocasionada por la exposición residual a los metales, aun cuando el tratamiento disminuyó significativamente su concentración.

En peces, los cambios en la coloración pueden originarse por modificaciones en la distribución de los melanóforos y por alteraciones en la regulación neuroendocrina de estas células pigmentarias, procesos que son altamente sensibles al estrés fisiológico, (Ionescu et al., 2025). La exposición a contaminantes puede modificar la homeostasis celular mediante la generación de especies reactivas de oxígeno, alterando el funcionamiento de diferentes tipos celulares, incluidos los pigmentarios. Kamila et al. (2025) indican que el estrés oxidativo

representa uno de los mecanismos centrales responsables de las alteraciones fisiológicas inducidas por contaminantes, afectando múltiples tejidos y sistemas biológicos antes de la aparición de lesiones irreversibles.

Desde el enfoque ecotoxicológico, la presencia conjunta de aislamiento social y pigmentación anormal evidencia la importancia de evaluar biomarcadores conductuales como complemento de los ensayos tradicionales de supervivencia y mortalidad. Mientras organismos como *Lemna minor* y *Daphnia magna* presentaron efectos limitados bajo las condiciones experimentales, *Danio rerio* mostró respuestas fisiológicas más sensibles frente a las concentraciones residuales de arsénico y manganeso, lo que confirma la utilidad del pez cebra como organismo modelo para detectar efectos subletales, (Zhao et al., 2024). Estos resultados concuerdan con estudios recientes que describen a *Danio rerio* como uno de los modelos experimentales más robustos para evaluar neurotoxicidad inducida por contaminantes debido a la alta sensibilidad de sus respuestas conductuales, fisiológicas y moleculares, (Lin et al., 2023).

4.7.6.4. *Pruebas moleculares*

- *Expresión del gen SOD*

La expresión relativa del gen SOD disminuyó en todas las dosis evaluadas respecto al control, observándose la mayor reducción en el tratamiento al 25 % (RQ = 0,214), seguida de las dosis de 50 % (RQ = 0,220) y 100 % (RQ = 0,304), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Esta respuesta sugiere que, a pesar de la reducción de arsénico y manganeso obtenida mediante el tratamiento con *Opuntia ficus-indica*, los organismos continuaron expuestos a concentraciones residuales capaces de modificar la regulación de genes asociados con la defensa antioxidante. El superóxido dismutasa constituye una de las principales enzimas

encargadas de neutralizar el radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$), representando la primera barrera celular frente al estrés oxidativo. Por ello, en concordancia con Fujiwara et al. (2024) estos cambios en su expresión suelen considerarse indicadores tempranos de alteraciones redox antes de que se manifiesten lesiones histológicas o efectos letales. Oros et al. (2025) indican que la expresión de SOD no responde de manera lineal a la exposición a contaminantes, sino que depende de la intensidad del estrés, del órgano evaluado, de la duración de la exposición y de la interacción entre diferentes vías de señalización celular.

Un aspecto relevante es que la disminución observada en este estudio difiere de investigaciones donde la exposición a contaminantes ambientales produjo una sobreexpresión de SOD como mecanismo adaptativo. Por ejemplo, Bayır et al. (2025) en su estudio multiorgánico realizado en *Danio rerio* expuesto al agua de un reservorio contaminado mostró una inducción significativa de sod, cat y nrf2 en hígado, branquias, cerebro e intestino, interpretándose como una activación coordinada de la respuesta antioxidante frente a una elevada carga de contaminantes. Los autores señalaron que dicha activación representa un mecanismo compensatorio destinado a mantener la homeostasis redox durante las primeras fases del daño oxidativo. En contraste, la regulación negativa observada en el presente estudio podría indicar que la exposición al efluente tratado generó un escenario biológico diferente, donde la respuesta antioxidante ya no se encontraba en una fase de activación, sino posiblemente de desregulación o adaptación posterior, (Oros et al., 2025).

Esta interpretación es consistente con, (Putnala et al., 2025b)que demuestran que la exposición al arsénico puede inducir respuestas bifásicas en los genes antioxidantes. Durante etapas tempranas del desarrollo de *Danio rerio*, el arsénico produjo una disminución significativa en la expresión de Cu/ZnSOD, MnSOD, GPx y de los factores reguladores nrf2a y nrf2b, acompañada por un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno y apoptosis. Sin embargo, tras prolongar la exposición, los autores observaron una recuperación

parcial de la expresión de nrf2, interpretándola como una respuesta adaptativa destinada a restablecer la defensa antioxidante, (Putnala et al., 2025a). Estos hallazgos sugieren que la disminución de SOD encontrada en el presente estudio no necesariamente representa un menor estrés oxidativo, sino una regulación temporal dependiente del estado fisiológico del organismo y del tiempo de exposición.

En este contexto, las respuestas transcriptómicas pueden diferir considerablemente de aquellas inducidas por un único contaminante. Li et al. (2025) demostraron que la coexposición de *Danio rerio* a arsénico y nanoplásticos modificó de forma distinta la expresión de Mn-sod (superóxido dismutasa dependiente de manganeso), Cu/Zn-sod (superóxido dismutasa dependiente de cobre y zinc), cat (catalasa) y gpx (glutatión peroxidasa) según el tejido analizado, observándose incluso una supresión de genes antioxidantes en hígado mientras otros permanecían sin cambios en branquias. Los autores concluyeron que las mezclas de contaminantes alteran las redes antioxidantes mediante mecanismos de interacción que no pueden predecirse a partir de estudios con un solo tóxico.

Draviana et al. (2026), indican que la alteración de genes antioxidantes puede estar asociada con la respuesta del organismo frente al estrés oxidativo, debido a que SOD participa en la primera línea de defensa antioxidante, mientras que CAT y GPX1 intervienen en la eliminación del peróxido de hidrógeno y contribuyen al mantenimiento de la homeostasis celular. Asimismo, investigaciones experimentales sobre tóxicos ambientales en *Danio rerio* han demostrado que las modificaciones en sod, cat y gpx se correlacionan con cambios en el comportamiento y con procesos apoptóticos en tejidos nerviosos, lo que respalda la relación entre la disminución de SOD y los efectos subletales observados en el presente estudio.

- Expresión VTG

La expresión relativa del gen vitelogenina (VTG) mostró un resultado de sobreexpresión en todos los tratamientos con respecto al grupo control, siendo el tratamiento al 50 % el que presentó el mayor incremento de la expresión relativa (RQ = 4,387), seguido por los tratamientos al 100 % (RQ = 2,806) y 25 % (RQ = 1,959). La sobreexpresión de la vitelogenina observada en los organismos expuestos adquiere especial relevancia debido a que la mayoría de los ejemplares empleados en este estudio correspondieron a machos.

En los peces ovíparos, la vitelogenina es una fosfolipoproteína sintetizada principalmente en el hígado de las hembras sexualmente maduras y constituye el precursor del vitelo, desempeñando un papel fundamental en la maduración gonadal y el desarrollo de los ovocitos (Burden et al., 2026). Aunque los machos poseen el gen responsable de su síntesis, su expresión basal normalmente es muy baja; sin embargo, puede incrementarse cuando son expuestos a sustancias capaces de activar las vías de señalización estrogénica. Debido a esta característica, la inducción de la vitelogenina (VTG) en peces machos es considerada uno de los biomarcadores más sensibles para detectar alteraciones endocrinas inducidas por contaminantes ambientales con actividad estrogénica o capaces de interferir con la esteroidogénesis. Por ello, la inducción de este gen en organismos machos puede constituir un indicio de activación de la vía del receptor de estrógeno (ER) o de alteraciones en los mecanismos de regulación endocrina (Rachamalla et al., 2024).

Del mismo modo Putnala et al. (2025) señala que el sexo del organismo también atribuye a una mayor acumulación de arsénico en el hígado de los machos, ya que las hembras pueden eliminar parcialmente los tóxicos depurándolos hacia los óvulos en desarrollo, una vía de desintoxicación inaccesible para los machos. Este tipo de respuesta ha sido ampliamente descrito como una señal temprana de alteraciones en la homeostasis endocrina y resalta el valor de la vitelogenina como biomarcador molecular para detectar

efectos que no son evidentes mediante la evaluación de la mortalidad o de otros parámetros convencionales (Brown et al., 2023).

El mayor nivel de expresión observado en el tratamiento al 50 % podría indicar que esta concentración generó una respuesta fisiológica suficientemente intensa para activar mecanismos de regulación endocrina sin comprometer la capacidad adaptativa de los organismos. La respuesta de biomarcadores moleculares no siempre presenta un comportamiento lineal con respecto a la concentración del contaminante, debido a que intervienen mecanismos de regulación génica, retroalimentación hormonal y adaptación celular que pueden modificar la intensidad de la respuesta. Por esta razón, una concentración intermedia puede inducir una mayor expresión de determinados genes que una concentración superior, sin que ello implique necesariamente una mayor toxicidad (Tóth et al., 2024).

Aunque el tratamiento redujo la toxicidad aguda, la sobreexpresión de VTG sugiere que cantidades residuales de contaminantes o los cambios fisicoquímicos generados durante el tratamiento pudieron ser suficientes para desencadenar respuestas moleculares en *Danio rerio*. Estudios tales como Cannea et al. (2025) han señalado que la expresión de VTG constituye un biomarcador altamente sensible frente a la exposición a contaminantes con capacidad de interferir en procesos endocrinos, por lo que pequeñas modificaciones en su expresión pueden reflejar alteraciones fisiológicas antes de que existan efectos visibles sobre el crecimiento, la reproducción o la supervivencia.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

PRIMERA. - El mucílago de *Opuntia ficus-indica* presentó capacidad de remoción de arsénico y manganeso en las aguas sintéticas evaluadas, alcanzando las mayores eficiencias en el nivel alto de contaminación inicial, con valores promedio de 82,50 % para As y 62,22 % para Mn. En contraste, los tratamientos con concentraciones iniciales bajas presentaron porcentajes de remoción negativos, evidenciando que la eficiencia del proceso estuvo condicionada por la concentración inicial de los contaminantes y las condiciones experimentales evaluadas

SEGUNDA. - El tratamiento con mucílago modificó las características fisicoquímicas del agua, observándose un incremento del pH y una reducción de la turbidez. La mayor remoción de turbidez correspondió al tratamiento con extracto al 50 %, alcanzando 75,15 %, mientras que el extracto al 70 % presentó una eficiencia menor. Este resultado demuestra que una mayor concentración de extracto no necesariamente genera una mayor eficiencia de clarificación y evidencia la necesidad de optimizar las condiciones de aplicación del biocoagulante.

TERCERA. - Se determinó que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* presentó capacidad de remoción de arsénico (As) y manganeso (Mn) en las aguas sintéticas evaluadas, siendo más eficiente en los tratamientos con concentraciones iniciales altas de contaminantes (0,06 mg/L de As y 2,00 mg/L de Mn). En estos tratamientos, la concentración final de As se redujo hasta valores de 0,01–0,02 mg/L, alcanzándose porcentajes de remoción de 71,67 % a 83,83 %, con un promedio de 82,50 %; mientras que la concentración final de Mn disminuyó hasta 0,74–0,88 mg/L, con porcentajes de remoción de 56,07 % a 62,82 %, alcanzando un promedio de 62,22 %. Asimismo, el tratamiento con extracto 50 presentó una remoción de turbidez de

75,15 %. Estos resultados evidencian que el mucílago de *O. ficus-indica* posee capacidad para reducir las concentraciones de As y Mn bajo las condiciones experimentales evaluadas, aunque su eficiencia varió según la concentración inicial de los contaminantes y la concentración de extracción del mucílago.

CUARTA. - La evaluación ecotoxicológica evidenció una respuesta diferencial entre los organismos empleados. *Lemna minor* y *Daphnia magna* presentaron baja sensibilidad frente al agua tratada, mientras que *Danio rerio* mostró mayor sensibilidad, manifestada mediante alteraciones conductuales y fisiológicas. Estos resultados evidencian la importancia de emplear organismos de diferentes niveles tróficos para obtener una evaluación integral de los posibles efectos biológicos asociados al agua tratada.

QUINTA. - La evaluación molecular en hígado de *Danio rerio* mediante RT-qPCR evidenció cambios en la expresión relativa de los genes SOD y Vitelogenina respecto al grupo control, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados resaltan la utilidad de los biomarcadores moleculares como herramientas complementarias a los bioensayos ecotoxicológicos y a los análisis fisicoquímicos para identificar posibles respuestas subletales posteriores al tratamiento.

5.2. Recomendaciones

- Evaluar la estabilidad y vida útil del mucílago de *Opuntia ficus-indica* bajo diferentes condiciones de almacenamiento, con el fin de determinar su conservación y mantener su eficiencia como coagulante natural.
- Determinar el mecanismo de remoción de arsénico y manganeso mediante técnicas de caracterización de los flóculos formados (SEM-EDS, FTIR, XRD o análisis de adsorción), para comprender las interacciones entre el mucílago y los metales.

- Analizar la influencia de variables ambientales, como la temperatura, la dureza, la materia orgánica natural y la fuerza iónica del agua, sobre la eficiencia del proceso de coagulación-floculación.
- Evaluar la generación, composición y posibles alternativas de valorización o disposición final de los lodos producidos durante el tratamiento, considerando criterios de sostenibilidad ambiental.
- Investigar la eficiencia del mucílago de *Opuntia ficus-indica* para la remoción simultánea de otros contaminantes de interés ambiental, como fosfatos, nitratos, materia orgánica, colorantes o microcontaminantes emergentes.
- Realizar ensayos de exposición crónica en organismos acuáticos para evaluar posibles efectos a largo plazo que no puedan detectarse mediante bioensayos agudos.
- Ampliar la evaluación molecular mediante el análisis de genes relacionados con apoptosis, respuesta inflamatoria, metabolismo energético y reparación del ADN, con el propósito de comprender con mayor profundidad los mecanismos de respuesta biológica.
- Comparar el desempeño del mucílago obtenido mediante diferentes métodos de extracción (maceración, extracción asistida por ultrasonido o calentamiento controlado) para identificar el procedimiento más eficiente y reproducible.
- Evaluar la factibilidad ambiental y económica del uso del mucílago de *Opuntia ficus-indica* mediante un análisis de ciclo de vida (ACV) y un análisis costo-beneficio frente a coagulantes químicos convencionales.
- Validar el tratamiento en sistemas continuos o plantas piloto, simulando condiciones reales de operación para facilitar su futura implementación en plantas de tratamiento de agua.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alazaiza, M. Y. D., Alzghoul, T. M., Nassani, D. E., & Bashir, M. J. K. (2025). Natural Coagulants for Sustainable Wastewater Treatment: Current Global Research Trends. Processes, 13(6). https://doi.org/10.3390/PR13061754

Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. Journal of Chemistry, 2019. https://doi.org/10.1155/2019/6730305

Ali, S. K., Abdou, M. M., Emara, M. M., Farag, R. S., & Mubarak, M. F. (2025a). Eco-friendly solutions: a comprehensive review of natural coagulants for sustainable water treatment. Environmental Geochemistry and Health, 47(12), 535. https://doi.org/10.1007/S10653-025-02803-3

Alzharani, A. A. (2024). Activated Opuntia ficus-indica as an efficient adsorbent for iodine and heavy metals Cr(III), Cu(II) and Ni(II) ions uptake for wastewater treatment. Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences, 10(3), 491–509. https://doi.org/10.1007/S43994-023-00120-Y/FIGURES/13

Amiri, S., Vatanpour, V., & He, T. (2022). Optimization of Coagulation-Flocculation Process in Efficient Arsenic Removal from Highly Contaminated Groundwater by Response Surface Methodology. Molecules, 27(22), 7953. https://doi.org/10.3390/MOLECULES27227953/S1

Avornyo, A. K., Hasan, S. W., Banat, F., & Chrysikopoulos, C. V. (2024). Preparation, characterization, and applications of kaolin/kaolin-based composite membranes in oily wastewater treatment: Recent developments, challenges, and opportunities. Journal of Environmental Management, 370, 122800. https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2024.122800

Baatache, O., Benalia, A., Derbal, K., Khalfaoui, A., & Pizzi, A. (2025). Optimized Coagulation Flocculation of Drinking Water Using Pine cone-Based Bio-Coagulants: A Comparative Study of Different Extracts. Water 2025, Vol. 17, Page 1793, 17(12), 1793. https://doi.org/10.3390/W17121793

Bayır, M., Bayır, A., Uzun, B. N., & Turhan, S. (2025). Investigating the genomic and biochemical effects of dalapon on antioxidant systems in zebrafish, Danio rerio. Toxicology Mechanisms and Methods, 35(6), 604–619. https://doi.org/10.1080/15376516.2025.2473525

Bedoya, A. G., Clemente, A. R., https://dialnet.unirioja.es/servlet/autor?codigo=6457796, & https://dialnet.unirioja.es/servlet/autor?codigo=6457797. (2024). Coagulant and flocculant effect of Opuntia ficus-indica in water treatment. Afinidad: Revista de Química Teórica y Aplicada, ISSN 0001-9704, Vol. 81, No. 602, 2024, Págs. 112-122, 81(602), 112–122. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9556187&info=resumen&idioma=SPA

Bedrossiantz, J., Prats, E., & Raldúa, D. (2023). Neurotoxicity Assessment in Adult Danio rerio using a Battery of Behavioral Tests in a Single Tank. Journal of Visualized Experiments : JoVE, 2023(201). https://doi.org/10.3791/65869

Benalia, A., Derbal, K., Amrouci, Z., Baatache, O., Khalfaoui, A., & Pizzi, A. (2024). Application of Plant-Based Coagulants and Their Mechanisms in Water Treatment: A Review. In Journal of Renewable Materials (Vol. 12, Number 4, pp. 667–698). Tech Science Press. https://doi.org/10.32604/jrm.2024.048306

Binet, M. T., Reichelt-Brushett, A., McKnight, K., Golding, L. A., Humphrey, C., & Stauber, J. L. (2023). Adult Corals Are Uniquely More Sensitive to Manganese Than Coral

Early-Life Stages. Environmental Toxicology and Chemistry, 42(6), 1359–1370. https://doi.org/10.1002/ETC.5618

Bratby, J. (2015). Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment - Second Edition. Water Intelligence Online, 5(0), 9781780402321–9781780402321. https://doi.org/10.2166/9781780402321

Brown, R. J., Panter, G. H., Burden, N., Salinas, E. R., Weltje, L., Wheeler, J. R., Wolf, Y., & Lagadic, L. (2023). Are changes in vitellogenin concentrations in fish reliable indicators of chemical-induced endocrine activity? In Ecotoxicology and Environmental Safety (Vol. 266). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115563

Burden, N., Aubee, C., Augusiak, J., Baccaro, M., Boehler, S., Brion, F., Brown, R. J., Coady, K. K., Dang, Z., Eilebrecht, E., Fagundes, T., Fisher, T., Fryer, M., Gao, Z., Goodband, T., Hecker, M., Holbech, H., Hoeger, S., Jacobs, M., … Yamamoto, H. (2026). Workshop report: scoping for the development of a proposal for an OECD guidance document on fish vitellogenin assessment. Integrated Environmental Assessment and Management, 22(1), 11–20. https://doi.org/10.1093/inteam/vjaf127

Burgos, C., Chamorro, S., Monsalves, N., Gómez, G., & Vidal, G. (2025). Assessment of Acute Toxicity of Acid Mine Drainage via Toxicity Identification Evaluation (TIE) Using Daphnia magna and Chlorella vulgaris. Water 2025, Vol. 17, Page 1313, 17(9), 1313. https://doi.org/10.3390/W17091313

Byeon, E., Kang, H. M., Yoon, C., & Lee, J. S. (2021). Toxicity mechanisms of arsenic compounds in aquatic organisms. Aquatic Toxicology, 237, 105901. https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2021.105901

Cannea, F. B., Porcu, C., Follesa, M. C., & Padiglia, A. (2025). Sex-Specific Molecular and Genomic Responses to Endocrine Disruptors in Aquatic Species: The Central Role of Vitellogenin. In Genes (Vol. 16, Number 11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/genes16111317

Calisi, A. (2023). Integrating Bioindicators and Biomarkers in Aquatic Ecotoxicology: An Overview. Applied Sciences 2023, Vol. 13, Page 11920, 13(21), 11920. https://doi.org/10.3390/APP132111920

Carmen Fernández-Martínez, M., Jiménez-Martínez, C., Rosalía Jaime-Fonseca, M., Alamilla-Beltrán, L., Politécnico Nacional, I., Nacional de Ciencias Biológicas, E., Massieu, W., Adolfo López Mateos, U., Madero, G. A., & de México, C. C. (2024a). Extraction of Purple Prickly Pear (Opuntia ficus-indica) Mucilage by Microfiltration, Composition, and Physicochemical Characteristics. Polymers 2024, Vol. 16, Page 3383, 16(23), 3383. https://doi.org/10.3390/POLYM16233383

Çelebi, H., Bahadır, T., Ismail¸sim¸sek, ˙, Ismail¸sim¸, I., & And¸sevketand¸ And¸sevket Tulun, I. (2023). Danio rerio: A Sustainable Model for Monitoring Pollutants in Aquatic Environments. Environmental Sciences Proceedings 2023, Vol. 25, Page 69, 25(1), 69. https://doi.org/10.3390/ECWS-7-14310

Chaudhary, M. M., Hussain, S., Du, C., Conway, B. R., & Ghori, M. U. (2024). Arsenic in Water: Understanding the Chemistry, Health Implications, Quantification and Removal Strategies. ChemEngineering 2024, Vol. 8, Page 78, 8(4), 78. https://doi.org/10.3390/CHEMENGINEERING8040078

Choque-Quispe, D., Ramos-Pacheco, B. S., Ligarda-Samanez, C. A., Barboza-Palomino, G. I., Kari-Ferro, A., Taipe-Pardo, F., & Choque-Quispe, Y. (2022). Heavy metal removal by biopolymers-based formulations with native potato starch/nopal mucilage.

Revista Facultad de Ingenieria, (103), 44–50. https://doi.org/10.17533/UDEA.REDIN.20201112

Choque-Quispe, Y., Solano-Reynoso, A. M., Dueñas-Valcarcel, C. E., Arostegui-Leon, E., Rodriguez-Cardenas, L., & Choque-Quispe, D. (2026a). Application of Nostoc sphaericum and Opuntia ficus-indica Mucilage in the Coagulation-Flocculation Process of Sanitary Landfill Leachate: An Optimization Study. Polymers, 18(4). https://doi.org/10.3390/POLYM18040474

Colijn, S., Yin, Y., & Stratman, A. N. (2022). High-throughput methodology to identify CRISPR-generated Danio rerio mutants using fragment analysis with unmodified PCR products. Developmental Biology, 484, 22–29. https://doi.org/10.1016/J.YDBIO.2022.02.003

Condori Quilla, C. D., & Pacohuanaco Chata, E. G. (2025). Eficiencia de la coagulación y electrocoagulación en la reducción de microplásticos de la planta de tratamiento de aguas residuales del distrito de Coata - Puno. Universidad Nacional de Juliaca. https://hdl.handle.net/20.500.14845/188

Conradi, M., Sánchez-Moyano, J. E., Bonnail, E., DelValls, T. Á., & Riba, I. (2025). Toxicological Efficiency Evaluation of the ASEC Technology for Contaminated Mining Water Using Lemna minor. Water 2025, Vol. 17, Page 2175, 17(15), 2175. https://doi.org/10.3390/W17152175

Custodio, M., Cuadrado, W., Peñaloza, R., Montalvo, R., Ochoa, S., & Quispe, J. (2020). Human Risk from Exposure to Heavy Metals and Arsenic in Water from Rivers with Mining Influence in the Central Andes of Peru. Water 2020, Vol. 12, Page 1946, 12(7), 1946. https://doi.org/10.3390/W12071946

Czub, M., Nawała, J., Popiel, S., Brzeziński, T., Maszczyk, P., Sanderson, H., Maser, E., Gordon, D., Dziedzic, D., Dawidziuk, B., Pijanowska, J., Fabisiak, J., Szubska, M., Lang, T., Vanninen, P., Niemikoski, H., Missiaen, T., Lehtonen, K. K., Bełdowski, J., & Kotwicki, L. (2021). Acute aquatic toxicity of arsenic-based chemical warfare agents to Daphnia magna. Aquatic Toxicology, 230, 105693. https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2020.105693

Dey, S., Tripathy, B., Kumar, M. S., & Das, A. P. (2023). Ecotoxicological consequences of manganese mining pollutants and their biological remediation. Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 5, 55–61. https://doi.org/10.1016/J.ENCECO.2023.01.001

Directrices para el ensayo de productos químicos | OCDE. (n.d.). Retrieved April 13, 2026, from https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/testing-of-chemicals/test-guidelines.html

Draviana, H. T., Fitriannisa, I., Husain, S., Chiou, Y.-T., Kuo, T.-R., & Chen, C.-Y. (2026). Evaluating the nanotoxicity and antioxidant pathway modulation of MnO2 nanoparticles in zebrafish. Scientific Reports. https://doi.org/10.1038/s41598-026-49316-2

Duester, L., van der Geest, H. G., Moelleken, S., Hirner, A. V., & Kueppers, K. (2011). Comparative phytotoxicity of methylated and inorganic arsenic- and antimony species to Lemna minor, Wolffia arrhiza and Selenastrum capricornutum. Microchemical Journal, 97(1), 30–37. https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2010.05.007

El Bouaidi, W., Libralato, G., Douma, M., Ounas, A., Yaacoubi, A., Lofrano, G., Albarano, L., Guida, M., & Loudiki, M. (2022). A review of plant-based coagulants for turbidity

and cyanobacteria blooms removal. Environmental Science and Pollution Research 2022 29:28, 29(28), 42601–42615. https://doi.org/10.1007/S11356-022-20036-0

El Mouhri, G., Elmansouri, I., Amakdouf, H., Belhassan, H., Kachkoul, R., El oumari, F. E., Merzouki, M., & Lahrichi, A. (2024). Evaluating the effectiveness of coagulation–flocculation treatment on a wastewater from the moroccan leather tanning industry : An ecological approach. Heliyon, 10(5), e27056. https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2024.E27056

Ferreira, S. C. C., Silva, K. S. da, Farias, P. E. S., Coutinho, A. B., & Zanandrea, I. (2023). EFEITOS DO MANGANÊS NA MORFOLOGIA DA Lemna minor L. (Araceae). Boletim Do Laboratório de Hidrobiologia, 33(2), 1–6. https://doi.org/10.18764/1981-6421E2023.7

Firdous, S. M., Pal, S., Khanam, S., & Zakir, F. (2024). Behavioral neuroscience in zebrafish: unravelling the complexity of brain-behavior relationships. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 397(12), 9295–9313. https://doi.org/10.1007/S00210-024-03275-5

Flores-Trujillo, A. K. I., Mussali-Galante, P., de Hoces, M. C., Blázquez-García, G., Saldarriaga-Noreña, H. A., Rodríguez-Solís, A., Tovar-Sánchez, E., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, L. (2021). Biosorption of heavy metals on Opuntia fuliginosa and Agave angustifolia fibers for their elimination from water. International Journal of Environmental Science and Technology, 18(2), 441–454. https://doi.org/10.1007/S13762-020-02832-8

Frumento, D., & Ţălu, Ş. (2026). Recent Advances in the Application of Natural Coagulants for Sustainable Water Purification. Eng 2026, Vol. 7, Page 38, 7(1), 38. https://doi.org/10.3390/ENG7010038

Fuentealba-Villarroel, F., Otarão Rosa, G., Malet Portela, S., Hartke, S., Gallas-Lopes, M., P Herrmann, A., & Piato, A. (2025). TRIzol-Based RNA Extraction in Adult Zebrafish v1. https://doi.org/10.17504/PROTOCOLS.IO.4R3L21DP4G1Y/V1

Fujiwara, G. H., Utsunomiya, H. S. M., Ferraz, J. V. C., Gutierres, D. M., Fernandes, I. F., & dos Santos Carvalho, C. (2024). Biochemistry biomarkers and metal levels as indicators of environmental pollution in Danio rerio exposed to the Sorocaba River (S.P.), Brazil. Ecotoxicology 2024 33:6, 33(6), 569–581. https://doi.org/10.1007/S10646-024-02753-Z

Gaviria-Bedoya, A., & Ainhoa Rubio-Clemente. (2024a). Coagulant and flocculant effect of Opuntia ficus-indica in water treatment. Afinidad. Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry, 81(602), 112–122. https://doi.org/10.55815/428768

Gaviria-Bedoya, A., & Ainhoa Rubio-Clemente. (2024b). Coagulant and flocculant effect of Opuntia ficus-indica in water treatment. Afinidad. Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry, 81(602), 112–122. https://doi.org/10.55815/428768

Ghosh, D., Ghosh, A., & Bhadury, P. (2022). Arsenic through aquatic trophic levels: effects, transformations and biomagnification—a concise review. Geoscience Letters 2022 9:1, 9(1), 20-. https://doi.org/10.1186/S40562-022-00225-Y

Ghosh, M., Dey, P., Das, A., Giri, A., Nath, S., & Giri, S. (2024). Evaluation of arsenic induced genotoxicity and its impact on life processes of Daphnia magna. Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 899, 503804. https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2024.503804

González-Avilez, E., Rodríguez-González, F., Vargas-Solano, S. V., Osorio-Ruiz, A., Jonathan, M. P., Campos-Villegas, L. E., González-Avilez, E., Rodríguez-González, F., Vargas-Solano, S. V., Osorio-Ruiz, A., Jonathan, M. P., & Campos-Villegas, L. E. (2024). Effect of the concentration of uronic acids in Opuntia mucilage on the removal of heavy metals and water quality of the Yautepec River, Mexico. Arabian Journal of Chemistry, 17(3), 105636. https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2024.105636

Gupta, A., Wathore, R., Hedaoo, R., Bherwani, H., Dhoble, A. S., & Labhasetwar, N. (2026). Multiparameter design optimisation of a mud-based natural draft biomass cookstove using response surface methodology and desirability function. Scientific Reports, 16(1). https://doi.org/10.1038/S41598-025-29684-X

Hasan, A. K. M. M., Martyniuk, C. J., Niyogi, S., & Chivers, D. P. (2025). A comprehensive review on the neurobehavioural effects of bisphenol compounds and the underlying molecular mechanisms in zebrafish (Danio rerio). In Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology (Vol. 296). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2025.110228

Hernández, R. B., Nishita, M. I., Espósito, B. P., Scholz, S., & Michalke, B. (2015). The role of chemical speciation, chemical fractionation and calcium disruption in manganese-induced developmental toxicity in zebrafish (Danio rerio) embryos. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 32, 209–217. https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2015.07.004

Hossain, M. S., Rahman, A., Asefa, E. M., Parveen, M., & Uddin, M. R. (2025). Assessing spatial distribution of heavy metal contamination in groundwater and associated human health risk in the Chittagong industrial area, Bangladesh. Journal of Hazardous Materials Advances, 18, 100728. https://doi.org/10.1016/J.HAZADV.2025.100728

Hu, K., He, H., Ma, Z., Chen, R., & Yang, Y. (2025). A self-floating hydrogel for heavy metal recovery from water. Applied Surface Science, 690, 162521. https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2025.162521

Ionescu, C., Rarinca, V., Visternicu, M., Ciobica, A., Romila, L., Burlui, V., Cimpeanu, M., Novac, B., & Gurzu, B. (2025). Oxidative Stress, Genetic Factors and Behavioral Responses to Chemical Exposure: Insights into Cancer Development in Zebrafish (Danio Rerio). Biochemical Genetics 2025 64:2, 64(2), 2968–3021. https://doi.org/10.1007/S10528-025-11148-6

ISO 20079:2005(en), Water quality — Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (Lemna minor) — Duckweed growth inhibition test. (n.d.). Retrieved April 13, 2026, from https://www.iso.org/obp/ui/es/#iso:std:iso:20079:ed-1:v1:en

Izyurov, A. E., Sorokin, I. E., Evsiukova, V. S., Zolotova, D. A., Kulikov, P. A., & Kulikov, A. V. (2024). Effects of prolonged exposure to manganese chloride on the brain serotonin metabolism and serotonin-regulated behavior in zebrafish. Nejrohimiâ, 41(3), 276–284. https://doi.org/10.31857/s1027813324030071

Jhan Pierre Chávez Vásquez, & Jhonatan Manuel Cholán Minchán. (2018). "EVALUACIÓN DEL MUCÍLAGO DE “Opuntia ficus-indica” Tesis para optar el título profesional de: Ingeniero de Minas. https://repositorio.upn.edu.pe/item/2247a61d-cd32-41dd-b880-3e8afc655238

Kamila, S., Dey, K. K., & Chattopadhyay, A. (2025). Arsenic and Chromium Induced Toxicity on Zebrafish Kidney: Mixture Effects on Oxidative Stress and Involvement of Nrf2-Keap1-ARE, DNA Repair, and Intrinsic Apoptotic Pathways. Journal of

Applied Toxicology, 45(3), 387–399. https://doi.org/10.1002/JAT.4709;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Kämmer, N., Reimann, T., & Braunbeck, T. (2024). Neurotoxic pesticides change respiratory parameters in early gill-breathing, but not in skin-breathing life-stages of zebrafish (Danio rerio). Aquatic Toxicology, 267, 106831. https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2024.106831

Kang, S., Guo, C., Xue, C., Ma, C., Mu, H., & Sun, L. (2022). Toxic Effects of Two Representative Rare Earth Elements (La and Gd) on Danio rerio Based on Transcriptome Analysis. Toxics, 10(9), 519. https://doi.org/10.3390/TOXICS10090519/S1

Khaliha, S., Jones, D., Kovtun, A., Navacchia, M. L., Zambianchi, M., Melucci, M., & Palermo, V. (2023). The removal efficiency of emerging organic contaminants, heavy metals and dyes: intrinsic limits at low concentrations. Environmental Science: Water Research and Technology, 9(6), 1558–1565. https://doi.org/10.1039/d2ew00644h

Kerdoun, R. M., Kerdoun, M. A., Touati, L., & Belkhalfa, H. (2024). Sensitivity of Daphnia magna: Acute Toxicity Evaluation of 22 Metals. Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences , 14, 62–70. https://doi.org/10.29169/1927-5951.2024.14.08

Kotnala, S., Tiwari, S., Nayak, A., Bhushan, B., Chandra, S., Medeiros, C. R., & Coutinho, H. D. M. (2025). Impact of heavy metal toxicity on the human health and environment. Science of The Total Environment, 987, 179785. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2025.179785

Koul, B., Bhat, N., Abubakar, M., Mishra, M., Arukha, A. P., & Yadav, D. (2022). Application of Natural Coagulants in Water Treatment: A Sustainable Alternative to

Chemicals. Water 2022, Vol. 14, Page 3751, 14(22), 3751. https://doi.org/10.3390/W14223751

Kurniawan, S. B., Abdullah, S. R. S., Imron, M. F., Said, N. S. M., Ismail, N. 'Izzati, Hasan, H. A., Othman, A. R., & Purwanti, I. F. (2020). Challenges and Opportunities of Biocoagulant/Bioflocculant Application for Drinking Water and Wastewater Treatment and Its Potential for Sludge Recovery. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(24), 9312. https://doi.org/10.3390/IJERPH17249312

Leary, S., & Johnson, C. L. (2020). AVMA GUIDELINES FOR THE EUTHANASIA OF ANIMALS: 2020 EDITION AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition* Members of the Panel on Euthanasia AVMA Staff Consultants.

Li, G., Lv, M., Zhang, H., Zhang, D., Yu, H., Li, Q., & Wang, L. (2025). Toxic effects of co-exposure to polystyrene nanoplastics and arsenic in zebrafish (Danio rerio): Oxidative stress, physiological and biochemical responses. Ecotoxicology and Environmental Safety, 298, 118286. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2025.118286

Li, X., Wang, Q., Wang, C., Yang, Z., Wang, J., Zhu, L., Zhang, D., & Wang, J. (2022). Ecotoxicological response of zebrafish liver (Danio rerio) induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate. Ecological Indicators, 143, 109388. https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2022.109388

Li, Y., Yao, S., Dong, X., Fan, Y., Ma, X., Zhu, B., & Chang, M. (2024). Preparation of a Lignin-Based Cationic Flocculant and Its Application in Kaolin Suspension Treatment. Polymers 2024, Vol. 16, Page 1131, 16(8), 1131. https://doi.org/10.3390/POLYM16081131

Lichtfouse, E., Morin-Crini, N., Bradu, C., Boussouga, Y. A., Aliaskari, M., Schäfer, A. I., Das, S., Wilson, L. D., Ike, M., Inoue, D., Kuroda, M., Déon, S., Fievet, P., & Crini, G. (2022). Methods for selenium removal from contaminated waters: a review. Environmental Chemistry Letters 2022 20:3, 20(3), 2019–2041. https://doi.org/10.1007/S10311-022-01419-8

Lin, W., Huang, Z., Zhang, W., & Ren, Y. (2023). Investigating the neurotoxicity of environmental pollutants using zebrafish as a model organism: A review and recommendations for future work. NeuroToxicology, 94, 235–244. https://doi.org/10.1016/J.NEURO.2022.12.009

Liu, X., Xing, Y., Liu, G., Bao, D., Hu, W., Bi, H., & Wang, M. (2025). Extraction, purification, structural features, biological activities, and applications of polysaccharides from Opuntia ficus-indica (L.) Mill. (cactus): a review. Frontiers in Pharmacology, 16, 1566000. https://doi.org/10.3389/FPHAR.2025.1566000/TEXT

Liu, Y., Zhang, J., Yang, S., & Yang, H. (2023). Biodegradation and removal of heavy oil using Pseudomonas sp. and Bacillus spp. isolated from oily sludge and wastewater in Xinjiang Oilfield, China. Journal of Environmental Chemical Engineering, 11(3), 110123. https://doi.org/10.1016/J.JECE.2023.110123

López Maldonado, E. A. (2016, March). (PDF) Biopolímeros naturales y modificados con aplicaciones en medio ambiente, salud y agricultura sustentable. Researchgate.Net/Publication/301613524_Biopolimeros_naturales_y_modificados_con_aplicaciones_en_medio_ambiente_salud_y_agricultura_sustentable. https://www.researchgate.net/publication/301613524_Biopolimeros_naturales_y_modificados_con_aplicaciones_en_medio_ambiente_salud_y_agricultura_sustentable

Ma, H., Yang, W., Li, Y., Li, J., Yang, X., Chen, Y., Ma, Y., Sun, D., & Sun, H. (2024). Effects of sodium arsenite exposure on behavior, ultrastructure and gene expression of brain in adult zebrafish (Danio rerio). Ecotoxicology and Environmental Safety, 273, 116107. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2024.116107

Manchi, O. L. (2025). Eficiencia de Opuntia ficus indica y Vicia faba como coagulantes naturales en la remoción de la turbiedad de las aguas residuales del río Chumbao: Efficiency of Opuntia ficus indica and Vicia faba as natural coagulants in turbidity removal from the waste…. LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades, 6(2), 2895-2909–2895 – 2909. https://doi.org/10.56712/LATAM.V6I2.3872

Maity, S., Biswas, R., Verma, S. K., & Sarkar, A. (2020). Natural polysaccharides as potential biosorbents for heavy metal removal. Food, Medical, and Environmental Applications of Polysaccharides, 627–665. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819239-9.00012-9

Márquez, F., Fabiana, I., Fernández, L., Alejandra, M., Reyes, A., & Rosalva, M. (2023). ASSESSMENT OF THE EFFICIENCY AS COAGULANT-FLOCCULANT OF MUCILAGE OBTAINED FROM PRICKLY PEAR (Opuntia ficus-indica) (pp. 4–044). Universidad Católica Boliviana “"San Pablo”. Programa VLIR - UOS. https://repositorio.ucb.edu.bo/handle/20.500.12771/1094

Martin, J. M., & McCallum, E. S. (2021). Incorporating Animal Social Context in Ecotoxicology: Can a Single Individual Tell the Collective Story? In Environmental Science and Technology (Vol. 55, Number 16, pp. 10908–10910). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04528

Martínez-Cruz, A., Rojas Valencia, M. N., Araiza-Aguilar, J. A., Nájera-Aguilar, H. A., & Gutiérrez-Hernández, R. F. (2021a). Leachate treatment: comparison of a bio-coagulant (Opuntia ficus mucilage) and conventional coagulants using multi-criteria decision analysis. Heliyon, 7(7). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07510

Meftah, S., Meftah, K., Drissi, M., Radah, I., Malous, K., Amahrous, A., Chahid, A., Tamri, T., Rayyad, A., Darkaoui, B., Hanine, S., El-Hassan, O., & Bouyazza, L. (2025). Heavy metal polluted water: Effects and sustainable treatment solutions using bio-adsorbents aligned with the SDGs. In Discover Sustainability (Vol. 6, Number 1). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/s43621-025-00895-6

Mendoza Pary, C. R., & Colina Andrade, G. de J. (2025). Estudio de la semilla de Tara (Caesalpinia spinosa) como coagulante en el proceso de tratamiento de agua en muestras sintéticas de mediana y alta turbidez.

MINAM. (2017). Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM.- | Ministerio del Ambiente. https://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-004-2017-minam/

Mondal, A., Nayak, A. K., Chakraborty, P., Banerjee, S., & Nandy, B. C. (2023). Natural Polymeric Nanobiocomposites for Anti-Cancer Drug Delivery Therapeutics: A Recent Update. Pharmaceutics, 15(8), 2064. https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS15082064

Montero Flores, G. A. (2025). Efecto coagulante de lúcuma (Pouteria lucuma) en la mejora de la calidad del agua de la cuenca baja del río Huallaga, San Martín, 2025. Universidad de Huánuco. https://repositorio.udh.edu.pe/handle/20.500.14257/6660

Mori Sosa, L. J. P., Morales Cabrera, D. U., Florez Ponce De León, W. D., Hinojosa Ramos, E. A., & Torres Ventura, A. Y. (2025). Study of Arsenic Contamination in the Caplina Basin, Tacna, Peru: Arsenite and Arsenate Analysis Using Inductively Coupled

Plasma Mass Spectrometry and High-Performance Liquid Chromatography. Sustainability 2025, Vol. 17, Page 611, 17(2), 611. https://doi.org/10.3390/SU17020611

Muguerza Salazar, N. Y., Jacobo Salinas, P. A., & Velasquez Marín, M. (2023). Importance of the natural coagulant Opuntia Ficus-Indica for the removal of turbidity in water, in the period from 2012 to 2022: A review of the scientific literature. https://doi.org/10.18687/LACCEI2023.1.1.528

Mukaila, Y. O., Adeyemi, J. O., & Fawole, O. A. (2025). Towards Sustainable Biopolymer Innovation: A Review of Opuntia ficus-indica Mucilage. Processes 2025, Vol. 13, Page 3837, 13(12), 3837. https://doi.org/10.3390/PR13123837

Nahar, K., Rhaman, M. S., Parvin, K., Bardhan, K., Marques, D. N., García-Caparrós, P., & Hasanuzzaman, M. (2022). Arsenic-Induced Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Plants. Stresses 2022, Vol. 2, Pages 179-209, 2(2), 179–209. https://doi.org/10.3390/STRESSES2020013

Narayan, A., Diogo, B. S., Mansilha, C., Espinha Marques, J., Flores, D., & Antunes, S. C. (2024). Assessment of ecotoxicological effects of Fojo coal mine waste elutriate in aquatic species (Douro Coalfield, North Portugal). Frontiers in Toxicology, 6, 1334169. https://doi.org/10.3389/FTOX.2024.1334169/TEXT

Ocde, O. /. (2025). Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. https://doi.org/10.1787/9789264069961-EN

OECD. (2004). Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. https://doi.org/10.1787/9789264069947-EN

OECD. (2006). Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. https://doi.org/10.1787/9789264016194-EN

Okoro, B. U., Sharifi, S., Jesson, M. A., & Bridgeman, J. (2021). Natural organic matter (NOM) and turbidity removal by plant-based coagulants: A review. Journal of Environmental Chemical Engineering, 9(6), 106588. https://doi.org/10.1016/J.JECE.2021.106588

OMS : TDR/PRD/GLP/01.2. (1997, January 1). Manual: Buenas prácticas de laboratorio. TDR - Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases,. https://tdr.who.int/publications/m/item/2001-01-01-handbook-good-laboratory-practice

Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. (2026). Directrices para el ensayo de productos químicos | OCDE. https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/testing-of-chemicals/test-guidelines.html

Oros, A., Coatu, V., Damir, N., Danilov, D., Ristea, E., & Lazar, L. (2025). Molecular Mechanisms and Biomarker-Based Early-Warning Indicators of Heavy Metal Toxicity in Marine Fish. Fishes 2025, Vol. 10, Page 339, 10(7), 339. https://doi.org/10.3390/FISHES10070339

Otálora, M. C., Wilches-Torres, A., Lara, C. R., Cifuentes, G. R., & Gómez Castaño, J. A. (2022). Use of Opuntia ficus-indica Fruit Peel as a Novel Source of Mucilage with Coagulant Physicochemical/Molecular Characteristics. Polymers, 14(18), 3832. https://doi.org/10.3390/POLYM14183832/S1

Park, J., Shin, K., Lee, H., Choi, S., Kim, G., Depuydt, S., De Saeger, J., Heynderickx, P. M., Wu, D., Asselman, J., Janssen, C., & Han, T. (2023). Evaluating ecotoxicological

assays for comprehensive risk assessment of toxic metals present in industrial wastewaters in the Republic of Korea. Science of The Total Environment, 867, 161536. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.161536

Patel, K. S., Pandey, P. K., Martín-Ramos, P., Corns, W. T., Varol, S., Bhattacharya, P., & Zhu, Y. (2023). A review on arsenic in the environment: contamination, mobility, sources, and exposure. RSC Advances, 13(13), 8803–8821. https://doi.org/10.1039/D3RA00789H

Perry, S. F., Pan, Y. K., & Gilmour, K. M. (2023). Insights into the control and consequences of breathing adjustments in fishes-from larvae to adults. Frontiers in Physiology, 14, 1065573. https://doi.org/10.3389/FPHYS.2023.1065573/FULL

Porras-Rivera, G., Górski, K., & Colin, N. (2024). Behavioral biomarkers in fishes: A nonlethal approach to assess the effects of chemical pollution on freshwater ecosystems. In Environmental Research (Vol. 260). Academic Press Inc. https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119607

Putnala, S. K., Rachamalla, M., & Niyogi, S. (2025). Neurodevelopmental and behavioural effects of arsenic in zebrafish (Danio rerio). Aquatic Toxicology, 289, 107566. https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2025.107566

Quintero-García, M., Gutiérrez-Cortez, E., Bah, M., Rojas-Molina, A., Cornejo-Villegas, M. de los A., Real, A. Del, & Rojas-Molina, I. (2021). Comparative Analysis of the Chemical Composition and Physicochemical Properties of the Mucilage Extracted from Fresh and Dehydrated Opuntia ficus indica Cladodes. Foods 2021, Vol. 10, Page 2137, 10(9), 2137. https://doi.org/10.3390/FOODS10092137

Rahaman, M. S., Rahman, M. M., Mise, N., Sikder, M. T., Ichihara, G., Uddin, M. K., Kurasaki, M., & Ichihara, S. (2021). Environmental arsenic exposure and its

contribution to human diseases, toxicity mechanism and management. Environmental Pollution, 289. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117940

Ravele, M. P., Olatunde, O. C., Oyewo, O. A., Makgato, S. S., & Onwudiwe, D. C. (2025). Plant-based coagulants for wastewater treatment: Recent advances and applications. Cleaner Water, 4, 100147. https://doi.org/10.1016/J.CLWAT.2025.100147

Razzak, S. A., Faruque, M. O., Alsheikh, Z., Alsheikhmohamad, L., Alkuroud, D., Alfayez, A., Hossain, S. M. Z., & Hossain, M. M. (2022). A comprehensive review on conventional and biological-driven heavy metals removal from industrial wastewater. Environmental Advances, 7, 100168. https://doi.org/10.1016/J.ENVADV.2022.100168

Ribeiro, R. X., da Silva Brito, R., Pereira, A. C., Monteiro, K. B. e. S., Gonçalves, B. B., & Rocha, T. L. (2020). Ecotoxicological assessment of effluents from Brazilian wastewater treatment plants using zebrafish embryotoxicity test: A multi-biomarker approach. Science of the Total Environment, 735. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.139036

Roberto Hernández Sampieri, M. C., Fernández Collado, C., Pilar Baptista Lucio, D., & de la Luz Casas Pérez, M. (1991). METODOLOGÍA DELA INVESTIGACIÓN. McGRAW - HILL INTERAMERICANA DE MÉXICO, S.A.

Saleem, M., Bachmann, R. T., & https://unikl.academia.edu/RobertThomasBachmann. (2018). A contemporary review on plant-based coagulants for applications in water treatment. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 72, 281–297. https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2018.12.029

Saleem, M., & Bachmann, R. T. (2019). A contemporary review on plant-based coagulants for applications in water treatment. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 72, 281–297. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.12.029

Salmanzadeh-Jamadi, Z., Habibi-Yangjeh, A., & Khataee, A. (2024). Decoration of Ag/Bi nanoparticles over brown TiO2-x/AgBiO3 nanocomposites: QDs-sized photocatalysts for impressive mitigation of water pollutants. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 682, 132945. https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2023.132945

Schuijt, L. M., Peng, F. J., van den Berg, S. J. P., Dingemans, M. M. L., & Van den Brink, P. J. (2021). (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges, and future. In Science of the Total Environment (Vol. 795). Elsevier B.V.

Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., & Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in Opuntia spp. Journal of Arid Environments, 68(4), 534–545. https://doi.org/10.1016/J.JARIDENV.2006.08.001

Shahzadi, F., Haydar, S., & Tabraiz, S. (2024). Optimization of Coagulation to Remove Turbidity from Surface Water Using Novel Nature-Based Plant Coagulant and Response Surface Methodology. Sustainability 2024, Vol. 16, Page 2941, 16(7), 2941. https://doi.org/10.3390/SU16072941

Solange, T. D., Rios, T., & Joya, L. (2022). Para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental Estimación entre biomasa y biogás de la Opuntia ficus indica (penca de la tuna) en.

Snedecor, G. y C. (1989). Métodos estadísticos. https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2300515

Sykora, V., Clavijo, A., Calvo, D., Kronberg, M. F., Díaz, S., Gómez, C., Munarriz, E., Rossen, A., Sykora, V., Clavijo, A., Calvo, D., Kronberg, M. F., Díaz, S., Gómez, C., Munarriz, E., & Rossen, A. (2021). Aplicación de bioensayos ecotoxicológicos para evaluar la calidad del agua del arroyo Cañuelas (Buenos Aires, Argentina). Tecnología y Ciencias Del Agua, 12(1), 261–312. https://doi.org/10.24850/J-TYCA-2021-01-07

Tóth, G., Háhn, J., Szabó, G., Bakos, K., Volner, C., Liang, X., Göbölös, B., Bock, I., Szoboszlay, S., Urbányi, B., Kriszt, B., Kaszab, E., Szabó, I., & Csenki, Z. (2024). In vivo estrogenicity of glyphosate, its formulations, and AMPA on transgenic zebrafish (Danio rerio) embryos. Environmental Pollution, 342. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.123113

UNESCO World Water Assessment. (2023). The United Nations World Water Development Report 2023: partnerships and cooperation for water. Handbook of Water Purity and Quality, 210. https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000384655

Uusi-Heikkilä, S., Salonen, J. K., Karjalainen, J. S., Väisänen, A., Hippeläinen, J., Hämärvuo, T., & Kuparinen, A. (2024). Fish with slow life-history cope better with chronic manganese exposure than fish with fast life-history. Ecology and Evolution, 14(8). https://doi.org/10.1002/ece3.70134

USDA Plants Database Plant Profile General. (n.d.). Retrieved April 13, 2026, from https://plants.sc.egov.usda.gov/plant-profile/NOCO4

Van Dyck, I., Vanhoudt, N., Vives i Batlle, J., Horemans, N., Van Gompel, A., Nauts, R., Wannijn, J., Wijgaerts, A., Vassilev, A., & Vangronsveld, J. (2023). Uptake of Co, Cs, Mn, Ni and Zn by Lemna minor and their effects on physiological and biochemical

functions. Environmental and Experimental Botany, 213, 105440. https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2023.105440

Van Rooyen, B., De Wit, M., Osthoff, G., & Van Niekerk, J. (2024). Cactus Pear Mucilage (Opuntia spp.) as a Novel Functional Biopolymer: Mucilage Extraction, Rheology and Biofilm Development. Polymers 2024, Vol. 16, Page 1993, 16(14), 1993. https://doi.org/10.3390/POLYM16141993

Vargas-Solano, S. V., Rodríguez-González, F., Martínez-Velarde, R., Morales-García, S. S., & Jonathan, M. P. (2022a). Removal of heavy metals present in water from the Yautepec River Morelos México, using Opuntia ficus-indica mucilage. Environmental Advances, 7, 100160. https://doi.org/10.1016/J.ENVADV.2021.100160

Ventura-Lima, J., de Castro, M. R., Acosta, D., Fattorini, D., Regoli, F., de Carvalho, L. M., Bohrer, D., Geracitano, L. A., Barros, D. M., Marins, L. F. F., da Silva, R. S., Bonan, C. D., Bogo, M. R., & Monserrat, J. M. (2009). Effects of arsenic (As) exposure on the antioxidant status of gills of the zebrafish Danio rerio (Cyprinidae). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 149(4), 538–543. https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2008.12.003

Vulpe, C. B., Toplicean, I. M., Agachi, B. V., & Datcu, A. D. (2025). A Review on Uses of Lemna minor, a Beneficial Plant for Sustainable Water Treatments, in Relation to Bioeconomy Aspects. Water 2025, Vol. 17, Page 1400, 17(9), 1400. https://doi.org/10.3390/W17091400

Wang, H., Liang, Y., Li, S., & Chang, J. (2013). Acute Toxicity, Respiratory Reaction, and Sensitivity of Three Cyprinid Fish Species Caused by Exposure to Four Heavy Metals. PLoS ONE, 8(6). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065282

Wang, Y., Li, H., & Lin, S. (2022). Advances in the Study of Heavy Metal Adsorption from Water and Soil by Modified Biochar. Water 2022, Vol. 14, Page 3894, 14(23), 3894. https://doi.org/10.3390/W14233894

Wang, H., Poopal, R. K., & Ren, Z. (2024). Biological-based techniques for real-time water-quality studies: Assessment of non-invasive (swimming consistency and respiration) and toxicity (antioxidants) biomarkers of zebrafish. Chemosphere, 352. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141268

Xu, W., Jin, Y., & Zeng, G. (2024). Introduction of heavy metals contamination in the water and soil: a review on source, toxicity and remediation methods. In Green Chemistry Letters and Reviews (Vol. 17, Number 1). Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2404235

Yan, J., Takamiya, M., Zhang, D., Pace, G., Rastegar, S., Wang, H., Schoch, S., Köberle, B., Hartwig, A., Dickmeis, T., & Weiss, C. (2025). Zebrafish as a model organism in One Health Toxicology: Impact of solvents and exposure routes on the toxicity of platinum anticancer drugs. Environment International, 197, 109349. https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2025.109349

Yuan, N., Pei, Y., Bao, A., & Wang, C. (2020). The Physiological and Biochemical Responses of Daphnia magna to Dewatered Drinking Water Treatment Residue. International Journal of Environmental Research and Public Health 2020, Vol. 17, Page 5863, 17(16), 5863. https://doi.org/10.3390/IJERPH17165863

Zaharia, C., Musteret, C. P., & Afrasinei, M. A. (2024). The Use of Coagulation–Flocculation for Industrial Colored Wastewater Treatment—(I) The Application of Hybrid Materials. Applied Sciences 2024, Vol. 14, Page 2184, 14(5), 2184. https://doi.org/10.3390/APP14052184

Zhang, T., Qu, Y., Zhang, Q., Tang, J., Cao, R., Dong, Z., Wang, Q., & Zhao, J. (2021). Risks to the stability of coral reefs in the South China Sea: An integrated biomarker approach to assess the physiological responses of Trochus niloticus to ocean acidification and warming. Science of The Total Environment, 782, 146876. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.146876

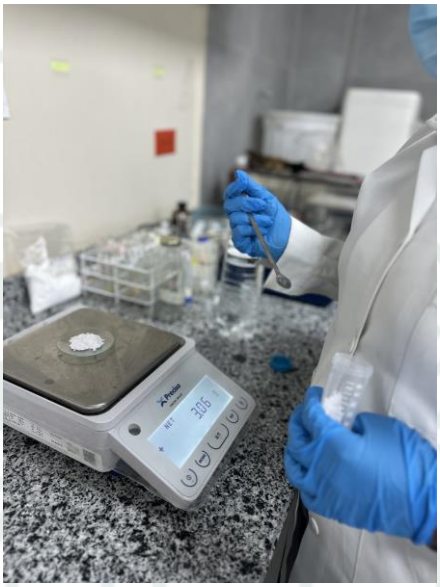
Zhao, W., Chen, Y., Hu, N., Long, D., & Cao, Y. (2024). The uses of zebrafish (Danio rerio) as an in vivo model for toxicological studies: A review based on bibliometrics. Ecotoxicology and Environmental Safety, 272, 116023. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2024.116023

ANEXOS

ANEXO 1. *Panel Fotográfico*

Pesaje de sales de metales.

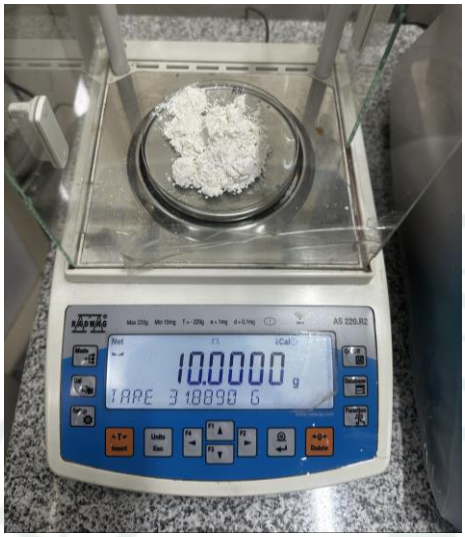
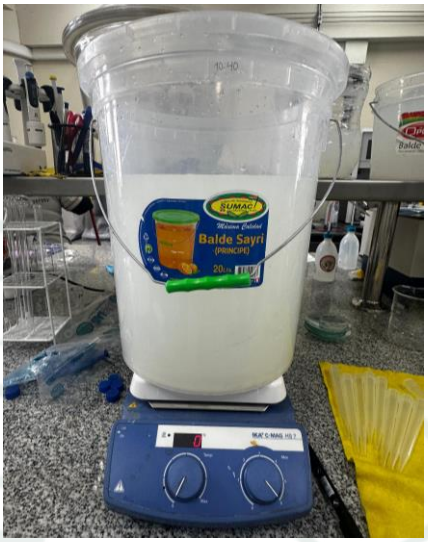




Preparación de soluciones madre.

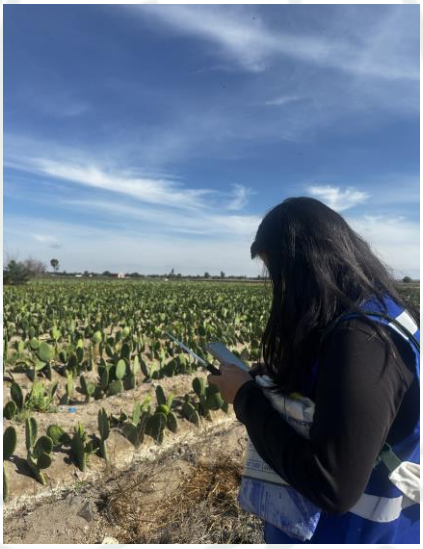




Pesaje de caolín.	Agitación y reposo de caolín.
	

Recolección de pencas de *Opuntia Ficus Indica.*





Pelado de pencas.





Pesaje de cladodios.





Almacenamiento de cladodios.



Extracción de mucilago.



Dosificación de metales.



Dosificación de caolín (agua turbia).



Dosificación de mucilago.

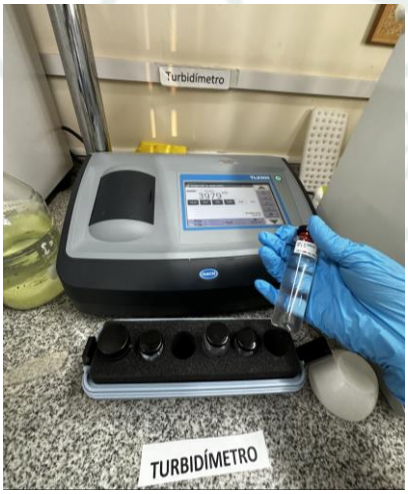




Evaluación de pH.



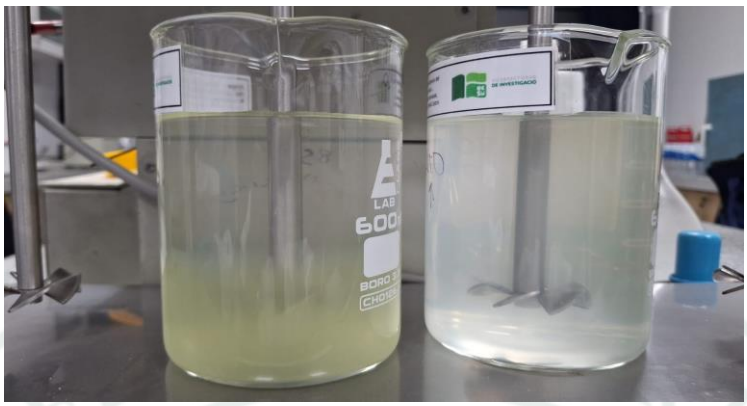
Evaluación de turbidez.

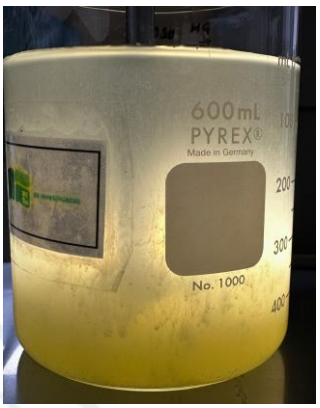




Test de jarras.





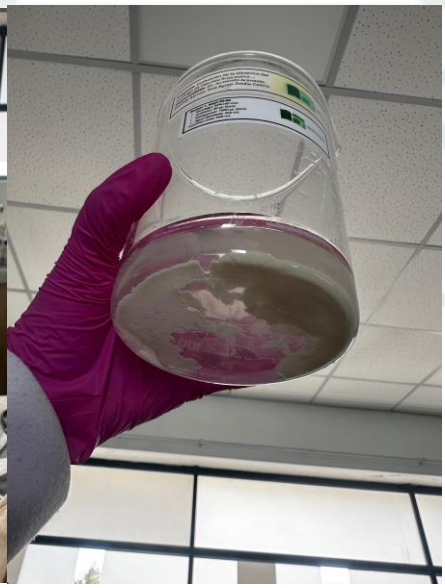


Extracción de sobrenadante.



Retención de coagulante natural.







Filtración mediante bomba al vacío (requerido por ALAB).



Acondicionamiento de *Lemna minor*.



Acondicionamiento de *Daphnia magna.*



Acondicionamiento de *Danio rerio.*

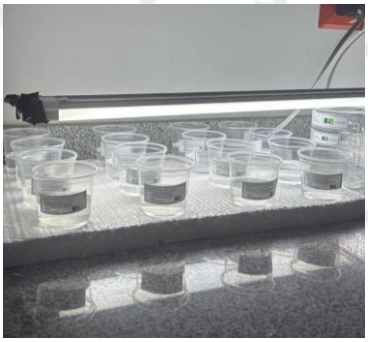


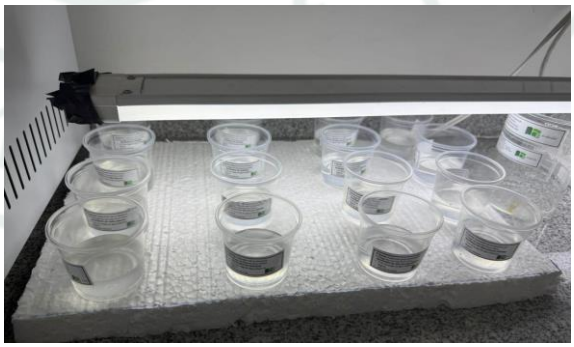
Ensayo agudo con *Lemna minor.*



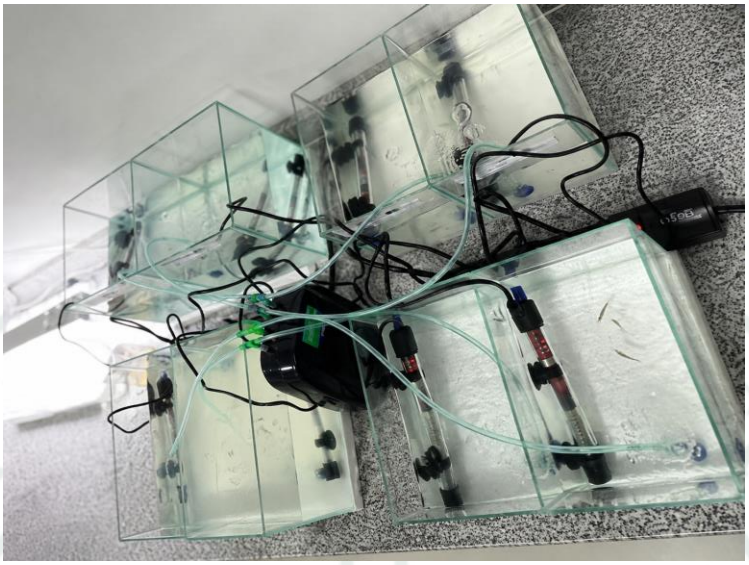


Ensayo agudo con *Daphnia magna.*





Ensayo agudo con *Danio rerio.*



Medición frondes de *Lemna minor.*



Observación de movilidad en *Daphnia magna.*



Observación de comportamiento en *Danio rerio.*

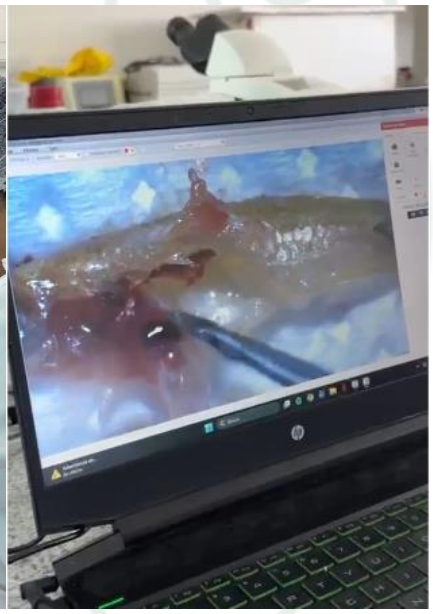




Extraccion de higados de *Danio rerio*







ANEXO 2. *Reporte de registros.*

Fecha	Hora	Tratamiento	Réplica	Nº de peces evaluados	Mortalidad (n)	Orientación horizontal anormal (n)	Orientación vertical anormal (n)	Pérdida de flotabilidad (n)	Aislamiento social / canibalismo (n)	Ventilación irregular (n)	Pigmentación pálida (n)	Edema (n)	Observaciones
02/05/2026	07:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
02/05/2026	19:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
03/05/2026	07:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
03/05/2026	19:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
04/05/2026	07:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
04/05/2026	19:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
05/05/2026	07:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
05/05/2026	19:00	Control	R1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
02/05/2026	07:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-

02/05/2026	19:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
03/05/2026	07:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
03/05/2026	19:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
04/05/2026	07:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
04/05/2026	19:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
05/05/2026	07:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
05/05/2026	19:00	Control	R2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	-
02/05/2026	07:00	100 %	R1	7	0	0	0	0	0	7	4	0	-
02/05/2026	19:00	100 %	R1	7	0	0	0	7	0	7	4	0	-
03/05/2026	07:00	100 %	R1	7	0	0	0	3	0	7	1	0	-
03/05/2026	19:00	100 %	R1	7	0	0	0	4	0	7	3	0	-
04/05/2026	07:00	100 %	R1	7	0	7	0	0	0	7	3	0	-
04/05/2026	19:00	100 %	R1	7	0	7	0	0	0	7	3	0	-

05/05/2026	07:00	100 %	R1	7	0	7	0	0	0	7	3	0	-
05/05/2026	19:00	100 %	R1	7	0	7	0	0	0	7	4	0	-
02/05/2026	07:00	100 %	R2	7	0	0	0	7	0	7	3	0	-
02/05/2026	19:00	100 %	R2	7	0	0	0	7	0	7	3	0	-
03/05/2026	07:00	100 %	R2	7	0	0	0	3	0	7	2	0	-
03/05/2026	19:00	100 %	R2	7	0	0	0	0	0	7	3	0	-
04/05/2026	07:00	100 %	R2	7	0	7	0	0	0	7	3	0	-
04/05/2026	19:00	100 %	R2	7	0	0	0	0	0	7	3	0	-
05/05/2026	07:00	100 %	R2	7	0	0	0	0	0	7	3	0	-
05/05/2026	19:00	100 %	R2	7	0	7	0	0	0	7	3	0	-
02/05/2026	07:00	50 %	R1	7	0	0	0	7	0	7	2	0	-
02/05/2026	19:00	50 %	R1	7	0	0	0	7	7	7	2	0	-
03/05/2026	07:00	50 %	R1	7	0	7	0	7	7	7	1	0	-

03/05/2026	19:00	50 %	R1	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-
04/05/2026	07:00	50 %	R1	7	0	7	0	7	0	7	3	0	-
04/05/2026	19:00	50 %	R1	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-
05/05/2026	07:00	50 %	R1	7	0	7	0	7	0	7	3	0	-
05/05/2026	19:00	50 %	R1	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-
02/05/2026	07:00	50 %	R2	7	0	0	0	7	1	7	2	0	-
02/05/2026	19:00	50 %	R2	7	0	0	0	7	7	7	2	0	-
03/05/2026	07:00	50 %	R2	7	0	7	0	7	7	7	2	0	-
03/05/2026	19:00	50 %	R2	7	0	7	0	7	0	7	0	0	-
04/05/2026	07:00	50 %	R2	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-
04/05/2026	19:00	50 %	R2	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-
05/05/2026	07:00	50 %	R2	7	0	7	0	7	0	7	3	0	-
05/05/2026	19:00	50 %	R2	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-

02/05/2026	07:00	25 %	R1	7	0	0	0	0	1	1	2	0	-
02/05/2026	19:00	25 %	R1	7	0	0	0	7	1	7	2	0	-
03/05/2026	07:00	25 %	R1	7	0	0	0	7	0	7	2	0	-
03/05/2026	19:00	25 %	R1	7	0	0	0	7	0	7	2	0	-
04/05/2026	07:00	25 %	R1	7	0	7	0	5	0	7	3	0	-
04/05/2026	19:00	25 %	R1	7	0	0	0	0	0	7	3	0	-
05/05/2026	07:00	25 %	R1	7	0	0	0	0	0	7	4	0	-
05/05/2026	19:00	25 %	R1	7	0	0	0	7	0	7	2	0	-
02/05/2026	07:00	25 %	R2	7	0	0	0	0	1	1	4	0	-
02/05/2026	19:00	25 %	R2	7	0	0	0	7	0	2	5	0	-
03/05/2026	07:00	25 %	R2	7	0	0	0	0	0	7	4	0	-
03/05/2026	19:00	25 %	R2	7	0	0	0	7	0	7	2	0	-
04/05/2026	07:00	25 %	R2	7	0	7	0	0	0	7	5	0	-

04/05/2026	19:00	25 %	R2	7	0	0	0	7	0	7	5	0	-
05/05/2026	07:00	25 %	R2	7	0	0	0	7	0	7	6	0	-
05/05/2026	19:00	25%	R2	7	0	7	0	7	0	7	2	0	-

Registro de porcentaje de incidencia de signos de comportam

Tratamiento	n evaluados	Mortalidad (%)	Orientación horizontal anormal (%)	Orientación vertical anormal (%)	Pérdida de flotabilidad (%)	Aislamiento social / canibalismo (%)	Ventilación irregular (%)	Pigmentación pálida (%)	Edema (%)
Control	7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Control	7	0.00	**100.00**	0.00	100.00	0.00	100.00	57.14	0.00
25 %	7	0.00	**71.43**	0.00	100.00	100.00	100.00	42.86	0.00
25 %	7	0.00	71.43	0.00	42.86	14.29	100.00	57.14	0.00
50 %	7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
50%	7	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00	100.00	42.86	0.00
100 %	7	0.00	71.43	0.00	85.71	100.00	100.00	42.86	0.00
100 %	7	0.00	57.14	0.00	85.71	0.00	100.00	71.43	0.00

ANEXO 3. Informes

Informe de ensayo del Laboratorio ALAB, Metales Disueltos - ICP OES.

ALAB
ANALYTICAL LABORATORY E.I.R.L.

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 096

INACAL
DA - Perú
Laboratorio de Ensayo Acreditado

Registro N° LE - 096

INFORME DE ENSAYO N°: IE-26-16038

Nº Id.: 0000219591

I.- DATOS DEL CLIENTE Y/O SOLICITANTE

1.- RAZON SOCIAL	: UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
2.- DIRECCIÓN	: NRO. S/N URB. SAN JOSE (UMACOLLO) AREQUIPA - AREQUIPA - AREQUIPA
3.- PROYECTO	: EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL MUCÍLAGO DE OPUNTIA FICUS-INDICA COMO COAGULANTE-FLOCULANTE PARA LA REMOCIÓN DE MANGANESO (MN) Y ARSÉNICO (AS) EN AGUAS SINTÉTICAS: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO, ECOTOXICOLÓGICO Y MOLECULAR.
4.- PROCEDENCIA	: LABORATORIO UCSM-AGUAS SINTETICAS
5.- SOLICITANTE	: UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
6.- PRODUCTO	: Agua para Uso y Consumo Humano

II.- DATOS DEL SERVICIO

1.- ORDEN DE SERVICIO N°	: 0000000293-2026-0000
2.- FECHA DE EMISIÓN DE INFORME	: 2026-04-10

III.- DATOS DEL ÍTEMS DE ENSAYO

1.- MUESTREADO POR	: MUESTRA Y DATOS PROPORCIONADO POR EL CLIENTE SEGUN CADENA DE CUSTODIA
2- NÚMERO DE MUESTRAS	: 8
3.- FECHA DE RECEPCIÓN	: 2026-04-06
4.- CONDICIÓN DE RECEPCIÓN	: En buen estado de conservación y preservación
5.- PERÍODO DE ENSAYO	: 2026-04-06 al 2026-04-10

Mgtr. Ing. Lic. Fredy A. Taipe Castro
Director de Investigación y Desarrollo
CIP N° 150812

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados. No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
Su adulteración o su uso indebido constituye delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones civiles y penales en la materia.

SEDE PRINCIPAL
Av. Guardia Chalaca N° 1877, Bellavista, Callao.
Telf.: (+511) 713 0756 / 713 0636
Cel.: 977 516 675 / 937 111 379

SEDE ZARUMILLA
Prolongación Zarumilla Mz D2 Lt 3, Bellavista, Callao.
Cel.: 977 516 675 / 932 646 460

SEDE AREQUIPA
COOP SIDSUR Mz. E Lt. 9, Arequipa
Telf.: (+054) 616 843
Cel.: 932 646 642

SEDE PIURA
Urb. San Isidro III Etapa Mz. D3 Lt. 02, Castilla - Piura
Telf.: (+01) 713 0636
Cel.: 919 475 133

SEDE TRUJILLO
Urb. Sol de Trujillo Mz. A Lt. 29, Alto Salaverry - Trujillo
Telf.: (+01) 713 0636
Cel.: 919 475 133

www.alab.com.pe

INFORME DE ENSAYO N°: IE-26-16038

Nº Id.: 0000219591

IV.- MÉTODOS DE ENSAYO

TIPO DE ENSAYO	NORMA DE REFERENCIA	TÍTULO	CONDICIÓN DE ACREDITACIÓN / LUGAR DE ANÁLISIS
Metales Disueltos - ICP OES	EPA Method 200.7 Rev. 4.4. 1994. (Validado - Aplicado fuera del alcance: Bi, U, S), 2021.	Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry.	INACAL LE - 096 CHALACA

"EPA" : U. S. Environmental Protection Agency. Methods for Chemicals Analysis

INFORME DE ENSAYO N°: IE-26-16038

Nº Id.: 0000219591

V.- RESULTADOS

ITEM				1	2	3
CÓDIGO DE LABORATORIO				M-26-25501	M-26-25502	M-26-25503
CÓDIGO CLIENTE (A)				LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM	LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM	LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM
PRODUCTO (A)				Agua para Uso y Consumo Humano	Agua para Uso y Consumo Humano	Agua para Uso y Consumo Humano
SUB PRODUCTO (A)				Agua Potable	Agua Potable	Agua Potable
FECHA y HORA DE MUESTREO (A)				01-04-2026 07:00	01-04-2026 07:00	01-04-2026 07:00
ENSAYO	**UNIDAD**	**L.D.M.**	**L.C.M.**	**RESULTADOS**		
Metales Disueltos - ICP OES						
Arsénico (*)	mg/L	0,0020	0,0080	0,0097	0,0170	0,0348
Manganeso (*)	mg/L	0,00010	0,00020	0,87870	0,75320	0,83220

(*) Los resultados obtenidos corresponde a métodos que han sido acreditados por el INACAL - DA

L.C.M.: Límite de cuantificación del método, "<"= Menor que el L.C.M.
L.D.M.: Límite de detección del método, "<"= Menor que el L.D.M.

(A)Datos proporcionados por el cliente y/o solicitante. El laboratorio no es responsable cuando la información proporcionado por el cliente y/o solicitante pueda afectar la validez de los resultados.

INFORME DE ENSAYO N°: IE-26-16038

N° Id.: 0000219591

ITEM				4	5	6
CÓDIGO DE LABORATORIO				M-26-25504	M-26-25505	M-26-25506
CÓDIGO CLIENTE (A)				LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM	LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM	LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM
PRODUCTO (A)				Agua para Uso y Consumo Humano	Agua para Uso y Consumo Humano	Agua para Uso y Consumo Humano
SUB PRODUCTO (A)				Agua Potable	Agua Potable	Agua Potable
FECHA y HORA DE MUESTREO (A)				01-04-2026 07:00	01-04-2026 07:00	01-04-2026 07:00
ENSAYO	**UNIDAD**	**L.D.M.**	**L.C.M.**	**RESULTADOS**		
Metales Disueltos - ICP OES						
Arsénico (*)	mg/L	0,0020	0,0080	0,0402	0,0102	0,0108
Manganeso (*)	mg/L	0,00010	0,00020	1,61460	0,76790	0,74360

(*) Los resultados obtenidos corresponde a métodos que han sido acreditados por el INACAL - DA

L.C.M.: Límite de cuantificación del método, "<"= Menor que el L.C.M.
L.D.M.: Límite de detección del método, "<"= Menor que el L.D.M.

(A)Datos proporcionados por el cliente y/o solicitante. El laboratorio no es responsable cuando la información proporcionado por el cliente y/o solicitante pueda afectar la validez de los resultados.

INFORME DE ENSAYO N°: IE-26-16038

N° Id.: 0000219591

ITEM				7	8
CÓDIGO DE LABORATORIO				M-26-25507	M-26-25508
CÓDIGO CLIENTE (A)				LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM	LABORATORIO DE INVESTIGACION UCSM
PRODUCTO (A)				Agua para Uso y Consumo Humano	Agua para Uso y Consumo Humano
SUB PRODUCTO (A)				Agua Potable	Agua Potable
FECHA y HORA DE MUESTREO (A)				01-04-2026 07:00	01-04-2026 07:00
ENSAYO	**UNIDAD**	**L.D.M.**	**L.C.M.**	**RESULTADOS**	
Metales Disueltos - ICP OES					
Arsénico (*)	mg/L	0,0020	0,0080	0,0397	0,0316
Manganeso (*)	mg/L	0,00010	0,00020	1,41140	1,08270

(*) Los resultados obtenidos corresponde a métodos que han sido acreditados por el INACAL - DA

L.C.M.: Límite de cuantificación del método, "<"= Menor que el L.C.M.
L.D.M.: Límite de detección del método, "<"= Menor que el L.D.M.

(A)Datos proporcionados por el cliente y/o solicitante. El laboratorio no es responsable cuando la información proporcionado por el cliente y/o solicitante pueda afectar la validez de los resultados.

VI.- OBSERVACIONES

Los resultados se aplican a la muestra cómo se recibió.

"FIN DE DOCUMENTO"

Aprobación para pruebas moleculares de *Danio rerio* por el comité de ética UCSM

Universidad Católica de Santa María

Sentimiento Santamariano

Comité Institucional de Ética de la Investigación

Campus Central
Urb. San José s/n Umacollo
Arequipa – Perú
(+54) — 382038

UCSM.EDU.PE

Investigador/a/es/as

Ayme Vega Ana, Ramos Choquegonza Daniela

Arequipa, 30 de junio de 2026

De mi especial consideración.

Me dirijo a usted/s para hacerle/s llegar el resultado de la evaluación de su proyecto de investigación y dictamen del Comité Institucional de Ética de Investigación.

TÍTULO: "Evaluación de la eficiencia del mucílago de Opuntia ficus-indica como coagulanteflocculante para la remoción de manganeso (Mn) y arsénico (As) en aguas sintéticas: análisis fisicoquímico, ecotoxicológico y molecular.".

INVESTIGADOR/A/ES/AS: Ayme Vega Ana, Ramos Choquegonza Daniela

TIPO Y DISEÑO: Experimental.

OBJETIVO: Evaluar la eficiencia del mucilago de *Opuntia ficus-indica* como coagulante floculante para la remoción de manganeso (Mn) y arsénico (As) en aguas sintéticas representativas de la Región de Arequipa, mediante análisis fisicoquímicos y eco toxicológicos.

PROCEDIMIENTOS: Se utilizará el número de 56 animales de *Danio rerio* (pez cebra), distribuidos en sistemas de bioensayo acuático en peceras, considerando un grupo control y tres tratamientos correspondientes a diferentes concentraciones de exposición (100%, 50% y 25%) de agua sintética contaminada con manganeso (Mn) y arsénico (As), tratada con mucílago de Opuntia ficus-indica.

ORGANISMOS MODELO DE ESTUDIO: Pez cebra (*Danio rerio)*, Lenteja de Agua (*Lemna Minor)* y Pulga de Agua (*Daphnia Magna).*

RIESGO DEL ESTUDIO: Mínimo.

OBSERVACIONES, SUGERENCIAS: Debe proteger la seguridad y bienestar animal

COMITÉ DE ÉTICA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN UCSM

DICTAMEN:

DICTAMEN FAVORABLE 409- 2026 CIEI-UCSM

VIGENCIA: La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente dictamen hasta el 30 de junio de 2027.

Agueda Muñoz Del Carpio Toia
Comité Institucional de Ética de la Investigación UCSM

Arequipa, 30 de junio de 2026

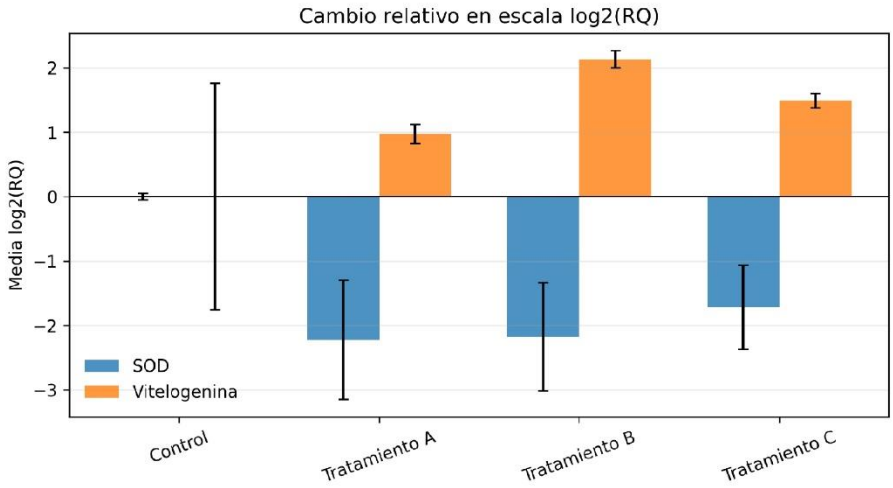
INFORME TÉCNICO

Validación y análisis de expresión relativa por RT-qPCR

Genes evaluados: β-actina, SOD y vitelogenina

Campo	Información
Tipo de informe	Informe técnico de servicio / análisis de resultados
Plataforma	CFX96 Real-Time PCR Detection System
Software	Bio-Rad CFX Manager 3.1
Química	SYBR
Temperatura final de trabajo	61 °C
Método de expresión relativa	Pfaffl corregido por eficiencia
Fecha del informe	22 de junio de 2026

Resumen gráfico del resultado final



Resumen visual del cambio relativo de expresión en escala log2(RQ).

Contenido

1. Resumen ejecutivo

2. Objetivo y alcance

3. Diseño experimental y organización de placa

4. Validación inicial por qPCR de gradiente y electroforesis

5. Evaluación de eficiencia de amplificación

6. Controles NTC, controles positivos y criterio de corte

7. Ensayo experimental y análisis de expresión relativa

8. Estadística exploratoria

9. Conclusiones

10. Limitaciones y recomendaciones

11. Referencias

12. Anexos

1. Resumen ejecutivo

Se realizó la validación y análisis de un ensayo de RT-qPCR relativo para evaluar la expresión de los genes SOD y vitelogenina, empleando β-actina como gen de referencia. El flujo analítico integró: selección de temperatura por qPCR de gradiente, verificación electroforética, evaluación de eficiencia de amplificación, revisión de controles sin molde (NTC) y control positivo, y análisis final de expresión relativa corregido por eficiencia mediante el método de Pfaffl.

La temperatura de 61 °C fue seleccionada como condición final porque permitió amplificación detectable para los tres genes y mostró mejor especificidad electroforética, especialmente para β-actina, en comparación con 59.2 °C y 57.6 °C, donde se observaron bandas adicionales.

Las curvas estándar mostraron alta linealidad (R^2 entre 0.998 y 0.999), pero las eficiencias calculadas fueron superiores al rango ideal de 90–110 %, especialmente β-actina (148.00 %). Por ello, el análisis final se realizó con el método de Pfaffl, que incorpora la eficiencia específica de cada par de primers.

Como conclusión exploratoria, SOD mostró una tendencia a menor expresión relativa en los tratamientos A, B y C respecto al control, mientras que vitelogenina mostró una tendencia opuesta, con aumento aparente de expresión, especialmente en el tratamiento B. Estos resultados no deben interpretarse como concluyentes debido al bajo número de duplicados experimentales (n = 2 por grupo) y a la ausencia de réplicas técnicas de qPCR.

Grupo	RQ geom. SOD	Cambio SOD vs control	RQ geom. vitelogenina	Cambio vitelogenina vs control
Tratamiento A	0.214	-78.6%	1.959	95.9%
Tratamiento B	0.222	-77.8%	4.387	338.7%
Tratamiento C	0.304	-69.6%	2.806	180.6%

2. Objetivo y alcance

El objetivo del informe es documentar de forma técnica y trazable el procesamiento de resultados de RT-qPCR, desde la validación inicial del ensayo hasta el cálculo de expresión relativa de SOD y vitelogenina respecto al grupo control.

El alcance incluye la revisión de: (i) qPCR de gradiente para selección de temperatura, (ii) electroforesis de productos amplificados, (iii) eficiencia de amplificación, (iv) controles NTC y controles positivos, y (v) análisis de expresión relativa corregido por eficiencia. El documento se estructura como un informe técnico de servicio, con conclusiones y recomendaciones metodológicas.

3. Diseño experimental y organización de placa

El ensayo final fue organizado considerando β-actina como gen de referencia y SOD y vitelogenina como genes de interés. La disposición de placa fue indicada experimentalmente de la siguiente manera:

Ubicación	Contenido
B01, C01	NTC β-actina
B03, C03	NTC SOD
B05, C05	NTC vitelogenina
Columna 08	β-actina
Columna 10	SOD
Columna 12	Vitelogenina
Filas A–B	Control 1 y Control 2
Filas C–D	Tratamiento A1 y A2
Filas E–F	Tratamiento B1 y B2
Filas G–H	Tratamiento C1 y C2

Nota: No se realizaron réplicas técnicas de qPCR. Control 1/2, A1/A2, B1/B2 y C1/C2 fueron tratados como duplicados experimentales/biológicos por grupo.

4. Validación inicial por qPCR de gradiente y electroforesis

4.1 qPCR de gradiente

Se evaluaron ocho temperaturas de alineamiento/extensión: 64.0, 63.6, 62.7, 61.1, 59.2, 57.6, 56.5 y 56.0 °C. Según el mapa de placa del gradiente, la columna 1 correspondió a β-actina, la columna 2 a SOD y la columna 3 a vitelogenina.

Temperatura (°C)	Cq β-actina	Cq SOD	Cq vitelogenina	Observación
64.0	21.85	23.11	24.38	Amplificación detectable
63.6	21.75	22.79	23.72	Amplificación detectable
62.7	21.45	22.77	23.78	Amplificación detectable
61.1	21.30	22.44	23.19	Mejor especificidad
59.2	20.94	21.85	21.41	Doble banda en β-actina
57.6	21.06	21.57	21.31	Doble banda en β-actina
56.5	20.30	21.20	20.57	Cq menor; requiere confirmación de especificidad
56.0	20.63	23.43	24.09	Amplificación detectable

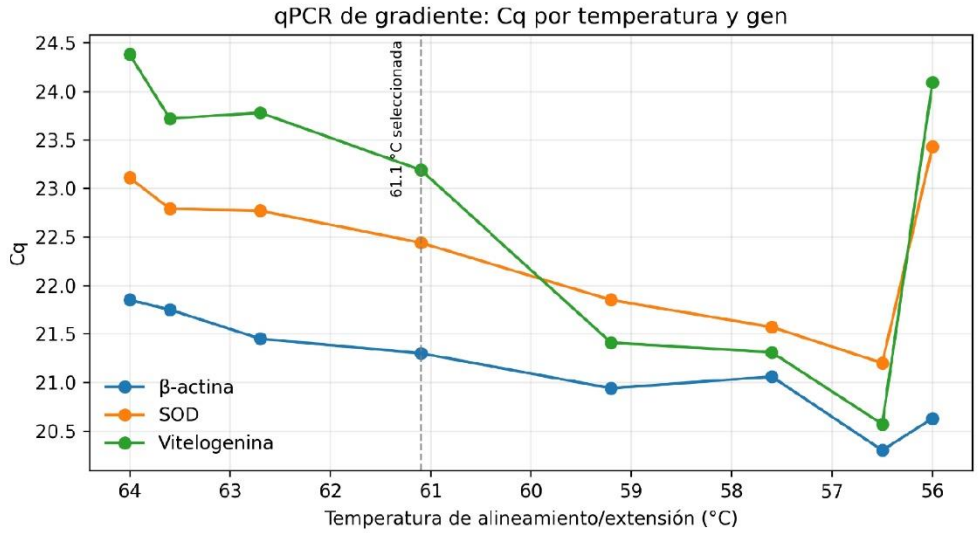


Figura 1. Valores de Cq obtenidos durante la qPCR de gradiente para β-actina, SOD y vitelogenina. La línea punteada indica la temperatura seleccionada para los ensayos posteriores.

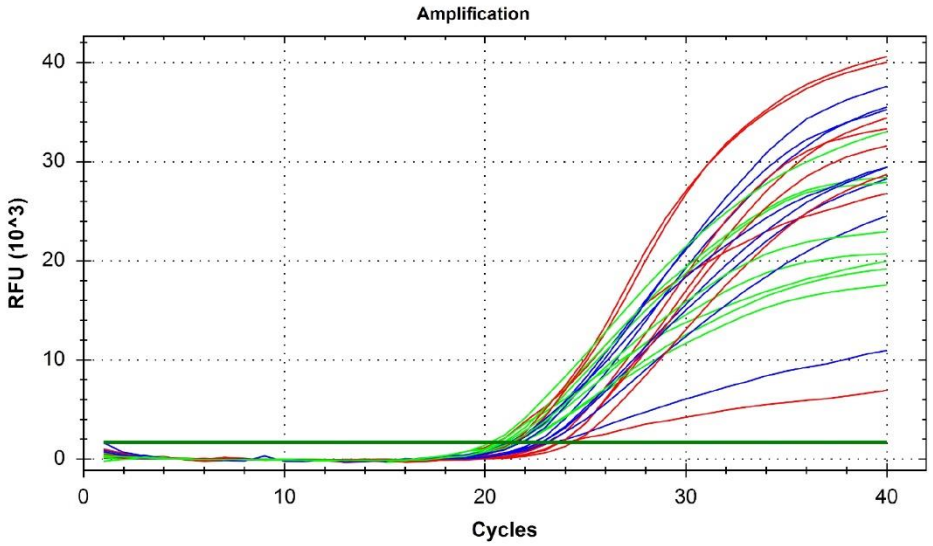


Figura 2. Curvas de amplificación generales obtenidas durante la qPCR de gradiente.

4.2 Verificación electroforética de especificidad

Los productos correspondientes a las mejores temperaturas aparentes se verificaron mediante electroforesis. Para β-actina se observó una banda única predominante a 61.1 °C, mientras que a 59.2 °C y 57.6 °C se evidenció un patrón de doble banda. Para SOD y vitelogenina no se observó un patrón equivalente de doble banda bajo las condiciones mostradas.

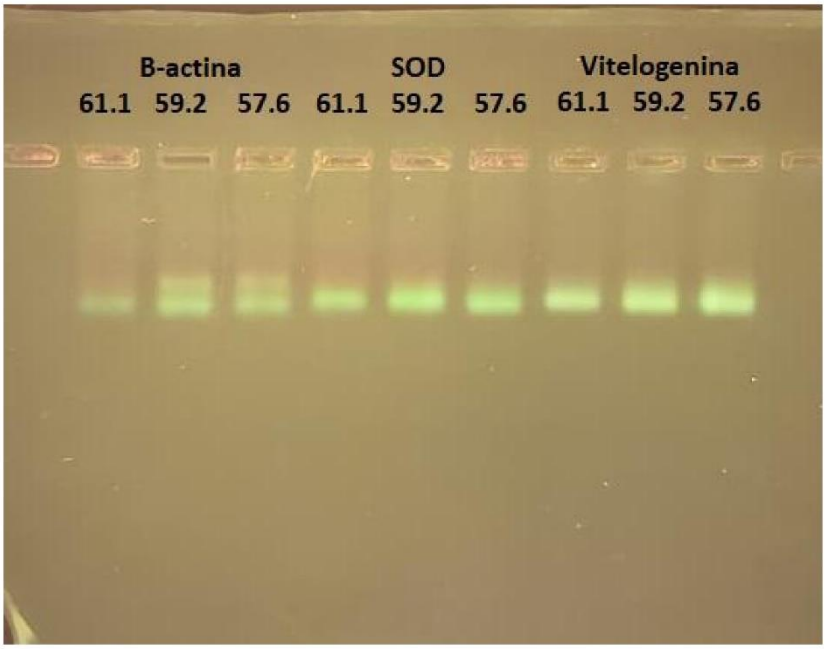


Figura 3. Verificación electroforética de los productos de amplificación del gradiente. En β-actina se observa banda adicional a 59.2 °C y 57.6 °C, lo que sustentó la selección de 61 °C.

Nota: No se interpreta tamaño exacto de amplicón porque la imagen no incluye un marcador molecular visible. La evaluación se limita a presencia de banda única o banda adicional.

Con base en la integración de Cq, curvas de amplificación y electroforesis, se seleccionó 61 °C como temperatura de alineamiento/extensión para el resto del ensayo.

5. Evaluación de eficiencia de amplificación

La eficiencia se evaluó con una serie de dilución 1:5 del cDNA: 1, 1:5, 1:25, 1:125 y 1:625, con triplicados técnicos por gen en la etapa de eficiencia. Los Cq promedio fueron graficados contra el log10 de la concentración relativa. La eficiencia se calculó según: E(%) = (10^(-1/pendiente) − 1) × 100.

Gen	Pendiente	Intercepto	R^2	Eficiencia (%)	Evaluación
β-actina	-2.54	24.70	0.998	148.00	Fuera de rango
SOD	-2.98	23.60	0.999	116.74	Superior al rango esperado
Vitelogenina	-2.99	23.70	0.998	116.23	Superior al rango esperado

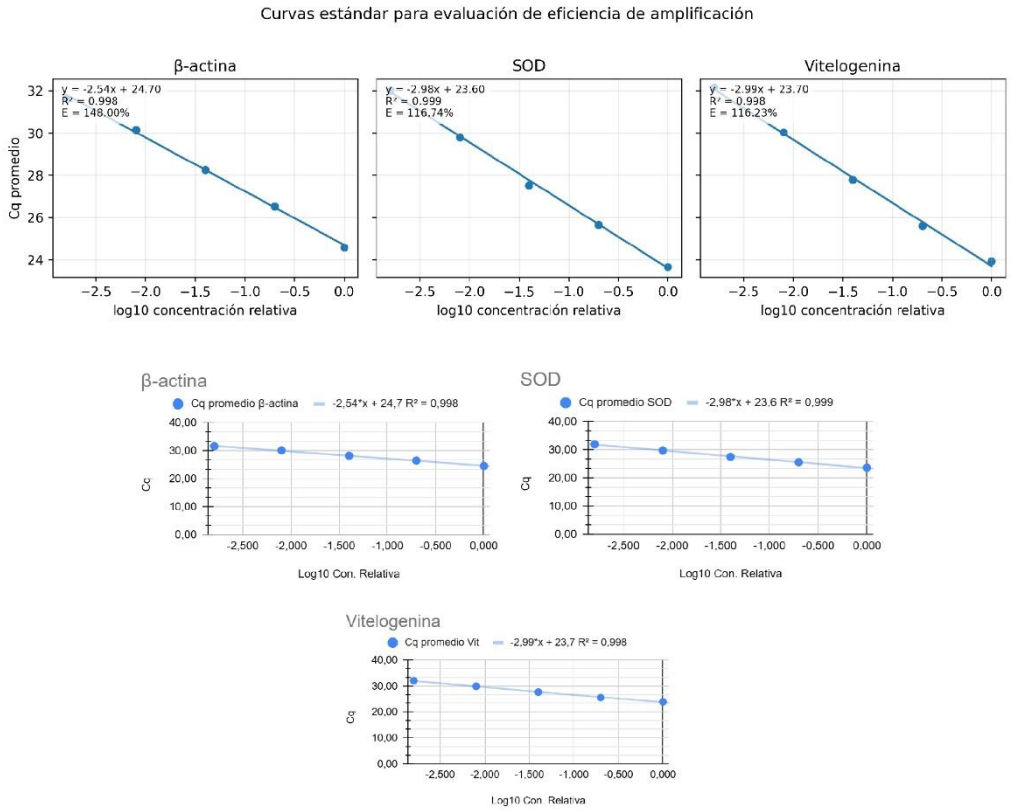


Figura 4. Curvas estándar de eficiencia para β-actina, SOD y vitelogenina.

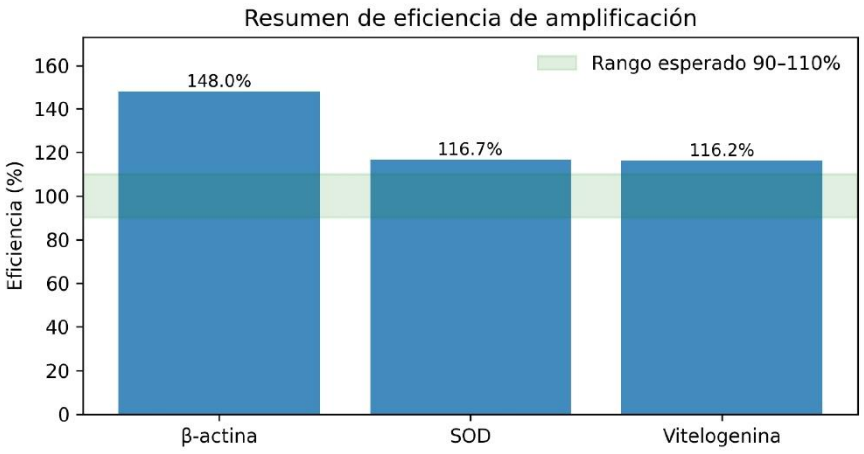


Figura 5. Resumen de eficiencias de amplificación. El rango sombreado representa el intervalo esperado de 90–110 %.

Aunque las curvas presentaron alta linealidad, las eficiencias se ubicaron por encima del rango ideal, por lo que los resultados finales fueron procesados mediante el método de Pfaffl, el cual permite aplicar factores de amplificación específicos para cada gen.

6. Controles NTC, controles positivos y criterio de corte

Se realizó una evaluación previa de NTC y controles positivos para verificar amplificación de los primers y detectar señales tardías sin molde. En β-actina y SOD se observaron señales tardías en NTC por encima del ciclo 36; vitelogenina no presentó amplificación detectable en NTC. En el ensayo final, los NTC no mostraron Cq detectable dentro del rango analizado.

Gen	Cq NTC previo	Cq control positivo	Interpretación
β-actina	38.44	23.22	NTC tardío; fuera del rango operativo válido
SOD	37.36	22.55	NTC tardío; fuera del rango operativo válido
Vitelogenina	No detectado	23.06	NTC negativo

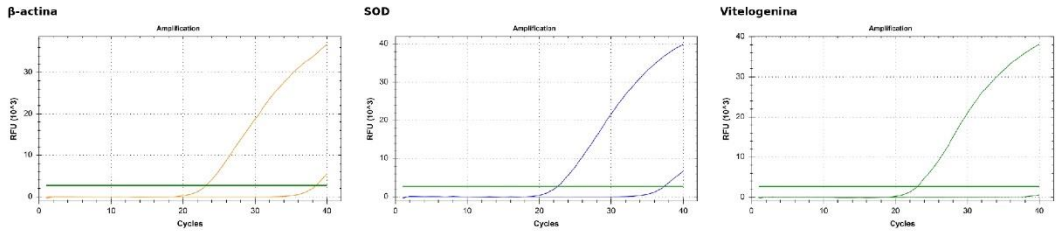


Figura 6. Curvas de amplificación de controles positivos y NTC por gen en la evaluación previa de blancos.

Nota: Se estableció un criterio operativo de corte en 36 ciclos. Las señales con Cq ≥ 36 fueron consideradas no cuantificables o no confiables para análisis relativo. Este criterio se usa como control de calidad y no como sustituto de validación adicional por melting o electroforesis.

7. Ensayo experimental y análisis de expresión relativa

7.1 Curvas de amplificación del ensayo final

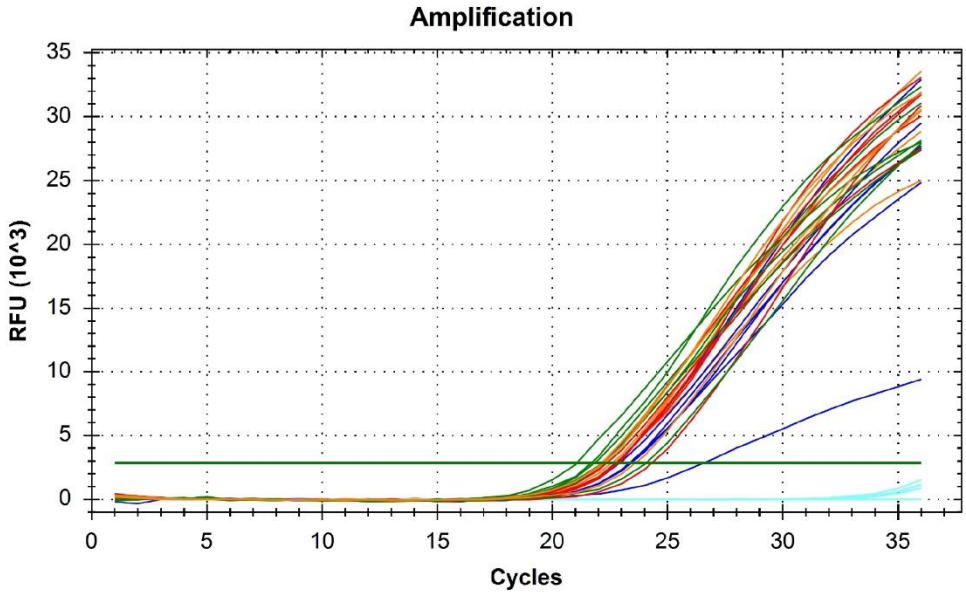


Figura 7. Curvas de amplificación del ensayo final con NTC, controles positivos y muestras de los tratamientos.

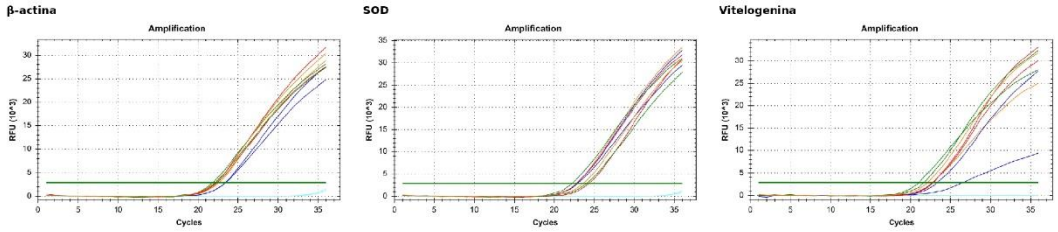


Figura 8. Curvas de amplificación del ensayo final separadas por gen.

7.2 Cq procesados del ensayo final

Grupo	Muestra	Cq β-actina	Cq SOD	Cq vitelogenina	Estado
Control	Control 1	23.42	22.92	26.57	Válido
Control	Control 2	23.37	22.77	23.35	Válido
Tratamiento A	A1	22.37	22.80	22.74	Válido
Tratamiento A	A2	22.25	24.32	22.87	Válido
Tratamiento B	B1	21.83	22.20	21.07	Válido
Tratamiento B	B2	22.14	24.07	21.69	Válido
Tratamiento C	C1	22.23	23.61	22.15	Válido
Tratamiento C	C2	22.58	22.84	22.76	Válido

7.3 Normalización ΔCq

Grupo	Muestra	ΔCq SOD	ΔCq vitelogenina
Control	Control 1	-0.50	3.15
Control	Control 2	-0.60	-0.02
Tratamiento A	A1	0.44	0.38
Tratamiento A	A2	2.07	0.62
Tratamiento B	B1	0.37	-0.75
Tratamiento B	B2	1.93	-0.46
Tratamiento C	C1	1.37	-0.08
Tratamiento C	C2	0.26	0.18

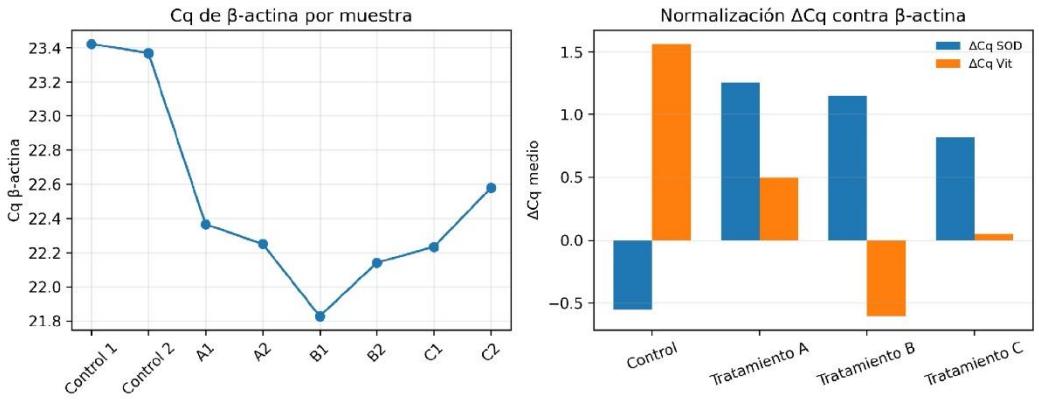


Figura 9. Estabilidad relativa del Cq de β-actina y normalización ΔCq de SOD y vitelogenina.

7.4 Cálculo de expresión relativa por Pfaffl

Debido a que las eficiencias no fueron equivalentes ni cercanas al 100 %, se empleó el método de Pfaffl. Los factores de amplificación aplicados fueron: β-actina = 2.4800, SOD = 2.1674 y vitelogenina = 2.1623. El grupo control fue usado como calibrador, considerando el promedio de Control 1 y Control 2.

Gen	Eficiencia (%)	Factor E	Observación
β-actina	148.00	2.4800	Gen de referencia; factor fuera del rango ideal
SOD	116.74	2.1674	Gen de interés; eficiencia ligeramente alta
Vitelogenina	116.23	2.1623	Gen de interés; eficiencia ligeramente alta

Grupo	Muestra	RQ SOD	log2(RQ) SOD	RQ vitelogenina	log2(RQ) vitelogenina	Estado
Control	Control 1	0.965	-0.052	0.296	-1.759	Válido
Control	Control 2	1.037	0.052	3.384	1.759	Válido
Tratamiento A	A1	0.405	-1.303	2.165	1.114	Válido
Tratamiento A	A2	0.113	-3.146	1.773	0.826	Válido
Tratamiento B	B1	0.396	-1.336	4.816	2.268	Válido
Tratamiento B	B2	0.124	-3.011	3.996	1.998	Válido
Tratamiento C	C1	0.193	-2.371	3.028	1.598	Válido
Tratamiento C	C2	0.477	-1.067	2.601	1.379	Válido

7.5 Resumen de expresión relativa por grupo

Grupo	RQ geom. SOD	Media log2 SOD	RQ geom. vitelogenina	Media log2 vitelogenina	Cambio SOD	Cambio vitelogenina
Control	1.000	0.000	1.000	0.000	0.0%	0.0%
Tratamiento A	0.214	-2.225	1.959	0.970	-78.6%	95.9%
Tratamiento B	0.222	-2.173	4.387	2.133	-77.8%	338.7%
Tratamiento C	0.304	-1.719	2.806	1.489	-69.6%	180.6%

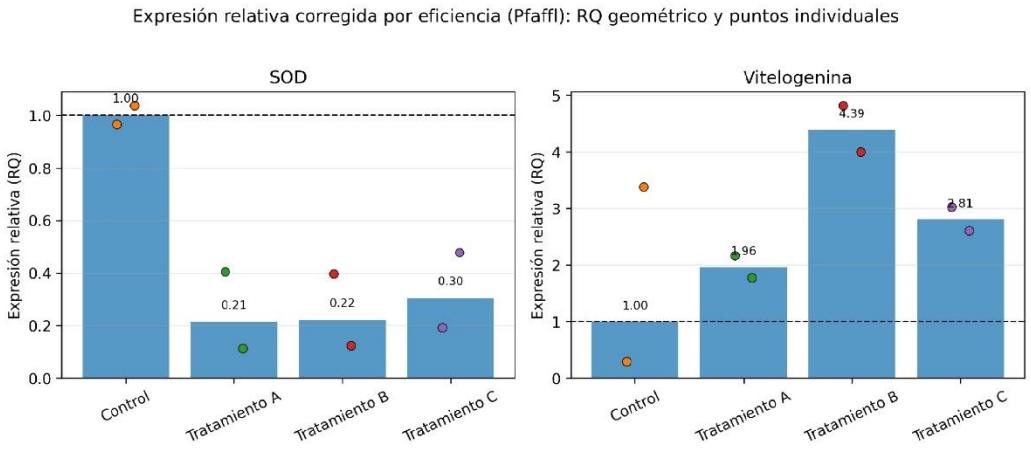


Figura 10. Expresión relativa corregida por eficiencia: RQ geométrico por grupo y puntos individuales de los duplicados.

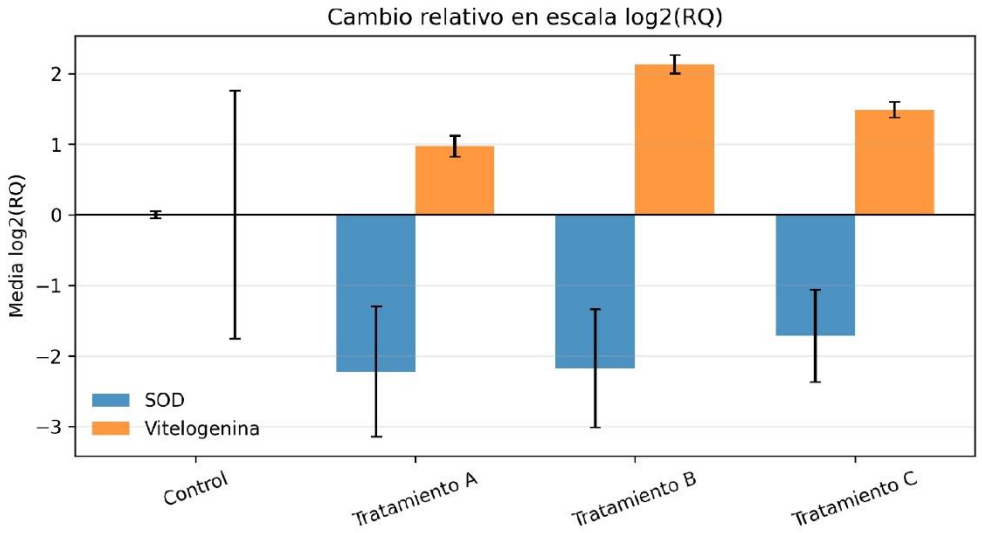


Figura 11. Comparación global en escala log2(RQ). Los valores negativos indican disminución relativa; los positivos, aumento relativo respecto al control.

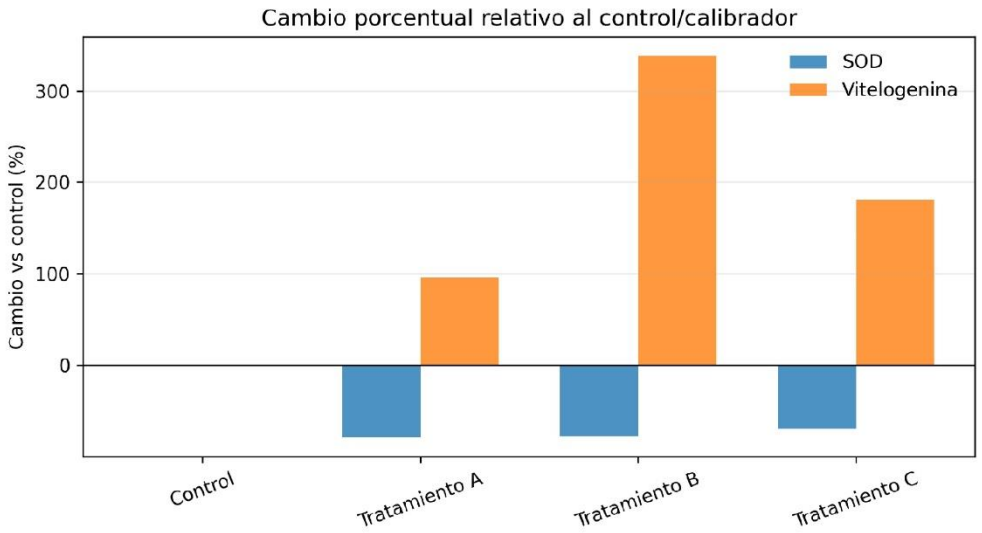


Figura 12. Cambio porcentual aproximado respecto al control/calibrador.

8. Estadística exploratoria

Se realizaron pruebas t de Welch bilaterales sobre log2(RQ) para comparar el grupo control contra cada tratamiento. Debido a n = 2 por grupo y a la ausencia de réplicas técnicas de qPCR, los p-valores se consideran únicamente exploratorios y no concluyentes.

Gen	Comparación	p exploratorio	Nota

SOD	Control vs Tratamiento A	0.138	No concluyente por n bajo
SOD	Control vs Tratamiento B	0.122	No concluyente por n bajo
SOD	Control vs Tratamiento C	0.119	No concluyente por n bajo
Vitelogenina	Control vs Tratamiento A	0.638	No concluyente por n bajo
Vitelogenina	Control vs Tratamiento B	0.350	No concluyente por n bajo
Vitelogenina	Control vs Tratamiento C	0.487	No concluyente por n bajo

Nota: Los resultados deben interpretarse principalmente a partir de la dirección del cambio, magnitud del efecto, puntos individuales y consistencia entre duplicados. No se reportan diferencias estadísticamente concluyentes.

9. Conclusiones

- La temperatura de 61 °C fue seleccionada como condición final de alineamiento/extensión por ofrecer el mejor equilibrio entre amplificación detectable y especificidad electroforética, especialmente para β-actina.
- La evaluación de eficiencia mostró alta linealidad de las curvas estándar; sin embargo, las eficiencias fueron superiores al rango esperado de 90–110 %, particularmente β-actina con 148.00 %. Por ello, el análisis final se corrigió por eficiencia mediante Pfaffl.
- Los controles NTC del ensayo final no presentaron Cq detectable dentro del rango analizado. La evaluación previa de blancos mostró señales tardías en β-actina y SOD, por lo que se estableció un criterio operativo de corte en 36 ciclos.
- En el análisis exploratorio final, SOD presentó menor expresión relativa aparente en los tratamientos A, B y C respecto al control, con RQ geométricos de 0.214, 0.222 y 0.304, respectivamente.
- Vitelogenina presentó aumento aparente de expresión relativa en los tratamientos A, B y C respecto al control, con RQ geométricos de 1.959, 4.387 y 2.806, respectivamente. El tratamiento B mostró el mayor aumento aparente.

10. Limitaciones y recomendaciones

Limitación	Recomendación
Eficiencias superiores al rango ideal	Repetir curva estándar con triplicados consistentes y revisar concentración de primers, threshold, pipeteo y especificidad por melting/electroforesis.
β-actina como único gen de referencia	Validar al menos dos genes de referencia adicionales y evaluar estabilidad antes de publicación o conclusiones definitivas.
n = 2 por grupo	Incrementar el número de réplicas biológicas/experimentales para permitir estadística robusta.
Ausencia de réplicas técnicas en el ensayo final	Incluir duplicados o triplicados técnicos por muestra y gen en corridas posteriores.
Señales tardías previas en NTC de β-actina y SOD	Confirmar naturaleza mediante curva melting, electroforesis de NTC o rediseño/optimización de primers si persiste.

11. Referencias

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Clinical Chemistry, 55(4), 611–622. https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797

Bustin, S. A., Ruijter, J. M., van den Hoff, M. J. B., Kubista, M., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Tran, N., Rödiger, S., Untergasser, A., Mueller, R., Nolan, T., Milavec, M., Burns, M. J., Huggett, J. F., Vandesompele, J., & Wittwer, C. T. (2025). MIQE 2.0: Revision of the minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments guidelines. Clinical Chemistry, 71(6), 634–651. https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaf043

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2−ΔΔCT method. Methods, 25(4), 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research, 29(9), e45. https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., & Speleman, F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biology, 3, research0034.1. https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-research0034

12. Anexos

Anexo 1. Archivos revisados y generados

Archivo / grupo de archivos	Uso en el informe
Gradiente RACZ	Exportes de CFX Manager correspondientes a Cq, curvas, RFU y run information.
RTqPCR_02_Eficiencia_Calculos_Bactina_SOD_Vit_v01.xlsx	Libro de cálculo de eficiencia: Cq crudos, Cq procesados, pendiente, R^2, eficiencia y exclusiones.
RTqPCR_03_Ensayo_Analisis_Relativo_Bactina_SOD_Vit_RACZ_v02_graficos_mejorados.xlsx	Libro de análisis final: Cq, control de calidad, ΔCq, Pfaffl, resumen, estadística y gráficos.
Imágenes de curvas y electroforesis	Evidencia visual de amplificación, NTC/positivos, ensayo final y especificidad electroforética.