

1-1-2010

Determinación de la concentración letal media (CI50-48) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex*

Lina María Velandia Guaque
Universidad de La Salle, Bogotá

Yinny Sirley Montañez Cardozo
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria

Citación recomendada

Velandia Guaque, L. M., & Montañez Cardozo, Y. S. (2010). Determinación de la concentración letal media (CI50-48) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex*. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/38

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ingeniería at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Ingeniería Ambiental y Sanitaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente
mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL_{50-48}) DEL PLOMO Y
CROMO HEXAVALENTE MEDIANTE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA
UTILIZANDO *DAPHNIA PULEX*

LINA MARÍA VELANDIA GUAUQUE; CÓDIGO 41012161
YINNY SIRLEY MONTAÑEZ CARDOZO; CÓDIGO 41032091

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
BOGOTÁ D.C.
2010

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL_{50-48}) DEL PLOMO Y
CROMO HEXAVALENTE MEDIANTE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA
UTILIZANDO *DAPHNIA PULEX*

LINA MARÍA VELANDÍA GUAUQUE
YINNY SIRLEY MONTAÑEZ CARDOZO

Tesis de Grado para Optar al Título de
Ingenieras Ambientales y Sanitarias

Director
PEDRO MIGUEL ESCOBAR MALAVER
Químico Industrial
Lic. Química y Biología
Msc. Alta Gestión, Consultoría y Verificación Medio Ambiental
Msc. Residuos Urbanos E Industriales

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
BOGOTÁ D.C.
2010

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente
mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

Nota de aceptación

Firma del Director de Tesis

Firma del Jurado 1

Firma del Jurado 2

Bogotá D.C., Enero de 2010

GRACIAS a Dios quien siempre ha estado a mi lado, llenándome de fortaleza, a mis padres y hermanos por su constante colaboración; a mis amigas quienes me han ayudado y acompañado incondicionalmente y a todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaron su ayuda y amistad para lograr culminar esta etapa tan importante en mi vida.

Lina María Velandia Guauque

Gracias Al Divino Niño Jesús, a la Virgen de Manare patrona de Casanare, a mis padres, a mi hermano Víctor y Mauricio, a Fernando y a cada una de las personas que contribuyeron para hacer mi sueño realidad.

Yinny Sirley Montañez Cardozo

AGRADECIMIENTOS

Los Autores expresan sus agradecimientos a:

Al Ingeniero Pedro Miguel Escobar Químico Industrial, director de tesis quien nos brindo su colaboración, apoyo y conocimientos para llevar a cabo la investigación.

Al Ingeniero Camilo Guáqueta, Decano de la Facultad de Ingenierías de la Universidad de La Salle, por su apoyo incondicional durante la carrera.

Al Ingeniero Oscar Fernando Contento director del laboratorio del programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria.

Al Ingeniero Hernando Amado y Ricardo Campos por su colaboración.

GLOSARIO

Aclimatación: Adaptación de un organismo de prueba a diversas condiciones ambientales, tales como temperatura, luz o diferentes cantidades de agua.

Agua Reconstituida: Agua preparada con reactivos establecidos, con el fin de generar las condiciones ambientales presentes en los ecosistemas en los cultivos mantenidos en el laboratorio de bioensayos.

Bioensayo: Método para evaluar la potencia relativa de un agente sobre organismos vivos, mediante la comparación del efecto del agente con el de una solución patrón o "Standard".

Cadena Trófica: También llamada cadena alimentaria, es la corriente de energía y nutrientes que se establece entre las distintas especies de un ecosistema en relación con su alimentación.

Concentración¹: Se define como concentración de una sustancia, elemento o compuesto en un líquido, la relación existente entre su peso y el volumen del líquido que lo contiene.

Concentración Letal (CL): Es la concentración de tóxico estimada que produce la muerte de una proporción específica de los organismos de prueba. Se define como la concentración letal media (CL_{50}), que corresponde a la concentración que mata al 50% de los organismos expuestos en un determinado periodo de tiempo.

Contaminante: Sustancia introducida en el ambiente por actividades humanas, que produce efectos adversos sobre un ecosistema.

Cromo Hexavalente: El cromo se encuentra de forma natural, en las rocas, los animales, las plantas, el suelo, el polvo y gases volcánicos, puede producirse en diversos estados de oxidación. El cromo está presente en el ambiente en varias formas, las más comunes son el cromo trivalente (III) y el cromo hexavalente (VI). La contaminación del medio ambiente por cromo hexavalente es originada por actividades industriales tales como: la fabricación de productos químicos, textiles y de cuero, además de la pintura para electrodeposición. El cromo hexavalente se utiliza en el cromado, la fabricación de colorantes y pigmentos, el curtido del cuero y la conservación de la madera. El cromo hexavalente también se puede encontrar en algunos componentes de equipos eléctricos, como piezas recubiertas de cinc, placas de circuitos y tubos de rayos catódicos.

¹ Colombia, Ministerio de agricultura. 1984, Decreto 1594. Decreto uso del agua y los residuos líquidos. Junio 1984. Artículo 13.

***Daphnia pulex*:** Uno de los organismos más corrientemente usados en bioensayos acuáticos es la pulga de agua, un crustáceo cladocero particularmente sensible a numerosos compuestos químicos (Mayer & Ellersieck 1986).² La pulga de agua (*Daphnia pulex*) pertenecen al orden Cladóceros, que vive en las aguas dulces, es empleado como organismo de ensayo para llevar a cabo un método de referencia. En condiciones favorables se reproducen por partenogénesis originando sólo hembras que incrementan de forma rápida la población. Estos son un componente importante de las comunidades acuáticas y es sensible a un amplio rango de contaminantes. Su pequeño tamaño, ciclo de vida corto y facilidad de cultivo, lo hacen un organismo de elección.

Dosis: Cantidad de sustancia administrada, expresada en términos de: unidad/peso corporal.

Ecosistema Acuático: Es la unidad funcional básica de interacción de los organismos vivos entre sí y de estos con el ambiente acuático en un espacio y tiempo determinado.

Ensayo de Toxicidad: Determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados o el grado de efecto luego de la exposición a la muestra.

Ensayo Definitivo: Prueba diseñada para establecer la concentración a la cual se presenta el efecto final establecido, se utilizan múltiples concentraciones a estrechos intervalos y múltiples réplicas.

Ecosistema³: Un ecosistema es un sistema natural vivo que está formado por un conjunto de organismos vivos (biocenosis) y el medio físico en donde se relacionan, biotopo. Un ecosistema es una unidad compuesta de organismos interdependientes que comparten el mismo hábitat. Los ecosistemas suelen formar una serie de cadenas tróficas que muestran la interdependencia de los organismos dentro del sistema.

Ecosistema acuático⁴: son todos aquellos ecosistemas que tienen por biotopo algún cuerpo de agua, como pueden ser: mares, océanos, ríos, lagos, pantanos y demás fuentes. Los dos tipos más destacados son: los ecosistemas marinos y los ecosistemas de agua dulce.

Ecotoxicología: Rama de la ciencia que estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos.

² Mayer & Ellersieck (1986). Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustáceo: cladóceros) usando un tóxico de referencia. *Gayana* 67(1): 87-96, 2003. Disponible en Internet: <http://www.scielo.cl/pdf/gayana/v67n1/art11.pdf> [citado 19 de enero de 2010].

³ Ecosistema. Disponible en Internet: <http://es.wikipedia.org/wiki/Ecosistema>. [citado 19 de enero de 2010].

⁴ Ecosistema Acuático. Disponible en Internet: http://es.wikipedia.org/wiki/Ecosistema_acuático [citado 19 de enero de 2010].

Efipios: Cápsula protectora, la cual se encuentra en la cámara incubadora de las *Daphnia pulex* engrosando sus paredes, en ella se desarrollan los machos de esta especie, cuando cambian las condiciones del ambiente o el cultivo. Su característica principal es su color oscuro y se observan dos huevos grandes.

Dilución: Es bajar la concentración de una solución, mediante la adición de más solvente. El factor de dilución, es la relación volumétrica entre solvente y soluto.

Dureza: Concentración en el agua de sales de calcio y magnesio. Se suele expresar en mg/l de carbonato de Calcio.

Plomo: El plomo se encuentra de forma natural como parte de la corteza terrestre, en las rocas o el suelo. Otras fuentes comunes de plomo provienen de las emisiones de la combustión de carburantes y residuos sólidos, emisiones industriales de la producción y fundición de metales, el humo del tabaco y el uso en munición. El plomo se utiliza en gran cantidad de aplicaciones electrónicas, en soldaduras y como estabilizador en cableado de PVC. El plomo también se utiliza en objetivos ópticos y pantallas. Históricamente, el uso del plomo también se incluye en la gasolina y pintura.

Tiempo de Exposición: Tiempo de contacto de los organismos de prueba con la solución estudiada.

Tolerancia: Habilidad de un organismo a tolerar una condición dada por un periodo de tiempo prolongado de exposición, sin que muera.

Tóxico: Agente capaz de producir un efecto adverso, dañando la estructura y el funcionamiento del ecosistema.

Toxicidad⁵: Propiedad que tiene una sustancia, elemento o compuesto de causar daños en la salud humana o la muerte de un organismo vivo.

Toxicidad Aguda⁶: Propiedad de una sustancia, elemento, compuesto, desecho, o factor ambiental, de causar efecto letal u otro efecto nocivo en cuatro (4) días o menos a los organismos utilizados para el bioensayo acuático.

Toxicidad Crónica⁷: Propiedad de una sustancia, elemento, compuesto, desecho o factor ambiental, de causar cambios en el apetito, crecimiento, metabolismo, reproducción, movilidad o la muerte o producir mutaciones después de cuatro (4) días a los organismos utilizados por el bioensayo acuático.

⁵ Colombia, Ministerio de agricultura. 1984, Decreto 1594. Decreto uso del agua y los residuos líquidos. Junio 1984. Artículo 16.

⁶ Ibíd., artículo 17

⁷ Ibíd., artículo 18

RESUMEN

Uno de los principios de la ingeniería Ambiental es minimizar los efectos adversos de las actividades humanas. En esta investigación se analizó el problema de contaminación que genera una industria galvánica la cual vierte metales pesados. Es por ello que se acude a la realización de ensayos de toxicidad los cuales fueron la base de este proyecto ya que permitieron evaluar el grado de afectación del cromo hexavalente y plomo en las *Daphnia pulex* al tener contacto con estos. Para el desarrollo del proyecto se llevaron a cabo las siguientes fases:

El inicio de los montajes de los cultivos de las *Daphnia Pulex* "pulgas de agua" en condiciones semejantes a su medio natural, esto con el fin lograr un rápido crecimiento de la población.

Desarrollo de pruebas de toxicidad aguda con el propósito de identificar el efecto que tienen los contaminantes puros y la muestra ambiental sobre el medio acuático, con la ayuda de las pulgas de agua bajo condiciones experimentales específicas y controladas, con el fin de determinar la concentración letal media CL_{50-48} del dicromato de potasio, plomo y cromo hexavalente y la muestra ambiental, expuesta a diferentes concentraciones y porcentajes de dilución.

Se caracterizó el vertimiento de la empresa destacando el valor de la concentración del cromo hexavalente donde a partir de este dato se halló la concentración letal media CL_{50-48} por medio de pruebas de toxicidad. Los datos obtenidos de las pruebas de toxicidad se evaluaron mediante el programa Probit para observar la confiabilidad de los resultados y con ayuda del Software de Excel se hizo el análisis estadístico utilizando el método de varianza denominado ANOVA.

Finalmente se analizan los resultados para dar estándares de contaminación de los tóxicos trabajados con la *Daphnia pulex*, que garantizan la preservación de microorganismos acuáticos en Colombia donde las concentraciones mínimas permitidas son muy altas para el tipo de especies que se encuentran en los ecosistemas acuáticos.

Palabras Claves: Concentración letal media (CL_{50-48}), *Daphnia pulex*, pruebas de toxicidad Cromo hexavalente (Cr^{+6}), plomo (Pb), ecosistemas acuáticos.

ABSTRACT

One of the principles of environmental engineering is to minimize the adverse effects of human activities. This research I discuss the problem of pollution that generates a galvanic industry which poured heavy metals. This is why come to toxicity testing which will form the basis of this project as it will allow assessing the degree of illness of hexavalent chromium and leading in the *Daphnia pulex* having contact with these. The development project carried out the following phases:

The mounts of the crops of the *Daphnia Pulex* "water fleas" in conditions similar to their natural environment, in order start achieving rapid population growth.

Development of acute with the purpose of identifying the effect of pollutants cigars and environmental on the water with the help of water under experimental conditions specific and controlled, in order determine the median lethal concentration LC_{50} of potassium, lead, hexavalent chromium and environmental sample exposed to different concentrations and percentages of dilution dichromate fleas environment displays toxicity tests.

Marked dumping company highlighting the value of the concentration of chromium hexavalent where from this data we found the median lethal concentration LC_{50-48} in toxicity testing.

Toxicity tests data were evaluated using the Probit, to observe the acceptability of results by means of statistical analysis using the variance method called ANOVA, with the help of Excel and get the median lethal concentration (CL_{50-48}) software.

Finally the results are analyzed in order to give the toxic pollution standards worked with *Daphnia pulex*, guaranteeing the preservation of aquatic organisms in Colombia where allowed minimum concentrations are very high for the type of species found in aquatic ecosystems.

Key words: Average lethal concentration (LC_{50-48}), *Daphnia Pulex*, evidence of toxicity hexavalent chromium (CR + 6), lead (Pb), aquatic ecosystems

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	20
1. OBJETIVOS	22
1.1 OBJETIVO GENERAL	22
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2. MARCO TEÓRICO	23
2.1 RECURSO NATURAL: EL AGUA	23
2.2 ECOTOXICOLOGÍA	24
2.3 ENSAYOS DE TOXICIDAD	24
2.3.1 Clasificación de los bioensayos	25
2.4 BIOINDICADORES = INDICADORES BIOLÓGICOS	27
2.5 <i>DAPHNIA PULEX</i> : Organismo Utilizado	27
2.5.1 Hábitat	28
2.5.2 Morfología	28
2.5.3 Respiración	29
2.5.4 Reproducción	30
2.5.5 Sistema Circulatorio	30
2.5.6 Alimentación	31
2.5.6.1 Algas	31
2.5.6.1.1 <i>Selenastrum Capricornutum</i>	32
2.5.7 Ciclo de Vida de <i>Daphnia pulex</i>	32
2.5.8 Criterios de Selección del organismo	32
2.5.9 Importancia Ecológica	33
2.6 MÉTODOS ESTADÍSTICOS UTILIZADOS EN LA EVALUACIÓN Y ANÁLISIS DE LA TOXICIDAD	33
2.6.1 Establecimiento de una relación dosis-respuesta.	34
2.6.1.1 Establecimiento de una relación dosis-respuesta de tipo mortalidad .	34
2.6.2 Pruebas para evaluar la diferencia entre organismos tratados o expuestos a distintas dosis contra un control negativo (dosis 0).	36
2.7 METALES PESADOS	38
2.7.1 Plomo	38
2.7.1.1 Fuentes	38
2.7.1.2 Usos industriales	38
2.7.1.3 Legislación general	39
2.7.1.4 Efectos tóxicos generales sobre el medio ambiente	39
2.7.1.5 Efectos tóxicos generales sobre la salud	39
2.7.2 CROMO HEXAVALENTE	41
2.7.2.1 Fuentes	41
2.7.2.2 Usos industriales	41
2.7.2.3 Legislación general	41
2.7.2.4 Efectos tóxicos generales sobre el medio ambiente	42
2.7.2.5 Efectos tóxicos generales sobre la salud	42
2.8. LA INDUSTRIA GALVÁNICA	43

3.	MARCO LEGAL	44
4.	METODOLOGÍA	46
4.1	INICIACIÓN DEL CULTIVO CON DAPHNIA PULEX	46
4.2	CULTIVO Y MANTENIMIENTO DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA	47
4.3	PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUIDA	50
4.4	PREPARACIÓN DEL MEDIO BRISTOL Y CULTIVO DE ALGAS VERDES.....	53
4.4.1	Conteo de algas:.....	55
4.5	PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES	58
4.5.1	Preparación de soluciones de Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).....	58
4.5.2.	Preparación de soluciones para cromo hexavalente (Cr+6)	61
4.5.3	Preparación de de soluciones para plomo (Pb).....	62
4.6	PRUEBAS DE TOXICIDAD	62
4.6.1	Pruebas preliminares: Fase 1	63
4.6.2	Pruebas definitivas: Fase 2.....	58
4.7	DETERMINACIÓN DE RESULTADOS	60
4.7.1	Determinación de la carga tóxica e índice toxicológico del vertimiento .	61
5.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	63
5.1	SEGUIMIENTO DEL CULTIVO DE <i>Daphnia pulex</i>	63
5.2	PRUEBAS DE TOXICIDAD	65
5.2.1	Pruebas de sensibilidad con Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$).....	65
5.2.1.1	Análisis Probit	65
5.2.1.2	Análisis de varianza (ANOVA).....	68
5.2.2	Pruebas preliminares y definitivas de toxicidad con cromo hexavalente (Cr^{+6})	70
5.2.2.1	Análisis Probit	71
5.2.2.2	Análisis de varianza (ANOVA).....	72
5.2.3	Pruebas toxicológicas con plomo (Pb)	74
5.2.3.1	Pruebas preliminares de toxicidad con plomo (Pb)	74
5.2.3.2	Pruebas definitivas de toxicidad con plomo (Pb)	74
5.2.3.2.2	Análisis de varianza (ANOVA).....	76
5.2.4	Pruebas toxicológicas de la muestra ambiental.....	78
5.2.4.1	Análisis fisicoquímico de la muestra ambiental.....	78
5.2.4.2	Pruebas preliminares de toxicidad de la muestra ambiental.....	78
5.2.4.3	Pruebas definitivas de toxicidad de la muestra ambiental	79
5.2.4.3.1	Análisis Probit	79
5.2.4.3.2	Análisis de varianza (ANOVA).....	80
5.7.1	Obtención de la carga toxica e índice toxicológico del vertimiento	82
6.	CONCLUSIONES.....	84
7.	RECOMENDACIONES	86
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de bioensayos	26
Tabla 2. Principales grupos de algas utilizadas en pruebas de toxicidad.....	31
Tabla 3. Fórmulas para el análisis de varianza	37
Tabla 4. Criterios de calidad admisible	44
Tabla 5. Concentraciones máximas permisibles para vertir a la red de alcantarillado público.....	45
Tabla 6. Resumen de las condiciones recomendadas para el mantenimiento del.....	47
cultivo de <i>Daphnia pulex</i>	47
Tabla 7. Sales listas para preparar el agua desionizada.....	51
Tabla 8. Parámetros de seguimiento agua reconstituida	52
Tabla 9. Stock de Medio Bristol	53
Tabla 10 Compuesto de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)	62
Tabla 11. Concentraciones preliminares para muestra ambiental (cromo hexavalente) ...	65
Tabla 12. Concentraciones definitivas para la muestra ambiental de cromo hexavalente.	58
Tabla 13. Índices Toxicológicos	62
Tabla 14. Registro de neonatos	63
Tabla 15. Concentración letal media de Dicromato de Potasio	65
Tabla 16. Comparación de resultados de sensibilidad con el toxico de referencia dicromato de potasio.	68
Tabla 17. Pruebas con dicromato de potasio	69
Tabla 18. Tratamientos ANOVA para dicromato de potasio	69
Tabla N. 19 Resultados ANOVA con dicromato de potasio	69
Tabla N. 20 Resultados ANOVA con dicromato de potasio	70
Tabla No. 21 Pruebas preliminares con cromo hexavalente.....	70
Tabla No. 22 Pruebas definitivas con cromo hexavalente	71
Tabla 23. Concentración letal media de cromo hexavalente	71
Tabla 24. Pruebas para cromo hexavalente.....	73
Tabla 25. Tratamientos ANOVA para cromo hexavalente	73
Tabla 26. Resultados ANOVA para cromo hexavalente	73
Tabla 27. Resultados Totales ANOVA para cromo hexavalente	74
Tabla 28. Pruebas preliminares con plomo	74
Tabla 29. Pruebas definitivas con plomo	75
Tabla 30. Concentración letal media de plomo	75
Tabla 31. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)	76

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente
mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

Tabla No.32 Tratamientos ANOVA para plomo.....	77
Tabla 33. Resultados ANOVA para plomo	77
Tabla No.34 Resultados Totales ANOVA para plomo.....	77
Tabla No.35 Resultados de Análisis Físicoquímicos de la muestra ambiental.....	78
Tabla.36. Pruebas preliminares de la muestra ambiental	78
Tabla No.37 Pruebas definitivas de la muestra ambiental	79
Tabla 38. Concentración letal media de la muestra ambiental (cromo hexavalente)	79
Tabla 39 Pruebas de la muestra ambiental (cromo hexavalente).....	80
Tabla No.40 Tratamientos ANOVA para la muestra ambiental (cromo hexavalente)	81
Tabla No.41 Resultados ANOVA para la muestra ambiental (cromo hexavalente)	81
Tabla 42. Resultados Totales ANOVA par la muestra ambiental (cromo hexavalente).....	81
Tabla 43. Índices Toxicológicos	83

LISTA DE IMÁGENES

Imagen 1. Partes <i>Daphnia pulex</i>	29
Imagen 2. Sexo de <i>Daphnia pulex</i>	30
Imagen 3. Alga <i>Selenastrum capricornutum</i>	32
Imagen 4. Plomo	38
Imagen 5. Cromo.....	41
Imagen 6. Cultivo <i>Daphnia pulex</i>	48
Imagen 7. Sales listas para preparar el agua desionizada	51
Imagen 8. Test de viabilidad	52

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Separación de neonatos >24h.....	49
Esquema 2. Montaje medio bristol fuente: Autoras, 2010	54
Esquema 3. Obtención de algas	54
Esquema 4. Conteo de algas con la cámara Neubauer.....	55
Esquema 5. Preparación de la solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).....	59
Esquema 6. Preparación de la solución A.....	60
Esquema 7. Preparación de las soluciones (0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.05) ppm.	61
Esquema 8. Ensayos de toxicidad	63
Esquema 9. Preparación pruebas de toxicidad	60

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Clasificación de variables experimentales	46
Diagrama 2.Cultivo <i>Daphnia pulex</i>	49
Diagrama 3. Preparación del agua reconstituida.....	50
Diagrama 4. Procedimiento para conteo de algas.....	57
Diagrama 5. Metodología de Pruebas preliminares con <i>Daphnia Pulex</i>	66
Diagrama 6.Metodología de Ensayos de toxicidad con <i>Daphnia Pulex</i>	59
Diagrama 7.Reproducción <i>Daphnia pulex</i>	65

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Curva de dosis - respuesta de organismos expuesto a bioensayos	35
Gráfica 2. Reproducción <i>Daphnia pulex</i>	64
Gráfica 3. Prueba de sensibilidad con dicromato de potasio	67
Gráfica 4. Pruebas de Toxicidad con cromo hexavalente	72
Gráfica 5. Pruebas de toxicidad del plomo	76
Gráfica 6. Pruebas de Toxicidad de la muestra ambiental (cromo hexavalente)	80

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Registro conteo de algas verdes. *Selenastrum capricornutum*

Anexo B. Reporte de datos de bioensayos. Dicromato de potasio

Anexo C. Reporte de datos de bioensayos. Cromo hexavalente

Anexo D. Reporte de datos de bioensayos. Plomo

Anexo E. Reporte de datos de bioensayos. Vertimiento

Anexo F. Protocolo LB07, Análisis Varianza (ANOVA). Dicromato de potasio

Anexo G. Protocolo LB07, Análisis Varianza (ANOVA). Cromo hexavalente

Anexo H. Protocolo LB07, Análisis Varianza (ANOVA). Plomo

Anexo I. Protocolo LB07, Análisis Varianza (ANOVA). Vertimiento

Anexo J. Análisis Fisicoquímicos del Vertimiento

INTRODUCCIÓN

Los recursos naturales son aquellos elementos proporcionados por la naturaleza que son valiosos para las sociedades humanas por contribuir a su bienestar y desarrollo de manera directa (materias primas, minerales, alimentos) o indirecta (servicios ecológicos indispensables para la continuidad de la vida en el planeta).

Con la evolución y el crecimiento de la humanidad se han venido realizando actividades productivas que generan residuos los cuales pueden afectar los recursos naturales. Este es el caso de las industrias que vierten su desecho tóxico en el recurso hídrico (mares, ríos, lagos, lagunas) más cercano, lo que provoca la muerte de los organismos acuáticos.

Galvanotécnica es una técnica que consiste en la electrodeposición de un recubrimiento metálico sobre una superficie que puede ser o no metálica. Se recomienda cuando por costos o razones estructurales, es necesario modificar las características del metal base seleccionad.⁸

El objetivo del recubrimiento es mejorar la apariencia del metal base, protegerlo de la corrosión y en algunos casos, modificar alguna propiedad superficial, como por ejemplo mejorar sus propiedades eléctricas o mecánicas, dar mayor dureza, ejercer lubricación, etc.

En galvanotecnica se consideran dos tipos de procesos: la galvanoplastia y la galvanostegia. El primero se refiere al proceso en que los recubrimientos metálicos se hacen sobre las superficies de materiales no conductores; mientras que en el segundo, la galvanotécnica, los recubrimientos siempre se realizan sobre elementos metálicos.

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, la cual se ocupa del estudio del efecto y destino de agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres (Larraín 1995)⁹. Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales del efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, estableciendo relaciones con la concentración-respuesta bajo condiciones controladas en terreno o en el laboratorio¹⁰.

En este estudio se realizaron pruebas de toxicidad aguda empleando *Daphnia pulex* como bioindicador ambiental, con el que se calculó la concentración letal media CL_{50-48} (concentración del agente tóxico que causa efecto agudo al 50% de los organismos de prueba en un periodo de 48 horas).

El procedimiento que se llevó a cabo durante la investigación, se dividió en tres fases fundamentales: la primera consistió en establecer el grado de

⁸ Manual de buenas prácticas. Galvanotecnica. Disponible en internet: <http://www.acercar.org.co/industria/manuales/galvanotecnica.html> [citado 19 de enero de 2010]

⁹ (Larraín 1995). Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustáceo: cladóceros) usando un toxico de referencia. Gayana 67(1): 87-96, 2003. Disponible en Internet: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-65382003000100011&script=sci_arttext [citado 19 de enero de 2010]

¹⁰ SILVA Jeannette, TORREJÓN Guillermo, BAY-SCHMITH Enrique & LARRAÍN Alberto. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustáceo: cladóceros) usando un toxico de referencia. Gayana 67(1): 87-96, 2003. Disponible en Internet: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-65382003000100011&script=sci_arttext [citado 19 de enero de 2010].

sensibilidad y el efecto frente al tóxico de referencia el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).

La segunda fase consistió en determinar la CL_{50-48} de los tóxicos cromo hexavalente y plomo, haciendo diferentes diluciones a partir de una solución patrón para cada uno de estos metales.

En la tercera fase, se verificó la existencia de uno de los dos metales propuestos, en un vertimiento de una empresa tipo donde se comprobó la presencia del cromo hexavalente. Por último se evaluó los efectos tóxicos del vertimiento mediante la ejecución de una batería de bioensayos determinando la CL_{50-48} .

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración letal media CL_{50-48} de las sustancias puras plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex*

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la sensibilidad de los organismos *Daphnia pulex* mediante su exposición a dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) como tóxico de referencia
- Determinar la concentración letal media CL_{50-48} de las sustancias puras cromo hexavalente y plomo sobre *Daphnia pulex*, utilizando los protocolos estandarizados por la universidad.
- Determinar el índice de efecto tóxico potencial a un vertimiento de una industria tipo que contenga uno de los metales pesados a estudiar

2. MARCO TEÓRICO

2.1 RECURSO NATURAL: EL AGUA

El agua, al mismo tiempo que constituye el líquido más abundante en la Tierra, representa el recurso natural más importante y la base de toda forma de vida.

EL planeta tierra posee aguas que ocupan una alta proporción, las cuales se presentan en diferentes formas:

- **mares y océanos**, que contienen una alta concentración de sales y que llegan a cubrir un 71% de la superficie terrestre;
- **aguas superficiales**, que comprenden ríos, lagunas y lagos;
- **aguas del subsuelo**, también llamadas *aguas subterráneas*, por fluir por debajo de la superficie terrestre.

Desde los mares, ríos, lagos, e incluso desde los seres vivos, se evapora agua constantemente hacia la atmósfera, hasta que llega un momento en que esa agua se precipita de nuevo hacia el suelo. De esta agua que cae, una parte se evapora, otra se escurre por la superficie del terreno hasta los ríos, lagos, lagunas y océanos, y el resto se infiltra en las capas de la tierra, y fluye también subterráneamente hacia ríos, lagos y océanos. Esta agua subterránea es la que utilizan los vegetales, los cuales la devuelven después de nuevo a la atmósfera; al volver el agua a la atmósfera se completa un ciclo, que se denomina *ciclo hidrológico o del agua*.¹¹

De esta manera la naturaleza garantiza que el agua no se pierda y pueda volver siempre a ser utilizada por los seres vivos. Pero a pesar de su característica de renovabilidad, los impactos causados por las actividades humanas afectan los regímenes de los ríos, su caudal medio anual y su calidad.¹²

El agua constituye más del 80% del cuerpo de la mayoría de los organismos, e interviene en la mayor parte de los procesos metabólicos que se realizan en los seres vivos. Desempeña de forma especial un importante papel en la fotosíntesis de las plantas y, además, sirve de hábitat a una gran parte de los organismos.

Dada la importancia del agua para la vida de todos los seres vivos debido al aumento de las necesidades de ella por el continuo desarrollo de la humanidad, actividades industriales causan impactos ambientales que afectan los regímenes de los ríos, su caudal medio anual y su calidad.

¹¹Recursos naturales. Agua. <http://www.jmarcano.com/recursos/agua.html>[citado 19 de enero de 2010]

¹²Ibíd.

2.2 ECOTOXICOLOGÍA

La ecotoxicología es la rama de la toxicología concerniente al estudio de los efectos de los agentes tóxicos, causados por contaminantes naturales o sintéticos a los constituyentes del ecosistema, en un contexto integral. (Truhaut, 1977)¹³. Según Hoffman (1995)¹⁴ es la ciencia que predice los efectos tóxicos potenciales de los agentes en el ecosistema natural y en especies que no son normalmente blancos de dichos tóxicos.

El objetivo de esta ciencia es analizar el destino y los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, intentando explicar las causas y prever los riesgos probables.

El efecto causado por un tóxico dependerá de la capacidad de causar algún efecto nocivo sobre un organismo vivo, del grado de exposición, que a su vez dependerá de la cantidad que ingrese, de cuánto pase a los distintos compartimientos del ecosistema y de su persistencia.

La ecotoxicidad es la resultante de todo el estrés tóxico que actúan sobre el ambiente. El principio de la ecotoxicología es que los organismos vivos son herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental, puesto que ellos son los que están expuestos a los efectos combinados de la ecotoxicidad. El uso de los métodos de evaluación biológica para detectar compuestos potencialmente dañinos comenzó a desarrollarse en los años '70.¹⁵

Múltiples estrategias de observación y de experimentación se usaron para evaluar la respuesta al estrés químico. Las técnicas de efectos biológicos cubren todo el espectro de la actividad biológica y organización, desde la molécula hasta la comunidad.

La ecotoxicología es conocida también por *toxicología del medio ambiente* o *toxicología ambiental* que estudia:

- La fuente de productos tóxicos o potencialmente tóxicos.
- Su movilidad y persistencia en el medio ambiente y cadenas tróficas.
- Su transformación bajo condiciones ambientales.
- Sus efectos sobre la dinámica de poblaciones de las especies afectadas.

2.3 ENSAYOS DE TOXICIDAD

Los ensayos de toxicidad son los bioensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. En los bioensayos se

¹³ Ecotoxicología Disponible en Internet <http://vaca.agro.uncor.edu/~ecotoxi/>[citado 19 de enero de 2010]

¹⁴ Ibíd.

¹⁵ Ecotoxicología. Disponible en Internet: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Ecotoxicol.htm>[citado 19 de enero de 2010].

usa un tejido vivo, organismo, o grupo de organismos, como reactivo para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa.

Estos ensayos, básicamente, consisten en la exposición de grupos de organismos, a determinadas concentraciones del tóxico por un tiempo determinado. Los organismos deben estar en buenas condiciones de salud, previamente aclimatados a las condiciones del ensayo, y se mantienen en condiciones ambientales constantes. Además se dispone de grupos de control (que no se exponen al tóxico). Luego se miden y registran los efectos biológicos observados en cada uno de los grupos control y tratados posteriormente, se efectúa un análisis estadístico de los datos obtenidos.

Los efectos tóxicos a evaluar pueden ser: mortalidad, inmovilidad, inhibición del crecimiento de la población, alteración del comportamiento, etc. Se determinan distintas variables como, por ejemplo, la Concentración Letal 50 (CL₅₀), que es la concentración letal para el 50 % de los individuos expuestos. Las condiciones de los cultivos y los ensayos deben estar altamente estandarizadas para permitir la comparación de los resultados.

Los ensayos de toxicidad permiten establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y comparar la sensibilidad de una o más especies a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para el mismo tóxico. Es útil para la investigación básica del fenómeno de toxicidad, establecer criterios o patrones de calidad de aguas superficiales o efluentes, la evaluación del impacto ambiental y del riesgo ecológico y el monitoreo de las condiciones de un cuerpo de agua.

Los ensayos pueden ser de laboratorio (con un número reducido de especies, y en condiciones estandarizadas que reproducen sólo en forma muy parcial las condiciones naturales en el ambiente), o de campo (con "encierros" sometidos a las condiciones del medio).

Mediante los ensayos de toxicidad se estudian las relaciones dosis o concentración, efecto y dosis o concentración - respuesta (efecto: cambio biológico evaluable por una escala de intensidad o severidad; respuesta: proporción de la población expuesta que manifiesta un efecto definido).

Los organismos empleados para los ensayos deben tener alta sensibilidad a los tóxicos, ya que al establecer las concentraciones seguras para ellos se espera proteger a todo el ecosistema, pero hay que tener en cuenta que distintas especies tienen diferente sensibilidad a distintas sustancias químicas.

2.3.1 Clasificación de los bioensayos

Un tipo de bioensayo es de respuesta directa el cual busca determinar variables ya sean cualitativas o cuantitativas, en la evaluación de un

contaminante. Dentro de los bioensayos de respuesta directa encontramos los siguientes:

Tabla 1. Tipos de bioensayos

BIOENSAYOS DE RESPUESTA DIRECTA				
BIOENSAYO AGUDO	Toxicidad aguda (mortalidad)	Esta ha sido definida como los efectos adversos que se producen dentro de un corto tiempo después de la exposición a una determinada concentración de un agente tóxico.	Concentración letal 50 (LC50...hs)	Ha sido definida como una expresión estadísticamente derivada de la dosis o concentración de un agente que pueda esperarse produzca la muerte del 50% de la población, después de un determinado período de exposición (Gehring, 1973) ¹⁶ .
		Simula una situación ambiental en la cual el organismo está expuesto, durante un corto período de tiempo, a elevadas concentraciones de un determinado agente tóxico.	Concentración efectiva 50 (EC50....hs)	Es la expresión estadística derivada de la concentración de un agente tóxico que se espera cause un efecto agudo, distinto de la mortalidad, al 50 % de la población expuesta durante un determinado periodo de tiempo.
BIOENSAYO CRÓNICO	Toxicidad crónica (crecimiento, reproducción)	Estos bioensayos permiten la exposición de los organismos durante todo o parte de su ciclo de vida a los contaminantes ambientales, tienen como objetivo estimar la mayor concentración no efectiva o segura de los agentes tóxicos ensayados.	Concentración no efectiva o efecto no observado (NOEC)	Es la mayor concentración del agente tóxico, a la cual los organismos son expuestos durante todo o parte de su ciclo de vida, que no causa efecto, estadísticamente significativo, en la sobrevivencia, crecimiento o reproducción de la población tratada, después de un determinado período de exposición.

¹⁶ Programa de monitoreo ecotoxicológico de los efluentes industriales en el río cruces, provincia de Valdivia Chile". 2005. Disponible en Internet: http://www.sinia.cl/1292/articles-35166_PPT.pd [citado 19 de enero de 2010].

BIOENSAYOS DE RESPUESTA DIRECTA			
BIOENSAYO CRONICO	Toxicidad crónica (crecimiento, reproducción)	Estos "niveles de efectos adversos no observados" son utilizados para establecer los límites de tolerancia para la presencia de tóxicos en agua, suelo, aire, ambiente laboral, etc.	Concentración Menor efectiva (LOEC)
			Es la menor concentración del agente tóxico, al cual se expone los organismos durante todo o parte de su ciclo de vida, que causa un efecto adverso observable, estadísticamente significativo, sobre la sobrevivencia, crecimiento o reproducción de los organismos

Fuente: Autoras , 2010

2.4 BIOINDICADORES = INDICADORES BIOLÓGICOS

Los indicadores biológicos son atributos de los sistemas biológicos que se emplean para descifrar factores de su ambiente. Inicialmente, se utilizaron especies o asociaciones de éstas como indicadores y, posteriormente, comenzaron a emplearse también atributos correspondientes a otros niveles de organización del ecosistema, como poblaciones, comunidades, etc., lo que resultó particularmente útil en estudios de contaminación¹⁷

Las especies indicadoras son aquellos organismos que ayudan a descifrar cualquier fenómeno o acontecimiento actual relacionado con el estudio de un ambiente. Las especies tienen requerimientos físicos, químicos, de estructura del hábitat y de relaciones con otras especies. A cada especie o población le corresponden determinados límites de estas condiciones ambientales entre las cuales los organismos pueden sobrevivir (límites máximos), crecer (intermedios) y reproducirse (límites más estrechos). En general, cuando la especie en cuestión, tenga menores límites de tolerancia, mayor será su utilidad como indicador ecológico. Las especies bioindicadoras deben ser, en general, abundantes, muy sensibles al medio de vida, fáciles y rápidas de identificar, bien estudiadas en su ecología y ciclo biológico, y con poca movilidad. La utilización de organismos vivos como indicadores de contaminación es una técnica bien reconocida.

2.5 DAPHNIA PULEX: Organismo Utilizado

Uno de los organismos más usados en bioensayos acuáticos es la pulga de agua, un crustaceo cladocero particularmente sensible a numerosos

¹⁷Bioindicadores (= indicadores biológicos). Disponible en Internet: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Bioindic.htm> [citado 19 de enero de 2010].

compuestos químicos (Mayer & Ellersieck 1986).¹⁸ La pulga de agua (*Daphnia pulex*) pertenece al orden Cladóceros, que vive en aguas dulces, es empleado como organismo de ensayo para llevar a cabo un método de referencia. En épocas favorables se reproducen por partenogénesis originando sólo hembras que incrementan de forma rápida la población. Son un componente importante de las comunidades acuáticas, son sensibles a un amplio rango de contaminantes. Su pequeño tamaño, ciclo de vida corto y facilidad de cultivo lo hacen un organismo de elección.

2.5.1 Hábitat

Estos organismos se encuentran ampliamente distribuidos en lagos, reservorios artificiales, charcos temporales y aguas de desecho. Poseen huevos de resistencia llamados epífitos con una envoltura quitinosa que el aire y los animales pueden distribuir. Son abundantes en ambientes con alta concentración de materia orgánica en donde proliferan bacterias, levaduras y microalgas.

2.5.2 Morfología

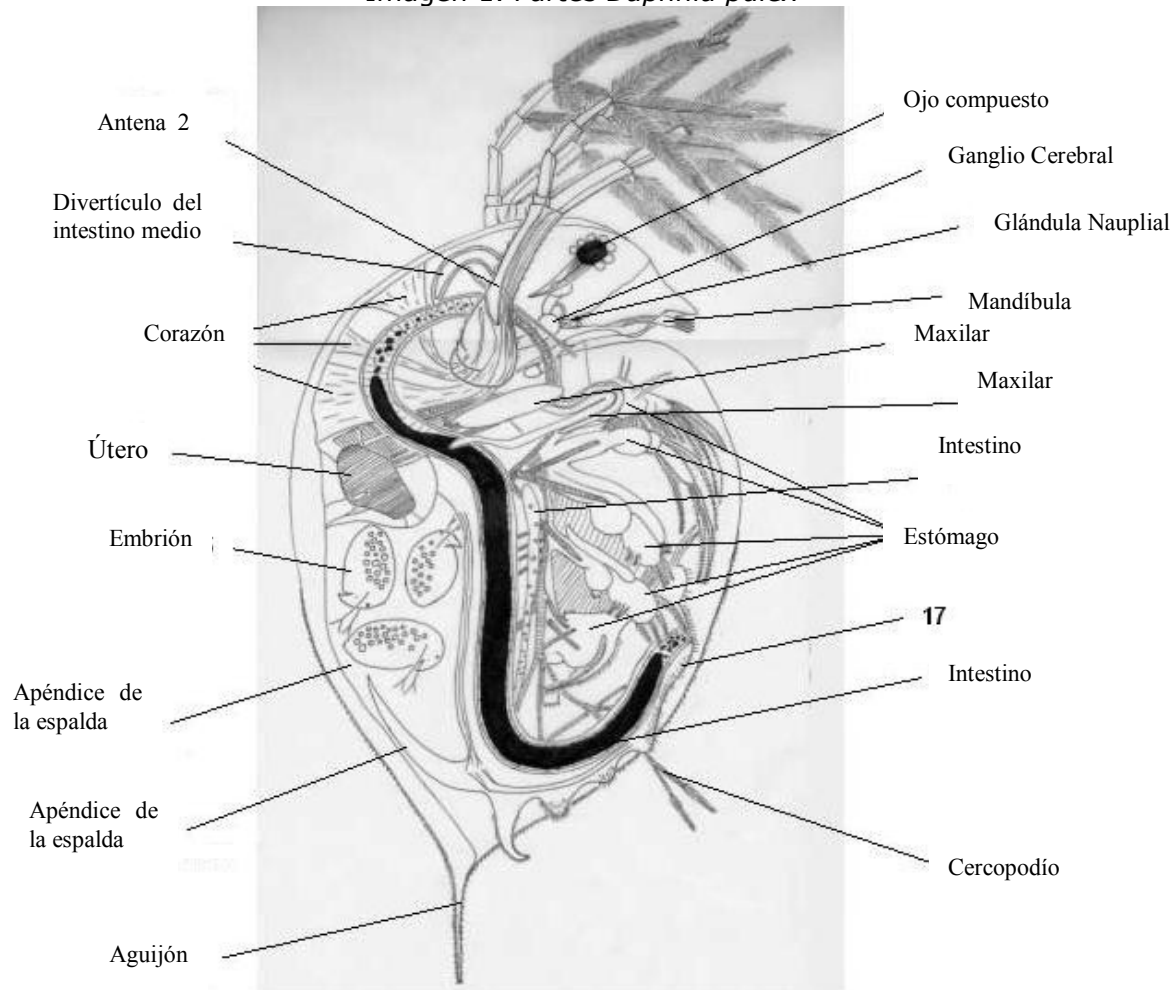
Daphnia pertenece al Suborden Cladóceros, en el que prácticamente todos son pequeños crustáceos de agua dulce. Este tipo de organismos (*Daphnia pulex*) están caracterizados por poseer un cuerpo ovalado y comprimido lateralmente, a diferencia de todos los crustáceos, en ellos no se diferencian segmentos.

El caparazón recubre todo el cuerpo excepto la cabeza y las espinas apicales situadas caudalmente. La cabeza se encuentra ligeramente inclinada ventralmente. Suelen tener entre 5 y 6 pares de apéndices aplanados que salen del tronco, tienen forma de hojas y sirven para filtrar el alimento y para moverse. De la parte anterior del tronco parten unas garras con las que se puede limpiar el caparazón. Se pueden encontrar especies de *Daphnia* en todo el mundo, desde trópico hasta el ártico, actualmente hay descritas más de 50 especies distintas, de las cuales tan solo 6 se encuentran con suma facilidad en climas templados.

El tamaño de la *Daphnia* es muy interesante, cuando no hay escasez de comida, la *Daphnia* crece durante toda su vida, puede doblar el tamaño de una *Daphnia* adulta joven. (Ver imagen 1)

¹⁸ (Mayer & Ellersieck 1986). Silva Jeannette, Torrejón Guillermo, Bay-Schmith Er Antena 1 ain Alberto. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustacea: cladóce in toxico de referencia. Disponible en Internet <http://www.scielo.cl/pdf/gayana/v67n1/art11.pdf>. [citado 19 de enero de 2010].

Imagen 1. Partes *Daphnia pulex*



Fuente: *Daphnia Pulex*, Wasserfloh, (von Rainer Müllan), Disponible en internet.
http://www.mikroskopieren.de/artikel/text_daphnia.htm

2.5.3 Respiración

La respiración es aerobia en su totalidad. El intercambio de gases en estos individuos se efectúa por medio de los apéndices torácicos que están transformados en las branquias. Un intercambio normal de gases entre la sangre y el medio se lleva a cabo por el constante movimiento de los apéndices torácicos que crean una corriente continua de agua fresca (Universidad Jorge Tadeo Lozano, 1974, citado por Matuk 1996). Cuando se encuentran en un medio aireado son incoloros, pero cuando el mismo presenta deficiencia de oxígeno, se tornan de color rojo debido a que poseen hemoglobina (González y Gutiérrez, 1995)¹⁹.

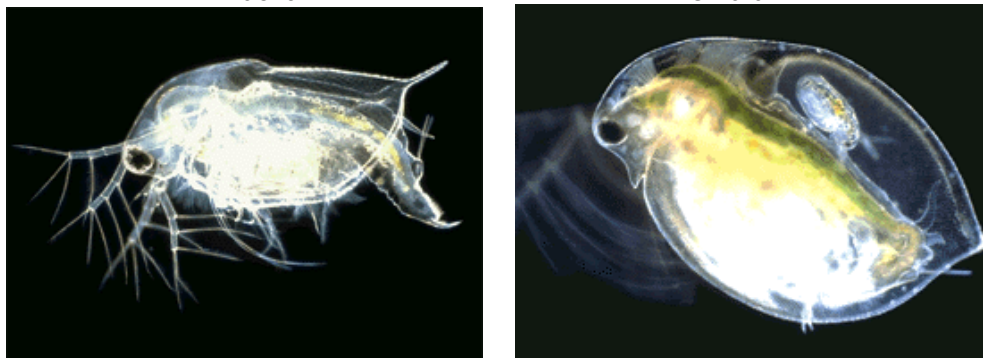
¹⁹ OROZCO, Juliana; TORO Ángela MARÍA. Determinación de la concentración letal media (CL50-48) del cromo y el cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphniapulex*. Bogotá D.C, 2007. 35p.

2.5.4 Reproducción

La *Daphnia pulex* tiene dos maneras distintas de reproducción: Una asexual y otra sexual. La primera se produce por partenogénesis²⁰ y según la edad y el tipo de alimentación de la pulga, puede llegar a dar entre 5 hasta 100 ejemplares. En la reproducción sexual la hembra produce óvulos que luego de ser fertilizados por el macho se alojan en el epifio (saco que soporta los huevos). Los huevos se producen en grupos de dos a varios cientos de ellos y una sola hembra es capaz de poner varios grupos de huevos en cada proceso de muda. El número de huevos partenogenéticos puede variar de 1 a 300 depende enormemente del tamaño de la hembra y la comida que ingiera. El desarrollo embrionario de los individuos del suborden cladócero se da antes de eclosionar, por lo que las larvas son miniatura de los adultos, algunas veces la larva se mantiene más tiempo en el interior. Estas variaciones están ligadas a factores ambientales.

La hembra es un poco más grande que el macho; cuentan con un caparazón de quitina que es transparente lo que permite observar más fácilmente su estructura, varios apéndices con numerosas setas. Una cavidad embrionica con huevos y embriones situados en la parte dorsal, entre el carapacho y el dorso del cuerpo. Para la identificación de especies son importantes los apéndices torácicos en la forma y número de espinas y setas. (Ver imagen 2)

Imagen 2. Sexo de *Daphnia pulex*
Macho Hembra



Fuente: <http://www.ancystrus.com.ar/articulos/daphnia.htm>

2.5.5 Sistema Circulatorio

El sistema circulatorio de los crustáceos presenta diferentes variaciones. Pueden encontrarse en forma tubular, como es el caso de los cladóceros, a los cuales pertenece la *Daphnia pulex*. En general la *Daphnia* presenta un vaso sanguíneo corto, que transporta la sangre desde el corazón a la parte anterior, el vaso no presenta ramificaciones y la sangre pasa a través de senos y no de

Trabajode grado (Ingeniera de Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería de Ingeniería de Ambiental y Sanitaria

²⁰ Modificación de la reproducción sexual en que el óvulo se desarrolla sin previa fecundación

venas. Las *Daphnias* que se encuentran en aguas estancadas presentan un color rosado debido a la hemoglobina, mientras que las que se encuentran en aguas aireadas son de un color claro.²¹

2.5.6 Alimentación

Daphnia se alimenta de bacterias, hongos, protozoarios y desechos orgánicos. El alimento es filtrado y concentrado mediante la acción de conjuntos de sedas situados en los apéndices torácicos²². Aunque el tamaño promedio de las partículas ingeridas se sitúa entre 0.5 y 50 μm . El alimento obtenido se lleva a la boca donde es molido por las mandíbulas y se transporta por el intestino donde se va completando la digestión. La retención del alimento en el sistema se realiza entre 0.5 y 3 horas.

En ambientes naturales se alimentan de plancton, microorganismos y bacterias. El agua en la cual se desarrolla una colonia de "pulgas de agua", tiene la particularidad de mantenerse cristalina, aunque en la mayoría de los casos también adquiere una coloración amarillina, y hasta marrón, producto de los coloides aportados por el material orgánico.

2.5.6.1 Algas

Las algas son los productores primarios de los ecosistemas acuáticos, cualquier efecto nocivo sobre esta comunidad podrá generar alteraciones en la estructura y funcionamiento del sistema. Su uso como organismo de pruebas en ensayos de toxicidad permite evaluar no solo el efecto de sustancias xenobióticas, sino prever cambios potenciales que pueden ocurrir en el ecosistema.

Tabla 2. Principales grupos de algas utilizadas en pruebas de toxicidad

GRUPO	AGUA DULCE	AGUA SALADA
Chlorophyta (verdes)	<i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Scenedesmus</i> sp. <i>Chlorella</i> sp.	<i>Dunaliella tertilecta</i>
Heterokontophyta (diatomeas)	<i>Cyclotella</i> sp. <i>Nitzschia</i> sp. <i>Synedra</i> sp.	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Thalassiosira pseudonana</i>

Fuente: Autoras, 2010

Dentro de las algas verdes, la especie más utilizada es *Selenastrum capricornutum*, esta alga es unicelular y se ha usado de manera extensa en bioensayos; por otra parte también es apropiada como alimento para invertebrados tales como *Daphnia*, por lo cual tiene doble propósito en el laboratorio.²³

²¹ ESPINDOLA, Cecilia. Prácticas de Biología de Organismos Multicelulares. Colombia. 2004. Pág. 89.

²² Producción masiva de microalgas y zooplancton destinadas a la cría del pejerrey . Cladóceros. Disponible en Internet <http://www.fao.org/docrep/008/v7283s/V7283S04.htm>[citado 19 de enero de 2010].

²³ DIAZ, María Consuelo; BUSTOS, Martha Cristina; ESPINOSA R, Adriana Janeth. Pruebas de toxicidad acuática. Fundamentos y métodos. Universidad nacional de

2.5.6.1.1 Selenastrum Capricornutum

Alga verde unicelular de tamaño microscópico, en forma de media luna. Su tamaño oscila entre 5 a 6 μ de ancho y 10 a 12 μ de largo. Este género pertenece al orden Chlorococcales, familia Selenastraceae y su clasificación Taxonómica.

Imagen 3. Alga *Selenastrum capricornutum*



Fuente: <http://www.ccap.ac.uk/results.php?strainsearch=278/4+&anyallexact=all>

2.5.7 Ciclo de Vida de *Daphnia pulex*

El ciclo biológico de la *Daphnia* empieza como un nauplio y tras 4 a 6 fases con sus mudas correspondientes, llega al estado adulto. La velocidad del proceso dependerá principalmente de la temperatura y la disponibilidad de comida, desde 11 días a 10°C hasta 2 días a 25°C. Los huevos son producidos en paquetes de 2 a cientos de huevos y cada hembra puede producir varios paquetes ligados a las mudas.

2.5.8 Criterios de Selección del organismo

El género *Daphnia* es utilizado ampliamente en pruebas de toxicidad que permiten determinar la letalidad potencial de sustancias químicas puras, o que se encuentren diluidas en aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable, entre otros.

Para hacer la selección del organismo es importante tener en cuenta el período de aclimatación en el laboratorio, el ciclo de vida del mismo, los requerimientos del cultivo, la manipulación, el estado vital, edades y tamaños uniformes, entre otros.

Características que permitieron la selección del organismo:

- Conocimiento previo de la biología de la especie (comportamiento, hábitos alimenticios, ciclo de vida, reproducción y desarrollo).

- Representante importante de la comunidad zooplátonica.
- Fáciles de recolectar, en número suficiente y sin dificultad se encuentran en los humedales de la ciudad.
- Presentan alta sensibilidad a cualquier tipo de tóxico.
- Fáciles de reproducir y manipular en el laboratorio, debido su pequeño tamaño no ocupan mucho espacio.
- Su reproducción es de forma partenogenética, lo que asegura la uniformidad de respuesta a determinadas condiciones ambientales.
- Ciclo de vida corto y su tasa de renovación alta.
- Los costos de cultivo y mantenimiento son bajos.
- Es fácil comparar los resultados obtenidos con trabajos realizados en diferentes partes, debido a la gran utilidad de estos microorganismos por diferentes entidades ambientales y laboratorios.

2.5.9 Importancia Ecológica

Debido a su amplia distribución, su importancia ecológica y su sensibilidad a ambientes intervenidos, se les considera especies indicadoras de condiciones ambientales adversas, siendo organismos de fácil mantenimiento bajo condiciones de laboratorio, normalmente se utilizan en pruebas de toxicidad acuáticas.

Por otra parte, la *Daphnia* es de gran importancia en la cadena alimenticia acuática, pues este es un animal planctónico altamente sensible, que se alimenta de organismos más pequeños (algas); y a su vez sirve de alimento para peces, insectos, hydras, entre otros. Es por eso que al tener alguna afectación por contacto con contaminantes o agentes externos implicaría un cambio y una alteración en el equilibrio del ecosistema, que podría en algunos casos afectar incluso la salud humana.

2.6 MÉTODOS ESTADÍSTICOS UTILIZADOS EN LA EVALUACIÓN Y

ANÁLISIS DE LA TOXICIDAD

Con el propósito de dar cumplimiento a los requerimientos de validez y precisión de las pruebas es necesario utilizar una metodología estadística desde la planificación hasta la ejecución y, luego, el posterior análisis de los resultados. El criterio básico recomendado es seleccionar un método estadístico sencillo, que se ajuste a las condiciones experimentales y que permita obtener resultados válidos.

Para elaboración de una prueba de toxicidad se deben seguir un número razonable de repeticiones (dependiendo de la prueba) y un control para lograr una estimación válida del error experimental.

En las pruebas de toxicidad en general se utilizan los siguientes dos (2) diseños básicos:

1. Establecimiento de una relación dosis-respuesta.
2. Pruebas para evaluar la diferencia entre organismos tratados o expuestos a distintas dosis contra un control negativo (dosis 0).

2.6.1 Establecimiento de una relación dosis-respuesta.

Como resultado del análisis de los datos de un diseño para estimar una relación dosis-respuesta, lo que se pretende obtener son las estimaciones de los parámetros del modelo seleccionado para relacionar las variables y, a continuación, utilizar el modelo con las estimaciones de los parámetros encontrados para determinar los valores de la variable de la concentración de tóxico que causan un grado de efecto, en particular sobre los organismos expuestos. Entre estas concentraciones, la más utilizada es la que se conoce como concentración letal, efectiva o inhibitoria 50 (CL50/CE50/CI50), que es la concentración que produce la respuesta esperada sobre el 50% de los organismos expuestos.

Es importante mencionar que la variable de concentración del tóxico es de tipo continua, el tipo de variable de la respuesta (mortalidad, inhibición de la elongación de la raíz, etcétera) condiciona el modelo a utilizar en el análisis.

2.6.1.1 Establecimiento de una relación dosis-respuesta de tipo mortalidad

La selección del método a utilizar para estimar los valores de CL50/CE50/CI50 de este tipo de pruebas de toxicidad aguda con múltiples concentraciones dependerá de la forma de la distribución de tolerancias y que también las concentraciones o dosis seleccionadas la caracterizan (por ejemplo, el número de mortalidades parciales).

En general, se recomiendan los siguientes cuatro (4) métodos para la estimación de **CL50/CE50/CI50**:

1. Método Probit (paramétrico)
2. Método de Litchfield-Wilcoxon (gráfico)
3. Método de Spearman-Kärber (no paramétrico)
4. Método gráfico

1. Método Probit (paramétrico)

El método consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre una población a los fenómenos físicos peligrosos; nos da una relación entre la función de probabilidad y una determinada carga de exposición.

Para el cálculo de las CL₅₀ generalmente se usa este método con o sin ajuste. En un experimento típico de pruebas de toxicidad aguda se tiene la siguiente situación:

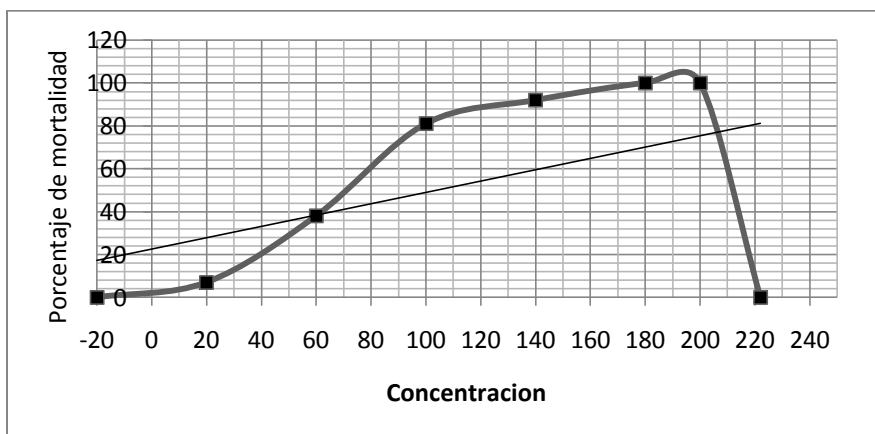
Concentración de la sustancia o dosis (d).

- Número de individuos (n).
- Número de organismos muertos o afectados (r).
- Porcentaje de efecto (p).

$$P = \left(\frac{r}{n}\right) * 100$$

La representación gráfica de p vs. d , o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica. Que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal. Una forma de abordar este problema es transformando d a una escala logarítmica ($X = \log_{10}(d)$), lo cual mostrará una relación dosis respuesta de forma S o sigmoidea normal, como se muestra en la figura 1; de esta manera la distribución de p vs. X será de tipo normal.²⁴ (Ver grafica 1)

Gráfica 1. Curva de dosis - respuesta de organismos expuesto a bioensayos



Fuente: María Rossini, Gustavo Daniel; Díaz Baez, María Consuelo; Pica Granados, Yolanda, Capítulo 5. Métodos Estadísticos Para El Análisis De Resultados De Toxicidad. Disponible en Internet http://www.idrc.ca/en/ev-84468-201-1-DO_TOPIC.htm.l[citado 19 de enero de 2010].

2. Método de Litchfield-Wilcoxon (gráfico)

El método consiste en la construcción de una gráfica a partir de los datos obtenidos en pruebas de toxicidad aguda de un agente tóxico. Se utiliza papel *prob-log*, en el cual se colocan en el eje de las X el logaritmo de las concentraciones usadas y en el eje de las Y el porcentaje de respuesta del efecto observado. Para el cálculo de la CL50/CE50/CI50 mediante este método, es necesario tener por lo menos, un porcentaje intermedio de efecto observado (valores entre 0 y 100% de efecto).

3. Método de Spearman-Kärber (no paramétrico)

Es un método aproximado, no paramétrico, que proporciona una buena estimación de la media y la desviación estándar. Si la distribución es simétrica, se obtiene una estimación de la concentración total mediana (CL50).

4. Método gráfico

Se parte de los datos obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda, utilizando papel logarítmico se grafican en el eje de las X las concentraciones (mg/L) y en el eje de las Y el porcentaje de mortalidad. Se colocan los puntos de los porcentajes de mortalidad observados (en escala lineal) en función de las

²⁴ DÍAZ Consuelo, BULUS Gustavo, PICA Yolanda. Métodos Estadísticos para el Análisis de Resultados de Toxicidad Capítulo 5. Disponible en Internet http://www.idrc.ca/en/ev-84468-201-1-DO_TOPIC.htm.l[citado 19 de enero de 2010].

concentraciones probadas (en escala logarítmica); se conectan los puntos obtenidos más cercanos al 50% del efecto observado, o sea, a la mayor concentración que no causa efecto tóxico y a la menor concentración que causa efecto tóxico. A partir de la recta trazada, se obtiene el punto de corte correspondiente al 50% del efecto observado, este valor corresponde a la CL_{50} del estímulo o agente estudiado.

2.6.2 Pruebas para evaluar la diferencia entre organismos tratados o expuestos a distintas dosis contra un control negativo (dosis 0).

Este tipo de análisis se realiza para determinar la concentración más alta a la que no se observa efecto (NOEC) o la concentración más baja a la que se observa efecto (LOEC) e implica pruebas de hipótesis. El método clásico para este tipo de análisis es el ANOVA.

Esta prueba está diseñada para comparar los resultados obtenidos para un tratamiento en particular contra un control negativo (tratamiento con dosis 0). Para este tipo de análisis se requiere que se verifiquen los supuestos de un ANOVA (varianzas homogéneas, independencia de los errores, distribución normal de los residuos, entre los más importantes),

En estadística el análisis de varianza (ANOVA) es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados. Esta prueba está diseñada para comparar los resultados obtenidos para un tratamiento en particular contra un control (tratamiento con dosis cero). Para este tipo de análisis se requiere que el número de replicas por tratamiento sea superior a tres y que todos los tratamientos tengan el mismo número de réplicas.

El ANOVA parte de algunos supuestos que han de cumplirse como son:

- **El Modelo de efectos fijos** asume que los datos provienen de poblaciones normales las cuales podrían diferir únicamente en sus medias. (Modelo 1)
- **El Modelo de efectos aleatorios** asume que los datos describen una jerarquía de diferentes poblaciones cuyas diferencias quedan restringidas por la jerarquía. Ejemplo: El experimentador ha aprendido y ha considerado en el experimento sólo tres de muchos más métodos posibles, el método de enseñanza es un factor aleatorio en el experimento. (Modelo 2)
- **El Modelo de efectos mixtos** describen situaciones que éste puede tomar. Ejemplo: Si el método de enseñanza es analizado como un factor que puede influir donde están presentes ambos tipos de factores: fijos y aleatorios. (Modelo 3)

Supuestos previos

El ANOVA parte de algunos supuestos que han de cumplirse:

- La variable dependiente debe medirse al menos a nivel de intervalo.
- Independencia de las observaciones.
- La distribución de los residuales debe ser normal.
- Homocedasticidad: homogeneidad de las varianzas.

La técnica fundamental consiste en la separación de la suma de cuadrados (SS, 'sum of squares') en componentes relativos a los factores contemplados en el modelo. Como ejemplo, mostramos el modelo para un ANOVA simplificado con un tipo de factores en diferentes niveles. (Si los niveles son cuantitativos y los efectos son lineales, puede resultar apropiado un análisis de regresión lineal)

$$SS_{\text{Total}} = SS_{\text{Error}} + SS_{\text{Factores}}$$

El número de grados de libertad (gl) puede separarse de forma similar y se corresponde con la forma en que la distribución chi-cuadrado describe la suma de cuadrados asociada.

$$gl_{\text{Total}} = gl_{\text{Error}} + gl_{\text{Factores}}$$

Modelo de efectos fijos: El modelo de *efectos fijos* de análisis de la varianza se aplica a situaciones en las que el experimentador ha sometido al grupo o material analizado a varios factores, cada uno de los cuales le afecta sólo a la media, permaneciendo la "variable respuesta" con una distribución normal.

Modelo de efectos aleatorios: Los modelos de *efectos aleatorios* se usan para describir situaciones en que ocurren diferencias incomparables en el material o grupo experimental. El ejemplo más simple es el de estimar la media desconocida de una población compuesta de individuos diferentes y en el que esas diferencias se mezclan con los errores del instrumento de medición.

Grados de libertad: Por *grados de libertad* "degrees of freedom" entendemos el número efectivo de observaciones que contribuyen a la suma de cuadrados en un ANOVA, es decir, el número total de observaciones menos el número de datos que sean combinación lineal de otros.

Pruebas de significación: El análisis de varianza lleva a la realización de pruebas de significación estadística, usando la denominada distribución F de Snedecor.

Tabla 3. Fórmulas para el análisis de varianza

FV	SS	GL	Ms	Fc	Ft
Tratamiento	SS_{TTO}	$a-1$	$\frac{SS_{TTO}}{a-1}$	$\frac{SS_{TTO}}{a-1} / n-a$	$F_{\alpha}(V_1, V_2)$
Error	SS_E	$N-a$	$\frac{SS_E}{N-a}$		

Fuente: Análisis de varianza (ANOVA) protocolo LB07

N: Número total de observaciones; $N=a*n$
 n: Número de observaciones de cada grupo
 a: Número de tratamiento
 FV: Fuente de varianza
 GL :Grados de libertad
 Ms: Cuadrados medios
 SS: Suma de cuadrados

Fc: F calculado

Ft: F tabulado

V₁: a-1

V₂: N-a

2.7 METALES PESADOS

Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse lo que significa un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo biológico en cierto plazo, los cuales pueden entrar al recurso hídrico por medio de residuos industriales.

2.7.1 Plomo

2.7.1.1 Fuentes

El plomo se genera de forma natural como parte de la corteza terrestre y por lo tanto, se puede encontrar en rocas y tierra. Otras fuentes comunes de plomo proceden de las emisiones de la combustión de carburantes y residuos sólidos, emisiones industriales de la producción y fundición de metales, el humo del tabaco y el uso en munición.²⁵

Imagen 4. Plomo



Fuente: <http://www.fq.uh.cu/webeco/imagenes/plomo.JPG>

2.7.1.2 Usos industriales

El plomo se utiliza en gran cantidad de aplicaciones electrónicas y se puede encontrar en soldaduras y como estabilizador en cableado de PVC. El plomo también se utiliza en objetivos ópticos y pantallas. Históricamente, el uso del

²⁵ Plomo. Fuentes Disponible en Internet

http://www.kodak.com/eknec/PageQuerier.jhtml?pqlocale=es_ES&pq-path=782 [citado 19 de enero de 2010].

plomo también incluye gasolina y pintura. Sin embargo, se han eliminado esos usos en muchos países.

2.7.1.3 Legislación general

El plomo se encuentra en las listas nacionales e internacionales de materiales de alta toxicidad a los que se aplican procedimientos de control rigurosos. En Estados Unidos, el plomo está regulado como sustancia peligrosa, contaminante peligroso del aire, residuo peligroso, sustancia química tóxica y uno de los principales contaminantes según la ley sobre contaminación del agua (Clean Water Act). Las restricciones de la Unión Europea en la utilización de determinadas sustancias peligrosas (RoHS), además de otras restricciones a nivel mundial, conllevan la eliminación de la utilización de plomo en productos. La persistencia y la bioacumulación potencial en la cadena alimenticia y los resultantes problemas de salud potenciales del ser humano son las principales razones para estas restricciones globales

2.7.1.4 Efectos tóxicos generales sobre el medio ambiente

La contaminación por plomo es un tema mundial causado por las actividades humanas, como la combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos.

El plomo puede terminar en el agua y suelos a través de la corrosión de las tuberías de plomo en los sistemas de transportes y a través de la corrosión de pinturas que contienen plomo.

El plomo limita la síntesis clorofílica de las plantas. No obstante las plantas pueden absorber del suelo altos niveles de plomo, hasta 500 ppm concentraciones más altas perjudican el crecimiento de las plantas, mediante la absorción por parte de las plantas, el plomo se introduce en la cadena alimenticia. Consecuentemente, la aplicación de pesticidas de plomo está prohibida en la mayor parte de los países.

El plomo se acumula en los cuerpos de los organismos acuáticos y organismos del suelo, experimentando efectos en su salud por envenenamiento. Los efectos sobre la salud de los crustáceos pueden tener lugar incluso cuando sólo hay pequeñas concentraciones de plomo presente.

Las funciones en el fitoplancton pueden ser perturbadas cuando interfiere con el plomo. El fitoplancton es una fuente importante de producción de oxígeno en mares y muchos animales marinos lo comen.

2.7.1.5 Efectos tóxicos generales sobre la salud

El plomo es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana. Este puede entrar en el cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%).

La exposición al plomo puede producirse a través de la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel. Para la mayoría de la gente, la comida es la principal fuente de plomo, ya que las plantas pueden absorber plomo por medio de las raíces y las hojas. Dado que el plomo persiste en el medio ambiente, se puede bioacumular en otras fuentes de la cadena alimenticia.

Los efectos potenciales del plomo varían principalmente según la cantidad absorbida en la sangre, la duración y los factores de exposición y la edad de la persona expuesta. Se dice que las mujeres son más susceptibles al envenenamiento que los hombres. El plomo causa alteraciones menstruales, infertilidad y aumenta el riesgo de aborto. Las mujeres embarazadas son susceptibles al envenenamiento por plomo que las madres, ya que el plomo puede entrar al feto a través de la placenta de la madre. Debido a esto puede causar serios daños al sistema nervioso y al cerebro de los niños por nacer. Los estudios muestran una discapacidad neurológica en niños por la ingestión de desconchones de pintura y polvo doméstico con plomo. Además, los déficit de aprendizaje en los niños se han relacionado con la exposición crónica a bajos niveles de plomo a través de todos los factores de exposición.

Los niños absorben mayores cantidades de plomo por unidad de masa corporal que los adultos (hasta un 40%). Por lo tanto los niños son generalmente más susceptibles al envenenamiento por plomo que los adultos. Los síntomas incluyen inferiores CI, cambios de comportamiento y desorden en la concentración. El plomo se acumula en los tejidos, el tipo más severo de envenenamiento causa encefalopatía. La toxicidad del plomo tiene lugar cuando los iones de plomo reaccionan con grupos de proteínas, como enzimas, y éstas se quedan activadas. Además el plomo puede interaccionar con otros iones metálicos.

El plomo puede causar efectos adversos en la sangre, los riñones y los sistemas cardiovascular, nervioso y reproductor. Se considera un posible carcinógeno humano, un agente tóxico neurológico y de desarrollo y que además se encuentra en entornos de sedimentos y acuáticos.²⁶

El plomo es un metal blando que ha sido conocido a través de los años por muchas aplicaciones. Este ha sido usado ampliamente desde el 5000 antes de Cristo para aplicaciones en productos metálicos, cables y tuberías, pero también en pinturas y pesticidas.

Las comidas como fruta, vegetales, carnes, granos, mariscos, refrescos y vino pueden contener cantidades significantes de Plomo. El humo de los cigarros también contiene pequeñas cantidades de plomo. El plomo puede entrar en el agua potable a través de la corrosión de las tuberías. Esto es más común que ocurra cuando el agua es ligeramente ácida. Este es el porqué de los sistemas de tratamiento de aguas públicas son ahora requeridos llevar a cabo un ajuste de pH en agua que sirve para el uso del agua potable.²⁷

El plomo puede causar varios efectos no deseados, como son:

- Perturbación de la biosíntesis de hemoglobina y anemia
- Incremento de la presión sanguínea
- Daño a los riñones
- Abortos
- Perturbación del sistema nervioso

²⁶ ¿Cuáles son los efectos en la salud que produce el plomo en el agua? Plomo y agua Disponible en Internet <http://www.lenntech.es/plomo-y-agua.htm>[citado 19 de enero de 2010].

²⁷ Efectos del Plomo sobre la salud Plomo Disponible en Internet <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/pb.htm>[citado 19 de enero de 2010].

- Daño al cerebro
- Disminución de la fertilidad del hombre a través del daño en el esperma
- Disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños
- Perturbación en el comportamiento de los niños como: agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad.

Los efectos potenciales del plomo varían principalmente según la cantidad absorbida en la sangre, la duración, los factores de exposición y la edad de la persona expuesta.

2.7.2 CROMO HEXAVALENTE

2.7.2.1 Fuentes

El cromo se encuentra de forma natural, en las rocas, los animales, las plantas, el suelo, el polvo y gases volcánicos, puede producirse en diversos estados de oxidación. El cromo está presente en el ambiente en varias formas, las más comunes son el cromo trivalente (III) y el cromo hexavalente (VI).

Imagen 5. Cromo



FUENTE: Disponible en:

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/1e/Chrom\(VI\)-oxid.jpg/180px-Chrom\(VI\)-oxid.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/1e/Chrom(VI)-oxid.jpg/180px-Chrom(VI)-oxid.jpg) [citado 19 de enero de 2010].

2.7.2.2 Usos industriales

El cromo hexavalente se utiliza en el cromado, la fabricación de colorantes y pigmentos, el curtido del cuero y la conservación de la madera. El cromo hexavalente también se puede encontrar en algunos componentes de equipos eléctricos, como piezas recubiertas de cinc, placas de circuitos y tubos de rayos catódicos.

2.7.2.3 Legislación general

El cromo hexavalente se encuentra en las listas nacionales e internacionales de materiales de alta toxicidad a los que se aplican rigurosos procedimientos de control. Sólo en Estados Unidos, el cromo VI está regulado como sustancia peligrosa, contaminante peligroso del aire, residuo peligroso, sustancia química tóxica y uno de los principales contaminantes según la ley sobre contaminación

del agua (Clean Water Act). Las restricciones de la Unión Europea en la utilización de determinadas sustancias peligrosas (RoHS), además de otras restricciones a nivel mundial, conllevan la eliminación de la utilización de cromo VI en productos. El cromo (VI) difiere de otros metales pesados en que, aunque puede ser tóxico para el ser humano y una serie de organismos acuáticos en ciertas concentraciones, se convierte rápidamente en cromo Cr III y no se bioacumula en el medio ambiente.²⁸

2.7.2.4 Efectos tóxicos generales sobre el medio ambiente

Hay varias clases de cromo que difieren de sus efectos sobre los organismos. El cromo entra en el aire, agua y suelo en forma de cromo (III) y cromo (VI) a través de procesos naturales y actividades humanas.

La mayoría de las actividades humanas incrementan las concentraciones de cromo (III) son el acero, las industrias textiles, pintura eléctrica y otras aplicaciones industriales del cromo (VI). El cromo se acumule en los peces a altas concentraciones, debido a la disponibilidad de metales en las aguas superficiales.

En los animales el cromo puede causar problemas respiratorios, defectos de nacimiento, infertilidad y formación de tumores.²⁹

2.7.2.5 Efectos tóxicos generales sobre la salud

El cromo (III) es un elemento esencial para organismos que puede interferir en el metabolismo del azúcar y causar problemas de corazón, cuando la dosis es muy baja se recomienda una ingesta diaria de 50 a 200 microgramos de cromo para una persona adulta. El cromo es un ingrediente muy común en muchos suplementos vitamínicos y minerales; pero el cromo (VI) es mayoritariamente tóxico para el organismo y puede alterar el material genético y causar cáncer.

Si bien la forma trivalente presenta muy baja toxicidad, la EPA ha determinado que el cromo hexavalente es un metal cancerígeno, debido a las propiedades carcinógenas de algunos compuestos de cromo se ha establecido que el agua potable no debe contener más de 50 microgramos de cromo por litro. La EPA ha propuesto incrementar dicho tope a 100 microgramos por litro, pero hasta ahora no se ha tomado ninguna medida al respecto.

Los efectos potenciales del cromo sobre la salud dependen de una diversidad de factores, tales como la forma química en que se presente, la cantidad, el tiempo de exposición y la forma de incorporación al organismo (ingestión, inhalación o absorción a través de la piel). Las reacciones y sus efectos potenciales dependen en gran medida de factores tales como la edad, el sexo, el peso corporal y el estado de salud del individuo.

²⁸ Cromo hexavalente. Pautas legislativas Disponible en: http://www.kodak.com/eknec/PageQuerier.jhtml?pq-locale=es_ES&pq-path=7828 [citado 19 de enero de 2010].

²⁹ Cromo. **Efectos ambientales del Cromo Disponible en internet:** <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cr.htm#ixzz0Z7KaTfOK>. [citado 19 de enero de 2010].

Se sabe que el cromo hexavalente es cancerígeno por inhalación ya que hasta el momento, la evidencia científica indica que el cromo hexavalente es probablemente mucho más tóxico por inhalación que por ingestión.

Muchos estudios han revelado altas tasas de cáncer de pulmón en operarios que trabaja en la industria del acero y textil a causa de estar expuestos a la inhalación del mismo.

Otros problemas de salud que son causados por el Cromo (VI) son;

1. Erupciones cutáneas
2. Malestar de estómago y úlceras
3. Problemas respiratorios
4. Daño en los riñones e hígado
5. Alteración del material genético
6. Cáncer de pulmón

2.8. LA INDUSTRIA GALVÁNICA

El sector galvánico comprende todos aquellos recubrimientos vía electrolítica sobre diferentes superficies con fines decorativos y de protección contra la corrosión, dadas las propiedades que presentan estas películas entre las cuales se destacan; la dureza, uniformidad, estabilidad y buen aspecto.

Los recubrimientos pueden ser anódicos o catódicos, dependiendo de la posición de la pieza en el terminal anódico o catódico del circuito. Los recubrimientos de cromo decorativo son catódicos y se utilizan para mejorar la apariencia del material base y brindar resistencia a la corrosión en ambientes moderados.

A nivel industrial el sector galvánico hace parte de la cadena productiva metalmecánica aportando bienes de consumo intermedio y bienes de capital, entendidos como artículos utilizados inmediatamente por el usuario final o para ser incorporados en la fabricación de otros bienes y en artículos que directa o indirectamente contribuyen a la producción de maquinaria y equipos respectivamente³⁰

En Colombia estos recubrimientos se emplean principalmente en autopartes, herramientas agrícolas, grifería, muebles, artefactos a gas, entre otros.

³⁰Ministerio del medio ambiente. Guía de Buenas Prácticas para el Sector Galvanotecnia. Disponible en internet: http://www.siame.gov.co/siame/documentos/Guias_Ambientales. pág. 5 [citado 19 de enero de 2010].

3. MARCO LEGAL

En Colombia la legislación ambiental ha tenido un importante desarrollo en las últimas tres décadas, en especial, a partir de la Convención de Estocolmo de 1972, cuyos principios se acogieron en el código de recursos naturales renovables y de protección al medio ambiente (Decreto Ley 2811 de 1974). Éste se constituyó en uno de los primeros esfuerzos en Iberoamérica para expedir una normatividad integral sobre el medio ambiente.³¹

La legislación ambiental Colombiana está integrada por normas que ejercen una incidencia en la protección del medio ambiente y los recursos naturales. Para esta investigación se tomó como referencia normas ambientales donde se citan los parámetros permisibles para vertimientos en cuerpos de agua o alcantarillado.

➤ **DECRETO 1594 DE 1984. Usos del agua y residuos líquidos**

CAPITULO IV: De los criterios de calidad para destinación del recurso

Artículo 45. Los criterios de calidad admisibles para la destinación del recurso para preservación de flora y fauna, en aguas dulces, frías o cálidas y en aguas marinas o estuarías son los siguientes:

Tabla 4. Criterios de calidad admisible

Referencia	Expresado como	Agua fría dulce	Valor Agua cálida dulce	Agua marina y estuaría
Cromo hexavalente	Cr ⁺⁶	0.01 CL_{96}^{50}	0.01 CL_{96}^{50}	0.01 CL_{96}^{50}
Plomo	Pb	0.01 CL_{96}^{50}	0.01 CL_{96}^{50}	0.01 CL_{96}^{50}

Fuente: Decreto 1594 de 1984, Capítulo IV, Artículo 45.

Artículo 3. Todo vertimiento de residuos líquidos a la red de alcantarillado público y/o a un cuerpo de agua, deberá cumplir con los estándares establecidos en la siguiente tabla:

³¹Normatividad. Introducción. Disponible en internet : <http://www.ideam.gov.co/legal/index4.htm> [citado 19 de enero de 2010].

Tabla 5. Concentraciones máximas permisibles para vertir a la red de alcantarillado público.

NORMA	EXPRESADA COMO	(mg/L)
Cromo Hexavalente	Cr ⁺⁶ mg/l	0.5
Plomo	Pb mg/l	0.1
DBO ₅	mg/l	800
DQO	mg/l	1500
pH	Unidades	5 - 9
Grasas y aceites	mg/l	100
Sólidos suspendidos totales	SST (mg/l)	600
Temperatura	Grados centígrados (°C)	30

Fuente: Resolución 3957 de 2009, Capítulo V: Vertimientos Permitidos.

Parágrafo.- Se entenderá que los valores de los estándares establecidos en la tabla de este artículo son los máximos permisibles.

➤ **RESOLUCIÓN 0062 DE 2007**

Establece los protocolos de muestreo y análisis de laboratorio para la caracterización fisicoquímica de los residuos o desechos peligrosos en el país.

Capítulo 6. Protocolos metodológicos para toxicidad

TOXICIDAD AGUDA PARA DAPHNIA

Este método corresponde al método de Toxicidad aguda para Daphnia ensayo extremo (una traducción ajustada del método C2 Acute Toxicity for Daphnia de la Comunidad Europea), evaluado en la fracción adaptada de agua (WAF- por sus siglas en inglés) de un desecho.

I. ALCANCE Y APLICABILIDAD

Este método junto con el ensayo de inhibición de crecimiento de algas permite clasificar un desecho complejo como desecho peligroso por toxicidad acuática. Los desechos complejos son aquellos que contienen sustancias para las cuales no hay datos de toxicidad acuática o donde el desecho es una mezcla sin caracterizar.

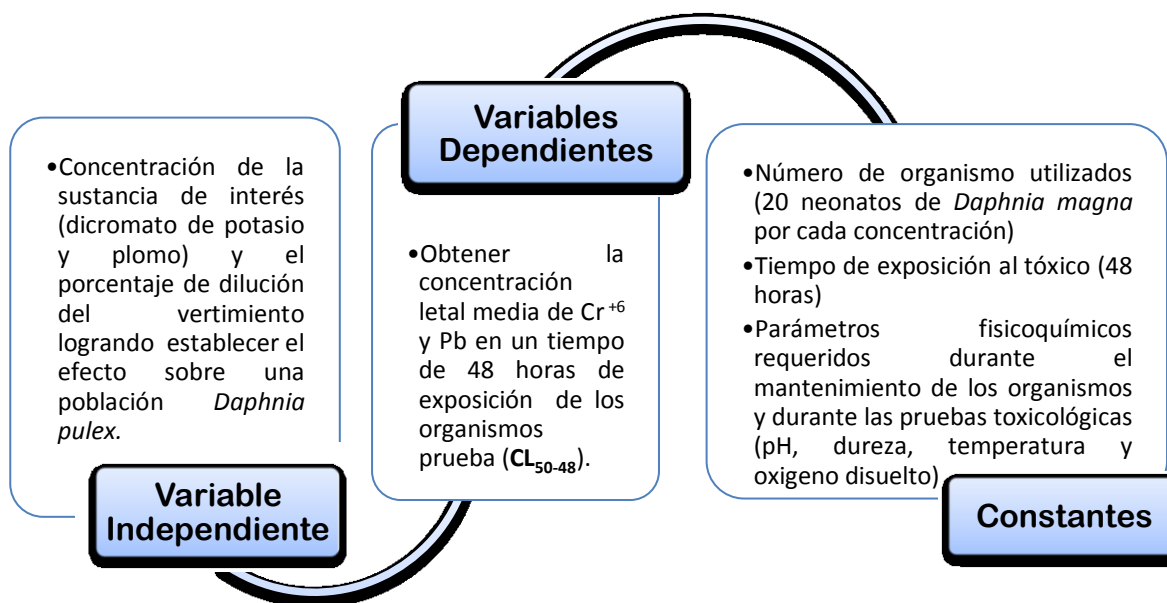
El ensayo consiste en determinar el porcentaje de inmovilización de Daphnia con 100% de la fracción adaptada de agua (WAF) del desecho contra un control. Si el porcentaje de movilización es 50% el desecho debe ser clasificado como ecotóxico.

En aquellos casos cuando el resultado de toxicidad aguda en Daphnia e Inhibición de algas está cercano al límite del 50% es necesario hacer evaluación adicional con peces.

4. METODOLOGÍA

El procedimiento que se llevó a cabo durante la investigación, consta de los siguientes pasos:

Diagrama 1. Clasificación de variables experimentales



Fuente: Autoras, 2010.

4.1 INICIACIÓN DEL CULTIVO CON DAPHNIA PULEX

Para dar inicio al cultivo se identificó la especie, con la ayuda de:

- Juan Pablo Álvarez Suárez. Biólogo de la Universidad Nacional de Colombia. Laboratorio de Invertebrados.
- Carmen Reyes Blandom. Bióloga de la Universidad Nacional de Colombia. Docente.
- Pedro Miguel Escobar Malaver. Químico Industrial. Universidad de la Salle. Investigador principal en el grupo de investigación de bioensayos.
- González Gómez Henry Bernardo y Gutiérrez Álvarez Sandra del Pilar. Tesistas. Universidad de La Salle.

Se sabe que la *Daphnia pulex* son organismos que habitan generalmente en aguas dulces por ello se seleccionó un cuerpo de agua, en donde se tenía la certeza de la existencia de la especie de cladóceras para utilizar en las pruebas de toxicidad. La especie fue adquirida en noviembre de 2006 en el humedal Guaymaral, autopista norte, Bogotá D.C, llevándolos al laboratorio de Ingeniería ambiental de la Universidad de la Salle sede centro.

Para mantener condiciones propias del ecosistema los organismos fueron aclimatados en el laboratorio de bioensayos de la Universidad de la Salle sede Centro. El proceso de adaptación de las *Daphnias* en el Laboratorio, debe realizarse con mucha precaución, ya que es necesario garantizar al máximo que las condiciones ambientales en que se va a llevar a cabo el cultivo sean lo más parecidas posibles a las del hábitat original, para que los organismos se desarrollen de manera satisfactoria.³²

4.2 CULTIVO Y MANTENIMIENTO DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA

El proceso de cultivo es sencillo, pero requiere de cuidado y mantenimiento. En la siguiente tabla se resumen las condiciones recomendadas para tener un buen cultivo de *Daphnia pulex*:

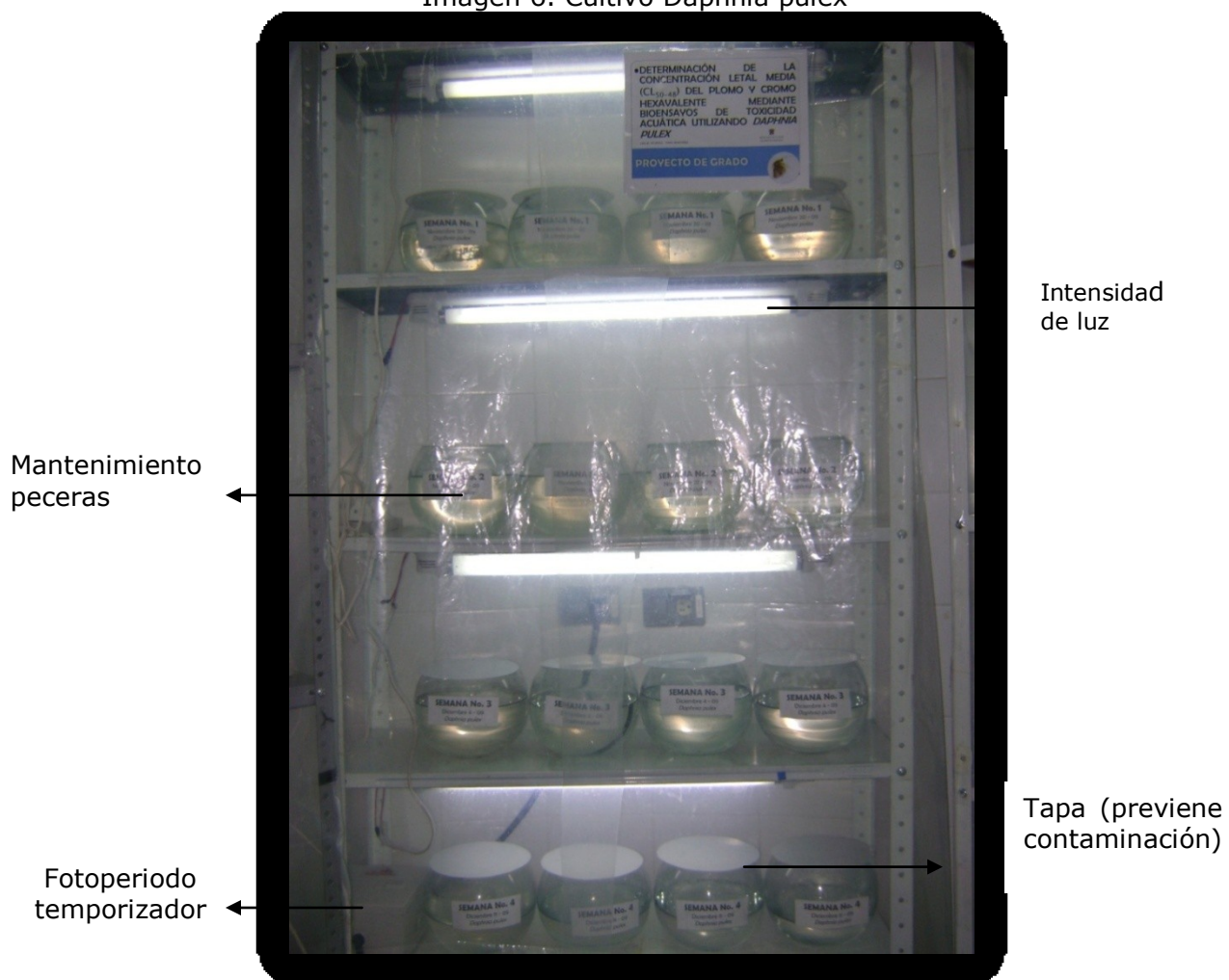
Tabla 6. Resumen de las condiciones recomendadas para el mantenimiento del cultivo de *Daphnia pulex*

CONDICIONES	VALOR Y RECOMENDACIONES
Calidad de luz	Fluorescente, blanco-frío
Intensidad luminosa	600-1000 lux (luz blanca fría) en la superficie del líquido
Fotoperiodo	16 horas luz/8 horas oscuridad
Recipientes de mantenimiento	Los cultivos se mantienen en recipientes de 2 L de vidrio transparente. Deben permanecer tapados para evitar presencia de otros organismos ajenos al medio
Alimentación	Cultivos puros de <i>Selenastrum capricornutum</i>
Dosis de alimento	3 millones de algas/día - <i>Daphnia pulex</i>
Suplemento alimenticio	Los cultivos pueden suplementarse con las soluciones de vitaminas
Densidad poblacional	No mayor de 20 individuos/L Diariamente se deben retirar las exubias (mudas) y los restos que se encuentren en el fondo de los recipientes.
Limpieza	Cada ocho (8) días se cambia el agua de los acuarios, los cuales deben lavarse con una esponja, enjuagar varias veces con agua caliente de la llave y por último purgar con agua desionizada. No se deben emplear jabón ni otros detergentes
Recolección de neonatos	Diariamente se retiran los neonatos con una pipeta Pasteur de plástico, con una abertura lo suficientemente ancha como para no ocasionar daños a los neonatos.

Fuente: Autoras, 2010

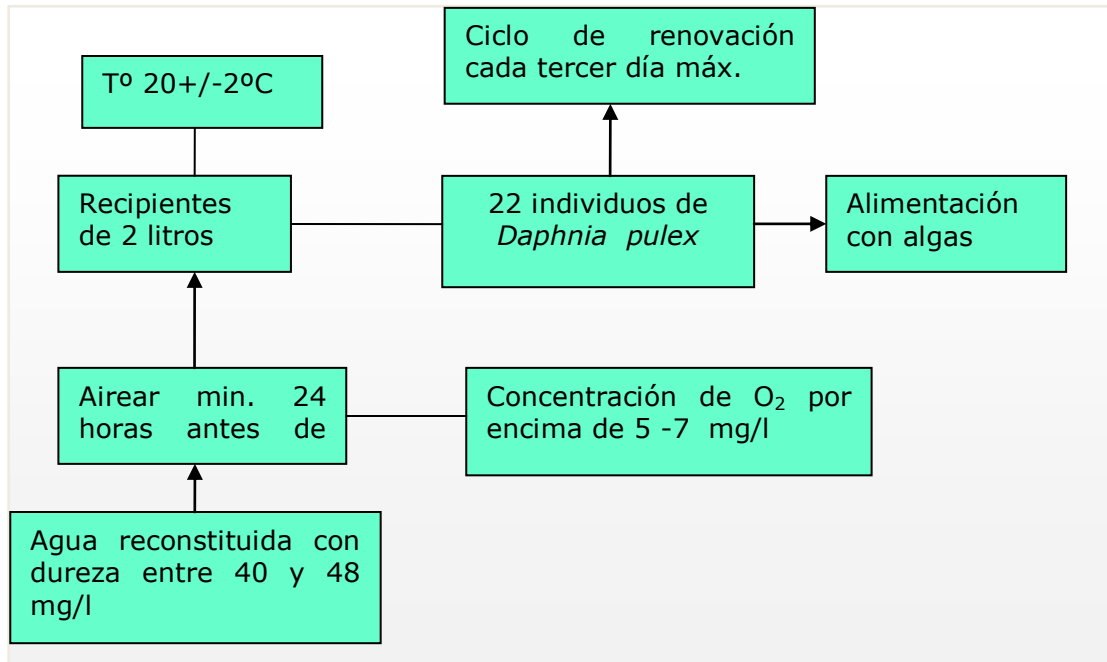
³² IBÁÑEZ Kelly, CASALLAS Nicolás . Diseño de un sistema a nivel piloto para la remoción de detergentes aniónicos de una solución preparada con características de una lavandería tipo con el fin de reducir la concentración letal media (CL₅₀₋₄₈) para *Daphnia pulex*, 2008. 35p. Trabajo de grado (Ingeniera de Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería de Ingeniería de Ambiental y Sanitaria

Imagen 6. Cultivo *Daphnia pulex*



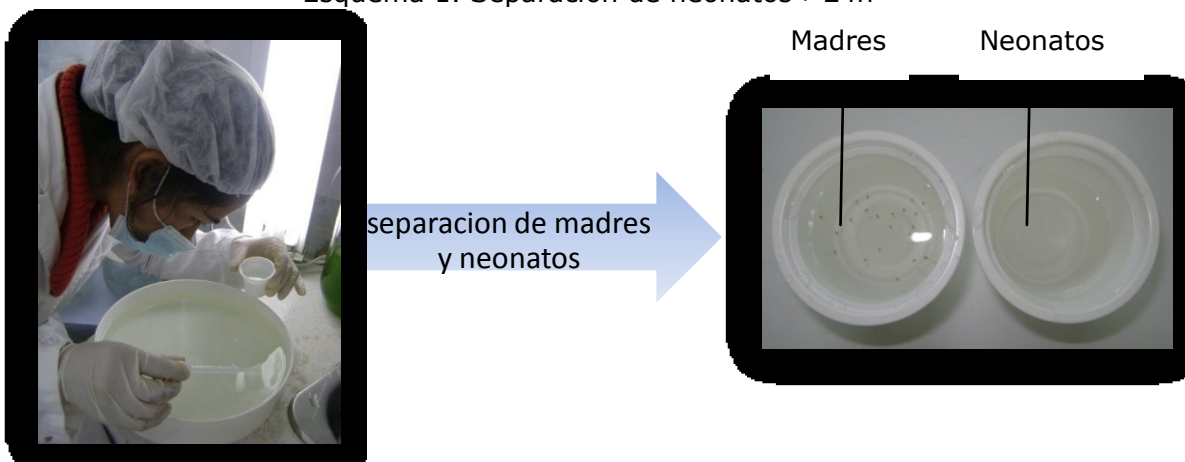
Fuente: Autoras, 2010

Diagrama 2. Cultivo *Daphnia pulex*



Fuente: Protocolo LB01

Esquema 1. Separación de neonatos >24h

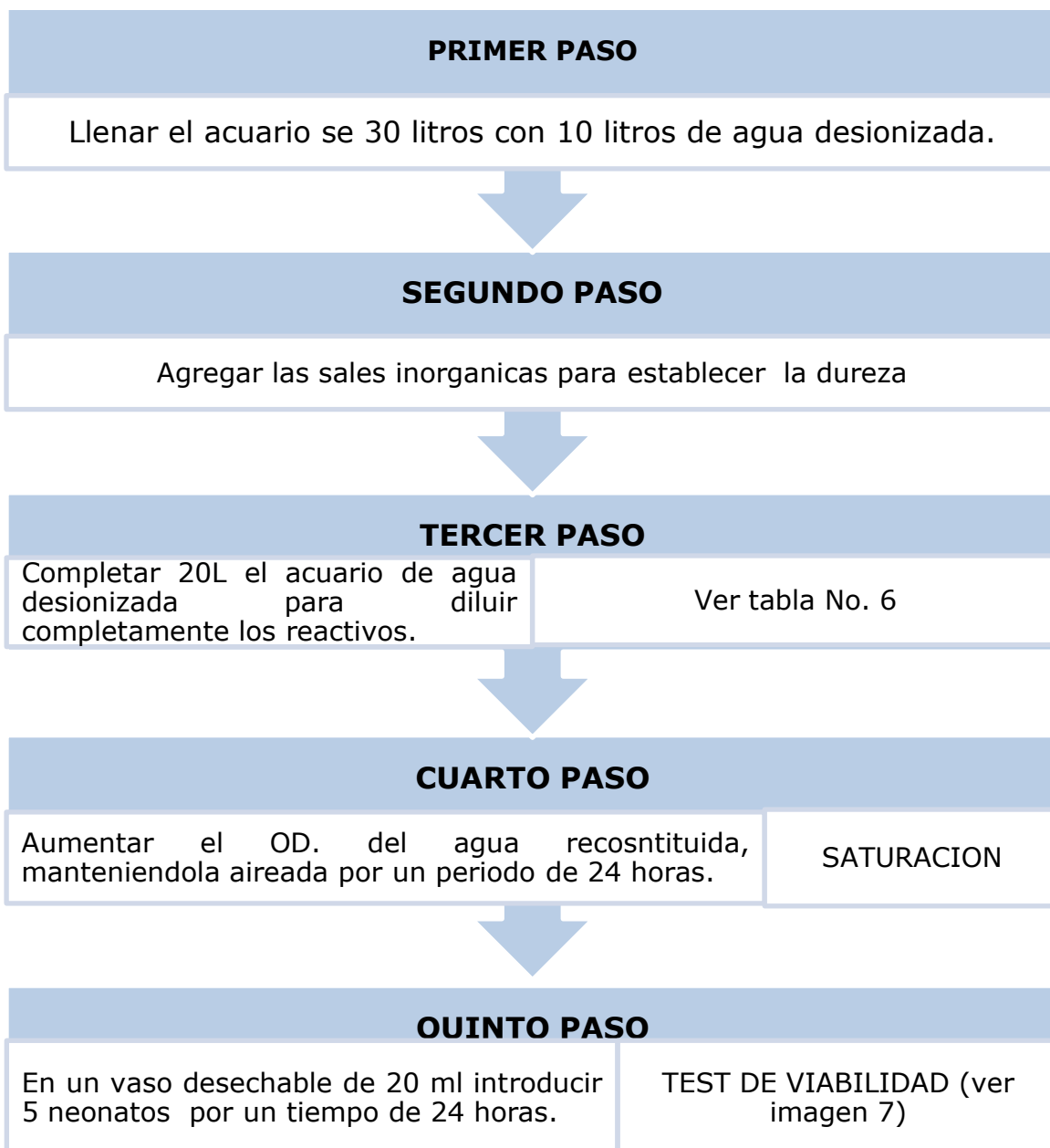


Fuente: Autoras, 2010.

4.3 PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUIDA

EL agua reconstituida es fundamental para mantener los organismos prueba y realizar las pruebas de toxicidad. Como se mencionó anteriormente el cultivo debe tener unas condiciones óptimas para tener un desarrollo excelente de la *Daphnia*

Diagrama 3. Preparación del agua reconstituida



Fuente: Autoras, 2010

Tabla 7. Sales listas para preparar el agua desionizada

Núm.	Reactivo	Cantidad por preparar (L)	Milímetros adicionados	
			A partir de la dureza cero (0mg/l)	A partir de la dureza veinte (20mg/l)
1	NaHCO ₃ 8ml ^(*)	20	100	56
2	CaCl ₂ 6ml ^(*)	20	75	42
3	KCl 3ml ^(*)	20	38	22
4	MgSO ₄ 2.5ml ^(*)	20	30	16
Rango pH			7.3 – 7.5	7.8 – 8

(*)Cantidad necesaria para aumentar la dureza en 5 mg/l

Fuente: Compañía de Tecnología y Saneamiento Ambiental de Sao Paulo, Brasil. CETESB, y Protocolo L5.017/ 1992.

Imagen 7. Sales listas para preparar el agua desionizada



Fuente: Autoras, 2010

Para lograr las condiciones óptimas del cultivo se realizó la lectura de los parámetros de control del agua reconstituida siguiendo los protocolos estándar methods, los cuales se deben encontrar en los siguientes rangos. Ver tabla 8.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

Tabla 8. Parámetros de seguimiento agua reconstituida

Parámetros de Control	Método según Standar Mhétods	Rango	Rango ideal
Dureza	Titulometro	40 – 48 mg/l	45 mg/l
Oxigeno disuelto	4500 – 0 G electrodo de membrana	5 – 7 mg/l	6 mg/l
Ph	4500 – H ⁺ B electrométrico	7.3 – 7.5	7.4
Temperatura	2550 Laboratorio y de campo	18-22 °C	20°C

Fuente: Preparacion del Agua reconstituida. Protocolo LB01

El agua reconstituida debe ser aireada por 24 horas, en caso de no cumplir los parámetros de control, se puede hacer el ajuste aplicando más agua destilada si sobrepasa el rango ideal de la dureza. Si la dureza está por debajo del rango ideal se puede agregar la cantidad necesaria de las sales para aumentarla.

Antes de usar el agua reconstituida para el mantenimiento del cultivo, la dilución de las muestras ambientales o la preparación de las soluciones, se debe comprobar por medio de una prueba de control (test de viabilidad) los posibles efectos adversos sobre los organismos expuestos (en este caso *Daphnia pulex*). Para la prueba de control se toma un recipiente de vidrio donde se introducen cinco neonatos. Al cabo de 24 horas se realiza una lectura para comprobar que la cantidad de organismos vivos sea mayor que el 90%; en caso contrario, se deberá descartar el agua reconstituida.

Imagen 8. Test de viabilidad



Fuente: Autoras, 2010.

4.4 PREPARACIÓN DEL MEDIO BRISTOL Y CULTIVO DE ALGAS VERDES

El cultivo de algas de la especie *Selenastrum capricornutum* para las investigaciones del departamento de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la universidad de La Salle, fue suministrado por la Corporación Autónoma Regional (CAR) e identificadas por la bióloga Clara Inés Ortiz funcionaria de la CAR y corroboradas por el docente de microbiología de la Universidad de La Salle.

La especie utilizada en las investigaciones se caracteriza por presentar cloroplastos de color verde, con formas microscópicas unicelulares, filamentosas simples o ramificadas.

Para la alimentación de los cultivos de esta investigación se emplearon suspensiones de la especie *Selenastrum capricornutum*. La preparación del medio Bristol consiste en tomar 1500 ml de agua desionizada en un beacker de 2000ml y agregar los diferentes macronutrientes y micronutrientes como indica la tabla 9. Luego adicionar los 500 ml restantes con agua desionizada para completar los 2000 ml, sellarla con papel Kraft y esterilizar en el autoclave por un periodo de 15 minutos a 121 °C y 15 libras de presión, dejar enfriar el autoclave para retirar el beacker con el medio.

Tabla 9. Stock de Medio Bristol

Reactivos	Stock (g)	ml de Stock/1L H ₂ O destilada
NaNO ₃	25	10
CaCl ₂ 2H ₂ O	2,5	10
MgSO ₄ 7H ₂ O	7,5	10
K ₂ HPO ₄	7,5	10
NaCl	2,5	10
KH ₂ PO ₄	17,5	10
KOH	15,5	1
-EDTA-	25	
FeSO ₄ 7H ₂ O	2,49g/500ml	1
H ₂ SO ₄	0,05ml/500ml	
H ₃ BO ₃	5,71g/500ml	1
Solución de Elementos traza		
ZnSO ₄ 7H ₂ O	4,41g/500ml	1 ml del stock combinado
MnCl ₂ 4H ₂ O	0,72g/500ml	
MoO ₃	0,355g/500ml	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,785g/500ml	
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,174g/500ml	

Fuente: Escobar P, & García, E., 1993

Montaje del medio Brístol: consiste en agregar una alícuota de 2 ml del cultivo de concentrado de algas verdes (*Selenastrum capricornutum sp*), transferirlo a un frasco de 3000 ml tapar el frasco con papel parafilm, con el fin de prevenir que se contamine con agentes exteriores. Se debe mantener el medio Brístol aireado e iluminado por un periodo no mayor a 15 días. Observar esquema 2.

Esquema 2. Montaje medio brístol



fuelle: Autoras, 2010

Luego de esto se trasvaso el medio Brístol a un beacker de 2000 ml; se embaso un volumen de 10 ml en los tubos de ensayo; encajándolos en la centrifugadora por 15 min a 300 rpm, con el objeto de concentrar el cultivo de algas. Por último se retiraron los tubos de la centrifugadora eliminando el sobrenadante para extraer el concentrado de algas con una pipeta pasteur. Ver esquema 3

Esquema 3. Obtención de algas



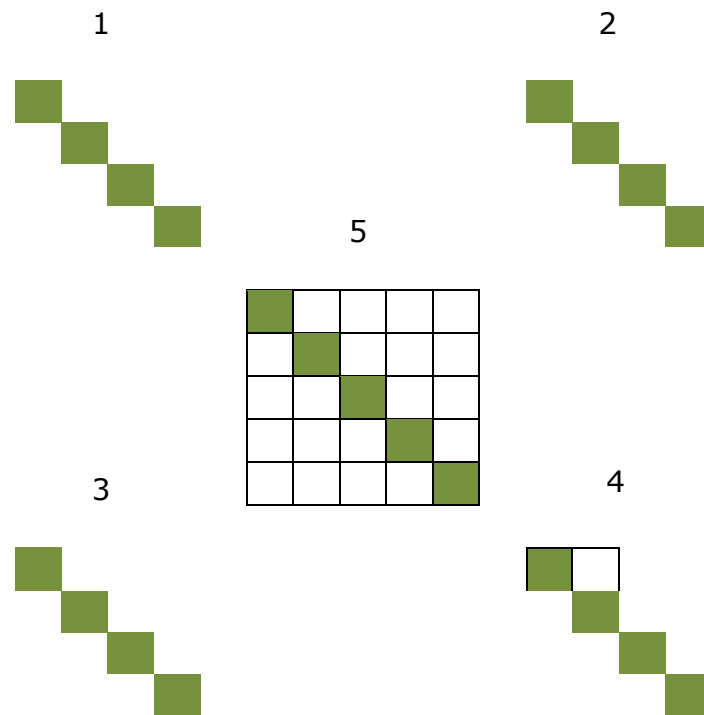
Fuente: Autoras, 2010.

De las algas obtenidas, se tomó una muestra que se revisó con el microscopio y la cámara de Neubauer, realizando el conteo de algas presentes y los cálculos que nos indicaban la cantidad de algas que se debían proporcionar a cada cultivo.

4.4.1 Conteo de algas:

Par realizar el conteo de algas, en primera instancia se agitó la solución de algas verdes concentradas hasta observa coloración homogénea o disolver los agregados celulares. Luego se tomaron 0.1 ml del concentrado de algas resultantes del proceso de centrifugado y se diluyo en 2.9 ml de agua destilada. De la dilución obtenida, tomamos con una pipeta pasteur 0.1 ml colocando la cámara Neubauer en el microscopio, enfocándolo con el objetivo 10x. Observando una figura como la que aparece en el siguiente esquema.

Esquema 4. Conteo de algas con la cámara Neubauer



Fuente: Formato LB-M03, Universidad de La Salle, Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Laboratorio de bioensayos.2007

El conteo de las algas presentes se realizó solamente en los cuadros indicados, es decir las diagonales. El número de células contadas en cada cuadro en forma se multiplicó por 4 o 5 dependiendo de la cuadrícula. Luego, se hizo la sumatoria los valores obtenidos calculando el promedio.

Con lo anterior, se determinó la cantidad de células que existen en un 1 ml, partiendo que la cámara tiene una capacidad de 1×10^{-4} ml, de la siguiente manera:

$$\frac{\bar{X}_{Células}}{1 \times 10^{-4} ml} = \frac{No. células}{1 ml}$$

El valor obtenido, se multiplicó por el factor de dilución y así se obtuvo el valor real de células presentes en 1 ml.

Con la siguiente fórmula encontramos la cantidad de algas que se debe suministrar a una pecera con 20 *Daphnias*:

$$V = \frac{(A \times B)}{C}$$

V = volumen del concentrado de algas

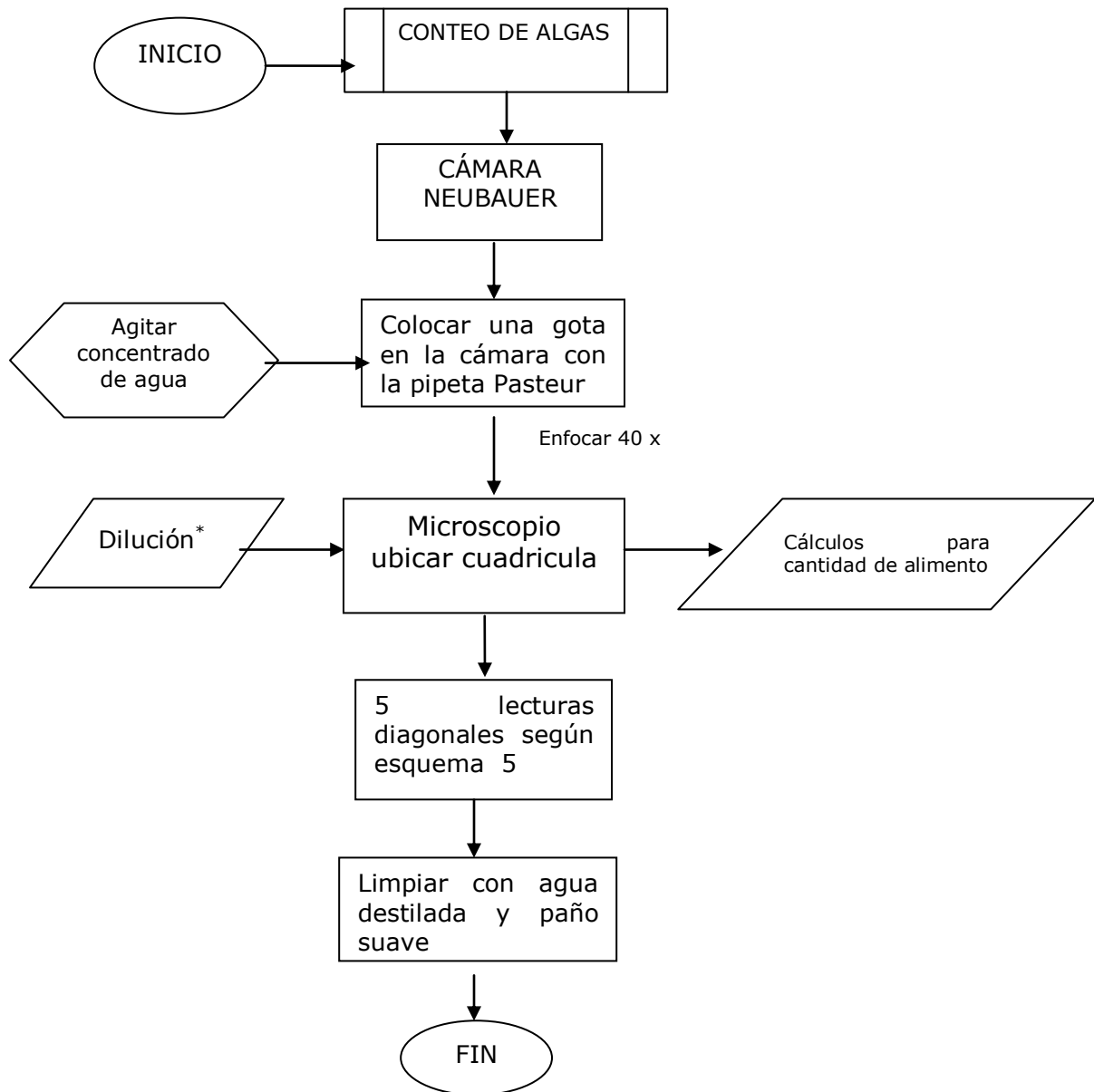
A = numero de *Daphnia pulex* por acuario

B = dosis optima recomendada $\frac{4.5 \times 10^{-6} \text{ células por } Daphnia \text{ pulex}}{\text{día}}$

(segun metodologia C – L5.018)

C = concentracion ($\frac{\# \text{ de células}}{\text{ml}}$) de suspensión de algas descritas y halladas anteriormente

Diagrama 4. Procedimiento para conteo de algas



*

Fuente: Escobar Pedro miguel 2007.

$$\frac{0.1 \text{ ml de concentrado de algas}}{0.9 \text{ ml de agua desionizada}}$$

Fuente: Autoras, 2010

4.5 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES

Las soluciones para las pruebas de toxicidad fueron preparadas con agua reconstituida, con excepción de las soluciones madre las cuales fueron preparadas con agua desionizada.

El procedimiento para las pruebas con dicromato de potasio, plomo, cromo hexavalente y la muestra ambiental es el mismo, a diferencia que las concentraciones son iguales.

Las pruebas se realizaron con cinco concentraciones distintas expresadas en ppm de la sustancia toxica y otra de control por cuadruplicado obteniendo el test definitivo, teniendo en cuenta que se debe replicar varias veces el ensayo, para que los resultados sean estadísticamente representativos.

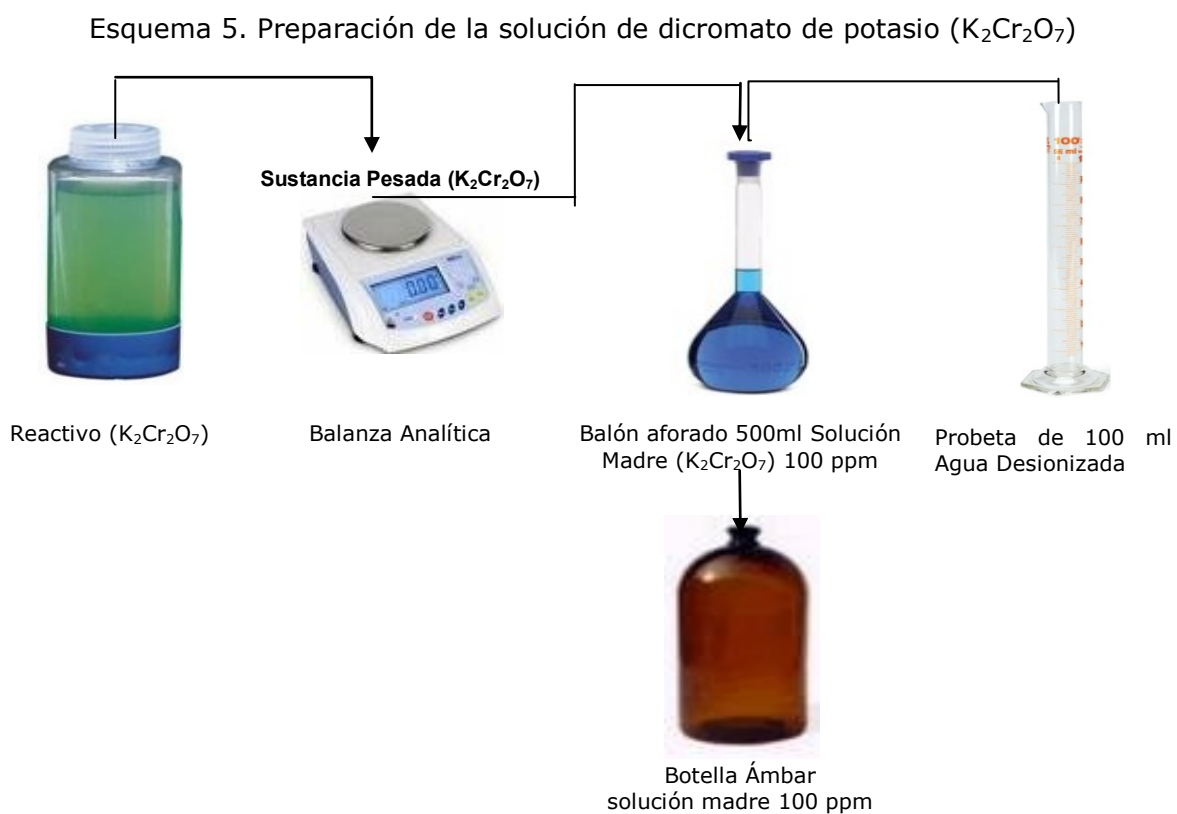
Las soluciones se mantuvieron preservadas en refrigerador por un tiempo no mayor a tres (3) meses. Antes de la realizar los ensayos de toxicidad, las soluciones eran aclimatadas durante un período de 3 horas, para evitar la mortandad de los organismos prueba debido al cambio de temperatura.

4.5.1 Preparación de soluciones de Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

Para realizar pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), se hicieron los siguientes pasos para obtener las diferentes concentraciones.

Paso 1

Se tomó una solución madre con una concentración de 100 ppm, la cual fue preparada pesando 0.1 gramos (100 ppm) de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y llevándola a un volumen de 500 ml de agua des ionizada. Ver esquema 5.



Fuente: Autoras, 2010.

Paso 2

Con la solución Madre de 100 ppm se preparó una solución A para alcanzar una concentración de 1 ppm. Entonces de la solución A se prepararon las diferentes diluciones para cada una de las concentraciones a trabajar, completando cada concentración con 500 ml de agua reconstituida (ver esquema 5-6); se utilizó la siguiente fórmula:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2$$

Donde:

V_2 = Volumen a preparar (capacidad del balón 500 ml).

C_2 = Concentración a trabajar.

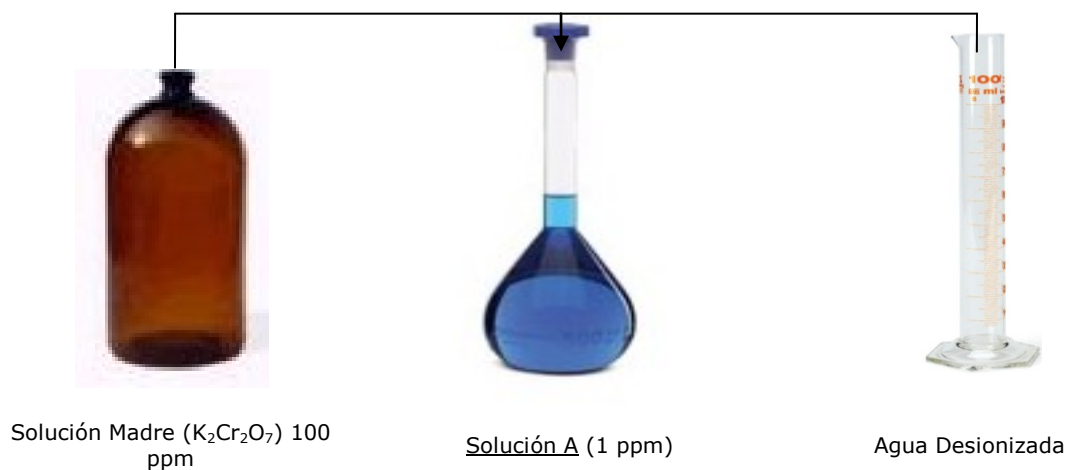
V_1 = Volumen a Calcular.

C_1 = Concentración Solución Patrón

Despejando volumen V_1 ;

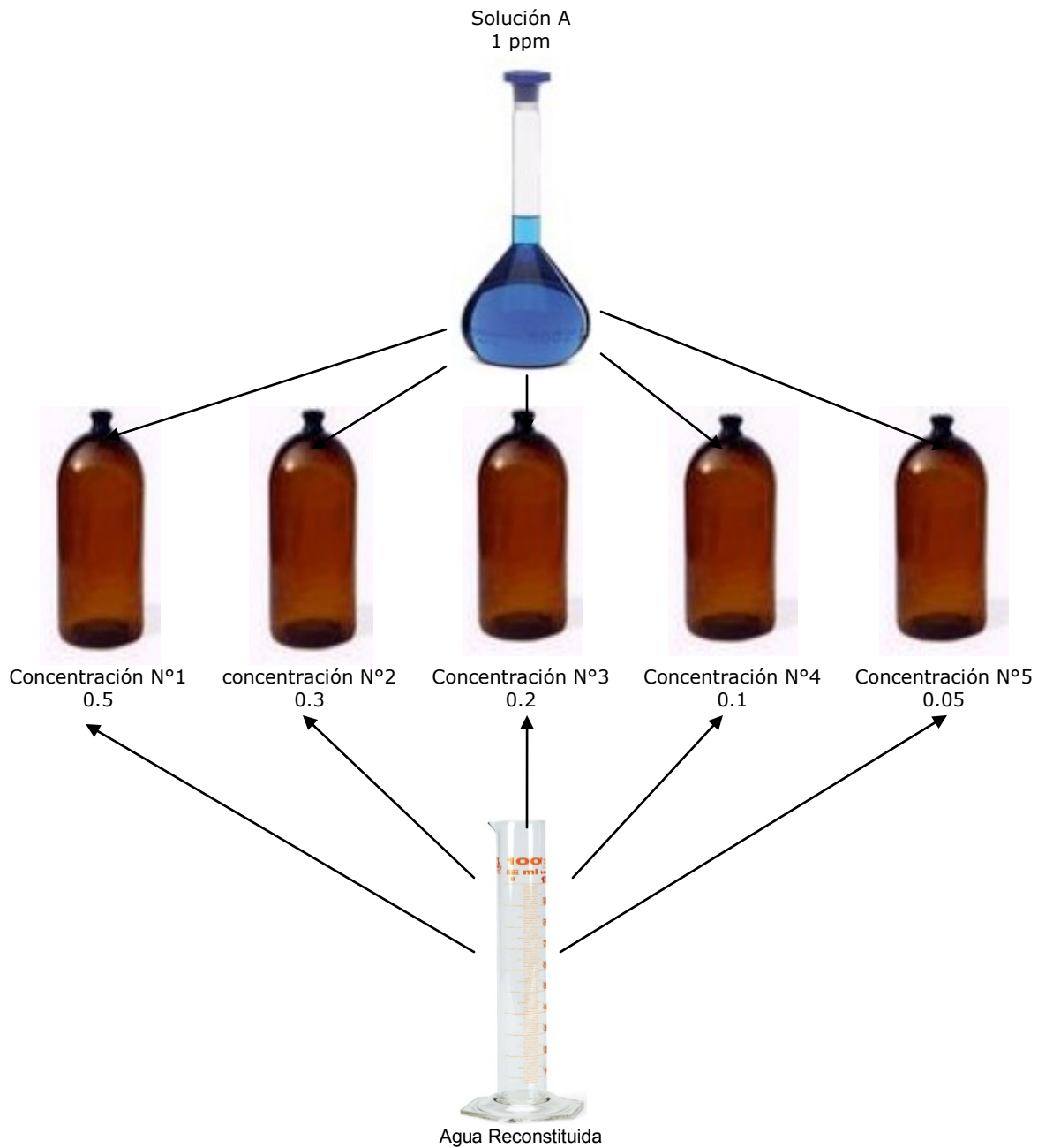
$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

Esquema 6. Preparación de la solución A



Fuente: Autoras, 2010

Esquema 7. Preparación de las soluciones (0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.05) ppm.



Fuente: Autoras, 2010.

4.5.2. Preparación de soluciones para cromo hexavalente (Cr⁺⁶)

Para realizar las pruebas de cromo hexavalente (Cr⁺⁶), se tomó el dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇). Con el propósito de calcular la cantidad de cromo hexavalente en ppm contenido en este compuesto, lo cual se hizo mediante estequiometría; como se puede ver en la siguiente tabla:

Tabla 10 Compuesto de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

K ₂	Cr ₂	O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	
78.19 g	103.992 g	112 g	299.188 g	
299.188 g	K ₂ Cr ₂ O ₇	→		103.992 g Cr ₂
	x	←		100 ppm (0.1 g)
	x = 282.8 ppm (0.282)			

Fuente: Autoras, 2010.

Ya teniendo hallada la cantidad de cromo hexavalente (Cr^{+6}) del compuesto dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$, se procede a diluir esta cantidad en 500 ml de agua destilada, obteniendo así la solución madre, a partir de la cual se preparo la solución A. Por consiguiente de la solución A se prepararon las diferentes diluciones para cada una de las concentraciones a trabajar, llevando cada concentración a un volumen de 500 ml con agua reconstituida. De esta forma se hallaron las concentraciones para el cromo hexavalente

4.5.3 Preparación de de soluciones para plomo (Pb)

Para este metal se hizo con una la solución madre de plomo (Pb) con una concentración de 1000 ppm, de donde se preparó una solución A con una concentración de 5 ppm, de la cual se prepararon las diferentes diluciones para cada una de las concentraciones a trabajar, llevando cada una de ellas a un volumen de 500 ml con agua reconstituida. Para el caso del cromo hexavalente (Cr^{+6}) y plomo (Pb) se utilizo la misma fórmula de igual forma para el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).

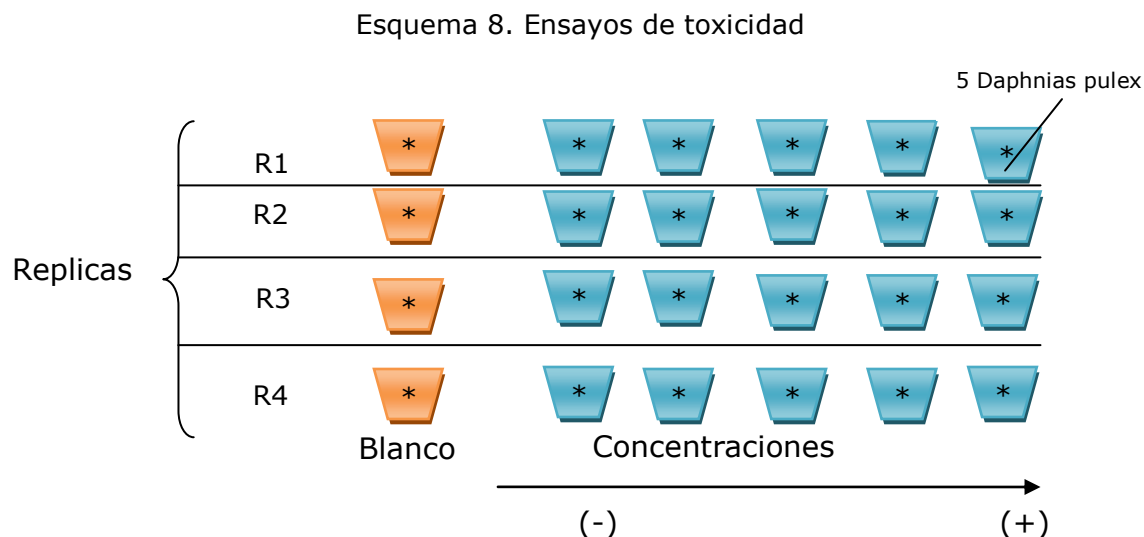
4.6 PRUEBAS DE TOXICIDAD

Las pruebas de toxicidad fueron realizadas basadas en el *PROTOCOLO LB05*, el cual tiene como objetivo determinar la concentración CL_{50-48} de una sustancia pura y/o vertimiento.

El principio de la prueba de toxicidad es exponer individuos de 24 horas de nacidos a diferentes porcentajes de dilución a una sustancia pura y/o muestra ambiental, determinando la concentración que afecta al 50% de la población del organismos de prueba *Daphnia pulex*, causando su muerte en un tiempo determinado (48 hrs).

Las pruebas de toxicidad aguda se deben llevar a cabo en dos fases: pruebas preliminares, en las que se empleó un amplio rango de concentraciones con el fin de establecer el 0 y 100% de mortalidad del tóxico sobre los organismos utilizados; y pruebas definitivas utilizando los rangos selectivos de acuerdo con los resultados de los ensayos preliminares que permitirán la obtención de las respectivas CL_{50} .

Tanto en las pruebas preliminares como las definitivas, se utilizaron cinco (5) organismos (*Daphnia pulex* <24 h de nacidas) por recipiente, basándose en los protocolos establecidos por la CETESB³³, baterías de cinco concentraciones más el blanco o control negativo y cuatro réplicas por ensayo con un total de 24 recipientes por prueba toxicológica, 120 organismos por montaje y 20 organismos por concentración, como se muestra en el esquema 8



Fuente: Autoras, 2009

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando un método paramétrico para el cálculo de los valores de CL_{50-48} mediante el programa estadístico Probit y con la ayuda protocolo LB06³⁴ "Análisis de regresión y análisis probit", en el que se dan a conocer los pasos para su obtención.

Cabe mencionar el método probit es una técnica que consiste en aislar y estimar las varianzas separadas que contribuyen a la varianza total de un experimento; lo que hace posible ensayar si ciertos factores producen resultados significativos diferentes de las variables ensayadas. En nuestro caso, se realizó para determinar la CL_{50-48} del dicromato de potasio, cromo hexavalente, plomo, y la muestra ambiental. Con este fin se desarrollo el protocolo LB06 "Análisis de regresión y análisis probit".

4.6.1 Pruebas preliminares: Fase 1

Pruebas de toxicidad con dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$.

Se hicieron 20 pruebas preliminares con dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$, en las que se emplearon las concentraciones de 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 y 0.05 ppm, las cuales se han venido trabajando por los anteriores grupos de bioensayos, con

³³ Compañía Estatal de Tecnología de Saneamiento Básico y Protección del Brasil

³⁴ Pedro Miguel Escobar Malaver; Ruben Dario Londoño Perez Manual práctico de ensayos de toxicidad en medio acuático con organismos del genero *Daphnia* Universidad de la Salle. Facultada de ingeniería programa de ingeniería ambiental y sanitaria 2009

el fin de obtener el 0 y 100% de mortalidad del toxico referente dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$, sobre cada uno de los organismos. Las pruebas definitivas se hicieron utilizando los rangos seleccionados de acuerdo con los resultados de los ensayos preliminares, para obtener la concentración letal media CL_{50-48} .

El total de pruebas individuales de sensibilidad para el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) fue de 480 ensayos.

Pruebas de toxicidad para cromo hexavalente (Cr^{+6})

La solución madre fue preparada a partir del Dicromato de Potasio, $K_2Cr_2O_7$, a una concentración de 100 ppm; luego se preparo una solución de 1 ppm, para obtener las concentraciones preliminares de 0.015; 0.03; 0.06; 0.1; 0.15 ppm, todas se registraron en concentraciones nominales del ión cromo ($+6$).

Se hicieron 5 pruebas preliminares, cuadruplicando cada concentración preliminar.

Obteniendo los datos de los 5 ensayos se tomo la decisión de aumentar o disminuir los rangos de las concentraciones para llegar a las concentraciones definitivas.

El total de pruebas individuales preliminares de sensibilidad para el cromo hexavalente fue de 120 ensayos.

Pruebas de toxicidad para plomo (Pb)

La solución madre fue preparada a partir de la solución patrón de plomo de 1000 ppm, a una concentración de 5 ppm; y de esta se prepararon las soluciones preliminares para dicho metal 0.001; 0.01; 0.1; 1.0; 5.0 ppm. Se hicieron 5 pruebas preliminares las cuales se realizaron por cuadruplicado para cada concentración preliminar y de acuerdo a los resultados obtenidos se tomo la decisión de aumentar o disminuir los rangos de las concentraciones para llegar a las concentraciones definitivas.

El total de pruebas individuales preliminares de sensibilidad para el plomo fue de 120 ensayos.

Pruebas de toxicidad para la muestra del vertimiento.

Para los ensayos del vertimiento se tomó una muestra compuesta del efluente de la **Industria galvanotecnica Zintepec Ltda**, ubicada en la Calle 7 N°31-22 Barrio Ricaurte, en el cual se tuvo en cuenta los parámetros fisicoquímicos como oxígeno disuelto, pH, temperatura, dureza, DQO, sólidos sedimentables y el metal a evaluar para la muestra ambiental que en este caso es el cromo hexavalente.

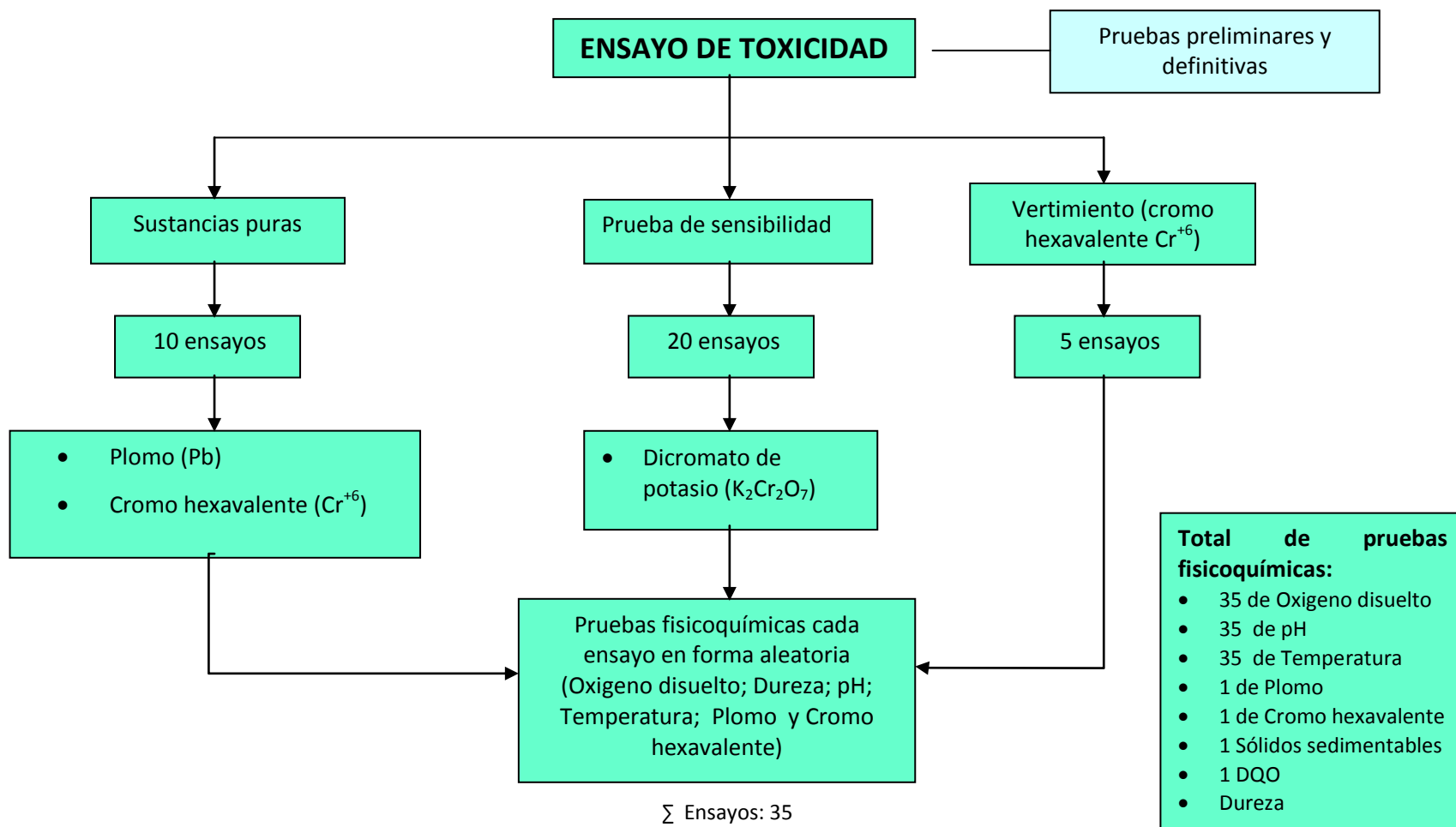
Inicialmente se realizaron cinco (5) pruebas donde se tomó una base de cálculo para el volumen de la muestra de 100 ml, utilizando los siguientes porcentajes de muestra: 20%, 40%, 60%, 80% y 100%, completando a un volumen de 100 ml con agua reconstituida, como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 11. Concentraciones preliminares para muestra ambiental (cromo hexavalente)

% Dilución del Efluente.	Control.	20%	40%	60%	80%	100%
Efluente (ml).	0	20	40	60	80	100
Agua Reconstituida (ml).	100	80	60	40	20	0
Volumen Total (ml)	100	100	100	100	100	100
Nº de Neonatos.	5	5	5	5	5	5

Fuente: Autoras, 2010.

Diagrama 5. Metodología de Pruebas preliminares con *Daphnia Pulex*



Fuente: Autoras, 2010

4.6.2 Pruebas definitivas: Fase 2

Pruebas definitivas para el cromo hexavalente.

Se hicieron 10 pruebas definitivas para el cromo siguiendo la metodología descrita en las pruebas preliminares, utilizando los rangos establecidos según los resultados de los ensayos preliminares que permitieron aumentar las concentraciones a 0.05; 0.1; 0.15; 0.2; 0.25 ppm, para la obtención de las respectivas concentraciones letales medias CL₅₀₋₄₈ de la sustancia pura de cromo.

El total de pruebas individuales definitivas de sensibilidad para el cromo hexavalente fue de 240 ensayos.

Pruebas definitivas para el plomo.

Se hicieron 10 pruebas definitivas para el plomo siguiendo la metodología descrita en las pruebas preliminares, utilizando los rangos establecidos según los resultados de los ensayos preliminares que permitieron establecer las concentraciones dentro del rango de 0.1; 0.3; 0.5; 0.7; 1.0 ppm, para la obtención de las respectivas concentraciones letales medias CL₅₀₋₄₈ de la sustancia pura de plomo.

El total de pruebas individuales definitivas de sensibilidad para el plomo fue de 240 ensayos.

Pruebas definitivas para la muestra del vertimiento.

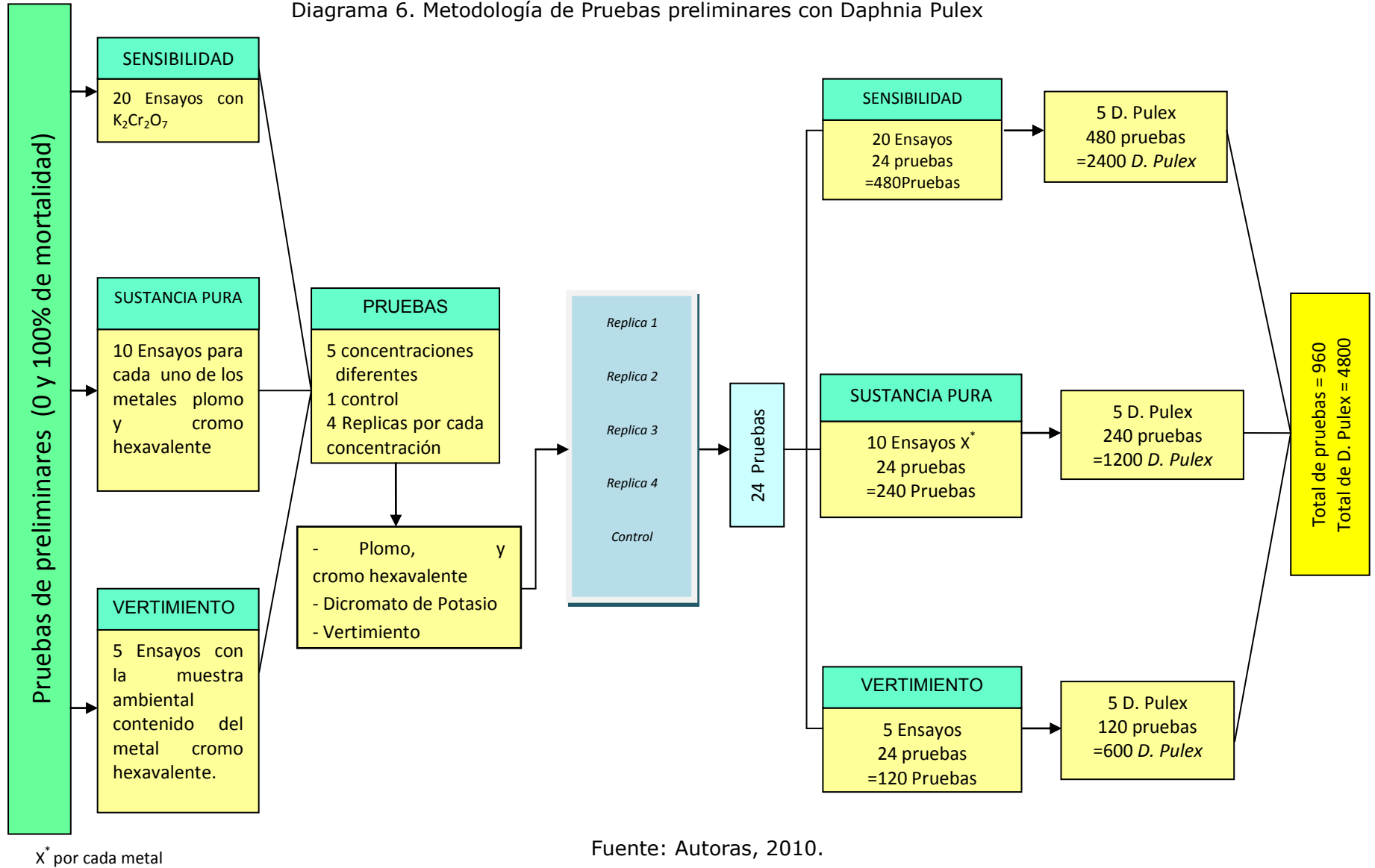
Una vez realizadas las 5 pruebas preliminares del efluente y con base en los resultados arrojados por las mismas, se procedió a disminuir los porcentajes de la muestra puesto que los organismos expuestos, se morían en el menor porcentaje (20%), de una forma casi inmediata. Lo que nos llevo a retomar los siguientes porcentajes de muestra, manteniendo la misma base de cálculo de 100 ml.

Tabla 12. Concentraciones definitivas para la muestra ambiental de cromo hexavalente.

% Dilución del Efluente.	Control.	0.1%	0.5%	1.0%	5.0%	10%
Efluente (ml).	0	0.1	0.55	1.0	5.0	10.0
Agua Reconstituida (ml).	100	99.9	99.5	99.0	95.0	90.0
Volumen Total (ml)	100	100	100	100	100	100
Nº de Neonatos.	5	5	5	5	5	5

Fuente: Autoras, 2010

Diagrama 6. Metodología de Pruebas preliminares con Daphnia Pulex



Esquema 9. Preparación pruebas de toxicidad



Fuente: Autoras, 2010.

4.7 DETERMINACIÓN DE RESULTADOS

La lectura de los microorganismos muertos se realiza pasadas 48 horas, adicionalmente debe evaluarse los parámetros ambientales como el oxígeno disuelto y el pH, en cualquiera de las copas escogida al azar, con el fin de tener la certeza que el efecto tóxico fue producido por el tóxico. Ver Anexo A.

Las pruebas definitivas son consideradas válidas según metodología CETESB, teniendo en cuenta las siguientes condiciones:

- La mortalidad en los controles no debe ser mayor que el 10% y preferiblemente no más que el 5%.
- Si la mortalidad en el control sobrepasa el 10%, esta prueba se considera no representativa, se descarta y se requiere la repetición de la misma.

Para evaluar los resultados de las pruebas toxicológicas se sigue un modelo matemático que asume relación continua entre dosis y respuesta. El valor se calcula con una confiabilidad del 95%, por medio del método Probit, obteniéndose la con sus respectivos límites de confianza.

A partir del resultado hallado por el método Probit se procede a realizar el análisis de varianza según el protocolo LB07 "Análisis de varianza (ANOVA)", con el fin de comprobar que a diferentes concentraciones de la sustancia pura o vertimiento produce un diferente efecto en todos los organismos. (Ver Anexos E; F; G; H)

4.7.1 Determinación de la carga tóxica e índice toxicológico del vertimiento

La carga tóxica y el índice toxicológico son determinados con el fin de evaluar y clasificar el vertimiento analizado, lo cual hace necesario conocer el caudal promedio de la industria y la concentración letal media del vertimiento analizado.

Para el cálculo de la carga tóxica se utilizó la siguiente ecuación: expresada en unidades tóxicas (UT) ⁱⁱ

$$CT(UT) = \frac{100}{CL_{50}} \times Q_{prom}$$

Donde:

Q = Caudal promedio (m³/mes)

CT = Carga Tóxica, expresada en unidades Tóxicas

CL₅₀ = Concentración Letal Media Promedio

Con el cálculo de la carga tóxica y transformación logarítmica en base 10 de la misma se obtuvo el índice toxicológico aplicando la siguiente fórmula:

$$IT = \text{Log} (1 + UT)$$

Obteniendo el resultado del índice toxicológico se puede clasificar el vertimiento según la siguiente tabla:

ⁱⁱ Es una extrapolación altamente simplificada para pasar datos de toxicidad de laboratorio al ambiente es el cálculo de la unidad de toxicidad (UT, grado de toxicidad de un efluente, o la concentración de una sustancia expresada como una fracción del punto final de toxicidad medido: 1/CL₅₀).

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

Tabla 13. Índices Toxicológicos

Rangos	Carga Tóxica
1-1.99	Despreciable
2-2.99	Reducida
3-3.99	Moderada
4 – 4.99	Considerable
>5	Elevada

Fuente: ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia Pulex* para la evaluación de muestras ambientales.1997.

De acuerdo con los rangos establecidos en la tabla anterior podemos clasificar el vertimiento con una carga tóxica moderada.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Siguiendo la metodología descrita en los protocolos diseñados por el programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle, los cuales han sido trabajados por los diferentes grupos de investigación, y modificados parcialmente por el ingeniero Pedro Miguel Escobar Malaver y el ingeniero Rubén Darío Londoño. Presentamos a continuación los resultados encontrados durante el desarrollo de la investigación a partir del seguimiento del cultivo y las pruebas de sensibilidad, sustancias puras y la muestra ambiental.

5.1 SEGUIMIENTO DEL CULTIVO DE *Daphnia pulex*

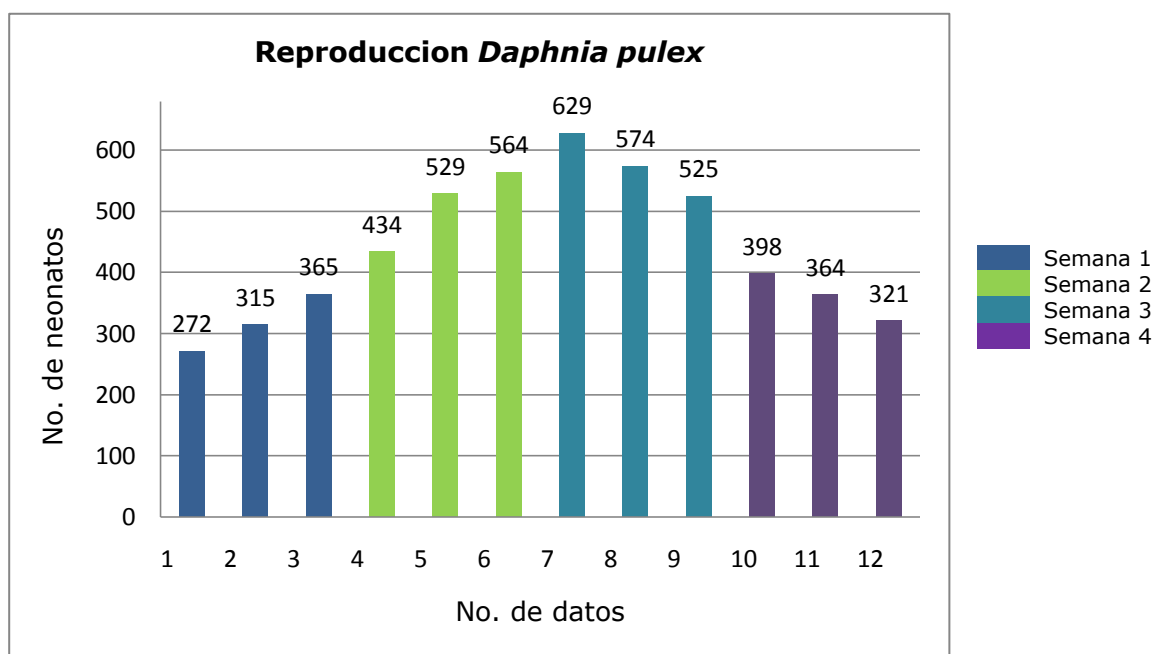
Durante el mantenimiento del cultivo con *Daphnia pulex*, se realizó un conteo de neonatos por pecera, con el fin de tener un control de la reproducción de los organismos, teniendo en cuenta que cada pecera contenía 20 organismos. El registro de nacimiento de neonatos, puede observarse a continuación:

Tabla 14. Registro de neonatos

No. de semanas	No. de datos	Fecha	Neonatos por pecera				Número de neonatos
			Pecera No. 1	Pecera No. 2	Pecera No. 3	Pecera No. 4	
1	1	18/11/2009	65	63	71	73	272
	2	21/11/2009	72	79	79	85	315
	3	23/11/2009	92	90	84	99	365
2	4	24/11/2009	105	110	105	114	434
	5	26/11/2009	124	135	142	128	529
	6	28/11/2009	143	149	131	141	564
3	7	30/12/2009	176	158	142	153	629
	8	01/12/2009	158	139	132	145	574
	9	03/12/2009	134	126	128	137	525
4	10	04/12/2009	102	98	103	95	398
	11	07/12/2009	82	84	91	107	364
	12	09/12/2009	87	71	91	72	321
Promedio			111,67	108,50	108,25	112,42	5290,00

Fuente: Autor.as, 2010

Gráfica 2. Reproducción *Daphnia pulex*



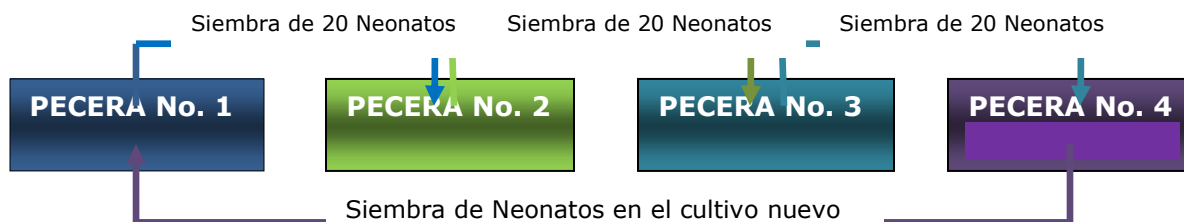
Fuente: Autoras, 2010.

Gráficamente se puede observar que el cultivo de *Daphnia pulex*, cumplió satisfactoriamente con la regeneración de los organismos como se puede observar en la Figura No. 2, que se realizó durante el desarrollo de la investigación, ya que durante las cuatro semanas en las que se monitoreó el cultivo, se pudo observar el aumento de la producción de neonatos y su consecuente disminución al final de la semana No.4, la cual es la finalización de dicho cultivo y el inicio de uno nuevo.

Inicialmente se puede observar que durante la primera semana hay un aumento leve en el nacimiento de neonatos registrando un número mínimo de 218 organismos, la producción aumenta llegando a un pico registrado al final de la semana No. 2 y el comienzo de la semana N. 4 obteniéndose 650 organismos en un día, lo permitía la realización de hasta 5 pruebas de toxicidad, lo que indica que la sensibilidad del organismo estaba en buenas condiciones para la realización de dichas pruebas.

Al finalizar la semana No.4, la producción de neonatos disminuye, este comportamiento es un indicador que el cultivo se encuentra en las condiciones óptimas de su desarrollo y que efectivamente la regeneración del cultivo se debe realizar al finalizar la cuarta semana, para así iniciar el siguiente cultivo.

Diagrama 7. Reproducción *Daphnia pulex*



Fuente: Autoras, 2010.

Es importante mencionar que los datos que se tomaron para la elaboración de la gráfica No. 2 fue del cultivo realizado el entre 18 de noviembre y 9 de diciembre del 2009 siendo esto satisfactorio y favorable; ya que la reproducción de las *Daphnias pulex* fue óptima, lo cual puede ser posible al cambio de alimento (algas) adquirido del laboratorio de biología de la universidad nacional de Colombia y a la ausencia de estudiantes fumadores en las instalaciones cercanas al laboratorio de Bioensayos. Si comparamos con el cultivo inicial la reproducción era menor del 50% aproximadamente.

Cabe mencionar, que a mediados de octubre y noviembre las condiciones del cultivo no eran óptimas para la realización de pruebas ya que el cultivo se contaminó por el alimento que se suministraba, causando la aparición de epifios, baja reproducción y hasta la muerte de los organismos; por tal razón se tuvo que suspender las pruebas y estabilizar el cultivo.

5.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD

Esta investigación fue basada en la metodología CETESB (Brasil), y los protocolos establecidos por el Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, los cuales han sido utilizados por los grupos de investigación en Bioensayos.

5.2.1 Pruebas de sensibilidad con Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$)

Para determinar la sensibilidad de los organismos con el dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$), se realizaron 20 pruebas, teniendo en cuenta los rangos de anteriores grupos de investigación en bioensayos, las concentraciones tomadas fueron 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 y 0.25 ppm. Las pruebas se realizaron con el fin de establecer la sensibilidad de la especie y su respuesta frente a este tóxico según las repeticiones del ensayo.

5.2.1.1 Análisis Probit

Para evaluar la sensibilidad del cultivo de *Daphnia pulex*, se halló la concentración letal media CL_{50-48} con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), este valor fue encontrado a partir de las pruebas definitivas, estos resultados, fueron analizados por medio del programa estadístico Probit Fis, como puede observarse a continuación, Ver Tabla 15.

Tabla 15. Concentración letal media de Dicromato de Potasio

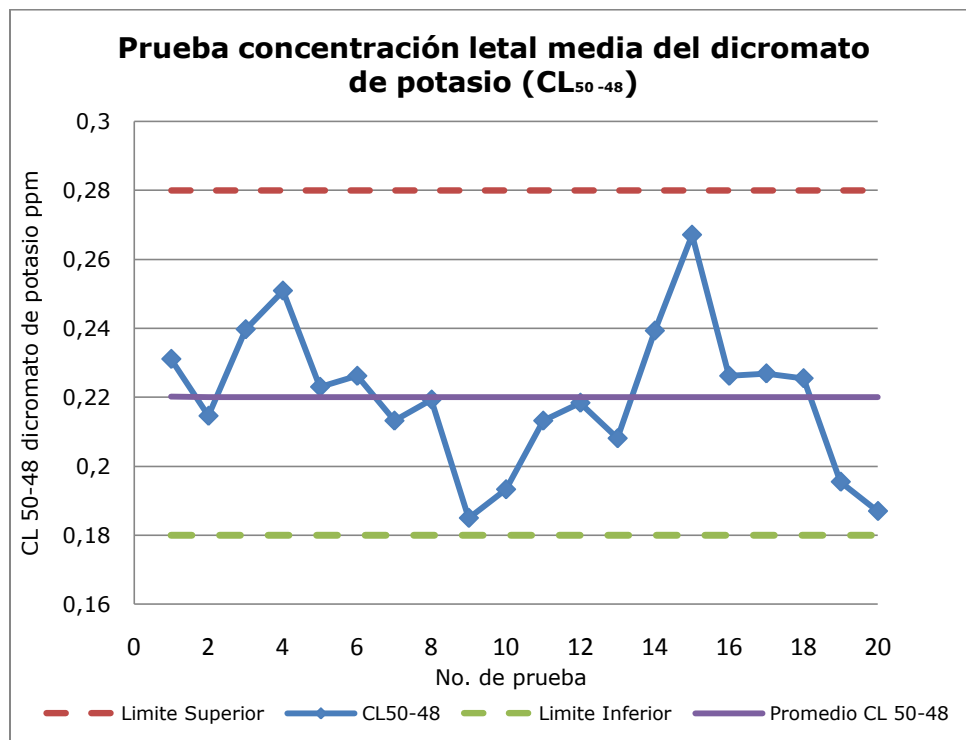
*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

No. de prueba	FECHA	CL ₅₀₋₄₈ (ppm)	95 % Limite de confiabilidad	
			Límite inferior (ppm)	Límite superior (ppm)
1	02-Sep-09	0,23	0,19	0,28
2	02-Sep-09	0,21	0,18	0,25
3	05-Sep-09	0,24	0,20	0,28
4	05-Sep-09	0,25	0,21	0,31
5	07-Sep-09	0,22	0,19	0,26
6	07-Sep-09	0,23	0,19	0,27
7	07-Sep-09	0,21	0,18	0,26
8	09-Sep-09	0,22	0,18	0,26
9	09-Sep-09	0,18	0,14	0,22
10	09-Sep-09	0,19	0,16	0,24
11	12-Sep-09	0,21	0,16	0,28
12	12-Sep-09	0,22	0,17	0,28
13	14-Sep-09	0,21	0,17	0,25
14	14-Sep-09	0,24	0,20	0,28
15	14-Sep-09	0,27	0,23	0,31
16	16-Sep-09	0,23	0,19	0,27
17	16-Sep-09	0,23	0,18	0,30
18	16-Sep-09	0,23	0,17	0,30
19	17-Sep-09	0,20	0,13	0,32
20	17-Sep-09	0,18	0,12	0,27
Promedio		0,22	0,18	0,28

Fuente: Autoras, 2010

El promedio de la CL_{50-48} , para el dicromato de potasio fue de 0.22 ppm, el cual se encuentra entre el rango de aceptación comprendido entre el límite inferior 0.18 ppm y el límite superior 0.28 ppm, indicando que los organismos se mantuvieron sensibles respecto a las pruebas y su comportamiento fue constante durante la realización de las mismas. Estos resultados corresponden al promedio de 20 pruebas realizadas por cada concentración. Los resultados pueden observarse también en la siguiente gráfica:

Gráfica 3. Prueba de sensibilidad con dicromato de potasio



Fuente: Autoras, 2010.

La gráfica muestra los resultados de las 20 pruebas realizadas, donde se puede decir que el 85% estuvo cerca al promedio y el 15% restante corrió cerca al límite superior e inferior indicando que hubo interferencia en la pruebas a causa de olores externos de laboratorio o condiciones del cultivo, por tal motivo el comportamiento de las pruebas no fue el 100% constante.

A continuación se muestra la Tabla No. 14, los resultados de sensibilidad obtenidos en investigaciones anteriores realizados por el programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle con *Daphnia pulex* y así como los encontrados en la presente se ha podido observar que el rango de sensibilidad frente al dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) ha cambiado, como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 16. Comparación de resultados de sensibilidad con el toxico de referencia dicromato de potasio.

Año	CL ₅₀₋₄₈	Límite Inferior ppm	Límite superior Ppm	Referencia
1997	0,12	0,04	0,20	Escobar, 1997
2003	0,145 (CL ₅₀₋₂₄)			Jeannette Silva, Guillermo Torrejón, Enrique Bay-Schmith & Alberto Larrain, Chile 2003.
2007	0,39	0,22	0,56	Bernal y Rojas, 2007
2007	0,10	0,07	0,12	Orozco y Toro, 2007
2008	0,09	0,13	0,07	Zambrano y Beltrán, 2008
2008	0,09	0,07	0,01	Ibañez y Casallas, 2008
2008	0,15	0,12	0,19	Alarcón y Ardila, 2008
2009	0,25	0,20	0,33	Rojas y Vargas, 2009
2009	0,14	0,13	0,15	González y Jiménez, 2009
2009	0,23	0,18	0,31	López, 2009
2009	0,22	0,18	0,28	Autoras, 2010

Fuente: Autoras, 2010.

Las posibles variaciones de la sensibilidad de los organismos, pueden ser causa de la exposición a olores y/o vapores fuertes externos al laboratorio de bioensayos otra causa es la inadecuada manipulación de los organismos; entre otras, lo que inevitablemente ocasiona alteraciones en la sensibilidad y vulnerabilidad de los organismos.

5.2.1.2 Análisis de varianza (ANOVA)

Siguiendo la metodología del protocolo LB07 de "Análisis de Varianza" (Ver Anexo E), se realizó el análisis correspondiente de varianza para los ensayos con las diferentes sustancias estudiadas sobre *Daphnia pulex*; para el desarrollo del mismo se tuvo en cuenta los datos registrados en las lecturas de las pruebas de laboratorio realizadas con los organismos. Por medio de este análisis se puede determinar una hipótesis nula o alterna comparando el F calculado, hallado por medio de las ecuaciones nombradas en la Tabla 3 del capítulo de la metodología.

Se postularon las siguientes hipótesis:

H_0 : Las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos.

H_1 : Las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos.

Y se realiza el análisis, teniendo en cuenta la siguiente condición:

$F_c > F_t$: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

$F_c < F_t$: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

A continuación se da a conocer un ejemplo de las tablas realizadas para cada una de las 20 pruebas de sensibilidad

Tabla 17. Pruebas con dicromato de potasio

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.5	4	5	5	5	19	4,75
0.3	2	4	4	3	13	3,25
0.2	2	1	4	0	7	1,75
0.1	1	1	0	0	2	0,5
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					41	10,25

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla 18. Tratamientos ANOVA para dicromato de potasio

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla N. 19 Resultados ANOVA con dicromato de potasio

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	75,70833333	5	15,14166667	20,57	2,77
Dentro de Grupos	13,25	18	0,736111111		
Total	88,95833333	23			

Fuente: Autoras, 2010.

Como se puede observar el F calculado es mayor al F teórico, por tanto se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis alterna (H_1), determinando así que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

Se realizó el mismo análisis para las 20 pruebas obteniendo, ver tabla 20

Tabla N. 20 Resultados ANOVA con dicromato de potasio

No. de prueba	fecha	F Calculado	F Teórico	Resultado
1	02-Sep-09	20,57	2.77	Se acepta H1
2	02-Sep-09	49,29		Se acepta H1
3	05-Sep-09	31,85		Se acepta H1
4	05-Sep-09	127,25		Se acepta H1
5	07-Sep-09	10,78		Se acepta H1
6	07-Sep-09	45,42		Se acepta H1
7	07-Sep-09	125,04		Se acepta H1
8	09-Sep-09	28,40		Se acepta H1
9	09-Sep-09	34,45		Se acepta H7
10	09-Sep-09	54,73		Se acepta H8
11	12-Sep-09	55,32		Se acepta H9
12	12-Sep-09	34,12		Se acepta H1
13	14-Sep-09	15,42		Se acepta H1
14	14-Sep-09	25,62		Se acepta H1
15	14-Sep-09	80,74		Se acepta H1
16	16-Sep-09	65,60		Se acepta H1
17	16-Sep-09	25,44		Se acepta H1
18	16-Sep-09	18,68		Se acepta H1
19	17-Sep-09	27,46		Se acepta H1
20	17-Sep-09	18,87		Se acepta H1

Fuente: Autoras, 2010.

La anterior tabla nos muestra que el F calculado para cada una de las pruebas realizadas, es mayor al F teórico 2.77, dando como resultado la aceptación de H1, lo cual indica que al aumentar la concentración de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), aumenta también la mortalidad de los organismos expuestos, por tanto los datos demuestran confiabilidad para la CL_{50-48} para el dicromato de potasio.

5.2.2 Pruebas preliminares y definitivas de toxicidad con cromo hexavalente (Cr^{+6})

Con la información de las pruebas preliminares, se pudo establecer el intervalo de concentración en el cual se identificó el 0 y el 100% de mortalidad. Se hicieron 5 pruebas, con el fin de corroborar los datos, así como la homogeneidad de los resultados.

Los rangos tomados para la realización de las pruebas preliminares fueron los siguientes, ver tabla 21

Tabla No. 21 Pruebas preliminares con cromo hexavalente

Concentraciones ppm				
0.015	0.03	0.06	0.1	0.15

Fuente: Autoras, 2010.

Como se puede observar en la Tabla No. 21, se manejaron cinco concentraciones diferentes, a partir de las cuales se definió el rango para la realización de las pruebas definitivas.

Para determinar la concentración letal media del cromo hexavalente (Cr^{+6}), se realizaron 10 pruebas definitivas, utilizando cinco concentraciones diferentes las cuales fueron los siguientes, ver tabla 22

Tabla No. 22 Pruebas definitivas con cromo hexavalente

Concentraciones definitivas ppm				
0.05	0.1	0.15	0.2	0.25

Fuente: Autoras, 2010.

5.2.2.1 Análisis Probit

En la siguiente tabla, se observa la concentración letal media y sus límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS), encontrados para cada uno de las diez (10) pruebas de toxicidad, con cromo hexavalente sobre *Daphnia Pulex*. Ver tabla 23

Tabla 23. Concentración letal media de cromo hexavalente

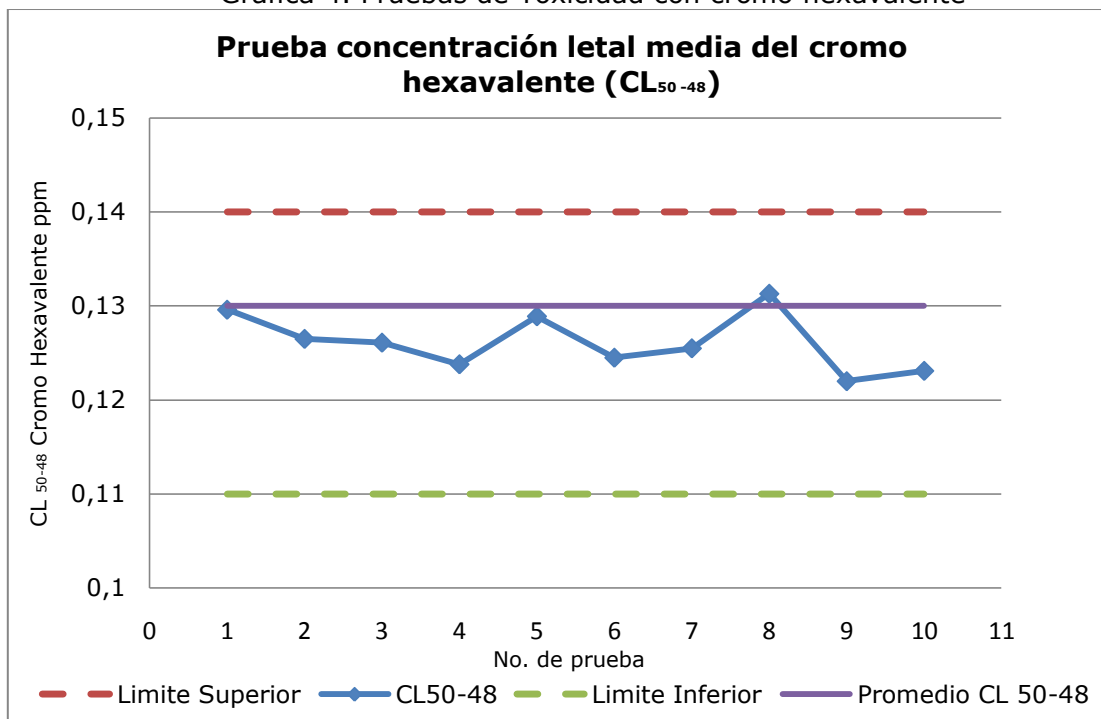
No. de prueba	FECHA	CL₅₀₋₄₈ (ppm)	95 % Limite de confiabilidad	
			Límite inferior (ppm)	Límite superior (ppm)
1	28-Sep-09	0,130	0,114	0,144
2	28-Sep-09	0,127	0,111	0,141
3	30-Sep-09	0,126	0,112	0,139
4	30-Sep-09	0,124	0,110	0,136
5	01-Oct-09	0,129	0,116	0,141
6	01-Oct-09	0,125	0,109	0,139
7	06-Oct-09	0,126	0,110	0,139
8	06-Oct-09	0,131	0,118	0,144
9	07-Oct-09	0,122	0,107	0,135
10	07-Oct-09	0,123	0,109	0,136
Promedio		0,13	0,11	0,14

Fuente: Autoras, 2010.

El promedio de la CL₅₀, para cromo hexavalente es de 0.13ppm, el cual se encuentra entre el rango de aceptación que comprenden el límite inferior 0.14 ppm y el superior 0.11ppm, mostrando un límite de confiabilidad del 95% en los resultados. En la tabla se puede observar el promedio de 10 pruebas realizadas por cada concentración.

Los resultados de la tabla 21 se pueden observar detalladamente en la siguiente gráfica:

Gráfica 4. Pruebas de Toxicidad con cromo hexavalente



Fuente: Autoras, 2010.

El promedio de la concentración letal media del cromo hexavalente (Cr^{+6}) se encuentra por encima del valor establecido en la Resolución 3957 de 2009. Cabe mencionar, que esta resolución establece un concentración máxima permisible de 0.5 mg/l, siendo este el valor que garantiza la supervivencia de la fauna acuática, para causar la muerte al menos a la mitad de la población se necesita una concentración mayor del cromo hexavalente como es el caso de esta investigación.

5.2.2.2 Análisis de varianza (ANOVA)

A continuación se da a conocer un ejemplo de las tablas realizadas para las 10 pruebas efectuadas de cromo hexavalente

Tabla 24. Pruebas para cromo hexavalente

concentración	Número de réplicas				Total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	4	5	5	5	19	4,75
0.15	3	4	4	0	11	2,75
0.1	1	3	0	0	4	1
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					54	13,5

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla 25. Tratamientos ANOVA para cromo hexavalente

Tratamientos	6
Observaciones	4
Total	24

Tabla 26. Resultados ANOVA para cromo hexavalente

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	103	5	20,6	21,1885714	2,77
Dentro de Grupos	17,5	18	0,972222222		
Total	120,5	23			

Fuente: Autoras, 2010.

Como se puede observar el F calculado es mayor que el F teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis alterna (H_1), determinando así que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

Los resultados de las demás pruebas se pueden observar a continuación, tabla 27.

Tabla 27. Resultados Totales ANOVA para cromo hexavalente

No. de prueba	fecha	F Calculado	F Teórico	Resultado
1	28-Sep-09	21,19	2.77	Se acepta H1
2	28-Sep-09	87,56		Se acepta H1
3	30-Sep-09	406,2		Se acepta H1
4	30-Sep-09	87,32		Se acepta H1
5	01-Oct-09	72,55		Se acepta H1
6	01-Oct-09	45,42		Se acepta H1
7	06-Oct-09	72,22		Se acepta H1
8	06-Oct-09	54,64		Se acepta H1
9	07-Oct-09	39,22		Se acepta H7
10	07-Oct-09	226,22		Se acepta H8

Fuente: Autoras, 2010.

Todos los resultados para el cromo hexavalente, muestran que el F calculado es mayor al F teórico 2.77, dando como resultado la aceptación de H1, lo cual indica que al aumentar la concentración de cromo hexavalente (Cr^{+6}), aumenta también la mortalidad de los organismos expuestos, por tanto los datos demuestran confiabilidad para la CL_{50-48} para este toxico.

5.2.3 Pruebas toxicológicas con plomo (Pb)

Se realizaron cinco pruebas preliminares y diez pruebas definitivas con plomo sobre *Daphnia pulex*, con el fin de determinar la concentración letal media (CL_{50-48}).

5.2.3.1 Pruebas preliminares de toxicidad con plomo (Pb)

Se realizaron 5 pruebas preliminares. Con esta información se pudo establecer el intervalo de concentración del 0 y el 100% de mortalidad para poder establecer las pruebas definitivas.

Las concentraciones de las pruebas preliminares se pueden ver en la siguiente tabla:

Tabla 28. Pruebas preliminares con plomo

Concentraciones preliminares ppm				
0.001	0.01	0.1	1.0	5.0

Fuente: Autoras, 2010.

A partir de los resultados encontrados en las pruebas preliminares de plomo (Pb), se definió el rango para la realización de las pruebas definitivas.

5.2.3.2 Pruebas definitivas de toxicidad con plomo (Pb)

Para determinar la concentración letal media del plomo (Pb), se realizaron 10 pruebas definitivas, con el fin de corroborar los datos, así como la

homogeneidad de los resultados logrando así establecer el intervalo de concentración del 0 y el 100% de mortalidad utilizando cinco concentraciones. Las concentraciones de las pruebas preliminares se pueden ver en la siguiente tabla:

Tabla 29. Pruebas definitivas con plomo

Concentraciones definitivas ppm				
0.1	0.3	0.5	0.7	1.0

Fuente: Autoras, 2010.

5.2.3.2.1 Análisis Probit

En la siguiente tabla, se observa la CL_{50-48} y sus límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS), encontrados para cada uno de las diez (10) pruebas de toxicidad, con plomo sobre el organismo *Daphnia Pulex*.

Tabla 30. Concentración letal media de plomo

No. de prueba	FECHA	CL ₅₀₋₄₈ (ppm)	95 % Limite de confiabilidad	
			Límite inferior (ppm)	Límite superior (ppm)
1	18-Nov-09	0,38	0,29	0,46
2	18-Nov-09	0,41	0,32	0,49
3	21-Nov-09	0,46	0,39	0,52
4	21-Nov-09	0,36	0,28	0,45
5	23-Nov-09	0,46	0,39	0,54
6	23-Nov-09	0,45	0,36	0,55
7	26-Nov-09	0,46	0,38	0,52
8	26-Nov-09	0,39	0,31	0,48
9	28-Nov-09	0,50	0,42	0,59
10	28-Nov-09	0,39	0,30	0,49
Promedio		0,43	0,34	0,51

Fuente: Autoras, 2010.

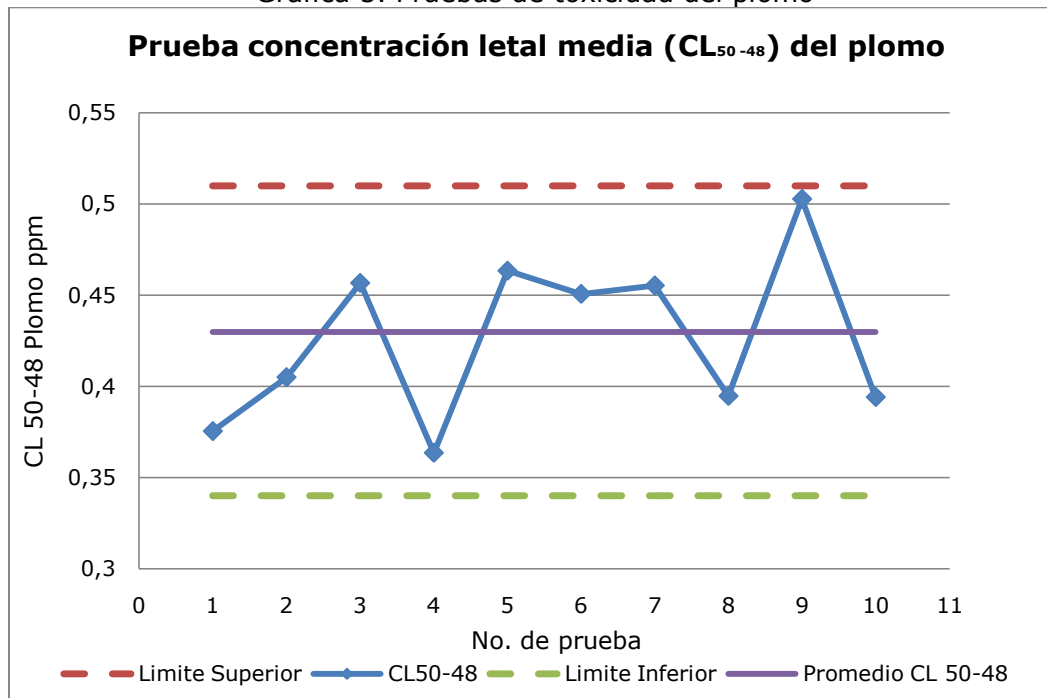
El promedio de la CL_{50} , para plomo fue de 0.43 ppm, el cual se encuentra entre el rango de aceptación que comprenden el límite inferior 0.34ppm y el superior 0.51ppm, mostrando así confiabilidad en los resultados. En la tabla se puede observar el promedio de 10 pruebas realizadas por cada concentración.

El promedio de la concentración letal media para el plomo se encuentra por encima del valor establecido en la Resolución 3957 de 2009, la cual establece como concentración máxima permisible para el plomo 0.1 mg/l, este valor garantiza la supervivencia de la fauna acuática ya que se necesitan

concentraciones mayores de plomo para causar la muerte de por lo menos la mitad de la población expuesta a este toxico.

Estos resultados pueden observarse también gráficamente, así:

Gráfica 5. Pruebas de toxicidad del plomo



Fuente: Autoras, 2010.

Gráficamente se puede observar que los resultados de las diferentes pruebas se mantuvieron dentro de los límites de confiabilidad.

5.2.3.2.2 Análisis de varianza (ANOVA)

A continuación se da a conocer un ejemplo de las tablas realizadas para las 10 pruebas efectuadas de plomo:

Tabla 31. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	4	5	4	3	16	4
0.5	3	2	4	3	12	3
0.3	1	1	2	1	5	1,25
0.1	0	1	1	0	2	0,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					55	13,75

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla No.32 Tratamientos ANOVA para plomo

Tratamientos	6
Observaciones	4
Total	24

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla 33. Resultados ANOVA para plomo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,20833333	5	16,24166667	50,84	2,77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	86,95833333	23			

Fuente: Autoras, 2010.

Como se puede observar el F calculado es mayor que el F teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis alterna (H_1), determinando así que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

Los resultados de las demás pruebas se pueden observar a continuación, Ver tabla 34.

Tabla No.34 Resultados Totales ANOVA para plomo

No. de prueba	fecha	F Calculado	F Teórico	Resultado
1	18-Nov-09	50,84	2.77	Se acepta H_1
2	18-Nov-09	25,19		Se acepta H_1
3	21-Nov-09	58,15		Se acepta H_1
4	21-Nov-09	47,60		Se acepta H_1
5	23-Nov-09	47,45		Se acepta H_1
6	23-Nov-09	20,57		Se acepta H_1
7	26-Nov-09	49,53		Se acepta H_1
8	26-Nov-09	33,88		Se acepta H_1
9	28-Nov-09	80,57		Se acepta H_7
10	28-Nov-09	46,46		Se acepta H_8

Fuente: Autoras, 2010.

Los resultados de las 10 pruebas de plomo, muestran que el F calculado es mayor al F teórico 2.77 dando como resultado la aceptación de H_1 , por tanto los datos demuestran confiabilidad para la CL_{50-48} para este toxico.

5.2.4 Pruebas toxicológicas de la muestra ambiental

Para evaluar el tratamiento que se realiza al vertimiento en la empresa Industria ZINTEPEC Ltda, se hicieron varias pruebas toxicológicas preliminares con el vertimiento, a partir de las cuales se definieron las concentraciones para efectuar las pruebas definitivas, así mismo se realizó el análisis fisicoquímico al afluyente de la galvanotecnia.

5.2.4.1 Análisis fisicoquímico de la muestra ambiental

La muestra ambiental la tomamos del afluyente el cual se considera el agua proveniente del proceso productivo que realiza la empresa Industria ZINTEPEC Ltda. Los resultados encontrados en el análisis fisicoquímico del vertimiento puede observarse a continuación:

Tabla No.35 Resultados de Análisis Fisicoquímicos de la muestra ambiental

PARAMETRO	EXPRESADA COMO	(mg/L)
Sólidos sedimentables	ml/l-hora	150
DQO	mg/l	825
pH	Unidades	11
Dureza	mg/l	174
Temperatura	°C	19
Cromo total	mg/l	44

Fuente: Autoras, 2010

De acuerdo a los análisis fisicoquímicos realizados al afluyente, se puede observar que sobrepasa los límites máximos permisibles para cromo según la Resolución 3957 de 2009, ya que para cromo hexavalente la concentración máxima permisible es de 0.5 mg/l. En cuanto a los demás parámetros los valores se encuentran por encima de los límites permisibles de la resolución excepto la DQO que se encuentra bajo el rango establecido por la norma.

5.2.4.2 Pruebas preliminares de toxicidad de la muestra ambiental

Para realizar las pruebas preliminares, fue necesario descartar las concentraciones en donde existía un porcentaje de mortalidad de los organismos del 100%, ver tabla No. 36

Tabla.36. Pruebas preliminares de la muestra ambiental

Concentraciones preliminares (%V/V)				
20%	40%	60%	80%	100%

Fuente: Autoras, 2010.

A partir de los rangos utilizados en las pruebas preliminares se definieron las concentraciones que se iban a ser utilizadas en las pruebas definitivas.

5.2.4.3 Pruebas definitivas de toxicidad de la muestra ambiental

Para determinar la concentración letal media del afluente, se realizaron 5 pruebas definitivas. Ver tabla No. utilizando cinco concentraciones diferentes las cuales fueron 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 y 0.1 % V/V.

Tabla No.37 Pruebas definitivas de la muestra ambiental

Concentraciones definitivas (%V/V)

0.1% 0.5% 1.0% 5.0% 10%

Fuente: Autoras, 2010.

5.2.4.3.1 Análisis Probit

Se hicieron 5 pruebas de toxicidad definitivas para la muestra ambiental, obteniéndose para cada una la CL_{50-48} , con sus respectivos límites inferior y superior, por medio de la metodología Probit para hallar la concentración letal media definitiva de la muestra ambiental. Los resultados hallados para cada una de las pruebas pueden verse en la tabla 38.

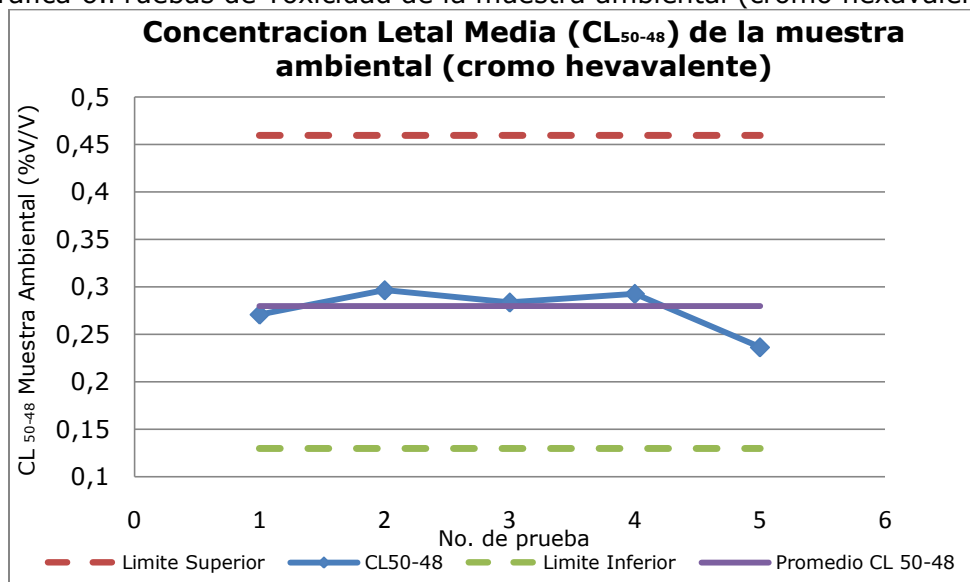
Tabla 38. Concentración letal media de la muestra ambiental (cromo hexavalente)

No. de prueba	FECHA	CL ₅₀₋₄₈ (%V/V)	95 % Limite de confiabilidad	
			Límite inferior (%V/V)	Límite superior (%V/V)
1	08-Dic-09	0,27	0,12	0,47
2	08-Dic-09	0,30	0,15	0,49
3	08-Dic-09	0,28	0,15	0,46
4	09-Dic-09	0,29	0,14	0,49
5	09-Dic-09	0,24	0,11	0,40
Promedio		0,28	0,13	0,46

Fuente: Autoras, 2010.

El promedio de la CL_{50-48} , de la muestra ambiental tratamiento fue de 0.28 % V/V, el cual se encuentra entre el rango de aceptación que comprenden el límite inferior 0.13% V/V y el límite superior 0.46 % V/V, ofreciendo mayor confiabilidad en el resultado de las pruebas. Estos resultados corresponden al promedio de 5 pruebas realizadas por cada concentración. Los resultados de las pruebas toxicológicas también pueden ver en el siguiente gráfico:

Gráfica 6. Pruebas de Toxicidad de la muestra ambiental (cromo hexavalente)



Fuente: Autoras, 2010.

Los resultados de las diferentes pruebas realizadas para la muestra ambiental se mantuvieron cerca al promedio el cual fue de 0.28 ppm, esto indica que los resultados de las pruebas se mantuvieron constantes y no existieron interferencias significativas que alteraran el comportamiento o la sensibilidad de los organismos.

5.2.4.3.2 Análisis de varianza (ANOVA)

A continuación se da a un ejemplo de la tabla realizada para las 5 pruebas de vertimiento, teniendo en cuenta que las pruebas fueron del afluente:

Tabla 39 Pruebas de la muestra ambiental (cromo hexavalente)

concentración nominal (%V/V)	Número de réplicas				Total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
10	5	5	5	5	20	5
5.0	4	5	5	5	19	4,75
1.0	4	5	3	3	15	3,75
0.5	3	4	2	2	11	2,75
0.1	2	1	2	2	7	1,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					72	18

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla No.40 Tratamientos ANOVA para la muestra ambiental (cromo hexavalente)

Tratamientos	6
Observaciones	4
Total	24

Fuente: Autoras, 2010.

Tabla No.41 Resultados ANOVA para la muestra ambiental (cromo hexavalente)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	73	5	14,6	37,54285714	2,77
Dentro de Grupos	7	18	0,388888889		
Total	80	23			

Fuente: Autoras, 2010.

Como se puede observar el F calculado es mayor al F teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis alterna (H_1), determinando así que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba. Así como para el ejemplo anterior se obtuvieron los resultados para las 20 pruebas ver tabla 42.

Tabla 42. Resultados Totales ANOVA par la muestra ambiental (cromo hexavalente)

No. de prueba	fecha	F Calculado	F Teórico	Resultado
1	08-Dic-09	37,54	2.77	Se acepta H_1
2	08-Dic-09	56,88		Se acepta H_1
3	08-Dic-09	50,84		Se acepta H_1
4	09-Dic-09	55,32		Se acepta H_1
5	09-Dic-09	59,02		Se acepta H_1

Fuente: Autoras, 2010.

Todos los resultados para el afluente del sistema de tratamiento, muestran que el F calculado es mayor al F teórico 2.77, dando como resultado la aceptación de H_1 , lo cual indica que al aumentar el porcentaje del vertimiento, aumenta también la mortalidad de los organismos expuestos, por tanto los datos demuestran confiabilidad para la CL_{50-48} para la muestra ambiental.

5.7.1 Obtención de la carga toxica e índice toxicológico del vertimiento

La carga toxica y el índice toxicológico son determinados con el fin de evaluar y clasificar el vertimiento analizado, lo cual hace necesario conocer el caudal promedio de la industria y la concentración letal media del vertimiento analizado.

Para el cálculo de la carga tóxica se utilizó la siguiente ecuación: expresada en unidades tóxicas (UT) ⁱⁱ

$$CT(UT) = \frac{100}{CL_{50}} \times Q_{prom}$$

Donde:

Q = Caudal promedio (m³/mes)

CT = Carga Tóxica, expresada en unidades Tóxicas

CL₅₀ = Concentración Letal Media Promedio

Remplazando:

$$CT(UT) = \frac{100}{0.28 \% \left(\frac{V}{V} \right)} \times 3.5 \frac{m^3}{mes} = 1.250 UT$$

Con el cálculo de la carga toxica y transformación logarítmica en base 10 de la misma se obtuvo el índice toxicológico aplicando la siguiente fórmula:

$$IT = \text{Log} (1 + UT)$$

Remplazando:

$$\text{Log}(1 + 1.250) = 3.09$$

A continuación se presentan los rangos que nos permite hacer la clasificación del vertimiento. Observar la siguiente tabla:

ⁱⁱ Es una extrapolación altamente simplificada para pasar datos de toxicidad de laboratorio al ambiente es el cálculo de la unidad de toxicidad (UT, grado de toxicidad de un efluente, o la concentración de una sustancia expresada como una fracción del punto final de toxicidad medido: 1/CL₅₀).

Tabla 43. Índices Toxicológicos

Rangos	Carga Toxica
1-1.99	Despreciable
2-2.99	Reducida
3-3.99	Moderada
4 – 4.99	Considerable
>5	Elevada

Fuente: ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia Pulex* para la evaluación de muestras ambientales.1997.

De acuerdo con los rangos establecidos en la tabla anterior podemos clasificar el vertimiento con una carga toxica modera.

6. CONCLUSIONES

- Se determinó que la concentración letal media CL_{50-48} , del cromo hexavalente sobre *Daphnia pulex* es de 0.13 ppm, al igual que para el plomo se determinó que la CL_{50-48} de 0.43 ppm, las cuales se encuentran entre el límite inferior y el límite superior del análisis Probit demostrando de esta forma una confiabilidad del 95% en los resultados encontrados.
- De acuerdo a los resultados encontrados para la pruebas de toxicidad de cromo hexavalente y plomo, fue evidente que el organismo prueba *Daphnia Pulex* es más tolerante al plomo ya que el 50% de la población expuesta de los organismos prueba se moría a una concentración más baja de cromo hexavalente que de plomo.
- Al hacer un análisis comparativo de los valores hallados de la concentración letal media CL_{50-48} del cromo hexavalente ($CL_{50-48} = 0.13$ mg/L) y la concentración letal media CL_{50-48} del dicromato de potasio ($CL_{50} = 0.22$ mg/L), encontramos que el cromo hexavalente es más tóxico cuando se encuentra en estado puro, que cuando se encuentra haciendo parte de un compuesto como es el dicromato de potasio, debido a las características de los demás elementos que hacen parte del compuesto, ya que pueden sufrir transformaciones y alterar las condiciones de la reacción.
- La sensibilidad hallada con el tóxico de referencia (dicromato de potasio) arroja un resultado de $CL_{50-48} = 0,22$. Por consiguiente, se concluye que la sensibilidad del cultivo *Daphnia pulex* al dicromato de potasio, se encuentra dentro de los otros rangos establecidos por las diferentes investigaciones realizadas por el departamento de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la universidad de La Salle.
- Según el resultado encontrado por el análisis de laboratorio para la muestra del vertimiento de la industria tipo ubicada en Bogotá, vemos que posee una concentración de 44 mg/L de cromo, siendo significativamente alta según el límite establecido en la resolución 3957 de 2009 capítulo V, que rige a nivel Bogotá.
- En todos los análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las pruebas de toxicidad, se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis alterna (H_1), determinando así que a diferentes concentraciones se producen efectos distintos en los organismos prueba, lo que proporciona un mayor grado de confiabilidad de los datos en la toma de registro y consecuentemente de los resultados encontrados.

- Las sustancias potencialmente tóxicas pueden encontrarse en concentraciones tan bajas, o en condiciones ambientales tales, que son indetectables con los métodos químicos convencionales, de aquí la necesidad de los bioensayos, ya que además de detectar concentraciones mínimas de un contaminante, también son un método rápido, económico y confiable. Además, con la ayuda de la caracterización fisicoquímica dan una visión más real del estado de un vertimiento y/o de un cuerpo de agua.

7. RECOMENDACIONES

- Basado en los resultados de las CL₅₀₋₄₈ del cromo hexavalente encontrado, se sugiere que se debe retomar la concentración máxima permisible para vertir a un cuerpo de agua y/o red de alcantarillado público expuestas en la resolución 3957 de 2009, ya que esta tiene un rango amplio del toxico estudiado, llevando a que los organismos de los ecosistemas acuático no toleren la CL₅₀ establecida por la norma vigente
- Bajo este resultado del análisis fisicoquímico del vertimiento de la industria tipo, se hace necesario la sugerencia de aplicar un tratamiento al vertimiento de la industria tipo, para la remoción de cromo, el cual puede ser: Precipitación Química, Oxidación-Reducción, Intercambio Iónico.
- Los bioensayos de toxicidad deben ampliarse a otros sectores industriales y diferentes contaminantes, con el fin de diagnosticar los posibles impactos ambientales negativos que se puedan ocasionar a los cuerpos de agua.
- Se recomienda realizar bioensayos con otros indicadores de toxicidad como: pulga de agua *Daphnia magna*, truchas arcoíris alevinos de *Oncorhynchus Mykiss* y semilla *lactuca sativa*, para así poder analizar y comparar los datos hallados del cromo hexavalente en la presente investigación.
- Se recomienda realizar Bioensayos con el indicador de toxicidad semilla *lactuca sativa*, con el objeto de tener una comparación completa de resultados de CL₅₀₋₄₈, ya que con las especies de *Daphnia pulex* y *magna* y la trucha arcoíris alevinos de *Oncorhynchus Mykiss*
- Es importante seguir realizando bioensayos con los indicadores ambientales que utiliza el programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, con el fin de obtener una mayor referencia de la CL50 de los tóxicos citados en el Decreto 1594 de 1984. De tal forma, que al obtener la información de las investigaciones se podrá modificar y crear una legislación ambiental más estricta en el control de vertimientos y protección de la fauna y flora, asociados con los ecosistemas acuáticos.
- Se sugiere considerar los datos hallados durante la investigación, con el fin de modificar el parámetros actuales de la norma colombiana (Resolución 3957 de 2009), para garantizar la preservación de los ecosistemas acuáticos.

- En el Decreto 1594 de 1984, es necesario incluir valores para la concentración letal media con tiempo de exposición de 48 horas, de tóxicos de referencia con el fin de ofrecer información completa respecto a los posibles impactos que puedan generar determinadas sustancias, con el fin de preservar la fauna y la flora de los ecosistemas acuáticos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Fuentes de información bibliográfica

- OROZCO, Juliana; TORO Ángela MARÍA. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀₋₄₈) del cromo y el cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá D.C, 2007. 35p. Trabajo de grado (Ingeniera de Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería de Ingeniera de Ambiental y Sanitaria
- IBÁÑEZ Kelly, CASALLAS Nicolás. Diseño de un sistema a nivel piloto para la remoción de detergentes anionicos de una solución preparada con características de una lavandería tipo con el fin de reducir la concentración letal media (CL₅₀₋₄₈) para *Daphnia pulex*, 2008. 35p. Trabajo de grado (Ingeniera de Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería de Ingeniera de Ambiental y Sanitaria
- ESCOBAR MALAVER Pedro Miguel; Coinvestigadores Yaneth PARRA MARTÍNEZ y LONDOÑO PÉREZ Rubén Darío ; Determinación de la concentración letal media CL₄₈⁵⁰ del arsénico y del níquel sobre *Daphnia pulex*. Bogotá: Universidad de la Salle, 2008
- ESCOBAR MALAVER, PEDRO MIGUEL; autor secundario LONDOÑO PÉREZ, RUBÉN DARÍO Manual práctico de ensayos de toxicidad en medio acuático con organismos del género *Daphnia*, Bogotá : Universidad de la Salle , 2009.
- JIMÉNEZ MORENO Nery Deice y GONZÁLEZ TORRES Leidy Solanyi; Evaluación del tratamiento realizado al vertimiento de la industria galvánica "nicrozinc", teniendo como referencia la concentración letal media (CL₅₀₋₄₈) de cianuro y cadmio sobre *Daphnia pulex*; Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Bogotá 2009.
- ESPINDOLA, Cecilia. Prácticas de Biología de Organismos Multicelulares. Colombia. 2004. Pág. 89.Modificación de la reproducción sexual en que el óvulo se desarrolla sin previa fecundación.
- RESOLUCIÓN 3957 DE 2009: Por la cual se establece la norma técnica, para el control y manejo de los vertimientos realizados a la red de alcantarillado público en el Distrito Capital.
- Decreto 1594 de 1984. Uso del agua y los residuos líquidos.

Fuentes de información cibergráfica

- DÍAZ BÁEZ María Consuelo, BUSTOS LÓPEZ Martha, ESPINOSA RAMÍREZ Adriana Janneth Pruebas de toxicidad acuática: *fundamentos y métodos*; Capítulo 6. Aseguramiento y Control de Calidad de Bioensayos; http://www.idrc.ca/fr/ev-84471-201-1-DO_TOPIC.html
- NÚÑEZ Mónica y HURTADO Jazmín; Bioensayos de toxicidad aguda utilizando *Daphnia magna* Straus (Cladóceras, Daphniidae) desarrollada en medio de cultivo modificado; http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v12_n1/pdf/v12n1a18.pdf
- SILVA Jeannette, TORREJO Guillermo, BAY- SCHIMITH Enrique & LARRAIN Alberto; Toxicidad del agua, prueba bioensayo Daphnia, la pulga de agua; <http://www.scribd.com/doc/17690631/toxicidad-del-agua-prueba-bioensayo-daphnia-la-pulga-de-agua->
- Producción masiva de microalgas y zooplancton destinadas a la cría del pejerrey. Cladóceros. Disponible en Internet <http://www.fao.org/docrep/008/v7283s/V7283S04.htm>
- DÍAZ Consuelo, BULUS Gustavo, PICA Yolanda. Métodos Estadísticos para el Análisis de Resultados de Toxicidad Capítulo 5. Disponible en Internet http://www.idrc.ca/en/ev-84468-201-1-DO_TOPIC.html
- Plomo. Fuentes Disponible en Internet http://www.kodak.com/eknec/PageQuerier.jhtml?pqlocale=es_ES&pq-path=782
- ¿Cuáles son los efectos en la salud que produce el plomo en el agua? Plomo y agua Disponible en Internet <http://www.lenntech.es/plomo-y-agua.htm>.
- Efectos del Plomo sobre la salud Plomo Disponible en Internet <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/pb.htm>.
- Cromo hexavalente. Pautas legislativas Disponible en: http://www.kodak.com/eknec/PageQuerier.jhtml?pq-locale=es_ES&pq-path=7828.
- Cromo. Efectos ambientales del Cromo Disponible en internet: <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cr.htm#ixzz0Z7KaTfOK>.
- Ministerio del medio ambiente. Guía de Buenas Prácticas para el Sector Galvanotecnia. Disponible en internet: http://www.siame.gov.co/siame/documentos/Guias_Ambientales. pág. 5
- Normatividad. Introducción. Disponible en internet: <http://www.ideam.gov.co/legal/index4.htm>

- Mayer & Ellersieck (1986). Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustáceo: cladóceros) usando un toxico de referencia. Gayana 67(1): 87-96, 2003. Disponible en Internet: <http://www.scielo.cl/pdf/gayana/v67n1/art11.pdf> .
- Ecosistema. Disponible en Internet: <http://es.wikipedia.org/wiki/Ecosistema>.
- Ecosistema Acuático. Disponible en Internet: http://es.wikipedia.org/wiki/Ecosistema_acuático
- Manual de buenas prácticas. Galvanotecnia. Disponible en internet: <http://www.acercar.org.co/industria/manuales/galvanotecnia.html>
- Larraín (1995). Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustáceo: cladóceros) usando un toxico de referencia. Gayana 67(1): 87-96, 2003. Disponible en Internet: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-65382003000100011&script=sci_arttext
- Recursos naturales. Agua. <http://www.jmarcano.com/recursos/agua.htm>
- Ecotoxicología Disponible en Internet <http://vaca.agro.uncor.edu/~ecotoxi/>
- Programa de monitoreo ecotoxicológico de los efluentes industriales en el río cruces, provincia de Valdivia Chile". 2005. Disponible en Internet: http://www.sinia.cl/1292/articles-35166_PPT.pd
- Bioindicadores (= indicadores biológicos). Disponible en Internet: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Bioindic.htm>

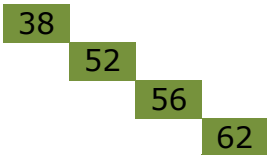
ANEXO A

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia </div> </div>
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	CONTEO DE ALGAS CON LA CÁMARA NEUBAUER PROTOCOLO LB03

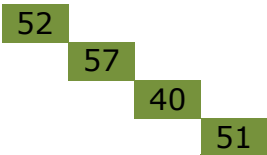
<div style="text-align: center; font-weight: bold; margin-bottom: 10px;"> REGISTRO DEL CONTEO DE ALGAS VERDES <i>Selenastrum capricornutum.</i> Lina M. Velandia – Yinny Montañez </div>	Página 1 de 1
--	---------------

Esquema No. 10. Lectura de algas en la cámara Neubauer

1



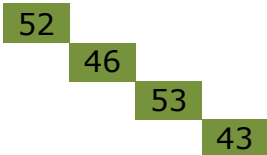
2



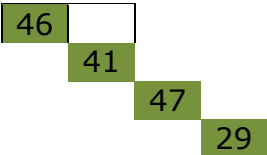
5

26				
	20			
		17		
			22	
				26

3



4



Fuente: Autoras 2010

Lectura 1 = $(38 \times 4) + (52 \times 4) + (56 \times 4) + (62 \times 4) = 836$

Lectura 2 = $(52 \times 4) + (57 \times 4) + (40 \times 4) + (51 \times 4) = 800$

Lectura 3 = $(26 \times 5) + (20 \times 5) + (17 \times 5) + (22 \times 5) + (26 \times 5) = 555$

Lectura 4 = $(52 \times 4) + (46 \times 4) + (53 \times 4) + (43 \times 4) = 776$

Lectura 5 = $(46 \times 4) + (41 \times 4) + (47 \times 4) + (29 \times 4) = 652$

$\Sigma \text{ Lecturas} = 3619 \Rightarrow \chi = 724 \text{ células}$

Con esta información se procede a determinar la cantidad de células que existen en un 1 ml, sabiendo que la cámara Neubauer tiene una capacidad de 1×10^{-4} de la siguiente manera:

$$\frac{\bar{X}Células}{1 \times 10^{-4} ml} = \frac{No.células}{1ml} \Rightarrow No.células = 7.24 \times 10^6$$

Posteriormente, se multiplica este valor por el factor de dilución, dando así el valor real que existe en 1 ml.
El factor de dilución tomado fue de 15.

$$7.2 \times 10^6 \times \text{factor de dilución} = 1.07 \times 10^8$$

Se calculó que el volumen de alimento que necesita cada pecera que contiene 20 *Daphnia pulex* con la siguiente fórmula:

$$V = \frac{(A \times B)}{C}$$

Donde:

V: volumen del concentrado de algas

A: numero de *Daphnia pulex* acuario

B: dosis optima recomienda (3×10^6 células por *daphnia pulex*/dia)


C: concentracion (numero de células/ml) de la suspension de algas descritas y halladas anteriormente

Remplazando


$$V = \frac{(20 * (3 * 10^6))}{1.08 * 10^6} = \frac{0.55ml}{dia} \approx 0.55 * 2 = 1.11ml/2días$$


A partir de este resultado se obtuvo la cantidad de alimento que se debe suministrar en cada pecera que contenga 20 individuos de *Daphnia pulex*, así como la frecuencia de alimentación, que en este caso sería $1.11ml/2días$

ANEXO B


FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>									
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 1 de 5		
Datos Pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K2Cr2O7).												
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				medidas finales		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h	
			1	2	3	4	OD	pH				
1	02-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0		04-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0			0	0		
		0,1	1	1	0	0	6.75	7.29	2	10		
		0,2	2	1	4	0			7	35		
		0,3	2	4	4	3			13	65		
		0,5	4	5	5	5			19	95		
2	02-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	04-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0			0	0		
		0,1	0	0	1	1			2	10		
		0,2	3	1	1	2	6.72	7.2	7	35		
		0,3	3	5	3	4			15	75		
		0,5	5	5	5	5			20	100		
3	05-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	07-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0	6.3	7.12	0	0		
		0,1	0	1	0	0			1	5		
		0,2	1	2	2	1			6	30		
		0,3	4	2	4	3			13	65		
		0,5	5	5	5	5			20	100		
4	05-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	07-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0			0	0		
		0,1	1	1	0	0			2	10		
		0,2	1	1	2	2			6	30		
		0,3	3	3	4	3			13	65		
		0,5	5	5	5	5	6.65	6.9	20	100		
Elaborado por: Autoras 2010												

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>								
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 2 de 5	
Datos Pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K2Cr2O7).											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				medidas finales		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4	OD	pH			
5	07-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	09-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	2	1	0	0			3	15	
		0,2	1	1	2	2			6	30	
		0,3	5	5	4	0	6.4	7.1	14	70	
		0,5	5	5	5	5			20	100	
6	07-Sep-09	Blanco	0	0	0	0	6.21	7.14	0	0	09-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	1	0	1	0			2	10	
		0,2	1	2	3	1			7	35	
		0,3	3	4	2	4			13	65	
		0,5	5	5	5	5			20	100	
7	07-Sep-09	Blanco	0	0	0	0	6.63	7.21	0		09-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	1	0	1	1			3	15	
		0,2	2	1	1	2			6	30	
		0,3	3	4	4	4			15	75	
		0,5	5	5	5	5			20	100	
8	09-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	11-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	1	0	0	2			3	15	
		0,2	2	3	1	1	6.75	6.96	7	35	
		0,3	3	4	2	5			14	70	
		0,5	5	5	5	5			20	100	
Elaborado por: Autoras 2010											

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>									
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 3 de 5		
Datos Pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K2Cr2O7).												
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				medidas finales		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h	
			1	2	3	4	OD	pH				
9	09-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	11-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0			0	0		
		0,1	2	1	1	2			6	30		
		0,2	2	4	2	1			9	45		
		0,3	5	3	4	3			15	75		
		0,5	5	5	5	5	6.4	7.05	20	100		
10	09-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	11-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0			0	0		
		0,1	1	2	1	2			6	30		
		0,2	1	2	2	3			8	40		
		0,3	4	3	3	4			14	70		
		0,5	5	5	4	5	6.59	6.92	19	95		
11	12-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0		14-Sep-09	
		0,05	1	0	0	0	6.8	7.3	1	5		
		0,1	1	2	1	0			4	20		
		0,2	2	2	3	3			10	50		
		0,3	3	3	4	2			12	60		
		0,5	4	4	5	4			17	85		
12	12-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	14-Sep-09	
		0,05	0	1	0	0			1	5		
		0,1	0	1	1	0			2	10		
		0,2	1	2	3	2			8	40		
		0,3	4	3	4	4	6.95	7.1	15	75		
		0,5	4	5	3	5			17	85		
Elaborado por: Autoras 2010												


*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>								
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 4 de 5	
Datos Pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K2Cr2O7).											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				medidas finales		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4	OD	pH			
13	14-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	16-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	1	1	1	0			3	15	
		0,2	2	2	1	3			8	40	
		0,3	4	3	4	5	6.91	7.01	16	80	
		0,5	4	4	5	5			18	90	
14	14-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	16-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	0	1	0	0			1	5	
		0,2	1	2	0	3			6	30	
		0,3	2	3	4	5			14	70	
		0,5	4	5	5	5	6.78	6.91	19	95	
15	14-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	16-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	0	0	0	0			0	0	
		0,2	1	1	1	2			5	25	
		0,3	2	3	3	4			12	60	
		0,5	4	5	5	5			19	95	
16	16-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	18-Sep-09
		0,05	0	0	0	0	6.89	7.02	0	0	
		0,1	0	0	1	1			2	10	
		0,2	2	1	2	2			7	35	
		0,3	3	4	2	4			13	65	
		0,5	5	5	5	5			20	100	


Elaborado por: Autoras 2010

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>								
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos						Pág. 5 de 5		
Datos Pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K2Cr2O7).											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				medidas finales		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4	OD	pH			
17	16-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0		18-Sep-09
		0,05	0	0	0	0			0	0	
		0,1	1	2	1	1	6.2	7.3	5	25	
		0,2	1	2	3	3			9	45	
		0,3	3	3	4	2			12	60	
		0,5	3	4	5	4			16	80	
18	16-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	18-Sep-09
		0,05	1	1	0	0			2	10	
		0,1	1	1	1	0			3	15	
		0,2	1	2	1	3			7	35	
		0,3	3	3	2	5	6.9	7.1	13	65	
		0,5	3	4	5	5			17	85	
19	17-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	19-Sep-09
		0,05	0	2	2	1			5	25	
		0,1	1	1	3	1			6	30	
		0,2	2	3	2	1			8	40	
		0,3	3	2	4	2			11	55	
		0,5	4	5	5	3			17	85	
20	17-Sep-09	Blanco	0	0	0	0			0	0	19-Sep-09
		0,05	1	2	0	0			3	15	
		0,1	1	3	2	2			8	40	
		0,2	3	3	3	1			10	50	
		0,3	3	3	4	2			12	60	
		0,5	4	4	3	5			16	80	
Elaborado por: Autoras 2010											


ANEXO C

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>									
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 1 de 3		
Pruebas para Cromo HEXAVALENTE Cr VI												
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				total muertos	medidas finales		% de mortalidad	Fecha 48h	
			1	2	3	4		pH	OD			
1	28-Sep-09	Blanco	0	0	0	0	0				30-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0	0	6.9	7.25	0		
		0,1	1	3	0	0	4			20		
		0,15	3	4	4	2	13			65		
		0,2	4	5	5	5	19			95		
		0,25	5	5	5	5	20			100		
2	28-Sep-09	Blanco	0	0	0	0	0				30-Sep-09	
		0,05	0	0	0	0	0			0		
		0,1	1	2	2	0	5			25		
		0,15	3	3	4	3	13			65		
		0,2	5	5	4	5	19	6.93	7.02	95		
		0,25	5	5	5	5	20			100		
3	30-Sep-09	Blanco	0	0	0	0	0	7.1	7.3		02-Oct-09	
		0,05	0	0	0	0	0			0		
		0,1	1	1	1	1	4			20		
		0,15	3	4	3	4	14			70		
		0,2	5	5	5	5	20			100		
		0,25	5	5	5	5	20			100		
4	30-Sep-09	Blanco	0	0	0	0	0				02-Oct-09	
		0,05	0	0	0	0	0			0		
		0,1	2	1	1	0	4			25		
		0,15	3	4	3	5	15			70		
		0,2	5	5	5	5	20			100		
		0,25	5	5	5	5	20	6.59	6.97	100		
Elaborado por: Autoras 2010												

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>								
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 2 de 3	
Datos Pruebas de cromo hexavalente.											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				total muertos	medidas finales		% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4		PH	OD		
5	01-Oct-09	Blanco	0	0	0	0	0				03-Oct-09
		0,05	0	0	0	0	0			0	
		0,1	1	1	0	1	3			15	
		0,15	3	2	5	4	14	6.83	7.1	70	
		0,2	5	5	5	5	20			100	
		0,25	5	5	5	5	20			100	
6	01-Oct-09	Blanco	0	0	0	0	0				03-Oct-09
		0,05	0	0	0	0	0			0	
		0,1	3	0	2	0	5			25	
		0,15	4	2	5	3	14			70	
		0,2	5	4	5	5	19			95	
		0,25	5	5	5	5	20	6.73	6.91	100	
7	06-Oct-09	Blanco	0	0	0	0	0	6.97	7.01		08-Oct-09
		0,05	0	0	0	0	0			0	
		0,1	1	2	0	1	4			20	
		0,15	3	3	4	5	15			75	
		0,2	5	5	5	4	19			95	
		0,25	5	5	5	5	20			100	
8	06-Oct-09	Blanco	0	0	0	0	0				08-Oct-09
		0,05	0	0	0	0	0	7.2	7.25	0	
		0,1	1	1	0	1	3			15	
		0,15	2	5	2	4	13			65	
		0,2	5	5	5	5	20			100	
		0,25	5	5	5	5	20			100	


Elaborado por: Autoras 2010

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá • Colombia		
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	Reporte de datos de bioensayos	Pág. 3 de 3	

Datos Pruebas de cromo hexavalente.											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				total muertos	medidas finales		% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4		PH	OD		
9	07-Oct-09	Blanco	0	0	0	0	0				09-Oct-09
		0,05	0	0	0	0	0			0	
		0,1	1	1	4	0	6			30	
		0,15	3	4	3	3	13	6.7	7.0	65	
		0,2	5	5	5	5	20			100	
		0,25	5	5	5	5	20			100	
10	07-Oct-09	Blanco	0	0	0	0	0				09-Oct-09
		0,05	0	0	0	0	0			0	
		0,1	1	1	2	1	5			25	
		0,15	3	3	4	4	14			70	
		0,2	5	5	5	5	20	6.81	7.02	100	
		0,25	5	5	5	5	20			100	


Elaborado por: Autoras 2010


ANEXO D

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div>UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia</div>									
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 1 de 3		
Pruebas PLOMO (Pb)												
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				MEDIDAS INICIALES		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h	
			1	2	3	4	pH	OD				
1	18-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		20-Nov-09	
		0,1	0	1	1	0	6.5	7.1	2	10		
		0,3	1	1	2	1			5	25		
		0,5	3	2	4	3			12	60		
		0,7	4	5	4	3			16	80		
		1	5	5	5	5			20	100		
2	18-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		20-Nov-09	
		0,1	0	1	0	0			1	5		
		0,3	1	2	2	1			6	30		
		0,5	4	2	3	2			11	55		
		0,7	5	5	3	2	6.79	7.23	15	75		
		1	5	5	5	5			20	100		
3	21-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		23-Nov-09	
		0,1	0	0		0			0	0		
		0,3	1	1	1	1			4	20		
		0,5	2	2	2	4			10	50		
		0,7	3	4	5	5			17	85		
		1	5	5	5	5	6.8	7.1	20	100		
4	21-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		23-Nov-09	
		0,1	0	0	1	1			2	5		
		0,3	2	1	1	2	7.1	7.29	6	25		
		0,5	3	4	3	2			12	70		
		0,7	5	4	4	3			16	85		
		1	5	5	5	5			20	100		


Elaborado por: Autoras 2010

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>								
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 2 de 3	
Pruebas PLOMO (Pb)											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				pH	OD	total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4					
5	23-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		25-Nov-09
		0,1	0	1	0	0			0	5	
		0,3	1	2	0	1	7.1	7.3	4	20	
		0,5	3	2	2	4			11	55	
		0,7	4	3	4	4			15	75	
		1	5	5	5	5			20	100	
6	23-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		25-Nov-09
		0,1	0	1	0	0			1	5	
		0,3	3	0	2	0			5	25	
		0,5	3	2	2	2			9	45	
		0,7	2	4	3	5			14	70	
		1	5	5	5	5	6.98	7.23	20	100	
7	26-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		28-Nov-09
		0,1	0	0	0	0	6.92	7.13	0	0	
		0,3	1	2	0	1			4	20	
		0,5	3	2	4	2			11	55	
		0,7	4	5	3	4			16	80	
		1	5	5	5	5			20	100	
8	26-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		28-Nov-09
		0,1	0	1	0	0			1	5	
		0,3	1	2	2	1			6	30	
		0,5	2	4	2	4	7.1	7.21	12	60	
		0,7	4	3	3	5			15	75	
		1	5	5	5	5			20	100	
Elaborado por: Autoras 2010											

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div> UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>								
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 3 de 3	
Pruebas PLOMO (Pb)											
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				pH	OD	total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h
			1	2	3	4					
9	28-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		30-Nov-09
		0,1	0	0	0	0			0	0	
		0,3	1	2	1	0	6.89	7.15	4	20	
		0,5	2	3	2	2			9	45	
		0,7	3	3	4	3			13	65	
		1	5	5	5	5			20	100	
10	28-Nov-09	Blanco	0	0	0	0			0		30-Nov-09
		0,1	0	1	1	0			2	10	
		0,3	1	2	2	1	6.97	7.2	6	30	
		0,5	2	3	3	2			10	50	
		0,7	3	4	5	3			15	75	
		1	5	5	5	5			20	100	
Elaborado por: Autoras 2010											

ANEXO E

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA			<div>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>									
LABORATORIO DE BIOENSAYOS			Reporte de datos de bioensayos							Pág. 1 de 2		
Pruebas Vertimiento Cromo Hexavalente												
No. Prueba	Fecha	[]	Replicas				Medidas iniciales		total muertos	% de mortalidad	Fecha 48h	
			1	2	3	4	pH	OD				
1	07-Dic-09	Blanco	0	0	0	0			0		09-Dic-09	
		0,1	0	1	1	0			2	10		
		0,3	1	1	2	1	7.35	2.85	5	25		
		0,5	3	2	4	3			12	60		
		0,7	4	5	4	3			16	80		
		1	5	5	5	5			20	100		
2	07-Dic-09	Blanco	0	0	0	0			0		09-Dic-09	
		0,1	0	1	0	0			1	5		
		0,3	1	2	2	1			6	30		
		0,5	4	2	3	2			11	55		
		0,7	5	5	3	2	7.4	2.8	15	75		
		1	5	5	5	5			20	100		
3	07-Dic-09	Blanco	0	0	0	0			0		09-Dic-09	
		0,1	0	0		0			0	0		
		0,3	1	1	1	1			4	20		
		0,5	2	2	2	4	7.42	2.65	10	50		
		0,7	3	4	5	5			17	85		
		1	5	5	5	5			20	100		
4	09-Dic-09	Blanco	0	0	0	0			0		11-Dic-09	
		0,1	0	0	1	1			2	5		
		0,3	2	1	1	2			6	25		
		0,5	3	4	3	2	7.45	2.62	12	70		
		0,7	5	4	4	3			16	85		
		1	5	5	5	5			20	100		
5	09-Dic-09	Blanco	0	0	0	0			0		11-Dic-09	
		0,1	0	1	0	0			0	5		
		0,3	1	2	0	1	7.38	2.71	4	20		
		0,5	3	2	2	4			11	55		
		0,7	4	3	4	4			15	75		
		1	5	5	5	5			20	100		
Elaborado por: Autoras 2010												

ANEXO F

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 2 de 10 MONTAJE 2	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	4	5	19	4,75
0.15	3	3	4	3	13	3,25
0.1	1	2	2	0	5	1,25
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	57	14,25

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	103,375	5	20,675	87,56470588	2.77
Dentro de Grupos	4,25	18	0,236111111		
Total	107,625	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandía - Yinny Montañez	
Página 3 de 10 MONTAJE 3	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	5	5	20	4,75
0.15	3	4	3	4	14	3,5
0.1	1	1	1	1	4	1
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	58	14,25

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	112,83	5	22,56666667	406,2	2.77
Dentro de Grupos	1	18	0,055555556		
Total	113,833	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 4 de 10 MONTAJE 4	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	4	5	19	4,75
0.15	3	3	4	3	13	3,25
0.1	1	2	2	0	5	1,25
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	57	14,25

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	103,375	5	20,675	87,56470588	2.77
Dentro de Grupos	4,25	18	0,236111111		
Total	107,625	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia - Yinny Montañez	
Página 5 de 20 MONTAJE 5	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	5	5	20	4,75
0.15	3	2	5	4	14	3,5
0.1	1	1	0	1	3	0,75
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	57	14

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	115,875	5	23,175	72,54782609	2.77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	121,625	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 6 de 10 MONTAJE 6	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	3	4	2	4	13	4,75
0.15	1	2	3	1	7	1,75
0.1	1	0	1	0	2	0,5
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	42	12

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	82	5	16,4	45,41538462	2.77
Dentro de Grupos	6,5	18	0,361111111		
Total	88,5	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia - Yanny Montañez	
Página 7 de 10 MONTAJE 7	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	5	4	19	4,75
0.15	3	3	4	5	15	3,75
0.1	1	2	0	1	4	1
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	58	14,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	110,3333333	5	22,06666667	72,21818182	2.77
Dentro de Grupos	5,5	18	0,305555556		
Total	115,8333333	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 8 de 10 MONTAJE 8	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	5	5	20	4,75
0.15	2	5	2	4	13	3,25
0.1	1	1	0	1	3	0,75
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	56	13,75

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	113,8333333	5	22,76666667	54,64	2.77
Dentro de Grupos	7,5	18	0,416666667		
Total	121,3333333	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia - Yanny Montañez	
Página 9 de 10 MONTAJE 9	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	5	5	20	4,75
0.15	3	4	3	3	13	3,25
0.1	1	1	4	0	6	1,5
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	59	14,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	106,2083333	5	21,24166667	39,21538462	2.77
Dentro de Grupos	9,75	18	0,541666667		
Total	115,9583333	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con cromo hexavalente Cr⁺⁶ Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 10 de 10 MONTAJE 10	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de cromo hexavalente Cr⁺⁶

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.25	5	5	5	5	20	5
0.2	5	5	5	5	20	4,75
0.15	3	3	4	4	14	3,5
0.1	1	1	2	1	5	1,25
0.05	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	59	14,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	110,2083333	5	22,04166667	226,7142857	2.77
Dentro de Grupos	1,75	18	0,097222222		
Total	111,9583333	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

ANEXO H

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 1 de 10 MONTAJE 1	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	4	5	4	3	16	4
0.5	3	2	4	3	12	3
0.3	1	1	2	1	5	1,25
0.1	0	1	1	0	2	0,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	55	

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,20833333	5	16,24166667	50,84347826	2,77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	86,95833333	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 3 de 10 MONTAJE 3	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	3	4	5	5	17	4,25
0.5	2	2	2	4	10	2,5
0.3	1	1	1	1	4	1
0.1	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	51	12,75

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	92,88	5	18,575	58,14782609	2.77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	98,625	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia - Yanny Montañez	
Página 4 de 10 MONTAJE 4	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	5	5	3	2	15	4
0.5	4	2	3	2	11	2,75
0.3	1	2	2	1	6	1,5
0.1	0	1	0	0	1	0,25
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	53	13,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	78,70833333	5	15,74166667	25,18666667	2.77
Dentro de Grupos	11,25	18	0,625		
Total	89,95833333	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 5 de 10 MONTAJE 5	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	3	4	5	5	17	4,25
0.5	2	2	2	4	10	2,5
0.3	1	1	1	1	4	1
0.1	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	51	12,75

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	92,88	5	18,575	58,14782609	2.77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	98,625	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia - Yinyi Montañez	
Página 6 de 10 MONTAJE 6	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	4	3	4	4	15	4
0.5	3	2	2	4	11	2,75
0.3	1	2	0	1	4	1
0.1	0	1	0	0	1	0,25
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	51	13

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	82,375	5	16,475	47,448	2.77
Dentro de Grupos	6,25	18	0,347222222		
Total	88,625	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 7 de 10 MONTAJE 7	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	4	5	3	4	16	4
0.5	3	2	4	2	11	2,75
0.3	4	5	3	4	16	4
0.1	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	63	15,75

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	92,875	5	18,575	49,53333333	2.77
Dentro de Grupos	6,75	18	0,375		
Total	99,625	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con plomo (Pb) Lina M. Velandia – Yinny Montañez	
Página 9 de 10 MONTAJE 9	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	3	3	4	3	13	3,25
0.5	2	3	2	2	9	2,25
0.3	1	2	1	0	4	1
0.1	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	46	11,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos


Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	78,33333333	5	15,66666667	80,57142857	2.77
Dentro de Grupos	3,5	18	0,194444444		
Total	81,83333333	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07

REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA)
Prueba de sensibilidad con plomo (Pb)
 Lina M. Velandia - Yinyi Montañez

Página 10 de 10
MONTAJE 10

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad de plomo (Pb)

concentración	Número de réplicas				Total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1.0	5	5	5	5	20	5
0.7	3	4	5	3	15	4
0.5	2	3	3	2	10	2,5
0.3	1	2	2	1	6	1,5
0.1	0	1	1	0	2	0,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	53	13,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	74,20833333	5	14,84166667	46,46086957	2.77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	79,95833333	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

ANEXO I


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con la muestra ambiental (cromo hexavalente) Lina M. Velandía - Yiny Montañez	
Página 1 de 5 MONTAJE 1	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad con la muestra ambiental (Cr⁺⁶)

concentración nominal %	Número de réplicas				Total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
10	5	5	5	5	20	5
5.0	4	5	5	5	19	4,75
1.0	4	5	3	3	15	3,75
0.5	3	4	2	2	11	2,75
0.1	2	1	2	2	7	1,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	72	18

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H₀: las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H₁: las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

Tratamientos	6
observaciones	4
Total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	73	5	14,6	37,54285714	2,77
Dentro de Grupos	7	18	0,388888889		
Total	80	23			

Como podemos observar el F Calculado > F Teórico, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con la muestra ambiental (cromo hexavalente) Lina M. Velandia - Yinny Montañez	
Página 2 de 5 MONTAJE 2	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad con la muestra ambiental (Cr^{+6})

concentración nominal %	Número de réplicas				Total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
10	5	5	5	5	20	5
5.0	5	5	5	4	19	4,75
1.0	3	3	4	5	15	3,75
0.5	3	3	4	3	13	3,25
0.1	2	1	1	1	5	1,25
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	72	18

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

Tratamientos	6
observaciones	4
Total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	79	5	15,8	56,88	2.77
Dentro de Grupos	5	18	0,277777778		
Total	84	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.


DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con la muestra ambiental (cromo hexavalente) Lina M. Velandía - Yinyi Montañez	
Página 3 de 5 MONTAJE 3	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad con la muestra ambiental (Cr^{+6})

concentración nominal %	Número de réplicas				Total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
10	5	5	5	5	20	5
5.0	5	5	5	5	20	4,75
1.0	4	3	4	5	16	4
0.5	4	2	3	2	11	2,75
0.1	2	2	1	1	6	1,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	73	18

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

Tratamientos	6
observaciones	4
Total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,21	5	16,24166667	50,84347826	2.77
Dentro de Grupos	5,75	18	0,319444444		
Total	86,958	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

*Determinación de la concentración letal media (CL_{50-48}) del plomo y cromo hexavalente mediante bioensayos de toxicidad acuática utilizando *Daphnia pulex**

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con la muestra ambiental (cromo hexavalente) <i>Lina M. Velandia - Yinny Montañez</i>	
<div> <div> REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con la muestra ambiental (cromo hexavalente) <i>Lina M. Velandia - Yinny Montañez</i> </div> <div> <i>Página 4 de 5</i> MONTAJE 4 </div> </div>	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad con la muestra ambiental (Cr^{+6})

concentración noinal %	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
10	5	5	5	5	20	5
5.0	5	5	5	5	20	4,75
1.0	4	3	3	2	12	3
0.5	3	4	2	3	12	3
0.1	2	1	1	2	6	1,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	70	17,25

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

Tratamientos	6
observaciones	4
Total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	76,83333333	5	15,36666667	55,32	2.77
Dentro de Grupos	5	18	0,28		
Total	81,83333333	23			

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA) PROTOCOLO LB07
REGISTRO DE DATOS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) Prueba de toxicidad con la muestra ambiental (cromo hexavalente) Lina M. Velandía - Yanny Montañez	
Página 5 de 5 MONTAJE 5	

Tabla No1. Formato pruebas de toxicidad con la muestra ambiental (Cr^{+6})

concentración nominal %	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
10	5	5	5	5	20	5
5.0	5	5	5	5	20	4,75
1.0	4	4	5	3	16	4
0.5	3	4	2	3	12	3
0.1	2	2	1	2	7	1,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	75	18,5

De la cual partimos de dos hipótesis, a saber :

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,875	5	15,575	59,02105263	2.77
Dentro de Grupos	4,75	18	0,263888889		
Total	82,625	23			

H_0 : las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos

H_1 : las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos

Teniendo en cuenta que tenemos

Tratamientos	6
observaciones	4
Total	24

podemos construir la tabla No. 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Como podemos observar el $F \text{ Calculado} > F \text{ Teórico}$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos.

ANEXO J

