

Universidad de La Salle

**Ciencia Unisalle**

---

Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Facultad de Ingeniería

---

1-1-2008

## **Determinación de la concentración letal media (CL50-48) de *Daphnia pulex* por medio de bioensayos de toxicidad acuática con aluminio y plata**

Julie Andrea Alarcón Orjuela  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Liz Natalia Ardila Amaya  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria)

---

### **Citación recomendada**

Alarcón Orjuela, J. A., & Ardila Amaya, L. N. (2008). Determinación de la concentración letal media (CL50-48) de *Daphnia pulex* por medio de bioensayos de toxicidad acuática con aluminio y plata. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria/263](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/263)

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](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DE *DAPHNIA*  
*PULEX* POR MEDIO DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA CON ALUMINIO Y  
PLATA

JULIE ANDREA ALARCON ORJUELA  
LIZ NATALIA ARDILA AMAYA

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA  
BOGOTÁ DC.

2008

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DE *DAPHNIA PULEX* POR MEDIO DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA CON ALUMINIO Y  
PLATA

JULIE ANDREA ALARCON ORJUELA  
LIZ NATALIA ARDILA AMAYA

Tesis para optar al grado de Ingeniero Ambiental y Sanitario

Director  
PEDRO MIGUEL ESCOBAR MALAVER  
QUÍMICO INDUSTRIAL

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA  
BOGOTÁ DC.

2008

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DE *DAPHNIA PULEX* POR MEDIO DE BIOENSAYOS  
DE TOXICIDAD ACUÁTICA CON ALUMINIO Y PLATA

---

Nota de aceptación

---

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

Bogotá, 13 de Marzo de 2008

---

*Julie Andrea Alarcón Orjuela*  
*Liz Natalia Ardila Amaya*

## DEDICATORIA

Fue un trabajo que costó mucho, de tiempo, dedicación, esfuerzo, ilusiones, problemas, paciencia, humildad y muchas cosas más en las cuales no solo se aumento el conocimiento, si no que de igual forma se paso por el fuego circunstancias que dejaron enseñanzas buenas y las regulares.

Ante todo dedico este logro a todas las personas que amo con todo mi corazón, mi familia y a quien es dueño de él; mi padre celestial, gracias lo logre.

Gracias a todos aquellos que me colaboraron con lo más simple de este documento y me apoyaron cuando pensé que no podía, les debo un regalito con moño en la puerta, gracias a quienes trabajaron tan fuerte para cumplir el deseo de su corazón de ver a su hija como una ingeniera, gracias papas; a quien me apoyo durante toda la carrera mi hermana, a mi compañera fiel durante tantos semestres de intenso estudio gracias mogo, en fin a todos aquellos que aunque no lean esto, les deseo miles de bendiciones por acompañarme en este paso de la vida.

Liz Natalia Ardila

Gracias a Dios, a mis padres, familiares y a todos aquellos de una u otra forma me acompañaron a lo largo de esta carrera, apoyándome y brindándome lo mejor. Gracias a todos por haberme permitido lograr uno de mis más grandes sueños.

Julie Andrea Alarcon

## CONTENIDO

	Pag.
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>1.OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS. ....	19
<b>2.MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>20</b>
2.1 ECOSISTEMAS ACUÁTICOS.....	20
2.1.1 Organismos y organismos acuáticos.....	20
2.1.1.1 Bentos. ....	20
2.1.1.2 Plancton.....	21
2.1.1.3 Necton. ....	21
2.1.1.4 Neuston. ....	22
2.1.1.5 Seston.....	22
2.1.2 Tipos de ecosistemas.....	22
2.1.2.1 Ecosistemas lenticos o estancados.....	22
2.1.2.2 Ecosistemas lóticos. ....	22
2.1.2.3 Ecosistema de humedal. ....	22
2.1.3 Factores ambientales acuáticos. ....	23
2.2 <i>Daphnia pulex</i> .....	24
2.2.1 Morfología.....	25
2.2.2 Alimentación .....	26
2.2.3 Reproducción. ....	27
2.2.4 Ciclo biológico de <i>Daphnia pulex</i> . ....	28
2.2.5 Condiciones ideales de mantenimiento de cultivo a nivel de laboratorio. ....	29
<b>2.3 BIOENSAYOS .....</b>	<b>30</b>
2.3.1 Tipos de bioensayos.....	31
2.3.1.1 Ensayos de respuesta directa. ....	31
2.3.1.2 Bioensayos de respuesta indirecta.....	34

2.3.2 Índices de toxicidad. ....	34
2.3.3 Selección de especie.....	35
2.3.4 Análisis estadísticos. ....	37
2.3.5 Metodología para aplicación de métodos Estadísticos.....	38
2.3.5.1 Diseño de experimentos. ....	39
2.3.5.2 Diseño y ejecución de los ensayos de toxicidad-fuentes de variación. ....	39
2.3.5.3 Análisis de resultados.....	39
2.3.6 Métodos Estadísticos. ....	40
2.3.6.1 Método Probit (paramétrico). ....	40
2.3.6.2 Método de Litchfield-Wilcoxon (gráfico).....	41
2.3.6.3 Método de Sperman-Karber (no paramétrico).....	41
2.3.6.4 Método gráfico. ....	41
2.3.7 Establecimiento de una relación dosis-respuesta. ....	42
2.4 METALES PESADOS .....	42
2.4.1. Toxicidad. ....	44
2.4.2 Aluminio.....	44
2.4.2.1 Riesgos para la salud humana. ....	45
2.4.2.2 Efectos Ambientales. ....	46
2.4.3 Plata. ....	47
2.4.3.1 Propiedades Fisicoquímicas.....	49
2.4.3.2 Efectos de la plata sobre la salud humana.....	50
2.4.3.3 Efectos Ambientales de la Plata en organismos. ....	50
2.4.3.4 Fuente de exposición ambiental de la plata. ....	51
2.4.3.5 Toxicidad en organismos acuáticos y <i>Daphnia</i> . ....	52
2.5 ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA METALES PESADOS.....	54
2.5.1 Precipitación.....	55
2.5.1.1 Coagulación y floculación.....	55
2.5.2 Osmosis inversa. ....	56
2.6 INDUSTRIA GALVANOTECNIA.....	58
2.6.1 Descripción del proceso. ....	58

A continuación se presenta un cuadro en el cual se presenta el proceso que de galvanotecnia: .....	58
2.6.1.1 Desengrase. ....	59
2.6.1.2 Desengrase ácido.....	60
2.6.1.3 Desengrase alcalino. ....	60
2.6.1.4 Desengrase decapante.....	60
2.6.1.5 Mantenimiento de la capacidad del baño de decapado. ....	61
2.6.1.6 Desgalvanizado. ....	61
2.6.1.7 Segundo Lavado.....	62
2.6.1.8 Mordentado.....	62
2.6.1.9 Resumen de la secuencia de operación óptima. ....	62
2.6.2 Impacto ambiental que produce la galvanotecnia .....	63
<b>3. INDUSTRIAS EVALUADAS .....</b>	<b>65</b>
3.1 ALFACROM LTDA. ....	65
3.2 CORINTER S.A.....	68
<b>4. METODOLOGÍA .....</b>	<b>73</b>
4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL .....	73
4.2 PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUIDA.....	75
4.3 PREPARACIÓN DEL MEDIO BRISTOL Y CONCENTRACIONCENTRIFUGACIÓN DE ALGAS VERDES <i>Selenastrum Capricornutum</i> , <i>Scenedesmus Quadricauda</i> .....	77
4.4 ALIMENTACIÓN DE ORGANISMOS PRUEBA.....	79
4.5 ACLIMATACIÓN DE LOS ORGANISMOS PRUEBA.....	81
4.6 MANTENIMIENTO DEL CULTIVO DE LOS ORGANISMOS <i>DAPHNIA PULEX</i> . ..	81
4.6.1 Separación de organismos.....	84
4.8 FASE PRUEBAS DE TOXICIDAD. ....	85
4.8.1 Preparación de soluciones. ....	85
4.8.2 Montaje de las pruebas de toxicidad (bioensayos). ....	86
4.8.3 Pruebas de toxicidad, sensibilidad con el tóxico de referencia Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ). ....	88
4.8.4 Pruebas preliminares de toxicidad con Aluminio y Plata.....	89
4.8.4.1 Pruebas preliminares de toxicidad con Aluminio.....	89



4.8.4.2 Pruebas preliminares de toxicidad con Plata.....	90
4.8.5 Pruebas definitivas con Aluminio y Plata.....	90
4.8.5.1 Pruebas definitivas con Aluminio.....	90
4.8.5.2 Pruebas definitivas con Plata. ....	91
4.8.6 Toma y preservación de muestras ambientales para los ensayos de toxicidad. .....	91
4.8.7 Análisis fisicoquímicos a los vertimientos.....	92
4.8.8 Pruebas definitivas con el vertimiento de aluminio y plata. ....	93
4.9 RESULTADOS FISICOQUÍMICOS FINALES.....	93
4.10 OBTENCIÓN DE RESULTADOS.....	94
4.11 OBTENCIÓN DEL ÍNDICE TOXICOLÓGICO. ....	94
4.12 INDICE TOXICOLÓGICO DEL VERTIMIENTO.....	95
4.13 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	95
<b>5. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>97</b>
5.1 ENSAYOS DE SENSIBILIDAD CON DICROMATO DE POTASIO $K_2Cr_2O_7$ .....	97
5.2 ENSAYOS CON EL TÓXICO ALUMINIO (Al) .....	100
5.3 ENSAYO CON EL TÓXICO DE PLATA .....	104
5.4 ENSAYOS DEFINITIVOS CON EL VERTIMIENTO DE ALUMINIO Y PLATA, Y OBTENCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA $CL_{48}^{50}$ .....	106
5.4.1 Ensayos de aluminio .....	106
5.4.2 Ensayo de Plata (Ag).....	109
5.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS PRUEBAS DEFINITIVAS DE ALUMINIO CON LA SUSTANCIA PURA Y ALUMINIO Y PLATA EN EL VERTIMIENTO. ....	112
5.5.1 Análisis de varianza de Aluminio con la sustancia pura. ....	112
5.5.2 Análisis de varianza de las pruebas definitivas del vertimiento de Aluminio...	113
5.5.3 Análisis de varianza de las pruebas definitivas del vertimiento de Plata.....	113
5.6 CARACTERIZACIÓN DEL VERTIMIENTO.....	114
5.6.1 Análisis fisicoquímico del vertimiento. ....	114
5.7 OBTENCIÓN DE LA CARGA TÓXICA E INDICE TOXICOLÓGICO .....	115
5.7.1 Obtención Carga Tóxica e índice toxicológico de la muestra de aluminio. ....	115

5.8 COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON OTRAS PRUEBAS DE TOXICIDAD REALIZADOS EN EL EXTERIOR Y EN COLOMBIA.....	116
5.9 ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO .....	118
5.9.1.1 Precipitación Aluminio .....	121
5.9.1.2 Precipitación Plata .....	121
5.9.2. Tratamiento para remoción de metales pesados elegido.....	122
5.10.3. Recuperación electrolítica .....	125
5.10.4 Diseño Planta de Tratamiento .....	126
5.10.4.1 Clarifloculador.....	126
5.10.4.2. Floculador .....	128
5.10.4.3 Filtros .....	130
<b>CONCLUSIONES</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>135</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	
<b>RECOMENDACIONES</b>	

## LISTA DE GRÁFICAS

	Pag.
Grafica 1. Pruebas de sensibilidad con Dicromato de potasio.....	99
Grafica 2. Concentración letal media del Aluminio.....	103
Grafica 3. Concentración letal media del vertimiento de Aluminio. ....	108
Grafica 4. Concentración letal media del vertimiento de Plata.....	111

## LISTA DE ILUSTRACIONES

	Pag.
Ilustración 1. <i>Daphnia pulex</i> .....	25
Ilustración 2. Morfología de la <i>Daphnia pulex</i> .....	26
Ilustración 3. Hembra y macho. <i>Daphnia pulex</i> .....	26
Ilustración 4. Reproducción <i>Daphnia pulex</i> .....	27
Ilustración 5. Hembra <i>Daphnia pulex</i> en gestación.....	28
Ilustración 6. Ciclo de vida .....	29
Ilustración 7. Redistribución natural de los metales.....	43
Ilustración 8. Esquema de Coagulación / Floculación / Sedimentación.....	56
Ilustración 9. Osmosis inversa.....	57
Ilustración 10: Localización ALFACROM LTDA .....	65
Ilustración 11. Diagrama de flujo industria galvánica .....	67
Ilustración 12. PTAR, Alfacrom LTDA .....	67
Ilustración 13. PTAR, Alfacrom LTDA. Sedimentador.....	67
Ilustración 14. PTAR, Alfacrom LTDA. Filtros de carbón activado .....	67
Ilustración 15. CORINTER S.A.....	68
Ilustración 16. Localización CORINTER S.A.....	68
Ilustración 17. Suspensiones Concentradas.....	69
Ilustración 18. Suspensiones concentradas de Hidroxido de aAluminio.....	70
Ilustración 19. Suspensiones concentradas de Hidroxido de Magnesio.....	71
Ilustración 20. Suspencines concentradas de Hidroxido de Aluminio e Hidroxido de Magnesio Comezclados .....	72
Ilustración 21. Montaje de pruebas de toxicidad .....	74

Ilustración 22. Montaje medio Bristol para algas verdes.....	79
Ilustración 23. Cámara de Neubauer.....	81
Ilustración 24. Mantenimiento de cultivos de <i>Daphnia pulex</i> .....	82
Ilustración 25. Separación y mantenimiento de organismos prueba.....	83
Ilustración 26. Temporizador.....	84
Ilustración 27. Lectura de organismos muertos.....	86
Ilustración 28. Formato del registro de resultados.....	87
Ilustración 29. Pruebas de Dicromato de Potasio.....	99
Ilustración 30. Variación de concentraciones.....	101
Ilustración 31. Prueba de toxicidad con aluminio.....	104
Ilustración 32. Electrolisis.....	123
Ilustración 33. Cátodo cilíndrico.....	123
Ilustración 34. Cátodo de forma de discos.....	123
Ilustración 35. Proceso de electrolisis.....	124
Ilustración 36. Raspado de la plata depositada en el cátodo.....	124
Ilustración 37. Horno de fundición de plata.....	125

## LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Soluciones de reactivos para agua reconstituida .....	75
Tabla 2. Forma de preparación de agua reconstituida.....	76
Tabla 3. Formato de control del agua reconstituida.....	76
Tabla 4. Parámetros de control a evaluar en el agua reconstituida.....	77
Tabla 5. Preparación del medio Bristol.....	77
Tabla 7. Concentración letal media de Dicromato de Potasio.....	98
Tabla 8. Sensibilidad con Dicromato de Potasio.....	100
Tabla 9. Concentraciones de Sulfato de Aluminio.....	101
Tabla 10. Concentración letal media de Aluminio.....	102
Tabla 11. Concentraciones del vertimiento de Aluminio.....	106
Tabla 12. Rango de concentración del vertimiento de Aluminio.....	107
Tabla 13. Concentración letal media del vertimiento de Aluminio.....	108
Tabla 14. Rango de concentraciones del vertimiento de Plata.....	110
Tabla 15. Concentración letal media del vertimiento de Plata.....	110
Tabla 16. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de Aluminio.....	112
Tabla 17. F calculado vs F teórico. Vertimiento de aluminio.....	113
Tabla 18. F calculado vs F teórico. Vertimiento de Plata.....	114
Tabla 19. Análisis fisicoquímicos realizados a la muestra de Plata.....	115
Tabla 20. Análisis fisicoquímicos realizados a la muestra de Aluminio.....	115
Tabla 21. Análisis fisicoquímicos realizados a la muestra tratada de Aluminio y Plata ..	115
Tabla 22. Valores comparativos de la con especies de Daphnias expuestos a toxicos que contiene plata en el exterior.....	116
Tabla 23. Valores comparativos de la con especies de Daphnias expuestos a plata en Colombia.....	117

Tabla 24. Valores comparativos de la    con especies de Daphnias expuestos a aluminio en el exterior.....	117
Tabla 25. Valores comparativos de la    con especies de Daphnias expuestos a aluminio en Colombia. ....	118

## LISTA DE CUADROS

Pag.

Cuadro 1. Factores ambientales acuáticos. ....	23
Cuadro 2. Condiciones ideales de mantenimiento de la <i>Daphnia pulex</i> a nivel laboratorio. .....	29
Cuadro 3. Tipos de bioensayos respuesta directa. ....	32
Cuadro 4. Tipos de bioensayos de respuesta indirecta. ....	34
Cuadro 5. Índices de toxicidad. ....	34
Cuadro 6. Adaptabilidad de los organismos como especies de bioensayos.....	36
Cuadro 7. Modelos matemáticos.....	38
Cuadro 8. Propiedades de la plata y algunas de sus sales.....	49
Cuadro 9. El proceso de tratamiento superficial.....	59
Cuadro 10. Variables a medir y a controlar .....	73
Cuadro 11. Resumen de las condiciones recomendadas para el mantenimiento de cultivos de <i>Daphnia pulex</i> . ....	84
Cuadro 12. Diagrama de flujo pruebas de toxicidad .....	89
Cuadro 13. Análisis fisicoquímicos.....	92
Cuadro 14. Rangos de índices toxicológicos. ....	95
Cuadro 15 . Metodología para la determinación de la concentración letal media.....	96
Cuadro 16. Comparación de alternativas de manejo .....	119



## RESUMEN

Con la presente investigación se determinó la concentración letal media del aluminio y la plata mediante la utilización de organismos acuáticos como *Daphnia pulex* (neonatos de 6-24 horas de nacido), ya que son organismos representativos de la cadena trófica y presentan alta sensibilidad a numerosos compuestos químicos. La determinación, se realizó por medio de pruebas de toxicidad, en un período de 48 horas (tiempo manejado por el ciclo de vida de la *Daphnia pulex*), para calcular la concentración del tóxico que produce la muerte al 50% de la población expuesta en este tiempo; estas, se expresaron como la concentración letal media, estableciendo sus límites superiores e inferiores.

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de bioensayos de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. El procedimiento que se utilizó para la estandarización de esta fue: preparación del agua reconstituida, preparación del medio Bristol, captura y aclimatación de los organismos prueba, mantenimiento de cultivos, preparación de soluciones prueba, toma y preservación de muestras ambientales para la realización de los ensayos de toxicidad, montaje de ensayos toxicológicos, sensibilidad real de la *Daphnia pulex*, aceptabilidad de los resultados y estimación de la concentración letal media

Se manejaron y validaron procedimientos establecidos por CETESB (Compañía de Tecnología y Saneamiento ambiental de Sao Paulo, Brasil), y se trabajó con programas estadísticos como el Probit y análisis de varianza que son utilizados en pruebas de toxicidad para los ensayos agudos estáticos.

Una vez concluida la investigación se establecieron los valores y/o rangos del aluminio (oscilaron entre 5.1109 mg/l – 1.8969mg/l y un valor promedio de 2.98 mg/l) y los rangos y/o valores de la muestra ambiental que contiene trazas de este (oscilaron entre 3.85 % v/m – 7.426 % v/m y un valor promedio de 0.0398 % v/m) y el valor promedio de plata de la CL 50-48 es menor a  $4.5 \times 10^{-8}$  mg/l y/o los valores del vertimiento q contiene la muestra ambiental de plata (oscilaron entre  $4,9 \times 10^{-08}\%$  v/m –  $5,4 \times 10^{-7}\%$  v/m y un valor promedio de  $4,5 \times 10^{-08}\%$  v/m)

---

Julie Andrea Alarcón Orjuela

Liz Natalia Ardila Amaya

## ABSTRACT

With the present investigation the lethal concentration was determined average of Aluminium and Silver by means of the use of aquatic organisms like *Daphnia pulex* (neoborn of 6-24 hours of been born), since they are representative organisms of the trófica chain and present/display numerous discharge sensitivity to compound chemistries. The determination, was made by means of toxicity tests, in a period of 48 hours (time handled by the service life of the *Daphnia pulex*), to calculate the concentration of the toxic that produces the death to 50% of the population exposed in this time; this, expressed like the lethal concentration average, establishing its limits superior and inferior. The investigation of the zone of bioassay, in the laboratory of the Faculty of Environmental and Sanitary Engineering. The procedure that was used for the standardization of this was: Preparation of the reconstituted water, Preparation of the average Bristol board, Capture and acclimatization of the organisms proves, Maintenance of cultures, Preparation of solutions proves, Taking and preservation of environmental samples for the accomplishment of the toxicity tests, Assembly of toxicity tests, real Sensitivity of the *Daphnia pulex*, Acceptability of the results and estimation of the lethal concentration average. Procedures established by CETESB were handled and validated (Company of Technology and environmental Cleaning of Sao Paulo, Brazil), and worked with statistical programs like the Probit and analyses of variance that are used in tests of toxicity for the static acute tests. Once concluded the investigation the values and/or ranks of Aluminum settled down (oscillated between 5.1109 mg/l – 1.8969mg/l and a value average of (2.98 mg/) and the ranks and/or values of the environmental sample that contains plans of this (they oscillated between 3.85 % v/m – 7.426 % v/m and a value average of 0.0398 % v/m)

## INTRODUCCIÓN

Los Ensayos de toxicidad se iniciaron como medio para conocer los efectos en los ecosistemas, frente a la presencia de sustancias altamente tóxicas. Estos han sido estandarizados por organizaciones internacionales de regulación y control (CEE, ASTM, ISO, WHO, USEPA, CETESB) que las utilizan en la evaluación de la carga tóxica de vertimientos al medio acuático

Los metales pesados son elementos químicos altamente contaminantes, por ello, la necesidad de controlarlos, ya que causan algunos de los problemas ambientales graves; la exposición a metales pesados en determinadas concentraciones es la causa de la degradación y muerte de vegetación, ríos, animales e incluso, de daños directos en el hombre.

La actividad humana produce gran variedad de desechos que son liberados a los ambientes terrestres, aéreos y acuáticos, generando un posible desequilibrio en los ecosistemas y más si el vertimiento presenta concentraciones difíciles de autodepurar por el sistema natural, provocan deterioro y la muerte de los componentes bióticos que en él se encuentran.

El proyecto se enfoca en identificar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) que cause la muerte al 50% de la población experimental *Daphnia pulex*, utilizando una herramienta científica reconocida a nivel mundial como lo son los bioensayos.

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, los cuales se utilizan para el estudio de los agentes tóxicos, como los metales pesados, de origen antropogénico en los ecosistemas acuáticos y terrestres.

## 1.OBJETIVOS

### 1.1 OBJETIVO GENERAL.

- ♦ Determinar la concentración letal media  $CL_{48}^{50}$  de *Daphnia pulex* por medio de bioensayos de toxicidad acuática con aluminio y plata

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ♦ Caracterizar los vertimientos de las industrias donde se generan contaminantes tóxicos como el aluminio y la plata.
- ♦ Estabilizar la población neonatal de los organismos invertebrados *Daphnia pulex* en condiciones de laboratorio para facilitar el desarrollo del proyecto.
- ♦ Determinar la sensibilidad de los organismos mediante la utilización de Dicromato de Potasio.
- ♦ Plantear una alternativa de tratamiento, para la reducción de toxicidad por aluminio y plata presente en los vertimientos de las industrias de galvanotécnica y producción de hidróxido de aluminio.

## 2.MARCO TEÓRICO

### 2.1 ECOSISTEMAS ACUÁTICOS.

Los cuerpos de agua como ríos, lagos, pantanos y otras fuentes acuáticas son ecosistemas acuáticos. Los dos tipos más destacados son: los ecosistemas marinos, y los ecosistemas de agua dulce.

Un ecosistema está compuesto por componentes físicos como el aire, el agua, el suelo, el viento y la temperatura, llamados factores abióticos y los seres vivos que conforman los factores bióticos. Cada uno de los componentes bióticos son llamados individuos que al vivir en grupos de la misma especie forman una población, la cual reside en un hábitat con otras poblaciones relacionándose entre ambas en forma equilibrada, a esto se lo denomina comunidades biológicas. Para formar un verdadero ecosistema debe existir una interacción tanto entre los factores abióticos y bióticos como entre los bióticos entre sí<sup>1</sup>.

#### 2.1.1 Organismos y organismos acuáticos.

En los ecosistemas acuáticos existen grandes variedades de organismos con características especiales que les permiten adaptarse al medio donde viven. Podemos encontrar tres grupos muy importantes el bentos, el plancton y el necton.

##### 2.1.1.1 Bentos.

Son los organismos que se fijan en el fondo, como las plantas a través de sus raíces, los mejillones con filamentos pegajosos, las estrellas de mar utilizando sus pequeños pies, los corales y las anémonas que lo hacen con un disco basal. En este grupo también se encuentra los que se arrastran como los tiburones y rayas, caracoles con un pie musculoso y los lenguados<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> MARCANO, José E. Educación Ambiental; Elemento de ecología; Ecología de las aguas dulces 2° parte; clasificación ecológica de los organismos de agua dulce y comunidades del medio acuático. (libro en línea), consultado febrero de 2007. Disponible en Internet <<http://www.jmarcano.com/nociones/fresh2.html>> Párrafo 4, 5

<sup>2</sup> Ibid., p.1

#### 2.1.1.2 Plancton.

Es un grupo que se caracteriza por su diminuto tamaño, viven arrastrados por la corriente o suspendidos. Este se divide en dos subgrupos muy diferenciados: el fitoplancton y el zooplancton.

##### *Fitoplancton o plancton vegetal.*

Se le llama al conjunto de los organismos acuáticos autótrofos, que tienen capacidad fotosintética y que viven dispersos en el agua. Forman parte de este grupo muchos seres tradicionalmente considerados algas. Actualmente, estos organismos se encuentran clasificados como bacterias - las algas verdeazuladas - o como Protistas. Uno de los grupos más importantes, por su abundancia y diversidad, es el de las diatomeas, organismos microscópicos con pigmentos amarillo-dorados <sup>3</sup>.

##### *Zooplancton.*

Es la fracción del plancton constituida por seres que se alimenta de materia orgánica ya elaborada, por ingestión. Está constituido por protistas diversos, fagótrofos que engloban el alimento fagocitándolo. También por larvas de esponjas, gusanos, equinodermos, moluscos, crustáceos y de otros artrópodos acuáticos.

Son heterótrofos que en la cadena trófica ocupan las primeras posiciones de consumidores, alimentándose de los productores primarios (componentes del fitoplancton), de organismos descomponedores, como bacterias, o de otros componentes del zooplancton. Algunos se alimentan de residuos orgánicos. Integrantes del zooplancton son los copépodos, los cladóceros y rotíferos entre otros.

#### 2.1.1.3 Necton.

Es otro grupo importante que tiene como característica desplazarse por sus propios medios superando la resistencia del agua. Estos organismos también tienen estructuras especiales como los peces que tienen aletas, anal, caudal, pectorales y pélvicas que les permiten desplazarse con agilidad, también tienen opérculos para proteger las branquias,

---

<sup>3</sup> Ibid., Párrafo 4, 5

una vejiga natatoria para reducir su peso y un cuerpo aplanado. Los tiburones y las rayas también pertenecen a éste grupo, ellos tienen a diferencia de los peces reservas de aceite en el hígado y un esqueleto cartilaginoso que le sirve para alivianar su cuerpo<sup>4</sup>.

#### 2.1.1.4 Neuston.

Pertenecen los organismos que nadan o "caminan" sobre la superficie del agua. La mayoría son insectos. En la superficie de las aguas dulces, principalmente en aguas lénticas o estancadas, viven o se trasladan por la película superficial algunas especies, principalmente de especies, entre los cuales se encuentran los escarabajos (Coleópteros), arácnidos, entre otros.

#### 2.1.1.5 Seston.

Es un término adoptado recientemente y se aplica a la mezcla heterogénea de organismos vivientes y no vivientes que flotan sobre las aguas.

#### 2.1.2 Tipos de ecosistemas.

Partiendo del movimiento del agua, se acuerda una división de los ecosistemas de agua dulce. Esta división tiene relevancia tanto para estudiar la naturaleza como para la explotación y gestión de las aguas interiores.

##### 2.1.2.1 Ecosistemas lénticos o estancados.

Comprenden todas las aguas en las que no se presentan un flujo continuo de corriente. A este grupo pertenecen los lagos, lagunas, charcas y pantanos. En estos sistemas, según su tamaño, puede haber movimientos de agua.

##### 2.1.2.2 Ecosistemas lóticos.

Incluyen todas las masas de agua que se mueven continuamente en una misma dirección. Este sistema comprende: los manantiales, barrancos, riachuelos y ríos.

##### 2.1.2.3 Ecosistemas de humedal.

Áreas donde el suelo está saturado de agua o inundado por una parte del año.

---

<sup>4</sup> Ibíd. Párrafo 3 y 4

### 2.1.3 Factores ambientales acuáticos.

Cuadro 1. Factores ambientales acuáticos.

FACTOR AMBIENTAL	CARACTERÍSTICAS
Temperatura	<p>Determina la densidad, viscosidad y movimiento del agua.</p> <p>Influye en la periodicidad y reproducción de los organismos ya que posee ciertas propiedades térmicas que son:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Calor específico.</li> <li>• Calor latente de fusión</li> <li>• Conductividad térmica</li> <li>• Calor latente de evaporación</li> </ul>
Iluminación	<p>La radiación solar puede penetrar hasta determinadas profundidades, dependiendo de la turbiedad y algunos otros elementos suspendidos en el cuerpo de agua. Lo que nos regula el proceso de la fotosíntesis que realiza las plantas acuáticas y el fitoplancton.</p>
Gases disueltos	<p>El oxígeno es el elemento de mayor importancia en el sistema acuático ya que sus concentraciones constituyen con frecuencia factores limitantes.</p> <p>También existen otros gases como el anhídrido sulfuroso, que es muy venenoso y constituye un factor limitante cuando se acumula en aguas estancadas ricas en restos orgánicos.</p>
Sales minerales	<p>Las sales minerales más abundantes son los carbonatos, los sulfatos y los cloruros. Los cationes de mayor importancia son el calcio (64%), el magnesio (17%), el sodio (16%) y el potasio (3%).</p> <p>El calcio juega un papel fundamental, ya que determina dos diferentes tipos de agua: a) aguas duras, cuando la concentración de calcio es</p>



FACTOR AMBIENTAL	CARACTERÍSTICAS
	<p>inferior a 25 mg por litro; b) aguas blandas, cuando la concentración de calcio es inferior a 9 mg por litro. Muchos moluscos, crustáceos y otros invertebrados, tienen necesidad de calcio para formar sus caparazones o conchas y por tanto puede ser factor limitante para algunas especies.</p> <p>La concentración de sales minerales en las aguas dulces, tienen relación con los procesos de osmorregulación de los seres vivos. Estos, presentan en muchos casos mecanismos de regulación de la presión osmótica, lo cual les permite subsistir en medio de diferente concentración a la del medio interno.</p>
.pH	<p>Hay organismos que viven en aguas con un pH ácido; otros viven en medios acuáticos alcalinos. Así, la planta <i>Elodea canadensis</i> vive en aguas con un pH entre 7.4 y 8.8. <i>Typha angustifolia</i> (enea) vive en aguas con un pH de 8.4 a 9. Los hongos, y otros organismos, viven en medios ácidos. Las aguas dulces tienen el pH entre 6.5 y 8.7; las aguas marinas entre 8 y 8.5.</p>

Fuente: La tierra y su entorno, Ecología de las aguas dulces, disponible en internet.  
[http://www.latierraysuentorno.cl/Ecologia\\_aguas\\_dulces.htm](http://www.latierraysuentorno.cl/Ecologia_aguas_dulces.htm).

## 2.2 *Daphnia pulex*

La *Daphnia pulex* es un tipo de crustáceo del orden cladócero ver ilustración 1, normalmente llamada pulga de agua, esto se debe a la forma en que se impulsa con las dos antenas ubicadas en la cabeza.

Tiene un tamaño que varía entre 0,2 y 0,5 milímetros, habitan en medios acuáticos desde charcos hasta ríos se alimentan de plancton y de organismos de menor tamaño tales como las protistas y bacterias<sup>5</sup>.

Ilustración 1. *Daphnia pulex*.



Fuente: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Imagem:Daphnia.jpg>

Clasificación científica	
Reino:	Animal
Filo:	Crustacea
Clase:	Branchiopoda
Orden:	Cladocera
Familia:	Daphniidae
Género:	Daphnia

### 2.2.1 Morfología.

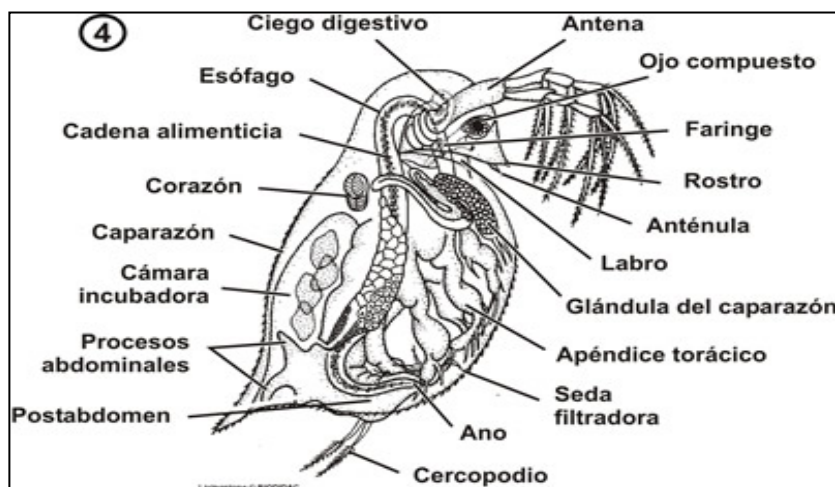
Estos organismos se caracterizan por poseer un cuerpo comprimido lateralmente y ovalado; no se distinguen segmentos como en otros crustáceos. Presentan dimorfismo sexual marcado, la hembra es más grande que el macho. (Ilustración 3.) Presenta una caparazón de quitina transparente, las antenas o apéndices con numerosas setas; ojos compuestos y simples (ojo nauplio). Una cavidad embriónica con huevos y embriones situados en la parte dorsal, entre el caparazon y el dorso del cuerpo<sup>6</sup> en la ilustración 2 se observa la morfología de la *Daphnia pulex*.

---

<sup>5</sup> CIID. 1998. Manual de Procedimiento para la Ejecución de Bioensayos de Toxicidad en el Agua. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Montevideo – Uruguay. Disponible en internet <http://www.monografias.com/trabajos12/neon/neon.shtml>

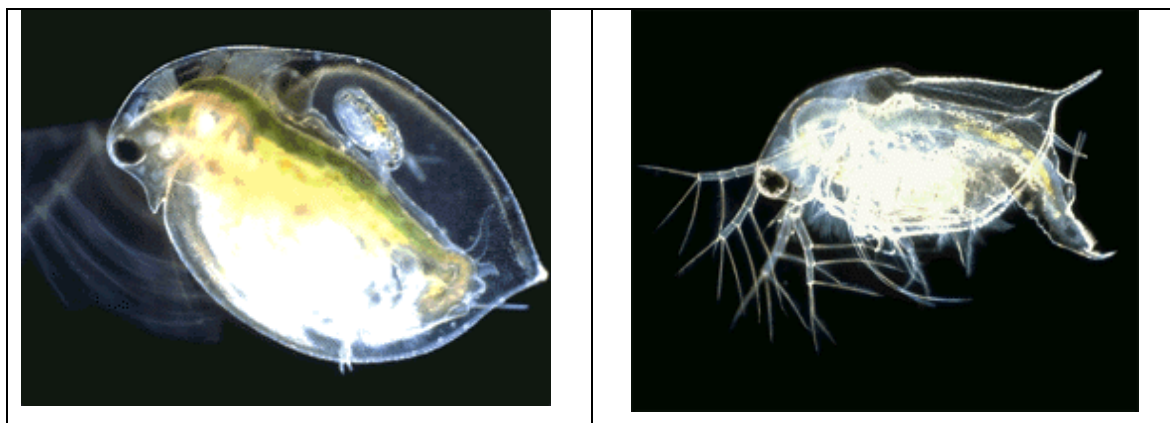
<sup>6</sup> CULTIVO DE MICROCORUSTACUOS DE AGUA DULCE <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S06.htm>

Ilustración 2. Morfología de la *Daphnia pulex*.



Fuente: TORRENTERA BLANCO, Laura y TACON, Albert G.J. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura una diagnosis. VI Cultivo de micro crustáceos de agua dulce. FAO. Brasil Abril, 1989 (proyecto en línea). Disponible en Internet: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S06.htm#chVI>

Ilustración 3. Hembra y macho. *Daphnia pulex*.



Fuente: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S06.htm#chVI> TORRENTERA BLANCO, Laura y TACON, Albert G.J. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura una diagnosis. VI Cultivo de micro crustáceos de agua dulce. FAO. Brasil Abril, 1989 (proyecto en línea). Disponible en Internet: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S06.htm#chVI>

### 2.2.2 Alimentación

Son normalmente fitófagos, alimentándose por filtración. Filtran continuamente el agua en la cual viven, deteniendo las partículas suspendidas en ésta a través de sedas situadas en los apéndices torácicos; el tamaño promedio de las partículas ingeridas se sitúa entre 0,5 y 50  $\mu\text{m}$ . Mediante diversos mecanismos de gran complejidad, las corrientes de alimento pasan al interior de una cámara sencilla precedente de la dirección anteroventral; esta cámara

está cerrada dorsalmente por la pared del cuerpo, lateralmente por las valvas y los cinco pares del tronco y centralmente por el tercer y cuarto par de los mismos cuando se encuentran juntos.<sup>7</sup>

El primer y segundo par de apéndices crean una corriente de agua y así, un movimiento de partículas suspendidas; el quinto par se encarga de la succión del agua, mientras el tercer y cuarto para realizar la filtración de las partículas.

### 2.2.3 Reproducción.

La *Daphnia pulex* tiene dos maneras distintas de reproducción: Una asexual y otra sexual. La primera se produce por partenogénesis y, según la edad y el tipo de alimentación de la pulga, puede llegar a dar entre 5-6 hasta los 100 ejemplares como se puede observar en la ilustración 4

Ilustración 4. Reproducción *Daphnia pulex*



Fuente: Wikipédia, a enciclopédia livre [http://pt.wikipedia.org/wiki/Imagem:Daphnia\\_magna01.jpg](http://pt.wikipedia.org/wiki/Imagem:Daphnia_magna01.jpg)

En la reproducción sexual la hembra produce óvulos que luego de ser fertilizados por el macho y que se alojan en el epifio (saco que soporta los huevos) y estos son llamados epifios. Los huevos se producen en grupos de 2 a varios cientos de ellos y una sola

---

<sup>7</sup> MATUK VELASCO, Vivian. El impacto biológico de las aguas residuales del lavado del beneficio húmedo de café tratadas anaerobiamente, citado por OROZCO, Juliana y TORO, Angela Maria. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. Trabajo de grado (Ingeniería Ambiental y Sanitaria), p.23

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 y depende enormemente del tamaño de la hembra y la comida que ingiera. El desarrollo embrionario de los individuos del suborden cladocera se da antes de eclosionar, por lo que las larvas son miniaturas de los adultos. Pero algunas veces la larva se mantiene más tiempo en el interior y no se libera hasta más tarde. Estas variaciones están ligadas a factores ambientales.

Los huevos efipiales son mayores que los partenogenéticos no diapausantes y se disponen en número de dos en el efipio. Al inicio de su desarrollo son evidentes ya que contrasta su color oscuro con el resto del efipio claro, pero en las etapas sucesivas la pigmentación de todo éste los camufla.

En el ciclo anual, el período en que existe mayor cantidad de efipios es al final de cada una de las temporadas otoño-invierno de desarrollo poblacional; es entonces cuando pueden apreciarse efipios libres que coexisten con hembras en diversos estados de producción efipial y hembras en producción embrionaria normal, aunque estas últimas en mucho menor proporción<sup>8</sup> (ver ilustración 5).

Ilustración 5. Hembra *Daphnia pulex* en gestación.



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

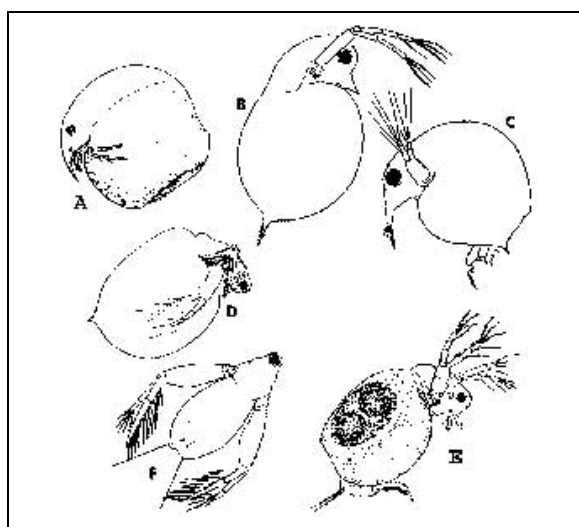
#### 2.2.4 Ciclo biológico de *Daphnia pulex*.

---

<sup>8</sup> VAZQUEZ, Amparo; SOLIS Eduardo. Influencia de la calidad del agua sobre la ocurrencia de *Daphnia pulex* en la presa José Antonio Álzate y algunos aspectos de su pesquería, Facultad de ciencias agrícolas de la universidad Autónoma del estado de México. Cerillos Piedras Blancas, México, 2000.

El ciclo biológico de la *Daphnia* empieza como un nauplio y tras 4 a 6 fases con sus mudas correspondientes (ver Ilustración 6), llega al estado adulto. La velocidad del proceso depende 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. Los huevos partenogenéticos producen hembras pero en algún caso pueden aparecer machos<sup>9</sup>.

Ilustración 6. Ciclo de vida



Fuente: [www.imasd.fcien.edu.uy](http://www.imasd.fcien.edu.uy)

## 2.2.5 Condiciones ideales de mantenimiento de cultivo a nivel de laboratorio.

Cuadro 2. Condiciones ideales de mantenimiento de la *Daphnia pulex* a nivel laboratorio.

Temperatura	20 ± 2 °C
Calidad de luz	Fluorescente, blanco-frio
Intensidad luminosa	600 -1000 lux (luz blanca fría) en la superficie del líquido.
Fotoperíodo	16 horas luz/ 8 oscuridad
Alimentación	Cultivos puros de <i>selenastrum capricornutum</i>

<sup>9</sup> GONZÁLEZ GÓMEZ, Henry Bernardo y GUTIÉRREZ ÁLVAREZ, Sandra del Pilar. Clasificación y ciclo de vida de una especie *Daphnia* nativa de la sabana de Bogotá. 1995. p. 23

Dosis de alimento	<p>La cantidad de alimento suministrada se calcula de la siguiente manera</p> $V = A \times B / C$ <p>Donde:</p> <p>V= volumen a ser adicionado</p> <p>A= número de organismos</p> <p>B= número de células por <i>Daphnia pulex</i></p> <p>C= densidad celular de la suspensión algar</p> <p>El alimento es suministrado diariamente</p>
Densidad poblacional	No mayor a 22 individuos / 2L
Limpieza	<p>Diariamente se deben retirar las (mudas) y los restos que se encuentren en el fondo de los recipientes. Cada viernes se cambia el agua de los acuarios, los cuales deben lavarse con una esponja o un paño de tela, enjuagar varias veces con agua desionizada.</p> <p>No se deben emplear jabón ni otros detergentes</p>
Recolección de neonatos	Diariamente se retiran los neonatos con una micropipeta pasteur de plástico, con una abertura lo suficientemente ancha como para no ocasionar daños a los neonatos

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

## 2.3 BIOENSAYOS

Los bioensayos son herramientas que se ocupan del estudio del efecto y destino de contaminantes tóxicos de origen antrópico; permiten realizar medidas experimentales de la relación concentración-respuesta que genera un efecto tóxico en los organismos de prueba, bajo condiciones controladas en terreno o en laboratorio<sup>10</sup>.

Los ensayos de toxicidad con organismos acuáticos son métodos reconocidos por la comunidad científica internacional y empleados en muchos países, para

<sup>10</sup> REISH, D. y OSHIDA, P. 1987. Manual of methods in aquatic environment research. part 10 – short-term static bioassays. FAO.p.66, citado por MAC-QUHAE, Cesar Augusto. Descripción de un protocolo estandarizado de toxicidad aguda para cladóceros (documento en línea). Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos11/clado/clado.shtml>

el monitoreo y control de la contaminación hídrica, ya que frecuentemente el medio acuático es quien recibe las consecuencias de las actividades humanas, incluyendo las actividades industriales en donde se encuentran grandes cantidades de sustancias químicas contaminantes que ponen en riesgo la salud del ecosistema. Los bioensayos de laboratorio posibilitan tener un primer acercamiento al posible impacto que producen estos efluentes.<sup>11</sup>

Normalmente para realizar las pruebas de toxicidad, se utilizan organismos o tejidos vivos, a los cuales se expone a la sustancia fisiológicamente activa, para encontrar el rango en que la biota acuática presenta la muerte, efectos dañinos o nocivos de los mismos en un determinado tiempo; Estos efectos pueden incluirse en las siguientes categorías:

- Afectación del término de vida.
- Alteración de la tasa de crecimiento.
- Cambios de los parámetros reproductivos.<sup>12</sup>

Los bioensayos se implementan bajo estándares generados por la comunidad científica, con la finalidad de obtener datos comparativos entre organismos, tóxicos y ambiente. Por esto existen diferentes tipos de bioensayos pruebas que pueden durar varios periodos de tiempo, pero las de 96 y 48 horas son las más comunes<sup>13</sup>

### 2.3.1 Tipos de bioensayos.<sup>14</sup>

Existen diferentes tipos de pruebas de bioensayos que permitan determinar variables, cualitativas o cuantitativas, dentro de los cuales se encuentran los siguientes:

#### 2.3.1.1 Ensayos de respuesta directa.

---

<sup>11</sup> ALCÁZAR, F. Documento guía del Curso Regional CPPS/PNUMA/COI, sobre Bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos marinos del Pacífico Sudeste, citado por OROZCO, Juliana y TORO, Angela Ma. Determinación de la concentración letal media (CL50-48) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. Trabajo de grado (Ingeniería Ambiental y Sanitaria), p.32.

<sup>12</sup> Ibid., p. 32.

<sup>13</sup> Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996. pág. 30-40

<sup>14</sup> ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de riesgos ambientales. Santafé de Bogotá D. C., 1997; p.23-24



Cuadro 3. Tipos de bioensayos respuesta directa.

TIPO DE BIOENSAYO	CARACTERÍSTICA
Bioensayo agudo	Cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a una especie en particular. El valor calculado se denomina concentración letal media (CL50), y representa la concentración que causa la muerte al 50 % de la población experimental, en un tiempo determinado (generalmente 48 o 96 horas) (Esclapés, 1999).
De tipo estático	Se efectúa sin la renovación continua del flujo constante de las diluciones sometidas al ensayo
Sin renovación	Los organismos se exponen a la misma solución de prueba durante el tiempo estimado para el ensayo.
Con renovación	Los especímenes se someten a una preparación fresca de la misma concentración inicialmente empleada, periódicamente (generalmente cada 24 horas). Tal renovación puede ser necesaria cuando importantes sustancias tóxicas se deterioran, o son absorbidas, o se pierden por cualquier otra razón, con suficiente rapidez para influir considerablemente con los resultados del ensayo
De flujo continuo	Circula continuamente una corriente de sustancia de prueba nueva en contacto con los individuos experimentales. Se realizan con la renovación continua o casi continua de las diluciones sometidas al ensayo, con el fin de mantener casi constantes las concentraciones de las sustancias tóxicas activas
Bioensayos crónicos	Estiman la concentración efecto media (CE50), la cual es la concentración de la sustancia de prueba que causa un efecto al 50% de la población experimental, al cabo de un tiempo determinado; depende del estadio de vida considerado o del ciclo de vida del organismo empleado. Alternativamente, un ensayo definitivo puede utilizarse para estimar el tiempo requerido para producir un efecto al 50% de los organismos (TE50), a una concentración específica (Esclapés, 1999).
Bioestimulación	Se mide la facultad de las aguas residuales o de las sustancias

TIPO DE BIOENSAYO	CARACTERÍSTICA
	químicas de estimular la multiplicación y el desarrollo de algas, efecto este de eutroficación que frecuentemente se traduce en una superabundancia o proliferación de algas (FAO, 1981)
Bioensayos de repelencia	Trata de medir en el laboratorio las reacciones de los animales acuáticos frente a un contaminante. Al organismo utilizado se le ofrece la oportunidad de elegir entre aguas "contaminadas" y aguas "limpias" en un tubo o tanque pequeño; el gradiente de interfaz puede ser brusco. Los aparatos y procedimientos miden también, por lo general, cuando existe la atracción hacia el contaminante. Para las especies con motilidad el escapamiento puede ser a veces la respuesta sub-letal clave, de naturaleza más sensible y más significativa que el deterioro de la reproducción medido mediante ensayos de toxicidad crónicos. Sin embargo, es particularmente difícil predecir, a partir de estos resultados de laboratorio, lo que ocurriría en el medio. Las respuestas de escape pueden estar o no relacionadas con la toxicidad del contaminante, en algunos casos los organismos no pueden soportar determinadas concentraciones tóxicas o pueden ser atraídas por ellas (FAO, 1981).
Bioacumulación	Son necesarios para las sustancias que se acumulan en las plantas y animales acuáticos; las grandes concentraciones de sustancias tóxicas en los tejidos pueden causar la muerte, pero el organismo es capaz de acumular durante algún tiempo cantidades menores sin sufrir daño. En este último caso, los depredadores pueden acumular las sustancias en grado tal que resulte nociva para ellos o para los depredadores del nivel trófico siguiente (FAO, 1981).

Fuente: CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería. 1996. factores que afectan la toxicidad pág. 15

### 2.3.1.2 Bioensayos de respuesta indirecta.<sup>15</sup>

Cuadro 4. Tipos de bioensayos de respuesta indirecta.

TIPO DE BIOENSAYO	CARACTERÍSTICAS
Ensayos organolépticos	Algunos contaminantes pueden producir olores o sabores desagradables en los organismos acuáticos. El contaminante puede no ser nocivo para el organismo acuático, pero puede ocurrir que el organismo pierda valor económico. El mejor procedimiento consiste en la evaluación por parte de personas experimentadas en bromatología y emplear gran número de catadores diestros (FAO, 1981).
Ensayos de bioestimulación	Los efectos de los nutrientes adicionales pueden ser indirectos, como por ejemplo, la producción de sustancias tóxicas o la desoxigenación del agua debida a la proliferación de algas (FAO, 1981).

Fuente: CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería. 1996. factores que afectan la toxicidad pág. 15 .

### 2.3.2 Índices de toxicidad.

Los efectos biológicos que se producen en los ensayos se pueden definir de varias formas cuadro 5., que van a ser los parámetros que se utilicen para determinar la toxicidad. A continuación se definen los parámetros más usados:

Cuadro 5. Índices de toxicidad.

CONCENTRACIONES LETALES	CARACTERÍSTICAS
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentración letal media (50). Es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales expuestos a

---

<sup>15</sup> BRUCE VARELA, Ramón Alejandro. Determinación del nivel de toxicidad aguda del fungicida carbendazim y el herbicida 2,4 d mediante bioensayos con *galaxias maculatus* Universidad Católica de Temuco. 2005; p 9

CONCENTRACIONES LETALES	CARACTERÍSTICAS
	dicha sustancia durante un periodo de 48 o 96 horas. El valor de la CL50 se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen de aire normal (miligramos por litro, mg/L).
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis Letal (50). Dosis individual de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal.
<b>CE<sub>50</sub></b>	Concentración del efluente que produce efectos negativos apreciables en un porcentaje "x" de la población de ensayo. Se usa el CE50 o EC50, que sería la concentración efectiva que afecta al 50 % de la población.
<b>NEANO</b>	(Nivel de efectos agudos no observados): mayor concentración del efluente para la cual la mortalidad registrada es del 10 % o menor. <sup>16</sup>
<b>CENO</b>	(Concentración de efectos no observables): mayor concentración continuada medida de un efluente para la cual no se observa reacción crónica alguna en las especies ensayadas.

Fuente: BUSTOS LOPEZ, Martha Cristina; DIAZ BAEZ, María Consuelo; ESPINOSA RAMIREZ, Adriana Janneth. Pruebas de toxicidad acuática. Fundamentos y métodos. Universidad nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería, sección de Ingeniería Ambiental. Bogotá D.C.; 2004 p 36.

### 2.3.3 Selección de especie.

Para realizar correctamente la prueba de toxicidad se debe seleccionar una especie que cumpla ciertos parámetros que se muestran a continuación:

- Alta y constante sensibilidad a tóxicos.
- Alta disponibilidad y abundancia.
- Estabilidad genética y uniformidad en las poblaciones.

<sup>16</sup> METCALF & EDDY, INC. *Ingeniería de aguas residuales*. Mc Graw Hill. 3ª Edición (1995), disponible en línea. <http://www.miliarium.com/Paginas/Prontu/indices/IndicesToxicidad.htm>

- Representatividad de su nivel trófico.
- Significado ambiental en relación con el área de estudio.
- Amplia distribución e importancia comercial.

Los diferentes periodos de aclimatación en el laboratorio, según las especies, manejo de cultivo, información de la especie en técnicas de bioensayos; ya que esta información requiere varios años de investigación por lo cual es mejor utilizar una especie anteriormente seleccionada por otros investigadores.<sup>17</sup>

No siempre se debe cumplir con todos los parámetros. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que en algunos procesos de selección, los investigadores, de acuerdo con cada situación, darán mayor o menor peso a ciertos criterios de selección.<sup>18</sup>

A continuación cuadro 6. se presenta la adaptabilidad de los organismos como especies para bioensayos.

Cuadro 6. Adaptabilidad de los organismos como especies de bioensayos.

ORGANISMOS PARA BIOENSAYOS	ADAPTABILIDAD DEL ORGANISMO		COMUNMENTE UTILIZADO COMO ORGANISMO PARA BIOENSAYOS
	Cultivo de laboratorio	Recolección de campo	
Algas	Excelente	Muy difícil de recolectar cultivo puro	Si
Protozoos	Excelente	Muy difícil de recolectar cultivo puro	Muy limitado
Rotíferos	Bueno	Muy difícil de recolectar cultivo puro	Limitado
Cladóceros	Excelente	Alta tasa de mortalidad después de la recolección de campo	Si
Copépodos	Mediano	Alta tasa de mortandad después de la recolección de campo	Limitado
Camarones	Bueno	Bueno	Si
Anélidos	Mediano	Mediano	Limitado

---

<sup>17</sup> CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996. factores que afectan la toxicidad pág. 15

<sup>18</sup> CASTILLO, G., DUTKA, R y McLNNIS,R. Ecotoxicidad en aguas superficiales y sedimentos. México D.F., 1996.

ORGANISMOS PARA BIOENSAYOS	ADAPTABILIDAD DEL ORGANISMO		COMUNMENTE UTILIZADO COMO ORGANISMO PARA BIOENSAYOS
	Cultivo de laboratorio	Recolección de campo	
Insectos	Bajo	Mediano	Si
Moluscos	Bueno	Mediano	Si
Crustáceos	Bajo	Mediano	
Peces	Excelente	Alta tasa de mortalidad después de la recolección de campo	Si

Fuente: (Henry, 1988), disponible en línea <http://www.monografias.com/trabajos11/clado/clado.shtml#bio>

#### 2.3.4 Análisis estadísticos.

El análisis de los resultados arrojados por las pruebas de toxicología, implican el uso de técnicas estadísticas de regresión. Estas técnicas requieren, la selección de la ecuación matemática con la que se relacionarán las variables analizadas. A su vez, en la selección del modelo a utilizar, es de vital importancia el tipo de variables a relacionar.

Las variables a evaluar son de tipo cualitativas y cuantitativas que se dividen entre continuas (toman cualquier valor del conjunto de los reales, se evalúa la reducción del crecimiento en longitud o peso) y discretas (son únicamente valores enteros tales como, núm. de muertos, % de muertos). *Las variables cuantitativas* se pueden analizar por medio de una estadística de regresión tales como peso del cuerpo, peso del hígado, ritmo cardiaco, aumento en el peso corporal, disminución en la presión sanguínea, mientras las variables cuantitativas deben ser transformadas o representadas en forma cuantitativa para su respectivo análisis; como por ejemplo la mortalidad, al evaluar los estados vivo o muerto se debe expresar en porcentajes de muertos para poder realizar el análisis por los diferentes métodos de regresión.

Al analizar relaciones entre concentraciones de un tóxico y las respuestas o efecto del contaminante, existen aproximaciones donde se pretende determinar la concentración a la cual no se observa un efecto nocivo del tóxico sobre el organismo expuesto, o la

concentración más baja a la cual se observa un efecto tóxico. Este tipo de análisis se realiza a través del método de ANOVA (análisis de la varianza).<sup>19</sup>

Para el análisis de los valores arrojados por los bioensayos y sus variables se necesita escoger un modelo matemático que exprese en términos comparativos la relación de dosis-respuesta; encontrando 4 modelos que analizan diferentes intereses y variables.<sup>20</sup>  
Cuadro 7.

Cuadro 7. Modelos matemáticos.

MODELO MATEMATICO	DESCRIPCIÓN
Mecanístico	Describe un proceso basándose en postulados acerca de la mecánica de dicho proceso
Empírico o descriptivo	Describe cuantitativamente los patrones de observación sin basarse en la mecánica del proceso
Determinístico o no estocástico	Se da un dato específico y la predicción que se obtiene del modelo es siempre el mismo valor
Probabilístico o estocástico	Se da un dato específico y la predicción que se obtiene del modelo es un valor variable

Fuente: BULUS ROSSINI, Gustavo Daniel; DÍAZ BAEZ, Maria Consuelo; PICA GRANADOS, Yolanda, Capítulo 5. Métodos Estadísticos para el Análisis de Resultados de Toxicidad. En línea. Diciembre de 2006 < [http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO\\_TOPIC.html](http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html). 2004>

### 2.3.5 Metodología para aplicación de métodos Estadísticos.<sup>21</sup>

Para poder validar y precisar las pruebas de los bioensayos se utiliza una metodología estadística que se ajuste a las condiciones experimentales y que permita obtener resultados validos.

<sup>19</sup> CRUZ TORRES, Op.cit., p.24

<sup>20</sup> BULUS ROSSINI, Gustavo Daniel; DÍAZ BAEZ, Maria Consuelo; PICA GRANADOS, Yolanda, Capítulo 5. Métodos Estadísticos para el Análisis de Resultados de Toxicidad. En línea. Diciembre de 2006 < [http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO\\_TOPIC.html](http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html). 2004>

<sup>21</sup> Ibid., párrafo 8

#### 2.3.5.1 Diseño de experimentos.

El diseño de los experimentos es el primer paso para realizar pruebas de toxicidad, en el cual vamos a establecer el número de repeticiones (dependiendo de la prueba) del bioensayo, variación de las dosis en las unidades experimentales y un control para lograr una estimación válida del error experimental; después de recopilar los valores de los experimentos se trabaja con un análisis de varianza o de regresión, con unidades experimentales homogéneas y condiciones ambientalmente controladas y específicas.

#### 2.3.5.2 Diseño y ejecución de los ensayos de toxicidad-fuentes de variación.

Para el diseño experimental de una prueba de bioensayos se necesita cumplir con unos elementos básicos que son:

- Unidad experimental
- Respuesta (*punto final*).
- Observación, medición, Identificación, ya sea en términos de una frecuencia de conteos, una tasa de mortalidad, una tasa de inhibición, etcétera.
- Condiciones para la evaluación, tamaño de la población, ensayo de supervivencia entre otros.
- Grupos de tratamiento Dosis-respuesta, controles, varias muestras individuales
- Fuentes de variabilidad variación a precisiones de estimación, errores de diluciones, imprecisión en el peso, errores al medir volúmenes, en el conteo, cambios en el laboratorio, en el personal.
- Fuentes de sesgos
- Métodos de evaluación estadística

Al realizar los puntos anteriormente enunciados, se posibilita para elaborar comparaciones y analizar cada una de las posibilidades existentes en el estudio de los resultados de las pruebas de toxicidad<sup>22</sup>.

#### 2.3.5.3 Análisis de resultados.

Para el análisis de los resultados se estima la relación dosis- respuesta y efectos, en donde se evalúan concentraciones que generen impacto en la población crustácea, siendo las más utilizadas la concentración letal, efectiva o inhibitoria 50

---

<sup>22</sup> Ibid., p. 17.



(CL50/CE50/CI50), que es la concentración que produce la respuesta esperada sobre el 50% de los organismos expuestos.

El tipo de análisis a utilizar depende de la variable evaluada, cuando se estudia la mortalidad el 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 de las concentraciones seleccionadas.<sup>23</sup>

### 2.3.6 Métodos Estadísticos.<sup>24</sup>

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

#### 2.3.6.1 Método Probit (paramétrico).

El método permite determinar la proporción de la población u otros elementos que resultan afectados. Consiste en asociar la probabilidad de un daño, con unas determinadas unidades Probit. El resultado es una curva.

Para el cálculo de los CL50/CE50/CI50 generalmente se usa el análisis Probit (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 ( $p$ ).

$$p = \left( \frac{r}{n} \right) \times 100$$

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

---

<sup>23</sup> CASTILLO, Gabriella. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. Primera Edición. México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA), 2004.

<sup>24</sup> BULUS ROSSINI. Op. cit, p.17

( $X = \log_{10}(d)$ ), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea norma; de esta manera la distribución de  $p$  vs.  $X$  será de tipo normal.

Posteriormente, mediante las tablas de Probit se transforma  $p$  (porcentaje de efecto) a unidades Probit (buscando en una tabla de distribución normal el valor de  $z$  correspondiente a una probabilidad acumulada igual a  $p$  y sumándole a continuación cinco unidades), se obtiene una distribución de puntos en un sistema bivariado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico. Vale la pena enfatizar que el Probit es una transformación sobre la tasa de efecto ( $p$ ), y la ecuación generada es de la forma:

$$y=a+bx$$

Para facilitar los cálculos, simplemente se puede usar un *software* como el suministrado por la *US Environmental Protection Agency* (US EPA): *Probit Analysis Program*, versión 1.5. Estas pruebas son importantes, porque si los datos no se ajustan a la línea recta generada, es necesario llevar a cabo un análisis Probit ponderado o aplicar métodos no paramétricos o gráficos para poder determinar la CL50/CE50/CI50<sup>25</sup>.

#### 2.3.6.2 Método de Litchfield-Wilcoxon (gráfico).

Este método consiste en la construcción de una gráfica a partir de los datos obtenidos en pruebas de toxicidad aguda de un agente tóxico.

#### 2.3.6.3 Método de Sperman-Karber (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/CE50/CI50).

#### 2.3.6.4 Método gráfico.

Se parte de los datos obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda, y 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 concentraciones probadas (en escala

---

<sup>25</sup> CASTILLO, Op. Cit., párrafo 15-16

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 CL50/CE50/CI50 del estímulo o agente estudiado (Hubert, 1980 y 1995; Finney, 1978). Cuando no se logra hacer un ajuste adecuado de los datos, se pueden utilizar otros métodos para hacer las estimaciones de CL50/CE50/CI50<sup>26</sup>.

### 2.3.7 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 *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.<sup>27</sup>

## 2.4 METALES PESADOS

Los metales pesados son aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm<sup>3</sup> cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos).

Los más importantes son: Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Estaño (Sn), Zinc (Zn), Aluminio (Al) y Plata (Ag). Existen ciertas propiedades comunes entre los metales pesados, como lo son: la conductividad eléctrica, maleabilidad, ductilidad y brillo. Pueden encontrarse en forma libre o combinada, formando minerales. También se encuentran como átomos o moléculas y presentan efecto tóxico, cuando al ser consumidos o estar expuestos a él, se

---

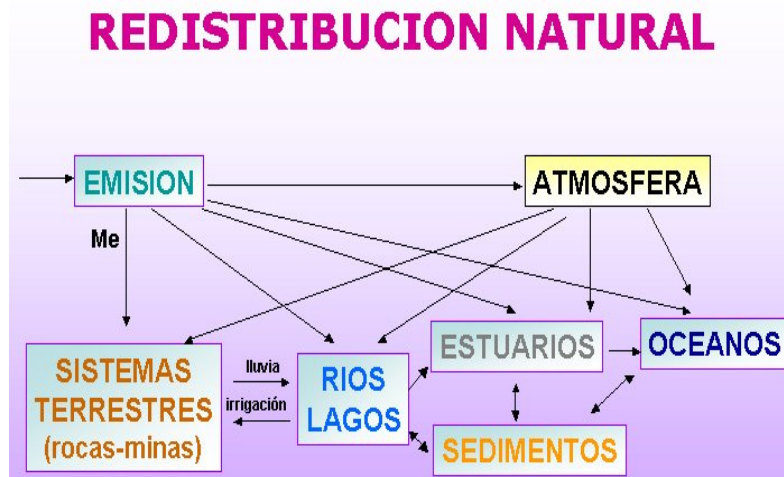
<sup>26</sup> Ibid., párrafo 15-16

<sup>27</sup> Ibid., párrafo 15-16

produce un efecto perjudicial ya sea para el crecimiento o, para el metabolismo celular de los diferentes organismos. Esto ocurre al exceder ciertas concentraciones o, cuando se mantienen en contacto por periodos prolongados o cuando el compuesto o el metal se presenta en una forma químicamente tóxica.<sup>28</sup>

Los metales pesados en el ambiente provienen de procesos naturales y antropogénicos; naturales tales como, fenómenos geológicos, formación de menas, la meteorización y erosión de las rocas, la lixiviación y los fenómenos volcánicos en el fondo marino y además por bioconcentración en organismos, flora, fauna y alimentos; antropogénicos como emisiones (combustión) y consumo (extracción, transporte, manipulación y reciclado) ver ilustración 7. Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0,1% y se encuentran de forma natural sin generar ningún tipo de contaminación, el problema es cuando su distribución en el medio ambiente se altera por la intervención del ser humano, y se convierte en un tóxico potencial cuando se realiza trabajos de extracción minera, refinamiento de productos mineros o por la liberación al ambiente de efluentes industriales y emisiones vehiculares entre otros.

Ilustración 7. Redistribución natural de los metales.



Fuente: [www.estrucplan.com.ar/Producciones/entrega.asp?IdEntrega=883](http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/entrega.asp?IdEntrega=883)

<sup>28</sup> GIOVANNETTI SANCHEZ, Silvia Lorena. Liniamientos para la aplicación de un sistema de gestión ambiental en la empresa Alfacrom LTDA, citado por OROZCO, Juliana y TORO, Angela Ma. Determinación de la concentración letal media (CL50-48) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. Trabajo de grado (Ingeniería Ambiental y Sanitaria), p 51.

#### 2.4.1. Toxicidad.

Los metales pesados se caracterizan como peligrosos para los seres vivos y el ambiente, ya que poseen una gran toxicidad, debido a que no son químicamente ni biológicamente degradables. Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años. Además su elevada tendencia a bioacumularse, siendo esto el aumento de la concentración de un producto químico en un organismo biológico en un cierto plazo y es debido a la dificultad del organismo de mantener los niveles de excreción del contaminante, por lo que sufre una retención en el interior del mismo. El proceso se agrava a lo largo de las cadenas tróficas, debido a que su concentración en los seres vivos aumenta a medida que son ingeridos por otros, por lo que la ingesta de plantas o animales contaminados puede provocar síntomas de intoxicación, retrasos en el desarrollo, varios tipos de cáncer, daños en el riñón, e, incluso, con casos de muerte<sup>29</sup>.

Los efectos de la exposición a cualquier sustancia tóxica dependen de la dosis, la duración, la manera como el individuo está expuesto, sus hábitos y características personales y de la presencia de otras sustancias químicas.

Factores que condicionan el tipo de daño toxicológico:

- Naturaleza física y química del agente
- Exposición y Dosis
- Vías de exposición
- Relación dosis-efecto y dosis-respuesta
- Condición biológica y metabólica del huésped
  - a- Edad (extremos de la vida).
  - b- Estado nutricional.
  - c- Estado salud / enfermedad.<sup>30</sup>

#### 2.4.2 Aluminio.

El aluminio es el metal más abundante en la corteza terrestre. Se encuentra, en su forma natural, combinado con oxígeno, flúor, sílice, etc. La principal fuente de aluminio es la bauxita, que contienen hasta un 55 % de alúmina. Algunos yacimientos de hierro también contienen aluminio como  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . El aluminio metálico se obtiene de minerales que

---

<sup>29</sup> ESCOBAR CODINA, Juan C. y PEREZ GARCIA, Alejandro. Artículo científico del I.E.S. Sierra Bermeja (Málaga) , Los metales pesados como polucionantes tóxicos 2005. p.15.

<sup>30</sup> CRUZ TORRES, Luis Eduardo. Factores que afectan la toxicidad. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Unidad Académica Ingeniería Ambiental. 1996. p. 11

contienen aluminio, principalmente la bauxita. Pequeñas cantidades de aluminio se pueden encontrar disueltas en agua en forma de iones. Las formas iónicas de aluminio más comunes consisten en complejos formados con iones de hidróxido. El aluminio tiene múltiples usos industriales, en forma de aleaciones con el cobre, el zinc, el silicio, el magnesio, el manganeso y el níquel. Los productos de aluminio se utilizan en la construcción de buques, estructuras, en la industria eléctrica, para la fabricación de cables e hilos conductores. También se utilizan en la construcción, en la industria aeroespacial, para fuselajes, revestimientos y otros componentes, en la industria automotriz, para carrocerías, para aparatos domésticos y equipos de oficina, e incluso en joyería. Una de las aplicaciones más importantes de la hoja de aluminio es la fabricación de envases para bebidas o alimentos, en tanto que el papel de aluminio se utiliza para empaquetar. Otras aplicaciones se realizan en pinturas y en la industria pirotécnica, etc. El cloruro de aluminio se utiliza en el cracking del petróleo y en la industria del caucho. Esta sustancia desprende vapores que, con el aire, forman ácido clorhídrico y se combinan con el agua formando compuestos explosivos.

Los compuestos alquilados de aluminio se utilizan en la fabricación de polietileno. Presentan riesgo de toxicidad, quemaduras e incendios. Son muy reactivos con el aire, la humedad y con compuestos que contengan hidrógeno activo<sup>31</sup>.

#### 2.4.2.1 Riesgos para la salud humana.

La exposición a bajos niveles de aluminio a través de los alimentos, el aire, el agua, o contacto con la piel no parece causar daño a la salud. Sin embargo, el aluminio no es una sustancia necesaria para el organismo y en grandes cantidades puede ser peligroso. Gente que está expuesta a altos niveles de aluminio en polvo en el aire puede sufrir trastornos respiratorios como tos y asma<sup>30</sup>.

Algunos estudios han encontrado que gente con la enfermedad de Alzheimer tiene más aluminio que lo normal en el cerebro. No sabemos si el aluminio causa esta enfermedad o si la acumulación de aluminio ocurre en gente que ya tiene la enfermedad. Niños y adultos

---

<sup>31</sup> <http://ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol318.htm#Aluminio>

que recibieron altas dosis de aluminio como tratamiento para ciertos problemas de salud, contrajeron enfermedades a los huesos, lo que sugiere que el aluminio puede causar problemas al esqueleto. En ciertas personas se ha observado irritación de la piel a raíz del uso de desodorantes que contienen Clorhidrato de Aluminio<sup>32</sup>.

La exposición a niveles elevados de óxido de aluminio durante tiempos prolongados puede producir alteraciones pulmonares. Esta situación se comprobó en trabajadores de fundiciones expuestos por más de 20 años.

Los efectos toxicológicos son variados. La Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado la producción de aluminio como una situación del Grupo 1: exposición humana cancerígena conocida. La exposición a niveles elevados de aluminio puede producir daños cerebrales graves, e incluso fatales.

#### 2.4.2.2 Efectos Ambientales.

El aluminio se encuentra naturalmente en el suelo, el agua y el aire. Es distribuido o desplazado tanto por actividades humanas como naturales. Los niveles altos en el ambiente pueden deberse al procesamiento o minado de minerales de aluminio y a la producción de aluminio metálico, aleaciones y de otros compuestos. Las plantas de energía e incineradores que utilizan carbón liberan pequeñas cantidades de aluminio al ambiente. Casi todos los alimentos, el agua y el aire contienen pequeñas cantidades de aluminio.

El aluminio no puede ser destruido en el ambiente; solamente puede cambiar de forma o ligarse o separarse de partículas. Las partículas de aluminio liberadas por plantas de energía y por otros procesos de combustión generalmente están adheridas a partículas muy pequeñas. El aluminio que se encuentra en polvo que levanta el viento generalmente se encuentra en partículas de mayor tamaño. Estas partículas se depositan en el suelo o son removidas del aire por la lluvia. El aluminio adherido a partículas muy pequeñas

---

<sup>32</sup> Ibid, pag 44

puede permanecer en el aire muchos días. La mayor parte del aluminio termina finalmente en el suelo o en el sedimento<sup>33</sup>.

La mayoría de las plantas o animales no acumulan cantidades significativas de aluminio. Sin embargo, hay algunas excepciones tales como las plantas de té, que pueden ser consumidas por seres humanos, o también algunos musgos, helechos y arbustos y árboles subtropicales. El aluminio no parece acumularse en la leche de vaca o en tejidos de res. Tampoco aumenta su concentración en los tejidos de organismos a medida que éstos pasan del fondo al tope de la cadena alimentaria. Debido a la toxicidad del aluminio disuelto en el agua para muchos organismos acuáticos, incluso peces, estos animales probablemente morirían antes de que la cantidad de aluminio en el animal alcanzara un nivel muy alto. Por lo tanto, las hortalizas, frutas, pescado y carne que usted consume generalmente no contienen niveles muy altos de aluminio.<sup>34</sup>

La mayoría de los compuestos que contienen aluminio no son muy solubles en agua, a menos que el agua sea ácida o muy alcalina. Sin embargo, cuando cae lluvia ácida, los compuestos de aluminio en el suelo pueden disolverse y pasar a arroyos y lagos. Como los cuerpos de agua afectados a menudo son ácidos, el aluminio que se disuelve se comporta tal como lo haría bajo condiciones normales (no acídicas). En esta situación, la concentración de aluminio en el agua puede aumentar a niveles anormalmente altos.

#### 2.4.3 Plata.

La Plata es un elemento químico, con símbolo Ag, número atómico 47 y masa atómica 107.870. Es un metal lustroso de color blanco-grisáceo. Desde el punto de vista químico, es uno de los metales pesados y nobles; desde el punto de vista comercial, es un metal precioso. Hay 25 isótopos de la plata. Sus masas atómicas fluctúan entre 102 y 117.<sup>35</sup>

La plata hace aleaciones con uno o más metales, posee las más altas conductividades térmica y eléctrica de todos los metales y se utiliza en puntos de contactos eléctricos y

---

<sup>33</sup> Ibid., p. 1.

<sup>34</sup> Ibid., p. 1.

<sup>35</sup> AGUDELO GALLEGO, Luz Marina; ARENGAS CASTILLA, Ángel Isdrúval; SEPÚLVEDA GALLEGO, Luz Elena. La Plata, sus implicaciones en la salud y en el ambiente. Universidad de Caldas. Caldas; 2006; p. 1



electrónicos. También se emplea mucho en joyería y piezas diversas. Entre las aleaciones se encuentran como componente de las amalgamas dentales y metales para cojinetes y pistones de motores. Es un elemento bastante escaso. Algunas veces se encuentra en la naturaleza como elemento libre (plata nativa) o mezclada con otros metales. Sin embargo, la mayor parte de las veces se encuentra en minerales que contienen compuestos de plata. Los principales minerales de plata son la argentita, la cerargirita o cuerno de plata y varios minerales en los cuales el sulfuro de plata está combinado con los sulfuros de otros metales. Aproximadamente tres cuartas partes de la plata producida son un subproducto de la extracción de otros minerales, sobre todo de cobre y de plomo.<sup>36</sup>

La plata pura es un metal moderadamente suave (2.5-3 en la escala de dureza de Mohs), de color blanco, un poco más duro que el oro. Cuando se pule adquiere un lustre brillante y reflejo el 95% de la luz que incide sobre ella. Su densidad es 10.5 veces la del agua. La calidad de la plata, su pureza, se expresa como partes de plata pura por cada 1000 partes del metal total. La plata comercial tiene una pureza del 99%.

Aunque es el metal noble más activo químicamente, no es muy activa comparada con la mayor parte de los otros metales. No se oxida fácilmente (como el Hierro), pero reacciona con el azufre o el sulfuro de hidrógeno para formar la conocida plata deslustrada. No reacciona con ácidos diluidos no oxidantes (ácidos clorhídrico o sulfúrico) ni con bases fuertes (Hidróxido de Sodio). Sin embargo, los ácidos oxidantes (ácido nítrico o ácido sulfúrico concentrado) la disuelven al reaccionar para formar el ion positivo de la plata,  $Ag^+$ . Este ion, que está presente en todas las soluciones simples de compuestos de plata solubles, se reduce fácilmente a metal libre, como sucede en la deposición de espejos de plata por agentes reductores orgánicos. La plata casi siempre es monovalente en sus compuestos, pero se conocen óxidos, fluoruro y sulfuro divalentes. Algunos compuesto de coordinación de la plata contienen plata divalente y trivalente. Aunque la plata no se oxida cuando se calienta, puede ser oxidada química o electrolíticamente para formar óxido o peróxido de plata, un agente oxidante poderoso. Por esta actividad, se utiliza mucho como catalizador oxidante en la producción de ciertos materiales orgánicos.<sup>37</sup>

---

<sup>36</sup> Ibid., p. 1.

<sup>37</sup> Ibid., p.1

#### 2.4.3.1 Propiedades Fisicoquímicas.

La plata es un metal dúctil que se encuentran de forma natural, pura en minerales. Algunos compuestos de plata son extremadamente fotosensibles y son estables en el aire y el agua, con excepción cuando se exponen a los compuestos de azufrados. En el medio natural, la plata se produce principalmente en forma de sulfuro ( $\text{Ag}_2\text{S}$ ) o está íntimamente asociado a otros sulfuros metálicos, en especial los de plomo, el cobre, el hierro y el oro, que son esencialmente todos insolubles (ATSDR, 1990). El estado Monovalentes de iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) es raro o insignificante en el medio natural. Varios compuestos de plata contienen posible riesgos de explosión como oxalato de plata ( $\text{Ag}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) se descompone explosivamente al calentarse.<sup>38</sup>

Selección de propiedades fisicoquímicas de la plata y sus sales se resumen en el Cuadro 8. Adicional propiedades de la plata y de nitrato de plata.

**Cuadro 8.** Propiedades de la plata y algunas de sus sales.

PROPIEDADES	FORMULA QUÍMICA	MASA MOLECULAR	ESTADO FÍSICO	PUNTO DE EBULLICIÓN	DENSIDAD (20°C)
Plata	Ag	107,87	Metal sólido	2212°C	10.5 g/cm3
Nitrato de plata	$\text{AgNO}_3$	169,89	Sólido cristalino	440°C	4.35 g/cm3
Sulfuro de plata	$\text{Ag}_2\text{S}$	247,80	Gris-negro sólido	810°C	7.33 g/cm3
Cloruro de plata	AgCl	143,34	Blanco sólido	1550°C	5.56 g/cm3

Fuente: WHITTEN, Davis, química genera, quinta edición 2000.

<sup>38</sup> Ibid., p. 1.

#### 2.4.3.2 Efectos de la plata sobre la salud humana.

Las sales solubles de plata, especialmente el nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ), son letales en concentraciones de hasta 2g. Los compuestos de plata pueden ser absorbidos lentamente por los tejidos corporales, con la consecuente pigmentación azulada o negruzca de la piel (argiria).

- Contacto con los ojos: Puede causar graves daños en la córnea si el líquido se pone en contacto con los ojos. Contacto con la piel: Puede causar irritación de la piel.
- Contacto repetido y prolongado con la piel puede causar dermatitis alérgica. Peligros de la inhalación: Exposición a altas concentraciones del vapor puede causar mareos, dificultades para respirar, dolores de cabeza o irritación respiratoria. Concentraciones extremadamente altas pueden causar somnolencia, espasmos, confusión, inconsciencia, coma o muerte.
- El líquido o el vapor pueden irritar la piel, los ojos, la garganta o los pulmones. El mal uso intencionado consistente en la concentración deliberada de este producto e inhalación de su contenido puede ser dañino o mortal.
- Peligros de la ingestión: Moderadamente tóxico. Puede causar molestias estomacales, náuseas, vómitos, diarrea y narcosis. Si el material se traga y es aspirado en los pulmones o si se produce el vómito, puede causar neumonitis química, que puede ser mortal.
- Órganos de destino: La sobre-exposición crónica a un componente o varios componentes de la plata tiene los siguientes efectos en los siguientes órganos: daños renales, daños oculares, daños pulmonares, daños hepáticos, anemia, daños cerebrales y anormalidades cardíacas <sup>39</sup>

#### 2.4.3.3 Efectos Ambientales de la Plata en organismos.

La identificación del ion plata y su biodisponibilidad es de vital importancia para comprender el riesgo potencial del metal. La medición del ion libre es el único método directo que se pueden utilizar para evaluar los probables efectos de los metales en organismos. La utilización de modelos puede utilizarse para evaluar la proporción total de

---

<sup>39</sup> Ibid., p. 1.

plata que se tiene biodisponible en los organismos. A diferencia de algunos otros metales, las concentraciones de fondo de agua dulce y en la prístina mayoría de las zonas urbanas están muy por debajo de las concentraciones que causan efectos tóxicos.<sup>40</sup>

#### 2.4.3.4 Fuente de exposición ambiental de la plata.

La plata es un metal que a menudo se encuentra depositado como un mineral en asociación con otros elementos (ATSDR, 1990). Argentita es el principal mineral de plata de la que se extrae por cianuro, zinc reducción, o procesos electrolíticos. La plata se recupera con frecuencia como un subproducto de la fundición de minerales de níquel, de zinc y plomo de pórfido de cobre en el mineral, y de depósitos de oro y platino. Acerca de 12-14% de la producción de plata se recupera a partir de mineral de plomo, y un 4% de los minerales de zinc. Los productos que contienen plata como, monedas y lingotes, y chatarra vieja de los productos eléctricos, las viejas películas y desechos fotográficos, baterías, joyas, objetos de plata, y los rodamientos, hacen parte de la variedad de objetos a los que estamos expuestos por este metal. La mayoría de la plata perdida en el medio ambiente entra en los ecosistemas terrestres, donde es inmovilizado en forma de minerales, metales o aleaciones.

La plata ha sido utilizado para ornamentos y utensilios de hace casi 5000 años, y como un metal precioso, un medio monetaria, y una base de la riqueza de más de 2000 años. En 1990, alrededor del 50% de la plata refinada consumida en los EE.UU. se utilizan para la fabricación de fotográficas y de rayos X de los productos; 25% en los productos eléctricos y electrónicos; 10% en joyería; 5% en aleaciones de soldadura; Y 10% en otros usos. Debido a sus propiedades bacteriostáticas, la plata y sus compuestos se usan en los filtros y otros equipos para purificar el agua y la piscina de agua potable y en el procesamiento de alimentos, medicamentos, y bebidas.

El nitrato de plata ha sido utilizado durante muchos años como un tratamiento para prevenir la oftalmía neonatal. Varios compuestos de plata que contienen los productos farmacéuticos se han utilizado tópicamente sobre la piel o las mucosas para ayudar a los

---

<sup>40</sup> SALDAÑA, Mendioroz. PLATA Ag. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC. Cantoblanco. Madrid 2000. p.49.

pacientes a la curación y para el tratamiento de quemaduras en la piel al igual que para luchar contra las úlceras. El amplio uso médico de los compuestos de plata para la aplicación tópica de las mucosas y para uso interno, se ha vuelto casi obsoleto en los últimos 50 años.<sup>41</sup>

#### 2.4.3.5 Toxicidad en organismos acuáticos y *Daphnia*.

La toxicidad de la plata en organismos se debe a la forma iónica monovalente ( $\text{Ag}^+$ ). En los peces y organismos de agua dulce, la toxicidad de dicha forma iónica se asocia a su unión con sitios específicos en las branquias, generando una reducción en la incorporación de iones sodio y cloruro mediante la pérdida neta de iones del plasma sanguíneo, fallas circulatorias por el colapso de la regulación del volumen de fluido y, finalmente, la muerte del pez.

En lo que respecta a las distintas sales utilizadas en los ensayos de toxicidad, se observa que cuando se utiliza nitrato de plata la toxicidad es superior en varios órdenes de magnitud a la observada cuando se utilizan Tiosulfato o Cloruro de Plata. Existen numerosos estudios acerca de la influencia que distintos parámetros ejercen sobre la toxicidad de la plata. En este sentido, se ha estudiado el efecto que la dureza ejerce sobre la toxicidad aguda de la plata reportándose resultados contradictorios, ya que algunos trabajos respaldan la reducción significativa de la toxicidad al aumentar la dureza, mientras que otros reportan que tal reducción es leve o nula. Esta situación puede ser explicada, según se ha sugerido, por el hecho de que la influencia sobre la toxicidad se deba al calcio más que a la dureza, ya que existe evidencia de que el calcio posee un efecto estabilizador en la permeabilidad del epitelio de las branquias.

Existe una importante cantidad de datos acerca de los efectos agudos que ejerce la plata sobre los animales acuáticos. De acuerdo a los valores registrados para invertebrados, cierta especie de rotífero del género *Philodina sp.* es el organismo más resistente; para el mismo se han reportado concentraciones letales para el 50% de los individuos expuestos ( $\text{CL}_{50}$ ) que llegan hasta 15,7 mg/l, con una media geométrica para el género igual a 3,76 mg/l. Como contraparte, las especies de invertebrados que presentan mayor sensibilidad

---

<sup>41</sup> ARENGAS CASTILLA, Ángel Isdrúval; SEPÚLVEDA GALLEGOS, Luz Elena. La Plata, sus implicaciones en la salud y en el ambiente. Universidad de Caldas. Caldas; 2006; p. 1

a la plata son crustáceos de las especies *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia*, observándose para ellas CL50 iguales a 0,39 µg/l y 0,8 µg/l, respectivamente, con medias geométricas para los géneros *Daphnia* y *Ceriodaphnia* iguales a 4,94 µg/l y 0,83 µg/l, respectivamente.

En lo referente a vertebrados, la especie más sensible a la plata es la carpa (*Cyprinus carpio*), para la que se observa una CL50 igual a 2,7 µg/l, mientras que la especie más resistente en promedio es *Gambusia affinis*, que presenta una CL50 media igual a 23,5 µg/l. Sin embargo, es importante aclarar que ciertos datos individuales para otras especies superan ampliamente este último valor, ya que se han reportado CL50 igual a 106 µg/l para *Pimephales promelas*<sup>42</sup>.

En lo que hace al efecto de la plata sobre las plantas acuáticas y las algas, se han seleccionado datos acerca de la inhibición del crecimiento en tres especies de algas unicelulares: *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus acuminatus* y *Scenedesmus dimorphus*, para las que se han reportado concentraciones para las cuales se observan efectos sobre el 50 % de los individuos (CE50) iguales a 6,4 µg/l, 8,0 µg/l y 9,3 µg/l, respectivamente. También se ha observado la inhibición del crecimiento de *Elodea canadensis* informándose para tal especie una CE50 igual a 100 µg/l.

Con respecto a la bioconcentración y biomagnificación, siendo la bioconcentración la afinidad que tienen los compuestos con los tejidos adiposos más que con el agua, por lo que pueden alcanzar concentraciones más elevadas en organismos que en agua. Depende, fundamentalmente, de algunas propiedades fisicoquímicas de la sustancia como la solubilidad en agua; y la bioacumulación como la concentración de una sustancia cuando aumenta en el organismo expuesto en función del tiempo. Por ejemplo, cuando la concentración de una sustancia es más alta en los peces adultos que en los jóvenes del mismo sitio. Esta capacidad también depende principalmente de las características fisicoquímicas y bioquímicas del compuesto, como solubilidad en agua y velocidad de eliminación.

---

<sup>42</sup> Silva J; Torrejón G; Bay-Schmith E; Larrain A. 2003. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera) usando un tóxico de referencia. Gayana p. 87-96.

Se han reportado para la plata factores de bioconcentración (BCF) elevados solamente para algas y bacterias. Para las algas, el mayor valor reportado de BCF es igual a  $25 \times 105$ , referido a masa húmeda. Sin embargo, se ha sugerido que dicha acumulación se debe a la adsorción en la superficie de la célula más que a una incorporación activa al interior de la misma. La plata adsorbida en las paredes de las células no ha podido ser removida por métodos mecánicos, por bajos valores de pH, ni por degradación enzimática; por lo tanto es poco probable que ocurra biomagnificación en comedores de algas dado que la plata ingerida no sería adsorbida y sería excretada directamente. En los animales acuáticos, tanto invertebrados como vertebrados, no se han observado BCF superiores a 1500, correspondiendo los mayores valores a ciertos peces, moluscos, crustáceos y anélidos. En apariencia, la bioconcentración está relacionada con los hábitos de vida más que con un grupo taxonómico en particular. En ningún caso se ha observado biomagnificación significativa, aunque se ha sugerido sobre la base de modelos matemáticos que ésta podría ocurrir en ciertas condiciones.<sup>43</sup>

## 2.5 ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA METALES PESADOS.

Las tecnologías disponibles en la actualidad y los factores a considerar en el momento de la evaluación y selección de un proceso de tratamiento de agua para remoción de metales pesados se especifican en determinar las ventajas y desventajas de los procesos a nivel tecnológico, económico y ambiental.

Los procesos disponibles para la remoción de metales pesados son numerosos y están siendo estudiados y probados internacionalmente (USEPA, 2000, 2001, 2002a, 2002b, 2003, 2004a, 2004b)<sup>44</sup>. Entre ellos encontramos:

- Precipitación/filtración
- Membranas (ósmosis inversa)
- Electrolisis

---

<sup>43</sup> Gaete H.; Silva J.; Riveros A.; Soto E.; Troncoso L.; Bay-Schmith E.; Larrain A. 1996. Efectos combinados y riesgos ecológicos de las concentraciones de Al, Cu, Ag y Cr, presentes en el puerto de San Vicente, Chile. *Gayana Oceanol.* P.107

<sup>44</sup> D'AMBROSIO, María Cristina, IIº Seminario Hispano-Latinoamericano sobre temas actuales de hidrología subterránea y IVº Congreso Hidrogeológico Argentino. Río Cuarto, 25-28 de octubre de 2005, disponible en línea [http://www.produccionbovina.com.ar/agua\\_bebida/30-tecnologias\\_remocion\\_arsenico.htm](http://www.produccionbovina.com.ar/agua_bebida/30-tecnologias_remocion_arsenico.htm).

### 2.5.1 Precipitación.

El proceso de coagulación y filtración es aquel mediante el cual material disuelto, suspendido o en forma coloidal se transforma resultando en partículas sedimentables por gravedad o pasibles de ser filtradas (Degremont, 1979). En la coagulación intervienen productos químicos que cambian las propiedades de cargas superficiales permitiendo que las partículas se aglomeren en un floc o partículas de mayor tamaño.

#### 2.5.1.1 Coagulación y floculación

La coagulación se realiza para desestabilizar las partículas coloidales y dar paso a la formación del floc sedimentable. Cuando los iones que se encuentran en solución pasan a la forma insoluble por medio de una reacción química se produce una precipitación química. Es fundamental en este tipo de reacción el pH ya que influyen en la eficiencia de remoción del sistema<sup>45</sup>.

La coagulación convierte los metales soluble en un producto insoluble permitiendo la separación por sedimentación y/o filtración (ver ilustración 10). Los coagulantes más comunes son las sales metálicas. Entre ellas se pueden mencionar<sup>46</sup>:

- Sulfato de Aluminio, hidróxido de aluminio o de cobre. Por ejemplo el sulfato de aluminio muestra en general mayor eficiencia que el sulfato férrico.
- Sales de hierro, cloruro férrico, sulfato férrico, hidróxido férrico.
- Cal o cal hidratada. Opera en un rango de pH mayor a 10,5 y en algunos casos requiere un tratamiento secundario para lograr una calidad de agua consistente. Este proceso se conoce como ablandamiento con cal y depende fuertemente del valor de pH.

Los factores que afectan la eficiencia del proceso son:

- Tipo y dosis de coagulante.
- Tiempo de mezcla.
- pH (se reduce la eficiencia a valores muy bajos o muy altos).

---

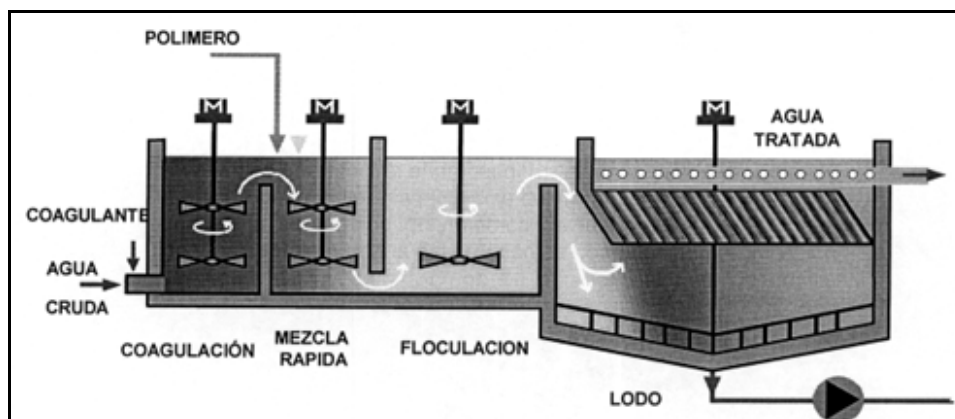
<sup>45</sup>RIBERA, Jesús, Implantación de un sistema de depuración de aguas residuales industriales en candel hijos, Unidad de Ingeniería Medioambiental – AIMME, 2006.

<sup>46</sup>D'AMBROSIO, Opcit. Pág. 43



- Temperatura
- Presencia de otros solutos inorgánicos (tales como sulfatos, fosfatos, carbonatos y calcio).

Ilustración 8. Esquema de Coagulación / Floculación / Sedimentación.



Fuente: [http://www.produccionbovina.com.ar/agua\\_bebida/30-tecnologias\\_remocion\\_arsenico.htm](http://www.produccionbovina.com.ar/agua_bebida/30-tecnologias_remocion_arsenico.htm)

### 2.5.2 Osmosis inversa.

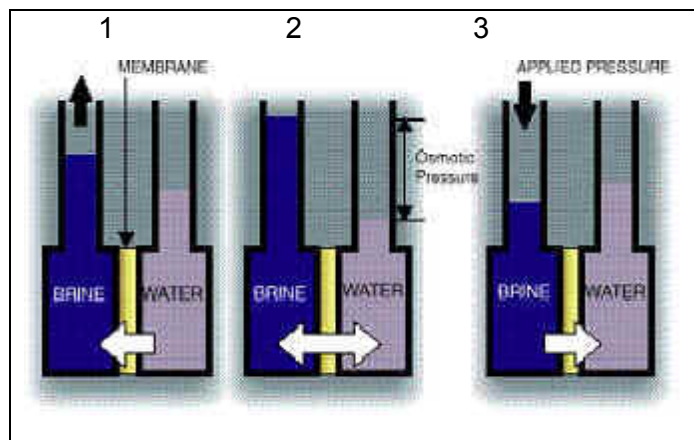
La ósmosis inversa se basa en el equilibrio de dos fluidos, ya sea que contengan diferente concentración de sólidos disueltos se ponen en contacto, estos se mezclarán hasta que la concentración se regule. Cuando estos dos fluidos están separados por una membrana semi-permeable (que deja pasar el fluido y no los sólidos disueltos), un fluido que contenga una menor concentración se moverá a través de la membrana hacia el fluido que contenga una mayor concentración de sólidos disueltos.<sup>47</sup>

Después de un tiempo el nivel de agua es mayor en uno de los lados de la membrana. La diferencia en altura se denomina presión osmótica. Aplicando en la columna del fluido una presión superior a la presión osmótica, obtendremos el efecto inverso. Los fluidos son presionados de vuelta a través de la membrana, mientras que los sólidos disueltos permanecen en la columna<sup>48</sup>.

<sup>47</sup> LENNTECH. Nanofiltración y ósmosis inversa. Documento en línea: <http://www.lenntech.com/espanol/nanofiltracion-y-osmosis-inversa.htm>

<sup>48</sup> Tecnología de membrana <http://www.lenntech.com/espanol/Nanofiltracion-y-osmosis-inversa.htm>

Ilustración 9. Ósmosis inversa



Fuente: <http://www.lenntech.com/espanol/Nanofiltracion-y-osmosis-inversa.htm>

1. El agua fluye desde una columna con bajo contenido en sólidos disueltos a una columna con alto contenido en sólidos disueltos (ver ilustración 9).
2. La presión osmótica es la presión necesaria para impedir que el agua fluya a través de la membrana, con el objeto de obtener un equilibrio.
3. Aplicando una presión superior a la presión osmótica, el agua fluirá en sentido inverso; el agua fluye desde la columna con elevado contenido en sólidos disueltos hacia la columna con bajo contenido en sólidos disueltos.<sup>49</sup>

La ósmosis inversa es una técnica que es básicamente aplicada en la preparación de agua potable. El proceso de la preparación de agua potable a partir de agua de mar es comúnmente conocido. Aparte de esto, la ósmosis inversa es aplicada en la producción de agua ultrapura y de agua de abastecimiento de calderas, se incluye en el proceso de la industria de alimentación, de galvanizados y en la industria láctea. Ya que sus aplicaciones son múltiples como se puede observar a continuación<sup>50</sup>:

- Ablandamiento del agua.
- Producción de agua potable.
- Producción de agua procesada.
- Producción de agua ultrapura (industrias electrónicas).

<sup>49</sup> Ibid., p. 1.

<sup>50</sup> Equipos de filtración por ósmosis inversa <http://www.aquapurificacion.com/osmosis.htm>

Concentración de solventes moleculares para industrias alimentarias y lácteas

Para una buena remoción y aplicación de la osmosis inversa se debe anteponer una unidad de pre- tratamiento que permita reducir el contenido de materia orgánica y donde las cantidades de bacterias sean muy bajas, para así prevenir la llamada biobstrucción de membranas, también es de importancia el pre-tratamiento por:

- Las membranas tienen un mayor límite de vida cuando se realizan pre-tratamientos.
- Se extiende el tiempo de producción de la instalación.
- Las tareas de mantenimiento se simplifican.
- Los costes de empleo son menores.

## 2.6 INDUSTRIA GALVANOTECNIA.

La galvanotecnia es una técnica que consiste en la transformación de una superficie que puede ser o no metálica mediante un recubrimiento metálico.

En general, los procedimientos tienen como finalidad modificar las propiedades de la superficie de los metales y estas pueden estar asociadas a motivos decorativos o funcionales. Los metales de uso más corriente para recubrir superficies son la plata, níquel, cromo y cobre para fines decorativos, siendo el cromado el revestimiento más extendido debido a su duración así como a su resistencia a la abrasión y al empañado<sup>51</sup>.

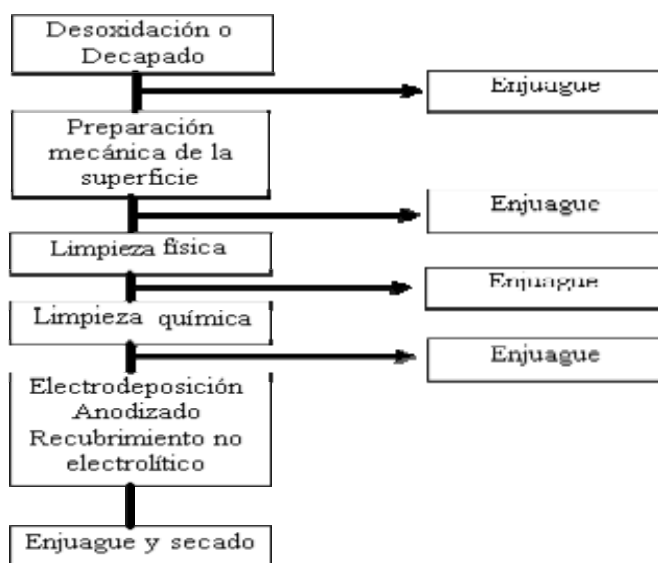
### 2.6.1 Descripción del proceso.

A continuación se presenta un cuadro en el cual se presenta el proceso de galvanotecnia:

---

<sup>51</sup> GREGORIO G., Oscar R. Dpto. Galvanoplastia de Laboratorio. Técnico de Desarrollos Técnicos GETRI, S. I. (libro en línea). Disponible en Internet: <http://www.getri.es/librogalv.htm>.

Cuadro 9. El proceso de tratamiento superficial.



Fuente: <http://www.esi.unav.es/Asignaturas/ecologia/informes/residuos/sgalvano.htm>.

Para que una pieza esté correctamente galvanizada, es necesario que, la superficie del hierro o acero se limpie a fondo, hasta la obtención de una superficie brillante, de tal forma que el hierro puede reaccionar con el metal fundido. Por este motivo, las piezas que han de ser galvanizadas, son sometidas a una serie de pre-tratamientos previos que por lo general consisten en:

#### 2.6.1.1 Desengrase.

Normalmente es necesario realizar un tratamiento de desengrase (por lo general alcalino) para eliminar los residuos de aceites y grasas, tales como aceites de corte procedentes de procesos de fabricación anteriores (laminado en frío, embutición, mecanizado). No es recomendable la realización de un desengrase con disolventes ya que redistribuye el contaminante como una película fina continua de grasa sobre la pieza<sup>52</sup>.

---

<sup>52</sup> Ibid., p.68

#### 2.6.1.2 Desengrase ácido.

Los baños de desengrase ácidos se componen de ácidos inorgánicos como el ácido clorhídrico y/o o-fosfórico, solubilizantes y agentes anticorrosivos. Este tipo de baños forman emulsiones de aceite estables, por lo que no es posible la separación de aceites y grasas para su eliminación periódica del baño. De la misma forma tampoco son adecuadas las instalaciones de ultrafiltración, ya que los agentes tensoactivos empleados en este caso, debido a su tamaño molecular, se separan junto con los aceites y grasas emulsionados, disminuyendo bastante la calidad del baño, siendo necesario la adición de estos tensoactivos, por lo que la instalación no sería rentable.

La temperatura de trabajo de los baños de desengrase de este tipo suele ser relativamente baja, entre 20° C y 40° C<sup>53</sup>.

#### 2.6.1.3 Desengrase alcalino.

El proceso de desengrase más común y efectivo utilizado en el galvanizado es una solución alcalina en caliente. Se distingue entre los desengrases alcalinos de alta temperatura (alrededor de 85° C) y los de baja temperatura (a partir de 40° C).

La composición básica de los baños de desengrase es el hidróxido sódico al que suelen añadirse otras sustancias con propiedades alcalinas como carbonato sódico, silicatos sódicos, fosfatos alcalinos, bórax, etc. Asimismo, se añaden agentes tensoactivos específicos (jabones), emulsionantes y dispersantes que facilitan la limpieza<sup>54</sup>.

#### 2.6.1.4 Desengrase decapante.

La utilización de este tipo de baños está restringida a aquellos casos en los que las piezas a galvanizar tengan pequeñas cantidades de aceites y grasas adheridas a su superficie. En este caso se añaden al propio baño de decapado sustancias desengrasantes, teniendo lugar ambos procesos de forma simultánea. Su utilización suele ser problemática, tanto en lo que respecta a su eficacia, como a la hora de valorizar los baños, debido a la presencia de aceites y grasas emulsionados.

Al ser menor el poder de desengrase, pueden aparecer los aceites y grasas incluso en la fase de galvanizado, en donde por efecto de las altas temperaturas serán captados por

---

<sup>53</sup> Ibid., p.68

<sup>54</sup> Ibid., p.69

los sistemas de aspiración de humos, no siendo recomendable la aparición de compuestos orgánicos en este tipo de sistemas<sup>55</sup>.

#### 2.6.1.5 Mantenimiento de la capacidad del baño de decapado.

La actividad del baño de decapado va disminuyendo al aumentar su concentración en hierro, por lo que es necesario realizar adiciones periódicas de ácido para mantenerla. También, será necesario reponer las pérdidas producidas tanto por evaporación como por arrastre de las piezas, compensándose estas pérdidas mediante la adición de agua. Este sistema puede mantenerse así hasta que se alcanza el límite de solubilidad del cloruro ferroso ( $\text{FeCl}_2$ ) en el propio ácido clorhídrico, por lo que una vez que se ha llegado a este límite ya no será posible seguir decapando. Igualmente, si el contenido de hierro de la solución de decapado es superior a los 140-150 g/l, el baño de decapado estará agotado, siendo necesaria su renovación.<sup>56</sup>

#### 2.6.1.6 Desgalvanizado.

En las piezas mal galvanizadas o aquéllas cuyo recubrimiento de zinc debe ser renovado es necesario que, previamente a su introducción en el baño de zinc, su superficie metálica esté brillante, por lo que será necesario eliminar esta capa de zinc en el baño de decapado. Por lo general, tanto las piezas previamente galvanizadas como las no galvanizadas se decapan en el mismo baño, por lo que los baños de decapado agotados también contendrán cantidades no despreciables en zinc (a veces pueden incluso superar los 60 g/l). La valorización y eliminación de estos baños de decapado agotados es más complicada que la del resto de baños similares, debido a los contenidos en zinc, el cual suele ser limitante a la hora de realizar una serie de procesos de valorización (por ejemplo, para la producción de cloruro férrico). Asimismo, en los procesos de valoración de los baños de decapado agotados con alto contenido en zinc, el contenido en hierro está limitado.<sup>57</sup>

---

<sup>55</sup> Ibid., p. 69.

<sup>56</sup> Documento en línea: <http://www.istas.net/fittema/att/li4.htm>

<sup>57</sup> Ibid., anexo D.

#### 2.6.1.7 Segundo Lavado.

Seguido del baño de decapado es necesario realizar una etapa de lavado de las piezas, con el fin de evitar que éstas arrastren ácido y sales de hierro a las etapas posteriores de mordentado y al baño de zinc. Teóricamente, por cada gramo de hierro que se arrastre y llega al baño se forman 20 gramos de trazas de zinc, por lo que es indispensable que esta etapa de lavado sea lo suficientemente eficaz. Estos baños de lavado pueden utilizarse en la preparación de nuevos baños de decapado, (normalmente) o de desengrase.

#### 2.6.1.8 Mordentado.

El mordentado es necesario para disolver y absorber cualquier resto de impurezas que queden sobre la superficie metálica y para asegurar que la superficie limpia de hierro o acero se pone en contacto con el zinc fundido. La función del mordentado es la eliminación de las últimas impurezas y mantener limpia la superficie hasta que la pieza se sumerja en el baño de zinc. Los mordientes, que contienen cloruro de amonio, también provocan un efecto de decapado suplementario sobre la superficie de la pieza.

Normalmente suelen utilizarse mordientes a base de cloruro de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ) y cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), con una proporción del 60% de  $\text{ZnCl}_2$  y el 40% de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , siendo el contenido en sales de estos baños de unos 400 g/l.<sup>58</sup>

#### 2.6.1.9 Resumen de la secuencia de operación óptima.

A la hora de rediseñar una instalación de galvanizado en caliente se recomienda incluir, tal y como se ha descrito en los apartados anteriores, las siguientes operaciones:

- desengrase
- lavado
- estanco
- decapado
- lavado
- estanco
- mordentado
- secado

---

<sup>58</sup> Ibid., anexo E.

- galvanizado

Ésta es considerada en la actualidad como la mejor operación disponible para el galvanizado de piezas<sup>59</sup>.

#### 2.6.2 Impacto ambiental que produce la galvanotecnia

La industria galvánica involucra consumo de agua en los baños de proceso, en las etapas de lavado y enjuague. Las descargas de estas aguas residuales están compuestas por efluentes que se caracterizan por su carga contaminante tóxica en términos de su contenido de cianuro, metales pesados como el cromo hexavalente, ácidos, álcalis. El proceso de recubrimiento metálico en general, es muy poco efectivo ya que sólo una pequeña cantidad de las sustancias utilizadas de éste se deposita en la pieza. Hasta un 90% de las sustancias pueden evacuarse a través de las aguas residuales<sup>60</sup>.

Los vertimientos líquidos pueden presentar características ácidas o básicas según donde provengan. En particular, los residuos líquidos provenientes de procesos de cromado, se caracterizan por su contenido de ácido crómico libre y bicromatos en solución neutra o débilmente ácida. También pueden contener altas cantidades de sólidos en suspensión, sustancias tóxicas disueltas y grasa proveniente de los baños de desengrase; si se utilizan baños ácidos de cobre, níquel, plata entre otros. Las aguas ácidas generadas contienen los metales correspondientes en concentraciones de trazas, más los diversos compuestos asociados a productos anexos agregados al baño. Los principales compuestos disueltos que deben ser controlados son: cromo hexavalente, estaño bivalente, iones de paladio, cobre, níquel, plata, sodio y potasio<sup>61</sup>.

---

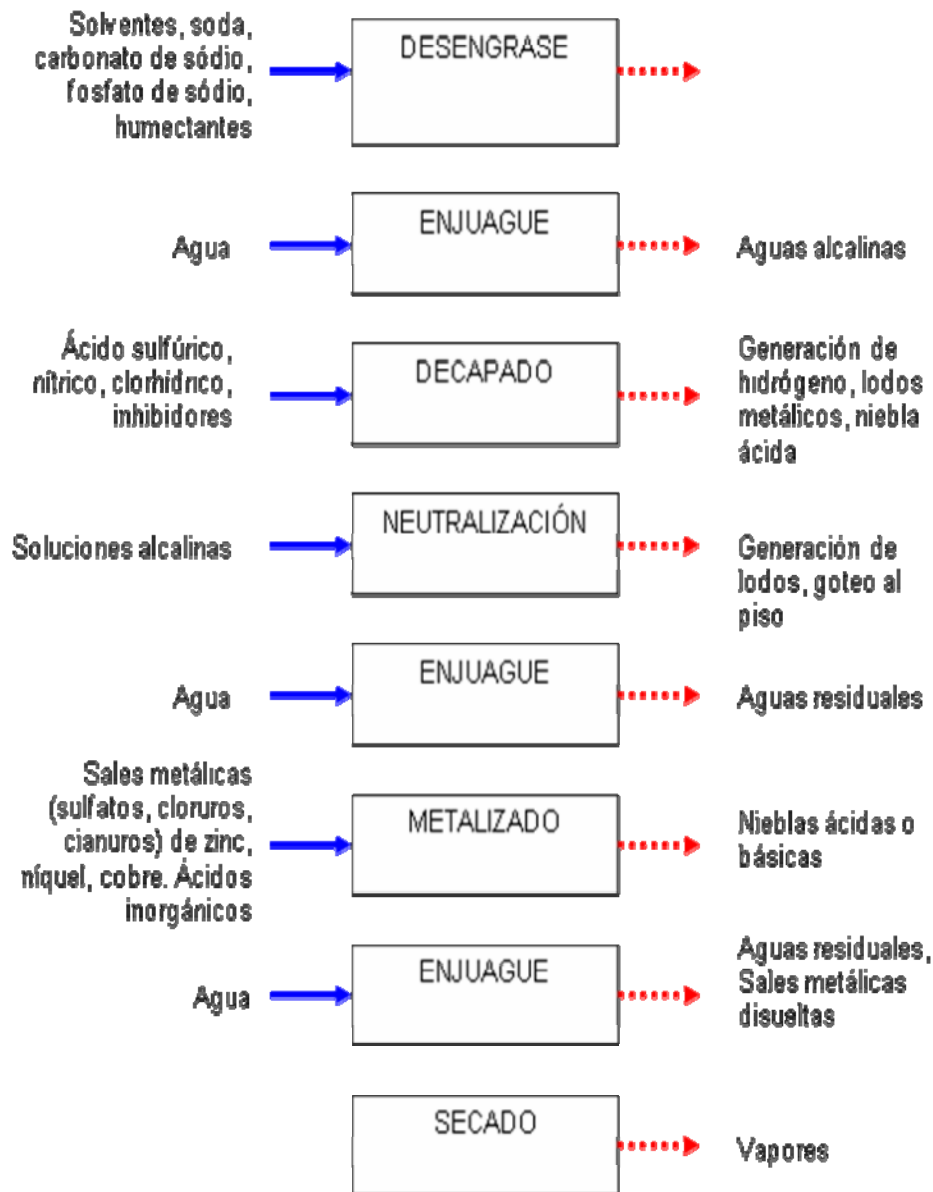
<sup>59</sup> <http://www.conama.cl/rm/568/article-908.html>

<sup>60</sup> Ibid. p.56

<sup>61</sup> Manual de minimización, tratamiento y disposición. Concepto de manejo de residuos peligrosos para el giro de la galvanoplastia. 1998



Ilustración 10. Proceso de galvanotecnia



Fuente: <http://www.esi.unav.es/Asignaturas/ecologia/informes/residuos/sgalvano.htm>.



- Planta de Fundición. Se encuentra ubicada en Usme. Es donde se fabrican y pulen las piezas como: herrajes, hebillas, adornos, etc.
- Planta de Servicios de Acabado. Se encuentra ubicada en el barrio La Pradera. Es donde se realizan los recubrimientos metálicos de las piezas fabricadas por la empresa y las piezas suministradas por otros clientes.
- Planta de Cromado. Se encuentra ubicada en el barrio Ricaute. Se dedica, exclusivamente, al recubrimiento de las piezas con cromo.

Esta empresa trabaja los siguientes acabados: cobre brillante y antiguo, níquel brillante, plata brillante y antigua, oro brillante y latón. Para ello se cuenta con los baños electrolíticos de estos metales, que contienen ácidos, cianuros, aditivos y metales pesados.

Dentro de la generación de contaminantes en las diferentes etapas productivas, se presentan los siguientes:

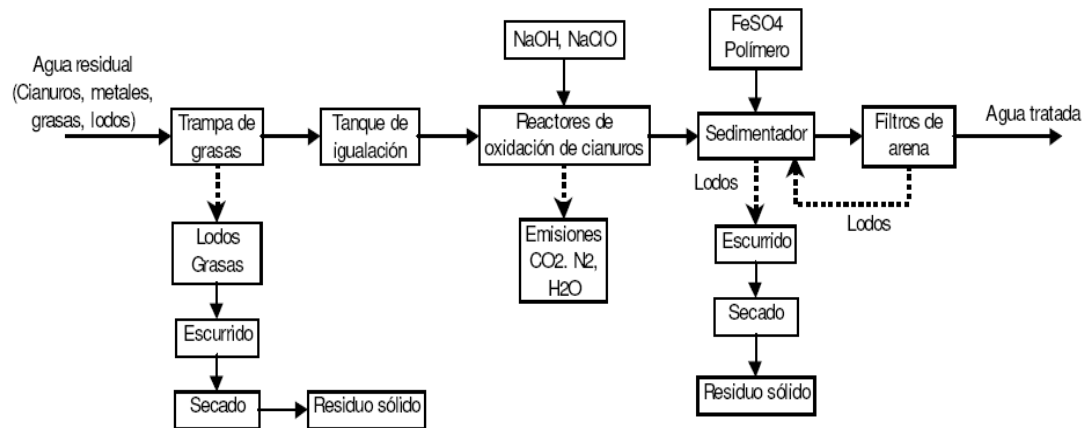
- Aguas de lavado: cianuros, lodos de metales pesados, ácidos y bases, sales de metales Cr, Cu, Ni, etc.
- Emisiones Gaseosas: se dan en los baños electrolíticos y de desengrase.
- Residuos: se genera el alambre utilizado para amarrar las piezas, solventes, trapos, papel y recipientes usados.
- Planta de Servicios de Acabado. Se encuentra ubicada en el barrio La Pradera. donde se realizan los recubrimientos metálicos de las piezas fabricadas por la empresa y las piezas suministradas por otros cliente

Alfacrom LTDA, hace parte del “Convenio Marco de Concentración para la Producción Más Limpia y Competitividad, entre el subsector de la Galvanotecnia y el Departamento Técnico Administrativo del Medio Ambiente DAMA”, que entre sus convenios está reducir los contaminantes por efluentes líquidos; por ello se cuenta con una PTAR en la planta de la pradera. La PTAR cuenta con: trampa grasa, tanque de igualación, reactores de oxidación, sedimentador, filtro de arena.<sup>62</sup>

---

<sup>62</sup> GIOVANNETTI SANCHEZ, Silvia Lorena. Lineamientos para la aplicación de un sistema de gestión ambiental en la empresa Alfacrom LTDA, Op. Cit., p. 67.

Ilustración 12. Diagrama de flujo industria galvánica



Fuente: GIOVANNETTI SANCHEZ, Silvia Lorena. Lineamientos para la aplicación de un sistema de gestión ambiental en la empresa Alfacrom LTDA. pag. 62.

Ilustración 13. PTAR, Alfacrom LTDA



Fuente: GIOVANNETTI SANCHEZ, Silvia Lorena. Lineamientos para la aplicación de un sistema de gestión ambiental en la empresa Alfacrom LTDA..

Ilustración 14. PTAR, Alfacrom LTDA. Sedimentador



Fuente: OROZCO y TORO. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007.

Ilustración 15. PTAR, Alfacrom LTDA. Filtros de carbón activado



Fuente: OROZCO y TORO. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007.

### 3.2 CORINTER S.A

Corinter S.A es una empresa dedicada a la fabricación de hidróxidos de aluminio e hidróxidos de magnesio en forma de suspensiones concentradas y geles en polvo, que cumplen con las especificaciones de calidad de las farmacopeas internacionales, y con las exigencias de los Laboratorios que consumen estas materias primas para la fabricación de antiácidos gástricos comerciales.

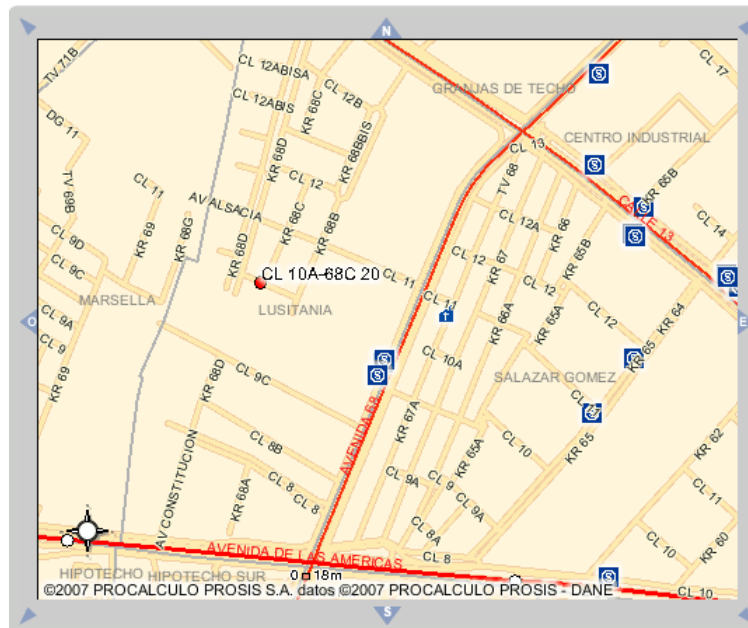
Ilustración 16. CORINTER S.A.



Fuente: <http://www.corinter.com.co/empresa.htm>.

Esta empresa se ubica en la Calle 10A # 68C-20, en la ciudad de Bogotá, en la zona industrial de la capital.

Ilustración 17. Localización CORINTER S.A.



Fuente: <http://www.mapas.com.co/visor2007/colombia.visor/visor.jsp>

CORINTER S.A. posee en el mercado dos grandes productos que se explican a continuación:

### 1. Suspensiones Concentradas

Se emplean normalmente como agentes activos en la producción de suspensiones comerciales, donde se desea una mayor actividad antiácida y velocidad de respuesta que la obtenida con productos en polvo.

Ilustración 18. Suspensiones Concentradas.



Fuente: <http://www.corinter.com.co>

CORINTER fábrica suspensiones concentradas de *Hidróxido de Aluminio* y de *Hidróxido de Magnesio*. Se expenden en forma de Hidrogeles Prensados o Fluidos bombeables, con diferentes contenidos de ingrediente activo y amplia gama de viscosidades para que se

ajusten a requisitos especiales de las formulaciones como capacidad antiácida, velocidad de reacción, estabilidad a la sedimentación.

- Hidróxidos de Aluminio  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{CO}_2 \cdot y \text{H}_2\text{O}$

Los hidróxidos de aluminio se precipitan de las sales de Aluminio en forma de Hidrogeles homogéneos formados por complejos poli-hidroxílicos de Aluminio, con agua y gas carbónico fuertemente ligados a la estructura coloidal tridimensional.

Por composición corresponden, más exactamente, a Hidroxi-carbonatos de Aluminio altamente reactivos. La presencia de los Hidroxi-carbonatos influye decisivamente en las propiedades más determinantes de las Hidróxidos de Aluminio como son su viscosidad, capacidad antiácida y estabilidad al envejecimiento. El mecanismo por el cual los Hidroxi-carbonatos estabilizan el gel, que impide reacciones de polimerización secundaria, que podrían ocurrir durante el almacenamiento, se controla exactamente durante el proceso de manufactura garantizando máxima actividad y estabilidad.

Ilustración 19. Suspensiones concentradas de Hidróxido de Aluminio



Fuente: <http://www.corinter.com.co>

- Hidróxidos de Magnesio  $\text{Mg}(\text{OH})_2$

Los hidróxidos de magnesio precipitan de las sales de Magnesio en forma de Hidrogeles homogéneos fuertemente básicos, con valores de pH entre 10 y 11.



Las bases alcalinas de Magnesio son, junto con las de Aluminio, las más importantes sustancias antiácidas gástricas existentes. Poseen alta capacidad para ligar ácido, pero su acción es de corta duración y además muestran efecto laxante.

La mayoría de las formulaciones comerciales contienen mezclas de Hidróxidos de Aluminio y Magnesio; las bases de Magnesio sirven para el doble propósito de elevar rápidamente el pH del jugo gástrico y contrarrestar el efecto es típico del Hidróxido de Aluminio que puede ocasiona estreñimiento en algunos pacientes.

Ilustración 20. Suspensiones concentradas de Hidróxido de Magnesio.



Fuente:<http://www.corinter.com.co>

- Hidróxido de Aluminio e Hidróxido de Magnesio mezclados

Suspensiones antiácidas concentradas, de consistencia fluida, que se emplean como sustitutos totales del Gel de Hidróxido de Aluminio y de la pasta de Hidróxido de Magnesio que se suministran en forma separada y se mezclan en el momento de la fabricación del antiácido comercial.

Este boletín incluye las especificaciones de dos referencias de suspensiones compuestas de Hidróxido de Aluminio y Magnesio, de tipo fluido, que se pueden trasegar con los equipos de bombeo normalmente usados en los laboratorios farmacéuticos o simplemente volteando el envase, lo que simplifica al consumidor el proceso de manufactura comparado con el manejo de los hidróxidos prensados.



Ilustración 21. Suspensiones concentradas de Hidróxido de Aluminio e Hidróxido de Magnesio mezclados.



Fuente:<http://www.corinter.com.co>

## 2. Geles en polvo

Se suministran como polvos amorfos, inodoros, de color blanco, que conforman las especificaciones de farmacopea y las propias de los laboratorios especializados en esta variedad de antiácidos como es su elevada pureza química, inalterabilidad de sus propiedades durante conservación y protección al sistema digestivo. Estas propiedades se logran inicialmente en las suspensiones concentradas, que son el punto de partida de los hidróxidos en polvo.

## 4. METODOLOGÍA

En este capítulo se describe de una manera detallada los pasos que se realizaron para el desarrollo de este proyecto de investigación:

### 4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

En esta investigación se controlaron y midieron las siguientes variables cuadro 10:

Cuadro 10. Variables a medir y a controlar

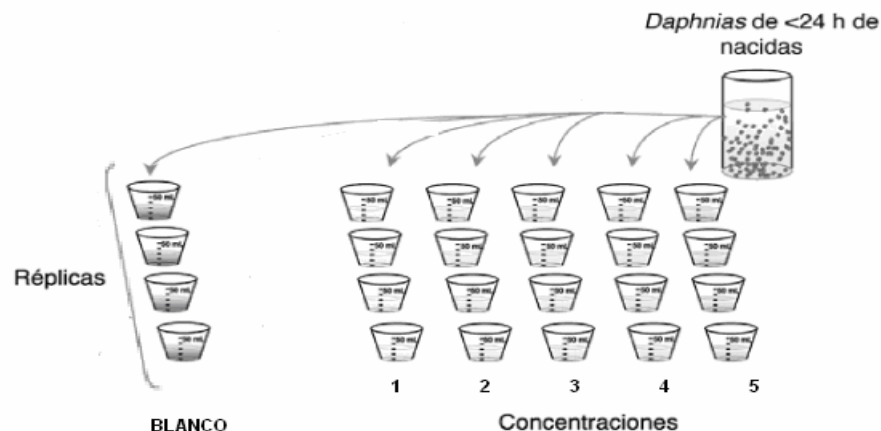
VARIABLES A MEDIR Y CONTROLADAS	CONCEPTO
Variable independiente	La variable que se manejó como independiente en las pruebas de toxicidad fue la concentración de las sustancias de prueba o de interés (Dicromato de Potasio, Sulfato de Aluminio y Nitrato de Plata) y el porcentaje de dilución del vertimiento, buscando establecer un efecto sobre una determinada población en donde todas las unidades experimentales son homogéneas.
Variable dependiente	La variable que se manejó fue la obtención de la concentración letal media del Aluminio y Plata en un tiempo de 48 horas de exposición por el ciclo de vida del organismo prueba (80-90 días) ( $CL_{48}^{50}$ ), dado que este resultado depende de los efectos que el ión tóxico, del Aluminio y Plata, le ocasiona a los organismos de prueba.
Constantes	El número de organismo utilizados (20 neonatos de <i>Daphnia pulex</i> por cada concentración), tiempo de exposición al tóxico (48 horas) y los parámetros fisicoquímicos requeridos durante el mantenimiento de los organismos y durante las pruebas toxicológicas (pH, dureza, temperatura y oxígeno disuelto).
(CETESB).	Estos protocolos fueron suministrados por el grupo de Juliana Orozco y Angela María Toro (Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre <i>Daphnia pulex</i> ).

Fuente: OROZCO y TORO. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. p. 71.

Los parámetros de las constantes fueron controlados con el fin de cumplir con los protocolos internacionales validados para este tipo de ensayos.

Inicialmente se realizaron pruebas preliminares, utilizando rangos entre concentraciones 0,001-10 ppm para aluminio y 0,001-10 ppm para plata, según la metodología CETESB en el cuadro de concentraciones para ensayos preliminares se realizan en base 10. Obtenidos los rangos en el ensayo preliminar, se realizan las diez (10) pruebas definitivas, utilizando cinco (5) organismos invertebrados por tubo de ensayo, baterías de cinco concentraciones más el control y cuatro réplicas por ensayo con un total de 24 tubos de ensayo por prueba toxicológica, 120 organismos por montaje y 20 organismos por concentración correspondiendo cada uno al 5%, todo según la metodología CETESB. A continuación se presenta un montaje:

Ilustración 22. Montaje de pruebas de toxicidad



Fuente: CASTILLO, Gabriella. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. pag. 61.

Cuando se obtienen los resultados de mortalidad, se realiza el análisis Probit para la obtención de la respectiva  $CL_{48}^{50}$ , utilizando el protocolo LB06 “Análisis de Regresión y Análisis Probit”, donde se dan a conocer los pasos a seguir para la obtención de la misma; la información obtenida a partir del experimento diseñado estadísticamente, fue analizado por el método conocido como Análisis de Varianza (ANOVA).

Se trata de una técnica que consiste en aislar y estimar las varianzas separadas que contribuyen a la varianza total de un experimento; es entonces posible, ensayar si ciertos factores producen resultados significativos diferentes de las variables ensayadas. En este caso, se realizó para determinar si existían o no, diferencias significativas en la tasa mortalidad de los diferentes tratamientos.

Estos protocolos hacen parte del proyecto de investigación de bioensayos y se encuentran disponibles en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el profesor Químico industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

#### **4.2 PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUIDA.**

El agua reconstituida fue realizada según metodología CETESB, protocolo L5.017 y Escobar Malaver con el fin de obtener las condiciones de sales disueltas encontradas en el hábitat natural de este tipo de organismo invertebrado, por medio de la dureza, la cual se debe encontrar en un intervalo entre 40 – 48 mg/l  $\text{CaCO}_3$ , preparada a partir de agua desionizada. Para obtener el agua de dureza, se preparan los siguientes reactivos, con las siguientes concentraciones:

Tabla 1. Soluciones de reactivos para agua reconstituida

CONCENTRACIÓN	REACTIVO
10 g/L	$\text{NaHCO}_3$
13.5 g/L	de $\text{CaCl}_2$
10 g/L	KCl
20,5 g/L	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Fuente: Escobar Malaver. 1997.

Para obtener un agua que simule las condiciones del hábitat de la *Daphnia pulex*, el agua reconstituida se prepara con los siguientes volúmenes de las soluciones:

Tabla 2. Forma de preparación de agua reconstituida.

No.	Reactivo	Cantidad a preparar	Mililitros (ml) adicionados	
			A partir de dureza cero (0 mg/l)	A partir de dureza veinte (20 mg./l)
1	NaHCO <sub>3</sub>	20	100	56
	(8 ml)*			
2	CaCl <sub>2</sub>	20	75	42
	(6 ml)*			
3	KCl	20	38	22
	(3 ml)*			
4	MgSO <sub>4</sub>	20	30	16
	(2.5 ml)*			
		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.

Una vez preparada el agua reconstituida, esta se debe oxigenar por un período mínimo de 48 horas y antes de agregar los organismos se debe realizar la prueba de viabilidad. Para mantener un control y garantizar las condiciones ideales, del agua, para la *Daphnia pulex*, se procedía a determinar la dureza (40 - 48 mg/L), el pH (7.3 – 7.5), el Oxígeno Disuelto (mayor a 6 mg/L) y la temperatura (20 ± 2°C), cada vez que se prepara el agua reconstituida

Tabla 3. Formato de control del agua reconstituida.

ACUARIO No	pH	OXIGENO DISUELTO		DUREZA	OXIGENO DISUELTO	
		OD i	Fecha		OD f	Fecha

Fuente: OROZCO Y TORO (2007).

En este formato se registraban todos los datos, los cuales deben estar dentro de los siguientes rangos.

Tabla 4. Parámetros de control a evaluar en el agua reconstituida.

PARÁMETROS DE CONTROL	RANGO	RANGO IDEAL	MÉTODO SEGÚN STANDARD MÉTODOS
Dureza	40 – 48 mg/l	45 mg/l	2340 C Titulométrico EDTA
Oxígeno Disuelto	5 – 7 mg/l	6 mg/l	4500-0 G. Electrodo de Membrana
pH	7.3 – 7.5	7.4	4500-H+ B Electrométrico.
Temperatura	18 – 22 ° C	20 °C	2550 Laboratorio y de Campo.

Fuente: ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Determinación de la toxicidad agua de los detergentes mediante sistemas estáticos, utilizando *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle 1994.

Para determinar los efectos que generan la calidad del agua reconstituida preparada, sobre los organismos prueba, se realiza ensayos de viabilidad, que consiste en exponer 5 organismos en el agua reconstituida por un tiempo de 24 horas, determinando el porcentaje de mortalidad que debe ser menor al 10%, si se supera este porcentaje se descarta el agua reconstituida como factor de mortalidad y se procede a preparar una nueva agua con las anteriores características.

#### **4.3 PREPARACIÓN DEL MEDIO BRISTOL Y CONCENTRACIONCENTRIFUGACIÓN DE ALGAS VERDES *Selenastrum Capricornutum*, *Scenedesmus Quadricauda*.**

Este medio se utiliza con el fin de multiplicar las algas, en condiciones estandarizadas por medio de la fotosíntesis. Hay diferentes medios para cultivar algas verdes en el laboratorio. El más utilizado es el medio Bristol.

Tabla 5. Preparación del medio Bristol.

No.	COMPUESTO	STOCK	ml de Stock para 1L/ agua destilada
1	NaNO <sub>3</sub>	25.0 gr./l	10
2	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2.5 gr./l	10
3	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	7.5 gr./l	10

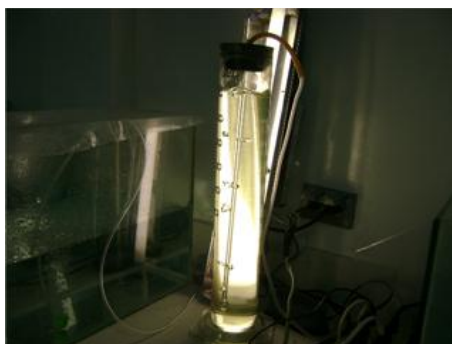
No.	COMPUESTO	STOCK	ml de Stock para 1L/ agua destilada
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7.5 gr./l	10
5	NaCl	2.5 gr./l	10
6	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17.5 gr./l	10
7	KOH	15.5 gr. / 500 ml	1
	EDTA	25.0 gr. / 500 ml	
8	FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	2.49 gr. / 500 ml	1
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.05 ml. / 500 ml	
9	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	5.71 gr. / 500 ml	1
<b>SOLUCION DE ELEMENTOS TRAZA</b>			
10	ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	4.41 gr. / 500 ml	1 ml del stock combinado
11	MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0.72 gr. / 500 ml	
12	MoO <sub>3</sub>	0.355 gr. / 500 ml	
13	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0.785 gr. / 500 ml	
14	Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.245 gr. / 500 ml	
15	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.174 gr. / 500 ml	

Fuente: ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Determinación de la toxicidad agua de los detergentes mediante sistemas estáticos, utilizando Daphnia Magna. Universidad de la Salle 1994.

Se deben adicionar los volúmenes indicados de macronutrientes, más un (1) ml de los elementos traza y completar el volumen de la probeta que se desee preparar. Posteriormente se lleva la solución ya preparada a la autoclave a una presión de 15 PSI y 250 °F, por 15 minutos, luego se saca de la autoclave y se deja enfriar a temperatura ambiente antes de agregar los dos (2) ml.(según la metodología CETESB)

A continuación se llevaba a una probeta de 2 litros por un período de 15 días, con ayuda de una lámpara luminiscente de luz fría prendida las 24 horas y oxigenadas para su constante movimiento y oxigenación, garantizando el proceso de fotosíntesis.

Ilustración 23. Montaje medio Bristol para algas verdes.



Fuente: ALARCON Y ARDILA. 2008.

Pasado el tiempo se procede a centrifugar para obtener algas concentradas. Según el protocolo la centrifugación se debe realizar de 3000 – 5000 rpm por 5 minutos; pero debido a que la centrifuga que se encuentra en el laboratorio solo llega a 4000 rpm, y a la ausencia de tubos DINAC II Centrifuge (Brand), se debe realizar a 2000 rpm por un tiempo de diez (10) minutos, para evitar la ruptura de los tubos de ensayo y asegurar el concentrado de las algas. Las algas deben estar siempre refrigeradas y rotuladas con la fecha de preparación y centrifugación para tener un control sobre estas.

Para mayor información, se encuentra el protocolo LB02 “Preparación del medio Bristol y centrifugación de algas *Selenastrum*”, donde se describe la metodología para la realización del medio Bristol. Este protocolo hace parte del proyecto de investigación de bioensayos, y se encuentra disponible en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el docente Químico industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

#### **4.4 ALIMENTACIÓN DE ORGANISMOS PRUEBA.**

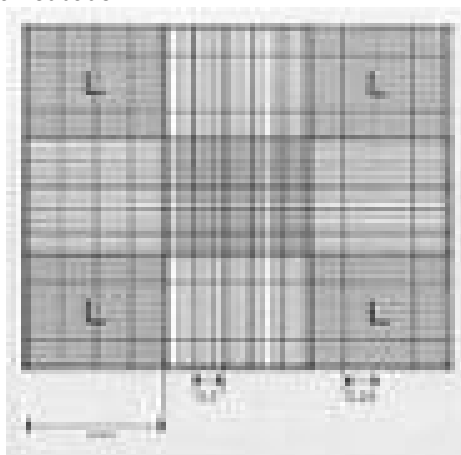
*Selenastrum* y *Clorella* fue el tipo de algas verdes indicadas por la metodología CETESB, para el alimento de la *Daphnia pulex*; este tipo de algas se cultivaron en el laboratorio de Bioensayos de la Universidad de la Salle por medio de la preparación del medio Bristol explicado anteriormente. Después de realizado el medio y pasado su proceso fotosintético y de centrifugación, se ejecuta un conteo de algas con la finalidad de proporcionar a los organismos la cantidad ideal, en la cual no se sobre alimentan ni se limiten.



Se tuvo en cuenta que cada organismo en su mantenimiento, necesita una dosis de  $3.0 \times 10^6$  células por *Daphnia pulex* /día., según metodología CETESB y Universidad Nacional de Colombia.

Para este procedimiento se utiliza una herramienta científica que permite realizar el conteo de células por un volumen de terminado ( $1 \times 10^{-4}$  ml), la cámara cuenta con una profundidad de 0.1 mm. La cuadrícula de recuento muestra 9 cuadros grandes, cada uno de un  $(1) \text{ mm}^2$ ; los cuatro cuadrados grandes de las esquinas señalados con una L están en 16 cuadrados con aristas de 0.25 mm.<sup>63</sup>

Ilustración 24. Cuadrícula cámara neubauer



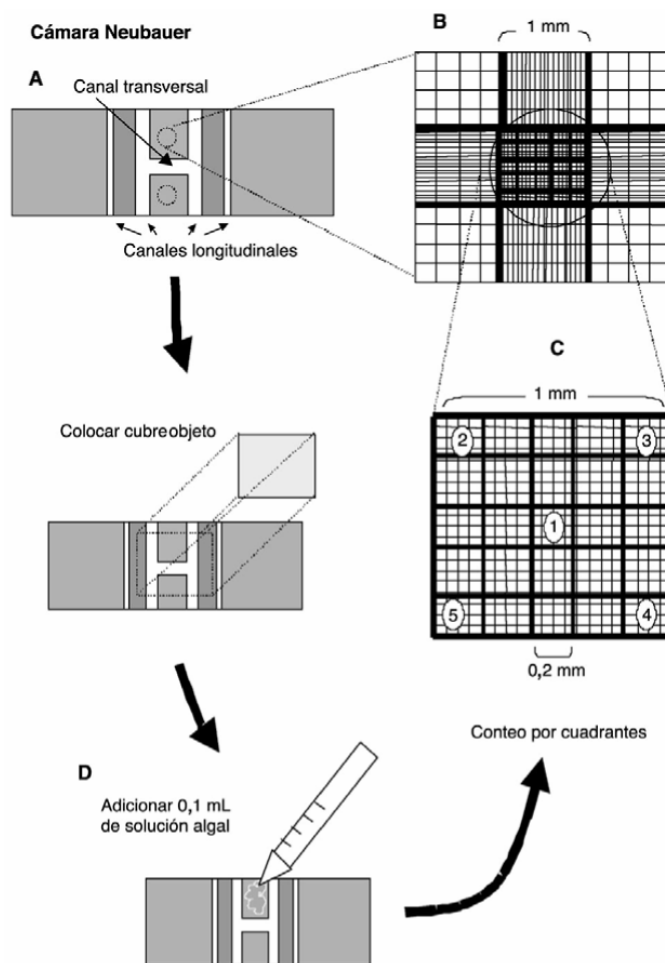
Fuente: CASTILLO, Gabriella. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. pag. 91.

La realización de este procedimiento se encuentra establecido el protocolo LB03 “Conteo de Algas con la Cámara Neubauer”, donde se describe los pasos a seguir para el desarrollo del mismo. Este protocolo hace parte del proyecto de investigación de bioensayos y se encuentra disponible en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el docente, Químico industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

---

<sup>63</sup> Ibid., p. 77.

Ilustración 25. Cámara de Neubauer.



Fuente: CASTILLO, Gabriella. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. pag. 91.

#### 4.5 ACLIMATACIÓN DE LOS ORGANISMOS PRUEBA.

El cambio de grupo se realizó por 15 días. Se procedió de forma gradual a la adaptación de los organismos al nuevo grupo para evitar que estos fueran a sufrir estrés, nacieran efípidos o empezara a descender la población.

#### 4.6 MANTENIMIENTO DEL CULTIVO DE LOS ORGANISMOS *DAPHNIA PULEX*.

El mantenimiento del cultivo, se realizó según la metodología CETESB (L5.018), para conservar un cultivo masivo de 4 edades. Como se muestra en la ilustración 21. Los cultivos de *Daphnia pulex* se mantuvieron en peceras de 2 litros, con agua reconstituida y

20 individuos en cada una de ellas, manejando la relación de 1/100 (1 individuo por cada 100ml de agua), con el fin de establecer el escenario óptimo para el crecimiento, alimentación y reproducción de los individuos.<sup>64</sup>

Ilustración 26. Mantenimiento de cultivos de *Daphnia pulex*



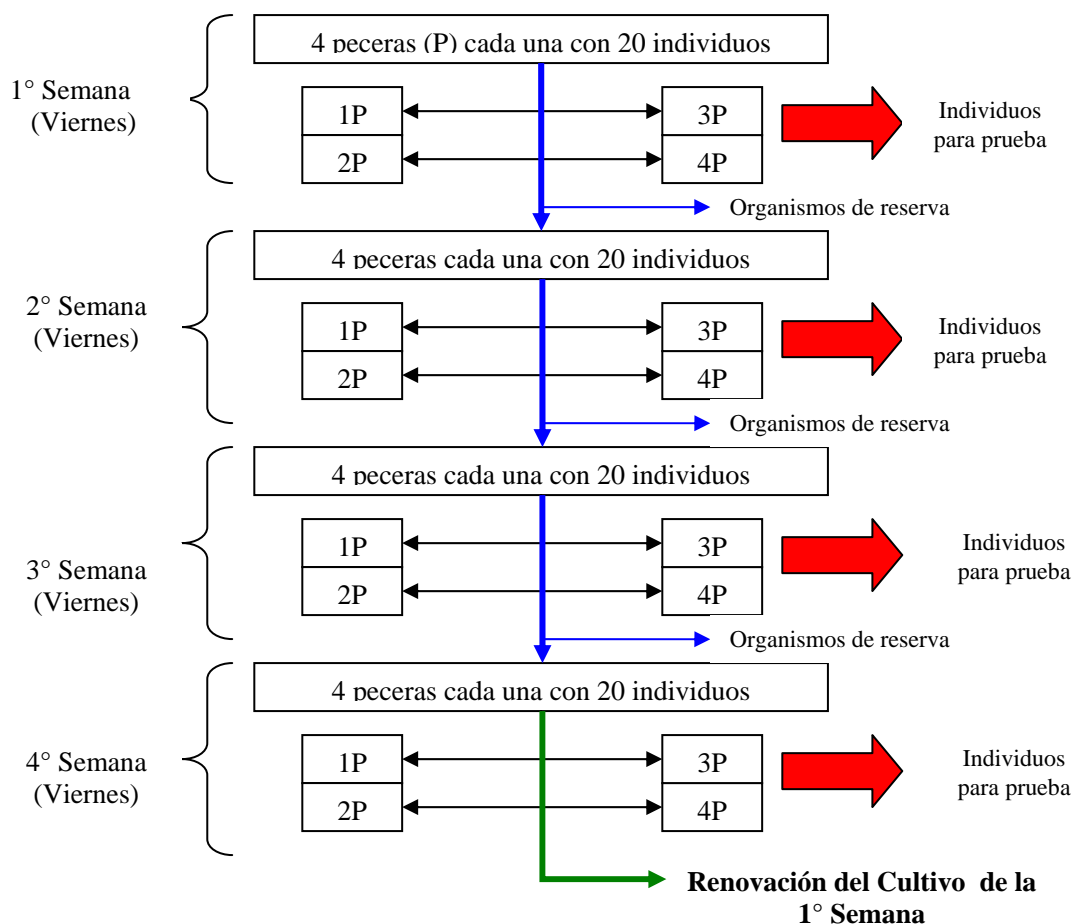
Fuente: Alarcon y Ardila 2008.

El cultivo era renovado de acuerdo al ciclo reproductivo de la *Daphnia pulex*, conservándose, únicamente, en las etapas óptimas de reproducción. En las peceras se encontraban separados por edad desde 0–1 semanas, 1-2 semanas, de 2-3 semanas y de 3-4 semanas, eliminando los organismos mayores a cinco semanas y renovando el cultivo con neonatos que se obtuvieron ese día. Se controlaban las semanas según la fecha de separación que cada pecera tenia. El cultivo se manejo en 4 peceras y 4 reservas, cada una con 5 organismos, por semana obteniendo 16 peceras en el mes con un total de 320 organismos cultivados. Hasta obtener organismos de quinta generación. A continuación se muestra el proceso de separación, mantenimiento y renovación del cultivo de *Daphnia pulex*.

---

<sup>64</sup> Ibid., p.80.

Ilustración 27. Separación y mantenimiento de organismos prueba.



Fuente: BERNAL Y ROJAS 2007 modificado por OROZCO Y TORO. 2008.

Se verificaba diariamente la temperatura ambiente, corroborando que se encontrara en un promedio de  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Con el fin de mantener condiciones óptimas para el crecimiento de los individuos, estuvieron expuestos con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, controlado con un temporizador, el cual apagaba la luz a las 9:00 p.m. y la volvía a prender a las 5:00 a.m., y una intensidad lumínica de alrededor de 1000 lux.

Ilustración 28. Temporizador.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

#### 4.6.1 Separación de organismos.

La separación de los organismos se realizó todos los días, con ayuda de una pipeta Pasteur de plástico de 3 mililitros; con ella se extraían los neonatos de 6 a 24 horas de nacidos.

Los neonatos se utilizaban la renovación del cultivo, las pruebas de viabilidad, las pruebas de sensibilidad y la realización de las pruebas preliminares y definitivas de toxicidad.

Cuadro 11. Resumen de las condiciones recomendadas para el mantenimiento de cultivos de *Daphnia pulex*.

PARÁMETRO	CONDICIÓN IDEAL
Temperatura	20± 2 °C
Calidad de luz	Fluorescente, blanco-frío
Intensidad luminosa	600-1000 lux (luz blanca fría)
Fotoperiodo	16 horas luz/8 oscuridad
Densidad poblacional	10 individuos/L
Alimentación	Cultivos puros de <i>Selenastrum</i> u otras algas verdes unicelulares

PARÁMETRO	CONDICIÓN IDEAL
Recipientes de mantenimiento	Los cultivos se mantienen en recipientes de 2 L de vidrio transparentes
Limpieza	Diariamente se debe filtrar los recipientes con la finalidad de retirar cualquier material en suspensión que allí se encuentre. Cada lunes se cambia el 50% del agua de las peceras. Estas deben lavarse con abundante agua, asegurándose de retirar bien del vidrio las algas adheridas a este, enjuagar varias veces con agua desionizada y purgar con agua reconstituida. No se deben emplear jabón ni otros detergentes
Recolección de neonatos	Diariamente se retiran los neonatos con una micropipeta de plástico, con la finalidad de evitar el crecimiento y desarrollo de efipios y a la vez utilizar estos neonatos en pruebas toxicológicas.
OD	Mayor a 6 mg/L
pH	7.3 – 7.5
Dureza	40 – 48 mg/L CaCO <sub>3</sub>

Fuente: DE ESCOBAR MALAVER, Pedro miguel Y GARCIA CASTILLO, Gabriela, Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. Tesis de grado (Ingeniera Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Ingeniera Ambiental y Sanitaria

#### 4.8 FASE PRUEBAS DE TOXICIDAD.

Las pruebas de toxicidad se realizaron utilizando neonatos de *Daphnia pulex* de 6 a 24 horas de nacidos. Se realizó la preparación de las soluciones, montajes de las pruebas de toxicidad y realización de las pruebas de sensibilidad con Dicromato de potasio y las pruebas con sustancias puras y vertimientos de Aluminio y Plata.

##### 4.8.1 Preparación de soluciones.

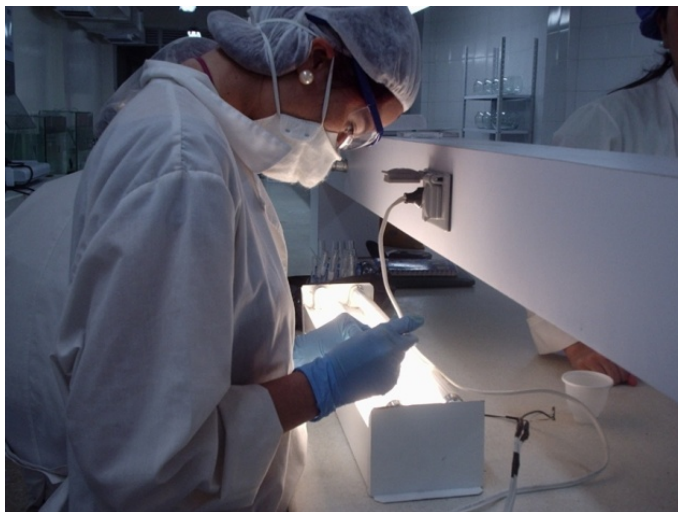
Las soluciones para todas las pruebas de toxicidad fueron preparadas con agua reconstituida, cada una con un volumen de 500 ml, las cuales se mantuvieron preservadas en refrigerador por un tiempo no mayor a seis (6) meses.

Antes de la realización de los ensayos de toxicidad, las soluciones preparadas eran aclimatadas durante un período no menor a 3 horas, para evitar la mortalidad de los organismos de prueba debido a un cambio brusco de temperatura.

#### 4.8.2 Montaje de las pruebas de toxicidad (bioensayos).


Para la batería de ensayo, se utilizaron 24 tubos de ensayo en su respectiva gradilla y copas de plásticas, distribuidos en cinco (5) concentraciones de las respectivas soluciones; para las pruebas de sensibilidad ( $K_2Cr_2O_7$ ), sustancia pura (aluminio y plata) y muestra ambiental (vertimiento de una galvanotecnia y farmacéutica), un control y cuatro réplicas por cada concentración. A cada tubo de ensayo se le adicionaron 10 mililitros de las concentraciones a evaluar y sus respectivos controles.

Ilustración 29. Lectura de organismos muertos.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Ilustración 30. Formato del registro de resultados.

 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia		LB001						
<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b> <b>LABORATORIO ÁREA DE BIOENSAYOS</b> <b>REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA</b>								
• Ficha del test estático definitivo con: _____ • Muestra: _____								
Datos fisicoquímicos de la muestra • Conductividad: _____ • Dureza: _____ • pH: _____		Tratamiento de la muestra • Sedimentación: _____ • Filtración: _____ • Ajuste de pH: _____						
• Inicio de la prueba: ____ / ____ / ____, a las ____ horas • Fin de la prueba : ____ / ____ / ____, a las ____ horas • Agua de dilución: pH: ____, Dureza: ____, Fecha de Preparación: ____ / ____ OD: _____								
RESULTADOS PRUEBAS DE TOXICIDAD								
Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
OBSERVACIONES								

Fuente: BERNAL Y ROJAS. 2007. Protocolo LB05.

La prueba se iniciaba en el momento de adicionar los neonatos al tubo de ensayo, organismos cinco (5) por tubo y un total de 20 organismos por concentración manteniendo las cuatro replicas. En total se utilizaron 120 organismos por batería de ensayo. La batería de ensayo era cubierta totalmente con papel craft y un plástico negro, se guarda en el área de mantenimiento de cultivos a una temperatura de  $20 \pm 2$  °C, sin luz y por un periodo de 48 horas. Al término de este tiempo, se realizó la lectura de los organismos muertos en cada tubo, reportando el número de ellos en un registro, LB 001 “Registro de resultados por muestra analizada”. Este protocolo hace parte del proyecto de



investigación de los profesores Pedro Miguel Escobar Malaver, Yanneth Parra y Rubén Darío Londoño y se encuentra en los protocolos de la tesis de Bernal y Rojas (2007), para su consulta.

#### 4.8.3 Pruebas de toxicidad, sensibilidad con el tóxico de referencia Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ).

Se expusieron neonatos de *Daphnia pulex*, de 24 horas de nacidos a diferentes concentraciones de Dicromato de Potasio, y se determinó la  $CL_{48}^{50}$  de los organismos expuestos en un período de 48 horas, muerte del 50% de los organismos. Esto se debe al ciclo de vida de la *Daphnia pulex*, pues se considera que en esta etapa aun se alimenta de las reservas del huevo<sup>65</sup> y no los afecta la falta de alimento.

Las pruebas se llevaron a cabo en dos etapas: pruebas preliminares, en las que se empleo el rango obtenido por el grupo anterior, con el fin de establecer el 0 y 100% de mortalidad del tóxico de referencia Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) las concentraciones utilizadas fueron 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 y 0.05 ppm sobre los organismos; y las pruebas definitivas utilizando los rangos seleccionados de acuerdo con los resultados de los ensayos preliminares, con esto se obtiene la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ).

La sensibilidad, tiene el propósito de garantizar no solo la confiabilidad de los datos obtenidos de las pruebas con otros tóxicos, en relación con la capacidad de respuesta de los organismos de prueba, sino el estado fisiológico del cultivo y sus condiciones.

Este paso se ejecutó utilizando la metodología descrita en el protocolo LB05 “Pruebas de Toxicidad” obteniendo así la carta de control. Este protocolo hace parte del proyecto de investigación de los profesores Pedro Miguel Escobar Malaver, Yanneth Parra y Rubén Darío Londoño y se encuentra disponible en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el docente, Químico Industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

---

<sup>65</sup> REYES BLANDON, Carmen. Efectos subletales del cromo y cobre hexavalente y un carbonato sobre el ciclo de vida de dos especies de cladóceros, citado por Orozco y Toro 2007.

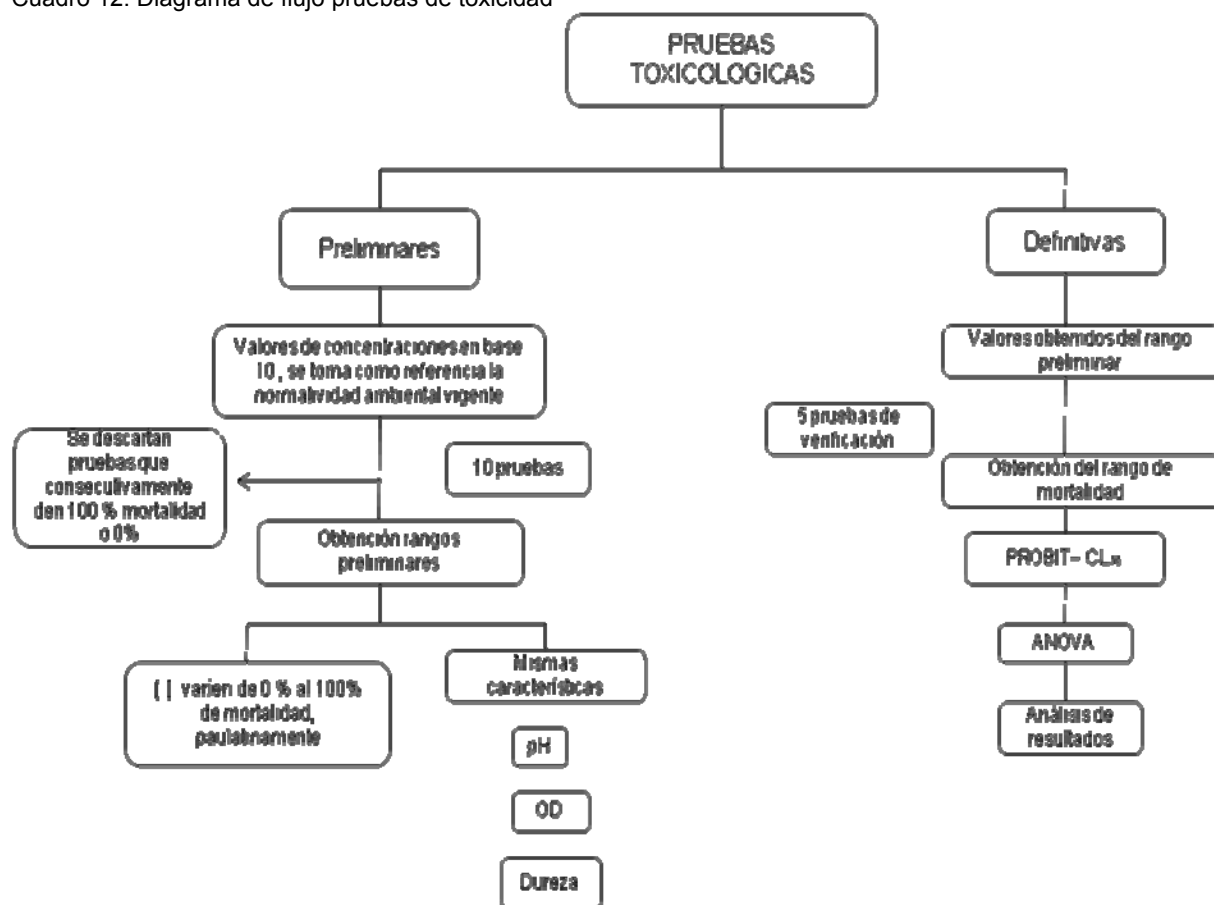
#### 4.8.4 Pruebas preliminares de toxicidad con Aluminio y Plata.

##### 4.8.4.1 Pruebas preliminares de toxicidad con Aluminio.

La solución madre fue preparada a partir del Sulfato de Aluminio ( $(\text{Al}_2\text{SO}_4)_3$ ), (r.a. reactivo analítico Merck, Número K25331164-828 UN3288), a una concentración de 1000 ppm ya que se necesitaba una concentración alta para realizar con la misma solución madre diferentes soluciones a las cuales se expusieron los organismos invertebrados.

Se preparan 5 concentraciones iniciales, y se realizan las pruebas por cuadruplicado, se mira como es la mortalidad de estas y de acuerdo a los resultados se procedo a aumentar o disminuir las concentraciones de acuerdo a los resultados que se obtengan luego de las 48 horas.

Cuadro 12. Diagrama de flujo pruebas de toxicidad



Fuente. Alarcon y Ardila, 2008

#### 4.8.4.2 Pruebas preliminares de toxicidad con Plata.

La solución madre fue preparada a partir del Nitrato de Plata ( $\text{AgNO}_3$ ), (r.a. reactivo analítico Merck, Número A354690-223 UN 3077).

Se preparan 5 concentraciones iniciales, con base a la concentración letal media de Plata que se encuentra en el Decreto 1594 de 1984, que es 0.5 ppm (Art. 45), y se realizan las pruebas por cuadruplicado como se explica en la ilustración 17. Se observaba como era la mortalidad de estas y de acuerdo a los resultados se procedió a aumentar o disminuir las concentraciones de acuerdo a los resultados obtenidos. Los rangos inicialmente utilizados fue 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10 estos valores que se tomaron con base a los proporcionados en la metodología CETESB, donde se indica tomar valores aleatorio en base 10.

Esta fase se desarrollo mediante la metodología descrita en el protocolo LB05 “Pruebas de Toxicidad” obteniendo el rango de concentraciones a utilizar en las pruebas definitivas. Este protocolo hace parte del proyecto de investigación de bioensayos y se encuentra disponible en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el docente Químico Industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

#### 4.8.5 Pruebas definitivas con Aluminio y Plata.

##### 4.8.5.1 Pruebas definitivas con Aluminio.

Las pruebas definitivas se realizaron siguiendo la metodología descrita en las pruebas preliminares, utilizando los rangos establecidos según los resultados de los ensayos iniciales que permitieron la obtención de las respectivas concentraciones letales medias ( $CL_{48}^{50}$ ) de la sustancia pura de Aluminio.

Esta etapa se estableció mediante la metodología descrita en el protocolo LB05 “Pruebas de Toxicidad” obteniendo la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del Aluminio con sus límites de confianza, manejando la metodología descrita en el protocolo LB06 Análisis de Regresión y Análisis Probit y variando los resultados por medio de análisis de varianza

(ANOVA), cuya metodología esta descrita en el protocolo LB07 Análisis de varianza. Estos protocolos hacen parte del proyecto de investigación del grupo de Bioensayos y se encuentran disponibles en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el Docente Químico Industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta..

#### 4.8.5.2 Pruebas definitivas con Plata.

Las pruebas definitivas se realizaron siguiendo la metodología descrita en las pruebas preliminares, utilizando los rangos establecidos según los resultados de los ensayos preliminares que permitieron la obtención de las respectivas concentraciones letales medias ( $CL_{48}^{50}$ ) de la sustancia pura de Plata.

Esta etapa se estableció mediante la metodología descrita en el protocolo LB05 “Pruebas de Toxicidad” obteniendo la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) de plata con sus límites de confianza manejando la metodología descrita en el protocolo LB06 Análisis de Regresión y Análisis Probit y variando los resultados por medio de análisis de varianza (ANOVA), cuya metodología esta descrita en el protocolo LB07 Análisis de varianza. Estos protocolos hacen parte del proyecto de investigación del grupo de Bioensayos y se encuentran disponibles en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el docente Químico Industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

#### 4.8.6 Toma y preservación de muestras ambientales para los ensayos de toxicidad.

La recolección de las muestras ambientales se realizó en recipientes plástico de dos litros y medio (2.5) de capacidad, tomando una muestra por metal.

Las primera muestra fue de plata en la empresa Alfacrom, la cual se tomó de la parte del proceso del enjuague de plata , y para aluminio se tomo muestra de la empresa Corinter, la cual provenía del final de todo el proceso de producción de hidróxido de aluminio.

Las pruebas fisicoquímicas se realizaron dentro de las primeras 24 horas como se observa en el cuadro 14, después de la toma de las muestras, evitando así las posibles alteraciones de sus características fisicoquímicas. Se transportaron de forma inmediata al

laboratorio ASAFRANCO y ANALQUIM, para realizar allí las pruebas para la determinación de la cantidad exacta de Aluminio y Plata y luego fueron llevadas al laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle para evaluar los siguientes parámetros: pH, dureza, sólidos suspendidos, conductividad y DQO. Todas las muestras fueron refrigeradas para garantizar el resultado de los análisis.

#### 4.8.7 Análisis fisicoquímicos a los vertimientos.

A las muestras se le realizaron los análisis fisicoquímicos que se muestran a continuación:

Cuadro 13. Análisis fisicoquímicos.

PARÁMETRO	MÉTODO Y LUGAR DE ANÁLISIS
Aluminio	Laboratorio ANALQUIM, ubicado en la Calle 73 # 36-09 barrio 7 de agosto a través del método de absorción atómica y utilizando el Standard Methods Edición 19, 1995, SM 3111B-Ag..
Plata	Laboratorio ASAFRANCO, ubicado en Calle 39 # 29-50 barrio la Soledad a través del método de absorción atómica y utilizando el Standard Methods Edición 19, 1995, SM 3111B-Ag.
Sólidos totales	Análisis fisicoquímico. Con 100 mL de la muestra utilizándose el método 2540B. Sólidos totales a 103 – 105 °C del estándar Methods, versión 19 AWWA en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.
DQO	La muestra fue preservada con Ácido Sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) hasta obtener un pH $\geq 2$ . Se utilizó el método de reciclado cerrado, la lectura se realizó en el espectrofotómetro (Hach), Standard Methods Edición 19, 1995, 5220D-2B. Se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.
Dureza	Se utilizó el método titulométrico de EDTA Standard Methods Edición 19, 1995, SM 2340-C. El análisis se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.
Conductividad	Se utilizó el método Standard Methods Edición 19, 1995, SM 2510-B. El análisis se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.

PARÁMETRO	MÉTODO Y LUGAR DE ANÁLISIS
pH:	Se utilizó el método Standard Methods Edición 19, 1995, SM 4500H. $\pm B$ . El análisis se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.

Fuente: OROZCO Y TORO. 2007.

#### 4.8.8 Pruebas definitivas con el vertimiento de aluminio y plata.

Para lograr valores de 0 a 100% de mortalidad en estas pruebas definitivas se inicia con la preparación de soluciones del vertimiento diluidas con agua reconstituida manejando diferentes porcentajes de volumen de muestra.

Las primeras concentraciones por poseer porcentajes muy altos de los metales, en las primeras horas de las pruebas se presento una mortalidad del 100%, procediendo a disminuir las concentraciones por medio de diluciones hasta obtener un rango efectivo para realizar las pruebas definitivas. Se prepararon las muestras ambientales, y procedió a sembrar en las copas plásticas, agregando a cada copa 10mL de muestra con sus respectivas replicas y el control (agua reconstituida).

### 4.9 RESULTADOS FISICOQUÍMICOS FINALES.

Las pruebas finales tienen la misma metodología que las pruebas preliminares. Se debe proceder a realizar la lectura de los organismos muertos después de las 48 horas siguientes a la siembra, adicionalmente se debe procede a medir el oxígeno disuelto, la dureza y el pH, en las dos concentraciones extremo de la batería, para corroborar que el efecto tóxico fue producido por un agente químico, en este caso el metal, y no por las constantes que se manejan en la prueba toxicológica. De igual manera las pruebas definitivas son consideradas válidas según metodología CETESB, dentro de 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.

- La concentración de oxígeno disuelto en las soluciones test durante el transcurso del ensayo debe ser mayor a 4mg/L.

#### 4.10 OBTENCIÓN DE RESULTADOS.

El valor se calcula con una confiabilidad del 95%. La estimación de este valor sigue un modelo matemático que asume relación continua entre dosis y respuesta. Este valor se obtiene por medio del método Probit, obteniéndose la  $CL_{48}^{50}$  son sus respectivos límites de confianza para ello se realizó el protocolo LB 06 “Análisis de regresión y Análisis Probit”. Después de tener este resultado se procede a realizar el análisis de varianza según el protocolo LB07 “Análisis de varianza” para comprobar que a diferentes concentraciones de la sustancia pura o vertimiento produce un diferente efecto en todos los organismos. Estos protocolos hacen parte del proyecto de investigación de bioensayos y se encuentran disponibles en la tesis de Bernal y Rojas (2007) y con el profesor Químico industrial Pedro Miguel Escobar Malaver, para su consulta.

#### 4.11 OBTENCIÓN DEL ÍNDICE TOXICOLÓGICO.

Para el cálculo del índice toxicológico se contó con la información caudal del vertimiento industrial, Concentración Letal Media (CL 50-48) del vertimiento y carga tóxica del efluente.

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

$$Carg aTóxica(UT) = \frac{100}{CL50} \times \bar{Q}$$

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

En donde:

- CL 50: Concentración letal media (Concentración del efluente que produjo la mortalidad del 50% de los organismos expuestos en un período de 48 horas).
- $\bar{Q}$  : Caudal promedio del efluente, el cual varía según la producción de la empresa evaluada.

#### 4.12 INDICE TOXICOLÓGICO DEL VERTIMIENTO.

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

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

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

Con el IT se clasificó el vertimiento, basado en los rangos establecidos en la tesis “Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de muestras ambientales”, realizada por Escobar Malaver; Pedro Miguel, los cuales se encuentran consignados en el cuadro 14.

Cuadro 14. Rangos de índices toxicológicos.

RANGOS	CARGA TÓXICA
1 -1.99	Despreciable
2 - 2.99	Reducida
3 -3.99	Moderada
4 - 4.99	Considerable
> 5	Elevada

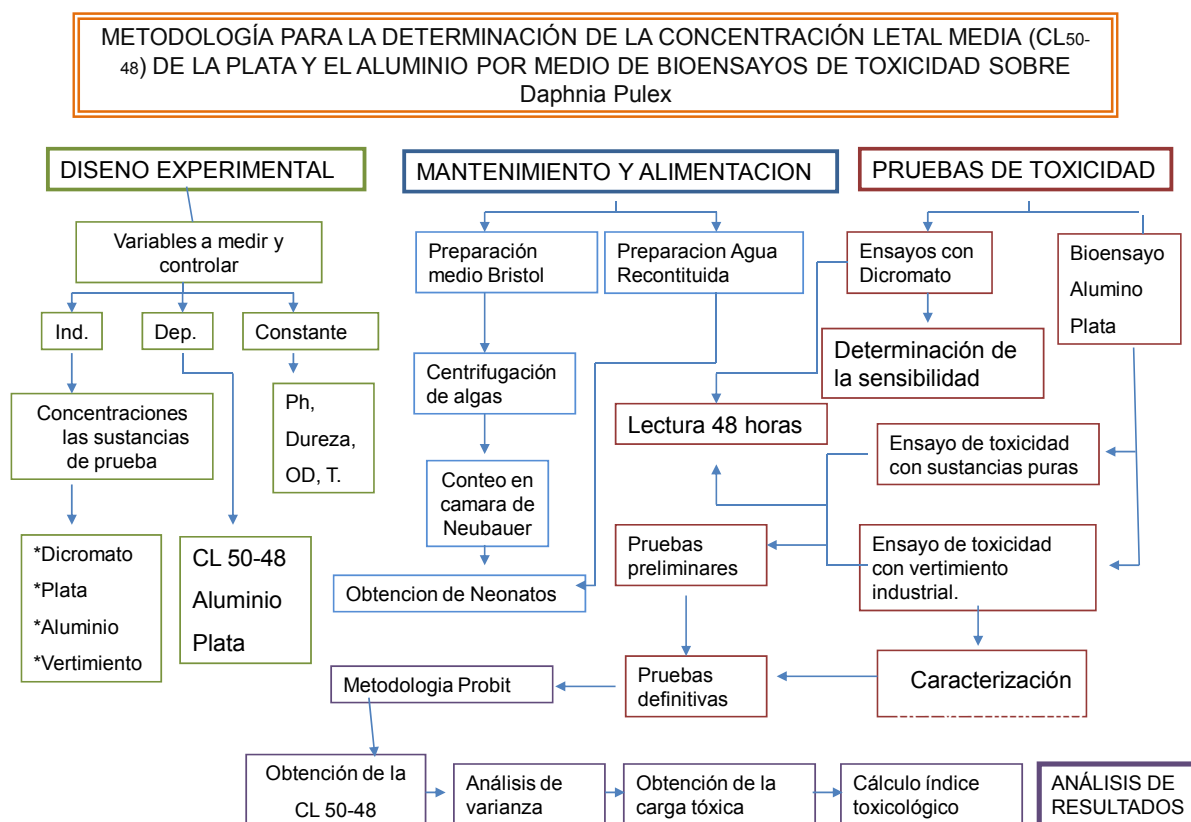
Fuente: ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de muestras ambientales.1997.

#### 4.13 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Las concentraciones letales medias de aluminio y plata, que se obtuvieron durante esta investigación, se compararon con otros resultados encontrados en pruebas de toxicidad realizados en laboratorios de investigación de Colombia y el exterior, para validar los resultados obtenidos.



Cuadro 15 . Metodología para la determinación de la concentración letal media.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

## 5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para el desarrollo y análisis de las pruebas de toxicidad con aluminio, plata y el tóxico de referencia se adoptó la metodología ya establecida CETESB (Brasil), donde se identifican los pasos para obtener pruebas exitosas y comparativas con otros bioensayos regidos por la misma metodología.

A continuación se expresan los resultados obtenidos por este proyecto de investigación, de acuerdo a la metodología anteriormente descrita.

### 5.1 ENSAYOS DE SENSIBILIDAD CON DICROMATO DE POTASIO $K_2Cr_2O_7$

Para evaluar la sensibilidad del cultivo de *Daphnia pulex* se calculó la concentración letal media  $CL_{48}^{50}$  frente a Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), realizándose de acuerdo con lo recomendado por la metodología que presentan las Guías CETESB (Brasil), la cual ha venido siendo trabajada por el grupo de investigación de Bioensayos de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle.

La concentración letal media del Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) se determinó con las concentraciones definitivas, en las cuales se tuvo un porcentaje de mortalidad de 0% al 100%, estos resultados, se calcularon con el programa estadístico Probit Fiss, en el cual se suministraron los datos de los ensayos, determinándola con sus respectivos límites de confianza al 95%; con ellos se construyó la carta de control con el valor promedio, la desviación estándar, donde se presentan los resultados obtenidos de la evaluación.

Las concentraciones para iniciar la carta de control fueron tomadas del grupo anterior (Orozco y Toro, 2007) que presentaba un rango de sensibilidad parecido. Las pruebas se realizaron a pH  $7 \pm 0,5$ , temperatura entre  $20 \pm 2$  °C, en completa oscuridad.

Tabla 6. Concentración letal media de Dicromato de Potasio

FECHA	CL50	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
18-sep-07	0,1745	0,1156	0,1824
19-sep-07	0,1734	0,1123	0,1815
15-sep-07	0,1554	0,127	0,1861
15-sep-07	0,1601	0,1307	0,1841
25-sep-07	0,1547	0,12	0,1918
26-sep-07	0,1635	0,1254	0,1863
26-sep-07	0,1435	0,1094	0,182
02-oct-07	0,1547	0,1143	0,1562
02-oct-07	0,1596	0,1293	0,193
09-oct-07	0,1771	0,1414	0,2187
10-oct-07	0,1625	0,1324	0,834
10-oct-07	0,1645	0,1266	0,1823
16-oct-07	0,1432	0,1093	0,1818
17-oct-07	0,1525	0,1123	0,156
23-oct-07	0,1906	0,1447	0,2521
24-oct-07	0,1463	0,1043	0,182
30-oct-07	0,1495	0,11	0,1865
06-nov-07	0,1345	0,1453	0,1873
13-nov-07	0,1654	0,1298	0,1843
20-nov-07	0,1567	0,1156	0,1579
<b>PROMEDIO</b>	<b>0,1591</b>	<b>0,1227</b>	<b>0,2183</b>

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Los valores obtenidos (Tabla 6) de la  $CL_{48}^{50}$ , para el Dicromato de Potasio es de 0,1591, permitiendo establecer su permanencia dentro de los rangos de aceptación que comprenden los límites inferiores de 0,1170 y superiores de 0,1872, con una diferencia mínima entre los dos limites; estos valores son promedio de 20 pruebas realizadas por cada concentración.

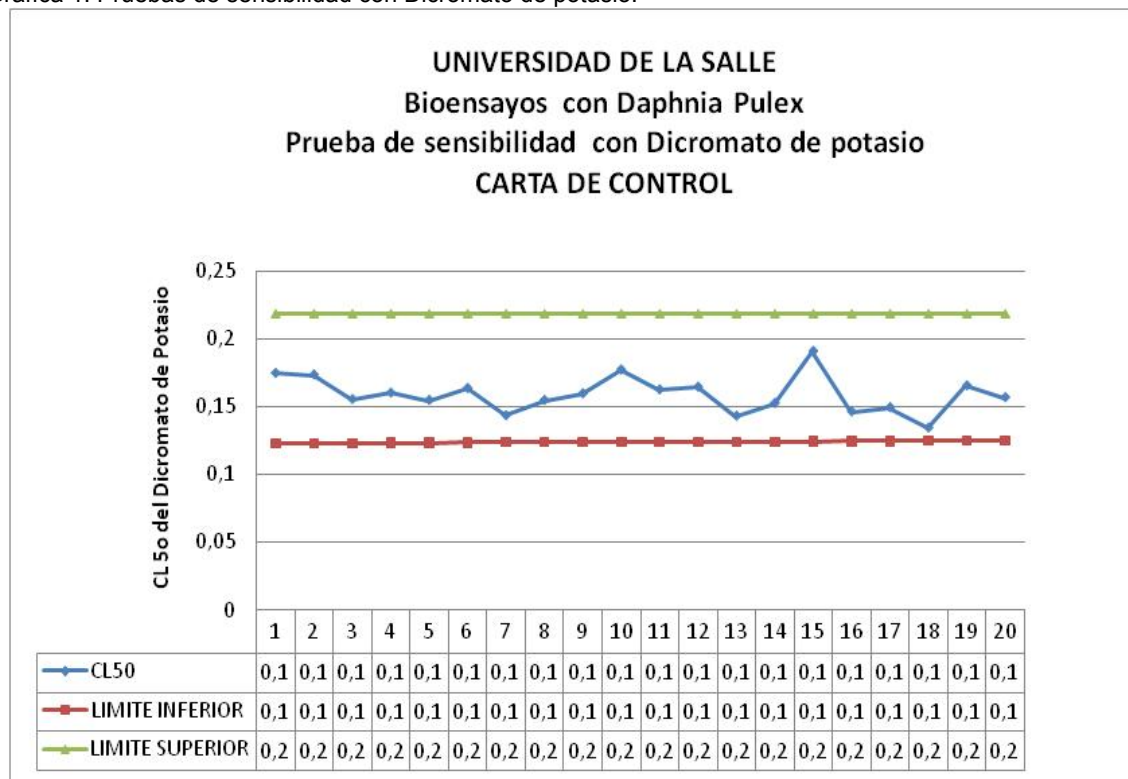
Ilustración 31. Pruebas de Dicromato de Potasio.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

En la Gráfica 1, se muestra la distribución de las sensibilidades obtenidas durante el tiempo de las pruebas, así como su promedio con sus respectivos límites.

Gráfica 1. Pruebas de sensibilidad con Dicromato de potasio.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Estos ensayos se realizaron con el fin de establecer la sensibilidad de la especie y su respuesta frente a un tóxico de referencia según las repeticiones del ensayo. Con estas se certificó que la respuesta de la población se debe a la sustancia que se desea analizar y no a variaciones del cultivo o a fallas operacionales en la aplicación del método, determinando el rango de variabilidad y sensibilidad frente al tiempo de exposición <sup>66</sup>.

Los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad muestran el buen estado fisiológico, morfológico y del ciclo de vida del cultivo.

Durante el estudio que se ha realizado en la universidad, con el organismos *Daphina Pulex*, se observa que el rango de sensibilidad frente al Dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) ha ido variando (ver Tabla 7) ya que anteriormente en el laboratorio de ingeniería ambiental los cultivos eran expuestos a olores de detergentes aromatizantes, vapores durante los análisis de aguas residuales, ruido entre otras, factores que desestabilizan el cultivo; también influye el periodo climático, ya que al finalizar cada época (invierno o verano) estas varían su metabolismo y se adaptan a las temperaturas registradas en el ambiente. En la tabla 7 se encuentra la recopilación de datos:

Tabla 7. Sensibilidad con Dicromato de Potasio

Año	Cl <sup>50</sup> mg/L	Límite superior mg/L	Límite inferior mg/L	Referencia
1997	0.1175	0.1969	0.0381	ESCOBAR, 1997
2007	0.394	0.563	0.221	BERNAL Y ROJAS, 2007
2007	0.097	0.121	0.068	OROZCO Y TORO, 2007
2008	0.1531	0.1872	0.1170	ALARCON Y ARDILA, 2007

Fuente: Modificado de Alarcon y Ardila, 2008.

## 5.2 ENSAYOS CON EL TÓXICO ALUMINIO (Al)

Para el desarrollo de pruebas de toxicidad con *Daphnia pulex* se emplean neonatos (< 24 h nacidos) expuestos a diferentes concentraciones de aluminio durante un periodo de 48

<sup>66</sup> BERNAL Y ROJAS. 2007.

h. Como resultado de dicha exposición se determino la concentración de la muestra que produce la muerte al 50% de la población de neonatos expuestos (concentración letal media o CL<sub>50</sub>).

Como no se tiene conocimiento de la toxicidad de las muestras se llevo a cabo varias pruebas preliminares, en las cuales se prepararon un amplio número de concentraciones con réplicas: 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10 ppm. Para las pruebas se colocaron 10 ml de cada una de las diluciones (preparadas con agua dura reconstituida) en las copas de prueba, se transfirieron 5 neonatos y a las 48 h se registró el número de organismos muertos en el formato de registro de datos del test de toxicidad aguda (ver anexo 5). Con esta información se pudo establecer el intervalo de concentración en el cual se identifico el 0 y el 100% de mortalidad. Se realizaron 10 pruebas con el fin de corroborar los datos, así como la homogeneidad de los resultados. De igual manera se cumplió con los protocolos internacionales, que exigen un mínimo de 10 pruebas con la sustancia pura.

Ilustración 32. Variación de concentraciones



Fuente: Alarcón y Ardilla. 2008.

Inicialmente se comenzaron con concentraciones de 0,001-0,01-0,1-1 -10, donde los valores más altos dieron una mortalidad del 100%. Se fue bajando el rango (ensayo y error) en ppm (ver Tabla 8) y registrando valores en los formatos, hasta encontrar el rango en el cual la concentración más baja obtiene un porcentaje de mortalidad del 0% y la concentración más alta una mortalidad del 100% con la sustancia pura.

Tabla 8. Concentraciones de Sulfato de Aluminio

CONCENTRACION (ppm de sulfato de aluminio)
0.1
0.5
1
5
7
9
Blanco

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

En la siguiente tabla, se observa la  $CL_{48}^{50}$  y sus límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS) estimados para cada uno de los diez (10) ensayos de toxicidad aguda *Daphnia pulex* realizados con sulfato de aluminio como tóxico de referencia.

Tabla 9. Concentración letal media de Aluminio.

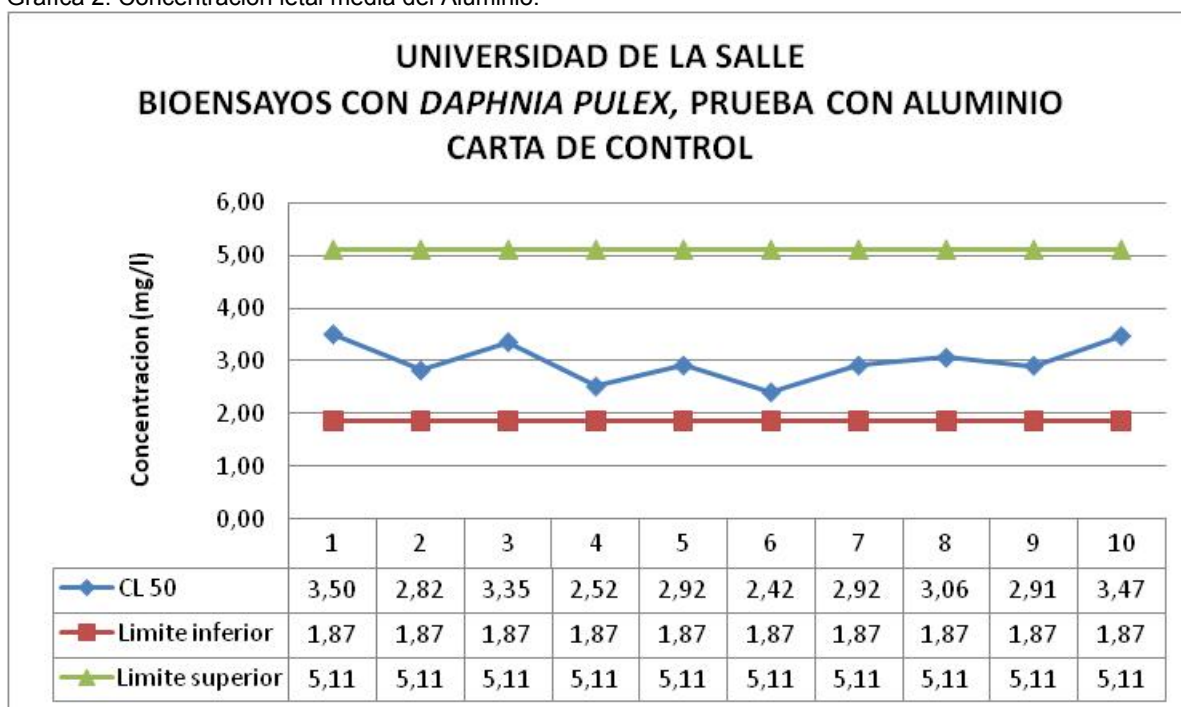
FECHA	CL50	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
19-Sep- 07	3.4982	1.9761	6.5991
16-Sep- 07	2.8223	1.9488	4.0965
3- Oct-07	3.3514	2.3048	4.9186
10- Oct- 07	2.5238	1.6680	3.8402
17- Oct- 07	2.9150	1.5497	6.1689
24- Oct- 07	2.4152	1.6195	3.6217
7-Nov/-07	2.9150	1.5497	6.1689
14-Nov- 07	3.0627	1.6662	6.2757
21-Nov- 07	2.9097	1.8845	4.6867
23-Nov-07	3.4663	2.5022	4.7335
<b>PROMEDIO</b>	<b>2.98</b>	<b>1.8969</b>	<b>5.1109</b>

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

La  $CL_{48}^{50}$  del Aluminio se encuentra en un promedio de 2.98 con límites inferiores de 1,8969 y superior de 5.1109 ppm; se puede observar que la  $CL_{48}^{50}$  se encuentra dentro del rango establecido por el Probitfis2, .

Los límites inferiores y superiores representan la media  $\pm$  3 veces la desviación estándar, definiendo la exactitud y el rango de vigilancia dentro del cual se encuentra el valor de toxicidad verdadero.

Grafica 2. Concentración letal media del Aluminio.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

La carta de control se realiza con el fin de determinar si el valor de la CL<sub>50</sub> está dentro de los límites definidos por el programa Probit, con la finalidad de identificar si el valor para el tóxico se encuentra cerca del valor aceptado o verdadero para el mimos.

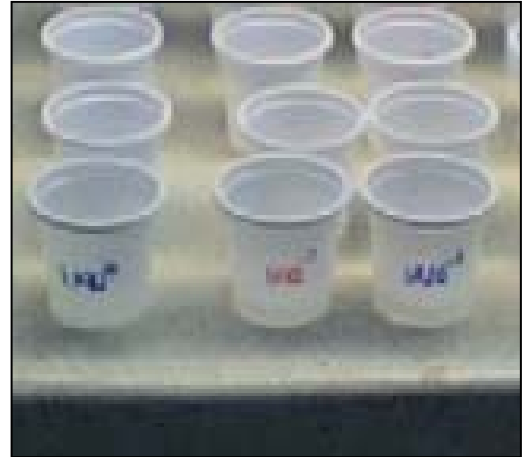
La carta de control consistió en la representación gráfica de los siguientes datos:

- Sobre el eje x, la serie consecutiva del número de pruebas realizadas para las diferentes concentraciones consideradas como aceptadas.
- Sobre la abscisa, los valores de la CL<sub>50</sub> con los intervalos de confianza (límites inferiores y superiores).



- Límites de confianza superior (LCS) e inferior (LCI) al 95% para los valores de la CL 50 considerados

Ilustración 33. Prueba de toxicidad con aluminio.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

### 5.3 ENSAYO CON EL TÓXICO DE PLATA

Para iniciar la ejecución del ensayo con el tóxico, se tomaron varias concentraciones de nitrato de plata a partir de una solución de 1000 mg/l, de allí se realizaron diluciones para llegar a concentraciones de 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 mg/L. Después de tener las soluciones se inicio con el ensayo con los neonatos en baterías de 5 concentraciones por cuádruplicado.

Durante el ensayo se observó que los organismos empiezan a morir pasados 10 minutos, haciéndose necesario dar por terminada la prueba y revisar procedimientos; al comprobar que el agua reconstituida, el alimento, temperatura, OD, dureza, se encontraban dentro de los parámetros establecidos por la metodología utilizada, se procede a realiza dos ensayos en concentraciones del tóxico más bajos 0.0001, 0.00001, 0.000001, 0.000005, 0.0000001, que al terminar el ensayo se observa la mortalidad de los organismos pasados 10 minutos de inicio de la siembra.

Se realizaron 3 pruebas a estas mismas concentraciones, con cambio de la solución madre, en diferentes días, tomando la determinación de no sembrar el día lunes ya que

los organismos no cumplen las características contempladas por la metodología, debido a que no se puede garantizar que los neonatos sean menores de 48 horas. Las tres pruebas dieron negativas provocando la mortalidad de la especie.

Cloruro de plata fue el siguiente tóxico que se tomó como referencia para la toxicidad de plata y se encontró en la literatura que la responsable de la toxicidad de la plata es asignable a su forma iónica monovalente ( $\text{Ag}^+$ ). En los peces de agua dulce, la toxicidad de dicha forma iónica parece estar asociada a su unión con sitios específicos en las branquias, generando una reducción en la incorporación de iones sodio y cloruro, causando una pérdida neta de iones del plasma sanguíneo, fallas circulatorias por el colapso de la regulación del volumen de fluido y, finalmente, la muerte del pez o microorganismo.

En lo que respecta a las distintas sales utilizadas en los ensayos de toxicidad, se observa que cuando se utiliza nitrato de plata la toxicidad es superior en varios órdenes de magnitud a la observada cuando se utilizan tiosulfato o cloruro de plata. Ya que sólo el agregado de nitrato de plata genera en solución concentraciones significativas de  $\text{Ag}^+$ .

Existen numerosos estudios acerca de la influencia que distintos parámetros ejercen sobre la toxicidad de la plata. En este sentido, se ha estudiado el efecto que la dureza ejerce sobre la toxicidad aguda de la plata reportándose resultados contradictorios, ya que algunos trabajos respaldan la reducción significativa de la toxicidad al aumentar la dureza, mientras que otros reportan que tal reducción es leve. Esta situación puede ser explicada, según se ha sugerido, por el hecho de que la influencia sobre la toxicidad se deba al calcio más que a la dureza, ya que existe evidencia de que el calcio posee un efecto estabilizador en la permeabilidad del epitelio de las branquias.

Se prepararon las mismas concentraciones de cloruro de Plata hasta  $1 \times 10^{-12}$  mg/l y se realizaron los ensayos, la respuesta ante el cambio de la solución fue la misma, mortalidad de la totalidad de los organismos.

Esta situación puede indicar que el cultivo presenta gran sensibilidad o que la gran carga toxicológica de la plata no permite la supervivencia de los neonatos en este compuesto.

## 5.4 ENSAYOS DEFINITIVOS CON EL VERTIMIENTO DE ALUMINIO Y PLATA, Y OBTENCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA $CL_{48}^{50}$

### 5.4.1 Ensayos de aluminio

El agua para realizar las pruebas, proviene de la empresa Corinter S.A, se caracterizó el vertimiento y se determinó la concentración del aluminio por medio de absorción atómica, en el laboratorio de aguas autorizado ANALQUIM LTDA, registrando un valor de 900 mg /l de aluminio. Los ensayos se ejecutaron utilizando las concentraciones en porcentaje de volumen de la muestra sin tratar, ya que la metodología CETESB por la cual se basan estos bioensayos, indican la forma de presentación de resultados (% de volumen de la muestra) al igual como se maneja en el libro de tratamiento de aguas residuales teoría y principios de diseño, Jairo Andres Romero Rojas 1999 .

Los rangos inicialmente utilizados fue 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, 5% y 1% de la muestra inicial, estos valores se tomaron con base a los proporcionados en la metodología CETESB, donde se indica tomar valores aleatorio en base 10 (ensayo y error), encontrando los resultado presentados en la Tabla 11.

Tabla 10. Concentraciones del vertimiento de Aluminio.

CONCENTRACION (%)	CONCENTRACION (mg/L)	MORTALIDAD DE ORGANISMOS				MORTALIDAD (%)
100	900	5	5	5	5	100
80	288	5	5	5	5	100
60	216	5	5	5	5	100
40	144	5	5	5	5	100
20	72	5	5	5	5	100
10	36	4	3	4	4	75
1	3.6	2	3	1	2	40
Blanco		0	0	0	0	0

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Como se puede observar el mayor porcentaje de mortalidad se encontró en el 100% de la muestra y el 20%, indicando que el rango posiblemente se encontraba en el 10 % y el 1% de la muestra inicial. Al obtener este posible rango se procedió a realizar repeticiones de pruebas con el porcentaje indicado por el método de ensayo y error.

Se realizaron 5 repeticiones de pruebas para la obtención de la  $CL_{48}^{50}$  con los rangos hallados del % de muestra inicial (tabla 11) los cuales deberían presentar las mismas características de mortalidad, pH, dureza y OD, para garantizar que los organismos no murieran por causas ajenas al metal y se pudieran garantizar la confiabilidad de las pruebas. Registrando los resultados en los formatos de registro de datos del test de toxicidad aguda (anexo 7).

Tabla 11. Rango de concentración del vertimiento de Aluminio.

CONCENTRACION (%)	CONCENTRACIÓN (mg/L)
12	43.2
10	36
8	28.8
5	18
2	7.2
0.5	1.8
blanco	blanco

Fuente: Autoras 2008.

La concentración inicial del vertimiento se halló por análisis de absorción atómica registrando un valor de 900 mg / L, después se procedió a realizar diluciones en porcentajes de volumen (tabla 11), y se realizaron los cálculos de concentraciones a las cuales se encontró la  $CL_{48}^{50}$  en el rango mostrado en la tabla 12.

Las concentraciones se hallaron por medio de la ecuación  $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ , a continuación se muestra el ejemplo del cálculo de una de ellas

$$V_1 C_1 = V_2 C_2$$

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

$$C_2 = \frac{(0.080L * 900^{mg/L})}{0.25L}$$

$$C_2 = 288^{mg/L}$$

Después de haber encontrado el rango se procede a utilizar el programa estadístico Probit el cual obtiene un nivel de confiabilidad del 95% en el hallazgo de la  $CL_{48}^{50}$ , los límites inferiores y límites superiores por cada prueba realizada, se tomó este programa estadístico siguiendo al metodología CETESB, ya que este proporciona de manera confiable la determinación de la proporción de la población que resultan afectados por una variable en este caso la mortalidad; los otros programas están sujetos a errores por construcción de gráficos.

A continuación se muestra los valores (Tabla 12):

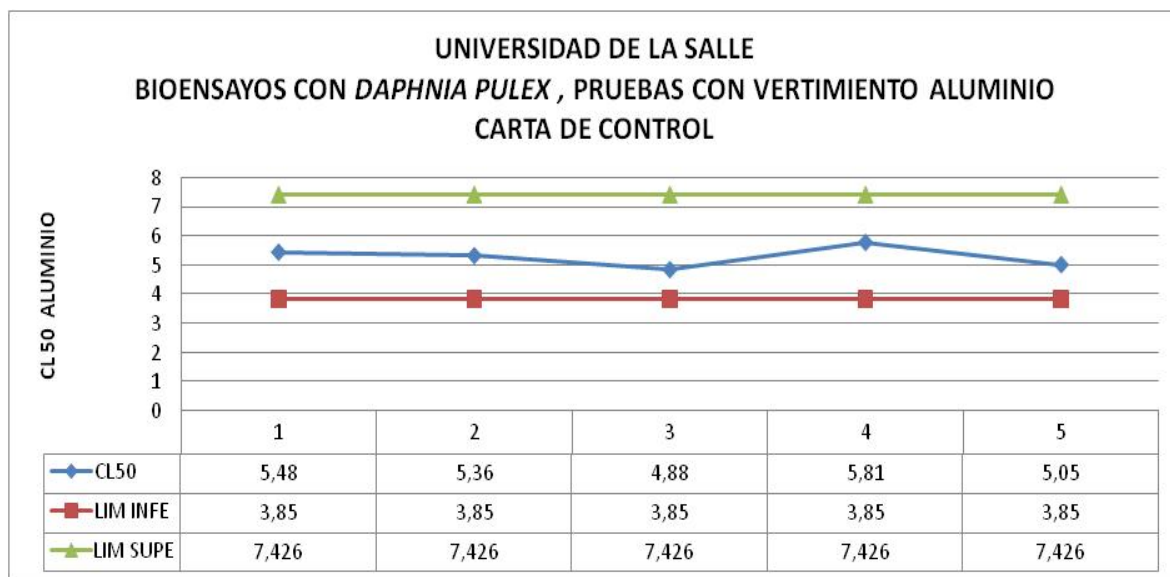
Tabla 12. Concentración letal media del vertimiento de Aluminio.

FECHA	CL50	LIM. INFERIOR	LIM. SUPERIOR
24- Oct-07	5.48	4.24	6.95
7/-Nov- 07	5.36	4.07	7.00
14- Nov- 07	4.88	3.67	6.36
21- Nov- 07	5.81	3.54	9.96
23-Nov-07	5.05	3.73	9.86
<b>PROMEDIO</b>	<b>5.31</b>	<b>3.85</b>	<b>7.426</b>

Fuente: Alarcón y Ardila, 2008

- $CL_{50}$ : 5.31 % del volumen de la muestra
- Límite inferior: 3.85 % del volumen de la muestra
- Límite superior: 7.42 % del volumen de la muestra

Grafica 3. Concentración letal media del vertimiento de Aluminio.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Se puede observar en la gráfica que los valores de la  $CL_{48}^{50}$  se encuentran dentro de los límites, indicando la aprobación de las pruebas realizadas.

#### 5.4.2 Ensayo de Plata (Ag).

Para realizar el Bioensayo con el tóxico de referencia se tomó el vertimiento de la industria de galvanotecnia ALFACROM LTDA, durante el proceso de enjuague con Plata a una concentración de 1200 ppm según la caracterización realizada y analizada por el laboratorio de aguas ASAFRANCO (anexo 4).

Las soluciones se diluyeron por porcentaje de la muestra inicial en 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, 1% encontrando que los neonatos morían durante el lapso de 5 minutos; se disminuyeron las concentraciones hasta llegar a un valor de  $1 \times 10^{-5}\%$  -  $1 \times 10^{-10}\%$ , estos valores están sujetos a análisis por absorción atómica, se realizaron por diluciones de continuas de 1ml en 259 ml de agua reconstituida (pipeta graduada de 1ml); observando que entre este rango los neonatos presentaron mayor resistencia durante las 48 horas siguientes.

Se realizaron según lo escrito en el capítulo de metodología, donde se efectuaron repeticiones de pruebas de toxicidad, de diferentes % de volúmenes de la muestra. Al

encontrar el rango (sujeto a análisis por absorción atómica) se iniciaron 5 repeticiones que presentaran las mismas características de % de mortalidad de organismos invertebrados, pH, dureza, OD y temperatura (ver anexo 8)

Tabla 13. Rango de concentraciones del vertimiento de Plata.

CONCENTRACIÓN (%)	CONCENTRACIÓN (mg/L)
$1 \times 10^{-5}$	$4.8 \times 10^{-5}$
$1 \times 10^{-6}$	$4.8 \times 10^{-6}$
$1 \times 10^{-7}$	$4.8 \times 10^{-7}$
$1 \times 10^{-8}$	$4.8 \times 10^{-8}$
$1 \times 10^{-9}$	$4.8 \times 10^{-9}$
$1 \times 10^{-10}$	$4.8 \times 10^{-10}$
Blanco	

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Después de haber encontrado el rango se procede a utilizar el programa estadístico Probit encontrando los límites inferiores y límites superiores por cada prueba realizada, a continuación se muestra los valores:

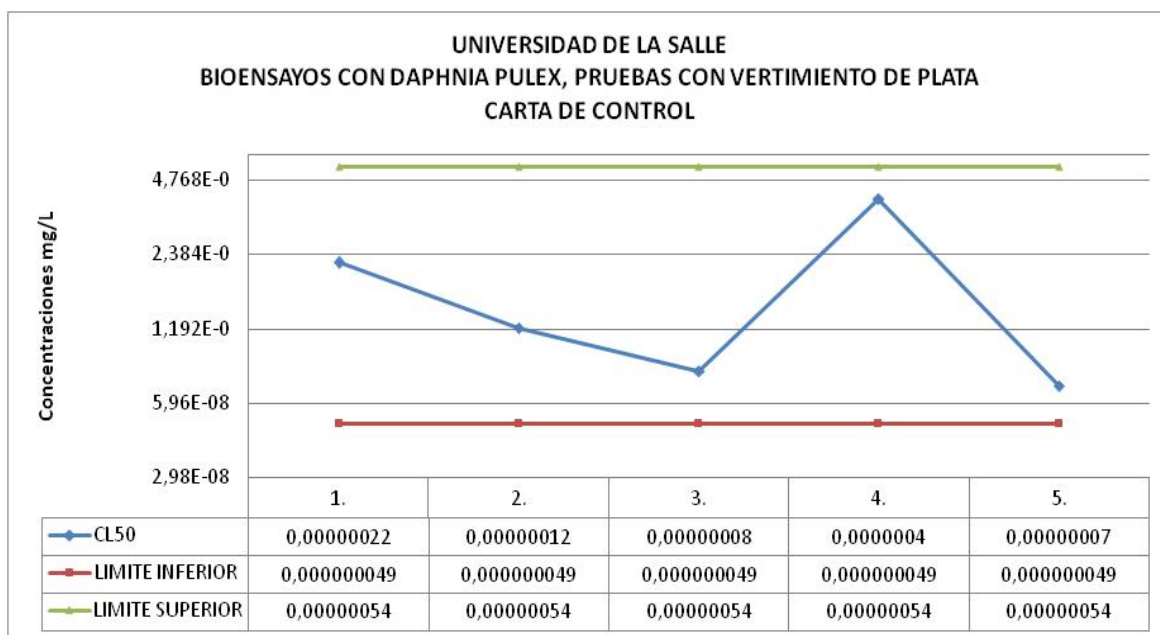
Tabla 14. Concentración letal media del vertimiento de Plata.

FECHA	CL50	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
24-Oct-07	$2,2 \times 10^{-07}$	$8 \times 10^{-8}$	$5 \times 10^{-7}$
07-Nov-07	$1,2 \times 10^{-07}$	$4 \times 10^{-7}$	$3,8 \times 10^{-6}$
14-Nov-07	$8 \times 10^{-08}$	$2 \times 10^{-7}$	$3,1 \times 10^{-6}$
21-Nov-07	$4 \times 10^{-07}$	$1 \times 10^{-7}$	$1,3 \times 10^{-6}$
23-Nov-07	$7 \times 10^{-08}$	$2 \times 10^{-7}$	$2,1 \times 10^{-6}$
<b>PROMEDIO</b>	<b><math>4,5 \times 10^{-08}</math></b>	<b><math>4,9 \times 10^{-08}</math></b>	<b><math>5,4 \times 10^{-7}</math></b>

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

En la siguiente gráfica 4. se puede observar los valores generados por las pruebas durante el periodo de trabajo con *Daphnia pulex* y su distribución en las diferentes concentraciones letales medias ( $CL_{48}^{50}$ ) del vertimiento.

Grafica 4. Concentración letal media del vertimiento de Plata.



Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Se puede observar como resultado de los bioensayos de toxicidad con el vertimiento de plata:

- $CL_{48}^{50}$  :  $4,5 \times 10^{-08}\%$  del volumen de la muestra
- Límite inferior:  $4,9 \times 10^{-08} \%$  del volumen de la muestra
- Límite superior:  $5,4 \times 10^{-7}\%$  del volumen de la muestra
- 

En la gráfica 4 se encuentra que los valores difieren de forma significativa por cada prueba realizada, encontrando picos altos de  $4 \times 10^{-6} \%$  de volumen de muestra o  $1.44 \times 10^{-4} \text{ mg/l}$  y picos bajos de  $2.2 \times 10^{-6} \%$  vol. O  $7.92 \times 10^{-5} \text{ mg/l}$ , estas variaciones se pueden representar en la variación de los porcentajes o concentraciones de valores tan



bajos en el momento de la dilución, existiendo errores en la medida. También puede indicar la variación natural de los organismos respecto a él toxico de referencia.

Los resultados de la  $CL_{48}^{50}$  se mantuvieron dentro de los limites de confianza establecidos por el programa indicando la confiabilidad de los datos

## 5.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS PRUEBAS DEFINITIVAS DE ALUMINIO CON LA SUSTANCIA PURA Y ALUMINIO Y PLATA EN EL VERTIMIENTO.

### 5.5.1 Análisis de varianza de Aluminio con la sustancia pura.

La metodología a seguir para lograr un análisis de varianza adecuado fue seleccionada del protocolo LB07 “Análisis de Varianza”, que se encuentra en el Laboratorio de Bioensayos, Facultad de Ingeniería Ambiental.

El procedimiento a seguir es postular una hipótesis nula y una hipótesis de alternativas para la realización de la ANOVA de la siguiente manera:

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

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

Para el análisis del resultado se debe tener en cuenta la siguiente condición:

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

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

Análisis de varianza de las pruebas definitivas del Aluminio.

A continuación se presenta la tabla 15 de los resultados del F calculado y el F teórico para las 10 pruebas definitivas de cromo realizadas.

Tabla 15. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de Aluminio.

FECHA	F CALCULADO (FC)	F TEÓRICO (FT)
18/ Sep/ 07	32,92	2,77
15/ Sep/ 07	44,82	

FECHA	F CALCULADO (FC)	F TEÓRICO (FT)
2/ Oct/ 07	52,57	
9/ Oct/ 07	23,18	
16/ Oct/ 07	37,85	
23/ Oct/ 07	17,72	
6/ Nov/ 07	19,90	
13/ Nov/ 07	26,97	
20/ Nov/ 07	42,16	
23/Nov/07	46,47	

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Como lo muestra la tabla 16,  $F_c > F_t$ , por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

#### 5.5.2 Análisis de varianza de las pruebas definitivas del vertimiento de Aluminio.

A continuación se presenta la tabla 16 de los resultados del F calculado y el F teórico para las 5 pruebas definitivas realizadas con el vertimiento de Aluminio.

Tabla 16. F calculado vs F teórico. Vertimiento de aluminio.

FECHA	F CALCULADO (FC)	F TEÓRICO (FT)
23/ Oct/ 07	34,38	2,77
6/ Nov/ 07	24.5	
13/ Nov/ 07	45.04	
20/ Nov/ 07	45.04	
23/Nov/07	23.27	

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Como lo muestra en la tabla 17,  $F_c > F_t$ , por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

#### 5.5.3 Análisis de varianza de las pruebas definitivas del vertimiento de Plata.

A continuación se presenta la tabla de los resultados del F calculado y el F teórico para las 5 pruebas definitivas realizadas con el vertimiento de Plata.

Tabla 17. F calculado vs F teórico. Vertimiento de Plata.

FECHA	F CALCULADO (FC)	F TEÓRICO (FT)
23/ Oct/ 07	60	2,77
6/ Nov/ 07	28.44	
13/ Nov/ 07	26.78	
20/ Nov/ 07	45.04	
23/Nov/07	26.39	

Fuente: ALARCON Y ARDILA 2008.

El analisis de varianza (ANOVA) se determina para establecer si la mortalidad de los organismos está en función de la variación de las concentraciones del efluente, donde el  $F_{calculado} > F_{teórico}$ , por lo que se acepta que la mortalidad obtenida está en función de la concentración del efluente.

## 5.6 CARACTERIZACIÓN DEL VERTIMIENTO

La toma de la muestra de Aluminio se realizo a la salida del proceso (lavado) de producción de Hidróxido de aluminio, antes de entrar a la planta de tratamiento. La toma de muestra de plata se realizo en el tanque de enjuague de sellado de plata antes de pasar a la planta de tratamiento.

### 5.6.1 Análisis fisicoquímico del vertimiento.

En los análisis fisicoquímicos que se realizaron a las muestras en el laboratorio ASAFRANCO, ANALQUIM y en el laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, según el Standard Methods, los resultados y método utilizados se encuentra en la tabla 18 y 19 que se muestran a continuación:

Tabla 18. Análisis fisicoquímicos realizados a la muestra de Plata.

<b>Parámetro</b>	<b>Método según el Standard Método, edición 19. 1995</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidades</b>
pH	4500-H <sup>+</sup> B Electrométrico	10.43	unidades
Conductividad	2510-B Conductímetro	46.5	µmhos/cm
DQO	5220D-2B. Reflujo Cerrado, método espectrofotómetro	4.4	mg/L
Sólidos Totales	2540B. Sólidos totales secados a 103 – 105 C	55.8	mg/L
Plata	2556 Ag-B Absorción atómica	1200	mg/L Al

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

Tabla 19. Análisis fisicoquímicos realizados a la muestra de Aluminio.

<b>Parámetro</b>	<b>Método según el Standard Métodos, edición 19. 1995</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidades</b>
pH	4500-H <sup>+</sup> B Electrométrico	9.46	unidades
Conductividad	2510-B Conductímetro	10.45	µmhos/cm
DQO	5220D-2B. Reflujo Cerrado, método espectrofotómetro	42	mg/L
Sólidos Totales	2540B. Sólidos totales secados a 103 – 105 C	83	mg/L
Aluminio	2573 Al-B Absorción atómica	936	mg/L Al

Fuente: Alarcón y Ardila. 2008.

## 5.7 OBTENCION DE LA CARGA TÓXICA E INDICE TOXICOLÓGICO

Para clasificar y evaluar el tipo de vertimiento que contiene metales se obtuvo la carga e índice toxicológico.

### 5.7.1 Obtención Carga Tóxica e índice toxicológico de la muestra de aluminio.

El caudal q maneja la empresa CORINTER es un promedio de 10m<sup>3</sup>/mes

$$C_{\text{arg aTóxica}}(UT) = \frac{100}{CL50} \times \bar{Q}$$

$$C_{\text{arg aTóxica}}(UT) = \frac{100}{2.98} \times 10 = 335.57$$

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

$$IT = \text{Log}(1 + 335.57)$$

$$IT = 2.597$$

Comparando estos resultados con los rangos del índice toxicológico que se presentan en el cuadro 13(Rangos de Índices Toxicológicos) el vertimiento industrial para la empresa CORINTER en cuanto aluminio, nos indica que la empresa presenta un riesgo reducido en los vertimientos que realiza con el metal aluminio. Cabe anotar que este vertimiento luego es pasado a la PTAR.

### 5.8 COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON OTRAS PRUEBAS DE TOXICIDAD REALIZADOS EN EL EXTERIOR Y EN COLOMBIA.

Comparación de resultados con otras pruebas de toxicidad por plata realizadas en el exterior y en Colombia.

Para validar los resultados obtenidos con *Daphnia Pulex* durante la investigación, se compararon con datos logrados en otras investigaciones realizadas en el exterior y en Colombia.

Tabla 20. Valores comparativos con especies de *Daphnia* expuestos a tóxicos que contiene plata en el exterior.

Especie de crustáceo	CL <sup>50</sup> µg/L	Tiempo de exposición	Estado	Ambiente	Referencia
<i>Daphnia Magna</i>	0,02	48	Neonatos	Dulce	Rate (1999)
<i>Daphnia dubia</i>	0.000005	48	Neonatos	Dulce	Hook & Fisher

					(2001)
<i>Daphnia Magna</i>	0.004	48	Neonatos	Dulce	Call et al. (1999)
<i>Daphnia Magna</i>	0.00.2	48	Neonato	Dulce	US EPA (1980)

Fuente: Desarrollos de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes a aluminio. Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente Plata. República Argentina. Subsecretaria de Recursos Hídricos de la Nación. Diciembre de 2003. Documento en línea: <http://www.intchem.org/documents/cicads/cicads/cicad44.htm#6.0>

Tabla 21. Valores comparativos de la con especies de Daphnias expuestos a plata en Colombia.

Especie de crustáceo	CL <sup>50</sup> mg/L	Tiempo de exposición	Estado	Ambiente	Referencia
<i>Daphnia optusa</i>	0.03	48	Neonato	Dulce	Corporación tecnológica de Bogotá 2005
<i>Daphnia magna</i>	0.05	48	Neonato	Dulce	Universidad javeriana 2004
<i>Daphnia Obtusa</i>	0.08	48	Neonatos	Dulce	Corporación tecnológica de Bogotá 2005

Fuente: Corporación Tecnológica de Bogotá, 2005

Comparación de resultados con otras pruebas de toxicidad por Aluminio realizadas en el exterior y en Colombia.

Para validar los resultados obtenidos con *Daphia Pulex* durante la investigación, se compararon con datos logrados en otras investigaciones realizadas en el exterior y en Colombia.

Tabla 22. Valores comparativos de la con especies de Daphnias expuestos a aluminio en el exterior.

Especie de crustáceo	CL <sup>50</sup> µg/L	Tiempo de exposición	Estado	Ambiente	Referencia
<i>Daphnia pulex</i>	0.2	48	Neonatos	Dulce	Ingersoll and Winner (1982)
<i>Daphnia Magna</i>	0.3	48	Neonatos	Dulce	Chapman et al., Manuscript

Fuente: Desarrollos de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes al aluminio. Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente Aluminio. República Argentina. Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación. Diciembre de 2005. Documento en línea: <http://www.hidricosargentina.gov.ar/pdfs/aluminio.pdf>.

Tabla 23. Valores comparativos con especies de Daphnias expuestos a aluminio en Colombia.

Especie de crustáceo	CL <sub>50</sub> mg/L	Tiempo de exposición	Estado	Ambiente	Referencia
<i>Daphnia magna</i>	0.4	48	Neonato	Dulce	Hoyos (1995)
<i>Daphnia magna</i>	0.2	48	Neonato	Dulce	Molano (1993)
<i>Daphnia pulex</i>	0.2	48	Neonato	Dulce	Obregón (1995)

Fuente: Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería; Unidad académica de ambiental y Facultad de Biología; área de investigación. Corporación tecnológica de Bogotá.

En las anteriores comparaciones podemos observar que en Colombia no se han realizado estudios suficientes con *Daphnia pulex* acerca de la concentración letal media de aluminio y plata; puede ser debido a la diferencia de características morfológicas de cada especie y a las condiciones fisicoquímicas de los ecosistemas en las que ellas se encuentran. Las branquias de las *Daphnia pulex* son más permeables y por ende el tóxico entra más rápido y fácil a su cuerpo provocando de manera casi inmediata la muerte de estas. Se puede destacar que la especie *Daphnia* es más sensible al tóxico que contiene plata que al que contiene aluminio.

## 5.9 ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO

Para el manejo de los vertimientos industriales con metales pesados se encontró en la diferente bibliografía (marco teórico) tres posibles tratamientos que por su capacidad de remoción de estos metales (Al y Ag), sus costos tanto iniciales como operativos, área requerida para su manejo y disposición final, se compararon para proporcionar una mayor claridad de la información y un mejor tratamiento.

Cuadro 16. Comparación de alternativas de manejo

SISTEMAS DE TRATAMIENTO	COSTOS INICIALES	COSTOS OPERATIVOS (MES)	% REMOCION METALES PESADOS (Ag, y Al)	AREA ( m3)	DISPOSICION FINAL
Electrólisis	Electrodos (grafito y acero), Contenedor de 55 gal, Fuente de energía,	Consumo de kv/ proceso. Personal especializado para manejo de regulación de fuente	95% - 98%	Requiere de 1,5 m <sup>2</sup> incluyendo la ubicación de la fuente.	Venta de la plata (Ag), para manufactura de joyas. El Aluminio (Al) vuelve a cabeza de proceso. Sedimento celda de seguridad
Precipitación	AW-PLEX 16-101 bis 16-107, ideal para remoción de metales pesados, dosificador, contenedor, sistema eléctrico	Consumos altos de flocculantes (Vol.), para remoción de plata. Personal especializado para realizar pruebas de dosificación para coagulantes, consumo Kv/proceso	85%- 90%	Precipitación manual el área que se requiere para un caudal de 1m3 semanal es de 2m2. Precipitado mecánico requiere de 3-4 m2	El sedimento se reincorpora en el proceso productivo / Celda de seguridad
Osmosis inversa	Equipo completo con membranas para agua industria, con caudal de rechazo del 40%	cada 6 meses cambio de membranas, limpieza periódica para remover películas de organismos	97% - 99%	Por el volumen del caudal tan bajo el área requerida es de una estimación de 2 m2	Celda de seguridad
COSTOS	ALTO	\$ 5'100,000 - 7'000,000	EFICIENCIA	97% - 99%	
	MEDIO	\$ 2'100,000 - 5'000,000		95% - 98%	
	BAJO	\$ >1'000,000 - 2'000,000		90%- 95%	

Fuente: Alarcon y Ardila, 2008





#### 5.9.1. Precipitación

La precipitación es una técnica de tratamiento que logra reducir las concentraciones de algunos metales pesados como el Aluminio y la Plata, a concentraciones muy bajas.

La precipitación química consiste en añadir ciertos productos químicos al agua residual para conseguir que estos alteren el estado físico de los sólidos disueltos o en suspensión y se produzca una eliminación por sedimentación.

##### 5.9.1.1 Precipitación Aluminio

La precipitación química se realizó con el vertimiento industrial de la empresa CORINTER S.A, el cual tiene como principal componente de remoción el Hidróxido de Aluminio.

Para este proceso se utilizó HCl con el fin de disminuir el pH de la solución a un rango de 7,5 - 9,8 (Romero 2002) teniendo en cuenta su pH inicial de 10,92, finalmente se neutralizó la solución con HCl.

La muestra se encontraba con un pH de 10,92, para disminuir este valor se agregó 10 ml HCl, obteniendo un pH 9,3, valor propicio para la formación del precipitado de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  con ayuda de agitación a 100rpm durante 1minuto, posteriormente se pasó de 100rpm a 20 rpm durante 7minutos, al cabo de los cuales se apagó el equipo y se dejó precipitar por completo durante 8 minutos más.

Después de 24 horas se obtuvo el mayor porcentaje de precipitación de  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , filtrando la muestra para analizar el porcentaje de remoción que se obtuvo en el tratamiento mg/L.

##### 5.9.1.2 Precipitación Plata

La precipitación química se realizó con el vertimiento industrial de la empresa ALFACROM LTDA, el cual tiene como principal componente de remoción la Plata.

Para este proceso se utilizó  $\text{HNO}_3$  y  $\text{HCl}$  con el fin de disminuir el pH de la solución a un rango de 5 – 7,5 (Romero 2002) teniendo en cuenta su pH inicial de 10,15, finalmente se neutralizó la solución con  $\text{NaOH}$ .

El  $\text{HNO}_3$  fue usado para disminuir el pH de la solución de 10,15 a 7,2, luego se usó el  $\text{HCl}$  con el fin de formar el precipitado blanco característico del cloruro de plata, esto se llevó a cabo en un pH de 6 con ayuda de agitación a 100rpm durante 1 minuto, posteriormente se pasó de 100rpm a 30 rpm durante 5 minutos, al cabo de los cuales se apagó el equipo y se dejó precipitar por completo durante 15 minutos más.

Pasado 24 min se filtró y se analizó la remoción de plata con un valor de 200mg/l.

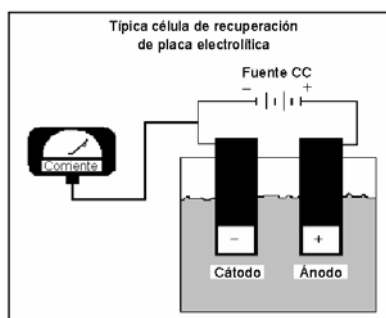
Una vez realizado el análisis de la cantidad de aluminio y plata presentes después del tratamiento de precipitación, se evidenció una reducción de Aluminio del 80% y de plata y 70%, lo que nos indica que este tipo de tratamiento no es el más apropiado pues este no nos asegura una reducción de este metal a un valor cercano a la norma.

#### 5.9.2. Tratamiento para remoción de metales pesados elegido

Según la el cuadro comparativo se observa que una de las mejores alternativas y mas económica es la electrolisis teniendo como disposición final un ingreso por la venta de los metales pesados, una remoción alta utilizando otros sistemas de tratamientos observados en la cuadro 16. El proceso de recuperación electrolítica es eficiente y opera a un costo moderado.

La mayoría de las empresas aplican este procedimiento para la recuperación de plata y aluminio. El proceso se realiza sumergiendo en la solución de fijador, un ánodo, generalmente de grafito con geometría rectangular y un cátodo de acero inoxidable en forma de discos o cilíndrico.

Ilustración 34. Electrolisis.



Fuente: kodak 2005.

En la fotografía siguiente se muestran los cátodos que son empleados en la actividad de recuperación de plata donde queda depositado el elemento en su forma metálica.

Ilustración 35. Cátodo cilíndrico.



Fuente: Alternativas de gestión de los líquidos reveladores y fijadores agotados para el sector servicios en Bogotá. Pérez, Hernández, 2005.

Ilustración 36. Cátodo de forma de discos.



Fuente: Alternativas de gestión de los líquidos reveladores y fijadores agotados para el sector servicios en Bogotá. Pérez, Hernández, 2005.

Posteriormente a la solución se almacena en bidones plásticos de 55 galones, se le introduce corriente a través de un rectificador. El rectificador permite regular el voltaje de

acuerdo a las necesidades del proceso, este generalmente se desarrolla entre 2 y 5 voltios.

Un motor hace girar el cátodo para que la solución esté en permanente agitación y el paso de corriente a través de esta sea homogéneo.

Ilustración 37. Proceso de electrolisis.



Fuente: Fuente: Alternativas de gestión de los líquidos reveladores y fijadores agotados para el sector servicios en Bogotá. Pérez, Hernández, 2005.

La duración del proceso es muy variable, depende del voltaje a que se trabaje y de la concentración de plata en el líquido fijador. La evolución del proceso se determina a través del uso de papel indicador, este mide la concentración de plata en el líquido. Cuando el papel indicador no presenta ninguna variación se da por terminado el proceso.

Una vez terminado el proceso de electrólisis se procede a raspar el cátodo donde ha quedado depositada la plata en escamas.

Ilustración 38. Raspado de la plata depositada en el cátodo.

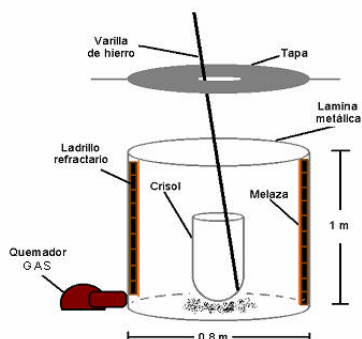


Fuente: Fuente: Alternativas de gestión de los líquidos reveladores y fijadores agotados para el sector servicios en Bogotá. Pérez, Hernández, 2005.

Fundición de la plata en escamas.

Para eliminar las impurezas de sales que han quedado en la plata recuperada, esta se funde en un crisol junto con borax o sal de nitro a alta temperatura. El crisol es calentado con gas propano o carbón coque. En la figura 13 se describen cada uno de los componentes típicos de un horno de fundición de plata.

Ilustración 39. Horno de fundición de plata.



Fuente: kodak 2005.

### 5.10.3. Recuperación electrolítica

Esta operación permite recuperar plata metálica, el proceso se realiza cargando un tanque plástico de 55 galones (208 litros), en el tanque se colocan los electrodos y se regula el paso de corriente y voltaje a través de un rectificador teniendo en cuenta las características de la solución (pH – concentración de metales pesados), el cátodo rotatorio realiza la mezcla para que el paso de corriente sea homogéneo.

Terminado el proceso de recuperación electrolítica la solución va al pozo de bombeo que funciona en un tanque plástico de 500 litros de capacidad, por medio de una bomba sumergible se regula el paso del líquido al sistema de mezcla (1m<sup>3</sup>/h).

Tanque de electrolisis:

El tanque de electrolisis tiene como finalidad la recuperación de parte de la plata que se pierde durante el proceso y la remoción de carga contaminante del vertimiento. Esta unidad se realiza en un tanque plástico de 55 galones, con 25 galones del vertimiento industrial; se disponen los electrodos y se hace seguimiento del paso de corriente y voltaje a través

de un rectificador, el cátodo rotatorio realiza la mezcla para que el paso de la corriente sea homogéneo.

#### Filtración

El sistema se diseñó con 3 filtros en serie: arena, carbón activado y zeolitas; todos los materiales están soportados sobre lechos de grava de diferentes diámetros (12-20, 6-12, 3-6). El área de cada filtro es de 0.25 m<sup>2</sup> a razón del caudal de diseño (1 m<sup>3</sup>/h) y la carga hidráulica (4 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>h).

#### 5.10.4 Diseño Planta de Tratamiento

##### 5.10.4.1 Clarifloculador

- CONO HIDRAULICO

$$Q_{\max} = 1.5 \text{ m}^3/\text{h}$$

$$Q_{\max} = 12 \text{ m}^3/\text{d}$$

$$Q_{\max} = 0.0004 \text{ m}^3/\text{s}$$

$$V(\text{MezclaRápida}) = 0.02 \text{ m}^3/\text{s}$$

$$\text{GradosInclinación} = 45^\circ$$

#### TRONCO CONO

$$AM_2 = \frac{0.0004}{45}$$

$$AM_2 = 0.002 \text{ m}^2$$

$$DM_2 = \sqrt{\frac{(4 * 0.002)}{3.1416}}$$

$$DM_2 = 0.2 \text{ m}^2$$

$$Dm_2 = \frac{0.2}{5}$$

$$Dm_2 = 0.033 \text{ m}^2$$

$$Am_2 = 0.0008 \text{ m}^2$$

$$\text{Dis tan cia} = \frac{0.2}{0.033}$$

$$\text{Dis tan cia} = 0.07 \text{ m}$$

Donde:

AM: Área mayor

Am: Área menor

DM: Diámetro mayor

Dm: Diámetro menor

### CILINDRO

Altura efectiva= 0,50 m

$A = 0,02m^2$

$D = 0,2m^2$

$V = (0,5m * 0,02m^2)$

$V = 0,01m^3$

Borde libre= 0,30

Altura 0,80 m

Donde:

A: Área del cilindro

D: Diámetro del cilindro

V: Volumen del cilindro

### TUBO

$D_3 = 0,03 m^2$

$A_3 = 0,0008 m^2$

Altura del Tubo= 0,47 m

$V_3 = 0,0004 m^3$

Altura cono total hidráulico=1,3 m

Volumen Total=0,011m<sup>3</sup>

Td= 0,45 min

Td= 27seg

Donde:



$A_3$ : Área del tubo

$D_3$ : Diámetro del tubo

$V_3$ : Volumen del tubo

$T_d$ : Tiempo de retención

#### 5.10.4.2. Floculador

Velocidad Ascensional  $M = 60 \text{ m}^3 / \text{m}^2\text{-día}$

Velocidad Ascensional  $m = 30 \text{ m}^3 / \text{m}^2\text{-día}$

$D_m$  (Base del Floculador) = 0.15m

Grados de inclinación = 45°

$\tan(45) = 1,00$

#### TRONCOCONO

$$A_{mb} = \frac{12}{60}$$

$$A_{mb} = 0.2 \text{ m}^2$$

$$A_{MB} = \frac{12}{30}$$

$$A_{MB} = 0.4 \text{ m}^2$$

$$D_{mb} = \sqrt{\frac{(4 * 0.2)}{3.1416}}$$

$$D_{mb} = 0.5 \text{ m}^3$$

$$D_{MB} = \sqrt{\frac{(4 * 0.4)}{3.1416}}$$

$$D_{MB} = 0.7 \text{ m}^3$$

$$X_1 = \frac{(0.7 - 0.5)}{2}$$

$$X_1 = 0.1 \text{ m}$$

$$H_c = 0.1 \text{ m}$$

Donde:

$A_{mb}$ : Área menor de la base del floculador.

*AMB*: Área mayor de la base del floculador.

*Dmb*: Diámetro menor de la base del floculador.

*DMB*: Diámetro mayor de la base del floculador.

$X_1$ :

*Hc*: Altura

#### ZONA DE LODOS

$$X_2 = \frac{0.15}{0.5}$$

$$X_2 = 0.2m$$

$$Hd = (1 * 0.2)$$

$$Hd = 0.2m$$

$$VolumenTotal = 0.08m^3$$

Donde:

$X_2$ :

*Hd*: Altura del lecho

#### CILINDROS

Altura efectiva= 1m

Borde libre= 0,23 m

Altura total= 1,23 m

$$Volumen total = 0,48 m^3$$

$$Td = 19,32 min$$

$$Td = 0,3 horas$$

Donde:

*Td*: Tiempo de retención

#### 5.10.4.3 Filtros

$$A = \frac{Q}{C \text{ arg } a \text{ Hidraulica}}$$

$$A = \frac{1.5}{4}$$

$$A = 0.25m^2$$

$$D = \sqrt{\frac{A * 4}{\pi}}$$

$$D = \sqrt{\frac{(0.25 * 4m^2)}{\pi}}$$

$$D = 0.564 \cong 0.6m$$

Donde:

A: Área del filtro

D: Diámetro del filtro

#### GRAVA

$$V = A * H$$

$$V = (0.25m^2 * 0.15m)$$

$$V = 0.0375m^3 = 38L$$

$$M = \frac{V}{\rho}$$

$$M = \frac{38L}{1.6 \text{ Kg/L}}$$

$$M = 25Kg + 3lechos$$

$$M = 75Kg$$

Donde:

V: Volumen de la grava

M: Cantidad de grava

### ARENA

$$V = (0.25m^2 * 0.8m)$$

$$V = 0.2m^3 = 200L$$

$$M = \frac{200}{1.6}$$

$$M = 125Kg$$

Donde:

*V: Volumen de la arena*

*M: Cantidad de arena*

### CARBÓN

$$V = (0.25m^2 * 0.8)$$

$$V = 0.2m^3 = 200L$$

$$M = \frac{200L}{0.35}$$

$$M = 580Kg$$

Donde:

*V: Volumen de carbón*

*M: Cantidad de carbón*

## CONCLUSIONES

- El valor de la ( $CL_{48}^{50}$ ) o concentración letal del 50 % de la población en 48 horas para el Aluminio es 2.8mg /L, con unos limites de vigilancia (limite inferior de 1.18 mg/l, limite superior de 5.58 mg/l) los cuales aseguran que la ( $CL_{48}^{50}$ ) se encuentra establecida entre estos valores evidenciando, que el ensayo puede ser confiable. Al hacer comparación con la normatividad en el Decreto 1594 de 1984 se encontró que no hay regulación de este metal por parte de los entes ambientales, por lo que es necesario incluirlo para la protección de la Ictiofauna.
- La ( $CL_{48}^{50}$ ) para Plata, registra valores menores a  $1 \times 10^{-12}$  mg/L , lo que indica que la *Daphnia pulex* posee una gran sensibilidad y poca asimilación de este metal ya que se acumula; muriéndose toda la población en un periodo de tiempo de 1 hora. La norma determina una ( $CL_{48}^{50}$ ) de 0,01 mg/l, un valor alto para los registrados durante las pruebas de toxicidad en la Universidad de la Salle.
- Al realizar la caracterización de los vertimientos de las industrias de galvanotecnia y producción de hidróxido de aluminio se encontró un alto porcentaje de metales pesados, plata en un valor de 1200 mg/l y aluminio en un valor de 900 mg/l, lo que indica que se debe hacer un tratamiento previo a la descarga, que cumpla con normatividad y que no represente ningún peligro potencial a los ecosistema.
- Se determinó que la sensibilidad del cultivo *Daphnia Pulex* con dicromato de Potasio ha cambiado debido a que se mejoraron las condiciones para el mantenimiento del cultivo. Los datos obtenidos en esta investigación estuvieron entre un rango de 0.1227 -0.2183 mg/l y un promedio 0.1591 mg/l, comparando con investigaciones realizadas (ver cuadro siguiente) podemos establecer que todas las investigaciones al igual que estan dentro del rango de aceptación.

Año	Cl <sup>50</sup> mg/L	Límite superior mg/L	Límite inferior mg/L	Referencia
1997	0.1175	0.1969	0.0381	ESCOBAR, 1997
2007	0.394	0.563	0.221	BERNAL Y ROJAS, 2007
2007	0.097	0.121	0.068	OROZCO Y TORO, 2007
2008	0.1531	0.1872	0.1170	ALARCON Y ARDILA, 2007

- Se determino que los parámetros de control de calidad se deben mantener constantes como lo son: OD: Mayor a 6 mg/L, pH. 7.3 – 7.5 y Dureza 40 – 48 mg/L CaCO<sub>3</sub> , ya que estos nos indican el alto nivel de precisión y exactitud que puede y debe ser alcanzado en la ejecución de un bioensayo.
- La electrolisis se planteo como alternativa de manejo para los vertimientos de aluminio y plata ya que es la opción que genera una mayor utilidad al vender los metales recuperados, sus costos iniciales oscilan entre 2'100.000 y 5'000,000 de pesos , costos operativos entre 1'000.000 y 2'000,000 de pesos Colombianos, con una eficiencia de remoción del 95% al 98% y un área reducida de 1.5 m<sup>2</sup>, lo que me asegura un cumplimiento de la norma.

## RECOMENDACIONES

- Es importante seguir llevando a cabo pruebas de toxicidad con organismos nativos, utilizando otras sustancias de interés sanitario, tomándose mas niveles de la cadena trófica, obteniendo así la mayor cantidad de referencias que puedan complementar los datos físico – químicos, para que posteriormente sean aplicados en la creación de normas estatales mas restrictivas en el control de vertimientos y protección de la fauna y flora, asociados con los ecosistemas acuáticos.
- Se sugiere la validación de los datos obtenidos durante esta investigación para garantizar la veracidad y así pueda servir como base para una posible modificación en la legislación, para garantizar la preservación de la biota acuática.
- Se requiere determinar la concentración letal media de estos metales en toda la cadena trófica presente en ecosistemas acuáticos.
- Para la realización de los ensayos se deben utilizar reactivos que no estén expuestos a la manipulación de diferentes personas, debido a que pueden contaminar el mismo, afectando los resultados de los mismos.
- Manejar para cada tóxico material independiente, para evitar la contaminación de los mismos y garantizar la veracidad de los datos.
- Verificar como mínimo cada semana la sensibilidad del cultivo mediante la carta de control, para asegurar que la mortalidad de los organismos, no la este causando factores ajenos al metal.
- Se debe garantizar que el laboratorio sea de uso exclusivo para bioensayos, ya que cualquier cambio en el ambiente puede causar alteraciones en los cultivos así como en los resultados de los experimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

ARENGAS CASTILLA, Ángel Isdrúval; SEPÚLVEDA GALLEGO, Luz Elena. La Plata, sus implicaciones en la salud y en el ambiente. Universidad de Caldas. Caldas; 2006.

BERNAL PAREDES, Alba Janneth y ROJAS AVELLA, Andrea Paola. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del mercurio por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. Tesis de grado (Ingeniera Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Ingeniera Ambiental y Sanitaria.

BRUCE VARELA, Ramón Alejandro. Determinación del nivel de toxicidad aguda del fungicida carbendazim y el herbicida 2,4 d mediante bioensayos con *galaxias maculatus* Universidad Católica de Temuco. 2005.

BUSTOS LOPEZ, Martha Cristina; DIAZ BAEZ, María Consuelo; ESPINOSA RAMIREZ, Adriana Janneth. Pruebas de toxicidad acuática. Fundamentos y métodos. Universidad nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería, sección de Ingeniería Ambiental. Bogotá D.C.; 2004.

CASTILLO, G., DUTKA, R y McLNNIS,R. Ecotoxicidad en aguas superficiales y sedimentos. México D.F., 1996.

CIID. Manual de Procedimiento para la Ejecución de Bioensayos de Toxicidad en el Agua. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Montevideo, Uruguay. 1998. Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos12/neon/neon.shtml>.

COMISIÓN AMBIENTAL METROPOLITANA – GTZ Manual de minimización, tratamiento y disposición. Concepto de manejo de residuos peligrosos para el giro de la galvanoplastia. Mexico D.F., Septiembre de 1998.



CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996.

D'AMBROSIO, María Cristina. II Seminario Hispano-Latinoamericano sobre temas actuales de hidrología subterránea y IV Congreso Hidrogeológico Argentino. Río Cuarto, 25-28 de octubre de 2005. Documento disponible en línea: [http://www.produccionbovina.com.ar/agua\\_bebida/30-tecnologias\\_remocion\\_arsenico.htm](http://www.produccionbovina.com.ar/agua_bebida/30-tecnologias_remocion_arsenico.htm).

Decreto 1594 de 1984 Por el cual se reglamenta parcialmente el título I de la Ley 9 de 1979, así como el capítulo II del título VI - parte III - libro II y el título III de la parte III - libro I - del Decreto 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos. Junio 26 de 1984. Bogotá D.C.

Desarrollos de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes al aluminio. Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente Aluminio. República Argentina. Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación. Diciembre de 2005. Documento en línea: <http://www.hidricosargentina.gov.ar/pdfs/aluminio.pdf>.

ESCOBAR CODINA, Juan C. y PEREZ GARCIA, Alejandro. Artículo científico del I.E.S. Sierra Bermeja (Málaga) , Los metales pesados como polucionantes tóxicos 2005.

ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de muestras ambientales. Santafé de Bogotá. 1997.

GAETE, H.; SILVA, J.; RIVEROS, A.; SOTO, E.; TRONCOSO, L.; BAY-SCHMITH, E.; LARRAIN, A. Efectos combinado y riesgos ecológicos de las concentraciones de Al, Cu, Ag y Cr, presentes en el puerto de San Vicente, Chile. Gayana Oceanol. 1996.

GIOVANNETTI SANCHEZ, Silvia Lorena. Liniamientos para la aplicación de un sistema de gestión ambiental en la empresa Alfacrom LTDA. Bogotá. 2004. Tesis de grado (Ingeniería Química). Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Química.

GONZÁLEZ GÓMEZ, Henry Bernardo y GUTIÉRREZ ÁLVAREZ, Sandra del Pilar. Clasificación y ciclo de vida de una especie *Daphnia* nativa de la sabana de Bogotá. Santafé de Bogotá, 1995. Trabajo de grado (Licenciado en química y biología). Universidad de La Salle. Facultad de Ciencias de la Educación. Departamento de Química y Biología.

GREGORIO G., Oscar R. Dpto. Galvanoplastia de Laboratorio. Técnico de Desarrollos Técnicos GETRI S. I. Libro en línea disponible en Internet: <http://www.getri.es/librogalv.htm>

MAC-QUHAE, Cesar Augusto. Descripción de un protocolo estandarizado de toxicidad aguda para cladóceros (documento en línea). Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos11/clado/clado.shtml>.

MARCANO, José E. Educación Ambiental; Elemento de ecología; Ecología de las aguas dulces 2° parte; clasificación ecológica de los organismos de agua dulce y comunidades del medio acuático. (libro en línea), consultado febrero de 2007. Disponible en Internet <<http://www.jmarcano.com/nociones/fresh2.html>> Párrafo 4, 5

MATUK VELASCO, Vivian. El impacto biológico de las aguas residuales del lavado del beneficio húmedo de café tratadas anaerobiamente. Santa Fe de Bogota, 1996. Tesis de grado (Bióloga). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Microbiología Industrial.

OROZCO HOLGUÍN, Juliana y TORO BARBIER, Angela María. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{48}^{50}$ ) del cromo y cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Bogotá. 2007. Tesis de grado (Ingeniera Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Ingeniera Ambiental y Sanitaria.

PEREZ TUTA, María Catalina y HERNANDEZ VILLALBA, Ediwin Hernán. Alternativas de gestión integral de los líquidos reveladores y fijadores agotados para el sector servicios en Bogotá D.C. Bogotá. 2005. Tesis de grado (Ingeniera Ambiental y Sanitaria). Universidad de La Salle. Ingeniera Ambiental y Sanitaria.

REISH, D. y OSHIDA, P. Manual of methods in aquatic environment research. part 10 – short-term static bioassays. FAO. 1987.

RIBERA, Jesús, Implantación de un sistema de depuración de aguas residuales industriales en candel hijos. Unidad de Ingeniería Medioambiental – AIMME, 2006.

SALDAÑA, Mendioroz. PLATA Ag. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC. Cantoblanco. Madrid 2000.

SILVIA, J. TORREJÓN G; BAY-SCHMITH, E y LARRAIN A. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera) usando un tóxico de referencia. Gayana. 2003.

TORRETERA BLANCO, Laura y TACON, Albert G.J. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura una diagnosis. VI Cultivo de micro crustáceos de agua dulce. FAO. Brasil Abril, 1989 (proyecto en línea). Disponible en Internet: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S06.htm#chVI>.

VAZQUEZ, Amparo y SOLIS, Eduardo. Influencia de la calidad del agua sobre la ocurrencia de *Daphnia pulex* en la presa José Antonio Álzate y algunos aspectos de su pesquería, Facultad de ciencias agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México. Cerillos Piedras Blancas, México, 2000.

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Imagen:Daphnia.jpg>

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

<http://www.imasd.fcien.edu.uy>

<http://www.monografias.com/trabajos11/clado/clado.shtml#bio>

<http://ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol318.htm#Aluminio>

<http://www.mapas.com.co/visor2007/colombia.visor/visor.jsp>

<http://www.corinter.com.co/empresa.htm>.

<http://www.lenntech.com/espanol/nanofiltracion-y-osmosis-inversa.htm>

<http://www.aquapurificacion.com/osmosis.htm>

<http://www.istas.net/fitema/att/li4.htm>

<http://www.conama.cl/rm/568/article-908.html>

## CONCLUSIONES

- El valor de la ( $CL_{48}^{50}$ ) o concentración letal del 50 % de la población en 48 horas para el Aluminio es 2.8mg /L, con unos limites de vigilancia (limite inferior de 1.18 mg/l, limite superior de 5.58 mg/l) los cuales aseguran que la ( $CL_{48}^{50}$ ) se encuentra establecida entre estos valores evidenciando, que el ensayo puede ser confiable. Al hacer comparación con la normatividad en el Decreto 1594 de 1984 se encontró que no hay regulación de este metal por parte de los entes ambientales, por lo que es necesario incluirlo para la protección de la Ictiofauna.
- La ( $CL_{48}^{50}$ ) para Plata, registra valores menores a  $1 \times 10^{-12}$  mg/L , lo que indica que la *Daphnia pulex* posee una gran sensibilidad y poca asimilación de este metal ya que se acumula; muriéndose toda la población en un periodo de tiempo de 1 hora. La norma determina una ( $CL_{48}^{50}$ ) de 0,01 mg/l, un valor alto para los registrados durante las pruebas de toxicidad en la Universidad de la Salle.
- Al realizar la caracterización de los vertimientos de las industrias de galvanotecnia y producción de hidróxido de aluminio se encontró un alto porcentaje de metales pesados, plata en un valor de 1200 mg/l y aluminio en un valor de 900 mg/l, lo que indica que se debe hacer un tratamiento previo a la descarga, que cumpla con normatividad y que no represente ningún peligro potencial a los ecosistema.
- Se determinó que la sensibilidad del cultivo *Daphnia Pulex* con dicromato de Potasio ha cambiado debido a que se mejoraron las condiciones para el mantenimiento del cultivo. Los datos obtenidos en esta investigación estuvieron entre un rango de 0.1227 -0.2183 mg/l y un promedio 0.1591 mg/l, comparando con investigaciones realizadas (ver cuadro siguiente) podemos establecer que todas las investigaciones al igual que estan dentro del rango de aceptación.

Año	Cl <sup>50</sup> mg/L	Límite superior mg/L	Límite inferior mg/L	Referencia
1997	0.1175	0.1969	0.0381	ESCOBAR, 1997
2007	0.394	0.563	0.221	BERNAL Y ROJAS, 2007
2007	0.097	0.121	0.068	OROZCO Y TORO, 2007
2008	0.1531	0.1872	0.1170	ALARCON Y ARDILA, 2007

- Se determinó que los parámetros de control de calidad se deben mantener constantes como lo son: OD: Mayor a 6 mg/L, pH. 7.3 – 7.5 y Dureza 40 – 48 mg/L CaCO<sub>3</sub>, ya que estos nos indican el alto nivel de precisión y exactitud que puede y debe ser alcanzado en la ejecución de un bioensayo.
- La electrolisis se planteó como alternativa de manejo para los vertimientos de aluminio y plata ya que es la opción que genera una mayor utilidad al vender los metales recuperados, sus costos iniciales oscilan entre 2'100.000 y 5'000,000 de pesos, costos operativos entre 1'000.000 y 2'000,000 de pesos Colombianos, con una eficiencia de remoción del 95% al 98% y un área reducida de 1.5 m<sup>2</sup>, lo que me asegura un cumplimiento de la norma.

## RECOMENDACIONES

- Es importante seguir llevando a cabo pruebas de toxicidad con organismos nativos, utilizando otras sustancias de interés sanitario, tomándose mas niveles de la cadena trófica, obteniendo así la mayor cantidad de referencias que puedan complementar los datos físico – químicos, para que posteriormente sean aplicados en la creación de normas estatales mas restrictivas en el control de vertimientos y protección de la fauna y flora, asociados con los ecosistemas acuáticos.
- Se sugiere la validación de los datos obtenidos durante esta investigación para garantizar la veracidad y así pueda servir como base para una posible modificación en la legislación, para garantizar la preservación de la biota acuática.
- Se requiere determinar la concentración letal media de estos metales en toda la cadena trófica presente en ecosistemas acuáticos.
- Para la realización de los ensayos se deben utilizar reactivos que no estén expuestos a la manipulación de diferentes personas, debido a que pueden contaminar el mismo, afectando los resultados de los mismos.
- Manejar para cada tóxico material independiente, para evitar la contaminación de los mismos y garantizar la veracidad de los datos.
- Verificar como mínimo cada semana la sensibilidad del cultivo mediante la carta de control, para asegurar que la mortalidad de los organismos, no la este causando factores ajenos al metal.
- Se debe garantizar que el laboratorio sea de uso exclusivo para bioensayos, ya que cualquier cambio en el ambiente puede causar alteraciones en los cultivos así como en los resultados de los experimentos.

# ANEXOS