

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL
PLOMO Y PLATA EN LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA,
MEDIANTE ENSAYOS TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA**

**MARIA ISABEL SIERRA CARMONA
ANDRÉS FELIPE ZÁRATE DELGADILLO**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTA Y SANITARIA
BOGOTÁ D.C
2008**

Maria Isabel Sierra Carmona
Andrés Felipe Zárate Delgadillo

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL
PLOMO Y PLATA EN LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA,
MEDIANTE ENSAYOS TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA**

MARIA ISABEL SIERRA CARMONA
ANDRÉS FELIPE ZÁRATE DELGADILLO

Trabajo de grado para optar al
Título de Ingenieros Ambientales y sanitarios

Director
PEDRO MIGUEL ESCOBAR MALAVER
QUÍMICO INDUSTRIAL
LIC. QUÍMICO Y BIOLOGÍA

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTA Y SANITARIA
BOGOTÁ D.C
2008**

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Nota de aceptación:

Firma del Director de Tesis

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Bogotá D.C., Abril de 2008

Maria Isabel Sierra Carmona
Andrés Felipe Zárate Delgadillo

*A mi mamá quien fue la principal artífice de
este logro tan importante que he alcanzando,
sin el apoyo de ella esto nunca hubiera sido realidad;
a mi papá que siempre me acompaño con sus sabios consejos
y paciencia a lo largo de este enriquecedor pero difícil camino;
a mi hermanita Liz y a mi cuñado Luigi que siempre me
dieron una voz de aliento en los momentos en que
iba a desfallecer; a mis hijos que son la razón principal
por la cual voy a luchar de ahora en adelante;
doy una mención especial a mi abuelo Alfonso quien
desde el cielo siempre se encargo de protegerme;
a mi abuela Mariela, a mis tías, a mis tíos, primos, amigos y a toda
aquella persona que de una manera u otra me tendió
la mano durante este proceso de aprendizaje;
a Maria Isabel que fue la amiga y compañera perfecta para haber
sacado esto adelante; y por último no me queda más que agradecerle a
Dios por acompañarme y protegerme siempre.*

Andrés Felipe.

*Un logro más para mi vida,
este como tantos otros logros que se han cumplido
se lo debo completamente a mi mamá, que fue mi apoyo incondicional y
que nunca me dejó sola aun después de tantas cosas
difíciles que pasamos juntas, a mi papá por su gran apoyo y por sentirse orgulloso
de mi y de igual manera acompañarme hasta el final,
A mi hijo Esteban por su paciencia, y por encender ese motor para
sacar este proyecto adelante, porque fue por él y solo para él, a Eduardo por estar ahí
siempre, conmigo gracias abuelito, a mis hermanas
por sus sabios consejos por ubicarme cuando
estaba un poco perdida, al gordo por su gran escucha y por ser ese hermanito mayor para
mi, a mis sobrinos, primos, primas y hermanos, a mis amigos y amigas por
acompañarme en el transcurso de esta etapa
que ya se va, gracias Stephy por ser tan buena amiga y apoyarme en todas mis
travesuras y por estar conmigo, a Deiber por ser ese gran
amigo para mi y por ser tan especial,
Mao porque me colaboraste en el momento
que mas lo necesitaba “fue un gran aporte”,
A mi compañero de tesis Andrés Felipe que a pesar de tantos
sobresaltos durante la realización del proyecto logramos sacarlo adelante.
Y esto como tantas otras cosas en mi vida no se hubiese culminado
si Dios no estuviera conmigo gracias.*

Maria Isabel

AGRADECIMIENTOS

Los Autores expresamos nuestros agradecimientos a:

Al Ing. Pedro Miguel Escobar Malaver quien fue nuestro director de tesis y guió siempre nuestro trabajo con sus conocimientos y acertados consejos.

Al grupo de monitores del laboratorio de Ing. Ambiental y sanitaria, encabezado por el laboratorista Oscar Fernando Contenido, por su colaboración y prestación de servicios durante nuestra estadía en el laboratorio de bioensayos.

A la industria galvánica ALFACROM LTDA, por habernos recibido en sus instalaciones y permitirnos utilizar sus vertimientos para ser objeto de investigación.

Al grupo de las chiquillas Angie y Jazz por su acompañamiento durante la realización del proyecto, por su colaboración, por el tiempo y por sus miles explicaciones gracias.

A los laboratoristas de química Huber, Máximo y Giovanni por su colaboración, regalándonos asesoría y haciéndonos préstamo de implementos de laboratorio.

CONTENIDO	Pág.
INTRODUCCIÓN	7
1. OBJETIVOS	17
objetivo general	17
objetivo específico	17
2. MARCO TEÓRICO	18
2.1. TOXICOLOGÍA	18
2.1.1. Vías de ingreso al organismo	18
2.1.1.1. Vía respiratoria	19
2.1.1.2. Vía dérmica	19
2.1.1.3. Vía digestiva	19
2.1.2. Valores de exposición y concentración	20
2.1.2.1. Dosis letal Media	20
2.1.2.2. Concentración letal	20
2.1.3. Factores que modifican la toxicidad de una sustancia	21
2.1.4. Clasificación toxicológica	21
2.2. ENSAYOS DE TOXICIDAD	21
2.3. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDOS	24
2.3.1. Ensayos preliminares	25
2.3.2. Ensayos definitivos	25
2.4. BIOENSAYOS	26
2.4.1. Tipos de Bioensayos	29
2.4.2. Criterios para la evaluación de los resultados de bioensayos	30
2.5. TOXICIDAD DEL EFLUENTE	31
2.5.1. Contaminación por plomo	34
2.5.2. Contaminación por plata	36
2.6. ORGANISMOS UTILIZADOS EN EL BIOENSAYO	37
2.6.1. Daphnia Magna	38

2.6.2. Importancia ecológica	43
2.6.3. Criterios de selección	43
2.7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS	44
2.7.1. Método probit	45
2.7.2. Análisis de varianza	47
2.8. RESULTADOS ECOLÓGICOS	49
2.9. TRATAMIENTO DE AGUA	51
2.9.1. Laguna de estabilización	52
2.9.2. Precipitación química	53
2.9.3. Procesos de membrana	54
2.9.4. Intercambio iónico	57
3. MARCO LEGAL	59
4. METODOLOGÍA	60
4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	60
4.2. CULTIVO DE ORGANISMOS DE PRUEBA DAPHNIA MAGNA	61
4.2.1. Adecuación del hábitat	61
4.2.1.1. Limpieza y mantenimiento	62
4.2.2. Ciclo vital y/o de renovación de Daphnia Magna	63
4.3. AGUA RECONSTITUIDA	64
4.4. MEDIO BRISTOL Y CENTRIFUGACIÓN DE ALGAS VERDES	68
4.5. Conteo de algas verdes	74
4.6. PRUEBAS O TEST DE TOXICIDAD	78
4.6.1.1. Preparaciones de soluciones para dicromato ($K_2Cr_2O_7$)	79
4.6.1.2. Preparación de soluciones para metales pesados Ag y Pb	80
4.6.1.3. Soluciones para test preliminar de metales pesados Ag y Pb	81
4.6.1.4. Preparaciones de soluciones para la muestra del vertimiento Crudo	82
4.6.1.5. Soluciones para test preliminar de la muestra de vertimiento crudo	
4.6.2. Montaje del bioensayo de toxicidad	82
4.7. PRUEBA DE SENSIBILIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	84
4.8. TEST PRELIMINAR DE TOXICIDAD CON Ag Y Pb	86

4.9. TEST DEFINITIVO DE TOXICIDAD CON Ag Y Pb	86
4.10. RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRA PARA LOS ENSAYOS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO DE LA INDUSTRIA GALVANICA ALFACROM Ltda.	86
4.10.1. Análisis fisicoquímico realizado al vertimiento	87
4.11. TEST DEFINITIVO DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO DE ALFACROM Ltda.	90
4.12. ÍNDICE TOXICOLÓGICO	90
4.12.1. Índice toxicológico del vertimiento	91
5. INDUSTRIA GALVANICA	92
5.1. Descripción general del proceso	92
5.2. El proceso de tratamiento superficial	92
5.3. Residuos producidos en galvanotecnia	93
5.3.1. Residuos líquidos	94
5.4. Características generales de los lodos	94
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	96
6.1. Sostenimiento Del Cultivo	96
6.2. Pruebas Toxicológicas	97
6.2.1. Pruebas De Sensibilidad $K_2Cr_2O_7$.	97
6.2.2. Determinación De La CL50 Del Toxico De Referencia	97
6.2.3. Prueba Preliminar	97
6.2.4. Prueba Definitiva	98
6.2.4.1. Análisis De Varianza De Las Pruebas Definitivas Con Dicromato De Potasio	99
6.2.4.2. Análisis Probit	100
6.3. Prueba De Toxicidad con Plata $AgSO_4$	102
6.3.1. Prueba Preliminar	103
6.3.2. Prueba Definitiva	103
6.3.2.1. Análisis de varianza	104
6.3.2.2. Análisis Probit	105
6.4. Prueba De Toxicidad Con Plomo $Pb(NO_3)_2$	107

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

6.4.1. Prueba Preliminar	107
6.4.2. Prueba Definitiva	108
6.4.2.1. Análisis de Varianza	109
6.4.2.2. Análisis Probit	110
6.5. Prueba De Toxicidad Con El Vertimiento Pb – Ag	112
6.5.1. Prueba Preliminar	112
6.5.2. Prueba Definitiva	112
6.5.3. Análisis de Varianza	113
6.5.4. Análisis Probit	114
6.6. Vertimiento Tratado	115
6.6.1. Prueba Preliminar	116
6.6.2. Prueba Definitiva	117
6.6.3. Análisis De varianza	118
6.6.4. Análisis probit	119
6.7. CARACTERIZACIÓN DEL VERTIMIENTO DE UNA INDUSTRIA GALVÁNICA	120
7. PRETRATAMIENTO DEL VERTIMIENTO A NIVEL LABORATORIO.	130
7.1. Selección del tratamiento	130
8. DISEÑO DE LAS UNIDADES	136
8.1. Sistema Batch	136
8.1.1. Calculo de diseño	136
8.1.2. Diseño Tanque Dosificador	139
8.1.3. Tolla De Lodos	140
8.2. Diseño de un Filtro	141
8.2.1. Perdidas en el filtro	142
8.2.1.1. Perdidas en el lecho de carbón activado	142
8.2.1.2. Pérdidas en el lecho de Arena	143
8.2.1.3. Pérdidas en el lecho de graba	144
8.3. Pérdidas en la tubería	146
CONCLUSIONES	206
RECOMENDACIONES	208

BIBLIOGRAFÍA

210

ANEXOS

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 2.1. Categorías toxicológicas de los efluentes industriales según los resultados obtenidos empleando una batería de bioensayos.	24
Tabla 4.1 Parámetros de control en un cultivo de organismos tipo Daphnia Magna	61
Tabla 4.2. Preparación del agua reconstituida	65
Tabla 4.3. Parámetros de control para el agua reconstituida	66
Tabla 4.4. Preparación del medio Bristol	69
Tabla 4.5. Rangos de índices toxicológicos	91
Tabla 6.1 prueba preliminar sensibilidad.	98
Tabla 6.2 prueba definitiva	98
Tabla 6.3 análisis de varianza con dicromato de potasio	99
Tabla 6.4 CL 50 – 48 Carta Control Dicromato De Potasio	101
Tabla 6.5 concentraciones definitivas	103
Tabla 6.6 pruebas definitivas de plata	104
Tabla 6.7 análisis ANOVA	104
Tabla: 6.8 Carta control plata	106
Tabla 6.9 prueba preliminar de plomo	108
Tabla 6.10 prueba definitiva de plomo	108
Tabla 6.11 ANOVA del plomo	109
Tabla: 6.12 Carta Control Del Plomo	110
Tabla 6.13 pruebas preliminares con vertimiento	112
Tabla 6.14 análisis de varianza	113
Tabla 6.15 CL 50 – 48 Carta Control Del Vertimiento	115
Tabla 6.16 prueba preliminar de vertimiento tratado	117

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Tabla 6.17 prueba definitiva vertimiento tratado	118
Tabla 6.18 anova del vertimiento tratado	119
Tabla 6.19 Carta Control Del Vertimiento Tratado	119
Tabla 6.20 resultados de la caracterización	128
Tabla 7.1 estudio de viabilidad de los diferentes tratamientos	130
Tabla 8.1. Parámetros de diseño del sistema batch	137
Tabla 8.2. Parámetros de diseño TK dosificador	140
Tabla 8.3. Parámetros de diseño tolva de lodos	140
Tabla 8.4 parámetros de diseño del filtro	141
Tabla 8.5 cantidad necesaria para el filtro	142

LISTA DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 4.1 preparación del agua reconstituida	68
Esquema 4.2 preparación del medio Bristol y centrifugación de algas verdes	72
Esquema 4.3 orden de lectura en la cámara Neubauer	75
Esquema 4.4. conteo de algas	77
Esquema 5.1 localización de ALFACROM Ltda.	91
Esquema 8.1 diagrama de flujo del pre tratamiento	137

INTRODUCCIÓN

En los últimos tiempos el componente más afectado por las descargas incontroladas de contaminantes tóxicos ha sido el recurso agua, causando efectos directos sobre los ecosistemas acuáticos a nivel mundial, es por eso que la única forma de evaluar el verdadero impacto es por medio de métodos de biomonitoreo ambiental y pruebas de toxicidad.

Países como Estados Unidos, Japón, y Europa, han incorporado a su rigurosa legislación de control de calidad del ambiente criterios que surgen de los bioensayos. La ventaja de estos métodos es que nos informan si en el agua hay alguna sustancia que resulte tóxica, o sea, algún agente que pueda producir un efecto adverso en el sistema biológico, o producir la muerte.

En países de América Latina se ha venido aplicando esta técnica debido a la necesidad de proveer de agua potable algunas de sus ciudades con problemas sanitarios, de igual manera se utiliza para evaluar la contaminación y toxicidad de los efluentes industriales que afectan directamente cuerpos de agua y ecosistemas acuáticos.

En Colombia la implementación de métodos como los bioindicadores ambientales se dieron entre 1986 y 1999 por el Instituto Colombiano de Hidrología, Meteorología y Adecuación de Tierras HIMAT y el Instituto Colombiano de Geología y Minería INGEOMINAS, implementándose debido al grado de contaminación que se estaba generando a nivel ambiental y la mortalidad de los ecosistemas acuáticos.

En el año 2001 Se trabajó con bioensayos en la Corporación Autónoma Regional De Cundinamarca “CAR” con ayuda de la Universidad Nacional de Colombia

mediante el proyecto CAR – BID, con contrato interinstitucional para la realización de trabajos a nivel investigativo.

En 1984, a través del decreto 1594 Colombia fija como base para la toma de decisiones en materia de ordenamiento del recurso agua, los criterios de calidad y las normas de vertimientos que regirán para todo el territorio nacional. En el artículo 15, se definen los bioensayos acuáticos, como aquellas pruebas en las cuales la respuesta de un organismo se utiliza para detectar o medir la presencia o el efecto de sustancias, elementos, compuestos, desechos o factores ambientales solos o en combinación.¹

Las especies del género *Daphnia Magna* son las más utilizadas por ser uno de los mayores componentes de zooplancton de las aguas dulces del mundo y por su sensibilidad a diferentes tipos de contaminantes y por su eficiencia como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad adoptada por instituciones encargadas de las normas de control del medio ambiente como USEPA (EE.UU.), OECD (Comunidad Europea), DIN (Alemania), entre otras.²

Se obtuvo los resultados gracias a los diferentes métodos estadísticos que se trabajaron durante el desarrollo del proyecto como el probit y la anova, análisis de varianza.

Después de realizadas las pruebas toxicológicas, se determinó que la plata es uno de los metales más peligroso y su efecto sobre el medio ambiente es grande.

¹ Evaluación preliminar de la toxicidad aguda de extractos vegetales utilizando *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* y *Allium cepa* /Lourdes Marcela Contreras Cardona

² Bioensayos de toxicidad aguda utilizando *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Daphniidae) desarrollada en medio de cultivo modificado. Mónica Núñez* y Jasmin Hurtado. Laboratorio de Biotecnología Ambiental. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú

Las industrias de galvanotecnia generalmente trabajan con recubrimientos con plata brillante, si no se trata debidamente antes de ser vertidos su efecto a los ecosistemas acuáticos seria fatal ya que los organismos expuestos en las practicas son organismos sensibles y no toleran diluciones mayores al 0.1% de plata.

El plomo no es tan perjudicial para los ecosistemas acuáticos pero si no se trata de igual forma causa un gran efecto ya que los organismos expuestos a este metal no toleran más del 10% de dilución en sus aguas.

GLOSARIO

Bioensayos: Experimentos que investigan el papel de sustancias en un contexto biológico, ecológico y/o evolutivo.

Biota: Conjunto de especies de animales, plantas y otros organismos que ocupa un área o lugar determinado

Concentración letal: es aquella a la cual una sustancia en su límite máximo produce la muerte.

Contaminante: introducción en un medio cualquiera de un contaminante, es decir, la introducción de cualquier sustancia o forma de energía con potencial para provocar daños, irreversibles o no, en el medio inicial.

Contaminación ambiental: la presencia en el ambiente de cualquier agente (físico, químico o biológico) o bien de una combinación de varios agentes en lugares, formas y concentraciones tales que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o para el bienestar de la población, o que puedan ser perjudiciales para la vida vegetal o animal, o impidan el uso normal de las propiedades y lugares de recreación y goce de los mismos.

Daphnia Magna: Pequeña “pulga de agua” (un crustáceo, pariente de los cangrejos) que mide de 1 a 3 mm. Y vive en lagos y lagunas, alimentándose de algas microscópicas y sirviendo, a su vez, de alimento a los peces.

Decapado: Proceso de desoxidación basado en la eliminación química del oxido y la cascarilla. Es un proceso industrial muy utilizado sobre todo en talleres de galvanoplastia, acerías, fabricación de automóviles, etc

Deletéreos: sustancia mortal, venenoso.

Dosis: Cantidad de sustancia que se absorbe en 24 horas expresada con relación a kilogramos de peso corporal.

Dosis letal 50 (D.L. 50): Es la dosis necesaria para matar el 50% de un grupo de animales bajo determinadas condiciones de experimentación, es decir la dosis capaz de matar el 50% de la población expuesta. Mgr., ml., vol. %.

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

Efecto: Alteraciones bioquímicas, morfológicas, o fisiológicas producidas por la exposición a sustancias químicas, que dependen de la toxicidad y las dosis.

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

Fitoplancton: conjunto de los organismos acuáticos autótrofos, que tienen capacidad fotosintética y que viven dispersos en el agua.

Galvano: proceso químico el cual se deposita una capa fina de metales, sobre una base preferiblemente metálica.

Intoxicación: Conjunto de perturbaciones fisiopatológicas y/o anatomopatológicas producido por los diversos principios activos.

Partenogénesis: es una forma de reproducción basada en el desarrollo de células sexuales femeninas no fecundadas, que se da con cierta frecuencia en crustáceos.

Respuesta: Es la proporción de los problemas que manifiesta un determinado efecto definido.

Replica: Batería de ensayo que contiene un número especificado de organismos en una concentración dilución de muestra definida o de agua de dilución como control.

Toxicidad: una medida usada para medir el grado tóxico ó venenoso de algunos elementos

Toxicología: La toxicología es la ciencia que estudia el origen, naturaleza y propiedades de los tóxicos, su comportamiento cinético y sus efectos sobre los organismos vivos, las manifestaciones clínicas de la intoxicación la detección y cuantificación del TOXÓN, los procedimientos adecuados de prevención y tratamiento y las implicaciones médico-legales

Toxicología ambiental: Rama que estudia los efectos tóxicos producidos por los contaminantes ambientales sobre la atmósfera, sobre el agua, y el suelo, y también el efecto de los residuos tóxicos de los alimentos

Tóxico: Es cualquier sustancia que puede producir algún efecto sobre un ser vivo y alterar su equilibrio dinámico u homeóstasis.

Xenobiotico: Lo que es extraño a la vida, toda sustancia ajena a un ser vivo, tales como agentes benignos, los inactivos y los nocivos y excluye las hormonas y las vitaminas.

RESUMEN

Por medio de este proyecto de investigación se determinó la concentración letal media en metales pesados como la Plata y el Plomo (Ag y Pb) por medio de bioensayos de toxicidad con organismos acuáticos *Daphnia Magna*.

Es primordial al emplear este tipo de técnicas de laboratorio (test de toxicidad), estandarizar los procesos utilizados para esperar una respuesta óptima a la hora de realizar las mismas, esta estandarización se logra a través de la determinación de la inhibición del movimiento (mortalidad), utilizando tóxicos de referencia como el Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$), este da la medida para determinar si los organismos prueba están funcionando en sus mejores condiciones; ya consiguiendo esto se puede determinar la CL₅₀₋₄₈ promedio y posteriormente el respectivo rango de sensibilidad de la especie *Daphnia Magna*.

La metodología empleada consistió en lograr en primera instancia, aclimatar los organismos de prueba a las condiciones necesarias para su apropiado funcionamiento y subsistencia, esto se logró mediante la preparación del agua reconstituida (160 – 180 mg $CaCO_3$ /L), preparación de alimento a base de sales inorgánicas y algas verdes tipo *Scenedesmus Acutus* (medio Bristol) y brindando las condiciones necesarias de iluminación, temperatura y limpieza del medio donde se encuentran, al lograr dichas características se comienza la realización de los test de toxicidad (10) con el tóxico de referencia (Dicromato de Potasio $K_2Cr_2O_7$) durante un periodo de 48 Horas cada uno (debido al ciclo de vida de los organismos), seguido a esto se pueden comenzar a efectuar las pruebas de toxicidad (10 para cada metal) con los metales pesados (Ag y Pb) y por último se toma la muestra de una industria galvánica (ALFACROM LTDA) en la que dentro de sus vertimientos se encuentren los metales pesados ya mencionados y se le realizan los test de toxicidad (5) para la muestra sin tratar, se propone un pretratamiento el cual ayude a mitigar los impactos generados por la descarga de

este tipo de sustancias peligrosas a un medio acuático y se realizan pruebas de toxicidad (5) con la muestra ya tratada, todo lo anterior se realizó utilizando la misma metodología al momento de montar los ensayos de toxicidad.

Cada vez que se van obteniendo resultados en los test de toxicidad se recurre a analizar estos por medio de un método paramétrico, el cual arroja el cálculo de la CL_{50 - 48} y sus límites de confianza, este es un programa estadístico denominado Probit, así se determinan los valores tanto para Dicromato de Potasio K₂Cr₂O₇, como para la Ag y el Pb y para la muestra de vertimiento tratada y con el tratamiento propuesto. Al obtener estos resultados se debe utilizar un programa de análisis de varianza denominado ANOVA.

Palabras Claves: Concentración letal media, *Daphnia Magna*, Plata (Ag), Plomo (Pb), bioensayos de toxicidad, ecosistemas acuáticos.

ABSTRACT

By means of this investigation project determined the lethal concentration average in heavy metals how the silver and the lead (Ag y Pb) by means of toxicity bioassays with aquatic organisms *Daphnia Magna*.

Is primordial to employ this type of laboratory techniques (toxicity test), to standardized the process utilize for wait an optimal answer to the hour to realize the same, this standardization to obtain trough the inhibiting mobility determination (mortality), to utilize toxics of reference how the Potassium Dichromate ($K_2Cr_2O_7$), this give the measure for determine if the test organism be function in their best conditions; now got this to can determinate the CL₅₀₋₄₈ average and later the respective sensibility range of the *Daphnia Magna* species.

The methodology use consisted in obtain in first instance, to acclimatize the test organism to the necessary conditions for their fit functioning and subsistence, this obtain by means of the preparation the reconstituted water (160 – 180 mg $CaCO_3$ /L) to preparation of food to base of inorganic salts and green alga *Scenedesmus Acutus* (Bristol medium) and to toast the necessary conditions of illumination, temperature and cleanness to the medium where their find, to obtain this characteristics to start the realization of the toxicity test (10) with the reference toxic Potassium Dichromate ($K_2Cr_2O_7$) during a half of 48 hours each (owed to the organism life cycle) next this can starting to realize the toxicity test (10 for each metal) with the heavy metals (Ag y Pb) and last to taking the sample of the galvanic industry (ALFACROM LTDA) in the that incide of their pouring to find the heavy metals now mention and to realize the toxicity test (5) for the sample without treat, to propose a preliminary treatment the that help to mitigate the impacts generate for the discharge of this type of dangerous substance to the aquatic medium and to realize toxicity test (5) with the sample now treatment, all the

previous to realize utilize the same methodology in the moment of realize the toxicity assays.

Each time that to obtain the results in the toxicity test to apply analyze this by means of a parametric method, this throw CL_{50 - 48} calculations and the confidence limits, this is a statistical program denominated Probit, so to determinate the value so much for Potassium Dichromate K₂Cr₂O₇, how for the Ag and the Pb and for the sample with treatment and with the treatment propose. To obtain this results to utilize a variance analysis program denominate ANOVA.

Words key: Concentration lethal average, *Daphnia Magna*, Silver (Ag), lead (Pb), toxicity bioassays, aquatic ecosystems.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración letal media (CL50-48) del Plomo y Plata en los vertimientos de una industria galvánica, mediante ensayos toxicológicos sobre organismos acuáticos tipo Daphnia Magna.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer el grado de sensibilidad de la Daphnia Magna utilizando Dicromato de Potasio.
- Obtener la CL 50-48 del Plomo y Plata por medio de bioensayos de toxicidad.
- Obtener la CL50-48 de una industria galvánica en la cual se presenten vertimientos que contengan Plomo y Plata.
- Proponer un Pre tratamiento al efluente de una Industria galvánica para mitigar los efectos tóxicos ambientales generados por el Plomo y Plata en ecosistemas acuáticos.
- Comparar los resultados obtenidos en los ensayos al vertimiento de la industria sin tratamiento y con tratamiento para establecer la eficiencia de la propuesta de pre tratamiento hecha (antes y después).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. TOXICOLOGÍA

La toxicología es el estudio de los agentes físicos y químicos que producen respuestas adversas en los sistemas biológicos con que entran en contacto. Una forma sencilla de entender el nivel de riesgo potencial de una sustancia, será a través de la ecuación *exposición + toxicidad = riesgo para la salud*. La exposición se refiere a la relación entre el tiempo y la concentración en el ambiente al que la persona estará siendo expuesta al agente de riesgo, mientras que la toxicidad es un factor inherente a cada producto y que dice relación a su capacidad de provocar daños inmediatos o acumulativos a un ser vivo.

Conocer este concepto es fundamental dentro de la actividad Hazmat, puesto que la salud y seguridad del personal de respuesta, de las unidades de apoyo, de la ciudadanía en general y del medio ambiente, deberán ser siempre una prioridad tanto en el desarrollo del plan de trabajo, como en la ejecución de las labores de control de la emergencia.

2.1.1. Vías de ingreso al organismo.

Es importante saber que los contaminantes pueden ingresar a nuestro organismo de diferentes formas. No todos los materiales peligrosos se comportarán igual en este sentido y no siempre sabremos con claridad, cual de estas formas de ingreso será la preferida de un producto en particular. Por ello debemos tomar conocimiento de las tres y estar siempre protegidos en cada uno de estos aspectos.³

1. INHALACIÓN.

³ Cuerpo de Bomberos de Santiago - www.bomba18.cl/manuales1/2/fundamentos_toxicocologia.pdf

2. INGESTIÓN.

3. CONTACTO EPIDÉRMICO.

2.1.1.1. Vía Respiratoria

Es la más común, puesto que los tóxicos se mezclan con el aire que respiramos, llegando a través de los pulmones con gran velocidad, a todo el resto del organismo a través del torrente sanguíneo. Debemos tener en cuenta que para que un elemento pueda ser inhalado, no necesariamente debe tratarse de un gas. Los líquidos pueden mezclarse con el aire en forma de aerosoles, así como los sólidos pueden viajar por el aire en forma de polvo en suspensión. Para cuidarnos de sus efectos debemos protegernos con equipos de respiración autocontenida.

2.1.1.2. Vía Dérmica

Muchos contaminantes pueden ingresar al torrente sanguíneo a través de los poros de nuestra piel. Al igual que una crema humectante, son capaces de ser absorbidos con cierta rapidez por nuestra piel. Frecuentemente la gente olvida que ésta también es una puerta de entrada, sin embargo hay productos como el Fenol, que con sólo algunas gotas que caigan en la piel, pueden llegar a provocar la muerte. Tampoco debemos confiarnos en que la absorción cutánea es siempre acompañada de dolor o irritación, puesto que muchos productos tóxicos pueden ingresar por esta vía, sin que siquiera nos demos cuenta de ello.

La piel representa una capa de protección, que cuando pierde su integridad, puede facilitar el ingreso de contaminantes al organismo. Especialmente riesgosas serán aquellas heridas, provocadas por cortes o heridas punzantes con elementos contaminados, puesto que colocarán el agente extraño directamente en el interior de nuestro cuerpo.

2.1.1.3. Vía digestiva.

No sólo por la ingesta directa del producto, sino a través de elementos contaminados que llevamos hasta nuestra boca y nariz. Estos contaminantes ingresan a nuestro organismo mezclados con la saliva. Por ello no debemos fumar o comer sin habernos alejado a la zona de seguridad y sin habernos lavado muy bien manos y cara.

2.1.2. Valores de Exposición y Concentración

Existen una serie de términos y unidades de medida, que sirven para expresar los valores de concentración de contaminantes y las dosis recibidas por un organismo. Veremos en esta sección que es la diferencia de dosis la que convierte a un remedio en un veneno.

1. Dosis inútil. No se obtiene ningún efecto.
2. Dosis efectiva. Se obtiene el efecto deseado con el 50% del máximo efecto posible.
3. Dosis tóxica. Efecto deletéreo
4. Dosis letal. (D.L.). Capaz de producir la muerte

2.1.2.1. Dosis Letal 50 (LD50)

Es la dosis inyectada, absorbida cutáneamente o ingerida que provoca la muerte del 50% de los individuos de la muestra. Se expresa en miligramos de tóxico por kilogramo de peso del individuo (mg. X kg.).

2.1.2.2. Concentración Letal 50 (LC50)

Es la concentración inhalada de un producto que es capaz de provocar la muerte del 50% de los individuos de una muestra, en un período de tiempo. Se expresa

en partes por millón (PPM) para gases y vapores, en miligramos por metro cúbico (mg / mt3) para polvos.⁴

2.1.3. Factores que modifican la toxicidad de una sustancia:

1. Vía de administración y absorción.
2. Propiedades físico-químicas.
3. Distribución y acumulación en el organismo.
4. Variedad e integridad de los mecanismos de detoxicación y excreción que posea el organismo.
5. Salud previa del individuo.
6. La selectividad sistémica del xenobiótico y la importancia de los órganos blanco.
7. La susceptibilidad personal del individuo.

2.1.4. Clasificación Toxicológica

- Intoxicaciones agudas. (24-48 horas). Leve. Moderada o severa.
- Intoxicación subaguda. Período de latencia de 2 a 4 semanas.
- Intoxicación subcrónica. 4 semanas – 7 años
- Intoxicación crónica. Mayor a 7 años.⁵

2.2. ENSAYOS DE TOXICIDAD.

Los ensayos de toxicidad son los bioensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. En los bioensayos se usa un tejido vivo, organismo, o grupo de organismos, como reactivo para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa.

⁴ Ibid., p. 3.

⁵ Julián Laverde Morales. Médico especialista Medicina familiar U. del Valle

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

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

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

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

Los organismos empleados para los ensayos deben tener alta sensibilidad a los tóxicos, ya que al establecer las concentraciones seguras para ellos se espera proteger a todo el ecosistema, pero hay que tener en cuenta que distintas especies tienen diferente sensibilidad a distintas sustancias químicas ⁶

Tradicionalmente en la mayoría de países la evaluación de la contaminación ambiental se ha basado en el análisis de resultados de caracterizaciones químicas. Sin embargo, en la actualidad es claro que este tipo de manejo no tiene en cuenta fenómenos de biodisponibilidad, ni efectos sinérgicos o antagónicos que puedan afectar la biota en los diferentes ecosistemas. Este problema ha sido ampliamente reconocido por lo que la evaluación toxicológica junto con el análisis químico y biológico constituyen hoy en día las herramientas básicas para evaluar, monitorear y controlar la contaminación que pueda alterar la salud de los ecosistemas (Díaz-Báez, et al., 2004).

La determinación de la toxicidad de vertimientos industriales, y por tanto el riesgo potencial que ellos constituyen para la salud del hombre y de los ecosistemas, se lleva a cabo mediante pruebas de toxicidad. Estas pruebas con organismos vivos denominadas bioensayos El propósito es establecer límites permisibles para sustancias tóxicas y tener un sistema de alerta del peligro de un vertimiento independiente de su composición.

Con los bioensayos es posible predecir los efectos que sobre un cuerpo de agua receptor puede generar la descarga de un agua residual industrial. Los efectos pueden ser inmediatos (agudos), o a mediano y largo plazo (crónicos). Las pruebas se diseñan para establecer la relación entre la concentración de la sustancia o efluente y la respuesta, de manera que pueda construirse una gráfica denominada curva concentración-respuesta. Mediante técnicas estadísticas se establece la concentración de tóxico que causa un grado de efecto particular.

⁶ www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Ensayosde.htm

Entre ellas las más utilizadas son: la concentración letal, efectiva o inhibitoria media (CL₅₀, CE₅₀ y CI₅₀). También se puede determinar la concentración a la cual no se observa efecto (*Non Observable Effect Concentration*, NOEC) y la concentración más baja a la cual se observa efecto (*Low Observable Effect Concentration*, LOEC).

Al igual que en las pruebas físicas y químicas, la validez de cada prueba estará ligada al programa de control de calidad del laboratorio (controles positivos, negativos, curvas de sensibilidad). Los valores de toxicidad obtenidos en cada bioensayo (CL₅₀) se pueden utilizar para clasificar los efluentes dentro de una categoría toxicológica tal como se muestra en la Tabla 1.1. (Bulich 1982; Coleman y Quersi 1985; DINAMA, 2002).⁷

Tabla 2.1. Categorías toxicológicas de los efluentes industriales según los resultados obtenidos empleando una batería de bioensayos.

EC ₅₀ o CL ₅₀ (%)	TOXICIDAD	CATEGORÍA
<25	Muy tóxica	1
25-50	Tóxica	2
51-75	Moderadamente tóxica	3
76-100	Levemente tóxica	4
>100	No tóxica	5

Fuente: Evaluación De La Toxicidad Del Vertimiento De Una Industria De Recubrimientos Metálicos Mediante Bioensayos

2.3. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA

El ensayo de toxicidad aguda más frecuentemente utilizado, involucra la determinación de la dosis o concentración letal media CL₅₀ o DL₅₀) del compuesto el protocolo básico para determinar la CL 50 esta bien establecido y consiste en el tratamiento de grupo de organismos con una serie matemática

⁷ Evaluación De La Toxicidad Del Vertimiento De Una Industria De Recubrimientos Metálicos Mediante Bioensayos Paola Andrea Velasco Rincón párrafos 7 al 10

relacionada de concentraciones a fin de determinar la concentración o dosis que produce la muerte del 50% de la población expuesta y la función dosis respuesta (Tortorelli, 199).

Cuando se quiera determinar el efecto de un determinado tóxico sobre una especie, lo primero que debe hacerse es determinar las condiciones del cultivo tanto en el cultivo de los organismos como en el bioensayo mismo, a fin de proporcionar condiciones estándar que permitan la reproducibilidad de las pruebas. En segundo lugar deben realizarse dos tipos de pruebas a fin de hallar las concentraciones del toxico que causen un efecto adverso en los organismos (en este caso la CL 50).

2.3.1. Ensayos preliminares

Para conocer la toxicidad aproximada del material de ensayos, es conveniente realizar una prueba previa que determine las concentraciones de tóxico que debe emplearse en el ensayo definitivo.

Alberdi, 1990. Recomienda que el test de toxicidad preliminar debe realizarse bajo las mismas condiciones que se realiza el cultivo de los organismos y con la metodología utilizada para test de toxicidad aguda el objetivo de esta prueba es establecer las concentraciones adecuadas para el ensayo definitivo. Para ello se utiliza una serie de concentraciones de rango amplio en el orden de la magnitud (0.1, 1.0, 10, 100...) (Alberdi, 1990; USEPA, 1987.), lo que permite determinar dentro de que concentraciones se debe trabajar el test definitivo. En este ensayo se evalúa el efecto de concentraciones comprendidas entre el 0.01% y el 90%.

2.3.2. Ensayos definitivos.

El propósito de este ensayo es establecer las curvas de concentración respuesta y los valores de las CL50 24 y 48 horas; para determinar estos parámetros se deben

emplear cinco o más concentraciones con rangos establecidos entre 1.5 y 2.0mg por litro (Alberdi, 1990). En esta prueba, diferente al tipo de ensayo preliminar, cada concentración debe correr por triplicado (USEPA, 1987).

El intervalo de trabajo estará comprendido entre la concentración a la cual el 100% de los organismos mueren y la concentración que produce una mortalidad no mayor al 10%. La concentración más baja podrá ser aquella que no causa efecto en los organismos de prueba. Las sucesivas concentraciones se incrementarán sobre la base de un múltiplo constante hasta alcanzar aquella que resulte lo suficientemente alta para matar el 100% de la población expuesta (Tortorelli, 19990).

2.4. BIOENSAYOS

Aunque el número de organismos utilizados en ensayos de toxicidad dentro de programas de control rutinarios ha sido limitado, en la actualidad el número se ha incrementado ampliamente. Agencias de control como la del Canadá recomiendan utilizar una o dos especies sensibles en programas rutinarios, mientras que para investigaciones iniciales o la determinación de la toxicidad de un nuevo producto, se sugiere usar una batería de pruebas en las cuales se incluyan organismos de diferentes niveles tróficos (Environment Canada, 1.999).

Es por ello, que debido a la amplia variedad de contaminantes presentes en el medio ambiente, así como las posibles interacciones que puedan generarse en los diferentes compartimentos ambientales, los investigadores en este campo recomiendan utilizar más de un bioensayo, es decir una *Batería de pruebas*. En general, los organismos que conforman la batería incluyen representantes de dos o más niveles tróficos, ya que una sola especie no garantizaría la detección de todos los posibles contaminantes presentes (Costan, 1993). Además, es importante contar no solo con los procedimientos y protocolos requeridos, sino haber llevado a cabo procesos de estandarización y validación que garanticen la

calidad de los resultados obtenidos. Existen en la literatura diferentes trabajos que muestran estos procesos así como su validación a nivel internacional (Castillo, 2004).⁸

Un ejemplo de la diversidad de respuestas, son los trabajos con efluentes industriales de industrias de textiles con *Daphnia magna* (CL_{50-48h}), *Hydra attenuata* (CL_{50-96h}), *Lactuca sativa* (CE_{50-120h}) (Fonseca, 2002), y efluentes de la industria cosmética con los dos primeros más *Selenastrum capricornutum* (Cl_{50-72h}) (op. Cit., Silva, 2003), los cuales mostraron que:

- Las respuestas tóxicas observadas con *Daphnia magna* estaban más asociadas con la presencia de materia orgánica que las de los otros dos organismos.
- Los ensayos con *Selenastrum capricornutum* mostraron que comparativamente este organismo tiene la mayor sensibilidad en presencia del vertimiento crudo de la industria cosmética.
- Se encontró una relación entre la disminución de tensioactivos por la degradación biológica ocurrida en la planta de tratamiento, y la disminución de la mortalidad en los ensayos con *Daphnia magna*.
- *Daphnia magna* e *Hydra attenuata* son altamente sensibles a la presencia de amonio. Sin embargo, la sensibilidad de *Daphnia* es mínima comparada con la obtenida con *Hydra*.

Como la sensibilidad relativa de cada organismo de prueba varía a diferentes compuestos, para garantizar una detección eficaz de la potencial toxicidad de un efluente, es necesaria que ésta sea medida a través de varias pruebas.⁹

⁸ Evaluación De La Toxicidad Del Vertimiento De Una Industria De Recubrimientos Metálicos Mediante Bioensayos Paola Andrea Velasco Rincón.

⁹ Ibid., p. 21.

Existen ciertas características de los bioensayos con organismos según EPA (1999) las cuales son:

- Suministran información sobre los posibles efectos y probable deterioro de los ecosistemas acuáticos.
- Su predicción es alta cuando en el ambiente acuático existe descargas con alta magnitud de toxicidad
- Se han entregado concentraciones confiables para muchas sustancias altamente tóxicas que causan efectos de bioacumulación en ecosistemas acuáticos
- Proveen resultados confiables por estar altamente estandarizados con alta calidad específica, controles, replicas y comparaciones con otros bioensayos.
- Proporcionan una anticipada señal de alerta, para minimizar impactos negativos y tomar medidas sobre la misma
- Al ser interpretados en forma rápida y corto plazo permiten la acumulación de dosis – respuesta, caracterizando las aguas residuales o sistemas ambientales.¹⁰

Al encontrar la relación dosis – respuesta, se puede establecer una curva de toxicidad, que permita un análisis estadístico de los resultados para así obtener la concentración letal media (CL50) de los organismos prueba, expresada en partes por millón (ppm).

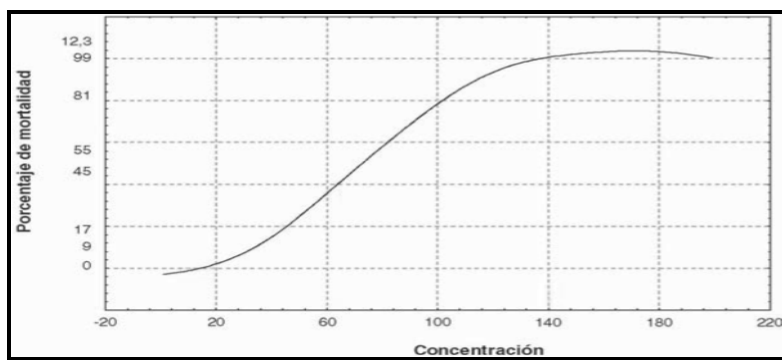
Partiendo que la concentración letal media (CL50) es la concentración de un agente que se encuentra en el agua, suelo o sedimento que es letal para el 50% de los organismos utilizados en los bioensayos.

La forma correcta de realizar los bioensayos es mediante el empleo de la respuesta cuantitativa, es decir, considerando solo dos resultados experimentales

¹⁰ BUSTOS LÓPEZ, Martha Cristina; DÍAZ BÁEZ, María Consuelo; ESPINOSA RAMÍREZ, Adriana Janneth. Pruebas de toxicidad acuática. Fundamentos y métodos. Universidad nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería, sección de Ingeniería Ambiental. Bogotá D.C.; 2004.

muerto o vivo, a partir de esto se puede determinar la relación entre la concentración y el efecto, en porcentaje. Como se dijo anteriormente los datos cuantitativos permiten la determinación estadística de la posición e inclinación de la curva de “concentración – mortalidad” para un periodo de exposición. Con esto se puede evaluar el peligro y riesgo generado por sustancias de interés sanitario que se encuentran en el medio donde vive el organismo prueba. A continuación se muestra la gráfica 1 de la relación dosis – respuesta que puede sufrir cualquier organismo a ciertas concentraciones de contaminantes presentes en su medio, los cuales producen alteraciones en su hábitat¹¹.

Gráfica 2.1. Curva de Dosis Respuesta de Organismos Expuesto a Bioensayos



Fuente: Maria 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

Cuando se implementan pruebas de toxicidad, se debe realizar la estandarización de las mismas, en la cual se establece la sensibilidad de las especies y su secuencia de efecto frente a un tóxico de referencia, según las repeticiones del experimento. Con esto se certifica que la respuesta de la población en estudio se debe al efecto del tóxico de referencia y no a variaciones de sensibilidad de los organismos o a fallas operacionales en la aplicación del método, elaborando así cartas de vigilancia, teniendo en cuenta la precisión y exactitud que se deben y pueden obtenerse en los resultados generados por un determinado bioensayo¹²

¹¹ Ibid., p. 18.

¹² Ibid., p. 20.

2.4.1. Tipos De Bioensayos

Según el sistema de renovación de la solución a la que están expuestos los organismos, los ensayos de toxicidad en medio acuática se clasifican en:

- *Estáticos*: en los que no se realiza renovación del medio ensayo.
- *Semi – estáticos*: en los que se renuevan periódicamente el medio de ensayo.
- De flujo continuo: en los que existen una renovación continua del medio de ensayo.

2.4.2. Criterios para la evaluación de los resultados en los bioensayos. De acuerdo a Munawar et. Al., 1989, los resultados de los ensayos de toxicidad pueden ser evaluados basados en los siguientes criterios:

a. Interpretación: La muerte, crecimiento, y reproducción son algunos de los parámetros usados para medir los efectos de un toxico sobre un organismo. Estos efectos, bajo condiciones de laboratorio, se esperan correspondan a los efectos observados en un ecosistema, cuando se asume que la concentración de tóxicos en el ambiente es comparable con la de las pruebas realizadas en el laboratorio.

Aunque es imposible reproducir exactamente todas las condiciones que hay en un ecosistema, con los resultados obtenidos se asume se pueda predecir los efectos en un ecosistema.

b. Extrapolación: Hace referencia a un criterio basado en los resultados obtenidos en las pruebas, y que puede predecir el peligro ambiental que cause un contaminante. Para un químico en particular este criterio esta relacionado con la sensibilidad de especies de importancia económica, usualmente en peces.

- c. Sensibilidad:** La sensibilidad de la respuesta esta sujeta al nivel de organización biológica del organismo a prueba, y a la variabilidad de la respuesta. La sensibilidad de un sistema biológico a la acción de un toxico se da en todos lo ecosistemas, pero hay especies estándar con una alta sensibilidad a diferentes tóxicos, que son ampliamente utilizadas en ensayos de toxicidad por esta razón. De la forma en que se realicen los ensayos de toxicidad, los resultados podrán tener una alta correlación con los efectos adversos observables en un ecosistema.
- d. Variabilidad:** La determinación de una variabilidad que sea aceptable, es una cuestión metodología y estadística. Sin embargo, esta es inherente a la medición de la respuesta, y al numero de unidades experimentales. Es por eso que la metodología utilizada en los ensayos de toxicidad debe ajustarse correctamente para que las variaciones no sean significativas.
- e. Replicabilidad:** Existen técnicas toxicológicas estandarizadas con especies de prueba debidamente reconocidas, que han sido publicadas, para asegurar que los datos obtenidos sean completamente reproducibles en otros laboratorios. Sin embargo, como no en todos los laboratorios pueden aplicarse estas metodologías, para evitar variabilidad en los resultados deben procurarse condiciones similares a las utilizadas en otros trabajos.¹³

2.5. TOXICIDAD DEL EFLUENTE

La mayoría de soluciones y de sustancias químicas relacionadas con el tratamiento de metales son mezclas complejas, cuyos componentes en su mayoría son tóxicos en diferentes grados, por lo que son clasificadas como sustancias peligrosas.

¹³ Evaluación preliminar de la toxicidad aguda de extractos vegetales utilizando Daphnia magna, Hydra attenuata y Allium cepa /Lourdes Marcela Contreras Cardona.

La toxicidad de la mayoría de los metales pesados se ha asociado con la desnaturalización de las proteínas celulares, y más específicamente sobre la actividad enzimática. En la Tabla 1.4. Donde se presentan algunos de los efectos sobre la salud humana que pueden ser causados por contaminantes presentes en emisiones gaseosas o vertimientos líquidos propios de una industria galvánica o de recubrimiento metálico (*op. Cit.*, COMISIÓN AMBIENTAL METROPOLITANA, 1998).¹⁴

Los metales de mayor presencia y que en concentraciones altas tienen efectos tóxicos son: Aluminio (Al), arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), manganeso (Mn) y Plomo (Pb). La potencial interacción de ellos con los diferentes elementos del ecosistema depende de la forma físico química en la que se encuentran el metal. Su estado físico este definido por el tamaño y, la especie química lo estará por:

1. El estado de oxido reducción
2. El tipo de uniones químicas (iónicas o covalentes)
3. El tipo de asociación de las diferentes especies físicas.

El grupo de los denominados metales pesados comprende 40 elementos químicos que tienen una densidad mayor de cinco, (GDA and Griffitiths, 1978). Sus efectos tóxicos tienen características comunes a todos ellos y específicas para cada uno. Los metales pesados de interés toxicológico se resumen toxicológico se resumen a continuación:

¹⁴ Evaluación De La Toxicidad Del Vertimiento De Una Industria De Recubrimientos Metálicos Mediante Bioensayos Paola Andrea Velasco Rincón.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Aluminio	Antimonio	Arsénico	Bario	Berilio
Cadmio	Cromo	Cobalto	Cobre	Estaño
Hierro	Litio	Manganeso	Mercurio	Molibdeno
Níquel	Plomo	Selenio	Talio	Zinc

Fuente: Autores

Cuando la concentración de los metales se eleva, se convierte en un contaminante. Este incremento puede ser consecuente de procesos naturales o puede ser el resultado de actividades antropogénicas. La contaminación natural, generalmente se debe a actividades volcánicas, erosión o escapes de depósito profundo o superficial (Beveridge, 1989).

Los metales se encuentran como átomos o moléculas y presentan efectos tóxicos, cuando al ser consumidos o estar expuestos a él, se produce un efecto perjudicial ya sea para el crecimiento o para el metabolismo celular (Giesy y Graney, 1989). Esto ocurrirá al exceder ciertas concentraciones o cuando se mantiene en contacto por periodos prolongados, o cuando el compuesto o el metal se presenta en una forma químicamente toxica (Silvia; 1985).

Dependiendo del grado de organización, los cambios se pueden dar a nivel de tejidos o de células individuales (Gradd and Griffiths, 1978). Al presentarse toxicidad puede ocurrir desnaturalización de las moléculas proteicas, alteraciones en el contenido energético y enzimático, mutagénesis, cancerígenos, efectos acumulativos y sinérgicos, alteraciones en el organismo que ha estado expuesto al contaminante (Leeuwangh, 1978).

Los factores que influyen en la toxicidad de los metales, de acuerdo a Carns y Pratt, 1989 y Gradd and Griffiths, 1978, se resume en:

- Las características del ambiente acuático: dureza del agua, ph, compuestos orgánicos disueltos, acidez, carbonatados, etc.
- Las transformaciones que se pueden presentar en el ambiente acuático por cambios en el estado de oxidación, entre otros, debido a la acción bacteriana, unión de metales con compuestos orgánicos, precipitaciones, formación de complejos e interacciones iónicas.
- La forma en que se encuentre el químico en el agua: como ion o como compuesto.
- La concentración en la que se encuentre.¹⁵

2.5.1. Contaminación por plomo

Los compuestos del plomo son tóxicos y han producido envenenamiento de trabajadores por su uso inadecuado y por una exposición excesiva a los mismos. Sin embargo, en la actualidad el envenenamiento por plomo es raro en virtud de la aplicación industrial de controles modernos, tanto de higiene como relacionados con la ingeniería. El mayor peligro se da por vía inhalatoria. En el caso de los compuestos organoplúmbicos, la absorción a través de la piel puede llegar a ser significativa. Algunos de los síntomas de envenenamiento por plomo son dolores de cabeza, vértigo e insomnio. En los casos agudos, por lo común se presenta estupor, el cual progresa hasta el coma y termina en la muerte. El control médico de los empleados que se encuentren relacionados con el uso de plomo comprende pruebas clínicas de los niveles de este elemento en la sangre y en la orina. Con un control de este tipo y la aplicación apropiada de control de ingeniería, el envenenamiento industrial causado por el plomo puede evitarse por completo.

El uso más amplio del plomo, como tal, se encuentra en la fabricación de acumuladores. Otras aplicaciones importantes son la fabricación de tetraetilplomo,

¹⁵ Evaluación preliminar de la toxicidad aguda de extractos vegetales utilizando *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* y *Allium cepa* / Lourdes Marcela Contreras Cardona.

forros para cables, elementos de construcción, pigmentos, soldadura suave y municiones.

El Plomo es un metal blando que ha sido conocido a través de los años por muchas aplicaciones. Este ha sido usado ampliamente desde el 5000 antes de Cristo para aplicaciones en productos metálicos, cables y tuberías, pero también en pinturas y pesticidas. El plomo es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana. Este puede entrar en el cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%).

El Plomo puede entrar en el agua potable a través de la corrosión de las tuberías. Esto es más común que ocurra cuando el agua es ligeramente ácida. Este es el porqué de los sistemas de tratamiento de aguas públicas son ahora requeridos llevar a cabo un ajuste de Ph en agua que sirve para el uso del agua potable. Que nosotros sepamos, el Plomo no cumple ninguna función esencial en el cuerpo humano, este puede principalmente hacer daño después de ser tomado en la comida, aire o agua.

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

Las funciones en el fitoplancton pueden ser perturbadas cuando interfiere con el Plomo. El fitoplancton es una fuente importante de producción de oxígeno en mares y muchos grandes animales marinos lo comen. Este es el porqué nosotros ahora empezamos a preguntarnos si la contaminación por Plomo puede influir en los balances globales. Las funciones del suelo son perturbadas por la intervención del Plomo, especialmente cerca de las autopistas y tierras de cultivos, donde

concentraciones extremas pueden estar presentes. Los organismos del suelo también sufren envenenamiento por Plomo.¹⁶

El plomo se considera uno de los metales mas peligroso que afectan la salud humana por las diferentes vías de recepción del toxico, a este metal se le acredita la famosa enfermedad llamada saturnismo y se denomina así por el envenenamiento que produce este metal en el cuerpo y porque, en la antigüedad, los alquimistas llamaban "saturno" a dicho elemento químico. Se denomina **saturnismo hídrico** al que se produce a través del agua ingerida, pues el plomo, mineral inoxidable muy maleable, no confiere gusto al agua ni a los alimentos. Precipita con HCl. El nombre que recibe esta enfermedad viene del dios griego Saturno y es llamada así porque a este dios se le representa como un demente y esta enfermedad produce alucinaciones y hace que el enfermo sea muy agresivo. Previo a esto se presentan los cólicos saturninos, ya en la etapa de intoxicación. Previa a la intoxicación existe una etapa de contaminación.

2.5.2. contaminación por plata

En la mayor parte de sus aplicaciones, la plata se alea con uno o más metales. La plata, que posee las más altas conductividades térmica y eléctrica de todos los metales, se utiliza en puntos de contacto eléctrico y electrónico. También se emplea mucho en joyería y piezas diversas. Entre las aleaciones en que es un componente están las amalgamas dentales y metales para cojinetes y pistones de motores.

La plata 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

¹⁶ Lenntech Agua residual & purificación del aire Holding B.V.

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.

Las sales solubles de plata, especialmente el nitrato de plata (AgNO_3), son letales en concentraciones de hasta 2 g. Los compuestos de plata pueden ser absorbidos lentamente por los tejidos corporales, con la consecuente pigmentación azulada o negruzca de la piel (argiria).

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.

A niveles ambientales

- Efectos en los organismos en el laboratorio y en el campo
- Medio acuático: toxicidad de los componentes de la plata para especies acuáticas
- Ambiente terrestre
- Evaluación de los efectos ¹⁷

2.6. ORGANISMO UTILIZADO EN EL BIOENSAYO

La pulga de agua, como se conoce comúnmente, es un ejemplo de microcrustáceo; pertenece al orden cladócero y mide de 1 a 3 mm de longitud. Viven primariamente en agua dulce y forma parte del plancton. Una de sus especies, *Daphnia Magna*, puede obtenerse de depósitos de peces donde sirve de alimentos a los mismos.

¹⁷ Ibid., p. 2

Los cladóceros o pulgas de agua cuyo género más conocido es la *Daphnia*, se caracteriza por presentar un caparazón que encierran el tronco y termina en la parte posterior en una espina apical.

La cabeza se proyecta centralmente como pico corto haciendo parecer el cuerpo como ave rolliza. El extremo del tronco conocido como post abdomen esta volteado centralmente y hacia delante y sostiene pinzas especiales además de espinas para limpieza del caparazón

2.6.1. *Daphnia Magna*

Las especies del género *Daphnia* son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura una uniformidad de respuesta) y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de toxicidad, de carácter universal.

Son utilizadas extensivamente en pruebas de toxicidad, por lo cual existe una extensa información sobre las técnicas de cultivo, los requisitos de temperatura, luz y nutrientes, así como su respuesta a muchos tóxicos. Específicamente, los ensayos de toxicidad con *Daphnia magna* permiten determinar la letalidad potencial de sustancias químicas puras, aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable y agua de poro de sedimentos, entre otros.

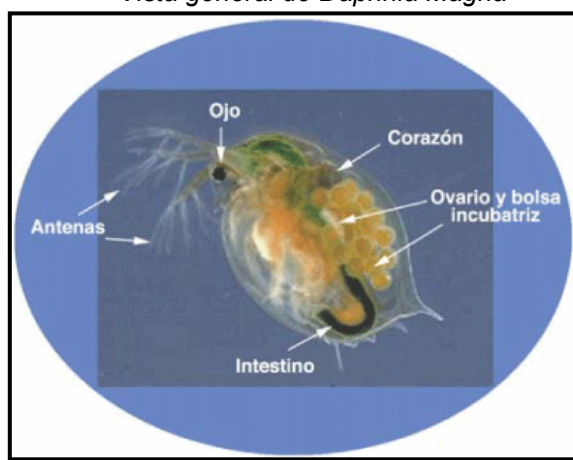
En las pruebas de toxicidad con *D. magna*, neonatos menores de 24 h de edad son expuestos a la muestra o compuesto a probar, por un periodo de 48 h, al

término del cual se cuantifica el número de organismos muertos. Con estos resultados se establece la proporción o porcentaje de mortalidad producida.¹⁸

Generalmente son incoloros o transparentes pero, a veces se observa una coloración rosada o roja debido a la presencia de hemoglobina en el interior del cuerpo. La presencia de hemoglobina dependerá de la cantidad de oxígeno disuelto en el agua. Por esta razón, en aguas bien aireadas las Daphnia son incoloras y, en aguas estancadas presentan un color rosado. Vive casi exclusivamente en agua dulce, donde se desplazan con sus segundas antenas con movimientos verticales y espasmódicos. El golpe de remo hacia abajo, impulsa a la pulga hacia arriba para posteriormente sumergirse lentamente utilizando las antenas a manera de paracaídas.¹⁹

Figura N° 2.1

Vista general de Daphnia Magna



Fuente: Ensayos Toxicológicos Y Métodos De Evaluación De Calidad De Aguas

Con pocas excepciones, son organismos filtradores, y los bordes de los apéndices del tronco, están provistos de cerdas finas filtrantes (Mc Innis, 1989). Estas sedas filtrantes retienen organismos (generalmente pertenecientes al nanoplanctón) y partículas muy finas (menores de treinta micras), inclusive a bacterias (Alberdi,

¹⁸ Ensayo de toxicidad aguda con Daphnia magna, Maria Consuelo Díaz Báez, Yolanda Pica Granados, Alicia Ronco

¹⁹ CONTRERAS, Op. Cit. P. 32

1990). Poseen cuatro a seis paredes de apéndices en el tronco, del segundo al quinto están adaptadas para filtrar y, las cerdas filtrantes se localizan sobre los apéndices para formar un peine bien definido.²⁰

La obtención de alimento se realiza mediante cerdas especiales localizadas en la parte basal de los apéndices, mediante su movimiento, el agua se desplaza en sentido anterior – posterior permitiendo que las partículas de alimento se transfieran al surco alimenticio (McInnis, 1989). Gracias al movimiento de apéndices del tronco y a la acción de una complicada serie de cerdas, el alimento filtrado procede del agua se dirige hacia delante a lo largo de los apéndices y es dirigido contra el cuerpo inmediatamente detrás de la boca. Las mandíbulas mastican el extremo anterior de la masa alimenticia, y dirigen los fragmentos a la boca. Un corto esófago que se extienden dorsalmente desembocan en el intestino medio, largo tubo que en un trayecto flexuoso recorre la longitud del cuerpo para continuarse en un recto corto (intestino posterior) y por fin en un ano situado en el segmento Terminal. Desde el extremo anterior del intestino medio, se extiende había la cabeza, un par de bolsas digestivas, equiparables a las glándulas digestivas del cangrejo río.

Figura: N° 2.2 vista de la daphnia magna



Fuente: <http://www.acuari.com/ayuda/arianteión/daphnia/>

Dentro del caparazón se encuentra todas las partes bucales y los apéndices del tronco. Se observan también pequeñas mandíbulas romas seguidas de dos pares

²⁰ CONTRERAS, Op. Cit, p. 19
48

de maxilar diminutivas y de cinco pares de apéndices birramosos que el animal utiliza para respirar y para filtrar partículas alimenticias microscópicas procedentes del agua. Los cuatro últimos segmentos corporales se encubran en sentido ventral y carecen de apéndices. El cuerpo esta formado por seis segmentos cefálicos y por nueve segmentos del tronco.

La mayoría de las Daphnias son hembras que se reproducen por partenogénesis y posee ovarios pareados cerca del intestino medio. La reproducción partenogenética es aquella en la que hay desarrollo de huevos o gameto femenino en un embrión sin que ocurra fertilización y cariogamia; esto origina individuos genéticamente iguales (Gresson, 1948; Vandel, 1931).

El crecimiento de las Daphnias ocurre inmediatamente después de la muda cuando el tegumento permanece aun blando. El crecimiento es rápido, siendo completado en menos de un minuto. Una vez que este se ha endurecido no hay incremento de tamaño hasta después de la siguiente muda. La tasa de crecimiento es rápida al comienzo de la vida de la estos organismos, para luego disminuir a niveles muy bajos hasta el final de la vida de los mismos. Se pueden reconocer cuatro periodos distintos en el ciclo de vida de Daphnia: huevo, juvenil, adolescente y adulto.

Figura: N° 2.3 vista de daphnia magna



Fuente: <http://www.acuari.com/ayuda/arianteión/daphnia/>

El número de estadios por periodo y su duración es variable dependiendo de la especie. El periodo de huevo se desarrolla completamente dentro de la cámara de

cría de la madre. El periodo juvenil presenta entre cuatro y cinco estadios. El adolescente es breve y varia entre 1 o 2; es en este periodo donde se desarrollan la primera camada de huevos dentro del ovario. El adulto en cambio presenta mayor número de estadios. La aparición de la función reproductiva es la que marca el comienzo de este ultimo periodo.

El número de jóvenes producidos por hembra también varia entre cada especie, de acuerdo al estado de individuo y su edad. *Daphnia magna*, *pulex*, *espinulata* pueden llegar a producir como máximo treinta juveniles por camada, pero normalmente el numero de crías varia de seis a diez. El estadio en el cual se produce al más alto número de juveniles es el décimo en *D. Pulex* y el quinto en *Daphnia magna*, luego de los cuales la producción de huevos disminuye hasta la muerte. La vida media de la *Daphnia magna* es de 40 días a 25 °C y de 55 días a 20 °C (Alberdi, 1990).

Cuando las condiciones del medio se torna desfavorables (cambio de temperatura del agua, disminución del alimento, aumento de la población, entre otras.), algunas de las crías maduran como machos mientras las hembras producen “huevos durmientes” o efipios.

Los efipios flotan o se sumergen en el fondo del agua y pueden resistir desecación y congelación. Por medio de estos “huevos protegidos” los organismos pueden dispersarse ya sea con la ayuda del viento o de animales, sobreviviendo largos inviernos y sequías estivales. Las mismas hembras producen huevos partenogénéticos como efipios, lo que depende de condiciones favorables o adversas del medio (pennak, 1989).²¹

²¹ Ibid., p. 23.

2.6.2. Importancia ecológica.

El microcrustáceo *Daphnia Magna* miembro del suborden cladócero es uno de los principales contribuyentes del zooplancton en la mayoría de los ecosistemas de agua dulce (McInnis, 1989).

Se encuentran comúnmente en los márgenes de los estanques y charcas permanentes y temporales, en el fondo del agua y cerca de las raíces o la parte aérea de las plantas acuáticas. Las aguas donde se encuentran son aguas oxigenadas, con un contenido de calcio y magnesio alto. El rango de pH del agua donde se encuentran está entre 6.5 y 8.5 (Pennak, 1989).

Su importancia en la cadena alimenticia acuática está, en que sirva de alimento para juveniles y adultos peces, Hydras, insectos maduros y otros organismos (Golulden, 1982).

Como *Daphnia* es un animal planctónico altamente sensible, que se alimentan de organismos más pequeños y a la vez sirven de alimento para otros más grandes, una alteración en el ecosistema o un efecto en ellos afectará a los demás eslabones de la cadena trófica.²²

2.6.3. Criterio de selección.

Los organismos pertenecientes al género *Daphnia* son ampliamente utilizados en todo el mundo como especie test o de referencia, para la realización de bioensayos o ensayos de toxicidad.

Algunas de las razones por las cuales este organismo es seleccionado son (Alberdi, 1990).

²² Evaluación preliminar de la toxicidad aguda y sub-cronica de extractos vegetales utilizando *Daphnia magna* e *Hydra attenuata* /Alba Lucia Valenzuela Correa

- Son organismos de amplia distribución, representantes importantes de la comunidad zooplanctónica.
- Presenta sensibilidad muy alta a cualquier tipo de tóxico.
- Son fáciles de criar en laboratorio y de manipular; se adecuan sin problemas a condiciones de cultivo estático, semiestático o de flujo continuo en acuarios.
- Se reproducen partenogenéticamente, de esta forma aseguran uniformidad de respuesta a determinadas condiciones ambientales.
- Presentan generaciones cortas y con alto numero de crías, con los que se pueden realizar estudios sobre generaciones sucesivas en pruebas de toxicidad crónicas.
- Los costos de cultivo y mantenimiento son bajos.

Un importante argumento del uso de Daphnia en trabajos de toxicología, es que es una especie importante presente en casi todos los cuerpos de agua. Si en un ecosistema hídrico, se presenta un cambio o una alteración, la consecuencia puede ser la eventual eliminación de una o mas especies de la cadena trófica (Leeuwangn, 1978).

2.7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos en el bioensayo pueden ser graficados, para determinar la CL50 es un valor calculado, se expresa siempre acompañado por alguna estimación del error del valor, tal como lo limites del intervalo de confianza (Tortorelli, 1990).

Los métodos, más comúnmente utilizados para el cálculo de la CL50 son:

- Métodos gráficos de Litchfield y Wilcoxon (1947).
- Método gráfico logarítmico probit de Millar y Tainter (1944).
- Método de medias móviles de Thompson y Weil (1952)
- Método Spearman karber (Hamilton et al, 1977)
- Método probit de Finney (1971)

2.7.1. Método probit

El método probit, es un método estadístico paramétrico conocido como el “probit análisis”.

En este tipo de análisis los datos de mortalidad son transformados a unidades probit utilizando un análisis gráfico. En este método se asume una curva dosis respuesta simétrica, el método se describe a continuación:

Al termino de un ensayo de toxicidad aguda se obtiene distintos niveles de un efecto tóxico determinando (mortalidad inmovilidad, inhibición del crecimiento de población, entre otros.) Expresados en función de las diferentes concentraciones de la sustancia ensayada. Es necesario disponer de métodos estadísticos adecuados para estimar un valor único, o un grupo limitado de ellos, que represente el conjunto de datos obtenidos. En general, este valor es la CL50.²³

La relación dosis respuesta puede ser grafica y el mejor ajuste a la correlación curvilínea puede ser expresada como una ecuación matemática. Por otra parte, el examen visual de la curva obtenida puede sugerir una ecuación matemática (lineal, exponencial, entre otras.) y a partir de ellas puede calcularse el mejor ajuste a los datos observados.

Cuando el rango de datos es limitado, suele suceder que se logre un buen ajuste a varias ecuaciones matemáticas distintas. En consecuencia, resulta indispensable evitar asumir el hecho de que los datos observados siguen un modelo matemático específico, a menos que los resultados hayan sido colectados a partir de un amplio rango de valores. La expresión mas común de algunas relaciones dosis efecto y de la mayoría de las relaciones dosis respuesta es la curvilínea.

²³ CONTRERAS, Op. Cit, p. 41

La base biológica para esta relación puede ser parcialmente explicada por la naturaleza de la frecuencia de la distribución de las susceptibilidades individuales o de resistencia en la población. La mayoría de los individuos en una población responderán alrededor de un nivel central de concentración y unos pocos responderán solo a muy bajas o muy altas concentraciones.

La relación dosis respuesta es observada como una curva sigmoidea, es decir, como una frecuencia acumulativa de distribución, por cuanto un organismo que responde a bajas concentraciones, también lo hace a concentraciones elevadas. Así, la frecuencia de individuos que responde a una alta concentración, incluye a todos aquellos que han respondido a ella y a las concentraciones menores.

Sin embargo, la ecuación matemática de la curva sigmoidea es difícil de manejar y, en consecuencia, suele ser transformada en una relación lineal para la presentación y evaluación de los datos.

Una característica matemática de la distribución normal es que los puntos de inflexión de las curvas a cada lado del punto central (valor medio o media) son iguales a los valores de la media más una desviación estándar.

La integración de la función de la distribución normal muestra que el área bajo la curva desde $X - 1 \text{ SD}$ a $X + 1 \text{ SD}$, incluye el 68.3% de los miembros de la población. En consecuencia, el 15.9% de la población responderá a concentraciones iguales a menores a la media menos 1 SD; y el 84.1% lo hará a concentraciones iguales o menores a la media más 1 SD. Es posible calcular aproximadamente el 95.4% de la población responderá dentro de un rango de concentración dadas entre $X - \text{SD}$ y $X + \text{SD}$ y que, el 99.9% de la población lo hará a concentraciones ubicadas entre los valores de $X - 3 \text{ SD}$ y $X + 3 \text{ SD}$.

Teniendo en cuenta, que estas ecuaciones indican iguales intervalos de concentración, los porcentajes correspondientes a cada uno de los individuos,

determinarán una línea recta cuando se los grafique como intervalos equidistantes.

Este tipo de transformación de los valores del número de individuos que responde a una concentración, y de los valores de la concentración se ha denominado probit.²⁴

Cuando se obtiene el valor de la CL50, también se tendrá el intervalo de confianza de la regresión lineal dosis respuesta que asegurarán que la verdadera CL50 se encuentra comprendida en el intervalo de concentraciones (Finney, 1978; Tortorelli, 1990).

2.8. ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA

El análisis de la varianza (o Anova: \square ariante of \square ariante) es un método para comparar dos o más medias, que son necesario porque cuando se quiere comparar más de dos medias es incorrecto utilizar repetidamente el contraste basado en la t de Student. Por dos motivos:

En primer lugar, y como se realizarían simultánea e independientemente varios contrastes de hipótesis, la probabilidad de encontrar alguno significativo por azar aumentaría. En cada contraste se rechaza la H_0 si la t supera el nivel crítico, para lo que, en la hipótesis nula, hay una probabilidad α . Si se realizan m contrastes independientes, la probabilidad de que, en la α hipótesis nula, ningún estadístico supere el valor t_{α} crítico es $(1 - \alpha)^m$, por lo tanto, la probabilidad de que alguno lo supere es $1 - (1 - \alpha)^m$, que para valores m. Una primera solución, α próximos a 0 es aproximadamente igual a α denominada método de Bonferroni, consiste en

²⁴ Ibid. P. 43.

bajar el valor /m, aunque resulta un método muy conservador.^α, usando en su lugar α de²⁵

Por otro lado, en cada comparación la hipótesis nula es que las dos muestras provienen de la misma población, por lo tanto, cuando se hayan realizado todas las comparaciones, la hipótesis nula es que todas las muestras provienen de la misma población y, sin embargo, para cada comparación, la estimación de la varianza necesaria para el contraste es distinta, pues se ha hecho en base a muestras distintas.

El método que resuelve ambos problemas es el anova, aunque es algo más que esto: es un método que permite comparar varias medias en diversas situaciones; muy ligado, por tanto, al diseño de experimentos y, de alguna manera, es la base del análisis multivariante.

2.8.1. Contrates de hipótesis en un análisis de la varianza de dos factores

Del mismo modo que se hizo en el anova de una vía, para plantear los contrastes de hipótesis habrá que calcular los valores esperados de los distintos cuadrados medios.

Por lo tanto, los estadísticos MSAB/MSE, MSA/MSE y MSB/MSE se distribuyen como una F con los grados de libertad correspondientes y permiten contrastar, respectivamente, las hipótesis:

No existe interacción (MSAB/MSE)

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i=1, \dots, a \quad j=1, \dots, b$$

²⁵ V. Abaira, A. Pérez de Vargas Métodos Multivariantes en Bioestadística. Ed. Centro de Estudios Ramón Areces. 1996.

No existe efecto del primer factor, es decir, diferencias entre niveles del primer factor (MSA/MSE)

$$H_0: \mu_1 = \dots = \mu_a$$

No existe efecto del segundo factor (MSB/MSE)

$$H_0: \mu_1 = \dots = \mu_b$$

Si se rechaza la primera hipótesis de no interacción, no tiene sentido contrastar las siguientes. En este caso lo que está indicado es realizar un análisis de una vía entre las ab combinaciones de tratamientos para encontrar la mejor combinación de los mismos.²⁶

2.9. SIGNIFICADO ECOLÓGICO DE LOS RESULTADOS DEL ENSAYOS

En un ecosistema, se presenta un continuo ciclo de elementos esenciales y una interpretación de estos elementos con otros componentes presentes en el ecosistema. Esta interacción confiere un grado de control homeostático que asegura el mantenimiento de un máximo de biomasa. Cada una de las propiedades del ecosistema: flujo de energía, ciclo de nutrientes y homeostasis, pueden ser alteradas por un contaminante ambiental; y los efectos que se dan como producto de esta alteración, pueden ser cambios en la tasa de producción primaria, o en la respiración.

Si un compuesto químico es tóxico y permanece estable en el ambiente, su peligro dependerá de las posibilidades de dispersarse y su disponibilidad para la biota presente. Un contaminante químico que llegue al suelo, agua, atmósfera o a la biota puede transportarse a través de diferentes vías (por transferencia biológica o física) entre los diferentes ecosistemas, procesos biológicos como adsorción, excreción, alimentación, influyen en el transporte de un contaminante químico. Dependiendo de la velocidad con que se den estos procesos, los tóxicos pueden acumularse en los organismos, en un fenómeno conocido como bioacumulación.

²⁶ V. Abaira, A. Pérez de Vargas Métodos Multivariantes en Bioestadística. Ed. Centro de Estudios Ramón Areces. 1996.

Cuando se produce un incremento de este contaminante a lo largo de la cadena alimenticia el fenómeno se conoce como biomagnificación.

Los contaminantes químicos que se cree no representan peligro cuando están en el ambiente, puede acumularse en un organismo en niveles tóxicos como resultado de bioacumulación. Una continua exposición a una sustancia, aun a bajas concentraciones, puede originar efectos acumulativos en las poblaciones. Adicionalmente, la persistencia de una sustancia en el ambiente no solo favorece procesos de bioacumulación o biomagnificación, si no su dispersión. Esta persistencia, se considera, es el mayor factor para determinar el riesgo potencial (Dreggan and Giddings, 1978).

La presencia de un contaminante químico en el ambiente pueden tener efecto en lo organismos, en las poblaciones, y en los ecosistemas. Cuando el contaminante interactúa con un organismo produce efectos ya sea por estimulación o inhibición de sus funciones vitales. Los resultados obtenidos a través de las pruebas de toxicidad pueden proveer información acerca de la muerte de los organismos, acumulación en tejidos, daño a nivel reproductivo, mutagenicidad, carcinogenicidad, teratogenicidad y alta susceptibilidad a cambios en el ambiente.

Lo efectos tóxicos que se puedan dar en un organismo en particular son cruciales, ya sea porque la reducción de una especie, puede modificar el tamaño de la población, al verse las interrelaciones entre los diferentes niveles tróficos (Coniglio y Baudo, 1989). Si la perturbación se da respecto a una especie de relativa importancia, puede alterarse la totalidad de los ecosistemas.

La calidad del ambiente acuático puede ser valorada no solo por análisis químico sino por la vigilancia de las comunidades de plantas y animales. Recientemente se ha utilizado la evaluación de la respuesta de organismos vivos de alta sensibilidad y de importancia en los ecosistemas, a la presencia de compuestos químicos que comúnmente llegan como contaminantes (Mackay, Colmes y Redshaw, 1989).

Es por esto que el uso de bioensayos en investigaciones que tienen relación con la polución son buenas herramientas no solo para determinar el efecto de una sustancia toxica en un organismo, sino para la preservación de diferentes especies de importancia para el ecosistema. La protección de la estructura y función del ecosistema, la predicción de la consecuencia ecológica del contaminante, el riesgo potencial de la sustancia para otros organismos superiores y el limite en que ella puede llegar a un ecosistema sin causar daños en el, son también elementos de evaluación con las pruebas de toxicidad (Dragan and Giddings , 1978; Gray, 1989; Malins, 1989).²⁷

2.10. TRATAMIENTO DE AGUA

Debido a su origen natural y a su historia como materias primas, los metales pesados no fueron considerados contaminantes peligrosos sino hasta la segunda mitad del siglo XX. Los daños que causan son tan severos que se han convertido en un tema actual tanto en el campo ambiental como en el de salud pública.

En las últimas cinco décadas, principalmente a causa del incremento y diversificación de los procesos industriales, el uso masivo de combustibles fósiles y su incorporación a muchos artículos domésticos, los metales pesados se han convertido en contaminantes ambientales de primera importancia, ya que al ser desechados en el ambiente, contaminan el suelo y el agua, y pueden acumularse en las plantas y los tejidos de los animales. Las aguas residuales, provenientes de minas y de la actividad industrial, llegan a los ríos, donde dichos desechos contaminan tanto a las aguas superficiales como a las aguas subterráneas.

La necesidad de remediar numerosos sitios contaminados con metales, principalmente suelo y ecosistemas acuáticos ha potenciado el avance en el conocimiento básico sobre las interacciones ambientales entre los

²⁷ VALENZUELA, Op.cit. p. 38.

microorganismos y los metales, ya que su capacidad para inmovilizar estos xenobióticos les confiere múltiples potencialidades para la depuración de sitios contaminados con metales.

Existen diferentes tecnologías que hacen frente a este tipo de desechos tóxicos (mediante la remoción de los iones que contienen), entre las que destacan: la precipitación, ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa, electrodiálisis y electrólisis. Algunos de estos métodos pueden remover el 99 por ciento de la toxicidad de estos metales de baja concentración.

2.10.1. Lagunas de estabilización

Las lagunas de estabilización constituyen el sistema de tratamiento de aguas residuales más antiguo que se conoce y el sistema biológico más económico. Recientemente se ha propuesto el uso de bioflóculos para incrementar la biomasa activa en las lagunas de estabilización y por tanto su efectividad.

Las lagunas de estabilización son una buena tecnología para remoción de Metales Pesados de las aguas residuales. Los microorganismos presentes en estos sistemas son capaces de soportar altas cantidades de metales pesados, además de contribuir a la remoción de metales. Una parte del metal adicionado a las lagunas es integrada a biomasa por los microorganismos y otra se deposita en forma de cristales. Es conveniente hacer pruebas para determinar el grado de inmovilización del metal en biomasa.²⁸

²⁸ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad s/n, Ciudad Universitaria. Aguascalientes, Ags. b. Centro de Ciencias Exactas e Ingenierías de la U. de G. Blvd. Marcelino García Barragán #1451, Guadalajara, Jal.

2.10.2. Precipitación química

La precipitación química es un tratamiento, usado solo para ajustar el pH y cloruro férrico como aditivo coagulante en un equipo de prueba de jarras.

La remoción de contaminantes inorgánicos durante la precipitación química depende básicamente de la solubilidad teórica de la mayoría de las especies formadas, lo cual es función del pH, concentración, temperatura y otros; y de la separación de los sólidos desde la solución acuosa (sedimentación – filtración).

En el tratamiento de aguas residuales los metales pesados son generalmente precipitados como hidróxidos mediante la adición de cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) o hidróxido de sodio (NaOH) para obtener el pH de solubilidad mínima; esto ocurre como coprecipitación durante el proceso de coagulación – floculación. Los metales pesados también se pueden precipitar como sulfuros y en algunos casos como carbonatos. La solubilidad de los sulfuros y carbonatos es menor que la de los hidróxidos y por lo tanto pueden lograrse menores concentraciones del metal en el efluente; adicionalmente, los sulfuros no presentan el comportamiento anfótero de los hidróxidos. Sin embargo, aún cuando, teóricamente, la solubilidad de los sulfuros metálicos sean bajas, en muchos casos puede ser necesario utilizar filtración para remover los flocs que han sido acarreados del proceso de precipitación/sedimentación. Una desventaja del uso de sulfuros como precipitante es la potencial generación de ácido sulfhídrico y por lo tanto hacer necesario un post-tratamiento para evitar su presencia en el efluente.

La precipitación con carbonatos es especialmente efectiva para la remoción de plomo, cadmio y níquel. Los precipitados de carbonatos son menos solubles que los hidróxidos y producen menos lodos. Adicionalmente, se tiene que este método requiere menores pH y produce un lodo más denso.²⁹

²⁹Soto, E. Miranda, R. C. Sosa, C. A. Loredó, J.A. Localización: dialnet.unirioja.es/servlet (Revista) ISSN 0716-8756

2.10.3. Procesos de Membrana

Los principales procesos de membrana utilizados para la remoción de compuestos inorgánicos en el tratamiento de aguas residuales son la electrodialisis y osmosis inversa y nanofiltración. El primero de estos procesos utiliza una diferencia de potencial eléctrico para producir la separación del elemento deseado, en tanto el resto requiere de la aplicación de presión.

a) Electrodialisis (ED)

En la electrodialisis (ED) el agua conteniendo iones en solución se hace pasar a través de membranas electrificadas. Los iones positivos migran hasta el electrodo negativo (ánodo) y los iones negativos migran hacia el electrodo positivo (cátodo); los cationes pueden pasar a través de las membranas permeables a los cationes pero no pueden traspasar las membranas permeables a los aniones y viceversa, siendo así atrapados en compartimentos alternados. Como resultado se obtiene un flujo con baja concentración de iones y una salmuera concentrada. En este proceso se pueden remover moléculas en el rango 0,0004 – 0,1 m, entre los cuales 0se encuentran los iones comunes del agua.

La electrodialisis ha sido definida como una de las “mejores tecnologías disponibles” para la remoción de bario, nitratos y selenio con remociones entre 58-94% para el Ba, 51-92% para NO₃ y >70% para Se.

El flujo parcialmente desionizado pasa a través de etapas adicionales hasta alcanzar la pureza deseada. La recuperación de agua alcanza entre un 80-90%. Cuando se utilizan membranas unidireccionales se puede producir ensuciamiento y depósitos de sarro en éstas, lo que deteriora el proceso; en este caso es necesario un pretratamiento como ablandamiento y clarificación. La electrodialisis reversible (EDR) permite cambiar la polaridad cada 15-30 minutos, lo que ayuda a

remover las partículas que se han depositado en la superficie de las membranas, requiriendo así un pre tratamiento menor.

b) Osmosis Inversa (RO) y Nanofiltración (NF)

La osmosis inversa consiste en la separación de un solvente (agua) de una solución salina mediante el uso de una membrana semipermeable y la aplicación de presión. La ósmosis inversa es un método de separación muy eficiente dado que sólo permite el paso del agua rechazando el paso de moléculas distintas.

La presión osmótica de una solución depende de la concentración de los sólidos disueltos totales (SDT) y de las características de los mismos; en términos generales se tiene que por cada 1000 mg/l de SDT se requieren del orden de 11,3 psi de presión osmótica, sin embargo dado que la transferencia de solvente comenzará a una presión superior a la presión osmótica, se requerirá hasta 4 veces ésta para operar el sistema. Los requerimientos de energía del proceso se determinan directamente en función de la presión necesaria y el porcentaje de recuperación de agua en el sistema.

La osmosis inversa permite remover un alto porcentaje de la mayoría de los iones inorgánicos. Esta tecnología es relativamente insensible al flujo y a la concentración de SDT, pero la eficiencia es afectada por la presencia de turbiedad, Hierro, manganeso, sílice y dureza. De este modo, su aplicación requiere de pre tratamiento en el que se considere como mínimo un ajuste de pH y filtración. El ajuste de pH es muy importante para evitar la formación de precipitados en la superficie de las membranas, los que pueden ocurrir debido a la polarización de ciertos compuestos o a la presencia de carbonatos y sulfatos en el agua. La presencia de estos compuestos, en general, disminuirá la recuperación de agua en el sistema.

La osmosis inversa ha sido identificada como la “mejor tecnología disponible” para la remoción de una amplia variedad de elementos y es altamente recomendable para situaciones en que se requiere una alta remoción de SDT y otros contaminantes. La eficiencia en la remoción se encuentra entre 86-99% y la recuperación de agua puede alcanzar hasta un 90%.

La nanofiltración (NF) es similar a la osmosis inversa dado que utiliza el mismo tipo de membranas y también involucra fenómenos de difusión (debido al tamaño) que controlan el proceso. En este caso se utilizan membranas similares de una delgada película de un polímero microporoso (< 2 nm) que mediante presiones menores a la osmosis inversa (60 – 100 psi), permite filtrar hasta niveles de 0,001 m (tamaño en el rango iónico y molecular) provocando la remoción de varias sales inorgánicas tales como calcio, sulfatos y magnesio.

Típicamente, las membranas NF se utilizan para el ablandamiento de aguas y para la remoción de iones divalentes. Debido a la habilidad para rechazar un gran porcentaje de la mayoría de los compuestos disueltos, estas membranas implican un método único de tratamiento para aguas con SDT en el rango bajo los 2000 mg/l. Es posible obtener una remoción del 80 al 95% de la dureza y sobre el 70% en la remoción de iones divalentes. En general, una membrana NF tendrá la siguiente distinción en la retención de moléculas:



Las moléculas anteriores son prácticamente las de mayor ocurrencia en los efluentes mineros. Las presiones requeridas para esta aplicación están en el rango 100 – 200 psi; la remoción está entre 80-90% y la recuperación de agua puede llegar hasta un 90%.

2.10.4. Intercambio Iónico

Este proceso consiste en una reacción química entre los iones en la fase líquida (agua) y los iones en fase sólida (sólido de intercambio). Ciertos iones en la solución son preferencialmente absorbidos por el sólido de intercambio y dado que la electroneutralidad debe mantenerse, éste libera otros iones a cambio.

Para el tratamiento de aguas se utilizan resinas orgánicas sintéticas de intercambio, las que tienen mayor capacidad que los productos naturales y es factible encontrar resinas específicas para intercambio aniónico y catiónico.

Las resinas catiónicas de ácidos fuertes tienen sitios reactivos poderosos como, por ejemplo, el grupo sulfónico (SO_3H) que fácilmente remueve todos los cationes. Las resinas catiónicas de ácidos débiles tienen grupos reactivos como el carboxílico, y fácilmente remueven cationes desde bases débiles tales como Ca^{++} y Mg^{++} , pero tienen habilidad limitada para remover cationes de bases fuertes tales como Na^+ y K^+ .

Las resinas aniónicas de bases fuertes tienen sitios reactivos pertenecientes al grupo de amonios cuaternarios, los cuales fácilmente remueven todos los aniones. Las resinas aniónicas de bases débiles tienen sitios reactivos tales como el grupo amino, las cuales remueven principalmente aniones de ácidos fuertes como por ejemplo SO_4 , Cl y NO_3 ; tienen limitada remoción para HCO_3 , CO_3 o SiO_4 .

Una vez que la resina ha agotado su capacidad de intercambio debe regenerarse utilizando una solución concentrada del regenerante más adecuado de acuerdo a las características de la resina, lo que provocará un desecho conteniendo los iones removidos desde el agua. Después de la regeneración, la resina debe lavarse con agua limpia. De este modo, el residual de este proceso estará constituido por el regenerante conteniendo los iones removidos y el agua de lavado del proceso; la disposición de este residual deberá ser controlada.

Todos los procesos de tratamiento antes indicados han sido reconocidos por su capacidad para remover contaminantes inorgánicos desde el agua, sin embargo, es importante destacar que su aplicación no implica la destrucción de los contaminantes sino la concentración de éstos en flujos más pequeños, en condiciones sólidas, semisólidas o líquidas cuya disposición final también debe ser controlada.

Finalmente, es importante mencionar que los costos involucrados en estos procesos pueden ser importantes y por lo tanto, cualquier acción que implique reducción de los volúmenes contaminados, reciclaje de agua y recuperación de subproductos, será siempre una necesidad previa a la definición de las soluciones de tratamiento.³⁰

³⁰ María Pía MENA *Gerente de Estudios Aguas y Riles S.A*

3. MARCO LEGAL

Ministerio de salud; Decreto 1594 del 84: Contempla la fijación de criterio de la calidad del agua;

Art. 45; Los criterios de calidad admisibles para la destinación del recurso para preservación de flora y fauna, en aguas dulces, frías o cálidas y en aguas marinas o estuarios, pero no establecen la CL 50 – 48 de la Daphnia magna para los diferentes metales.

4. METODOLOGÍA

En este capítulo se describirán los procedimientos efectuados durante la elaboración de este proyecto de investigación, como lo son: cultivo de organismos prueba con sus respectivas especificaciones y parámetros estándar, preparación de agua reconstituida y medio Bristol, ensayos de sensibilidad con Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$), ensayos de toxicidad preliminares y definitivos con sustancias puras (Ag y Pb), replicas de los ensayos y obtención de resultados.

4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Durante la elaboración de cada uno de los procedimientos anteriormente mencionados se debe tener en cuenta determinadas variables como: las concentraciones de los metales prueba (Ag y Pb), porcentaje de dilución de la muestra tomada del vertimiento de la industria galvánica, concentración letal media del Plomo y Plata en un tiempo determinado de exposición de los organismos prueba (48 horas); también se debe tener en cuenta las constantes presentes en cada uno de los procedimientos como lo son la cantidad de organismos prueba para cada ensayo (20 neonatos <24 horas de vida tipo *Daphnia Magna*, por cada una de las concentraciones en los ensayos), tiempo de duración de los ensayos 48 horas y parámetros fisicoquímicos propios de cada uno de los procedimientos como lo son pH, dureza, temperatura y oxígeno disuelto. La metodología a seguir para la elaboración de bioensayos de toxicidad con *Daphnia Magna* durante toda la investigación se explica a continuación mediante el siguiente esquema:

4.2. CULTIVO DE ORGANISMOS DE PRUEBA DAPHNIA MAGNA

La obtención de los organismos tipo Daphnia Magna se logró gracias a la colaboración del laboratorio de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana quien suministró cierto número de organismos los cuales sirvieron para dar inicio al cultivo, previo a esto se dio la respectiva adecuación del hábitat, controlando los parámetros respectivos para el funcionamiento óptimo de los organismos como lo son: el fotoperiodo, la temperatura, la luz, el pH, el oxígeno disuelto, la dureza y el alimento. (Ver tabla 4.1)

Tabla 4.1 Parámetros de control en un cultivo de organismos tipo Daphnia Magna

PARÁMETROS	DAPHNIA MAGNA
Fotoperiodo	16h luz / 8h oscuridad
Temperatura	20 +/- 2° C
Luz	600-1000 lux
pH	7.5-8.0
Oxígeno Disuelto	> 6 mg/L O ₂
Dureza	160 – 180 mg CaCO ₃ /L
Alimentación	4.5 x 10 ⁶ u. algas/individuo/día
Densidad de población	1 daphnia/100ml
CARACTERÍSTICAS DEL CICLO DE VIDA	
Longevidad	Entre 30 y 65 días
Maduración sexual	10 +/- 2 días

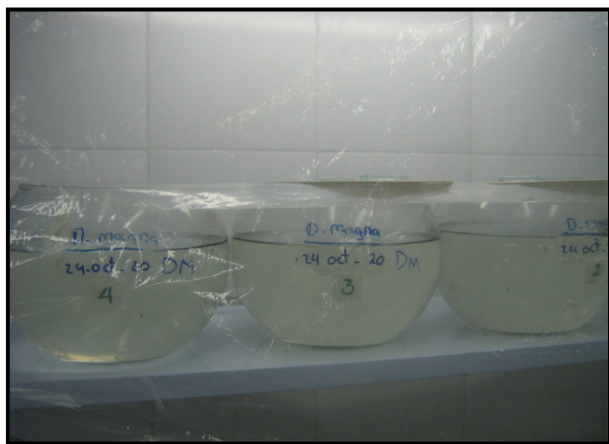
Fuente. Autores

A continuación se describirán los aspectos a tener en cuenta durante el cultivo de los organismos tipo Daphnia Magna, así como en la realización de los ensayos de sensibilidad y toxicidad:

4.2.1. Adecuación del hábitat

Los organismos de tipo *Daphnia Magna* fueron conservados en laboratorio en recipientes de vidrio (peceras) con un volumen de dos litros de agua reconstituida, los cuales permitían obtener las condiciones óptimas para el funcionamiento de estos, ya que estos brindan las características necesarias para cumplir con algunos de los parámetros mencionados anteriormente como lo son el fotoperiodo y la temperatura, dentro de cada uno de los recipientes se adicionan 20 individuos *Daphnia Magna*, esto debido a la relación 1/100 (1 individuo por cada 100ml de agua reconstituida). Así mismo cada recipiente debe permanecer tapado para evitar la interferencia de agentes externos.

Foto 4.1. Adecuación del hábitat



Fuente. Autores

4.2.1.1. Limpieza y mantenimiento

Es de vital importancia para el adecuado funcionamiento del cultivo realizar una limpieza diaria a los recipientes para retirar las exubias (mudas) y aquellos residuos que queden en el fondo de estos, esta limpieza se hace por medio de un lavado de los recipientes con agua desionizada con una esponja sin utilizar ningún tipo de jabón o detergente, posterior a esto para retirar las partículas más pequeñas se realiza un tamizado al agua reconstituida en cada uno de los

recipientes. Semanalmente se recomienda cambiar la mitad del agua de cada uno de los recipientes por agua reconstituida nueva.

Foto 4.2. Limpieza y mantenimiento

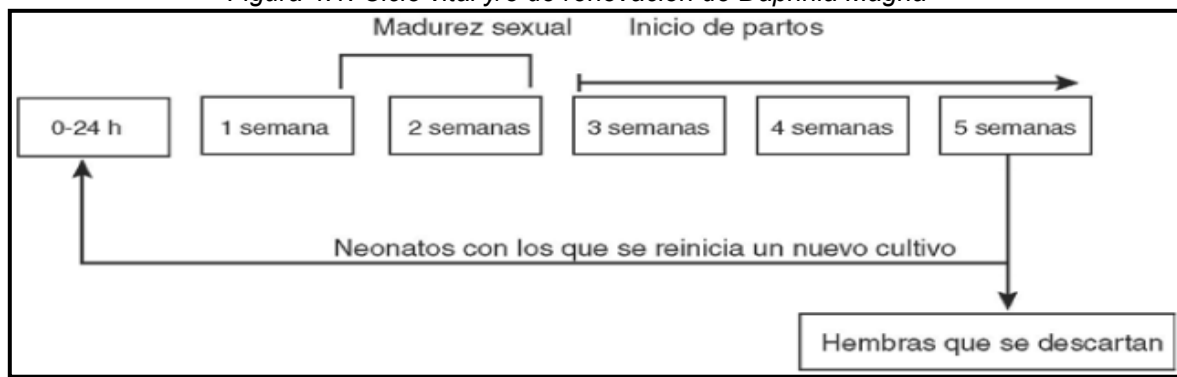


Fuente. Autores

4.2.2. Ciclo vital y/o de renovación de *Daphnia Magna*

El ciclo vital de la *Daphnia Magna* comprende tres etapas principales que son: la madurez sexual de los organismos la cual la alcanzan en un periodo de vida aproximado de 1 a 2 semanas; seguido a esto ingresan a una etapa en la cual empieza la producción de neonatos o inicio de partos, esto a partir de la tercera semana hasta la quinta semana; a partir de la quinta semana se llega a la última etapa que es el descarte de hembras, en esta se eliminan las hembras que han alcanzado esta edad y se reemplazan con un nuevo cultivo el cual provienen de los neonatos nacidos ese mismo día, así se va dando cumplimiento a este ciclo el cual permite un funcionamiento óptimo del cultivo para su posterior aprovechamiento.

*Figura 4.1. Ciclo vital y/o de renovación de *Daphnia Magna**



Fuente. Díaz Báez María Consuelo. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua.

Se deben retirar diariamente los neonatos presentes dentro de cada uno de los recipientes ya sea para la realización de pruebas o para su desecho, los organismos óptimos para iniciar un cultivo son aquellos que están en un periodo de vida de 0-24 Horas El ciclo de renovación y la continua separación de Daphnia hembras y neonatos permite mantener un cultivo de organismos en etapas óptimas de reproducción.

4.3. AGUA RECONSTITUIDA

El agua reconstituida es el medio en el cual se van a desarrollar los organismos prueba Daphnia Magna, esta es de vital importancia para el buen funcionamiento de los cultivos con este tipo de especies ya que la supervivencia de estos organismos depende directamente del control que se haga a los parámetros ambientales propios de este tipo de medios acuáticos tales como la dureza, el oxígeno disuelto, el pH y la temperatura, esto con el fin de lograr un óptimo funcionamiento de los organismos prueba; esta agua reconstituida se prepara por medio de la adición de sales inorgánicas en unas cantidades determinadas (ver tabla 2), esto para simular las condiciones a las cuales se encuentran este tipo de organismos en su hábitat natural; el intervalo de dureza al cual se debe llevar el medio es de 160–180 mg CaCO_3 /L, este tipo de agua es preparada a partir de agua desionizada producida por intercambio iónico con resinas catiónicas y aniónicas con ayuda de la unidad de osmosis inversa la cual reduce el contenido de sales totales en mas del 90%, las cantidades requeridas de sales inorgánicas para lograr el intervalo de dureza ya mencionado son las siguientes:

Tabla 4.2. Preparación del agua reconstituida

Reactivos	Stock (g)	ml de Stock/20L H ₂ O destilada	ml de Stock/30L H ₂ O destilada
CaCl ₂	13.5	300	450
MgSO ₄ 7H ₂ O	36.5	84	125
KCl	10	150	225
NaHCO ₃	10	400	600

Fuente. Escobar Malaver Pedro Miguel. Determinación de la toxicidad aguda de los detergentes mediante sistemas estáticos, utilizando Daphnia Magna. Universidad de la Salle

Los materiales y equipos necesarios para la preparación del agua reconstituida son:

- Acuario de 30-40 L.
- Probeta de 500 ml.
- 2 o 3 Aireadores de 1 salida.
- pH-metro.
- Oxímetro.
- Plástico (para cubrir los acuarios).
- Agua desionizada.

El procedimiento a seguir para la preparación del agua de dureza o reconstituida es el siguiente³¹:

1. Llenar el acuario con 10 ó 20 litros de agua destilada de calidad grado analítico, dependiendo la cantidad de agua a preparar.
2. Adicionar al acuario los volúmenes indicados para cada uno de los reactivos NaHCO₃, CaCl₂, KCl, MgSO₄ * 7H₂O, presentados en el anexo A. Con la ayuda de probeta de 500 ml. Los cuales son indispensables para preparar el medio de crecimiento de organismos y realizar soluciones problema (CETESB; L5.017)

³¹Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M01, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

3. Completar a 20 ó 30 litros el acuario con agua destilada para diluir completamente los reactivos, generando un agua reconstituida de dureza 160 a 180 mg/ CaCO₃.
4. Aumentar el oxígeno disuelto aireando el agua reconstituida de manera continua por 24 horas, con el fin de llegar a la saturación.
5. Realizar la lectura siguiendo los protocolos del estándar métodos de los parámetros de control los cuales se deben encontrar en los siguientes rangos:

Tabla 4.3. Parámetros de control para el agua reconstituida

Método según el Standard métodos	Parámetros de Control	Rango	
2340 C Titulométrico EDTA	Dureza	160-180 mg/L CaCO ₃	
4500-H ⁺ B Electrodo de membrana.	pH	7,5 - 8	
4500-0 G. Electrométrico.	O.D	> 6 mg /L	
2550 B Laboratorio y de campo.	T°C	18 -22	Ambiente
		20 – 22	Cultivo

Fuente: Standard Methods

6. Consignar esta información en el formato LB-M002. Anexo B
7. Antes de utilizar el agua reconstituida realizar nuevamente la medición del oxígeno disuelto y la dureza, estas variables deben estar:
 - Concentración de oxígeno por encima de 6 mg/L
 - Dureza total entre un rango de 160 y 180 mg/L
8. Cuando alguno de estos parámetros de control, se encuentra fuera de los intervalos el agua debe ser descartada.
9. Antes de usar el agua reconstituida, para el mantenimiento de cultivo, dilución de las muestras ambientales y preparación de soluciones, se debe comprobar por medio de un prueba de control (test de viabilidad), los

efectos adversos sobre los organismos expuestos, para ello se toman recipientes plásticos y en cada uno de ellos se introduce cinco (5) neonatos, al cabo de 24 o 48 horas, se realiza la lectura comprobando que la cantidad de organismos vivos sea mayor al 90%, si no constituye otro motivo para descartar el agua reconstituida.

10. Cuando, se tiene la certeza absoluta que el agua reconstituida cumple los parámetros establecidos y no provoca la muerte de los individuos, esta puede ser utilizada para el mantenimiento del cultivo.

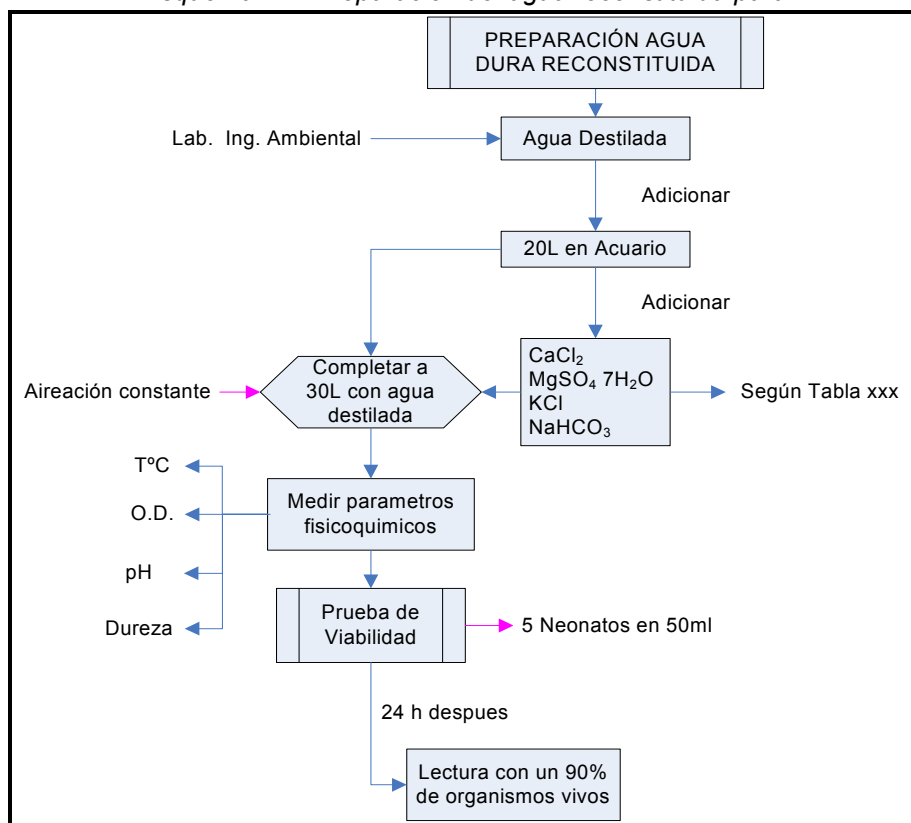
Foto 4.3. Almacenamiento de agua reconstituida



Fuente. Autores

A continuación se presenta un esquema detallado del procedimiento que se debe llevar a cabo para la adecuación del agua dura reconstituida propia para los organismos tipo *Daphnia Magna*:

Esquema 4.1: Preparación del agua reconstituida para



Fuente: Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M02, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

4.4. MEDIO BRISTOL Y CENTRIFUGACIÓN DE ALGAS VERDES

El medio Bristol según la metodología Dutka (1989) se realiza con el fin de multiplicar las algas verdes *Scenedesmus Acutus*, en condiciones de laboratorio por medio de la fotosíntesis, con ayuda de una lámpara luminiscente y nutrientes para la reproducción de las mismas, las cuales después de un proceso están listas para la administración del alimento dependiendo la cantidad calculada con ayuda de la Cámara Neubauer³². La multiplicación de este tipo de algas se logra por medio de la selección de un stock para el medio Bristol (ver tabla 4) dentro del cual se proporcionan soluciones previamente preparadas con macro y micro

³² Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M02, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

nutrientes, los cuales brinden las condiciones óptimas necesarias para el desarrollo de las algas verdes *Scenedesmus Acutus*.

Tabla 4.4. Preparación del medio Bristol

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

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

Los materiales necesarios para la preparación del medio Bristol y la posterior centrifugación de algas verdes son los siguientes:

- Recipiente de vidrio de 3.5L.
- Aireador de 1 salida.
- Agua desionizada.
- Lámpara luminiscente.
- Beaker de 2000 ml.
- Beaker de 500 ml.
- Probeta de 10 ml.
- Probeta 2000 ml.
- Pipeta graduada de 10 ml.

- Pipeta graduada de 1 ml.
- Pipeta Pasteur de vidrio.
- Pipeteador.
- Tubos de ensayo.
- Centrifuga DINAC II Brand.
- Autoclave.

Seguido a la obtención de los materiales anteriormente mencionados se debe llevar a cabo el siguiente procedimiento³³:

1. Preparar los reactivos para el medio Bristol (ver tabla 4).
2. Disolver la cantidad de reactivos en el volumen indicado de agua destilada, teniendo el stock de macro y micro - nutrientes (ver tabla 4).
3. Anotar la fecha de preparación y el pH de las soluciones en el formato de identificación de reactivos preparados (Anexo G formato LBM 003).
4. Preservar estas soluciones mediante refrigeración a 4°C por un tiempo máximo de 6 meses.
5. Preparación del medio del medio Bristol (ver tabla 4).
6. Tomar 1500 ml de agua destilada en un Beaker de 2000 ml.
7. Adicionar las diferentes alícuotas de macro y micro nutrientes expuestas en la tabla 4.
8. Transferir la solución a un beaker de 2000 ml, completando con agua destilada hasta su volumen graduado.
9. Una vez preparado el medio Bristol colocar un tapón de papel kraff y esterilizar en autoclave por un periodo de 15 minutos a 121°C y 15 libras de presión.

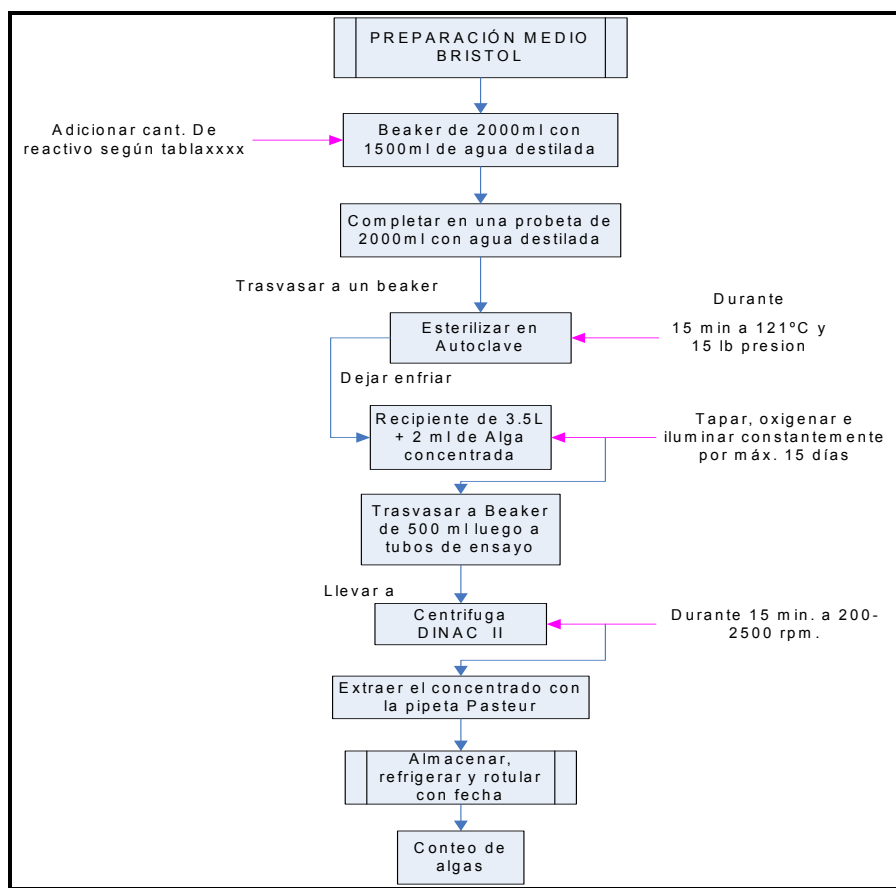
³³Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M02, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

10. Una vez esterilizado y enfriado el medio a temperatura constante adicionar una alícuota de 2 ml del cultivo de algas verdes *Scenedesmus Acutus* de la semana anterior por medio de una pipeta Pasteur. Por último se debe transferir a una probeta de 2000 ml o al recipiente de vidrio de 3.5 L.
11. Tapar la probeta con un corcho, o el recipiente de vidrio de 3.5L con papel parafilm, según sea el caso, para evitar la contaminación del cultivo por agentes externos.
12. Oxigenar e iluminar con ayuda de un aireador y una lámpara luminiscente de manera continua las 24 horas, proporcionando así las condiciones necesarias para que se multipliquen las algas verdes por medio de la fotosíntesis. No se puede apagar en ningún momento el aireador y la lámpara.
13. El medio Bristol se debe mantener en las condiciones anteriormente descritas en un tiempo no mayor de 15 días (de 8-12 días preferiblemente). Tornándose de un color verde claro a uno verde oscuro.
14. Trasvasar el medio Bristol a un Beaker de 500 ml, y de este transferirlo a tubos de ensayo para centrifuga en volúmenes de 10 ml con ayuda de la probeta.
15. Llevar los tubos de ensayo a la centrifuga “DINAC II Centrifugue (Brand)” por un tiempo de doce (12) minutos y una velocidad de 2000 a 2500 rpm, con el fin de concentrar el cultivo de algas verdes *Scenedesmus Acutus*.
16. Retirar los tubos de la centrifuga DINAC II y eliminar el sobrenadante.
17. Extraer el concentrado de las algas con ayuda de la pipeta Pasteur.
18. Almacenar el concentrado de algas en recipientes destinados para el mismo.
19. Sellar los recipientes de almacenamiento con papel parafilm, rotular identificando fecha de siembra y refrigerar a 4°C.

20. Realizar el conteo de algas mediante el procedimiento LB-M03 (ver anexo H), con el fin de determinar la cantidad de células de algas y la frecuencia de alimentación del cultivo de organismos prueba tipo *Daphnia Magna*.

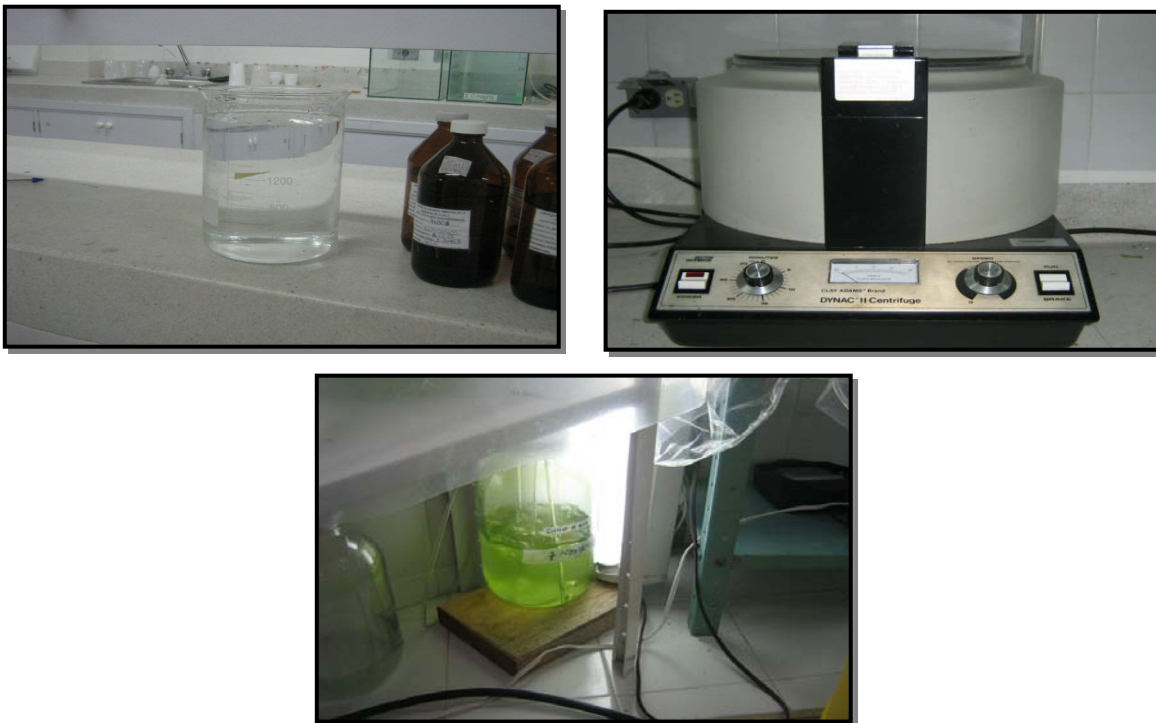
A continuación se presenta un esquema en el cual se resumen las diferentes acciones que se deben llevar a cabo para preparar el medio Bristol y centrifugar las algas verdes *Scenedesmus Acutus*:

Esquema 4.2: Preparación del medio Bristol y centrifugación de algas verdes



Fuente: Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmin, Formato LB-M02, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos

Foto 4.4 preparación medio Bristol y centrifugación de algas verdes.



Fuente. Autores

4.5. CONTEO DE ALGAS VERDES

El conteo de algas verdes *scenedesmus acutus* se realiza por medio de la cámara Neubauer y el microscopio triocular, este conteo se hace con el fin de establecer la cantidad de alimento o algas verdes que se deben proporcionar a los organismos prueba diariamente para garantizar su subsistencia y óptimo funcionamiento. Los materiales y equipos necesarios para realizar dicho conteo son los siguientes:

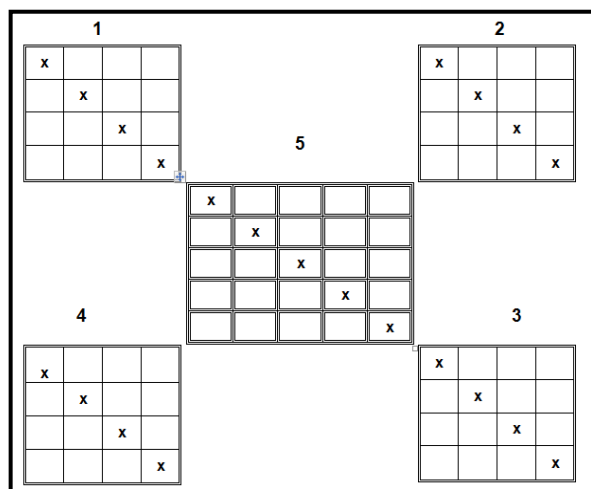
- Papel de arroz.
- Microscopio triocular CME Leica.
- Cámara Neubauer.
- Recipiente de solución de algas *scenedesmus acutus* a evaluar.
- Pipeta Pasteur.
- Pipeteador.
- Agua destilada.

El procedimiento que se debe llevar a cabo para realizar esta técnica de conteo de algas verdes *scenedesmus acutus* es el siguiente³⁴:

1. Limpiar la cámara Neubauer con papel de arroz.
2. Colocar el cubreobjetos sobre los canales de la cámara.
3. Agitar manualmente el recipiente con la solución de algas verdes concentradas, a evaluar, hasta observar coloración homogénea o disolver los agregados celulares.
4. Tomar una alícuota de 0.1 ml del concentrado de algas, con ayuda de una pipeta Pasteur.
5. Colocar la punta de la pipeta Pasteur en el borde del cubreobjetos.
6. Dejar ingresar la solución a la cámara por capilaridad en un tiempo de 2 minutos sin que pase a los canales laterales, no se puede dejar burbujas dentro de la cámara.
7. Colocar la cámara de Neubauer en la platina del microscopio triocular y enfocar con el objetivo 10X.
8. Localizar el cuadro central de la rejilla, el cual esta dividido en 25 cuadros, teniendo cada uno un área de 0.04 mm².
9. Cambiar de lente al objetivo de 40x y realizar 5 lecturas de forma diagonal, teniendo presente que las células que se encuentren sobre las líneas de la cuadrícula deben ser descartadas; la lectura se realiza en el orden señalado (ver esquema 3).

³⁴ Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M03, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

Esquema 4.3: Orden de lectura en la cámara Neubauer



Fuente: Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M03, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

10. De las células contadas en cada cuadro en forma diagonal se multiplica por 4 o 5 dependiendo de la cuadrícula; se suman los valores obtenidos hallando su promedio.
11. Si se tienen entre 200 y 250 células; realizar una dilución de las algas verdes *scenedesmus acutus* a evaluar en agua desionizada.
12. Se hace una dilución de 0.1 ml de concentrado de algas / 2.9 ml de agua destilada, y se realiza la lectura.
13. Registrar esta información en el formato LB-M004 (ver anexo H).
14. Se determina la cantidad de células que existen en un 1 ml, partiendo del hecho que la cámara Neubauer tiene una capacidad de 1×10^{-4} ml, de la siguiente manera:

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

15. Este valor se multiplica posteriormente por el factor de dilución, dado así el valor real de células que existe en 1 ml.

16. Calcular el volumen de alimento que necesita cada pecera que contiene 20 organismos prueba *Daphnia magna* con la siguiente fórmula:

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

Donde:

- V** = Volumen del concentrado de algas.
- A** = Número de organismos prueba *Daphnia magna* por acuario.
- B** = Dosis óptima recomendada (4.5×10^6 células por *Daphnia magna* /día).
(Según metodología CETESB / L5.018).
- C** = Concentración (número de células/ml) de la suspensión de algas descritas y halladas anteriormente.
17. Determinar la cantidad de alimento que se debe suministrar en cada pecera que contiene 20 *Daphnia magna*, la frecuencia de alimentación y la limpieza deben realizarse diariamente.
18. Después de realizar el conteo, se retira la cámara del microscopio y el cubreobjetos, se lava con agua y se seca con un paño o papel de arroz.

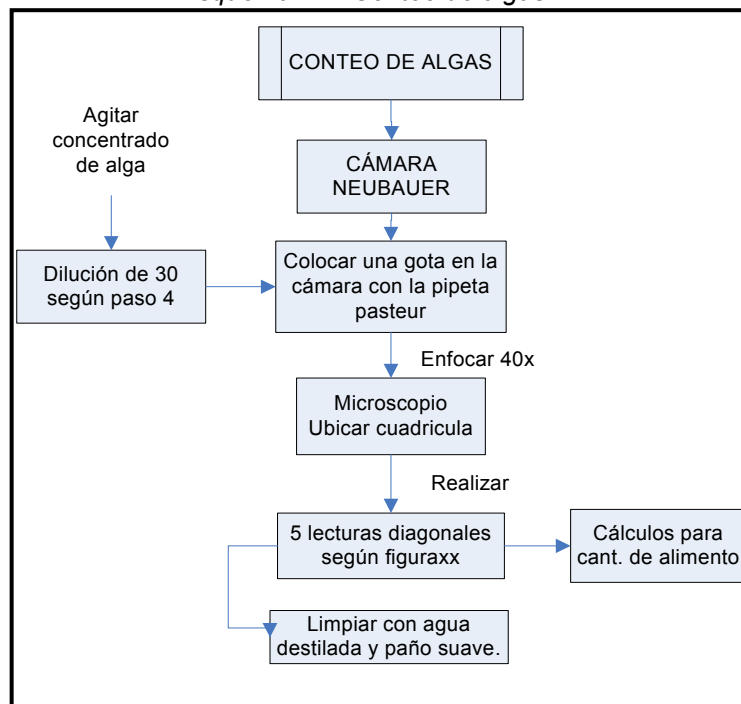
Foto 4 5. Conteo de algas verdes



Fuente. Autores

A continuación se presenta un esquema en el cual se simplifica más detalladamente el proceso del conteo de algas verdes *scenedesmus acutus* por medio de la cámara Neubauer:

Esquema 4.4: Conteo de algas



Fuente: Bernal Alba Janneth, Rojas Andrea, adaptado para D. Magna por Castelblanco Angélica, Maldonado Jasmín, Formato LB-M03, Universidad de La Salle, laboratorio de bioensayos.

4.6. PRUEBAS O TEST DE TOXICIDAD

Las pruebas o test de toxicidad son aquellas que se realizan para determinar el grado de sensibilidad que presentan los organismos prueba *Daphnia Magna*, este se establece mediante la exposición de dichos organismos a sustancias tóxicas como los son en este caso particular los metales pesados. En esta fase se explica la metodología a seguir para la ejecución de estas pruebas empezando por la preparación de las soluciones propias para cada una de las pruebas, ya sean para Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$), para los metales pesados seleccionados para este estudio Plata (Ag) y Plomo (Pb) puros y finalmente para la muestra del vertimiento de una industria de galvanotecnia (ALFACROM LTDA).

Los test de toxicidad fueron realizados según métodos CETESB y protocolo LBM 005 *Pruebas de Toxicidad* (ver anexo I).

4.6.1. Preparación de soluciones

La preparación de las soluciones para cada uno de los casos mencionados anteriormente se obtiene mediante la metodología mencionada a continuación:

Foto 4.6. Preparación de soluciones



Fuente. Autores

4.6.1.1. Preparaciones de soluciones para dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

El Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) es utilizado como tóxico de referencia, para establecer el grado de sensibilidad que presentan los organismos prueba tipo Daphnia Magna. Para la prueba de sensibilidad se parte de una solución patrón a 1000 ppm, esta se completa a un volumen total de 1000ml con agua desionizada por medio de la siguiente ecuación:

$$1ppm = \frac{1mg}{1L}$$
$$1000ppm = \frac{1g \text{ } K_2Cr_2O_7}{1L}$$

Después de preparada la solución patrón se prosigue a la determinación de las diluciones tanto para las pruebas de sensibilidad como para las pruebas con el tóxico, estas diluciones son calculadas por medio de la ecuación de dilución [1]; estas son preparadas para un volumen total de 250 ml y completadas con agua dura reconstituida de 160-180mg/L $CaCO_3$. Las diluciones son almacenadas en recipientes de vidrio de 500 ml y refrigeradas a 4°C.

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Fuente: Whitten, Química general

4.6.1.2. Preparación de soluciones para metales pesados Ag y Pb

Los metales pesados como Plata (Ag) y Plomo (Pb) son considerados como sustancias altamente tóxicas y por ende son causantes de altos impactos ambientales en los ecosistemas y hábitats naturales, es por esto que es de gran importancia hacerlos protagonistas de un estudio de este tipo por medio de bioensayos de toxicidad aguda. Las soluciones preparadas para Ag y Pb fueron obtenidas a partir de los compuestos Ag (SO)₄ y Pb (NO₃)₂ según corresponde y al igual que el Dicromato de Potasio (K₂Cr₂O₇) se prepara una solución patrón a 1000 ppm con agua desionizada.

Para cada uno de los metales pesados ya mencionados se deben realizar las diluciones necesarias para efectuar los ensayos de toxicidad de la siguiente manera:

4.6.1.2.1. Soluciones para test preliminar de metales pesados Ag y Pb

Estas diluciones se toman a partir de un rango de concentración ya establecido³⁵ con el fin de encontrar el posible intervalo dentro del cual se encuentren los rangos de toxicidad de cada uno de los metales pesados estudiados, las concentraciones son:

[0,001 ppm]; [0,01 ppm]; [0,1 ppm]; [0,10 ppm]; [10 ppm].

³⁵ ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel; GARCIA, Eduardo. Determinación de la toxicidad agua de los detergentes mediante sistemas estáticos, utilizando *Daphnia Magna*. Universidad de la Salle; Facultad de ciencias de la educación; departamento de Química y Biología. Bogotá D.C., 1993.

Estas concentraciones se preparan en balones aforados de 250 ml, siendo aforadas con agua reconstituida de 160-180mg/L CaCO_3 y posteriormente son almacenadas en recipientes de vidrio de 500 ml rotulados y refrigerados a 4°C.

4.6.1.2.2. Soluciones para test definitivo de metales pesados Ag y Pb

Después de establecer un rango de concentraciones, obtenido en los test preliminares se preparan las diluciones en el intervalo de concentraciones donde se presente de un 0% hasta un 100% de mortalidad de los organismos prueba *Daphnia Magna*, esto se establece por medio de un método de concentraciones logarítmicas (Metodología APA), el cual establece las concentraciones que se deben preparar para realizar el test definitivo en busca del rango de toxicidad de cada uno de los metales. Estas diluciones se realizan al igual que las del test preliminar, por medio de agua reconstituida en un balón aforado de 250ml y posteriormente se llevan a recipientes de vidrio de 500 ml y se refrigeran a 4°C.

4.6.1.3. Preparaciones de soluciones para la muestra del vertimiento crudo

En el caso específico para la muestra de un vertimiento se deben tener en cuenta aspectos relevantes antes de la preparación de las soluciones, como lo son: proporcionar las condiciones establecidas en las cuales los organismos prueba *Daphnia Magna* se encuentran en su ambiente normal como lo son el oxígeno disuelto, el pH, la Temperatura y la dureza del medio acuático, también se deben disminuir los sólidos suspendidos presentes y eliminar el hipoclorito de sodio presente en la muestra a utilizar, por medio de procesos de filtración y aireación esto con el fin de evitar interferencia de agentes que no son objeto de estudio y por ende afectarían el resultado final de los test de toxicidad. Después de haber conseguido las condiciones necesarias mencionadas anteriormente se pueden preparar las diluciones para realizar los test de toxicidad preliminares y definitivos, con la salvedad que estas deben ser preparadas en porcentaje de volumen de la muestra tomada y no por concentración como en los casos anteriores.

4.6.1.3.1. Soluciones para test preliminar de la muestra de vertimiento crudo

Como se mencionó anteriormente estas soluciones deben ser preparadas en porcentaje de volumen de la muestra, según criterios ya establecidos de porcentaje de 20%, 40%, 60%, 80% y 100%, diluidas en agua dura reconstituida de 160-180mg/L CaCO_3 ; estas diluciones se preparan en una probeta volumétrica de 250 ml, calculando los porcentajes mencionados de la muestra y completando el volumen final con agua reconstituida, posteriormente se almacenan en recipientes de vidrio de 500 ml y se refrigeran a 4°C.

Foto 4.7. Soluciones para vertimiento crudo



Fuente. Autores

4.6.1.3.2. Soluciones para test definitivo de la muestra de vertimiento crudo

Para estas soluciones del test definitivo se tienen en cuenta los resultados obtenidos en el test preliminar, los cuales son la guía para establecer de una forma aleatoria las diluciones que se van a preparar para realizar los test definitivos, esto teniendo en cuenta el intervalo de mortalidad de 0% hasta un 100% obtenido en los test preliminares. Seguido a esto se procede a preparar las diferentes diluciones en volumen del mismo modo que las del test preliminar.

4.6.2. Montaje del bioensayo de toxicidad

El montaje del bioensayo de toxicidad ya sea para prueba de sensibilidad con Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$), metales pesados puros Ag y Pb y/o vertimiento de la industria galvánica lleva el mismo procedimiento. Se necesitan 24 recipientes de 1 Onza (copas plásticas) los cuales se distribuyen de a 4 de estos por 5 concentraciones según sea el caso y las cuatro restantes para el grupo control o blanco (agua reconstituida de 160-180mg/L $CaCO_3$), después de tener la batería de ensayo montada se procede a agregar dentro de cada recipiente 10 ml de cada una de las concentraciones y del grupo control respectivamente. Seguido a esto se procede a introducir 20 organismos prueba tipo Daphnia Magna por concentración y grupo control, es decir cinco (5) dentro de cada uno de los recipientes para completar un total de 120 organismos prueba, a partir de ese momento se da inicio a la prueba, se procede a introducir los recipientes en una bandeja plástica en orden de concentración, se tapa la bandeja con papel kraff, se deposita la bandeja dentro de una bolsa plástica negra y por último se recubre con una bolsa de tela negra, finalmente se toman datos de la fecha y hora de la prueba, se depositan en el área de mantenimiento de cultivos sin luz y garantizando una temperatura de $20 \pm 2^\circ C$, se esperan 48 horas para hacer la respectiva lectura de la misma, al término del tiempo estipulado se hace la lectura de los organismos muertos por concentración, se hacen lecturas de oxígeno disuelto y pH en dos de los recipientes y se consigna la información en el protocolo LBM006 (anexo I).

Foto 4.8. Montaje de bioensayos de toxicidad




Fuente. Autores

4.7. Prueba de sensibilidad con dicromato de potasio

Es de vital importancia a la hora de realizar los test de toxicidad efectuar la estandarización de estos, estableciendo la sensibilidad de la especie de organismos y la reproducibilidad del ensayo frente a un tóxico de referencia, en este caso específico el Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$). Esto permite asegurar que al momento de exponer los organismos a determinado agente tóxico, la respuesta presentada por estos sea ocasionada por este como tal y no por variaciones en la sensibilidad de los organismos.

Este tipo de tóxicos de referencia como el Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) da la facilidad de definir un rango de variabilidad máximo aceptable en los resultados obtenidos en un test de toxicidad. Sumado a esto por medio de los resultados de calibración o estandarización se pueden definir por medios estadísticos el rango de sensibilidad del organismo prueba (*Daphnia Magna*) frente a determinado tóxico de referencia, a un tiempo de exposición y a la manifestación biológica empleados.

Por medio de los test preliminares se obtiene un rango de toxicidad, el cual permite establecer unos intervalos más simplificados de concentraciones de Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$), para así poder llegar al resultado final esperado por medio de los test definitivos. Estos se realizan con al menos cinco concentraciones en progresión geométrica, las cuales permiten verificar un porcentaje de mortalidad entre 0-100 %.

El procedimiento utilizado para la determinación de la  con Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) es el siguiente:

1. Preparar la solución patrón de Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) a 1000ppm.
2. Preparar 5 diluciones a partir de la solución patrón con las concentraciones establecidas para la prueba a realizar.

3. Separar los neonatos Daphnia Magna con un periodo de vida < 24 Horas.
4. Preparar la batería de ensayo como se describió anteriormente.
5. Agregar 10 ml de solución y el blanco control en cada una de las copas según corresponda.
6. Introducir 5 neonatos en cada una de las copas de concentración y el blanco control.
7. Incubar a condiciones establecidas ya mencionadas con anterioridad, por un intervalo de tiempo de 48 horas.
8. Pasadas las 48 horas realizar la lectura del número de organismos muertos durante la prueba y consignar los datos.
9. Calcular la concentración letal media por medio del método estadístico probit. (Ver anexo K)
10. Pasar los datos por el método de análisis de varianza (ANOVA). (Ver anexo L)

La realización periódica de las pruebas de sensibilidad con Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) es de gran ayuda para determinar el estado fisiológico del cultivo de organismos Daphnia Magna. El objetivo principal de las pruebas de sensibilidad es verificar las condiciones óptimas de los organismos, para así poder realizar posteriormente las pruebas necesarias con los metales pesados y la muestra del vertimiento, asegurando un buen funcionamiento de los organismos.

4.8. TEST PRELIMINAR DE TOXICIDAD CON Ag Y Pb

Para la ejecución de las pruebas preliminares con Ag y Pb se tomó un rango de concentración entre 0.01-100 ppm, partiendo de la solución patrón de 1000 ppm preparada anteriormente, inicialmente se debe tomar un rango amplio el cual permita identificar dentro de que concentración probable estaría el rango de

toxicidad apropiado para efectuar los test definitivos. El procedimiento a realizar es en esencia el mismo que se utiliza para las pruebas de sensibilidad. El fin principal de este test de sensibilidad es reducir el margen en el rango de toxicidad, para así poder ejecutar los test definitivos con certeza.

4.9. TEST DEFINITIVO DE TOXICIDAD CON Ag Y Pb

Seguido a la obtención de los resultados en las pruebas preliminares de toxicidad, en las cuales ya se ha establecido el probable rango de toxicidad de cada uno de los metales (Ag y Pb), se procede a realizar las pruebas definitivas las cuales permiten verificar si el rango encontrado en las pruebas preliminares fue acertado, si es así se sigue el mismo procedimiento para el montaje de los bioensayos mencionado anteriormente y se calcula la concentración letal media CL_{50-48} con los límites de confianza para cada uno de los metales por medio del método estadístico Probit, seguido a esto se emplea el análisis de varianza (ANOVA).

4.10. RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRA PARA LOS ENSAYOS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO DE LA INDUSTRIA GALVANICA ALFACROM LTDA.

La toma de las muestras se realizó en recipientes plásticos de 2.5 L de capacidad previamente lavados, se tomaron 3 muestras en el mismo punto del proceso, en el cual se efectúa el recubrimiento con Plata (Ag) brillante, no fue necesario tomar la muestra en otro proceso para el Plomo (Pb) ya que dentro de este mismo proceso se encontraba este metal (luego fue corroborado con pruebas de laboratorio para Ag y Pb en ASA FRANCO & CIA LTDA).

Foto 4.9. Punto de muestreo



Fuente. Autores

Después de tomada la muestra se procedió a realizar las pruebas fisicoquímicas necesarias, esto se realizó antes de cumplir 24 horas desde la toma de las muestras, para evitar alteraciones en las condiciones de la misma. Se realizaron análisis de Ag y Pb en el laboratorio particular ASA FRANCO & CIA LTDA para obtener una mayor confiabilidad en los resultados finales de los metales y los demás análisis fueron realizados en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, como lo fueron sólidos totales, pH, dureza, conductividad, oxígeno disuelto y DQO.

4.10.1. Análisis fisicoquímico realizado al vertimiento

Los análisis fisicoquímicos realizados fueron los siguientes:

- Plata y Plomo: este análisis es uno de los más determinantes dentro del proceso de la caracterización del vertimiento ya que establece si dentro de la muestra a utilizar se encuentran los metales necesarios (Ag y Pb) para realizar el estudio, de no ser así la muestra tiene que ser descartada y se busca otro proceso. Este análisis fue realizado en el laboratorio particular ASA FRANCO & CIA LTDA, a través del método de absorción atómica y utilizando el Standard Methods Edición 19, 1995. Este laboratorio cuenta con acreditación del IDEAM.

- Sólidos totales: este fue realizado utilizando 100 ml de la muestra por medio del 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.

Foto 4.10. Equipo para secado de sólidos



Fuente. Autores

- DQO: el análisis se realizó por el método 5220 D. Reflujo Cerrado, método colorimétrico del estándar Methods, versión 19 AWWA en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle.

Foto 4.11. Equipos para hallar DQO



Fuente. Autores

- Oxígeno disuelto: se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, utilizándose el método 4500-0 G. Electrodo de membrana del estándar Methods, versión 19 AWWA.

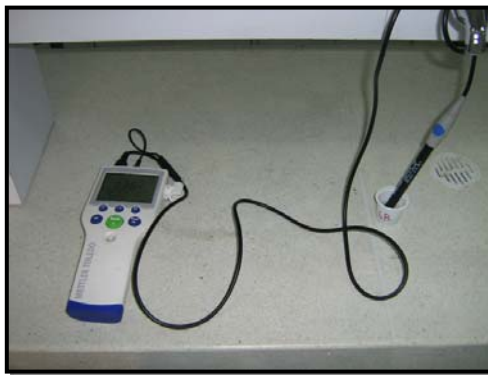
Foto 4.12. Equipo para Medir Oxígeno disuelto



Fuente. Autores

- Dureza: el análisis se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle; utilizando el método titulométrico de EDTA Standard Methods Edición 19, 1995, SM 2340-C.
- pH: este se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle; utilizando el método Standard Methods Edición 19, 1995, SM 4500H. $\pm B$.

Foto 4.13. pH-metro



Fuente. Autores

4.11 TEST DEFINITIVO DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO DE ALFACROM LTDA.

Estas pruebas se manejan con diferentes porcentajes de volumen de la muestra diluidas con agua reconstituida de 160-180mg/L CaCO_3 . Para la preparación de las soluciones se debe tener en cuenta que el intervalo de concentración debe arrojar valores de 0-100 % de mortalidad de individuos prueba *Daphnia Magna*.

El porcentaje de mortalidad en las primeras concentraciones es bastante significativo ya que el porcentaje de los metales es bastante alto y por ende en las primeras pruebas realizadas la mortalidad de organismos es del 100%, lo cual conlleva a disminuir las concentraciones hasta llegar al rango efectivo en el cual la mortalidad sea del 50%. Las pruebas de toxicidad cumplen el mismo procedimiento empleado en los casos anteriores.

4.12. ÍNDICE TOXICOLÓGICO

Para calcular el índice toxicológico se requiere la información del nivel trófico afectado (*Daphnia Magna*), caudal del vertimiento de la industria galvánica ALFACROM LTDA, la Concentración Letal media del vertimiento y carga tóxica del efluente.

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

$$\text{Carga Tóxica (UT)} = \frac{100}{\text{CL50}} \times Q$$

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.

4.12.1. Índice 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:

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

Con el que 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.

Tabla 4.5. 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

5. INDUSTRIA GALVÁNICA

Para determinar la concentración letal media de plomo y plata se contó con una industria galvánica donde dentro de su vertimiento se encuentra los diferentes metales en distintas concentraciones

La industria ALFACROM LTDA es una industria galvánica ubicada en la carrera 64 N° 6-85, zona industrial de Bogotá, en el barrio La Pradera. Se contó con la colaboración del Ingeniero Químico Nelson Molano. En esta se realizan procesos de recubrimiento de piezas en níquel mate, oro brillante, plata brillante, grafito, cobre, pavón y níquel.

Esquema 5.1. Localización ALFACROM LTDA

Fuente:



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

5.1. Descripción general del proceso

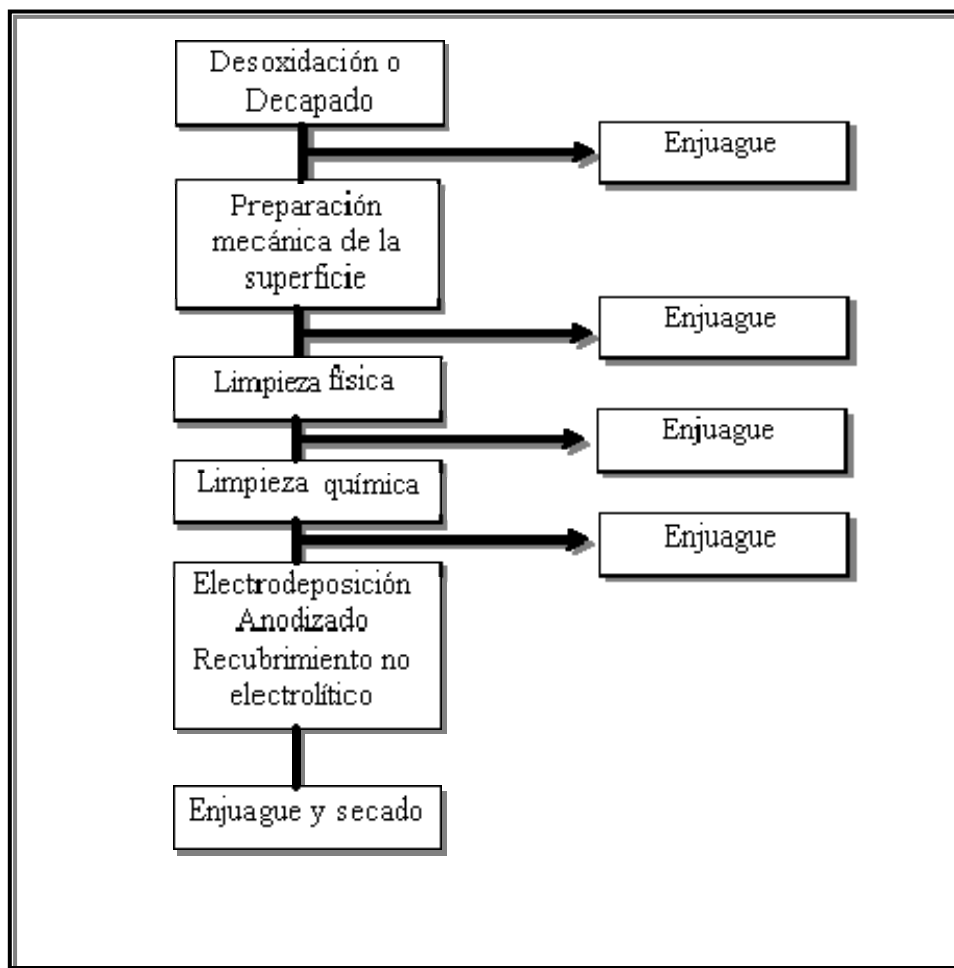
La galvanotecnia consiste en ciertas técnicas de obtención, por vía electrolítica, de depósitos metálicos en la superficie de los metales, aleaciones y cuerpos no metálicos.

Los metales de uso más corriente son la plata, níquel, cromo y cobre para fines decorativos, siendo el cromado el revestimiento mas extendido debido a su duración así como a su resistencia a la abrasión y al empañado.

En aplicaciones industriales especiales donde se requiere una mayor protección, los revestimientos más corrientes pueden ser de cinc, plomo cadmio y estaño, pero su aplicación está siendo restringida por el fuerte impacto ambiental de estos elementos.

5.2. El proceso de tratamiento superficial, consiste en lo siguiente

Esquema N° 5.2: Proceso de tratamiento



Fuente: esi.unav.es/Asignaturas/ecologia/informes/residuos/sgalvano.

5.3. Residuos producidos en galvanotecnia

En los diferentes procesos enumerados en el apartado anterior se producen varios tipos de desechos la mayoría de ellos en forma acuosa y sólida (lodos resultantes del tratamiento de los efluentes acuosos), aunque también son importantes las emisiones gaseosas, vapores de ácidos nítrico y clorhídrico y vapores de disolventes.

Las emisiones contaminantes a la atmósfera son de caudal reducido, registrándose fundamentalmente en el interior de la factoría, por lo que frecuentemente se recurre a la aspiración local de estos vapores con ventiladores como medida de control de la contaminación.

5.3.1. Residuos líquidos

Todas las operaciones de galvanotecnia requieren grandes cantidades de agua de lavado para la eliminación de la película química, que se deposita sobre la superficie del material entre cada dos operaciones del proceso. Esta agua residual de lavado que sale de la planta de galvanotecnia, puede arrastrar en disolución los distintos sólidos contenidos en la película. Los constituyentes y parámetros del agua residual de significación contaminante en este sector son (MIE, 1981):

- Sólidos en suspensión.
- Cianuro oxidable y total
- Fosfatos.
- Cromo total.
- Cu, Ag, Sn, Fe, Ni, Zn, Pb
- Fluoruros.
- Al, Cd.
- pH.

Existen además, otros elementos que pueden ser indicativos de situaciones de contaminación como son: los sólidos disueltos totales, la turbidez, D.Q.O., temperatura y color.

5.4. Características generales de los lodos

Los sólidos o lodos de este tipo de industrias, se generan cuando se someten las aguas residuales a un tratamiento de depuración. Las características del lodo van a depender del sistema de tratamiento del que procedan, del grado de desecación y de la forma en que se ha llevado a cabo el secado de dicho lodo.

Los hidróxidos metálicos precipitados, después de ser sedimentados en el clarificador o en el tanque depósito, necesitan de un tratamiento posterior para que sea posible la retirada de los sólidos sin que tengan que ser manejadas grandes cantidades de agua.

Es deseable alcanzar el mayor grado de desecación posible simplemente desde un punto de vista económico puesto que el traslado de sedimentos líquidos es muy costoso, así como desde un punto de vista medioambiental ya que se ha demostrado a través de estudios de la E.P.A (Environmental Protection Agency) que los sedimentos más secos tienen menos posibilidades de disolver (lixiviar) los metales tóxicos cuando se les somete a ensayos de eco toxicidad. Así se ha comprobado que los mejores sedimentos procedían de sistemas con una buena operación en los que el agua intersticial de los sedimentos contenía poco o ningún metal disuelto o cianuro.

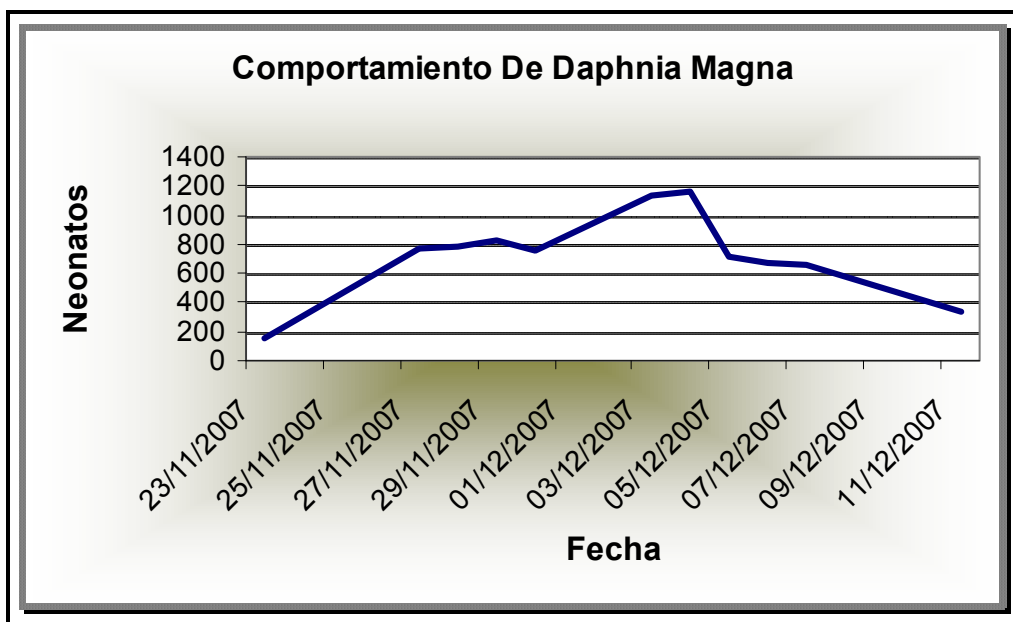
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para obtener la concentración letal media de metales como el plomo y la plata fue necesario realizar diferentes pruebas de toxicidad haciendo repeticiones de la misma concentración como se explica en la metodología anterior.

6.1. Sostenimiento del Cultivo

Dentro del sostenimiento del cultivo en el laboratorio, se realizó una hoja control (anexo C) donde se registró la reproducción de *Daphnia Magna* en el mes de Noviembre – Diciembre, haciendo un promedio durante el tiempo de ejecución del proyecto y observando la época donde *Daphnia Magna* tiene su mayor período de reproducción y la etapa donde su ciclo reproductivo disminuye.

Figura N° 6.1 Gráfica de Reproducción de *Daphnia Magna* en 20 días



Fuente: los Autores

En la gráfica se puede observar que el pico mayor esta a los 10 días de reproducción con aproximadamente 1200 neonatos, donde va disminuyendo su ciclo reproductivo terminando con el periodo de vida de *Daphnia Magna*.

6.2. Pruebas de Sensibilidad con $K_2Cr_2O_7$

Las pruebas de sensibilidad se realizaron con un toxico de referencia como el Dicromato de Potasio $K_2Cr_2O_7$, estas pruebas se realizan con el fin de tener como base si *Daphnia Magna* están o no sensibles a cualquier tipo de toxico teniendo en cuenta este valor para iniciar las pruebas toxicológicas con el plomo y la plata.

6.2.1. Determinación de La CL50-48 del Toxico de Referencia $K_2Cr_2O_7$.

Para determinar la concentración letal media del Dicromato de Potasio fue necesario realizar varias pruebas de sensibilidad, se comienza con 10 pruebas preliminares donde se logra establecer el rango donde muera el 80%, después de hallado este valor se cogen rangos más pequeños donde su límite mayor sea el 100% y su límite inferior sea el 0%.

6.2.2. Prueba preliminar

Para lograr establecer la CL 50-48 de sensibilidad en los organismos expuestos fue necesario empezar por pruebas preliminares que indiquen con que rango se puede empezar a trabajar, esos rangos ya están establecidos en el protocolo LBM05 (anexo I), partiendo de estos rangos, se establece un rango mas pequeño para lograr determinar la concentración exacta donde la mitad de los organismos expuestos *Daphnia Magna* viven, en un termino de 48 horas, el rango inicial y los valores de los mismo se presentan a continuación en la tabla N° 6.1.

Tabla N° 6.1 prueba preliminar sensibilidad.

Concentración Nominal (ppm)	N° De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.001	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0
1.00	3	2	1	2	40
10.0	5	5	5	5	100

Fuente autores

Después de realizar varias pruebas preliminares con el toxico de referencia se escogió el valor entre 0.10 ppm donde se muere el 0% y 10 ppm donde se muere el 100% de los organismos expuestos (neonatos *Daphnia Magna*).

6.2.3. Prueba definitiva

Después de realizar la pruebas preliminares con los rangos establecidos por el protocolo de laboratorio LBM 08 con concentraciones iniciales, se estableció que los organismos a prueba morían en un rango de 0.1 ppm y de 10 ppm reduciendo donde en 0.1 ppm muere el 0% de los organismos y en 10 ppm el 100%, dándose en la necesidad de trabajar con rangos mas cortos con el fin de hallar un valor exacto de la CL 50 – 48, como se observa en la tabla N° 6.2.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Tabla N° 6.2 prueba definitiva

Concentración Nominal (ppm)	N° De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.7	0	0	0	0	0
0.9	4	1	2	0	35
1.1	2	3	1	4	50
1.3	3	4	3	3	65
1.5	5	5	5	5	100

Fuente autores

Se realizaron pruebas definitivas con rangos cortos para determinar el valor final donde su límite máximo es de 1.5 ppm el cual muere el 100% de los organismos expuestos *Daphnia Magna* y su límite inferior es de 0.7 ppm donde la mortalidad del organismo expuesto es 0%.

6.2.3.1. Análisis de varianza de las pruebas definitivas con Dicromato de Potasio

Para la determinación del análisis de varianza se tomó la prueba definitiva de sensibilidad, y se elaboró una tabla donde se compara los valores para determinar si una prueba es o no significativa y se puede tomar como hipótesis.

Tabla 6.3 análisis de varianza con dicromato de potasio

Concentración (ppm)	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1,5	5	5	5	5	20	5
1,3	3	4	3	3	13	3,25
1,1	2	3	1	4	10	2,5
0,9	4	1	2	0	7	1,75
0,7	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
Total					50	12,5

Fuente: LABM07

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Fuente: LABM07

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	75,3333333	5	15,0666667	18,7034483	2.77
Dentro de Grupos	14,5	18	0,80555556		
Total	89,8333333	23			

Fuente: LABM07

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$18.70 > 2.77$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos de prueba.

6.2.3.2. Análisis Probit

La concentración letal media del tóxico de referencia Dicromato de Potasio fue determinada por medio del programa estadístico Probit, hallando el límite inferior y el límite superior de cada prueba de toxicidad realizada, con un límite de confianza del 95%, los valores de la concentración letal al igual que los valores del promedio se muestran a continuación en la tabla N° 6.3.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

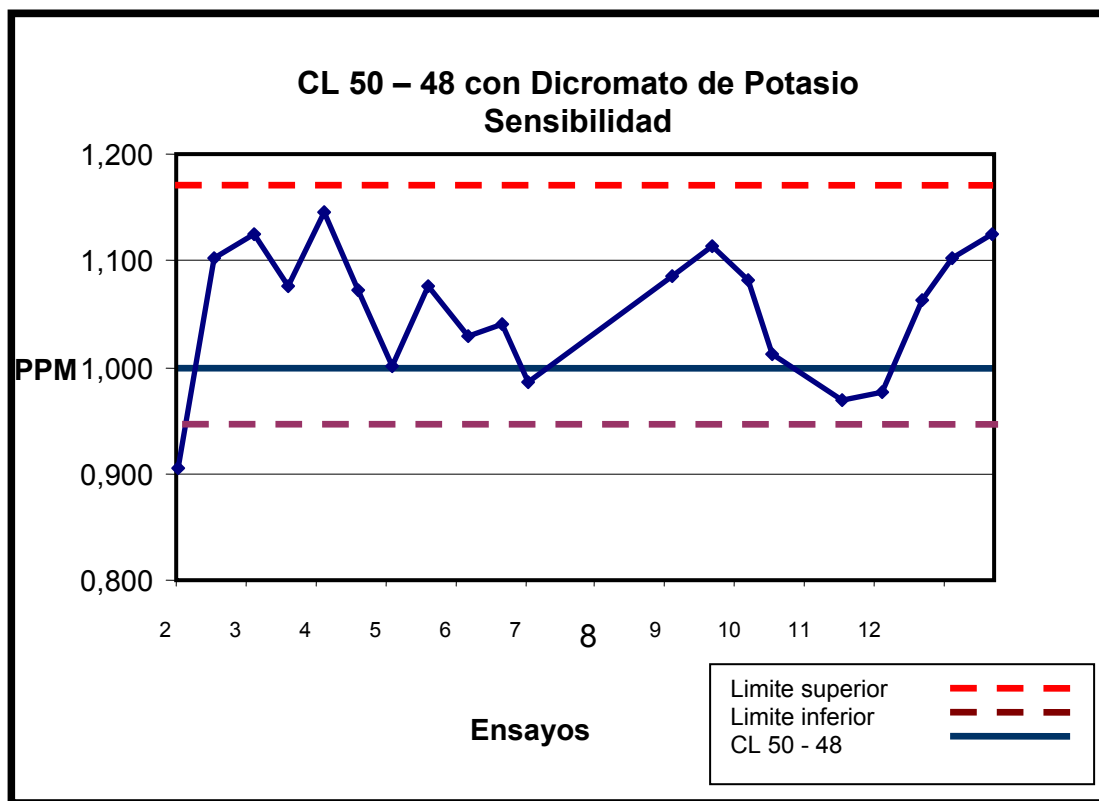
Tabla N° 6.4 CL 50 – 48 Carta Control Dicromato De Potasio

Fecha	CL 50 – 48	Limite inferior	limite superior
03/10/07	0,906	0,806	1,233
10/10/07	1,103	1,013	1,213
18/10/07	1,124	1,007	1,221
25/10/07	1,076	0,988	1,177
01/11/07	1,146	1,077	1,220
08/11/07	1,072	0,975	1,117
15/11/07	1,001	0,884	1,11
22/11/07	1,076	0,996	1,158
30/11/07	1,029	0,952	1,104
07/12/07	1,040	0,969	1,107
12/12/07	0,985	0,907	1,059
10/01/08	1,086	1,007	1,165
18/01/08	1,113	1,028	1,204
25/01/08	1,081	0,992	1,174
30/01/08	1,013	0,93	1,092
13/02/08	0,969	0,883	1,048
21/02/08	0,977	0,374	1,482
29/02/08	1,062	0,981	1,142
06/03/08	1,102	1,015	1,195
14/03/08	1,124	1,037	1,219
Promedio	1,05425	0,94105	1,172

Fuente. Autores

En la grafica N° 3 se observa la distribución de la sensibilidad obtenidas durante el periodo de práctica en el laboratorio con 20 datos representativos, así como el promedio con sus respectivos límites de confianza.

Figura N° 6.2 CL 50 – 48 sensibilidad



Fuente: los autores

Se observa los ensayos de toxicidad realizados durante las prácticas de laboratorio para hallar la concentración letal media de Dicromato en los organismos, en la prueba inicial la sensibilidad de *Daphnia Magna* estaba por fuera de los límites, esto quiere decir que las pulgas de agua se encontraban demasiado sensible al dicromato con un valor de 0.906 ppm, sabiendo que la CL 50 – 48 hallada mediante el probit es de 1.05 ppm, el límite inferior es de 0.94 ppm, después se logró estabilizar el cultivo dejando su sensibilidad dentro de sus límites inferior y superior.

6.3. Pruebas Toxicológicas

El objetivo principal del proyecto es hallar la concentración letal media de metales puros como el plomo y la plata, para ello fue necesario realizar pruebas toxicológicas con organismos de ecosistemas acuáticos, en este caso la pulga de

agua *Daphnia Magna*, a su vez se halló la concentración letal media de un vertimiento de una industria galvánica donde dentro de su efluente tuviera concentraciones de plomo y plata.

6.4. Prueba De Toxicidad con Plata AgSO₄

Después de comparado el valor de la CL 50 – 48 con *Daphnia Pulex* el cual no fue hallado, ya que la *Daphnia Pulex* es más sensible que la *Daphnia Magna*, los ensayos de toxicidad que se realizaron con *pulex* fueron realizados por otro grupo de investigación de toxicidad, se determinaron valores por debajo de 0.001 ppm el cual representa una baja concentración y poca tolerancia de los organismos al metal Plata (ver Tabla 6.5).

6.4.1. Prueba Preliminar

Después de varios ensayos y pruebas realizadas se determinó que era necesario trabajar con valores mínimos donde la mitad de la población sobrevive, a continuación en la tabla N 6.5 se muestra los valores de concentración.

Tabla 6.5 concentraciones definitivas

Concentración Nominal (ppm)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.001	5	5	5	5	100
0.01	5	5	5	5	100
0.10	5	5	5	5	100
1.00	5	5	5	5	100
10.0	5	5	5	5	100

Fuente: los autores

Después de realizadas las pruebas preliminares se dio la necesidad de bajar las concentraciones de forma considerable para determinar la CL 50-48.

6.4.2. Prueba Definitiva

Después de realizar varias pruebas de toxicidad se obtuvo el valor de la concentración letal media.

Tabla 6.6 pruebas definitivas de plata

Concentración Nominal (ppm)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.000000001	0	0	0	0	0
0.0000000056	1	2	3	1	35
0.000000001	4	3	2	1	50
0.000000015	5	4	3	3	75
0.000000032	5	5	5	5	100

Fuente: los autores

Se observa que la concentración donde la mitad de los organismos expuestos *Daphnia Magna* se mueren por la exposición al metal (plata) es 0.0000001 ppm y el rango se encuentra entre 0.00000001 ppm donde sobrevive el 100% de los organismos expuestos y 0.00000032 ppm donde muere el 100% de la población expuesta.

La *Daphnia Magna* es demasiado sensible a la plata y las concentraciones deben ser bajas para que ella sobreviva a la exposición del metal (plata).

6.4.2.1. Análisis de varianza

Por medio del análisis de varianza ANOVA, se puede determinar una hipótesis nula o alterna comparando con el f teórico.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Tabla 6.7 analisis ANOVA

Concentración (ppm)	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0.00000032	5	5	5	5	20	5
0.00000015	5	4	3	3	15	3,75
0.00000001	4	3	2	1	10	2,5
0.0000000056	1	2	3	1	7	1,75
0.000000001	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
Total					52	13

Fuente: LABM07

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Fuente: LABM07

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,8333333	5	16,1666667	27,7142857	2,77
Dentro de Grupos	10,5	18	0,58333333		
Total	91,3333333	23			

Fuente: LABM07

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$27.71 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

6.4.2.2. Análisis Probit

Para determinar la concentración letal media de la plata se halló por medio del método estadístico probit, debido a las bajas concentraciones que se manejaban para hallar el valor de la CL 50 – 48 fue necesario colocar valores eliminando ceros para poder ser leído por el método.

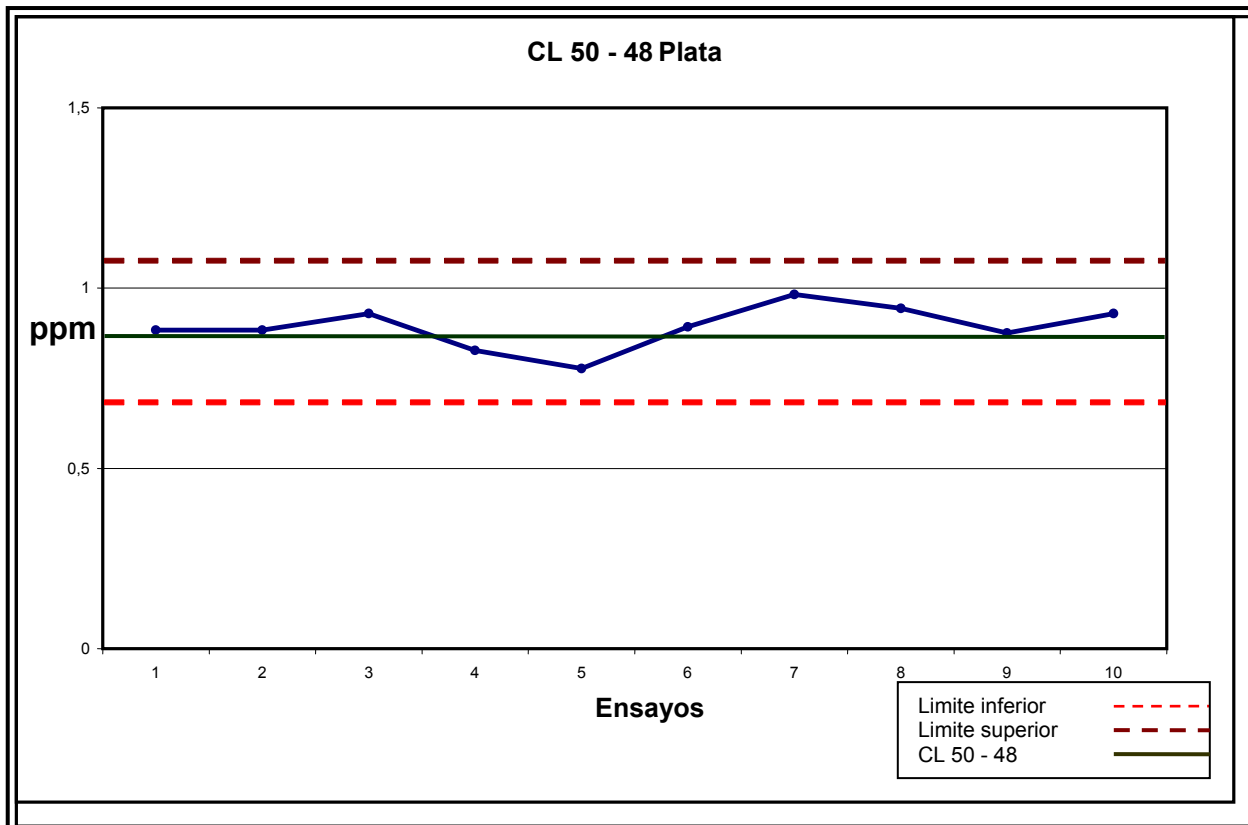
Tabla: 6.8 Carta control plata

Fecha	CL 50 – 48	limite inferior	limite superior
10/12/07	0,00000000884	0,00000000658	0,0000001111
12/12/07	0,00000000884	0,00000000658	0,0000001111
14/01/08	0,00000000929	0,00000000722	0,0000001142
16/01/08	0,00000000827	0,00000000601	0,0000001048
06/02/08	0,00000000777	0,00000000559	0,0000000981
08/02/08	0,00000000893	0,00000000677	0,0000001111
11/02/08	0,00000000982	0,00000000773	0,0000001208
13/02/08	0,00000000944	0,00000000718	0,0000001182
14/02/08	0,00000000876	0,00000000664	0,0000001118
15/02/08	0,00000000929	0,00000000722	0,0000001142
promedio	0, 00000008925	0,00000006728	0,0000001154

Fuente: los autores

Después de realizar 10 pruebas de toxicidad con plata se determinó la concentración letal media del mismo siendo esta 0.00000008925 ppm, a esta concentración la mitad de los organismos expuestos al contaminante mueren, *Daphnia Magna* es demasiado sensible a la plata, y resiste a concentraciones muy bajas.

Figura N° 6.3 CL 50 – 48 de la plata



Fuente: los autores

Antes de realizar las pruebas toxicológicas fue necesario estabilizar el cultivo para proporcionar buenos datos sin que estos salieran de los límites, y comparándolos con las pruebas de sensibilidad para saber si las pulgas de agua están o no dentro del rango de sensibilidad establecido.

6.5. Prueba De Toxicidad Con Plomo $Pb(NO_3)_2$

El plomo a pesar de ser un metal tóxico y peligroso, después de hechos los ensayos de toxicidad se halló que el plomo no produce gran efecto sobre los ecosistemas acuáticos como la plata ya que su concentración letal media es de 11%.

6.5.1. Prueba Preliminar

Para llegar a conocer el valor de la CL 50 – 48 fue necesario realizar pruebas con unas concentraciones de base para luego limitar el rango y por ultimo hallar la concentración letal media. Los valores iniciales se muestran en la tabla N° 6.9.

Tabla 6.9 prueba preliminar de plomo

Concentración Nominal (ppm)	N° De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.001	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0
1.00	0	2	2	2	0
10.0	2	1	1	5	45

Después de realizar 10 pruebas preliminares se estableció el valor donde muere mas o menos el 50% de los organismos expuestos y el mínimo valor donde muere el 0% de los organismos, siendo las concentraciones 10.0 ppm y 0.10 ppm respectivamente.

6.5.2. Prueba Definitiva

Después de realizadas 10 pruebas preliminares con concentraciones iniciales establecidas por el protocolo de laboratorio LBM 08 se determinó el rango donde posiblemente se murieran la mitad de los organismos, sabiendo que en la concentración 10 ppm se moría la mitad de los organismos expuestos se estableció concentraciones que van por encima de 10 partes por millón teniendo un rango limitado como se muestra en la tabla 6.10.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Tabla 6.10 prueba definitiva de plomo

Concentración Nominal (ppm)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	2	1	1	2	30
10.0	2	2	3	2	50
13	5	4	2	5	80
15	5	5	5	5	100

La concentración donde mueren más o menos el 50% de los organismos expuestos según las pruebas definitivas es de 10.0 ppm, el limite máximo es de 15 ppm y el limite mínimo es de 5.0 ppm, este valor fue encontrado después de haber realizado 20 pruebas de toxicidad con plomo $Pb(NO_3)_2$.

6.5.2.1. Análisis de Varianza

Por medio del análisis de varianza y la ANOVA, se puede determinar una hipótesis nula o alterna comparando con en f teórico.

Tabla 6.11 ANOVA del plomo

Concentración (ppm)	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	2	1	1	2	6	1,5
10	2	2	3	2	9	2,25
13	5	4	2	5	16	4
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
Total					51	12,75

Fuente: LABM07

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Fuente: LABM07

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	84,875	5	16,975	39,4258065	2.77
Dentro de Grupos	7,75	18	0,43055556		
Total	92,625	23			

Fuente: LABM07

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$39,42 > 2.77$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

6.5.2.2. Análisis Probit

La concentración letal media del plomo se determinó con las concentraciones definitivas, en las cuales se tuvo un porcentaje de mortalidad de 0% al 100%, estos resultados, fueron calculados con el programa estadístico de Probit, determinando sus límites de confianza del 95%; con ellos se construyó la carta control con el valor promedio de la CI 50 – 48, el limite inferior y del limite superior

de los datos obtenidos de 10 pruebas realizadas con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, estos datos se pueden observar en la tabla N° 2 donde se presentan los resultados obtenidos.

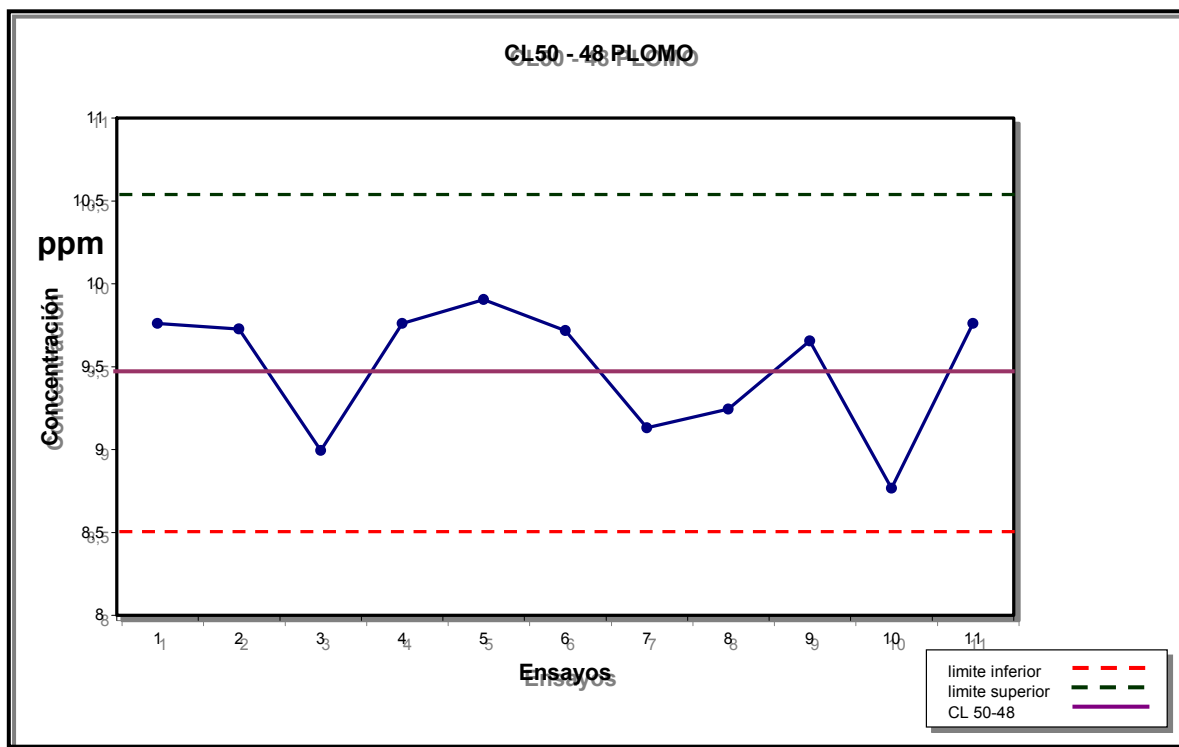
Tabla: N° 6.12 Carta Control Del Plomo

Fecha	CL 50 – 48	Limite inferior	Limite superior
12/12/2007	9,76	8,775	10,703
14/12/2007	9,728	8,85	10,546
18/12/2007	8,994	8,089	9,805
20/12/2007	9,76	8,775	10,703
09/01/2008	9,904	8,941	10,827
11/01/2008	9,717	8,805	10,569
15/01/2008	9,13	8,123	10,073
17/01/2008	9,244	8,167	10,281
15/02/2008	9,655	8,698	10,556
23/02/2008	8,766	7,702	9,757
13/03/2008	9,76	8,775	10,703
Promedio	9,49	8,51	10,41

Fuente: los autores

Después de realizar las pruebas definitivas de plomo se determinó que la concentración letal media es 9.49 ppm, los valores arrojados por el probit están dentro del limite superior e inferior, eso quiere decir que el cultivo permanecía estable mientras se realizaban las pruebas toxicológicas.

Figura 6.4 CL50 – 48 Plomo



Fuente: los autores

6.6. Prueba De Toxicidad Con El Vertimiento Pb – Ag.

Debido a la concentración tan alta que hay en la industria ASOFRANCO LTDA. se hizo necesario realizar más de 5 pruebas preliminares ya que el tratamiento propuesto inicialmente no arrojó los resultados esperados.

6.6.1. Prueba Preliminar

La prueba preliminar con el vertimiento se realizó con un rango inicial que va del 20% al 100% con agua dura para no afectar a los organismos con parámetros distintos a los de la toxicidad del vertimiento.

Tabla 6.13 pruebas preliminares con vertimiento

Concentración Nominal (% v/v)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
20%	5	5	5	5	100
40%	5	5	5	5	100
60%	5	5	5	5	100
80%	5	5	5	5	100
100%	5	5	5	5	100

Fuente: los autores

La concentración de plata en el punto donde fue tomado el vertimiento de la industria es de 412.5 ppm una concentración muy alta para los organismos, por ello fue necesario diluir la muestra para poder hallar el valor de la concentración letal media.

6.6.2. Prueba Definitiva

Después de realizar varias pruebas con diferentes concentraciones hallamos la concentración donde la mitad de los organismos mueren por causa de los metales presentes en el vertimiento.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Tabla 6.14 Pruebas definitivas con vertimiento

Concentración Nominal (% v/v)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.004%	0	0	0	0	0
0.008%	2	1	3	2	40
0.016%	3	4	1	2	50
0.032%	4	5	3	2	70
0.063%	5	5	5	5	100

Fuente: los autores

La concentración donde la mitad de los organismos sobreviven es de 0.016% una concentración muy baja la cual fue diluida con 99.984 % de agua reconstituida.

6.6.3. Análisis de Varianza

Por medio del análisis de varianza y la ANOVA, se puede determinar una hipótesis nula o alterna comparando con en f teórico

Tabla 6.15 análisis de varianza

Concentración (ppm)	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,063	5	5	5	5	20	5
0,032	4	5	3	2	14	3,5
0,016	3	4	1	2	10	2,5
0,008	2	1	3	2	8	2
0,004	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
Total					52	13

Fuente: LABM07

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Fuente: LABM07

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,3333333	5	15,4666667	23,2	2,77
Dentro de Grupos	12	18	0,6666667		
Total	89,3333333	23			

Fuente: LABM07

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$23.2 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

6.6.4. Análisis Probit

La concentración letal media del vertimiento de la industria se determinó por medio del método estadístico probit, después de realizarse 5 ensayos definitivos y encontrar la dosis donde la mitad de los organismos mueren.

Tabla 6.15 CL 50 – 48 Carta Control Del Vertimiento

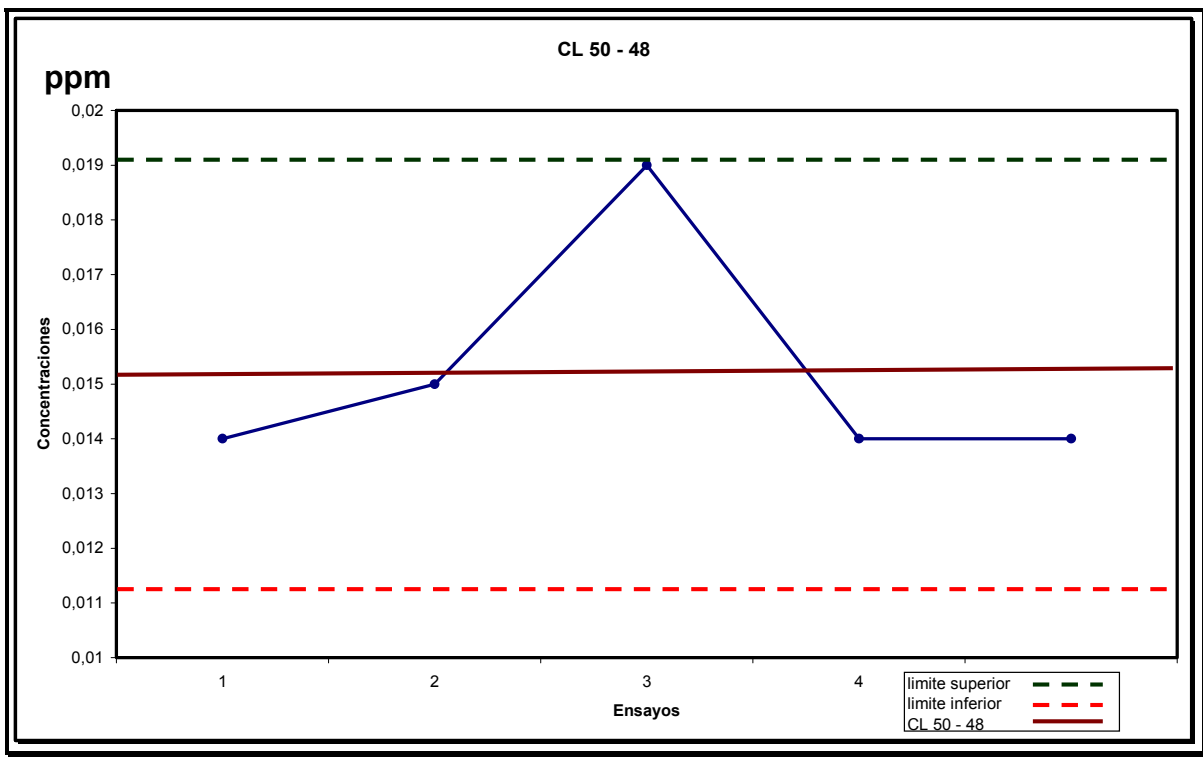
Fecha	CL 50 – 48	Limite inferior	Limite superior
14/03/2008	0,014	0,011	0,018
13/03/2008	0,015	0,011	0,02
12/03/2008	0,019	0,015	0,023
10/03/2008	0,014	0,009	0,018
23/02/2008	0,014	0,01	0,018
Promedio	0,0152	0,0112	0,0194

Fuente: los autores

El valor promedio donde el 50% de los organismos expuestos *Daphnia* Magna es de 0.0152%, siendo su limite inferior 0.0112% y su limite superior de 0.0194%, los organismos expuestos son muy sensibles a los componentes del vertimiento (plata, Plomo, cianuro, entre otros).

En el tiempo de realización de las pruebas toxicológicas con el vertimiento no hubo problemas de desestabilización del cultivo, es por ello que los datos obtenidos por prueba no sobrepasan el limite superior ni al limite inferior.

Figura 6.5 CL 50 – 48 del vertimiento



Fuente los autores

6.7. Vertimiento Tratado

Después de realizarse dos unidades de tratamiento para lograr la remoción los metales contenidos en el vertimiento se realizó pruebas con el rango de dilución base para lograr a los límites donde los organismos *Daphnia Magna* mueran

6.7.1. Prueba Preliminar

Debido a la concentración de plata que hay dentro del vertimiento, los organismos expuestos mueren con el 20% ya que son demasiado sensibles a plata y a pesar del tratamiento dado al agua de vertimiento los organismos no toleran concentraciones más altas de plata y mueren.

Tabla 6.16 prueba preliminar de vertimiento tratado

Concentración Nominal (% v/v)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
20%	5	5	5	5	100
40%	5	5	5	5	100
60%	5	5	5	5	100
80%	5	5	5	5	100
100%	5	5	5	5	100

Fuente los autores

Después de realizar las pruebas preliminares se pudo observar que la *Daphnia Magna* muere el 20 % con un volumen de 20ml de agua de vertimiento y 80 ml de agua dura, aun después de su tratamiento.

6.7.2. Prueba Definitiva

Uno de los objetivos específicos del proyecto es comparar la concentración letal media del vertimiento tratado y del vertimiento sin tratar, a pesar de llevar el agua por dos unidades de remoción de metales los metales no fueron removidos en su totalidad y los valores de la CL 50 – 48 fueron muy bajos, donde con el 5% de los organismos expuestos no mueren con el contacto con el vertimiento, pero con una dilución del 20% los organismos no logran sobrevivir mueren al contacto con el metal, como se observa en la tabla 6.17.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Tabla 6.17 prueba definitiva vertimiento tratado

Concentración Nominal (% v/v)	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0
8%	2	1	3	2	40
11%	3	3	1	4	55
16%	4	3	5	2	70
20%	5	5	5	5	100

Fuente los autores

La concentración letal media del vertimiento es mas o menos 11%, después de realizar 5 pruebas definitivas con diluciones diferentes se determinó que la concentración donde el 100% de los organismos mueren es de 20%, la concentración donde los organismos sobreviven al contacto con el vertimiento es de 5% debido a la intolerancia de las pulgas de agua *Daphnia Magna* a la plata.

6.7.3. Análisis De varianza

Por medio del análisis de varianza y la ANOVA, se puede determinar una hipótesis nula o alterna comparando con en f teórico

Tabla 6.18. Anova del vertimiento tratado

concentración (% v/v)	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	2	1	3	2	8	2
11	3	3	1	4	11	2,75
16	4	3	5	2	14	3,5
20	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	53	13,25

Fuente: LABM07

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Fuente: LABM07

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	78,2083333	5	15,6416667	23,9617021	2.77
Dentro de Grupos	11,75	18	0,65277778		
Total	89,9583333	23			

Fuente: LABM07

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$23.96 > 2.77$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

6.7.4. Análisis probit

La concentración letal media del vertimiento tratado se determinó por medio del método estadístico probit, después de realizarse 5 pruebas definitivas y encontrar la dosis donde la mitad de los organismos expuestos murieran.

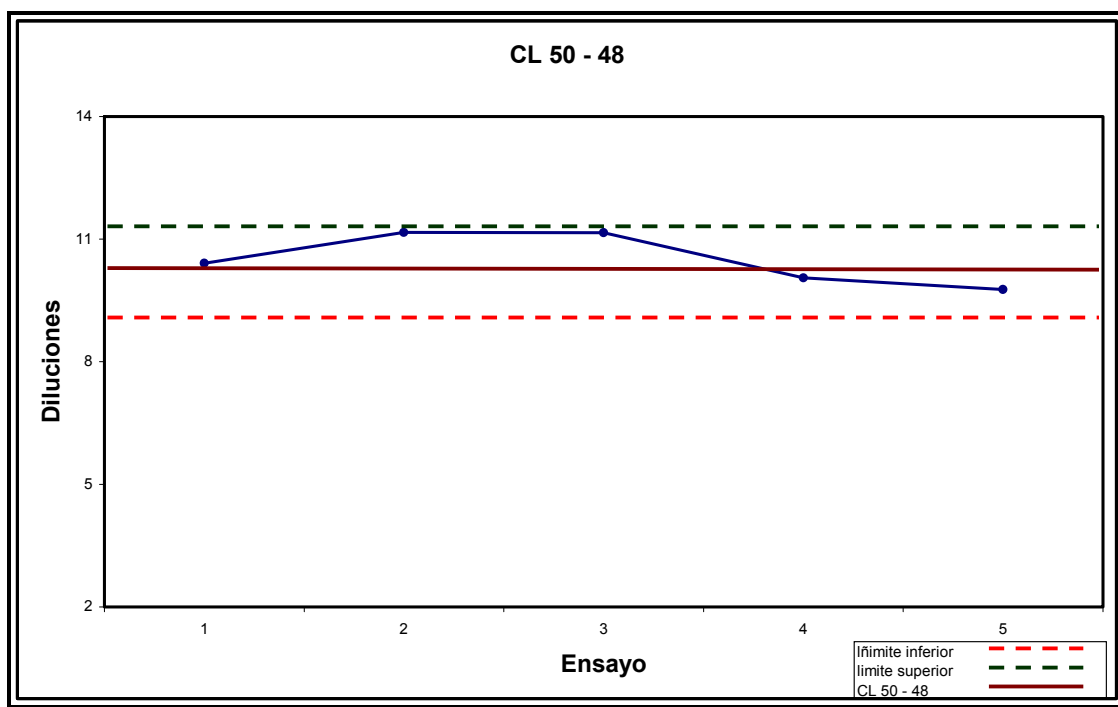
Tabla N° 6.19. Carta Control Del Vertimiento Tratado

Fecha	CL 50 - 48	limite inferior	limite superior
25/03/08	10,41	9,004	11,904
26/03/08	11,162	9,723	12,736
27/03/08	11,155	9,653	12,821
29/03/08	10,053	8,688	11,479
31/03/08	9,77	8,583	10,988
Promedio	10,51	9,1302	11,9856

Fuente: los autores

Después de realizadas las 5 pruebas de toxicidad definitivas se determinó la CL 50 – 48 siendo 11% la dilución necesaria para que el 50% de los organismos mueran, comparando el valor de las pruebas con el valor hallado con el método estadístico probit se estableció la dosis letal media 10.51%, los resultados confirman que la dosis donde la mitad de los organismos expuestos mueren es $11^{+/-} 0.5 \%$.

Figura N° 6.6. CL 50-48 vertimiento tratado



Fuente: los autores

6.8. Caracterización Del Vertimiento De Una Industria Galvánica

La caracterización del vertimiento se realizó en el área de recubrimiento con plata brillante, debido a la mayor concentración de plata y plomo en esta etapa, ya que en las otras fases del galvanizado se trabaja con diferentes metales y al final de todos los procesos se encuentra combinación de los mismos y pueden afectar el estudio toxicológico de plata y plomo en los organismos expuestos.

Foto 6.1 Recubrimiento con plata brillante



Fuente: los autores

Los procesos que se trabajan en ALFACROM Ltda., son proceso manuales por lo que no se define un caudal para cada etapa, por ello no se especifica un caudal dentro de la industria.

Foto 6.2. Lavado de piezas con recubrimiento de plata brillante



Fuente: los autores

La muestra fue tomada del punto de lavado de piezas, ya que la concentración de plata, plomo y cianuro que queda allí después de ser lavadas un número de piezas al día es significativa para realizar el estudio toxicológico a los organismos expuestos

Foto 6.3. Lavado manual de piezas



Fuente: los autores

- **DQO**

Se determinó por el método fotométrico de la concentración de cromo (III) tras oxidación de dos horas con dicromato potásico/ácido sulfúrico/sulfato de plata a 148 °C. Con un rango que va de 100 a 1500 mg /L.

Foto 6.4. Nanocolor



Fuente: los autores

Se realizaron 3 caracterizaciones antes del tratamiento midiendo los mismos parámetros para comparar valores.

DQO (mg/L) = 1295

1

DQO (mg/L) = 1305

2

DQO (mg/L) = 1128

3

Es un parámetro que se encuentra dentro de la norma establecida por decreto 1594 del 84 el cual establece que la DQO no debe sobrepasar 2000 mg/l por lo que la industria se encuentra dentro de la norma.

- **SÓLIDOS TOTALES**

En la etapa de recubrimiento la cantidad de sólidos es mínima por ello no afecta el estudio toxicológico que se realiza con el agua de vertimiento.

Foto 6.5. Medición de sólidos



Fuente: los autores

El proceso que se utilizó para medir los sólidos totales fue el proceso de secado a 103 °C – 105°C.

ST = 2.8 mg/L

1

ST = 3.1 mg/L

2

ST = 2.5 mg/L

3

- **pH**

La lectura *ex-situ* determinada con el pH-metro.

foto 6.6. pH-metro



Fuente: los autores

El parámetro del pH es muy alto para cumplir con el límite permisible de vertimiento sobrepasando la norma (6.0 a 9.0 unidades), por ello fue necesario bajar su pH a 7.5, esto se logró mediante la adición de ácido clorhídrico (HCl), de igual manera para elaborar las pruebas de toxicidad este debe cumplir con un valor establecido que va de 7.5 a 8.0 unidades.

pH = 10.57

1

pH = 10.65

2

pH = 10.93

3

- **TEMPERATURA**

Determinada *ex-situ*.

T° = 20.5 °C

1

T° = 20.4 °C

2

T° = 19.6 °C

3

Este parámetro se encuentra dentro de la norma (menor a 30 °C.).

Foto 6.7 temperatura



Fuente: los autores

- **METALES PESADOS**

Se realizaron por el método de adsorción atómica en ASO FRANCO S.A.

Concentración de plata

La concentración de plata dentro del proceso de lavado de piezas con recubrimiento de plata brillante es alta comparandolo con la norma establecida por el decreto 1594 del 84 (0.5 mg/l) por lo que la industria debe tratar este parámetro para poder ser vertido, la plata es unos de los metales mas peligros, si no son tratados antes de vertirse pueden causar problemas definitivos a los ecosistemas que tengan contacto con él, los organismos acuáticos son intolerantes a la plata y mas a concentraciones tan altas, por ello fue necesario buscar alternativas para la eliminacion de plata en su efluente, y lograr bajar la concentracion hasta niveles permisibles.

Ag (mg/L)= 422.5

1

Ag (mg/L)= 411.5

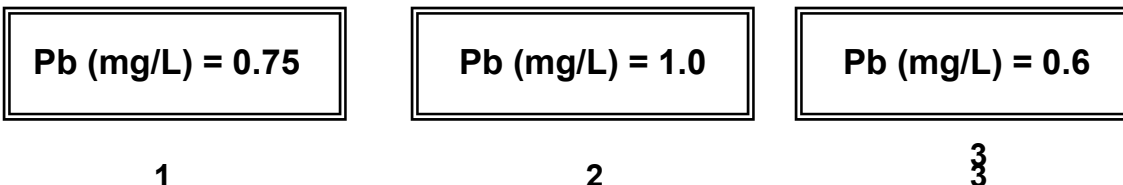
2

Ag (mg/L)= 456.5

3

Concentración de plomo

La concentración de plomo existente en el área de recubrimiento con plata es mínimo, pero aun así sobrepasa la norma establecida por el decreto 1594 de 84 donde permite vertir solo 0.1 mg/l de plomo.



- **ALCALINIDAD**

Se realizó la alcalinidad con el método de titulación con naranja de metilo.

Alcalinidad (mg/L) = 847

Este parámetro se realizó con el fin de obtener las concentraciones adecuadas para el test de jarras, como unidad para la remoción de metales pesados.

- **TEST DE JARRAS**

Antes De Tratamiento

Se realizó con el fin de disminuir la carga toxica de plomo y plata que hay dentro del vertimiento de la industria.

Se partió con el valor de la alcalinidad en la industria (847 ppm), de allí se escogieron las 4 concentraciones de agua de la industria, 2 por encima del valor de la alcalinidad y dos por debajo, para la realización del test de jarras, esto con el

fin de encontrar la dosis perfecta de coagulante FeCl_3 según los ensayos realizados.

$$\frac{V1 * C1}{C2} \equiv V2$$

1. 950 ppm

$$\frac{1000ml * 950 ppm}{100.000 ppm} \equiv 9.5ml$$

2. 900 ppm

$$\frac{1000ml * 900 ppm}{100.000 ppm} \equiv 9.0ml$$

3. 800 ppm

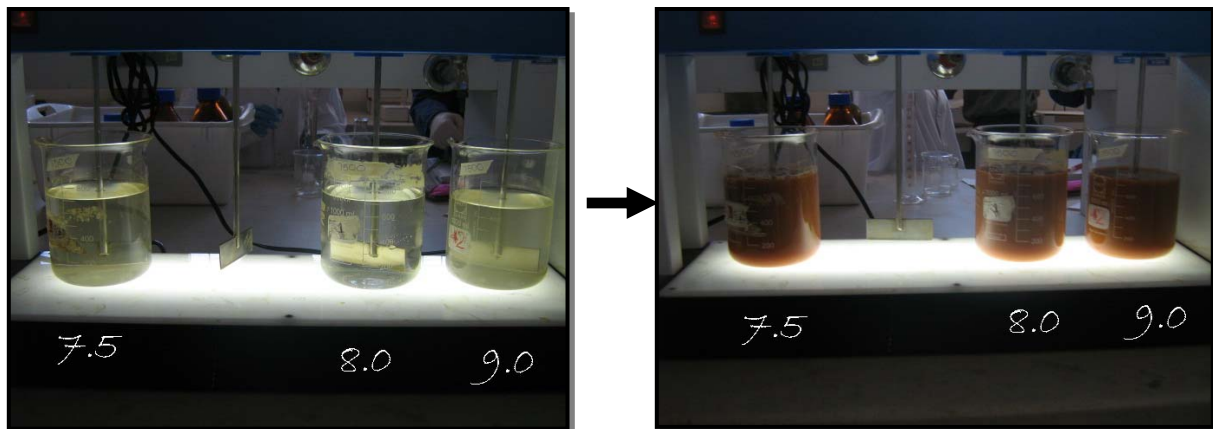
$$\frac{1000ml * 800 ppm}{100.000 ppm} \equiv 8.0ml$$

4. 750 ppm

$$\frac{1000ml * 750 ppm}{100.000 ppm} \equiv 7.5ml$$

En cada una de las jarras se colocó dosis diferentes para saber cual de las concentraciones daba mejor resultado, y formaba mejor floc, partiendo de ese valor se realizó el tratamiento para la remoción de los metales contenidos en el vertimiento.

Foto 6.8 Test De Jarras



Fuente: los autores

Para la remoción de metales como la plata se utiliza el coagulante cloruro férrico, FeCl_3 el cual hace que la plata contenida en el vertimiento sea precipitada, la precipitación con cloruro férrico es uno de tratamientos más económicos para la remoción de este metal y viable para la industria.

La remoción del plomo se da por medio químicos para luego ser precipitado, por lo general se realiza con cal en un pH de 9 a 10 unidades pero como la concentración de plomo existente en la industria es poca y es más complicado bajar el nivel de concentración de la plata, se trabajó con cloruro férrico para bajar la carga contaminante de plomo y plata existente en el agua de la industria.

Después Del Tratamiento

Después de ser tratada el agua de vertimiento a nivel laboratorio se volvió a medir parámetros para observar cuanto porcentaje había removido cada una de las unidades, los resultados se ven en la tabla 6.20.

Tabla 6.20 resultados de la caracterización

Parámetro	Valor antes	Valor después	Unidades	Norma	Observación
DQO	1242.66	971	ppm	2000	Aceptable
Sólidos Totales	2.8	1.5	ppm	800	Aceptable
pH	10.71	7.65	unidades	6 – 9	Aceptable
T°	20.16	20.2	°C	>30	Aceptable
Ag	430.2	0.96	ppm	0.5	Sobrepasa
Pb	0.78	ND*	ppm	0.1	ND*
Alcalinidad	847	-----	ppm		-----

* No detectable menos de 0.5 ppm

La concentración de plata en el vertimiento era muy alta y reducir su concentración a niveles permisibles fue difícil ya que la eficiencia de las unidades no logró disminuir el contenido total de plata, solo se redujo el 90%.

6.9. Índice Toxicológico

Para clasificar la industria según su descarga a cuerpos de aguas fue necesario tener en cuenta el valor de la CL 50 – 48 del vertimiento sin tratar y el caudal de la industria.

$$Carga\ Tóxica\ (UT) = \frac{100}{CL50} \times \bar{Q}$$

Donde

CL 50 = es la concentración letal media del vertimiento de la industria (0.0152 %).

Q = caudal promedio de la industria (0.33 L/s).

$$UT = 2171.052$$

Después de hallada la carga tóxica del vertimiento se determino el índice toxicológico del mismo.

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

Donde.

UT = carga toxicológica del vertimiento. (2171.052)

$$IT = 3.3368$$

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

El índice toxicológico se halla dentro del rango de 3.0 a 3.99, lo que quiere decir que la industria galvanica ASOFRANCO Ltda... se clasifica como una industria donde su carga tóxica es moderada.

7. PRE TRATAMIENTO DEL VERTIMIENTO A NIVEL LABORATORIO

7.1. Selección del tratamiento

Si un tratamiento es o no viable para la industria de galvano es necesario estudiar algunos puntos, como por ejemplo la cantidad de agua residual que sale de la industria por día, la cantidad de empleados que trabajan en la industria, para determinar si la industria es pequeña y mediana empresa (pymes) o por el contrario se habla de una industria a nivel macro; ALFACROM S.A. cuenta con un número de 15 trabajadores por lo que se determina que la industria de galvano es una pymes.

Tabla 7.1 estudio de viabilidad de los diferentes tratamientos

Tratamiento	Ventajas	Desventajas	Viable	No viable
Lagunas De Estabilización	<ul style="list-style-type: none"> Económico Eficiente Producción mínima de lodos No produce olor 	<ul style="list-style-type: none"> Áreas grandes Caudales altos de vertimiento 		X
Precipitación Química	<ul style="list-style-type: none"> Áreas pequeñas Pequeñas cantidades de agua a tratar Eficiente Menos costos 	<ul style="list-style-type: none"> Necesario filtración para eliminar el floc Produce lodos mas densos 	X	
Procesos De Membranas	<ul style="list-style-type: none"> Remueve otros factores que afectan al agua como sólidos totales Recuperación del agua en un 90% 	<ul style="list-style-type: none"> Procesos eficientes para la eliminación de otros metales Costos altos Unidades adicionales 		X
Intercambio Iónico	<ul style="list-style-type: none"> Eficiente 	<ul style="list-style-type: none"> Eficiente para remoción de ácidos fuertes Costos altos 		X

La utilización de estos tratamientos para agua residual industrial no implica la destrucción total de los contaminantes sino disminuir la concentración de estos flujos.

Para una industria pequeña donde no se maneja grandes áreas de producción la técnica de reducción de metales más viable para la industria es la precipitación química, de igual manera se necesitaba que las unidades de diseño redujera en gran porcentaje la concentración de plomo y plata contenidos en el agua de vertimiento, por ello se dio la necesidad de realizar un balance de las unidades a diseñar.

La muestra del vertimiento fue puntual en el área de lavado de piezas con recubrimiento con plata brillante, ya que no se cuenta con un caudal constante y sus procesos son manuales, la industria cuenta con factores que afectan directamente el medio ambiente y la salud humana, por ello fue necesario realizar más de una unidad donde se lograra remover el 90% de la concentración de metales pesados como el plomo y la plata contenidos en el agua de vertimiento.

Los parámetros como el pH y la concentración de metales, son parámetros que deben ser tratados no solo por descargas a efluentes sino también para realizar las muestras de toxicidad con los organismos expuestos, ya que ellos necesitan de unos parámetros establecidos para que no mueran por causas externas al contacto con los metales.

Se realizó el test de jarras para remover un alto porcentaje de metales pesados en el agua del vertimiento, ya que a la hora de realizar pruebas de toxicidad su concentración era demasiado pequeña por lo que fue necesario crear una unidad donde se removiera un gran porcentaje de los mismos, pero al realizarse las pruebas con el agua tratada, el test de jarras no fue suficiente puesto que se necesitaba de concentraciones pequeñas para lograr que los organismos expuestos no murieran, fue por ello que se dio la necesidad de crear el filtro de

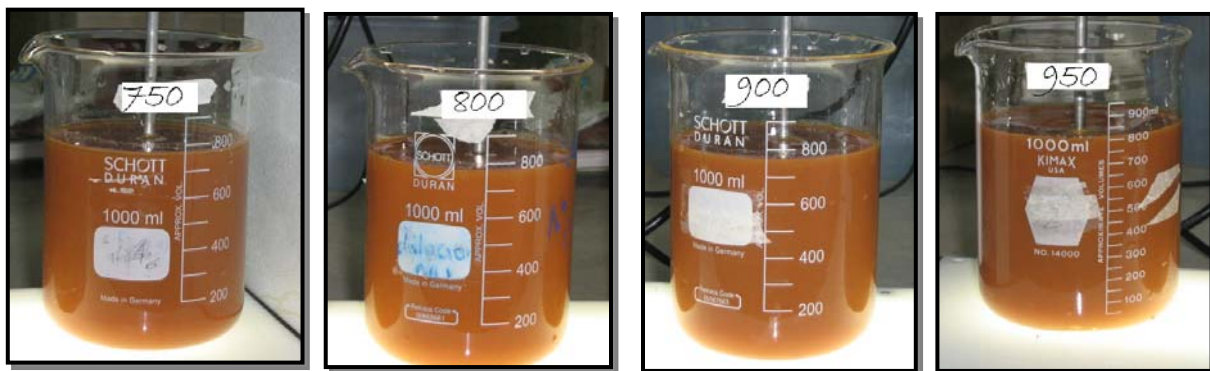
arena, grava y carbón activado, donde se completara el 90% de remoción de los metales pesados.

Después de pasar el agua por el tratamiento (jarras y filtro) se logró realizar diluciones del 10% al 20% con agua dura ($160 - 180 \text{ Ca}_3\text{CO}_2$), donde los organismos no murieran, eso quiere decir que la concentración letal media del vertimiento tratado es de 9.45% de dilución después de ser 0.016% sin ser tratada, se observa que las dos unidades tuvieron un porcentaje de remoción de metales del 90% por lo que la eficiencia de la unidad de mezcla rápida y del filtro es muy alta para la eliminación de metales como el plomo y la plata.

Test de jarras

Las concentraciones iniciales para las jarras fueron de 750 ppm, 800 ppm, 900 ppm y 950 ppm ya que se contaba con una alcalinidad de 847 ppm.

foto 7.1 Test de jarras



Fuente: los autores

Se utilizó como coagulante el Cloruro Férrico al 10% y las concentraciones de los mismos fueron de:

950 ppm: 9.5 ml de FeCl_3

900 ppm: 9.0 ml de FeCl_3

800 ppm: 8.0 ml de FeCl_3

750 ppm: 7.5 ml de FeCl_3

Después de 15 minutos de mezcla lenta se notaba que la jarra que tenía una concentración de 750 ppm había formado mejor floc.

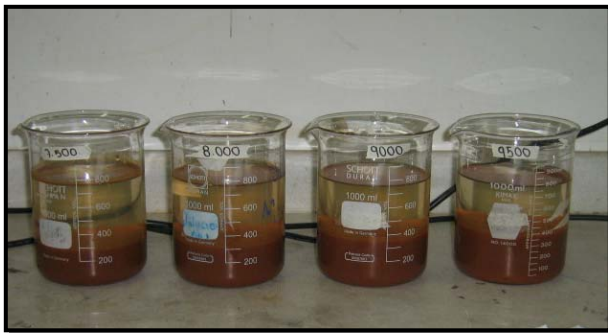
Foto 7.2 precipitación



Fuente: los autores

A los 20 minutos de reposo, la jarra que contenía una concentración de 750 ppm era la mejor jarra ya que el floc que se había formado estaba sedimentándose con mayor rapidez sin dejar partículas de floc flotando, disminuyendo a su vez el volumen del lodo.

Foto 7.3 sedimentación de lodos



Fuente: los autores

La jarra escogida para realizar las pruebas de toxicidad es la que contiene una concentración de 750 ppm con una dosis de 7.5 ml por jarra.

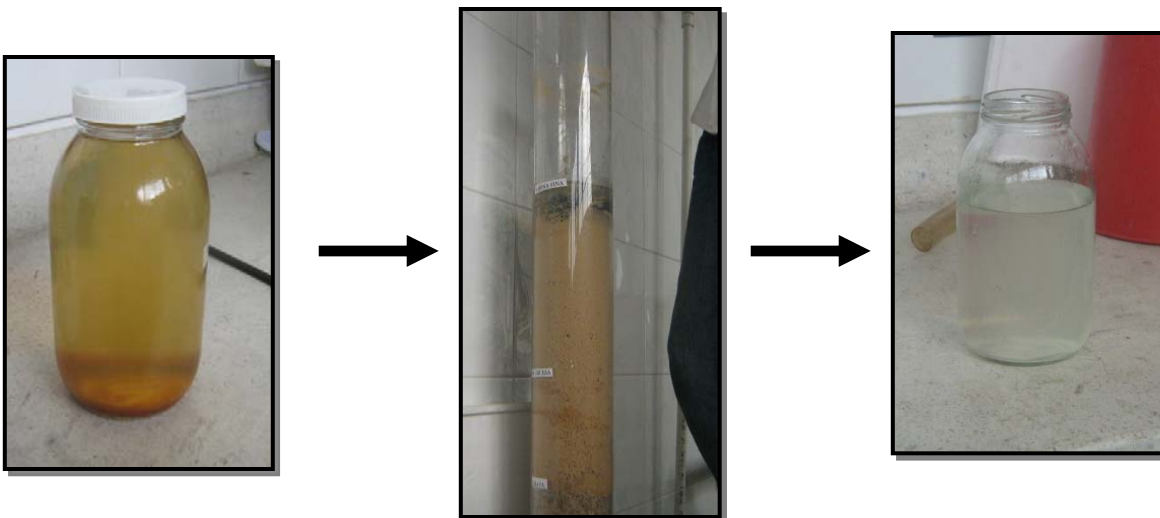
foto 7.4 despues del test de jarras



Fuente: los autores

Después de trabajar con el test de jarras para la remoción de plomo y plata fue necesario pasar el agua tratada por un filtro de arena grava y carbón activado para eliminar el color amarillo que queda después de realizar el tratamiento con cloruro férrico.

Foto 7.5 antes y después de la filtración



Fuente: los autores

Después de pasar el agua por el filtro de carbón, arena y grava, el agua salió con menos carga tóxica, disminuyendo su color, y su concentración de plata y plomo,

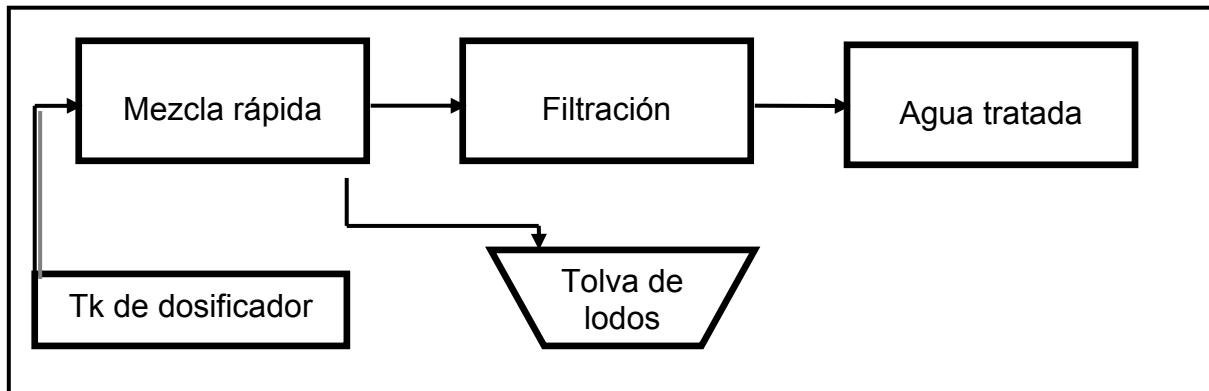
la muestra se llevó a ASOFRANCO S.A. para determinar la concentración final de los metales contenidos en el vertimiento plomo y plata, siendo la eficiencia de las dos unidades del 90%.

8. DISEÑO DE LAS UNIDADES

Para disminuir la concentración de metales presentes en el agua de vertimiento fue necesario diseñar dos unidades para una eficiencia total de 90%.

El caudal de entrada al proceso no es constante ya que en las industrias de galvano trabajan por momentos, es por ello que se diseñó una unidad donde su sistema se realizara por cochadas o por ciclos.

Esquema 8.1 diagrama de flujo del pretratamiento



Fuente: los autores

8.1. Sistema Batch

El sistema Batch es un sistema de test de jarras a escala real, proporciona el mismo efecto sobre el agua tratada y trabaja igual, con la misma eficiencia.

Dentro del sistema batch se realizan procesos como la coagulación, floculación, precipitación y sedimentación del floc producido en el tratamiento después de la mezcla rápida y mezcla lenta.

8.1.1. Calculo de diseño.

Para el diseño del batch se tuvo en cuenta los criterios de diseño como se muestra en la tabla 8.1

Tabla 8.1. parámetros de diseño del sistema batch

Parámetros de diseño	Valor	Unidades
Caudal (Q)	0.066	l/s
Tiempo de retención (tr)	8175	seg
Volumen del Tk (V)	0.539	m ³
Área del Tk (A)	0.539	m ²
Diámetro del Tk (d)	0.83	m
Altura Asumida (h)	1.00	m
altura de la lamina de agua	0.83	m
borde libre	0.17	m
espesor de la pared	0.083	m
altura de la paleta	0.076	m
largo de la paleta	0.076	m
ancho de la paleta	0.026	m
inclinación	45	grados

Fuente: los autores

El modelo básico de diseño fue formulado por Camp y Stein en 1943, se halla el valor de la gradiente de velocidad, es ampliamente aceptado, como un medio para calcular los requerimientos energéticos de mezcla.

El gradiente de velocidad fue hallado para mezcladores mecánicos mediante la siguiente ecuación:

$$G \equiv \sqrt{\frac{P}{\mu V}}$$

Ec. 1 ROMERO ROJAS, Jairo Alberto

Donde

G: gradiente de velocidad, S^{-1}

μ : viscosidad dinámica del agua, $N\ s/m^2$ ($1.02\ E^{-3}$)

V: volumen del tanque, m^3 (0.539 m^3)

P: potencia introducida por el agua, W (1343.3 W)

La potencia introducida al agua se halla por medio de la siguiente ecuación, para tanques con agitadores mecánicos.

$$P \equiv Fd * v$$

Ec.2 ROMERO ROJAS, Jairo Alberto

Donde:

Fd: fuerza de arrastre sobre las paletas, N (2.985 N)

v : Velocidad relativa de las paletas con respecto al fluido, m/s (0.450 m/s)

Para hallar el valor de la velocidad relativa de las paletas fue necesario utilizar la siguiente ecuación

$$v \equiv Vp * 0.75$$

Ec. 3 ROMERO ROJAS, Jairo Alberto

Donde:

Vp: velocidad de las paletas, m/s (06.0 m/s)

La fuerza de arrastre sobre las paletas se halla por medio de:

$$Fd \equiv \frac{Cd * \rho * A * v^2}{2}$$

Ec. 4 ROMERO ROJAS, Jairo Alberto

Donde:

Cd: coeficiente de arrastre de las paletas, (1.4952)

ρ : Densidad del agua, Kg/m³ (998 kg/m³)

A : área transversal de paletas, m² (19.76 m²)

U : Velocidad relativa de las paletas con respecto al fluido, m/s (0.450 m/s)

El gradiente de velocidad, adecuado para el diseño del sistema batch dio un valor de:

$$G \equiv 1562.3 s^{-1}$$

La potencia del motor para las paletas de mezcla se halla mediante la ecuación:

$$P_m \equiv \frac{P}{E * 1000}$$

Ec. 5 ROMERO ROJAS, Jairo Alberto

Donde:

P : potencia, w (1343.3 w)

E : eficiencia del motor (0.75)

La potencia del motor es de 1.68 Kw por lo que comercialmente se selecciona un motor de potencia de 2.0 Kw, con 150 Rpm.

Para el diseño de sistema batch ver anexo E

8.1.2. Diseño Tanque Dosificador

La jarra escogida después de realizar el test de jarras, tiene una concentración de 750 ppm y la dosificación para una jarra de 1000 ml es de 7.5 ml por proceso.

Para un volumen de 539.500 ml se necesita una dosificación de 2265,9 ml de cloruro férrico, en 136.25 min, para un caudal de dosificación de:

$$0.0166 \frac{l}{\text{min}} \equiv 23.904 \frac{l}{\text{dia}}$$

Para saber el volumen de la caneca dosificadora de cloruro férrico es necesario conocer los parámetros de diseño, los cuales se describen a continuación en la tabla 6.2.

Tabla N° 8.2. parámetros de diseño TK dosificador

Parámetros de diseño	Valor	Unidades
Caudal (Q)	167.4	l/semana
Tiempo de retención (tr)	136.25	min
Volumen del Tk (V)	0.2265	cm ³
Área del Tk (A)	0.453	cm ²
Diámetro del Tk (d)	0.75	cm
Altura Asumida (h)	50	cm
borde libre	10	cm

Fuente: los autores

Para el tanque dosificador es necesario tener una caneca comercial de 250 litros para almacenar el cloruro férrico en la semana.

8.1.3. Tolva De Lodos

Para el almacenamiento de lodos que provienen del sistema batch se determinó el volumen por semana para la compra de una tolva de medidas comerciales para tal fin.

Tabla 8.3. parámetros de diseño tolva de lodos

Parámetros de diseño	Valor	Unidades
Caudal (Q)	14.81	l/semana

Tiempo de retención (tr)	136.25	min
Volumen del Tk (V)	0.203	m ³
Área del Tk (A)	0.35	m ²

Fuente: los autores

Según los cálculos fijados por las ecuaciones respectivas, se determinó que la tolva adecuada para el almacenamiento de lodos es un contenedor metálico con capacidad de almacenamiento de 1.6 m³, perfecto para el almacenamiento de los lodos por una semana.

8.2. Diseño de un Filtro

El filtro fue elaborado con el fin de reducir concentraciones de plomo, plata y sólidos (formados por el floc) contenidos en el agua, después del sistema batch.

Es un filtro de baja tasa que trabaja por gravedad, la etapa final de filtración se da cuando los sólidos suspendidos en el efluente comienzan a aumentar, entonces es necesario realizar el lavado del filtro para no perder su eficiencia.

La ubicación del lecho filtrante siempre se da, por el lecho más fino en este caso va del carbón activado, hasta el lecho con más diámetro, la grava.

Tabla 8.4 parámetros de diseño del filtro

Parámetros de diseño	Valor	Unidades
Caudal (Q)	0.2376	m ³ /hora
Tiempo de retención (tr)	1.50	horas
Altura total asumida (h)	1.50	m
altura del lecho de arena (h _{arena})	0.25	m

altura del lecho de carbón ($h_{\text{carbón}}$)	0.30	m
altura del lecho de graba (h_{graba})	0.22	m
velocidad (V)	0.997	m/hora
Área del Tk (A)	0.2373	m ²

Fuente: los autores

A continuación se muestra la cantidad necesaria para la elaboración del filtro de carbón activado, arena fina y graba, en la tabla N° 6.5

Tabla 8.5 cantidad necesaria para el filtro

Material	Kg. Necesarios	Valor por bulto	vida útil
carbón activado 20 Kg.	0.32	200.000 pesos + IVA	6 meses
arena 50 Kg.	1.5	13.000 pesos + IVA	2 años
Graba 50 Kg.	1.3	17.500 pesos + IVA	2 años

Fuente: los autores

8.2.1. Perdidas en el filtro

El flujo de agua a través de un filtro presenta retención dentro del lecho de filtrado, es allí donde se presenta las perdidas del fluido y el total de agua entrante no es el mismo flujo de agua que sale, por ello se dio la necesidad de hallar las perdidas de agua.

Para determinar las perdidas dentro del lecho filtrante se utilizaron las ecuaciones de Carmen Kozeny, Fair y Hatch.

$$H_f \equiv f * \left(\frac{l * \gamma}{g} \right) * v * \left(\frac{(1 - P_o)}{P_o^3} \right) * \left(\frac{6}{C_e * D_c} \right)^2$$

Ec. 6 Mott

8.2.1.1. Pérdidas en el lecho de carbón activado

Muchas de las constantes nombradas a continuación fueron suministradas por el proveedor, para especificar la clase de carbón activado que se va a utilizar.

Donde:

F: Coeficiente de Kozeny constante experimental y adimensional, (5)

L: Altura del lecho, (30 Cm)

γ : Viscosidad cinemática, ($1.00 \text{ E}^{-02} \text{ cm/s}^2$)

g: Gravedad, (981 cm/s^2)

V: Velocidad de filtración, (0.027) cm/s

Po: Porosidad, (0.38)

Ce: Coeficiente de esfericidad, (0.75)

Dc: Diámetro del carbón, (0.065 cm) (Dado por el fabricante)

$$Hf_{\text{carbón}} \equiv 6.93Cm$$

Las pérdidas dentro del lecho de carbón activado son de 6.93 cm. en un lecho de 30 cm.

8.2.1.2. Pérdidas en el lecho de Arena

Para determinar las pérdidas dentro del lecho de arena fina las constantes fueron suministradas por un proveedor.

Donde:

F: Coeficiente de Kozeny constante experimental y adimensional, (5)

L: Altura del lecho, (25 Cm)

γ : Viscosidad cinemática, ($1.00 \text{ E}^{-02} \text{ cm/s}^2$)

g: Gravedad, (981 cm/s²)

V: Velocidad de filtración, (0.027) cm/s

Po: Porosidad, (0.56)

Ce: Coeficiente de esfericidad, (0.95)

Dc: Diámetro de la arena, (0.0108 cm) (Dado por el fabricante)

$$Hf_{arena} \equiv 0.25Cm$$

Las pérdidas dentro del lecho de arena son de 0.25 cm. en un lecho de 25 cm.

Diseño del filtro de carbón, arena y graba ver anexo F

8.2.1.3. Pérdidas en el lecho de graba

Para determinar las pérdidas en el lecho de graba las constantes fueron suministradas por un proveedor.

Donde:

F: Coeficiente de Kozeny constante experimental y adimensional, (5)

L: Altura del lecho, (22 Cm)

γ: Viscosidad cinemática, (1.00 E⁻⁰² cm/s²)

g: Gravedad, (981 cm/s²)

V: Velocidad de filtración, (0.027) cm/s

Po: Porosidad, (0.4)

Ce: Coeficiente de esfericidad, (0.82)

Dc: Diámetro de la arena, (0.05 cm) (Dado por el fabricante)

$$Hf_{arena} \equiv 0.52Cm$$

Las pérdidas dentro del lecho de graba son de 0.25 cm. en un lecho de 22 cm.

8.3. Pérdidas en la tubería

A medida que un fluido fluye por un conducto, ocurren pérdidas de energía debido a la fricción interna en el fluido, por ello fue necesario determinar las pérdidas de energía en cada tubería contenida dentro del pretratamiento, sabiendo que hay dos tuberías dentro del diseño; para establecer las pérdidas de energía en la tubería se utilizó la ecuación de Darcy:

$$hl \equiv f * \frac{l}{D} * \frac{V^2}{2g}$$

Ec. 7 Mott

1 tramo.

Donde:

hl: pérdidas por fricción, N.m/N (0.033 m)

f: factor de fricción sin dimensiones ($1.60E^{-3}$)

l: longitud de la corriente de flujo (0.5 m)

D: diámetro del conducto (0.0127 m)

V: velocidad de flujo (3.21 m/s)

Para determinar el factor de fricción, fue necesario utilizar la ecuación del Número de Reynolds y el diagrama de moody.

En una longitud del tramo de 0.5 m a la entrada del tanque de sistema Batch sus pérdidas fueron de 0.033 m.

2 tramo

Donde:

h_f: pérdidas por fricción, N.m/N (0.066 m)

f: factor de fricción sin dimensiones ($1.60E^{-3}$)

L: longitud de la corriente de flujo (1.00m)

D: diámetro del conducto (0.0127 m)

V: velocidad de flujo (3.21 m/s)

En una longitud del tramo de 1.00 m a la entrada del filtro se dieron pérdidas de 0.066 m.

CONCLUSIONES

- Quedó evidenciado por medio de los test de toxicidad realizados que el metal pesado plata (Ag), es un elemento que requiere de especial atención, ya que por sus características corrosivas y tóxicas al ser vertido a un ecosistema acuático impacta notablemente las características del mismo y por ende afecta toda forma de vida presente en él (fauna y flora), entre estos los hábitats de organismos tipo Daphnia Magna, que son de vital importancia para evitar la ruptura de las cadenas tróficas de las cuales son parte esencial.
- Los organismos acuáticos tipo Daphnia Magna son excelentes herramientas (bioindicadores) para diagnosticar los posibles impactos ambientales que genera el sector industrial, por medio de sus vertimientos a cuerpos de agua natural, propios de sus procesos productivos.
- Los resultados obtenidos en los test de toxicidad en el vertimiento de la industria galvánica ALFACROM LTDA, demuestra que es de vital importancia crear más rigor y firmeza en nuestras normas ambientales, en cuanto a los niveles permitidos de descarga de metales pesados en los vertimientos de este tipo de sector industrial.
- Al realizar comparaciones en cuanto a la CL_{50 - 48} obtenida para el metal Plata entre la especie Daphnia Magna y Daphnia Pulex, se puede evidenciar el alto poder tóxico que posee este metal ya que en el estudio realizado recientemente por un grupo de investigadoras de la Universidad de La Salle con la especie D. Pulex no fue posible encontrar el rango de toxicidad y por ende la CL_{50 - 48} tampoco y con la especie D. Magna se obtuvo un dato de CL_{50 - 48} del orden de 0.8925×10^{-6} mg/L, cifra que es bastante preocupante para el bienestar de nuestros ecosistemas acuáticos.

Comprobando que los cuerpos de agua que sufren este tipo de descargas están siendo afectados y así mismo se puede dar la extinción de especies de organismos como la D. Magna que son de vital importancia para estos ecosistemas.

- Queda comprobado que la especie Daphnia Magna posee unos niveles de sensibilidad menores que la especie Daphnia Pulex y por lo tanto su resistencia a sustancias tóxicas es mayor, lo que permite obtener resultados tan mínimos como en el caso del metal Plata (Ag).
- El metal pesado Plomo (Pb) a pesar de sus ya conocidas características tóxicas, comparado con la Plata (Ag), se puede asegurar que es más manejable a la hora de proponer una alternativa de tratamiento para mitigar sus impactos, ya que este presentó una CL_{50 - 48} del orden de 9.49 mg/L, cifra que es más cómoda de manejar y controlar, con tratamientos que no van a demandar demasiados costos para una industria tipo.
- En este tipo de casos en particular, al ver los resultados arrojados por la caracterización realizada a la industria galvánica ALFACROM LTDA y los test de toxicidad realizados con la misma muestra utilizando organismos Daphnia Magna, no es recomendable diseñar un sistema de tratamiento, sino optar por implementar alternativas de producción mas limpia, las cuales pueden generar rentabilidad a la industria y ayudan a mitigar los impactos causados por este tipo de procesos productivos. Debería hacerse un replanteamiento en cuanto a las materias primas utilizadas dentro de este proceso.

RECOMENDACIONES

- Las condiciones en el laboratorio deben ser óptimas para lograr un buen funcionamiento del cultivo, evitando presencia de olores fuertes que puedan ocasionar fácilmente la muerte de los organismos prueba debido a su alta sensibilidad a estos.
- Los proyectos futuros deberían estar más enfocados hacia la propuesta de alternativas de producción más limpia en vez de pensar en realizar diseños de tratamiento que conllevan a incrementar los costos de operación de las industrias.
- Los bioensayos de toxicidad deben seguirse implementando con otras sustancias tóxicas peligrosas y en diferentes sectores industriales para tratar de diagnosticar los efectos que están generando estos a los ecosistemas naturales en general.
- El mantenimiento adecuado de los cultivos es la parte esencial para lograr un funcionamiento óptimo de los organismos prueba tipo Daphnia Magna y por ende los resultados finales a la hora de realizar las pruebas toxicológicas serán más precisos y confiables.
- Al realizar las pruebas toxicológicas con las sustancias tóxicas determinadas (Ag y Pb), es indispensable realizar paralelamente a estas las pruebas toxicológicas con el tóxico de referencia (Dicromato de Potasio), ya que estas son las que dan testimonio del buen o mal funcionamiento de los organismos prueba.
- Es necesario realizar reparaciones al laboratorio de bioensayos de la facultad de ingeniería ambiental y sanitaria de la Universidad de La Salle

ya que este presenta problemas de humedad y por lo tanto esto afecta las condiciones de temperatura necesarias para la supervivencia de los organismos de prueba Daphnia Magna.

- El vertimiento de la industria no debe ser vertido sin retirar la concentración de plata completamente ya que los niveles tóxicos de la plata en los cuerpos de agua son altos y perjudican a los ecosistemas acuáticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. 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.
3. CONTRERAS CARDONA, Lourdes Marcela. Evaluación preliminar de la toxicidad aguda de extractos vegetales utilizando *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* y *Allium cepa*. Bogota. Universidad Nacional.
4. CRUZ TORRES, Luís Eduardo. Factores que afectan la toxicidad. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Unidad Académica Ingeniería Ambiental. 1996.
5. 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.
6. DÍAZ BÁEZ, María Consuelo. y Dutka, B.J. Práctica de Laboratorio-Toxicidad con Bacterias, *Daphnia Magna*. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Unidad Académica Ingeniería Ambiental. 1996.

7. 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.
8. ESPINOSA RAMÍREZ, Adriana Janneth. Evaluación de la actividad muta genética de efluentes industriales mediante la prueba de ames modificada (*Salmonella typhimurium* cepas TA98 y TA100) [archivo de computador]. Bogota. Universidad Nacional.
9. 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.
10. 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.
11. HOYOS OCAMPO, Liliana Gisel. Estandarización de ensayos con *Daphnia Magna* para la evaluación de toxicidad en aguas contaminadas con metales pesados. Santafé de Bogotá, 1995. Trabajo de grado (Posgrado en Microbiología). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias de Posgrado. Interfacultades de Microbiología.
12. LARRAIN, A. Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: importancia de los bioensayos de toxicidad. Cienc. Tec. Mar, CONA (Nº especial). 1995.

13. MARTÍNEZ B, Ricardo. Metodología estadística para análisis de toxicidad. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Unidad Académica Ingeniería Ambiental.
14. Ministerio del Medio Ambiente – FUNDES. Guía de buenas prácticas para el sector de galvanotecnia., la red de soluciones empresariales. Bogotá D.C.
15. ROMERO ROJAS, Jairo Alberto. Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principio de diseño. Segunda Edición. Bogotá. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. 2002.
16. TORTORELLI, María. Ensayos toxicológicos con organismos acuáticos para la evaluación de la contaminación ambiental. Argentina, 1990. Universidad Nacional Lujan. Departamento de Ciencias Básicas.
17. VALENZUELA CORREA, Alba Lucia. Evaluación preliminar de la toxicidad aguda y subcrónica de extractos vegetales utilizando Daphnia magna e Hydra attenuata. Bogota. Universidad Nacional.
18. VELASCO RINCON, Paola Andrea. Evaluación de la toxicidad del vertimiento de una industria de recubrimientos metálicos mediante bioensayos [archivo de computador]. Bogota. Universidad Nacional.
19. www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Ensayosde.htm
20. www.mblaquaculture.com.
21. http://100cia.com/monografias/ecologia/descripcion_de_un_protocolo_estandarizado_de_toxicidad_aguda_para_cladoceros.html

22. www.elacuarista.com/alimentos/daphnias.htm
23. http://100cia.com/monografias/biologia/bioensayos_de_toxicidad_aguda_en_neonatos_de_moina_macrocopa.html
24. <http://www.ancystrus.com.ar/Articulos/daphnia.htm>
25. <http://www.ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol320.htm>
26. <http://www.acercar.org.co/industria/manuales/galvanotecnia/>
27. http://www.reddeautoridades.org/cds/disco04/residuos/manuales_minimizacion/mgalvano.pdf

ANEXO A

RESULTADOS DE PRUEBAS TOXICOLÓGICAS

DICROMATO DE POTASIO (K₂Cr₂O₇).

1.1.2. Prueba Preliminar.

7 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.001	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0
1.00	3	3	1	0	35
10.0	5	5	5	5	100

1.1.2. Pruebas Definitivas

20 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
1.00	3	2	1	3	45
1.5	5	5	5	5	100
2.0	5	5	5	5	100
2.5	5	5	5	5	100

Análisis varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
1	3	2	1	3	9	2,25
1,5	5	5	5	5	20	5
2	5	5	5	5	20	5

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

2,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	69	17,25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	121,875	5	24,375	159,545455	2.77
Dentro de Grupos	2,75	18	0,15277778		
Total	124,625	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$159.5 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

20 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
1.0	3	2	2	1	40
1.5	5	5	5	5	100
2.0	5	5	5	5	100
2.5	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
1	3	2	2	1	8	2
1,5	5	5	5	5	20	5
2	5	5	5	5	20	5
2,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					68	17

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	123,333333	5	24,6666667	222	2.77
Dentro de Grupos	2	18	0,11111111		
Total	125,333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

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

$$222 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

20 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
07	3	2	1	2	40
0.9	4	3	2	2	55
1.3	5	4	2	1	60
1.5	5	5	5	5	100

Análisis varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
0,7	3	2	1	2	8	2
0,9	4	3	2	2	11	2,75
1,3	5	4	2	1	12	3
1,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					51	12,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	73,875	5	14,775	18,0305085	2.77
Dentro de Grupos	14,75	18	0,81944444		
Total	88,625	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$18.03 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

21 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
0.7	1	0	5	0	30
0.9	1	3	1	3	40
1.0	1	2	5	2	50
1.5	5	5	5	5	100

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
0,7	1	0	5	0	6	1,5
0,9	1	3	1	3	8	2
1	1	2	5	2	10	2,5
1,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					44	11

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	69,3333333	5	13,8666667	8,32	2,77
Dentro de Grupos	30	18	1,6666667		
Total	99,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$8.32 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

21 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
0.7	0	2	4	1	35
1.1	3	2	2	4	55
1.3	2	3	4	4	75
1.5	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
0,7	0	2	4	1	7	1,75
1,1	3	2	2	4	11	2,75
1,3	2	3	4	4	13	3,25
1,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					51	12,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	76,375	5	15,275	19,2947368	2.77
Dentro de Grupos	14,25	18	0,79166667		
Total	90,625	23			

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$19.29 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

21 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
0.8	3	2	2	1	40
1.0	3	2	2	3	50
1.3	2	5	4	3	70
1.5	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
0,8	3	2	2	1	8	2
1	3	2	2	3	10	2,5
1,3	2	5	4	3	14	3,5
1,5	5	5	5	5	20	5

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,3333333	5	15,4666667	34,8	2.77
Dentro de Grupos	8	18	0,44444444		
Total	85,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$34.8 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

21 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
1.0	4	5	1	1	55

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

1.5	5	5	5	5	100
1.9	5	5	5	5	100
2.3	5	5	5	5	100
2.5	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1	4	5	1	1	11	2,75
1,5	5	5	5	5	20	5
1,9	5	5	5	5	20	5
2,3	5	5	5	5	20	5
2,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					91	22,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	85,2083333	5	17,0416667	24,0588235	2.77
Dentro de Grupos	12,75	18	0,70833333		
Total	97,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

$$24.05 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

24 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.3	0	0	0	0	0
0.5	0	2	0	0	10
0.7	1	0	0	2	15
0.9	3	1	1	3	40
1.0	2	3	1	4	50

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,3	0	0	0	0	0	0
0,5	0	2	0	0	2	0,5
0,7	1	0	2	0	3	0,75
0,9	3	1	1	3	8	2
1	2	3	1	4	10	2,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					23	5,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	22,2083333	5	4,44166667		
Dentro de Grupos	14,75	18	0,81944444	5,42033898	2.77
Total	36,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$5.42 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

27 de noviembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
0.7	0	0	1	1	10
0.9	1	1	1	1	20
1.3	3	4	3	3	65
1.5	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,5	0	0	0	0	0	0
0,7	0	0	1	1	2	0,5
0,9	1	1	1	1	4	1
1,3	3	4	3	3	13	3,25
1,5	2	3	1	4	10	2,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					29	7,25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	37,2083333	5	7,44166667	19,8444444	2.77
Dentro de Grupos	6,75	18	0,375		
Total	43,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$19.84 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

4 de Diciembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.7	2	1	1	1	25
0.9	4	1	2	0	35
1.1	2	3	1	4	50
1.3	3	4	3	3	65
1.5	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,7	2	1	1	1	5	1,25
0,9	4	1	1	1	7	1,75
1,1	2	3	1	4	10	2,5
1,3	3	4	3	3	13	3,25
1,5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					55	13,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	59,7083333	5	11,9416667	16,2226415	2.77
Dentro de Grupos	13,25	18	0,73611111		
Total	72,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$16.22 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

1.2. PLATA (Ag_2SO_3)

1.2.1. Prueba Preliminar

10 de Diciembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.001	5	5	5	5	100
0.01	5	5	5	5	100
0.10	5	5	5	5	100
1.00	5	5	5	5	100
10.0	5	5	5	5	100

1.2.2. Prueba Definitiva

14 de Enero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Blanco	0	0	0	0	0
0.0000001	5	5	5	5	100
0.000001	5	5	5	5	100
0.00001	5	5	5	5	100
0.0001	5	5	5	5	100
0.001	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,0000001	5	5	5	5	20	5
0,000001	5	5	5	5	20	5
0,00001	5	5	5	5	20	5
0,0001	5	5	5	5	20	5
0,001	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					100	25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	83,3333333	5	16,6666667	16.66	2.77
Dentro de Grupos	0	18	0		
Total	83,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

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

$$16.66 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

06 de Febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.00000001	4	2	1	4	55
0.00000018	5	5	5	5	100
0.00000032	5	5	5	5	100
0.00000056	5	5	5	5	100
0.000001	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,00000001	4	2	1	4	11	2,75
0,00000018	5	5	5	5	20	5
0,00000032	5	5	5	5	20	5
0,00000056	5	5	5	5	20	5
0,000001	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					91	22,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	85,2083333	5	17,0416667	45,4444444	2.77
Dentro de Grupos	6,75	18	0,375		
Total	91,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$45.44 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

11 de Febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.00000001	0	3	2	3	40
0.00000018	4	4	5	3	80
0.00000032	5	5	5	5	100
0.00000056	5	5	5	5	100
0.0000001	5	5	5	5	100

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,00000001	0	3	2	3	8	2
0,00000018	4	4	5	3	16	4
0,00000032	5	5	5	5	20	5
0,00000056	5	5	5	5	20	5
0,000001	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					84	21

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	86	5	17,2	38,7	2.77
Dentro de Grupos	8	18	0,44444444		
Total	94	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$38.7 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

12 de Febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.000000001	0	0	0	0	0
0.0000000056	2	3	0	2	35
0.000000001	2	3	4	2	55
0.000000015	3	4	3	4	70
0.000000032	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,000000001	0	0	0	0	0	0
5,6E-09	4	4	5	3	16	4
0,000000001	5	5	5	5	20	5
0,000000015	5	5	5	5	20	5
0,000000032	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					76	19

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	123,333333	5	24,6666667	222	2.77
Dentro de Grupos	2	18	0,11111111		
Total	125,333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

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

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

$$222 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

12 de Febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.000000001	0	0	0	0	0
0.0000000056	2	3	1	2	40
0.000000001	2	3	4	3	50
0.000000015	3	5	3	4	75
0.000000032	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,000000001	0	0	0	0	0	0
5,6E-09	4	4	5	3	16	4
0,000000001	5	5	5	5	20	5
0,000000015	5	5	5	5	20	5
0,000000032	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					76	19

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	123,333333	5	24,6666667	222	2.77
Dentro de Grupos	2	18	0,11111111		
Total	125,333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$222 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

13 de Febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.000000001	0	0	0	0	0
0.0000000056	1	2	3	1	35
0.00000001	4	3	2	1	50

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

0.00000015	5	4	3	3	75
0.00000032	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,000000001	0	0	0	0	0	0
5,6E-09	1	2	3	1	7	1,75
0,00000001	4	3	2	1	10	2,5
0,00000015	5	4	3	3	15	3,75
0,00000032	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,8333333	5	16,1666667	27,7142857	2.77
Dentro de Grupos	10,5	18	0,58333333		
Total	91,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$27.71 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

1.3. PLOMO $Pb(NO_3)_2$

1.3.1. Prueba Preliminar

12 de diciembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.001	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0
1.00	0	1	0	0	5
10.0	2	1	1	5	45

1.3.2. Prueba Definitiva

12 de diciembre 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
1.0	0	0	0	0	0
1.8	0	0	0	0	0
3.2	0	0	0	0	0
5.6	2	1	3	2	30
10.0	4	2	3	2	55

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
1	0	0	0	0	0	0
1,8	0	0	0	0	0	0
3,2	0	0	0	0	0	0
5,6	2	1	3	2	8	2
10	4	2	3	2	11	2,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					19	4,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	31,2083333	5	6,24166667	23,6526316	2.77
Dentro de Grupos	4,75	18	0,26388889		
Total	35,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$23.65 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

12 diciembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	2	3	2	1	35
10.0	2	3	4	1	50
13	4	3	4	3	70
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	2	3	2	1	8	2
10	2	3	4	1	10	2,5
13	4	3	4	3	14	3,5
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,3333333	5	15,4666667	34,8	2.77
Dentro de Grupos	8	18	0,44444444		
Total	85,3333333	23			

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$34.8 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

18 diciembre de 2007

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	1	1	1	4	35
10.0	2	5	1	1	45
13	5	1	3	4	65
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	1	1	1	4	7	1,75
10	2	5	1	1	9	2,25
13	5	1	3	4	13	3,25
15	5	5	5	5	20	5

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Blanco	0	0	0	0	0	0
total					49	12,25

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	74,7083333	5	14,9416667		
Dentro de Grupos	26,25	18	1,45833333	10,2457143	2.77
Total	100,958333	23			

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$10.24 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

9 de enero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

8.0	4	3	0	0	35
10.0	2	4	3	1	50
13	5	1	5	4	75
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	4	3	0	0	7	1,75
10	2	4	3	1	10	2,5
13	5	1	5	4	15	3,75
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,8333333	5	16,1666667	10,2105263	2.77
Dentro de Grupos	28,5	18	1,58333333		
Total	109,333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

$$10.21 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

11 de enero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	3	2	1	1	35
10.0	3	4	2	1	50
13	4	3	2	5	70
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	3	2	1	1	7	1,75
10	3	4	2	1	10	2,5
13	4	3	2	5	14	3,5
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					51	12,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,875	5	15,575		
Dentro de Grupos	12,75	18	0,70833333	21,9882353	2.77
Total	90,625	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$21.98 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

11 de enero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	2	2	3	0	35
10.0	2	5	2	2	55
13	2	5	3	5	75
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	2	2	3	0	7	1,75
10	5	2	2	2	11	2,75
13	2	5	3	5	15	3,75
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					53	13,25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,7083333	5	16,3416667	16,1178082	2.77
Dentro de Grupos	18,25	18	1,01388889		
Total	99,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$16.11 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

05 de febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	0	2	3	3	40
10.0	3	2	5	1	55
13	5	1	3	4	65
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	0	2	3	3	8	2
10	3	2	5	1	11	2,75
13	5	1	3	4	13	3,25
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				total	52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	75,8333333	5	15,1666667	11,6170213	2.77
Dentro de Grupos	23,5	18	1,30555556		
Total	99,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

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

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

$$11.61 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

21 de febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	3	2	2	1	40
10.0	3	5	2	0	50
13	5	2	4	4	75
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	3	2	2	1	8	2
10	3	5	2	0	10	2,5
13	5	2	4	4	15	3,75
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					53	13,25

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,2083333	5	16,0416667		
Dentro de Grupos	19,75	18	1,09722222	14,6202532	2.77
Total	99,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$14.62 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

25 de febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	2	1	1	3	35

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

10.0	3	2	2	3	50
13	4	2	4	5	80
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	2	1	1	3	7	1,75
10	3	2	2	3	10	2,5
13	4	2	4	5	15	3,75
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,8333333	5	16,1666667	34,2352941	2.77
Dentro de Grupos	8,5	18	0,47222222		
Total	89,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

$$34.23 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

23 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5.0	0	0	0	0	0
8.0	1	2	2	2	35
10.0	3	2	5	0	50
13	5	2	3	5	75
15	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	1	2	2	2	7	1,75
10	3	2	5	0	10	2,5
13	5	2	3	5	15	3,75
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,8333333	5	16,1666667		
Dentro de Grupos	20,5	18	1,13888889	14,195122	2.77
Total	101,333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$14.19 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

1.4. VERTIMIENTO Pb – Ag.

1.4.1. Prueba Preliminar

13 de febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
20%	5	5	5	5	100
40%	5	5	5	5	100
60%	5	5	5	5	100
80%	5	5	5	5	100

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

100%	5	5	5	5	100
------	---	---	---	---	-----

1.4.2. Pruebas Definitivas

17 de febrero de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
2.5%	5	5	5	5	100
5%	5	5	5	5	100
10%	5	5	5	5	100
15%	5	5	5	5	100
20%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
2,5	5	5	5	5	20	5
5	5	5	5	5	20	5
10	5	5	5	5	20	5
15	5	5	5	5	20	5
15	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					100	25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	83,3333333	5	16,6666667	16.66	2.77

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Dentro de Grupos	0	18	0		
Total	83,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$16.66 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

10 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.004%	0	1	0	1	10
0.008%	4	2	1	1	35
0.016%	2	3	2	4	55
0.032%	4	2	2	5	65
0.063%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

0,004	0	1	0	1	2	0,5
0,008	4	2	1	1	8	2
0,016	2	3	2	4	11	2,75
0,032	4	2	2	5	13	3,25
0,063	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					54	13,5

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	68	5	13,6	14,8363636	2.77
Dentro de Grupos	16,5	18	0,91666667		
Total	84,5	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$14.83 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

12 de marzo de 2008

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.004%	1	0	0	0	5
0.008%	0	1	5	2	40
0.016%	2	1	3	4	50
0.032%	3	2	5	4	70
0.063%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,004	1	0	0	0	1	0,25
0,008	0	1	5	2	8	2
0,016	2	1	3	4	10	2,5
0,032	3	2	5	4	14	3,5
0,063	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					53	13,25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	73,2083333	5	14,6416667	10,6484848	2.77
Dentro de Grupos	24,75	18	1,375		
Total	97,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

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

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

$$10.64 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

13 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
0.004%	0	0	0	0	0
0.008%	3	1	3	2	40
0.016%	3	4	1	2	50
0.032%	4	5	3	2	70
0.063%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
0,004	0	0	0	0	0	0
0,008	3	1	3	2	9	2,25
0,016	3	4	1	2	10	2,5
0,032	4	5	3	2	14	3,5
0,063	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					53	13,25

tratamientos 6

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,2083333	5	15,4416667	21,8	2.77
Dentro de Grupos	12,75	18	0,70833333		
Total	89,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$21.8 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

1.5. VERTIMIENTO TRATADO.

1.5.1. Prueba Preliminar

25 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
20%	5	5	5	5	100

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

40%	5	5	5	5	100
60%	5	5	5	5	100
80%	5	5	5	5	100
100%	5	5	5	5	100

1.5.2. Prueba Definitiva

25 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0
8%	3	2	2	0	35
11%	2	2	1	5	50
16%	3	4	3	5	75
20%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	3	2	2	0	7	1,75
11	2	2	1	5	10	2,5
16	3	4	3	5	15	3,75
20	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					52	13

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,8333333	5	16,1666667		
Dentro de Grupos	16,5	18	0,91666667	17,6363636	2.77
Total	97,3333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$17.63 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

26 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0
8%	2	1	3	2	40
11%	3	3	1	4	55
16%	4	3	5	2	70
20%	5	5	5	5	100

Analisis de varianza

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	2	1	3	2	8	2
11	3	3	1	4	11	2,75
16	4	3	5	2	14	3,5
20	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					53	13,25

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	78,2083333	5	15,6416667	23,9617021	2.77
Dentro de Grupos	11,75	18	0,65277778		
Total	89,9583333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$23.96 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

27 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0
8%	1	0	3	3	35
11%	4	1	1	4	50
16%	2	3	4	4	65
20%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	1	0	3	3	7	1,75
11	4	1	1	4	10	2,5
16	2	3	4	4	13	3,25
20	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					50	12,5

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	75,3333333	5	15,0666667	14,6594595	2.77
Dentro de Grupos	18,5	18	1,02777778		
Total	93,8333333	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

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

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

$$14.65 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

27 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0
8%	0	2	3	2	35
11%	4	5	1	1	55
16%	3	2	5	3	60
20%	5	5	5	5	100

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	0	2	3	2	7	1,75
11	4	5	1	1	11	2,75
16	3	2	5	3	13	3,25
20	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					51	12,75

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	76,375	5	15,275		
Dentro de Grupos	22,25	18	1,23611111	12,3573034	2.77
Total	98,625	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$12.35 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

29 de marzo de 2008

Concentración Nominal	Nº De Organismos Muertos				% Mortalidad Obtenido
	1	2	3	4	
Blanco	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0
8%	0	0	4	2	30
11%	4	3	3	0	50
16%	5	5	3	2	75

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

20%	5	5	5	5	100
------------	---	---	---	---	------------

Análisis de varianza

concentración	Número de réplicas				total	promedio
	R1	R2	R3	R4		
5	0	0	0	0	0	0
8	0	0	4	2	6	1,5
11	4	3	3	0	10	2,5
16	5	5	3	2	15	3,75
20	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
total					51	12,75

tratamientos	6
observaciones	4
total	24

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,875	5	16,375	11,0186916	2.77
Dentro de Grupos	26,75	18	1,48611111		
Total	108,625	23			

Determinamos el valor de F para luego ser comparado con el F teórico y poder concluir, partiendo de dos hipótesis.

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

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

$$11.01 > 2.77$$

Como se puede observar el $F_c > F_t$, por consiguiente se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

ANEXO B

REGISTRO DE CONTROL DE PARÁMETROS DEL AGUA RECONSTITUIDA

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

FECHA	DUREZA	PH	OD	TEMPERATURA
8 / 10 / 07	160	7.19	6.25	19.5
19 / 10 / 07	170	8.00	7.25	19.3
26 / 10 / 07	170	8.02	7.42	18.9
30 / 10 / 07	170	7.68	5.85	19.5
6 / 11 / 07	175	7.3	5.05	19.6
9 / 11 / 07	182	8.20	5.03	19.8
13 / 11 / 07	165	7.7	4.39	19.4
16 / 11 / 07	170	7.65	4.54	19.7
22 / 11 / 07	160	7.73	3.68	19.6
23 / 11 / 07	164	7.74	3.58	19.4
28 / 11 / 07	173	7.69	3.93	19.4
30 / 11 / 07	166	7.63	4.31	19.4
10 / 12 / 07	173	7.72	4.26	19.3
12 / 12 / 07	174	7.81	6.08	19.1
14 / 01 / 08	166	7.95	6.01	18.1
11 / 01 / 08	180	8.00	6.03	18.8
21 / 01 / 08	175	7.81	6.05	18.8
21 / 01 / 08	162	7.95	60.8	18.7
22 / 01 / 08	171	7.98	5.86	18.4
25 / 01 / 08	175	8.02	6.04	18.9
02 / 02 / 08	176	7.56	6.03	18.5
04 / 02 / 08	178	7.52	6.05	18.9
08 / 02 / 08	165	7.82	6.03	19.1
22 / 02 / 08	176	7.74	5.04	19.2
29 / 02 / 08	162	7.95	5.68	19.2
14 / 03 / 08	175	7.86	5.62	19.2

ANEXO C

HOJA DE CONTROL DE NATALIDAD DE DAPHNIA MAGNA

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

Fecha	Fecha de cultivo	Pecera 1	Pecera 2	Pecera 3	Pecera 4
23/11/07	1/11/07	18-12	18-25	19-18	17-76
23/11/07	8/10/07	----	8-25	10-128	----
23/11/07	24/10/07	16-0	17-23	14-52	14-8
27/11/07	1/11/07	13-77	16-108	16-158	6-48
27/11/07	24/10/07	16-44	17-12	13-145	13-76
27/11/07	8/10/07	----	5-2	8-102	----
28/11/07	1/11/07	15-42	16-37	16-50	----
28/11/07	8/10/07	----	3-10	6-55	----
28/11/07	24/10/07	15-126	17-152	12-188	12-118
29/11/07	8/10/07	16-152	3-36	6-23	----
29/11/07	24/10/07	14-105	3-0	12-20	12-0
29/11/07	1/11/07	13-114	17-204	16-167	----
30/11/07	24/10/07	16-58	16-207	12-23	12-5
30/11/07	1/11/07	13-20	17-20	15-66	----
30/11/07	14/11/07	15-71	5-14	12-89	15-189
3/12/07	24/10/07	13-0	16-67	12-165	10-225
3/12/07	14/11/07	13-265	12-78	12-11	13-9
3/12/07	1/11/07	14-183	16-45	13-86	----
4/12/07	24/10/07	13-226	11-75	10-238	9-202
4/12/07	14/11/07	13-83	14-46	12-143	11-147
4/12/07	24/10/07	11-32	16-318	9-137	----
5/12/07	14/11/07	12-73	10-155	10-21	9-0
5/12/07	1/11/07	20-76	13-335	12-34	11-17
5/12/07	24/10/07	20-69	16-39	9-67	----
6/12/07	14/11/07	20-41	10-0	7-26	8-0
6/12/07	1/11/07	20-28	13-37	12-115	7-110
6/12/07	24/10/07	17-206	20-72	7-33	----
10/12/07	01/11/07	20-53	19-84	6-128	----

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL PLOMO Y PLATA EN
LOS VERTIMIENTOS DE UNA INDUSTRIA GALVANICA, MEDIANTE ENSAYOS
TOXICOLÓGICOS SOBRE DAPHNIA MAGNA

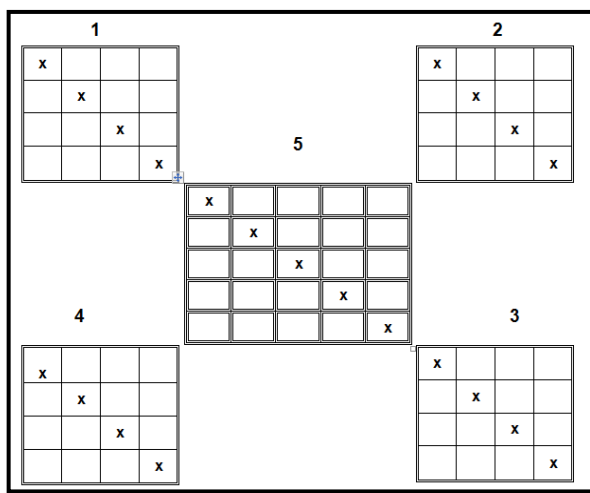
10/12/07	14/11/07	3-157	10-66	-----	----
10/12/07	29/11/07	14-127	20-99	-----	20-56
11/12/07	1/11/07	19-0	9-59	20-63	----
11/12/07	24/10/07	12-93	13-32	6-152	----

ANEXO D

CONTEO DE ALGAS

Después de centrifugar el alimento se diluye una 30ª parte del alimento y se completa con agua destilada, para posteriormente ser leída en el microscopio con la cámara de Neubauer de esta manera.

Ejemplo de conteo de algas:



Después se realiza el conteo de algas por cuadrícula para obtener una suma total y sacar el promedio así:

$$1. 13 + 23 + 22 + 14 = 72 * 4 = 288$$

$$2. 15 + 10 + 16 + 25 = 66 * 4 = 266$$

$$3. 12 + 17 + 19 + 12 = 60 * 4 = 240$$

$$4. 24 + 15 + 17 + 23 = 79 * 4 = 316$$

$$5. 11 + 9 + 13 + 8 + 6 = 47 * 5 = 235$$

$$\text{TOTAL } 1343 / 5 = 268.6$$

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

$$\frac{X \text{ Células}}{1 \times 10^{-4}} = \frac{\text{No Células}}{1 \text{ ml}} \quad \frac{268 \cdot 6}{1 \times 10^{-4}} \approx \frac{x}{1 \text{ ml}} \quad x \approx 2.686 \times 10^6$$

El valor de X se multiplica por la dilución 30 dando así el valor real de células que existe en 1 ml.

$$2.686 \times 10^6 \times 30 \approx 80.58 \times 10^6$$

Se calculó el volumen por día de alimento que necesita cada pecera que contiene 20 *Daphnia Magna* con la siguiente fórmula

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

Donde:

V = Volumen concentrado de algas

A = Número de *Daphnia Magna* por recipiente

B = Dosis recomendada 4.5×10^6 células por *D. Magna*

C = Concentración (número de células/ml) de la suspensión de algas descritas halladas anteriormente

Reemplazando en la ecuación así:

$$V \approx \frac{20 \times 4.5 \times 10^6}{80.58 \times 10^6}$$

$$v \approx 1.116 \text{ ml}$$

Se debe agregar 1.116 ml de algas para cada pecera que contiene 2.0 litros de agua con 20 pulgas de agua *Daphnia Magna*.

ANEXO E

Plano de corte

ANEXO F

Vista en planta

