Determinación de la concentración letal media (CL_{96}^{50}) de Cadmio y Aluminio mediante bioensayos con Trucha arco iris "alevinos de Oncorhynchus Mykiss"

OSCAR JAVIER BERNAL LOPEZ
ANGELA IVETTE GRIJALBA CASTRO

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

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL_{96}^{50}) DE CADMIO Y ALUMINIO MEDIANTE BIOENSAYOS CON TRUCHA ARCO IRIS "ALEVINOS DE ONCORHYNCHUS MYKISS"

OSCAR JAVIER BERNAL LÓPEZ
ANGELA IVETTE GRIJALBA CASTRO

TRABAJO DE GRADO

Director
Químico Industrial. Pedro Miguel Escobar Malaver

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

Nota de aceptación:

_____

_____

_____

_____

_____

_____

Firma del Director de Tesis

_____

Firma del Jurado

_____

Firma del Jurado

Al ángel que siempre me acompaña porque nunca dejo que mi camino se oscureciera y me permite alcanzar las alegrías más grandes e inesperadas.

A mis padres por su apoyo y confianza incondicional, porque sin ellos seria imposible haber alcanzado tanto y poder seguir soñando con un futuro lleno de satisfacciones.

A mi familia porque siempre creyeron en mi y estuvieron ahí para impulsarme a dar un paso mas.

No podría dejar pasar esta ocasión sin agradecerles a todas aquellas personas que hacen parte esencial de mi vida.

A Dios, por darme la oportunidad de de vivir y prestarme la vida para cumplir mis sueños.

A mis padres, por su confianza, apoyo y concejos que me ayudaron a formar y ser lo que gracias a ellos soy hoy.

A mi hermanita, por su paciencia durante todo este camino, las trasnochadas juntas, su alegría y ánimo en cada momento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar sus agradecimientos a:

Al profesor Pedro Miguel Escobar Malaver, Químico Industrial, director del proyecto de grado, por su colaboración, confianza, paciencia y ayuda durante el desarrollo de este proyecto.

Ing. Camilo Hernando Guáqueta Rodríguez, Decano de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, por su apoyo incondicional, entusiasmo y concejos apropiados durante toda la carrera.

Ing. Rosalina Gonzalez, por su colaboración, apoyo y guía durante la realización de este proyecto.

Romualdo Virgües, Gerente General y empleados de la empresa, por su colaboración y ayuda para llevar a cabo nuestra investigación.

Todos los monitores e integrantes del laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, en especial a Oscar Contento por su ayuda, paciencia y colaboración durante este largo camino y estadía en las instalaciones de la universidad.

A los profesores de la Universidad de La Salle, quienes con una disposición generosa, en aras de trasmitir todos los conocimientos y velar por que cada uno de los alumnos aprendiéramos sus enseñanzas, han permitido que muchos profesionales sean ejemplo a seguir en el cuidado y la implementación de ideas para la protección del medio ambiente.

Todos nuestros amigos y a las personas que contribuyeron de una u otra manera en el desarrollo de esta investigación.

CONTENIDO

		pag.
INTRODUCCIÓN	.....	21
1. OBJETIVOS.	.....	23
1.1.OBJETIVO GENERAL.	.....	23
1.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS.	.....	23
2.MARCO TEÓRICO	.....	24
2.1.ECOSISTEMA ACUÁTICO	.....	24
2.1.1.Tipos de ecosistemas acuáticos	.....	24
2.1.2.Clasificación ecológica de los organismos	.....	25
2.2.Trucha arcoíris *(Oncorhynchus Mykiss)*	.....	27
2.2.1.Descripción del animal	.....	28
2.2.2.Reproducción	.....	28
2.2.3.Descripción breve de su comportamiento	.....	29
2.2.4.Tipo de ecosistema donde se encuentra	.....	29
2.2.4.1. Mecanismos de adaptación	.....	29
2.3.TOXICOLOGÍA	.....	30
2.3.1.Toxicología ambiental	.....	31
2.4. ECOTOXICOLOGÍA AMBIENTAL	.....	31
2.5. EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS	.....	33
2.5.1.Sustancia ecotóxica	.....	33
2.5.2.Vías de ingreso de los tóxicos al organismo	.....	35
2.5.3.Contaminación	.....	36
2.5.4.Efecto tóxico en los organismos	.....	37

pag.

2.5.4.1.Magnitud de la exposición a sustancias tóxicas 37
2.5.4.2.Nocividad, toxicidad y ecotoxicidad 38
2.5.4.3.Exposición del agente toxico 40
2.5.4.4.Exposición aguda y crónica 40
2.6.MARCADORES BIOLÓGICOS 41
2.6.1.Marcadores biológicos de la exposición de los organismos 41
2.6.2.Marcadores biológicos de efecto 42
2.6.3.Marcadores biológicos de susceptibilidad 42
2.7.PRUEBAS DE TOXICIDAD 43
2.7.1.Criterios generales de selección de organismos para pruebas de toxicidad 45
2.7.2.Factores involucrados en la toxicidad de una 51
2.8. MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE TOXICIDAD 51
2.8.1.Determinación de relación concentración-respuesta tipo mortalidad 56
2.8.1.1.Principio del modelo matemático 57
2.8.1.2.Método de litchfield- wilcoxon 58
2.8.1.3.Método de spearman-karber 59
2.8.1.4.Método gráfico 59
2.9.METALES PESADOS 60
2.9.1.Aluminio 60
2.9.1.1.Toxicidad 61
2.9.1.2.Efectos del aluminio sobre la salud 62
2.9.1.3.Efectos ambientales del aluminio 63
2.9.1.4.¿Cómo puede ocurrir la exposición al aluminio? 64
2.9.1.5.Recomendaciones ha hecho el gobierno federal para proteger la salud pública 64
2.9.2.Cadmio 65
2.9.2.1.Efectos en la salud 66
2.9.2.2.Efectos ambientales del Cadmio 66
2.9.2.3.Toxicidad del cadmio 68

pag.

2.10.INDUSTRIA GALVANICA. 71

2.10.1.Galvanoplastia. 71

2.10.1.1.Desengrase. 73

2.10.1.2.Decapado 74

2.10.1.3.Activado 74

2.10.2.Sensibilización y activación de la superficie. 74

2.10.2.1.Post-Nucleación. 75

2.10.2.2.Pre-Metalizado. 75

2.10.2.3.Metalizado. 75

2.10.2.4. Galvanostegia 75

2.10.2.5.Talleres de pulido y brillo. 76

3.INDUSTRIA EVALUADA 81

3.1.MATERIA PRIMA 82

3.2.PROCESO DE RECUBRIMIENTO 82

3.3.EQUIPOS UTILIZADOS 83

4. MARCO LEGAL 84

4.1. DECRETO 1594 DEL 26 DE JUNIO DE 1984 84

4.2 RESOLUCION 1074 DE 1997 86

5.METODOLOGÍA 87

5.1.DISEÑO EXPERIMENTAL 87

5.1.1. EQUIPOS 88

5.1.2. REACTIVOS 89

5.2. LAVADO DE MATERIALES 89

5.3.ORGANISMO-PRUEBA 89

5.4. PRUEBA DE SENSIBILIDAD 89

5.5. PRUEBA TOXICOLOGICA 89

5.6. MANTENIMIENTO DE LOS PECES EN EL LABORATORIO 92

5.6.1.Preparación del agua 92

5.6.2.Aclimatación de los organismos prueba 93

5.6.3.Alimentación 94

5.6.4.Mantenimiento de los peces en su proceso de aclimatación 94

pag

5.7.OBTENCIÓN DE RESULTADOS. 95

5.6.1. Obtención de la carga tóxica e índice toxicológico 95

5.6.2. Análisis de varianza para las pruebas toxicológicas. 97

5.6.3. Comparación de los resultados. 98

5.7. ANÁLISIS DE RESULTADOS 99

5.7.1.Ensayos de sensibilidad con dicromato de potasio (K2Cr2O7). 99

5.7.2. Análisis de varianza de las pruebas definitivas de sensibilidad de dicromato de potasio (K2Cr2O7). 104

5.7.3.Ensayos con la sustancia pura de cadmio a partir del cloruro de cadmio (CdCl2) 105

5.7.4. Análisis de varianza de la prueba definitiva con cadmio 107

5.7.5. Ensayos con la sustancia pura de aluminio a partir del sulfato de aluminio Al2(SO4)3. 107

5.7.6. Análisis de varianza de las pruebas definitivas con aluminio. 109

5.7.7. Ensayos definitivos con el vertimiento de CADMIO y ALUMINIO, y obtención de la concentración letal media cl50-96 109

5.7.8. Análisis de varianza de las pruebas definitivas del vertimiento sin tratamiento. 111

5.7.9 Ensayos con el vertimiento tratado. 112

5.7.10. Análisis de varianza del vertimiento de tratado. 114

5.8. Obtención carga tóxica e índice toxicológico de la muestra de sin tratamiento. 114

5.9. COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON OTRAS PRUEBAS DE TOXICIDAD REALIZADOS EN EL EXTERIOR Y EN COLOMBIA. 116

6.DISEÑO DEL HUMEDAL SUBSUPERFICIAL 118

6.1. FUNCIONES DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES 120

6.2. TIPOS DE FITORREMEDIACIÓN, EN DONDE SE INDICA LA ZONA DE LA PLANTA EN DONDE OCURRE EL PROCESO. 122

6.3.JUNCO *(Scirpus californicus)* 123

6.4. CALCULO DE UNIDAD PILOTO HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL 124

6.5. CONSTRUCCIÓN DE UNIDAD PILOTO 126

6.6. ANÁLISIS METALES PESADOS 129

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Organismos Utilizados como especies de pruebas en bioensayos…….47
Tabla 2. Parámetros y rangos ecotoxicológicos necesarios para la evaluación del riesgo ambiental producido por las sustancias. EPA……..…48
Tabla 3**.** Clasificación toxicológica de las sustancias, según la CL 50 en peces…48
Tabla 4. Clasificación de las sustancias de acuerdo al kow……..….52
Tabla 5. La clasificación de las sustancias de acuerdo al log kow. Epa-2001……..53
Tabla 6. Los criterios de calidad admisibles de cadmio y aluminio……..80
Tabla 7. Estándares establecidos vertimiento de residuos líquidos a la red de alcantarillado público…….82
Tabla 6. Tratamientos para erradicar o prevenir futuras enfermedades…….87
Tabla 7. Rangos de índices toxicológicos……90
Tabla 8. Carta de control de sensibilidad con dicromato de potasio……..93
Tabla 9: F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de sensibilidad Dicromato de Potasio……...96
Tabla 10. Carta de control del cadmio (Cd)……..…….97
Tabla 11. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de cadmio…….99
Tabla 12. Tabla de control para el aluminio……100
Tabla 13. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de aluminio……..…101
Tabla 14. Concentraciones preliminares del vertimiento sin tratamiento……...103
Tabla 15. Tabla de control del vertimiento sin tratar……103
Tabla 16. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva con el vertimiento sin tratar……...104
Tabla 17. Prueba definitiva con el vertimiento de tratado……105
Tabla 18. Tabla de control del vertimiento de tratado……106
Tabla 19. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva con el vertimiento tratado.107
Tabla . Procesos utilizados por las plantas para asimilar contaminantes……..92

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Representación grafica de un sistema acuático……..23
Figura 2. Vías de ingreso de los tóxicos al organismo……...31
Figura 3. Factores involucrados en la toxicidad de una sustancia**……..**47
Figura 4. Determinación de cl_{50} para pruebas de toxicidad aguda con múltiples concentraciones (epa, 1994)……52
Figura 5. Traslado de iones metálicos desde un ánodo a un cátodo……68
Figura 6. Molde de las piezas de galvanotecnia……69
Figura 7. Diagrama de flujo de las etapas de taller de pulido y brillo en galvanoestegia……73
Figura 8. Diagrama de flujo de las etapas de taller de acabado en galvanoestegia……75
Figura 9. Montaje para la prueba……82
Figura 10. Ejecución de la prueba toxicológica……83
Figura 11. Aclimatación de los organismos prueba……..85
Figura 12: metodología para la determinación de la concentración letal media.87
Figura 13. Procesos de incorporación de sustancias contaminantes……..91
Figura 14. Montaje de la prueba de toxicidad con Dicromato de Potasio…….93

LISTA DE GRAFICAS

Pág.

Gráfica 1. Relación de Dosis – Respuesta…….46

Gráfica 2: CL50-96 Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$).....95

Gráfica 3: (CL_{96}^{50}) cadmio……...98

Grafica 7. Índice de toxicidad en el vertimiento de la industria……..…109

GLOSARIO

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

Agudo: que ocurre dentro de un periodo cortó (minutos, horas o algunos días) en relación con el periodo de vida del organismo de ensayo.

Bioensayos: herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser muerte, inhibición del crecimiento, cambios morfológicos y fisiológicos.

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

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

Concentración: cantidad de sustancia aplicada al medio.

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

Concentración letal (CL50): es la concentración de tóxico estimada que produce la muerte de una proporción específica de los organismos de prueba. Se define como la concentración letal media (CL_{50}), que corresponde a la concentración que mata al 50% de los organismos expuestos en un determinado periodo de tiempo.

Contaminante: 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.

Convención de ramsar: acuerdo internacional sobre la conservación y el uso racional de *los* humedales como hábitat de aves acuáticas, fue aprobado el 2 de febrero de 1971 en la ciudad Iraní de Ramsar y entró en vigor cuatro años después.

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

Dosis Letal Media (DL_{50}): es la dosis única que, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte del 50% de los animales a los que se haya administrado. El valor de la DL_{50} se expresa en peso de la sustancia por unidad de peso del animal (miligramos por kilo, mg/kg).

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

Ensayo de toxicidad: determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantal) o el grado de efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra.

Fitorremediación: es el conjunto de métodos para degradar asimilar, metabolizar o destoxificar metales pesados, compuestos orgánicos, radiactivos y petroderivados, por medio de la utilización de plantas que tengan la capacidad fisiológica y bioquímica para absorber, retener y degradar transformar dichas sustancias en formas menos toxicas.

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

Humedal: Los humedales son áreas que se encuentran saturadas por aguas superficiales o subterráneas con una frecuencia y duración tales, que sean suficientes para mantener condiciones saturadas. Suelen tener aguas con profundidades inferiores a 60 cm con plantas emergentes como espadañas, carrizos y juncos . La vegetación proporciona superficies para la formación de películas bacterianas, facilita la filtración y la adsorción de los constituyentes del agua residual, permite la transferencia de oxígeno a la columna de agua y controla el crecimiento de algas al limitar la penetración de luz solar.

Humedales artificiales: son una técnica que permite realizar tratamientos depurativos a efluentes tanto de origen domestico como industrial, a través de plantas típicas de humedal.

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

Macrófitas acuáticas: plantas herbáceas, de origen acuático.

Objetivo de la prueba: control de calidad de efluentes, evaluación de compuestos específicos, toxicidad relativa, sensibilidad, etcétera.

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

Rizoma: metamorfismo perteneciente al tallo debido a la adaptación a la vida subterránea. Tallo subterráneo que vive fuera de la zona de luz y carece de hojas pero posee yemas con vástagos folíferos y floríferos, también suele producir raíces por su condición mecánica de sostener a la planta por falta de hojas. Tallo que crece en paralelo al medio de soporte. Tallo horizontal y subterráneo.

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

Toxicidad: Es la capacidad de una sustancia de ejercer un efecto nocivo sobre los organismos o la biocenosis y el efecto generado dependerá de la duración y la frecuencia de exposición al tóxico. Las pruebas de toxicidad pueden ser de tipo agudo o crónico.

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

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**.**

Xenobióticos: 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.

ABSTRACT

Today, the world depends on chemical products that let facilitate the productive processes in the industry; it is obvious that every time, the number of substances required extracting and concentrating from natural materials or synthesis processes are higher. This takes to the most of these products are dangerous, therefore, it is important to evaluate the health risks that can affect us directly or indirectly because of its use, besides, the discharge of these dangerous discharge into the environment, intentional or not, can generate serious consequences to the community.

However in developed countries, it has given special importance to this fact starting from conventional methodologies for control and monitoring of natural waters and effluents for that which they are carried out toxicity tests like fundamental element inside the definition of the risk or the potential damages for the health. The use of biological or toxicity tests allows evaluating the grade of affectation that a chemical substance has in active organisms and these can be sharp or chronic.

In this way, the statute 1594 (Min Salud, 1984), it defines the toxicity concept, sharp and chronic toxicity, and aquatic biological test. Whose value will be established by means of toxicity tests for control agencies and in the resolution 1074 of the 28 of 1.997 sent by the Departamento Administrativo Del Medio Ambiente (DAMA); environmental standards settle down as regards discharge, which become necessary to prevent, control and mitigate the environmental impacts to the natural resources in the DC.

It is hence that it is responsibility of the industries to carry out a previous treatment to their discharge to fulfill the normatively to which you/they are forced the same as to implement programs that allow to minimize the presence of these dangerous residuals in this discharge, and this way to diminish in great measure the impacts that it will generate in the receiving ecosystems.

INTRODUCCIÓN

El mundo actual depende de productos químicos que permiten facilitar los procesos productivos de la industria, es evidente que cada vez el número de sustancias es necesario extraer y concentrar de materiales naturales o de procesos de síntesis es mayor. Que conlleva a que la mayoría de estos productos son peligrosos, por lo tanto, es importante evaluar los riesgos para la salud que directa o indirectamente se generan por su uso, además la descarga de estos vertimientos peligrosos al medio ambiente, intencional o no, generan consecuencias graves a la comunidad.

Sin embargo en países desarrollados se ha dado especial importancia a este hecho a partir de metodologías convencionales para el control y monitoreo de aguas naturales y efluentes para lo cual se realizan pruebas de toxicidad como elemento fundamental dentro de la definición del riesgo o los daños potenciales para la salud. La aplicación de bioensayos o prueba de toxicidad permite evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene en organismos vivos y éstos pueden ser agudos o crónicos.

El decreto 1594 (Min Salud, 1984), define los conceptos de toxicidad, toxicidad aguda y crónica, y bioensayo acuático. Cuyo valor deberá ser establecido mediante pruebas de toxicidad por las agencias de control y en la resolución 1074 del 28 de 1.997 expedida por el Departamento Administrativo del Medio Ambiente (DAMA), se establecen estándares ambientales en materia de vertimientos, los cuales se hacen necesarios para prevenir, controlar y mitigar los impactos ambientales a los recursos naturales en el Distrito Capital.

Es por ello que es responsabilidad de las industrias realizar un tratamiento previo a sus vertimientos para cumplir con la normatividad a la que están obligados al igual que implementar programas que permitan minimizar la presencia de estos

residuos peligrosos en dichos vertimientos, y así disminuir en gran medida los impactos que generará en los ecosistemas receptores.

Se determinó la concentración letal media del cadmio y aluminio en la Trucha Arcoiris (alevinos de Oncorhynchus Mykiss), mediante una prueba de toxicidad aguda realizada en bioensayos estáticos a 96 horas (CL50-96h). Se evaluaron los principales efectos del contaminante sobre la estructura de estos organismos acuáticos a corto plazo y en los parámetros hematológicos. Para tal fin se utilizaron alevines de alevinos de Trucha Arcoiris, con un promedio de longitud estándar de 3.5 cm. La concentración letal media del cadmio y aluminio para la trucha arcoíris 3,316 mg/lt y 0,225 mg /lt respectivamente en 96 h y se observaron los siguientes biomarcadores externos: Nado letárgico en la superficie, exoftalmia, hipersecreción mucosa, opacidad de la córnea, cambios en la pigmentación de la piel, asfixia, hemorragia en los ojos y opérculo, deshilachamiento de las aletas y acumulación de líquido en la cavidad abdominal. A partir de ello se diseño un humedal artificial de flujo subsuperficial con el fin de remover estas concentraciones obteniendo una remoción del 98%.

1. OBJETIVOS.

1.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar la concentración letal media de Cadmio y Aluminio mediante bioensayos con alevinos de trucha arco iris "*Oncorhynchus Mykiss*"

1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Determinar la $CL_{50\text{-}96}$ de Cadmio y Aluminio a nivel experimental.
- Identificar la alteración en el organismo afectado y su influencia en la cadena trófica con base a diferentes concentraciones de Cd y Al.
- Determinar la $CL_{50\text{-}96}$ del vertimiento de NICROZINC LTDA en la que se corrobore la presencia del Cadmio y Aluminio.
- Diseñar un tratamiento piloto para la remoción de Cadmio y Aluminio para la empresa NICROZINC LTDA.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ECOSISTEMA ACUÁTICO

Un ecosistema acuático consiste en plantas y animales que actúan recíprocamente con la sustancia química y los rasgos físicos de un ambiente acuoso del charco más pequeño al océano mundial. Y, mientras las condiciones en un charco efímero se diferencian bastante de aquellos en las profundidades del océano, hay muchos puntos de semejanza impuesta sobre las comunidades que habitan tales ambientes por las propiedades únicas del agua. Las formas de vida se han adaptado a estos extremos ambientales y al intermedio de medios acuáticos disponibles sobre la Tierra.

2.1.1. Tipos de ecosistemas acuáticos

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

1. *Ecosistema léntico:* es de agua quieta o de escaso caudal como en los lagos, estanques, pantanos y embalses.

2. *Ecosistema lótico (latín Lotus):* participio de lavere, lavar): sistema de agua corriente como en los ríos, arroyos y manantiales.

3. *Ecosistema de humedal:* áreas donde el suelo está saturado de agua o inundado por una parte del año.

2.1.2. Clasificación ecológica de los organismos acuáticos.

- *El bentos* se fija en el fondo, como las plantas a través de sus raíces, los mejillones con filamentos pegajosos, las estrellas de mar utilizando sus pequeños pies, los corales y las anémonas que lo hacen con un disco basal. En éste grupo también podemos encontrar los que se arrastran como los tiburones y rayas, caracoles con un pie musculoso y los lenguados.

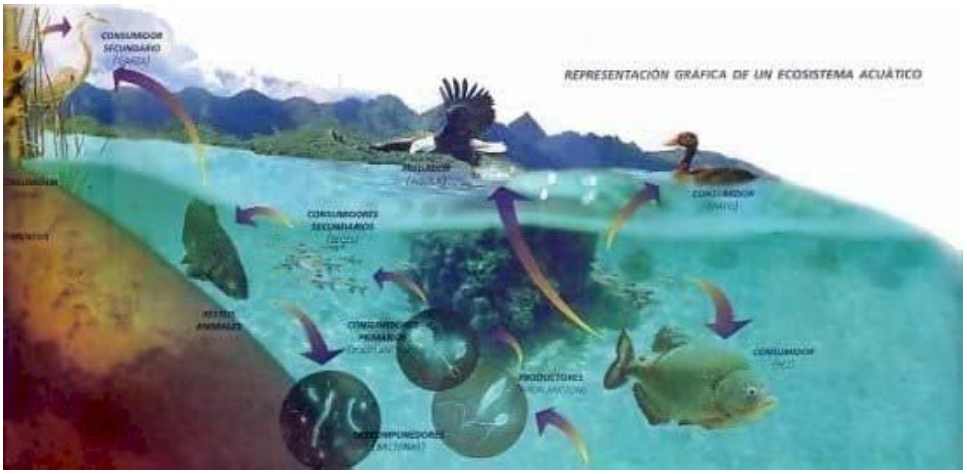
- *El plancton* es un grupo que se caracteriza por su diminuto tamaño, viven arrastrados por la corriente o suspendidos. Este se divide en dos subgrupos muy diferenciados: el fitoplancton y el zooplancton. El fitoplancton, o plancton vegetal puede fabricar su propio alimento obteniendo la energía de la luz solar. Sirve de alimento al zooplancton o plancton animal que a su vez juntos son alimento de otros seres de mayor tamaño. Algunas de las especies que integran este último subgrupo son las medusas que tienen forma de paraguas, el kril con prolongaciones ramificadas, los protozoos que tienen látigos llamados flagelos y los copépodos apéndices.

- *El necton* es otro grupo importante que tiene como característica desplazarse por sus propios medios superando la resistencia del agua. Estos organismos también tienen estructuras especiales como los peces que tienen aleta anal, caudal, pectoral y pélvica que les permiten desplazarse con agilidad, también tienen opérculos para proteger las branquias, una vejiga natatoria para reducir su peso y un cuerpo aplanado. Los tiburones y las rayas también pertenecen a éste grupo, ellos tienen a diferencia de los peces reservas de aceite en el hígado y un esqueleto cartilaginoso que le sirve para alivianar su cuerpo.

Estos seres vivos también desarrollaron importantes estructuras para respirar en el medio acuático. Las branquias (respiración branquial) son utilizadas por los peces, los calamares, los cangrejos, los mejillones, las estrellas de mar y los renacuajos entre otros obteniendo el oxígeno del agua. Las branquias son delgadas láminas rojas, coloración que obtienen debido a los vasos sanguíneos que las cubren, el agua circula por entre las láminas las cuales filtran el oxígeno de la misma ingresando a la sangre y así al cuerpo del animal. Otra forma de obtener el oxígeno en éste ambiente es a través del cuerpo (respiración tegumentaria) como lo hacen algunas lombrices de agua, insectos acuáticos, larvas, etc.

- *Seston* es la mezcla heterogénea de organismos vivientes y no vivientes que flotan sobre las aguas.
- *Perifiton* organismos vegetales y animales que se adhieren a los tallos y hojas de plantas con raíces fijas en los fondos.[1]

FIGURA 1. Representación Grafica de un Sistema Acuático



En un ecosistema acuático la biodiversidad, o número de especies vegetales y animales que habitan en él, es menor que en uno terrestre. La base nutritiva está en el fitoplancton y en el zooplancton. La escala va en ascenso desde los peces y batracios hasta las aves acuáticas como el pato, y aéreas como el águila. Fuente: http://www.hiru.com

[1]. MARCANO, José E. Educación Ambiental, Elemento de ecología; Ecología de las aguas dulces 2°,1999

2.2. TRUCHA ARCOÍRIS (Oncorhynchus Mykiss)

2.2.1. Descripción del animal

Es un pez de color gris con franja verde, roja o azul en medio de su cuerpo, el cual está cubierto de escamas delgadas plateadas que con el agua y el sol dan origen a su nombre: "arcoíris".

También los hay blancos a los que se les llama albinos, o de color rosado que se conocen como salmonada.

FUENTE: LOS AUTORES,2008

TRUCHA ARCOIRIS

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA	
Reino:	Animal
Filo:	Chordata
Clase:	Actinopterygii
Orden:	Salmoniformes
Familia:	Salmonidae
Genero:	Oncorhynchus
Especie:	O. Mykiss

NOMBRE BINOMINAL
Oncorhynchus Mykiss

En granjas pueden llegar a alcanzar un tamaño promedio de 40 a 60 cm. Aunque algunas son un poco más grandes y su peso puede ser de 300 a 400 gr., las hay hasta de 2 kg. Y tienen un promedio de vida 1 a 3 años.

La trucha arcoíris que vive en río o arroyo, puede llegar a medir de 50 a 90 cm. de largo, adquirir un peso hasta de 15 kg. Y alcanzar un promedio de vida de 5 años.

Es un pez hábil, fuerte e inteligente, su carne tiene un alto valor nutritivo, es muy higiénica ya que no puede vivir en aguas contaminadas y con falta de oxígeno.

Su carne es de muy buena calidad, es de color blanca o rosada, pero al momento de ser sacrificadas adquieren coloraciones obscuras; es baja en calorías y tiene un alto contenido proteínico, por lo que disminuye riesgos en pacientes que presentan enfermedades cardiovasculares.

2.2.2 Tipo de alimentación

Cuando la trucha es criada en granjas, se les proporciona un alimento que se llama "pellet", el cual está compuesto por harina de pescado y se les da 1, 2, o 3 veces al día. Cuando cumplen 5 ó 6 meses se alimentan moderadamente, para que cuando los vendan no sean tan grandes ni tan gordos. Este alimento procesado garantiza nutrientes e higiene en la cría de la trucha.

Las truchas que viven en los ríos, arroyos y lagunas que nacen de las montañas, se comen unas a otras, siendo las víctimas los más pequeños que existen en el medio.

También son predadores según su tamaño, sobre larvas de insectos, crustáceos y moluscos de agua dulce. Se puede decir entonces que la trucha es un pez carnívoro.

2.2.3. Reproducción

Para la reproducción de la trucha se desovan las hembras que pueden producir de 2500 a 5000 huevecillos, éstos se depositan en las incubadoras donde después son regados por el semen del macho. Ahí permanecen hasta que tienen un mes, durante el cual crecen y se desarrollan a un tamaño aproximado de 2 a 3 cm. A estas pequeñas larvas se les llama alevines.

En la granja se pueden reproducir en cualquier época del año.

La trucha de río se reproduce a finales del invierno e inicios de la primavera, durante los meses de enero a marzo, desovando en torrentes poco profundos, de

fondo gravoso y aguas claras, en los que la hembra excava nidos característicos. El crecimiento es rápido y depende de la temperatura de las aguas y del alimento disponible.

La trucha que es criada en granja tiene un promedio de vida de 2 a 3 años. La trucha de arroyo puede llegar a vivir hasta 5 años.

2.2.4. Descripción breve de su comportamiento

Por naturaleza, es un animal que se encuentra en constante movimiento dentro del agua. Cuando el agua queda estancada y no corre o llega a estar sucia, se notan intranquilas y saltan constantemente, lo que les puede ocasionar rozaduras en el cuerpo y maltratar su carne.

En su medio natural las truchas se desarrollan en pequeños lagos cristalinos, y una vez llegada su edad reproductiva remontan los riachuelos en contracorriente hasta que logran arribar a pequeños remansos de paz propicios para colocar sus huevos, y después morir, aportando al río los nutrientes de su cuerpo.

2.2.5. Tipo de ecosistema donde se encuentra

Viven en estanques o arroyos que se construyen o forman en aguas corredizas que provienen de manantiales y que nacen en regiones de bosque templado.

2.2.5.1. Mecanismos de adaptación

Estos seres tienen una gran capacidad de adaptación, de ahí que puedan soportar temperaturas frías o templadas.

Las truchas no pueden pasar mucho tiempo sin estar en agua limpia, oxigenada y corriente, y quizá esa sea una de las causas de su extraordinario poder alimenticio: es imposible encontrar en ellas toxinas o contaminantes, ya que se desarrollan sólo en aguas frescas de manantial; inclusive cuando alguna

sustancia extraña se agrega al agua, por ejemplo pesticidas, simplemente la trucha muere.[2]

2.3. TOXICOLOGÍA

La toxicología es el estudio de los contaminantes tóxicos o, en una definición más precisa, la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones. En la toxicología es fundamental conocer el potencial tóxico de la sustancia que esté generando el efecto adverso, para poder evaluar el peligro que representa. El efecto tóxico es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico[3]

Dosis letal (DL) es la cantidad de la sustancia toxica que causa la muerte a la totalidad de la población expuesta.

La dosis letal cincuenta (DL) 50 es la cantidad del tóxico que al ser administrada una sola vez, en un determinado tiempo produce una mortalidad del 50% de los organismos que son expuestos, ésta es expresada en miligramo de la sustancia por Kilogramo del animal (ml/Kg).

[2] Colaboradores de Wikipedia. *Oncorhynchus mykiss* [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2008 [fecha de consulta: 13 de junio del 2008]. Disponible en <http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Oncorhynchus_mykiss=>.
[3] CAMPO MARTI, Miguel. Principios de ecotoxicología. Diagnostico tratamiento y gestión del medio ambiente. Mc graw Hill. Interamericana de España. Barcelona; 2002. p 2

2.3.1. Toxicología ambiental

El objetivo principal de la toxicología ambiental es el conocimiento de los efectos nocivos que sobre la salud humana y el medio ambiente pueden producir los contaminantes ambientales, ya que las enfermedades son la respuesta del individuo a su ambiente y la estructura de estas es un reflejo de las condiciones ambientales de su entorno.

Nunca los seres vivientes habían estado en contacto con tantos tóxicos como en esta era industrial, atómica y mecanizada, y, por tanto, la toxicología ha desplazado a los tóxicos clásicos como el arsénico, cianuro, estricnina y otros, para dar paso a los nuevos tóxicos, como son los contaminantes del medio ambiente.

Otro aspecto a tener en cuenta es que la actividad antrópica, bien sea directamente por la acción tóxica de los xenobióticos, o bien indirectamente, a través de la influencia sobre los factores climáticos, puede incidir en la evolución y emergencia de enfermedades originadas por agentes infecciosos. Así por ejemplo, las alteraciones ambientales suelen tener un fuerte impacto (inmunodepresión) sobre los organismos que actúan de vectores o son reservorios de estos agentes, y pueden contribuir a la aparición de nuevas enfermedades en una región determinada, o bien la emergencia de zoonosis que se consideraban erradicadas.[4]

2.4. ECOTOXICOLOGÍA AMBIENTAL

La *ecotoxicología* es definida como la *ciencia que estudia la contaminación, su origen, evolución e interacciones con las moléculas que integran dinámicamente los ecosistemas, su evaluación y profilaxis biológica y socioeconómica.*

[4] Unidad de Toxicología Experimental y Ecotoxicología (UTOX-PCB), Barcelona

En relación con la contaminación ambiental podemos diferenciar entre:

1. La contaminación con consecuencias *humano-toxicológicas*,
2. La contaminación que afecta la *biósfera* y por tanto altera el equilibrio biológico.
3. La contaminación que afecta *la apariencia* o paisaje de nuestro medio ambiente.

También podemos diferenciar entre la contaminación *química*, debida a la acción química de sustancias contaminantes que afectan el medio ambiente, y la contaminación *física*, bajo la cual se pueden incluir los agentes de naturaleza física que igualmente producen equilibrio ambiental como los materiales biológicamente inertes (plásticos), el calor, el ruido y la radiactividad, entre otros.

Al hablar de los contaminantes ambientales se puede afirmar que todos ellos tienen la capacidad de causar el efecto toxico cuando la dosis llega a cierto nivel. Esto indica la existencia para cada contaminante de un *nivel sin efecto*, es decir, que no produce efectos adversos, conocido con la sigla de *NOEL (no effect level)*, y otro nivel que produce efectos adversos, llamado *nivel tóxico.* Así, por ejemplo, el agua si se toma en exceso producirá una intoxicación hídrica mortal. Estos dos niveles de dosis posibilitan conocer los *niveles permisibles*, es decir, aquellas concentraciones que no producen efectos tóxicos por exposición a contaminantes durante toda la vida de un individuo.

Las *concentraciones máximas permisibles o admisibles (MAC)*, son las máximas concentraciones de los contaminantes que no deben ser sobrepasadas en ningún momento.

2.5. EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS

La ecotoxicología se vale de dos herramientas básicas para realizar sus investigaciones: el monitoreo ambiental y el monitoreo biológico.

El monitoreo ambiental permite establecer las formas mediante las cuales se liberan los compuestos y determinar cuál es su destino en ambiente. Es un procedimiento para detectar la presencia y cuantificar las concentraciones de los contaminantes en los diferentes compartimentos, incluyendo al aire, agua, suelo y sedimentos. Un buen monitoreo ambiental debe considerar un muestreo representativo, técnicas adecuadas para la colecta y preservación de las muestras, así como métodos apropiados de extracción y análisis, siguiendo prácticas estandarizadas en el laboratorio.

En este tipo de ensayos la población en estudio es aislada de las interacciones con otros organismos, compuestos y factores ambientales, es decir, se utiliza un sistema simplificado que permite conocer con mayor facilidad los efectos atribuibles a una sustancia. Sin embargo, no es sencillo extrapolar los resultados obtenidos a las condiciones que se presentan en la naturaleza.[5]

2.5.1. Sustancia ecotóxica

Es aquélla que al ser liberada en el ambiente produce un impacto ambiental significativo de naturaleza reversible o irreversible, debido a procesos de toxicidad, bioacumulación, persistencia y residualidad.

En el momento se afirma que la salud humana depende del papel que juega la herencia y el medio ambiente, de allí la importancia del estudio e investigación de la contaminación ambiental en los últimos 30 años. Cada día aumentan las evidencias de sus repercusiones tan serias en la salud. Aunque los fenómenos de contaminación son tan antiguos como el planeta, la industrialización, que en los

[5] VALLEJO ROSERO. María del Carmen. Toxicología Ambiental. Fondo Nacional Universitario. Santafé de Bogotá. 1997. P15
CAMPO MARTI, Miguel. Principios de ecotoxicología. Diagnostico tratamiento y gestión del medio ambiente. Mcgraw Hill. Interamericana de España. Barcelona; 2002. p 2

últimos siglos se ha desarrollado en forma notable, causando el desplazamiento y la concentración de ciertas sustancias naturales y la proliferación de otras nuevas, así la contaminación ambiental en la época contemporánea se caracteriza por el desplazamiento, la concentración, el proceso y la emisión a las diferentes partes del ecosistema, tanto de sustancias naturales como sintéticas.

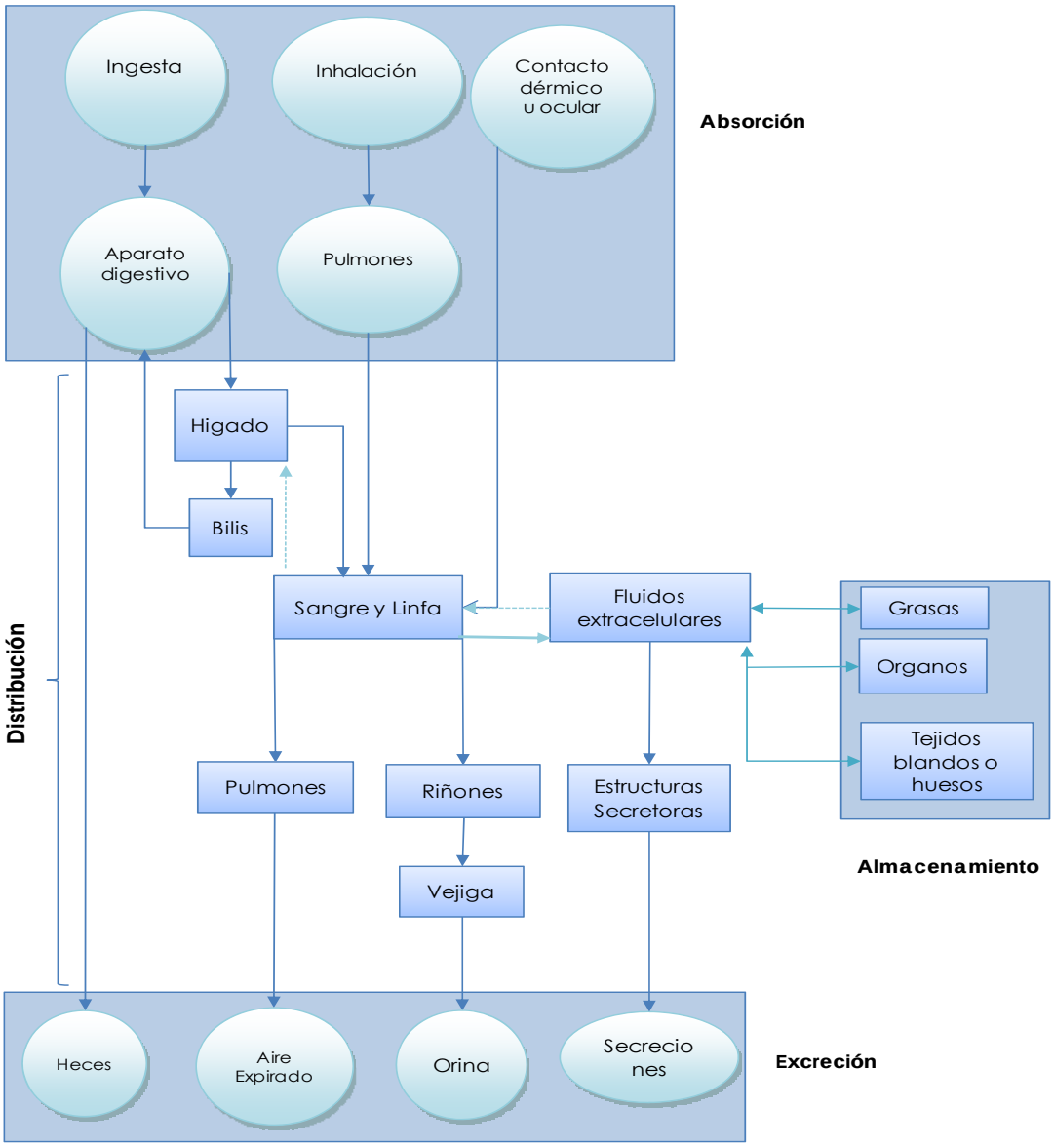
De esta experiencia queda la enseñanza de que todo médico debe tener un conocimiento claro de las relaciones entre contaminación y enfermedad, pues de esta manera podría explicarse la etiología de muchos cuadros clínicos.

2.5.2. Vías de ingreso de los tóxicos al organismo

La sustancia tóxica puede ingresar al organismo, siguiendo una vía de exposición. La cantidad de tóxico que ingresa en la sangre en un tiempo dado depende de la vía de ingreso.

Las principales vías de ingreso de los tóxicos son las siguientes:

FIGURA 2. VIAS DE INGRESO DE LOS TOXICOS AL ORGANISMO



Fuente. Toxicología Ambiental.2006

La vía respiratoria es la vía de ingreso más rápida que tiene el organismo y por ello los efectos de la sustancias inhalables son inmediatos.

2.5.3. Contaminación

La contaminación se puede definir como la presencia o el exceso en la cantidad de una sustancia dentro de un determinado medio con consecuencias nocivas. Así, en el agua potable se encuentran ciertos compuestos en pequeñas cantidades, sin que por esto se diga que el agua está contaminada; cuando su concentración sobrepasa una cierta medida, con un posible riesgo, se habla de contaminación. Así, la contaminación es un fenómeno relativo, que depende de muchas variables, tales como el grado de nocividad implícita, las cantidades de la instancia contaminante presente en un medio determinado, etc.
Para establecer una tipología de las normas de contaminación, es útil considerar los diversos comportamientos del ecosistema como medios susceptibles de ser afectados, el aire, el agua, el suelo y la biota, incluido el hombre.

El ser humano absorbe los contaminantes macroambientales a través del aire, del agua y le los alimentos. Además, la cultura moderna ha creado otra serie de contaminantes del organismo, denominados microambientales, entre los que se encuentran el humo del tabaco, las drogas, los aditivos alimentarios. Cuando estos compuestos están en el interior del organismo se pueden acumular en algún tejido por largo tiempo o pueden ser metabolizados y eliminados velozmente. Tanto los que se acumulan como los que se eliminan con rapidez pueden producir efectos tóxicos. Es posible afirmar que, a través del tiempo, el organismo humano cada vez está más contaminado. Además de los contaminantes macro y microambientales, es preciso mencionar la importancia que el sitio de trabajo tiene como factor de la contaminación.

2.5.4. Efecto toxico en los organismos

El efecto tóxico es la reacción o la respuesta de un organismo después de la exposición al agente tóxico. Dicho efecto depende ante todo de la toxicidad de la sustancia, la vía de ingreso al organismo, la dosis y la toxicocinética (velocidad de absorción, distribución, metabolismo y eliminación), y otros factores ambientales (temperatura, humedad, hora, stress).

Hoy se entiende el estado de salud como un perfecto equilibrio dinámico entre el hombre y su ambiente. La evaluación de los efectos que la contaminación puede tener sobre a salud humana suele ser difícil, pues se requiere de métodos toxicológicos y epidemiológicos relativamente complicados y no siempre disponibles. Estos efectos pueden tener manifestaciones variables de tipo agudo, crónico o a largo plazo. De gran interés actual son los efectos al largo plazo como la mutagénesis, la teratogénesis y la carcinogénesis.

2.5.4.1. Magnitud de la exposición a sustancias tóxicas

Exposición es el contacto de una población, un individuo o un componente ambiental con un agente tóxico. Cuando una persona entra en contacto con una sustancia tóxica se dice que está expuesta.

La exposición a sustancias tóxicas puede ser de mayor o menor grado dependiendo de su magnitud; En la magnitud de la exposición hay involucrados varios factores, entre los principales están:

- Concentración del agente tóxico en el medio de exposición.
- Duración y frecuencia de la exposición
- Características de la población expuesta (edad, estado de salud, nutrición)

La magnitud de la exposición depende en gran parte de la concentración del agente tóxico en el medio de exposición, se determina midiendo o estimando la

cantidad (concentración) del agente que está presente en el medio de contacto. Igualmente depende de la duración del contacto y del mecanismo por el que ingresa en el cuerpo el tóxico, y en parte de la cantidad de sustancia tóxica que puede eliminar el organismo durante ese tiempo.

La exposición puede ser única o producirse de manera repetida. Por exposición aguda se entiende un simple contacto que dura segundos, minutos u horas, o bien una, sucesión de exposiciones durante un día como máximo.

Por exposición crónica se entiende un contacto que dura días, meses o años. Puede ser continua o estar interrumpida por intervalos en los que no se produce ese contacto. La exposición que sólo se produce en el trabajo, por ejemplo, no es continua.

La exposición crónica a pequeñas cantidades de una sustancia tóxica puede no dar al principio ningún síntoma o signo de intoxicación. A veces pasan muchos días o meses antes de que el cuerpo albergue suficiente cantidad de sustancia química para que haya intoxicación.

Para medir las interacciones entre el organismo y el agente tóxico, se utilizan a nivel mundial los marcadores biológicos o biomarcadores, llamados también indicadores biológicos de la exposición.

2.5.4.2. Nocividad, toxicidad y ecotoxicidad

En el área de la Toxicología Ambiental, los componentes químicos se estudian más por el reflejo de la peligrosidad potencial que por su toxicidad relativa, aplicándolo más bien a determinadas condiciones de exposición, puesto que, de lo contrario, no tiene significado. Por ello, al hablar de *nocividad*, aparte del concepto semántico de toxicidad (propiedad inherente un compuesto químico de producir efectos indeseables, cuando alcanza una concentración determinada en un lugar del organismo vivo), se debe tener en cuenta el concepto de *toxicidad*, es decir, la probabilidad de que se produzcan efectos tóxicos, así como el riesgo o peligrosidad, determinado por la probabilidad de

ocurrencia de una acción tóxica.

La *ecotoxicidad* es la consecuencia de la acción originada por el contaminante sobre los seres vivos que forman los ecosistemas, no enfocada a que dicho contaminante haga desaparecer a la mitad de los individuos de una especie, sino a determinar el impacto ecológico que produce, ya que muchos contaminantes no tienen efecto sobre los organismos individualmente, pero su consecuencia ecológica es digna de tenerse en cuenta. Hay que considerar que los ecosistemas naturales son un conjunto armónico consecuente con sus propios equilibrios biológicos, y las sustancias químicas pueden, en ocasiones, perturbar estos equilibrios y trastornar la citada armonía no solo originando muertes, sino alterando la capacidad de sobrevivir en las condiciones ecológicas producidas. Eso hace que en la ecotoxicología no sea suficiente la evaluación de la toxicidad que se realiza en la toxicología convencional, ya que los efectos tóxicos tienden siempre a ser remotos. Indudablemente se necesita conocer los datos usuales en la toxicología convencional, como la toxicidad aguda de una sustancia representada por su *Dosis Letal Cincuenta (DL50)*, las alteraciones producidas por dosis subletales como representación de la capacidad de originar toxicidad diferida, su interferencia con el proceso de reproducción en el ámbito de fecundidad o su influencia en la inducción de cambios en el DNA celular.

Los estudios toxicológicos no deben hacerse sobre poblaciones simples, ya que se ha comprobado que éstas no responden a las sustancias químicas de una manera natural en régimen de aislamiento, sino sobre poblaciones complejas. Las interacciones de poblaciones requieren conductas y respuestas fisiológicas, que no son puestas en evidencia en el aislamiento, e incluso se ha demostrado que el rango de las respuestas a dichas sustancias es superior en los sistemas multiespecies que en los sistemas de especie única, ya que en los primeros se refuerzan dichas respuestas y son de más fácil evaluación. Además, está comprobado que los posibles efectos de los compuestos químicos sobre los ecosistemas, en lo que se refiere a sus interacciones específicas, dinámica comunitaria y dominio, no pueden ser detectados por pruebas de especie única.

Por ello la Toxicología Ambiental tiene una metodología propia para la evaluación de los efectos de los contaminantes, aunque en realidad no es perfectamente confirmado que los microsomas experimentales demuestren importantes respuestas a las sustancias químicas, pero se consideran que son orientativos

2.5.4.3. Exposición del agente tóxico

La exposición es una medida del contacto entre el agente tóxico y la superficie interior o exterior de un organismo vivo o de un ecosistema.

Al exponer un organismo a una sustancia, solo habrá un efecto biológico o tóxico cuando hay absorción de la sustancia, exceptuando el caso de exposición a sustancias radiactivas. Durante la exposición de contaminantes ambientales, será de gran influencia sobre la absorción, y por lo tanto también en su toxicidad la forma en que la sustancia se presente. Para esto son Importantes las propiedades de la sustancia, como el tamaño de sus partículas, su liposolubilidad, al igual que otras circunstancias, como la intensidad de la respiración.

2.5.4.4. Exposición aguda y crónica

Hay *exposición aguda* cuando una sola dosis del tóxico (generalmente una gran dosis) regresa al organismo por cualquier vía (oral, inhalatoria, dérmica) con efectos nocivos inmediatos

La exposición crónica se produce cuando pequeñas dosis del tóxico ingresan al organismo por cualquier vía de ingreso, durante largo tiempo y con efectos retardados.

Es corriente utilizar *indicadores biológicos* para medir la exposición, necesarios no sólo como alertadores de las perturbaciones de los ecosistemas, sino como indicadores de la situación o carga de dicho medio ambiente, incluso de manera precoz cuando se utilizan especies sensibles. Desde el enfoque humano, la ecotoxicología tiene como misión alertar, informar o prevenir respecto de las

alteraciones del desarrollo y de la degradación del medio 1mbiente, sobre la base de la peligrosidad, con el fin de aportar datos para tomar decisiones con arreglo al cociente beneficio/riesgo, que siempre está en relación con la calidad de vida.

2.6. MARCADORES BIOLÓGICOS

El término marcador biológico o biomarcador se utiliza en un sentido amplio, incluye casi todas las mediciones que reflejen una interacción entre un sistema biológico y un agente ambiental que puede ser químico, físico biológico.

El hombre actúa como un aparato que pone en evidencia la presencia, el efecto o bien características individuales de la exposición a sustancias tóxicas presentes en el ambiente o en el trabajo.

La detección biológica del tóxico, es de gran valor y se constituye en una forma de evidenciar el efecto de las sustancias químicas sobre el organismo humano a través del uso de los marcadores biológicos.

Los marcadores biológicos se pueden clasificar en tres grupos:

1) Marcadores biológicos de exposición.
2) Marcadores biológicos de efecto.
3) Marcadores biológicos de sensibilidad.

2.6.1. Marcadores biológicos de la exposición de los organismos

Son mediciones dentro de un compartimiento del organismo de una sustancia exógena o de sus productos de biotransformación o el producto de interacción entre el agente y alguna molécula blanco o célula.

La utilización de biomarcadores de exposición se divide en dos categorías:

a) Medición de los niveles del agente y sus metabolitos en células, tejidos, fluidos corporales o excretas.
b) Medición de respuestas biológicas, tal como citogenética y cambios fisiológicos reversibles en los individuos expuestos.

2.6.2. Marcadores biológicos de efecto

Son alteraciones bioquímicas, fisiológicas o de otro tipo que se pueden medir en un organismo y se pueden reconocer como asociadas a una enfermedad o una deficiencia en la salud.

2.6.3. Marcadores biológicos de susceptibilidad

Son las mediciones que reflejan la sensibilidad de un individuo, dentro de una población expuesta a un agente tóxico específico.

Además, estos marcadores indican los factores que pueden aumentar o reducir el riesgo de que un individuo desarrolle una respuesta tóxica, después de la exposición aun agente. Por lo general, esto es resultado de las diferentes tasas de la actividad enzimática que controla la activación o la detoxificación de los agentes tóxicos entre los individuos y en muchos casos esta genéticamente determinada.

"*Biomarcadores son las mediciones que reflejan una interacción entre un sistema biológico y un agente tóxico que puede ser de naturaleza física, química o biológica.*"

Los marcadores biológicos se utilizan para:

- Detectar la presencia de una exposición.
- Determinar las consecuencias biológicas de la exposición (intoxicaciones agudas, crónicas, efectos a largo plazo).
- Detectar los procesos iníciales e intermedios de un proceso patológico.
- Identificar a los individuos sensibles de una población.

- Fundamentar la decisión de intervenir, tanto a nivel individual como ambiental.

2.7. PRUEBAS DE TOXICIDAD

Una prueba de toxicidad típica involucra un *agente* o *estímulo* (por ejemplo, un pesticida, un metal pesado o una muestra ambiental con contaminantes químicos), el cual se aplica a un organismo o grupo de organismos (por ejemplo, un cultivo bacterial o de un alga, animales, o plantas) al que denominaremos genéricamente *sujeto*, sobre el que se evalúa una cierta *respuesta* preseleccionada. La magnitud del estímulo o *dosis* puede medirse como un peso, un volumen o una concentración.[6]
Deben ser de la misma especie, sexo, peso, edad y tamaño. Tener un tiempo de vida adecuado.
Además, todas las pruebas deben ser realizadas con lineamientos aceptados por los organismos internacionales y de acuerdo con principios de las buenas prácticas de laboratorio (normas GLP).

Solamente los estudios de eco toxicidad aguda, son requeridos para todos los contaminantes, los otros pasos de evaluación de efectos son definidos por:

- Hallazgos en los estudios de toxicidad aguda
- La magnitud de la exposición (propiedades, destino, concentraciones ambientales)
- Los patrones de uso, condiciones de aplicación

Como primer paso en la evaluación ecotoxicológica de cualquier sustancia se deben tomar datos de los estudios ecotoxicológicos agudos.

[6] Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996. pág. 30-40

Los datos toxicológicos son obtenidos en el laboratorio en varias especies de organismos terrestres y acuáticos. Ver tablas 1 y 2 sobre parámetros y rangos ecotoxicológicos.

Los criterios utilizados para el estudio de toxicidad subcrónica, crónica y otros estudios a lago plazo son los siguientes:

- Presencia en aire, aguas y suelos, continua, recurrente y significativamente.
- Alta toxicidad aguda (Ej. CL50 < 1.0 MG/L en peces).
- Concentraciones ambientales estimadas iguales o mayores a la DL50, LC50 o CE50.
- Persistencia en aguas, suelos, aire y alimentos. (Vida media en aguas superficiales más de 4 días, en aguas subterráneas más de 21 días y en suelos más de 100 días.
- Contenido de impurezas e isómeros con efectos a largo plazo (mutaciones, cáncer, malformaciones, etc.)

Para la evaluación de la toxicidad se pueden utilizar tres formas de aproximación: observación y estudio de exposiciones ocupacionales o accidentales, trabajos experimentales con organismos de prueba o ensayos con células expuestas a los tóxicos.

Teniendo en cuenta que la medición de efectos en humanos expuestos a sustancias químicas requiere complejas investigaciones prospectivas o retrospectivas, así como contar con estudios epidemiológicos muy precisos, a nivel ambiental se utiliza la experimentación con diferentes organismos acuáticos, generalmente representantes importantes de la cadena trófica.

2.7.1. Criterios generales de selección de organismos para pruebas de toxicidad

En la actualidad, se cuenta con un gran número de organismos que pueden usarse para pruebas de toxicidad o bioensayos acuáticos. Se han definido criterios para la selección de las especies más apropiadas aunque es necesario tener en cuenta las características ecológicas en que ellas se desarrollan.

En general, la selección de un organismo se basa en los objetivos del programa toxicológico, la información disponible sobre su biología, las características de las especies, las instalaciones y el equipo del laboratorio y el nivel de capacitación de los técnicos. Cuando se inicia un programa de evaluación de calidad de agua en el cual se llevarán a cabo pruebas de toxicidad, el primer paso es seleccionar las especies con las que se va a trabajar. Para ello se debe dar respuesta a una serie de preguntas:

¿Existe suficiente información sobre el ciclo de vida del organismo? ¿Sobre las técnicas de cultivo? ¿Sobre los procedimientos de prueba?

En general, los organismos acuáticos tienen ciclos de vida y requerimientos de cultivo y de manejo complejos. El obtener esta información es una tarea larga y frecuentemente requiere años de investigación. Por ello, es recomendable considerar sólo aquellos organismos de los que se tiene información suficiente en cada una de estas áreas. Las especies de las cuales no existe información sobre cultivo y procedimientos de prueba requieren de un manejo cauteloso y uso limitado.

¿Es apropiado el ciclo de vida de los organismos para los objetivos y el diseño de las pruebas?

El diseño de las pruebas debe ser considerado en el contexto del ciclo de vida del organismo. La mayoría de protocolos de bioensayos agudos y crónicos requieren de organismos jóvenes o recién nacidos. Sin embargo, en algunos protocolos se utilizan organismos adultos (crecimiento de ostras). Igualmente, en

ensayos crónicos donde se evalúa la reproducción, el tiempo necesario para tal proceso será un factor clave.

¿Se adaptará fácilmente a las condiciones del laboratorio o se necesitará un abastecimiento de agua fresca diaria del sitio de colección?

Cuando la respuesta a las anteriores preguntas es afirmativa se recomienda que las pruebas se lleven a cabo con organismos colectados en campo, lo cual tendrá como ventaja que ellos serán representativos de la comunidad impactada. Como desventajas se señalan, el estrés y la mortalidad asociada con la recolección y transferencia al laboratorio. Además hay limitación en la disponibilidad de los organismos, especialmente con especies que no abundan durante todo el año o tienen cambios durante su ciclo de vida. La edad, la salud y las condiciones de cultivo de los organismos en muchos casos son desconocidas, y no existe un procedimiento para obtener organismos estandarizados del campo.

Existe sin embargo una preferencia para utilizar organismos criados en el laboratorio en vez de los recolectados en el campo, ya que las pruebas estandarizadas requieren de un abastecimiento continuo de organismos en buen estado de salud y que provengan de cultivos con condiciones conocidas y constantes.

Los bioensayos hechos en el laboratorio con organismos recolectados en el campo han sido menos satisfactorios, aunque se pueden obtener buenos resultados cuando el laboratorio está cerca al lugar de recolección y desde allí el abastecimiento de agua es permanente (Henry, 1994).

TABLA 1. *Organismos Utilizados como especies de pruebas en bioensayos*

<table>
<tr><th rowspan="2">Organismos</th><th rowspan="2">Laboratorio</th><th colspan="2">Suministro</th><th rowspan="2">Uso</th></tr>
<tr><th colspan="2">Campo</th></tr>
<tr><td>Algas</td><td rowspan="2">Excelente</td><td colspan="2" rowspan="2">Difícil de recolectar y mantener en cultivo puro</td><td>Amplio</td></tr>
<tr><td>Protozoos</td><td>Muy limitado</td></tr>
<tr><td>Invertebrados Planctónicos</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td>Rotíferos</td><td>Bueno</td><td colspan="2">Difícil de recolectar y mantener en cultivo puro</td><td>Limitado</td></tr>
<tr><td>Cladóceros</td><td>Excelente</td><td colspan="2" rowspan="2">Alta tasa de mortalidad después de la recolección</td><td>Amplio</td></tr>
<tr><td>Copépodos</td><td>Mediano</td><td>Limitado</td></tr>
<tr><td>Camarones</td><td>Bueno</td><td colspan="2">Bueno</td><td>Amplio</td></tr>
<tr><td>Invertebrados Bentónicos</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td>Anélidos</td><td>Mediano</td><td colspan="2" rowspan="4">Mediano</td><td>Limitado</td></tr>
<tr><td>Insectos</td><td>Bajo</td><td rowspan="4">Amplio</td></tr>
<tr><td>Moluscos</td><td>Bueno</td></tr>
<tr><td>Crustáceos</td><td>Bajo</td></tr>
<tr><td>Peces</td><td>Excelente</td><td colspan="2">Alta tasa de mortalidad después de la recolección</td></tr>
</table>

Fuente: DÍAZ BÁEZ María Consuelo, BUSTOS LÓPEZ Martha Cristina, Pruebas de Toxicidad Acuática. Universidad Nacional de Colombia

Como primer paso en la evaluación ecotoxicológica de cualquier sustancia se deben tomar datos de los estudios ecotoxicológicos agudos.

Los datos toxicológicos son obtenidos en el laboratorio en varias especies de organismos terrestres y acuáticos. Ver tablas 2 y 3 sobre parámetros y rangos ecotoxicológicos.

TABLA 2. Parámetros y rangos ecotoxicológicos necesarios para la evaluación del riesgo ambiental producido por las sustancias. EPA

ORGANISMO	PARAMETRO
AVES	DL 50 en una o dos especies (preferiblemente codorniz o pato)
INVERTEBRADOS TERRESTRES **PECES**	DL 50 oral en abejas CL50, 96h en dos especies (Trucha y bluegill sunfish)
INVERTEBRADOS ACUATICOS (Daphnia Magna)	CL 50, 48 horas de exposición CE 50, 48 horas de exposición
ALGAS	Inhibición de crecimiento CL50, 96h
OTROS PARAMETROS SUPEMENTARIOS SON DADOS POR LOS PATRONES DE USO Y MOVILIDAD	

Fuente: VALLEJO ROSERO María del Carmen; BAENA LÓPEZ Carlos Alberto, Capítulo 6. Toxicología Ambiental. Grupo Empresarial Wills Ltda.

TABLA 3. *Clasificación toxicológica de las sustancias, según la CL 50 en peces.*

CATEGORÍA	CL 50, mg/L. 96 horas
I. EXTREMADAMENTE TÓXICO	Igual o menor de 0.1
II. ALTAMENTE TÓXICO	0.1 - 1
III. MODERADAMENTE TÓXICO	1 -10
IV. LIGERAMENTEMENTE TÓXICO	10 - 100
V. PRACTICAMENTE NO TÓXICO	Mayor a 100

Fuente: VALLEJO ROSERO María del Carmen; BAENA LÓPEZ Carlos Alberto, Capítulo 6. Toxicología Ambiental. Grupo Empresarial Wills Ltda.

Los criterios utilizados para el estudio de toxicidad subcrónica, crónica y otros estudios a lago plazo son los siguientes:

- Presencia en aire, aguas y suelos, continua, recurrente y significativamente.
- Alta toxicidad aguda (Ej. CL50 < 1.0 MG/L en peces).
- Concentraciones ambientales estimadas iguales o mayores a la DL50, LC50 o CE50.
- Persistencia en aguas, suelos, aire y alimentos. (Vida media en aguas superficiales más de 4 días, en aguas subterráneas más de 21 días y en suelos más de 100 días.
- Contenido de impurezas e isómeros con efectos a largo plazo (mutaciones, cáncer, malformaciones, etc.)

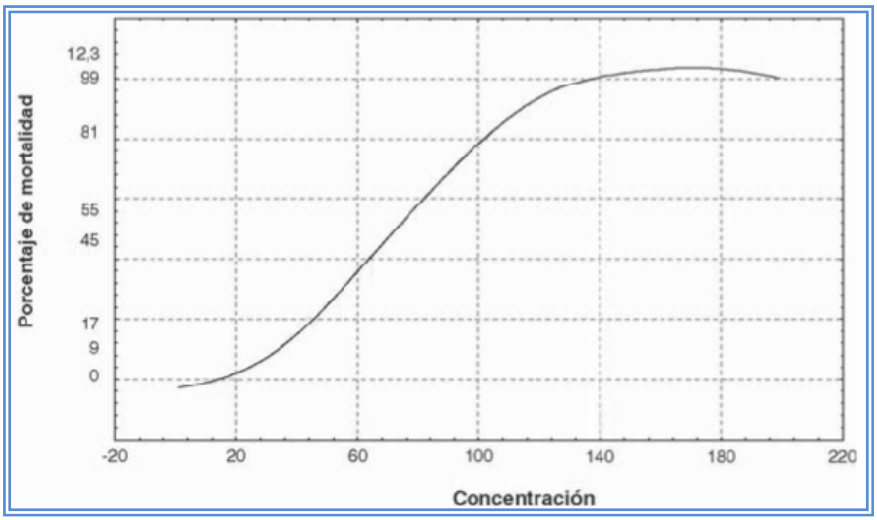
Partiendo de la base de que la magnitud o la frecuencia de la respuesta dependerán de la dosis aplicada, las pruebas de toxicidad suelen diseñarse utilizando distintas dosis. La información obtenida de este tipo de ensayos permite la cuantificación de la relación entre las dos variables (dosis y respuesta), caracterizando toxicológica o ecotoxicológicamente al compuesto.

La finalidad específica de ésta prueba es:

- Determinar la concentración de un agua residual dada, que produzca la muerte de 50% de los organismos en ensayo en un período de tiempo especificado.
- Determinar la concentración máxima que no causa efectos sobre los organismos de ensayo en un período de tiempo especificado.
- Evaluar la sensibilidad de los organismos acuáticos ante agentes tóxicos.[7]

[7] Ibíd. P. 8

Gráfica 1. Relación de Dosis – Respuesta



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

Es importante destacar que la respuesta a una dosis en particular se verá afectada en mayor o menor medida por factores no controlados durante el experimento.

Para la detección de efectos tóxicos se utilizan los bioensayos; que desde el punto de vista toxicológico, son pruebas para medir la potencia de una sustancia fisiológicamente activa, de actividad desconocida.

Los efectos ecológicos de las pruebas son principalmente dirigidos a medir y valorar la toxicidad aguda de químicos en organismos acuáticos que representan varios niveles tróficos de la cadena alimenticia. Estas pruebas ayudan a la estimación de la toxicidad química en ecosistemas naturales y los modificados por el hombre.[8]

En sentido, los bioensayos suministran información acerca de:

- Predicción: Los bioensayos pueden evaluar efectos tóxicos de nuevas sustancias químicas antes de su uso. Así mismo, pueden establecer

[8] Dutka, 1996

concentraciones por debajo de efectos no observables para poder contemplar descargas al ambiente.

- Control: Los bioensayos pueden ser usados para controlar descargas de sustancias que se presuman perjudiciales para el ambiente.
- Monitoreo: El monitoreo puede ser utilizado como sistema de alerta en la detección de contaminantes ambientales.
- Diagnóstico: El diagnóstico puede ser usado como una herramienta para identificar la fuente tóxica de alguna descarga[9].

2.7.2. Factores Involucrados En La Toxicidad De Una Sustancia

FIGURA 3. Factores Involucrados En La Toxicidad De Una Sustancia

FUENTE: LOS AUTORES, 2008

En la toxicidad de las sustancias están involucrados varios factores, los que dependen de las sustancias, los que dependen del individuo y los factores ambientales del medio en que se encuentra el organismo esta expuesto.

Si la sustancia tiende a acumularse tiende a acumularse en los tejidos (bioconcentración), para lo cual se utilizan especialmente algunos índices:

El coeficiente de partición del tóxico entre un solvente de grasas, en particular el n-octanol, y el agua, es decir el coeficiente de partición n-octanol / agua.

[9] [9] Ibíd. P. 33

Logaritmo de Kow Es la medida de la lipofilia de una sustancia, mediante la determinación del equilibrio de distribución entre el octanol (n-octanol, sustancia lipofílica o liposoluble) y el agua. Es por consiguiente, la medida de la liposolubilidad de la sustancia, que indica la posibilidad de que se acumule en los organismos vivos. Los agentes tóxicos tienen diferentes coeficientes de partición octanol/ agua. A nivel internacional de utiliza el logaritmo de los Kow. En la tabla 4 podemos ver la clasificación de las sustancias de acuerdo a su coeficiente de participación octanol-agua.

TABLA 4. Clasificación de las sustancias de acuerdo al Kow

COEFICIENTE DE PARTICION OCTANOL/AGUA		
SUSTANCIAS LIPOSOLUBLES		
Kow mayor a 1	**0**	**Log Kow igual o mayor a 3**
SUSTANCIAS NO LIPOSOLUBLES		
Kow menor de 1	**o**	**Log Kow menor a 3**

Fuente: VALLEJO ROSERO María del Carmen; BAENA LÓPEZ Carlos Alberto, Capítulo 3. Toxicología Ambiental. Grupo Empresarial Wills Ltda.

La Agencia de Protección Ambiental de los EEUU (EPA) clasifica a las sustancias de acuerdo al logaritmo Kow, en compuestos hidrofílicos, de mediana liposolubilidad, liposolubles y muy liposolubles, como puede verse en la tabla 5

TABLA 5. *La clasificación de las sustancias de acuerdo al Log Kow. EPA-2001*

Log Kow	COMPUESTOS
Menor de 2	Hidrofilicos
2 a 3	Mediana Liposolubilidad
3 a 5	Liposolubles
Mayor de 5	Altamente liposolubles

Fuente: VALLEJO ROSERO María del Carmen; BAENA LÓPEZ Carlos Alberto, Capítulo 3. Toxicología Ambiental. Grupo Empresarial Wills Ltda.

2.8. MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE TOXICIDAD

Una prueba de toxicidad es un ensayo en el cual un organismo o grupo de organismos (bacterias, algas, animales o plantas) son expuestos a un agente (químico, físico o biológico) para establecer y medir una respuesta previamente seleccionada. La respuesta se valora mediante la cuantificación del cambio en la característica (aumento en el peso corporal, disminución en la presión sanguínea, etcétera) o la ocurrencia de un determinado fenómeno (muerte, inhibición del crecimiento entre otros).

Un concepto muy importante en toxicología y ecotoxicología es la relación cuantitativa entre la concentración del compuesto químico al cual es expuesto el organismo y la magnitud del efecto nocivo que se produce. Esta relación, conocida como la relación concentración-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por la liberación de sustancias tóxicas en el medio ambiente.

La respuesta observada es una función hiperbólica de la concentración. La pendiente permanece aproximadamente constante para un amplio intervalo de concentraciones (cinética de primer orden) para después disminuir hasta un valor de cero (cinética de orden cero), donde la respuesta alcanza su máximo valor. Algunas veces, esta relación no esta tan bien definida, y dentro de una población se observará una distribución de respuestas para cada concentración. En estos casos, la respuesta que se mide es el porcentaje de la población que presenta una determinada respuesta para una concentración determinada. Esta respuesta se denomina cuanto, por ello al graficar los resultados se coloca en la ordenada el porcentaje de la población que presenta un determinado valor de la respuesta, y en la abscisa el logaritmo de la concentración. Esta curva tiene forma sigmoide (grafica 1).

Aunque existen muchas formas de establecer la respuesta tóxica, y los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador más utilizado es la muerte del organismo de prueba. La mayoría de las pruebas de toxicidad permiten hacer una estimación de la concentración que produce una respuesta tóxica al 50% de la población expuesta.

Por ejemplo, la concentración letal media corresponde a la concentración que mata el 50% de la población (CL_{50}). Otra estimación muy utilizada es la concentración más alta a la cual no se observa ningún efecto (NOEC).

La estadística es básica para la planificación y la ejecución de las pruebas de toxicidad y para el análisis y la interpretación de los resultados obtenidos. Por tanto, el diseño experimental, el muestreo, la recolección de datos, las pruebas y los análisis deben ceñirse a principios estadísticos estrictos. En general, los métodos de análisis de los resultados están bien documentados, Son aplicables a la mayoría de los datos obtenidos en este tipo de pruebas y pueden ser manejados por personas sin entrenamiento estadístico.

Es importante destacar que en el análisis de las relaciones entre la concentración de un tóxico y la respuesta o efecto existen otras formas de abordarlo en las que fundamentalmente se busca determinar la concentración a la cual no se observa un efecto nocivo del tóxico sobre el organismo expuesto, o la

concentración más baja a la cual se observa un efecto tóxico. Este análisis se realiza a través del método de ANOVA (análisis de la varianza) o su equivalente no paramétrico.

En la mayoría de las pruebas se utiliza un diseño completamente aleatorizado, con unidades experimentales homogéneas y condiciones ambientales controladas. Sin embargo, en algunos casos es necesario recurrir a análisis de covarianza o ANCOVA en bloques para controlar la heterogeneidad de las unidades experimentales. El diseño normalmente usado se presenta en los textos clásicos de diseño de experimentos tales como Steel y Torrie (1985). Los cálculos de los diferentes análisis utilizados, pueden hacerse empleando programas de computación que se consiguen comercialmente como Excel, SAS, STATGRAPHICS o SPSS.

Los elementos básicos del diseño experimental que deben tenerse en cuenta en una prueba de toxicidad son:

- Unidad experimental
- Respuesta (punto final)
- Observación, medición, identificación
- Condiciones para la evaluación
- Tamaño de la población, ensayo de supervivencia en paralelo
- Grupos de tratamiento
- Dosis-respuesta, controles, varias muestras individuales
- Fuentes de variabilidad
- Fuentes de sesgos
- Métodos de evaluación estadística

Entre estas concentraciones las más utilizadas son: la letal, efectiva o inhibitoria media (CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}).

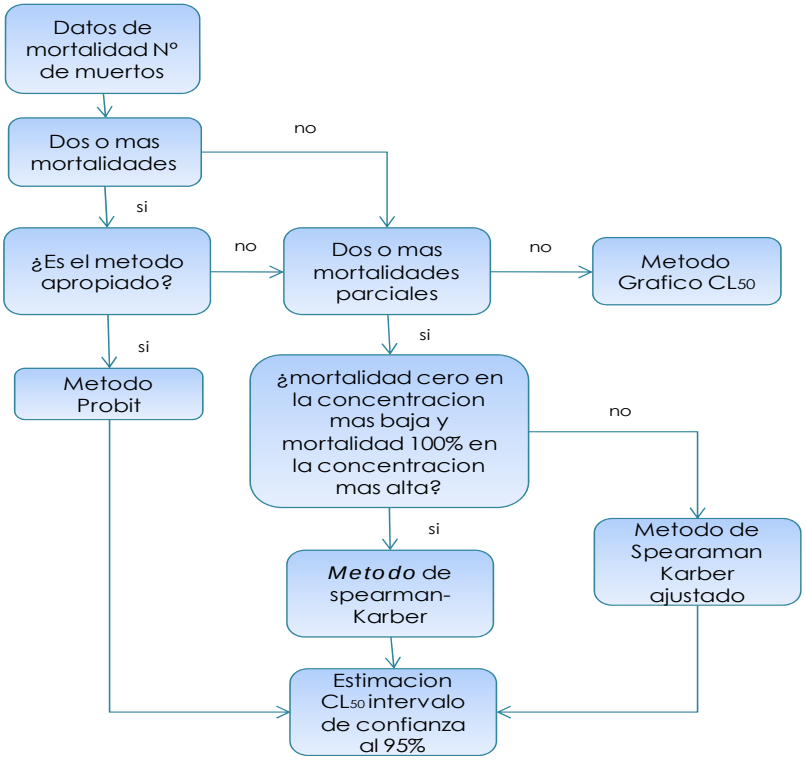
2.8.1. Determinación de relación concentración-respuesta tipo mortalidad

La selección del método para estimar los valores de CL_{50} en pruebas de toxicidad aguda con múltiples concentraciones dependerá de la forma de la distribución de tolerancias. En general, se recomiendan los siguientes cuatro métodos para la estimación de CL_{50} (USEPA, 1994):

- El método Probit (paramétrico)
- El método de Litchfield- Wilcoxon (gráfico)
- El método de Spearman-Karber (no paramétrico)
- El método gráfico

En la figura 4 se presenta el diagrama de flujo recomendado por la USEPA (1994) para la selección del método, basado en los requerimientos de cada uno.

FIGURA 4. Determinación de CL_{50} para pruebas de toxicidad aguda con múltiples concentraciones (EPA, 1994).



FUENTE: USEPA (1994)

2.8.1.1. Principio del modelo matemático

En un experimento típico de pruebas de toxicidad se tiene la siguiente situación:

- Concentración de la sustancia o dosis (*d*).
- Número de individuos (*n*).
- Número de organismos muertos o afectados (*r*).
- Porcentaje de efecto (*p*).

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

La representación gráfica de *p vs. d*, o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal.

Una forma de abordar este problema es transformando *d* a una escala logarítmica (*X* = log10 (*d*)), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma *S* o sigmoidea normal, como se muestra en la grafica 1; de esta manera la distribución de *p vs. X* será de tipo normal

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

$$y = a + bx$$

Donde:

y (expresado en unidades Probit) = z + 5

z= Variable normal estándar = z_O tal que la Prob ($z \leq z_O$) = p

a y b son los estimadores de los parámetros de la recta de regresión

Así, cuando p= 50% entonces y = 5, por lo tanto:

$X_5 = \log_{10} CL_{50}$, entonces $CL_{50} = 10^5$

Para facilitar los cálculos, simplemente se puede usar un *software* como el suministrado por la *US Environmental Protection Agency* (US EPA): *Probit Analysis Program*. El procedimiento Probit permite encontrar estimadores *m*-verosímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos, analizando porcentajes de efecto *vs.* dosis dentro del marco de la regresión.

2.8.1.2. Método de litchfield- wilcoxon

Este método consiste en la construcción de una gráfica a partir de los datos obtenidos en pruebas de toxicidad aguda de un agente tóxico. Se utiliza papel problog, donde en el eje de las X se coloca el logaritmo de las concentraciones usadas y en el eje de las y, el porcentaje de respuesta del efecto observado. En la literatura se presentan varios ejemplos de cálculo, como el que se puede observar en la norma sobre análisis estadísticos de CETESB (L5.0 17 -1992).

Para calcular la CL_{50}/CE_{50}/CI_{50} mediante este método, es necesario observar por lo menos, un porcentaje intermedio de efecto observado (valores entre O y 100% de efecto).

2.8.1.3. Método de spearman-karber

El método de Spearman-Karber es un método aproximado, no paramétrico, que proporciona una buena estimación de la media y la desviación estándar. Si la distribución es simétrica, se obtiene una estimación de la concentración total media (CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}). Bajo las condiciones mencionadas, y si además la distribución considerada es más normal que logarítmica, se cumple que

$$CL_{50} = m = X_k - d\,(S_l - ½)$$

Donde:

X_k= dosis mínima a partir de la cual todas las reacciones son del 100%

d = distancia entre cada dos dosis

S_l = suma de las fracciones de individuos que presentaron reacción

La desviación estándar S_{CL50}, o más fácil S_m se determina mediante la siguiente ecuación:

$$Sm = d\sqrt{2\,s_2 - s_1 - s_1^2 - 1/12}$$

Donde:

S_2 = suma de la fracción acumulada de los individuos que presentaron reacción.

2.8.1.4. Método gráfico

Este tipo de análisis se realiza para determinar la concentración más alta a la que no se observa efecto (NOEC) o la concentración más baja a la que se observa efecto (LOEC) e implica pruebas de hipótesis. El método clásico para este tipo de análisis es el ANOVA seguido por la prueba de Dunnet. Esta última está diseñada para comparar los resultados obtenidos para un tratamiento en particular contra un control negativo. Para este tipo de análisis se requiere que se verifiquen los supuestos de un ANOVA (homogeneidad de varianzas, independencia de los

errores, distribución normal de los residuos, entre los más importantes), que el número de réplicas por tratamiento sea superior a tres y que todos los tratamientos tengan el mismo número de réplicas. Si hay menos de tres réplicas no se puede proceder con la prueba de hipótesis. Si el número de réplicas varía entre los tratamientos, se debe utilizar la prueba de t con el ajuste de Bonferroni en lugar de la prueba de Dunnet. La homogeneidad de varianzas se puede evaluar con la prueba de Bartlett (Zar, 1994) y la distribución normal de los residuos con la de Shapiro-Wilk (Conover, 1980).

Cuando no cumplen los supuestos del ANOVA es necesario proceder a la transformación de la variable dependiente (respuesta) hasta obtener una que cumpla estos supuestos, o aplicar métodos no paramétricos como Steel's Many-one Rank Test o Wilcoxon Rank Sum Test con el ajuste de Bonferroni.

2.9. METALES PESADOS

2.9.1. Aluminio

Es un elemento químico, de símbolo Al y número atómico 13. Se trata de un metal no ferroso. Es el tercer elemento más común encontrado en la corteza terrestre. Los compuestos de aluminio forman el 8% de la corteza de la tierra y se encuentran presentes en la mayoría de las rocas, de la vegetación y de los animales. En estado natural se encuentra en muchos silicatos (feldespatos, plagioclasas y micas). Como metal se extrae del mineral conocido con el nombre de bauxita, por transformación primero en alúmina mediante el proceso Bayer y a continuación en aluminio mediante electrólisis.

El aluminio metálico es liviano y de color blanco-plateado. El aluminio se usa en envases de bebidas, ollas y sartenes, aviones, techos y cubiertas exteriores de viviendas y láminas de aluminio. A menudo se mezcla con pequeñas cantidades de otros metales para formar aleaciones, las cuales son más duras y resistentes.

Los compuestos de aluminio tienen muchos usos diferentes, por ejemplo, el alumbre en el tratamiento de aguas y la alúmina en abrasivos y revestimientos de

hornos. También se encuentran en productos de consumo tales como antiácidos, astringentes, aspirina con cubierta entérica, aditivos para alimentos y desodorantes.

2.9.1.1. Toxicidad

Este metal ha sido considerado, durante muchos años, como inocuo para los seres humanos. Debido a esta suposición se fabricaron de forma masiva utensilios de aluminio para cocinar alimentos, envases para alimentos, y papel de aluminio para el embalaje de alimentos frescos. Sin embargo, su impacto sobre los sistemas biológicos ha sido objeto de mucha controversia en las décadas pasadas y una profusa investigación ha demostrado que puede producir efectos adversos en plantas, animales acuáticos y seres humanos.

General	
Nombre, símbolo, número	Aluminio, Al, 13
Serie química	Metales del bloque *p*
Grupo, periodo, bloque	13, 3, p
Densidad, dureza Mohs	2698,4 kg·m^{-3} (a 20°C), 2-2,9
Apariencia	Plateado
Propiedades atómicas	
Masa atómica	26,9815386(8) u
Radio medio†	125 pm
Radio atómico calculado	118 pm
Radio covalente	118 pm
Radio de Van der Waals	Sin datos
Configuración electrónica	[Ne]3s^{2}3p^1
Estados de oxidación (óxido)	3 (anfótero)
Estructura cristalina	Cúbica centrada en las caras
Propiedades físicas	
Estado de la materia	sólido
Punto de fusión	933,47 K(660°C)
Punto de ebullición	2792 K
Entalpía de vaporización	293,4 kJ/mol
Entalpía de fusión	10,79 kJ/mol
Presión de vapor	2,42 × 10^{-6} Pa a 577 K
Velocidad del sonido	5100 m/s a 273 - 300 K

FUENTE: http://es.wikipedia.org/wiki/Aluminio

La exposición al aluminio por lo general no es dañina, pero la exposición a altos niveles puede causar serios problemas para la salud.

La exposición al aluminio se produce principalmente cuando:

- Se consumen medicamentos que contengan altos niveles de aluminio
- Se inhala polvo de aluminio que esté en la zona de trabajo.
- Se vive donde se extrae o procesa aluminio

- Se colocan vacunas que contengan aluminio

Cualquier persona puede intoxicarse con aluminio o sus derivados, pero algunas personas son más propensas a desarrollar toxicidad por aluminio.[10]

2.9.1.2. Efectos del Aluminio sobre la salud

El Aluminio es uno de los metales más ampliamente usados y también uno de los más frecuentemente encontrados en los compuestos de la corteza terrestre. Debido a este hecho, el aluminio es comúnmente conocido como un compuesto inocente. Pero todavía, cuando es expuesto a altas concentraciones, este puede causar problemas de salud. La forma soluble en agua del Aluminio causa efectos perjudiciales, estas partículas son llamadas iones. Son usualmente encontradas en soluciones de Aluminio combinadas con otros iones, por ejemplo cloruro de Aluminio.

La toma de Aluminio puede tener lugar a través de la comida, respirarlo y por contacto en la piel. La toma de concentraciones significantes de Aluminio puede causar un efecto serio en la salud como:

- Daño al sistema nervioso central
- Demencia
- Pérdida de la memoria
- Apatía
- Temblores severos

El Aluminio es un riesgo para ciertos ambientes de trabajo, como son las minas, donde se puede encontrar en el agua. La gente que trabaja en fábricas donde el Aluminio es aplicado durante el proceso de producción puede aumentar los

[10] Colaboradores de Wikipedia. *Aluminio* [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2008 [fecha de consulta: 28 de julio del 2008]. Disponible en <http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Aluminio&oldid=19081308>.

problemas de pulmón cuando ellos respiran el polvo de Aluminio. El Aluminio puede causar problemas en los riñones de los pacientes, cuando entra en el cuerpo durante el proceso de diálisis.

2.9.1.3. Efectos ambientales del Aluminio

Los efectos del Aluminio han atraído nuestra atención, mayormente debido a los problemas de acidificación. El Aluminio puede acumularse en las plantas y causar problemas de salud a animales que consumen esas plantas. Las concentraciones de Aluminio parecen ser muy altas en lagos acidificados. En estos lagos un número de peces y anfibios están disminuyendo debido a las reacciones de los iones de Aluminio con las proteínas de las agallas de los peces y los embriones de las ranas.

Elevadas concentraciones de Aluminio no sólo causan efectos sobre los peces, pero también sobre los pájaros y otros animales que consumen peces contaminados e insectos y sobre animales que respiran el Aluminio a través del aire.

Las consecuencias para los pájaros que consumen peces contaminados es que la cáscara de los huevos es más fina y los pollitos nacen con bajo peso. Las consecuencias para los animales, pérdida de peso y declinación de la actividad. Otro efecto negativo en el ambiente del Aluminio es que estos iones pueden reaccionar con los fosfatos, los cuales causan que el fosfato no esté disponible para los organismos acuáticos.

Altas concentraciones de Aluminio no sólo pueden ser encontrados en lagos ácidos y aire, también en aguas subterráneas y suelos ácidos. Hay fuertes indicadores de que el Aluminio puede dañar las raíces de los árboles cuando éstas están localizadas en las aguas subterráneas.[11]

[11] Fuente :Lenntech Agua residual & purificación del aire Holding B.V. 2008

2.9.1.4. ¿Cómo Puede Ocurrir La Exposición Al Aluminio?

- El aluminio se encuentra en virtualmente todos los alimentos, el agua, el aire y el suelo.
- Ingiriendo pequeñas cantidades de aluminio en los alimentos.
- Respirando niveles altos de aluminio en polvo en el aire del trabajo.
- Viviendo en áreas donde el aire contiene polvo, donde el aluminio se mina o procesa a aluminio metálico, cerca de algunos sitios de desechos peligrosos o donde hay niveles naturalmente altos de aluminio.
- Ingiriendo sustancias que contienen niveles altos de aluminio (por ejemplo antiácidos), especialmente cuando se ingieren bebidas cítricas al mismo tiempo.
- Los niños y los adultos pueden exponerse a pequeñas cantidades de aluminio en vacunas.
- Muy poco aluminio entra al cuerpo al usar utensilios de cocina de aluminio.

2.9.1.5. Recomendaciones ha hecho el gobierno federal para proteger la salud pública

La EPA recomienda un límite de 0.05 a 0.2 miligramos por litro (mg/L) para aluminio en el agua potable. Este límite no está basado en niveles que pueden afectar a seres humanos o animales, sino que está basado en sabor, olor o color.

La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional de EE. UU. (*OSHA*, por sus siglas en inglés) ha determinado que la cantidad de aluminio en el polvo que respiran los trabajadores no debe exceder 15 miligramos por metro cúbico (mg/m^3) de aire.[12]

---

[12] Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2006. Reseña Toxicológica del Aluminio (versión para comentario público) (en inglés). Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., Servicio de Salud Pública.

2.9.2. Cadmio

El cadmio es un metal blanco azulado, dúctil y maleable. Se puede cortar fácilmente con un cuchillo. En algunos aspectos es similar al zinc.

La toxicidad que presenta es similar a la del mercurio; posiblemente se enlace a residuos de cisteína. La metalotioneína, que tiene residuos de cisteína, se enlaza selectivamente con el cadmio.

Su estado de oxidación más común es el +2. Puede presentar el estado de oxidación +1, pero es muy inestable.

General	
Nombre, símbolo, número	Cadmio, Cd, 48
Serie química	metal de transición
Grupo, periodo, bloque	12, 5, d
Densidad, dureza Mohs	8650 kg/m^3, 2
Apariencia	Plateado gris metálico
Propiedades atómicas	
Masa atómica	112,411 u
Radio medio†	155 pm
Radio atómico calculado	161 pm
Radio covalente	148 pm
Radio de Van der Waals	158 pm
Configuración electrónica	[Kr]4d^{10} 5s^2
Estados de oxidación (óxido)	2 (levemente básico)
Estructura cristalina	Hexagonal
Propiedades físicas	
Estado de la materia	Sólido (_)
Punto de fusión	594,22 K
Punto de ebullición	1040 K
Entalpía de vaporización	100 kJ/mol

FUENTE: http://es.wikipedia.org/wiki/Cadmio

2.9.2.1. Efectos en la salud

El Cadmio puede ser encontrado mayoritariamente en la corteza terrestre. Este siempre ocurre en combinación con el Zinc. El Cadmio también consiste en las industrias como inevitable subproducto de extracciones de Zinc, Plomo y Cobre. La toma por los humanos de Cadmio tiene lugar mayormente a través de la comida. Los alimentos que son ricos en Cadmio pueden en gran medida incrementar la concentración de Cadmio en los humanos. Ejemplos son patés, champiñones, mariscos, mejillones, cacao y algas secas. Una exposición a niveles significativamente altas ocurren cuando la gente fuma. El humo del tabaco transporta el Cadmio a los pulmones. Cuando la gente respira el Cadmio este puede dañar severamente los pulmones. Esto puede incluso causar la muerte. Otros efectos sobre la salud que pueden ser causados por el Cadmio son:

- Diarreas, dolor de estómago y vómitos severos
- Fractura de huesos
- Fallos en la reproducción y posibilidad incluso de infertilidad
- Daño al sistema nervioso central
- Daño al sistema inmune
- Desórdenes psicológicos
- Posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer

2.9.2.2. Efectos ambientales del Cadmio

De forma natural grandes cantidades de Cadmio son liberadas al ambiente, sobre 25.000 toneladas al año. La mitad de este Cadmio es liberado en los ríos a través de la descomposición de rocas y algún Cadmio es liberado al aire a través de fuegos forestales y volcanes. El resto del Cadmio es liberado por las actividades humanas, como es la manufacturación.

Las aguas residuales con Cadmio procedentes de las industrias mayoritariamente terminan en suelos. Las causas de estas corrientes de residuos son por ejemplo la

producción de Zinc, minerales de fosfato y las bioindustrias del estiércol. El Cadmio de las corrientes residuales puede también entrar en el aire a través de la quema de residuos urbanos y de la quema de combustibles fósiles. Debido a las regulaciones sólo una pequeña cantidad de Cadmio entra ahora en el agua a través del vertido de aguas residuales de casas o industrias.

Otra fuente importante de emisión de Cadmio es la producción de fertilizantes fosfatados artificiales. Parte del Cadmio terminará en el suelo después de que el fertilizante es aplicado en las granjas y el resto del Cadmio terminará en las aguas superficiales cuando los residuos del fertilizante son vertidos por las compañías productoras.

El Cadmio puede ser transportado a grandes distancias cuando es absorbido por el lodo. Este lodo rico en Cadmio puede contaminar las aguas superficiales y los suelos.

El Cadmio es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo. Cuando el Cadmio está presente en el suelo este puede ser extremadamente peligroso, y la toma a través de la comida puede incrementar. Los suelos que son ácidos aumentan la toma de Cadmio por las plantas. Esto es un daño potencial para los animales que dependen de las plantas para sobrevivir. El Cadmio puede acumularse en sus cuerpos, especialmente cuando estos comen muchas plantas diferentes. Las vacas pueden tener grandes cantidades de Cadmio en sus riñones debido a esto.

Las lombrices y otros animales esenciales para el suelo son extremadamente sensibles al envenenamiento por Cadmio. Pueden morir a muy bajas concentraciones y esto tiene consecuencias en la estructura del suelo. Cuando las concentraciones de Cadmio en el suelo son altas esto puede influir en los procesos del suelo de microorganismos y amenazar a todo el ecosistema del suelo.

En ecosistemas acuáticos el Cadmio puede bioacumularse en mejillones, ostras, gambas, langostas y peces. La susceptibilidad al Cadmio puede variar ampliamente entre organismos acuáticos. Organismos de agua salada se sabe que son más resistentes al envenenamiento por Cadmio que organismos de agua dulce. Animales que comen o beben Cadmio algunas veces tienen la presión sanguínea alta, daños del hígado y daños en nervios y el cerebro.

2.9.2.3. Toxicidad del cadmio

La exposición al cadmio en los humanos se produce generalmente a través de dos fuentes principales: la primera es la vía oral (por agua e ingestión de alimentos contaminados.) La segunda vía es por inhalación. La población fumadora es la más expuesta al cadmio, porque los cigarrillos lo contienen.

Algunos órganos vitales son blancos de la toxicidad del cadmio. En organismos sobreexpuestos, el cadmio ocasiona graves enfermedades al actuar sobre dichos órganos. Existen actualmente algunas descripciones de posibles mecanismos de toxicidad del cadmio. Sin embargo, la implicación real que este elemento tiene como agente tóxico ha sido poco estudiada, por lo que se considera que debe ser monitoreado. Es de gran importancia llevar a cabo estudios para profundizar en los factores de riesgo y así realizar medidas preventivas en la población.

Una gran parte del cadmio utilizado con fines industriales es obtenido como un producto a partir del fundimiento de rocas que contienen zinc, plomo o cobre. El cadmio tiene muchas aplicaciones en la industria, pero es utilizado con más frecuencia en la elaboración de pigmentos, pilas eléctricas y plásticos.

La aplicación de ciertos fertilizantes o de excremento de animales en el suelo destinado al cultivo de alimentos puede aumentar su nivel de cadmio lo cual, a su vez, causa un aumento en el nivel de cadmio de los productos. El cadmio no se encuentra en cantidades preocupantes en el agua; sin embargo, puede contaminarla cuando ésta viaja a través de las tuberías (que muchas veces están

soldadas con materiales que lo contienen) o cuando entra en contacto con desechos químicos.

La fuente más importante de descarga de cadmio al medio ambiente es la quema de combustibles fósiles (como carbón o petróleo) o la incineración de la basura doméstica común. El cadmio también contamina el aire cuando se funden rocas para extraer zinc, cobre o plomo. Trabajar o vivir cerca de una de estas fuentes contaminantes puede resultar en una sobreexposición al cadmio.

Fumar es otra importante fuente de cadmio. Como muchas plantas, el tabaco contiene cadmio, algo del cual es inhalado en el humo. Muchos fumadores tienen alrededor del doble de cadmio en sus organismos que los no fumadores.

El cadmio entra al torrente sanguíneo por absorción en el estómago o en los intestinos luego de la ingestión de comida o agua, o por absorción en los pulmones después de la inhalación. Muy poco cadmio entra al cuerpo a través de la piel. Usualmente sólo es absorbido por la sangre alrededor del 1 al 5% del cadmio que es ingerido por la boca, mientras que se absorbe alrededor del 30 al 50% del que es inhalado.

De cualquier forma, una vez que el cadmio se absorbe es fuertemente retenido; así que incluso bajas dosis de este metal pueden constituir un nivel significativo en el organismo si la exposición se prolonga durante un largo periodo.

Una vez absorbido el cadmio, es transportado por el torrente circulatorio hasta el hígado, en donde se une a una proteína de bajo peso molecular. Pequeñas cantidades de ese complejo proteína-cadmio pasan continuamente del hígado al torrente sanguíneo, para ser transportado a los riñones y filtrado a través de los glomérulos, para posteriormente ser reabsorbido y almacenado en las células tubulares del riñón. Este último órgano excreta del 1 al 2% del cadmio tomado directamente de las fuentes ambientales, lo que provoca una gran acumulación de cadmio en los riñones. La concentración del metal en el riñón es

aproximadamente 10 mil veces más alta que en el torrente sanguíneo. La excreción fecal del metal representa una mínima cantidad de cadmio no absorbido en el sistema gastrointestinal. Por otra parte, se estima que la vida biológica del cadmio en los humanos varía entre 13 y 40 años.

No se sabe que el cadmio tenga algún efecto benéfico. Más bien puede causar algunos efectos adversos en la salud. Aunque las exposiciones prolongadas son extremadamente raras actualmente, la ingestión de altas dosis es causa de severas irritaciones del estómago, vómito y diarrea y su inhalación causa graves irritaciones en los pulmones.

En trabajadores de fábricas, en donde el nivel de concentración de cadmio en el aire es alto, han sido observados severos daños en los pulmones, tales como enfisema.

En animales expuestos durante largos periodos al cadmio por inhalación, se ha observado la aparición de cáncer de pulmón. Estudios en seres humanos también sugieren que una inhalación prolongada de cadmio puede resultar en incrementar el riesgo de contraer cáncer pulmonar, como en el caso de los fumadores. No hay evidencia de que la ingestión de cadmio por la vía oral sea causante de cáncer.

Ha sido también observada alta presión arterial en animales expuestos al cadmio. Aún no se sabe si la exposición al cadmio desempeña un papel importante en la hipertensión humana.

Otros tejidos también son dañados por exposición al cadmio (en animales o humanos) incluyendo al hígado, los testículos, el sistema inmunológico, el sistema nervioso y la sangre. Efectos en la reproducción y el desarrollo han sido observados en animales expuestos al cadmio, pero no han sido reportados aún en seres humanos.

2.10. INDUSTRIA GALVANICA.

Las industrias de galvanotecnia son un conjunto de industrias dedicadas a la fabricación de productos metálicos, que consiste en ciertas técnicas de obtención, por vía electrolítica, de un recubrimiento metálico sobre una superficie que puede ser o no metálica. El objetivo del recubrimiento es mejorar la apariencia del objeto base, protegerlo de la corrosión y mejorar alguna propiedad superficial, en algunos casos.

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 zinc, cadmio y estaño.

Existen dos tipos de procesos en la galvanotecnia: galvanoplastia y galvanostegia. El primero se refiere al proceso en que los recubrimientos metálicos se hacen sobre las superficies de materiales no conductores; mientras que en le segundo, los recubrimientos siempre se realizan sobre elementos metálicos (acercar.org). A continuación se describen los procesos de galvanoplastia y galvanostegia según La Unidad de Asistencia para la Pequeña y Mediana Industria (ACERCAR).

2.10.1. Galvanoplastia.

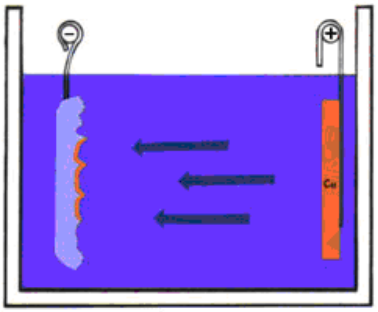
La galvanoplastia consiste en la electrodeposición de un metal sobre una superficie no metálica (principalmente plásticos) para mejorar sus características. Con ello se consigue proporcionar dureza, duración, o ambas.

En el proceso existen dos tipos de revestimiento: uno de capas conductoras y otro sobre matrices negativas de las que se separan posteriormente las capas metálicas. El primer proceso se emplea principalmente con fines decorativos para reproducir por medios electroquímicos objetos de muy finos detalles y en

muy diversos metales. En el segundo proceso se obtienen piezas moldeadas como monedas, objetos de plástico, cilindros para impresión, entre otros.

En algunos casos las partes del plástico se metalizan directamente para lograr objetos con acabado metálico, como es el caso de la bisutería, tapas de recipientes para perfumes, algunas autopartes, placas para circuitos impresos, artículos para el hogar, griterías, etc. (acercar.org).
El proceso puede resumirse en el traslado de iones metálicos desde un ánodo (carga positiva) a un cátodo (carga negativa) en un medio líquido (electrolito), compuesto fundamentalmente por sales metálicas y ligeramente acidulado.

FIGURA 5. Traslado de iones metálicos desde un ánodo a un cátodo.



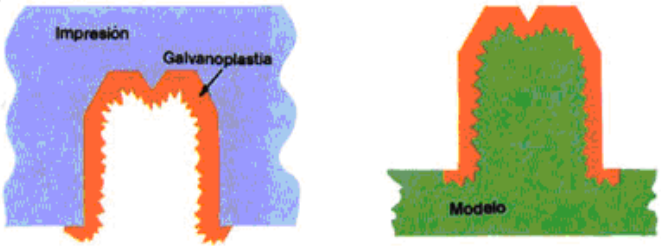
Fuente: GREGORIO G., Oscar R. Dpto. Galvanoplastia de Laboratorio. Técnico de Desarrollos Técnicos GETRI, S. I. (libro en línea). Disponible en Internet: http://www.getri.es/librogalv.htm

La deposición de los iones metálicos sobre la superficie preparada para recibirlos se efectúa siguiendo fielmente los detalles que componen dicha superficie, cohesionándose las moléculas al perder su carga positiva y adhiriéndose fuertemente entre ellas, formando así una superficie metálica, con características correspondientes al metal que la compone.

Este proceso, aplicado a una impresión (de silicona), permite una fiel y exacta reproducción de la superficie interior de dicha impresión, en una capa metálica, dura y consistente, que se corresponde perfectamente con el positivo original.

Una vez formada la capa metálica en el interior de la impresión y efectuado el vaciado, ya sea en escayola o resina, se advierte fácilmente que el metal electro depositado ocupa entonces el lugar que normalmente sería del material del vaciado.

FIGURA 6. Molde de las piezas de galvanotecnia



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

En general el proceso de metalizado de plásticos comprende las siguientes etapas:

2.10.1.1. Desengrase.

Esta etapa tiene como objetivo eliminar todos los aceites y grasas desde la superficie y los elementos extraños presentes en la superficie de la pieza a tratar, que podrían interferir en las etapas siguientes. Para ello, se sumerge la pieza en una solución alcalina como carbonato de sodio, de soda, de detergentes y de tensoactivos calentados a una temperatura de entre 60 y 80°C. Una vez desengrasadas, las piezas se enjuagan con agua para remover la solución desengrasante de la superficie del metal y evitar contaminación de los baños siguientes.

2.10.1.2. Decapado.

El decapado tiene por objeto aumentar la profundidad (a nivel microscópico) de las irregularidades de la superficie. De esta forma se producen dos efectos que son fundamentales para los procesos siguientes. La luz, al proyectarse en la superficie rebota en las cavidades entregando un reflejo opaco (objetivo que se persigue con el anodizado de una pieza). En segundo lugar, produce una superficie que presenta mejores características para anclar un sustrato diferente en los procesos siguientes. Esta etapa normalmente se efectúa con ácidos o álcalis, como lo es el ácido clorhídrico adicionado con un inhibidor. Al finalizar esta etapa, se enjuagan de nuevo las piezas con agua.

2.10.1.3. Activado.

El proceso de activado, también llamado neutralizado e inclusive decapado suave, se utiliza para eliminar la pequeña capa de óxido que se ha formado sobre la superficie del metal una vez que la superficie ha sido tratada o lavada en sucesivas etapas. Esa pequeña capa de óxido hace que la superficie sea pasiva y por lo tanto mal conductora. Las soluciones empleadas son por lo general ácidos muy diluidos. Los activados permiten asimismo eliminar manchas generadas por compuestos orgánicos y/o inorgánicos.

2.10.2. Sensibilización y Activación De La Superficie.

Consiste fundamentalmente en la adsorción en la superficie del plástico de un metal fácilmente oxidable. La superficie sensibilizada es expuesta a una solución de paladio u otros metales preciosos, para que a través de una reacción galvánica el paladio se deposite en la superficie del plástico y actúe como catalizador.

2.10.2.1. Post-Nucleación.

Cuando la etapa de Nucleación se hace inmediatamente después del acondicionamiento es necesario usar un agente reductor para formar el catalizador de paladio. Los agentes más comunes son: formaldehido, hipofosfito, hidracina.

2.10.2.2. Pre-Metalizado.

Se realiza un pre-metalizado previo sin uso de corriente con soluciones que contienen cobre o níquel, donde se hace la superficie conductora mediante un proceso autocatalítico. El objetivo es lograr una superficie suficientemente conductora para el posterior proceso electrolítico.

2.10.2.3. Metalizado.

Cuando la superficie plástica se encuentra ya conductora, el metalizado se realiza como cualquier otro metal.

2.10.2.4. Galvanostegia.

Se refiere a los recubrimientos hechos electrolíticamente sobre superficies metálicas. Son realizados de dos maneras diferentes, en forma catódica o anódica, dependiendo de si la pieza se coloca para su tratamiento en el Terminal anódico o catódico del circuito.

La galvanoestegia catódica tiene tres objetivos fundamentales:

- Ejercer protección contra la corrosión,
- Mejorar el aspecto de las piezas,
- Incrementar las propiedades superficiales, como dar mayor dureza, mejorar la conductividad, ejercer lubricación, etc.

La galvanoestegia anódica conocida comúnmente como anodinado, implica la formación de películas de óxido del mismo metal para que aísle y proteja las piezas metálicas.

En general, los talleres de galvanotécnicos se pueden clasificar en dos categorías: talleres de servicio y talleres integrados. Los talleres de servicio a su vez se dividen en talleres de pulido y brillo y talleres de acabado.

2.10.2.5. Talleres De Pulido Y Brillo[13].

Se encargan de convertir las superficies de las piezas metálicas rugosas en brillantes mediante un tratamiento mecánico. Existen dos tipos de talleres de pulido y brillo.

- Pulido y brillo mecánico: la operación consta de varias etapas, en las cuales la rugosidad es eliminada paulatinamente por la acción abrasiva de discos elaborados con diferentes materiales.
- Pulido electrolítico: la superficie pulida y brillada mecánicamente, puede ser sometida a un pulido electrolítico utilizando como ánodo la pieza y como electrolito una mezcla de ácido sulfúrico (40%), ácido fosfórico (40%), glicerina y agua en proporciones que dependen del metal base de la pieza.

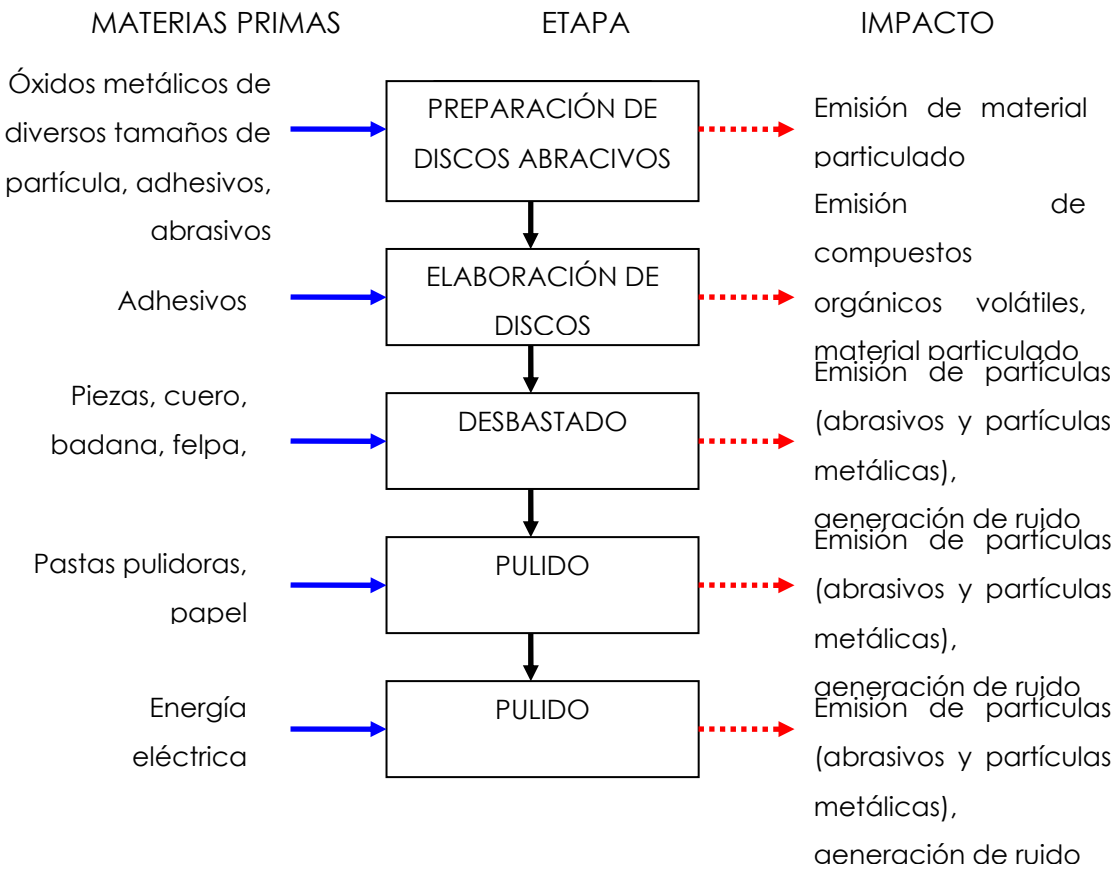
Un taller de pulido y brillo posee las siguientes etapas:

- Preparación de discos abrasivos: en éstos se emplean óxidos metálicos de diferente tamaño de partícula y adhesivos.
- Desbastado de la pieza: se eliminan las partes rugosas para obtener una superficie más lisa.

[13] Guía de buenas prácticas para el sector de galvanotecnia. Ministerio del Medio Ambiente, Dirección general ambiental sectorial. FUNDES, la red de soluciones empresariales. p. 67

- Pulido: se utilizan pastas pulidoras para lograr una superficie definitivamente lisa y uniforme por todo el contorno.
- Brillado.

FIGURA 7. Diagrama de flujo de las etapas de taller de pulido y brillo en Galvanoestegia



Fuente: Acercar. Unidad de asistencias para la pequeña y mediana industria. Manuales de buenas prácticas. Galvanotecnia (manuales en línea). Disponible en Internet: http://www.acercar.org.co/industria/manuales/galvanotecnia.html

Talleres de Servicio De Acabado[14].

Las operaciones típicas son:

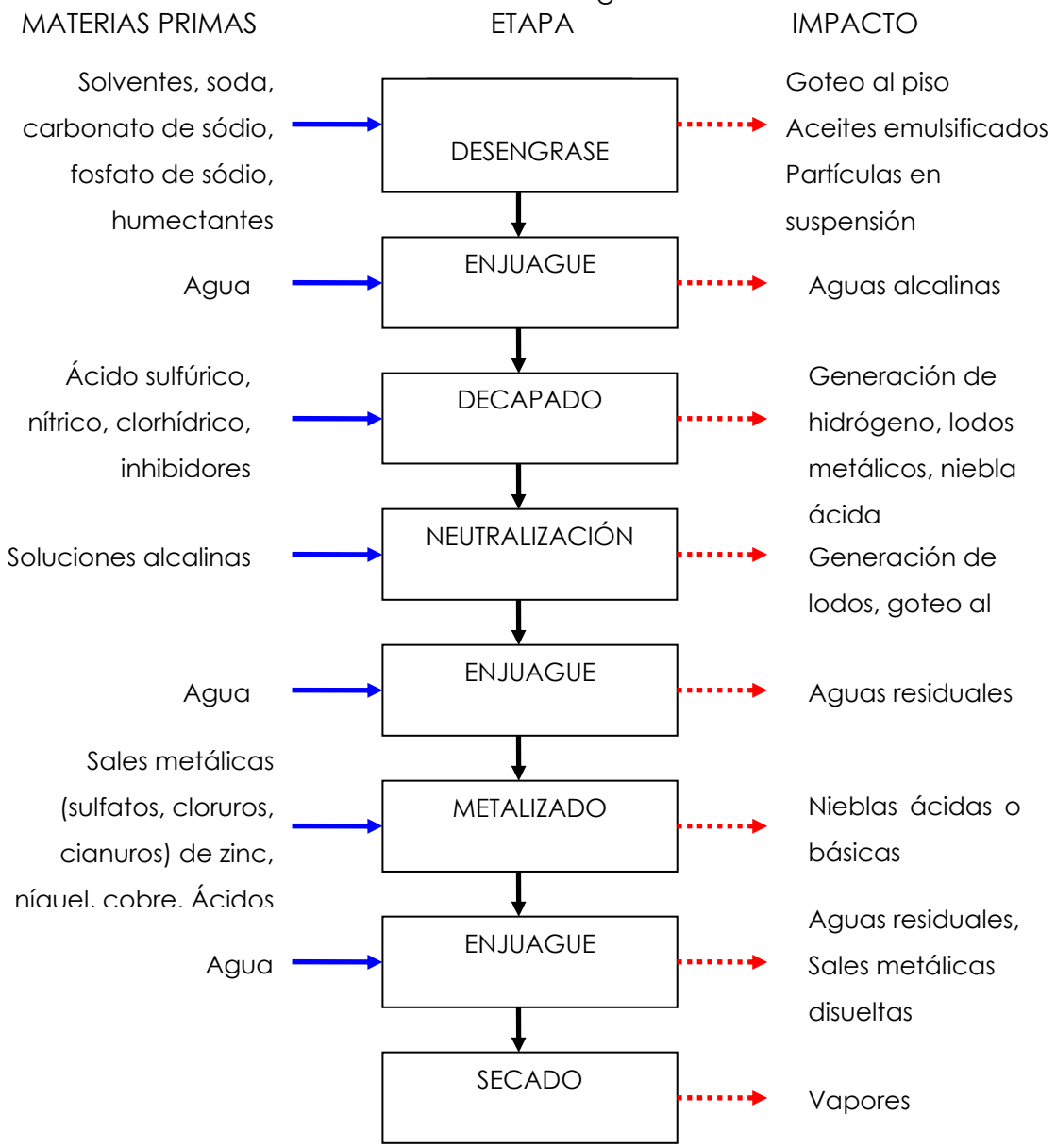
- Preparación de la superficie: la superficie pulida y brillada mecánicamente, puede ser sometida a un pulido electrolítico utilizando como ánodo la pieza y como electrolito una mezcla de ácido sulfúrico (40%), ácido fosfórico (40%), glicerina y agua en proporciones que dependen del metal base de la pieza.
- Desengrase: se realiza para quitar los restos de grasa, aceite o suciedades que existen en las piezas producto de las operaciones de corte y se efectúa electrolíticamente o por inmersión de las piezas en soluciones alcalinas o solventes orgánicos. Estas operaciones se llevan a cabo a temperaturas superiores de 60 °C.
- Enjuague: entre cada una de las etapas es necesario realizar un enjuague con agua limpia, bien sea por inmersión o por aspersión para remover las trazas de soluciones que quedan adheridas a la pieza y de esta manera no contaminar los baños de la etapa posterior.
- Decapado: su objetivo es eliminar las capas de óxido formadas en la superficie de las piezas metálicas debido al contacto entre éstas y la atmósfera. Se realiza sumergiendo las piezas en una solución que puede ser ácida o alcalina según el proceso.
- Neutralización: después del decapado y a pesar del enjuague, pueden quedar restos de ácidos que dan lugar a la formación de hidrógeno naciente y a cambios en el pH de las soluciones de metalizado, utilizando la inmersión en soluciones alcalinas.
- Electrólisis: la pieza es colocada como ánodo o como cátodo dependiendo del tipo de proceso, conectada a un rectificador o generados de corriente y sumergida en el electrolito que contiene en solución los iones metálicos que se dan de depositar sobre su superficie.

[14] Ibid.,p.68

Previo a este proceso electrolítico se efectúa el enganche de las piezas en bastidores diseñados para tal efecto.

- Secado: puede permitirse secado al ambiente o realizarse utilizando aire caliente.

FIGURA 8. Diagrama de flujo de las etapas de taller de acabado en Galvanoestegia



Fuente: Acercar. Unidad de asistencias para la pequeña y mediana industria. Manuales de buenas prácticas. Galvanotecnia (manuales en línea). Disponible en Internet: http://www.acercar.org.co/industria/manuales/galvanotecnia.html

3. INDUSTRIA EVALUADA

Para el desarrollo del proyecto contamos con la colaboración de la empresa NICROZINC LTDA industria colombiana, la cual se encuentra ubicada en la Cra 68D BIS Nº 3-58 Sur barrio Galán, contamos especialmente con la colaboración del Gerente General, Romualdo Virgüez.

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

NICROZINC LTDA es una pequeña empresa comprometida con brindar soluciones óptimas y satisfacer las necesidades de los clientes y distribuidores a través del desarrollo de recubrimientos electrolíticos de alta calidad para el mercado de las autopartes, en términos de calidad, servicio y precios competitivos al igual que adquirir compromisos en términos de mejoramiento de la calidad y en un proceso de mejora continua adquiriendo los insumos con base en lo acordado con el

cliente y manteniendo un sistema de calidad de acuerdo a los estándares establecidos.

Los procesos de recubrimientos electrolíticos o químicos consisten en depositar por vía electroquímica finas capas de metal sobre la superficie de una pieza sumergida en una solución de iones metálicos o electrolito. En este proceso se usan productos químicos relativamente puros, sales y metales, de forma que durante la operación se depositan completamente los metales empleados sobre las piezas. Los principales metales utilizados para tal fin son zinc, cromo y níquel, entre otros.

3.1. MATERIA PRIMA

Las principales materias primas utilizadas en la empresa NICROZINC LTDA, son:

- Cromo
- Níquel
- Zinc
- Tecnizinc 90 ATE
- Azul ZN (polvo)

3.2. PROCESO DE RECUBRIMIENTO

La deposición de un determinado metal puede obtenerse a partir de baños o electrolitos de diferente composición. Las propiedades específicas de los recubrimientos dependen de los componentes del electrolito utilizado. La calidad de recubrimiento exigida para un campo de aplicación específico, sólo puede cumplirse manteniendo unas condiciones de trabajos constantes y definidos y realizando un seguimiento exhaustivo de los mismos. La estabilidad a largo plazo de los electrolitos, de gran importancia para minimizar la generación de baños electrolíticos contaminados a tratar, requiere un seguimiento continuo de

concentraciones de los compuestos básicos, las condiciones físicas y las contaminaciones orgánicas e inorgánicas. Asimismo hacen necesario un mantenimiento y una limpieza del baño para eliminar partículas y sustancias contaminantes.

3.3. EQUIPOS UTILIZADOS

En la empresa NICROZINC LTDA, pata el desarrollo de su actividad, cuentan con los siguientes equipos:

- Cubas electrolíticas: Son depósitos que contienen las soluciones galvánicas, las cuales son preparadas en las mismas, estas tinas pueden ser de: PVC, plástico, fibra de vidrio, hierro recubierto con fibra de vidrio, hierro esmaltado, etc., dependiendo mucho de la capacidad y del tipo de solución (ácido o base a contener).
- Calentadores
- Agitación
- Filtración
- Rectificadores de corriente
- Conductores
- Bastidores
- Pulidores
- Amperímetros y voltímetros
- Instrumentos de control: pH metros, termómetro, cronómetro.
- Ánodos

4. MARCO LEGAL

4.1. DECRETO No. 1594 DEL 26 DE JUNIO DE 1984

El Decreto 1594 de 1984, reglamenta los usos del agua y el manejo de los residuos líquidos.

Este decreto se designa como vertimiento líquido a cualquier descarga líquida hecha a un cuerpo de agua o a un alcantarillado, como sustancias de interés sanitario a diferentes contaminante entre los que se encuentran el aluminio y cadmio.

ARTICULO 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 estuarinas son las siguientes:

Tabla 6. Los criterios de calidad admisibles de cadmio y aluminio

Referencia	Expresado como	VALOR		
		Agua fría dulce	Agua cálida dulce	Agua marina y estuarina
Cadmio	Cd	0.01 $CL^{96}{}_{50}$	0.01 $CL^{96}{}_{50}$	0.01 $CL^{96}{}_{50}$
Aluminio	Al	5 mg/Lt		Para la destinación del recurso para uso agrícola

Fuente: Articulo 45 y 40, decreto 1594 de 1984

ARTICULO 72. Todo vertimiento a un cuerpo de agua deberá cumplir, por lo menos, con las siguientes normas:

Tabla 6. Los criterios de calidad admisibles de cadmio

PARAMETRO	NORMA
pH	5 a 9 unidades
Temperatura	< 40° C.
Material flotante	Ausente
Grasas y aceites	Remoción >80% en carga
Sólidos suspendidos, domésticos o industriales	Remoción >50% en carga
DBO_5 para desechos domésticos	Remoción >30% en carga
DBO_5 para desechos industriales	Remoción >20% en carga

Fuente: Articulo 72, decreto 1594 de 1984.LOS AUTORES,2008

ARTICULO 74. Las concentraciones para el control de la carga de las siguientes sustancias de interés sanitario, son:

Tabla 7. Los criterios de calidad admisibles de interés sanitario cadmio

SUSTANCIA	EXPRESADA COMO	CONCENTRACIÓN (mg/l)
Cadmio	Cd	0.1

Fuente: Articulo 74, decreto 1594 de 1984

4.2. RESOLUCIÓN 1074 DE 1997

Establece estándares ambientales en materia de vertimientos, los cuales se hacen necesarios para prevenir, controlar y mitigar los impactos ambientales a los recursos naturales en el Distrito Capital. Se determinan valores máximos permisibles para poder verter residuos líquidos, tanto en la red de alcantarillado público, como en cuerpos de agua

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

Concentraciones máximas permisibles para vertir a un cuerpo de agua y/o red de alcantarillado público.

Tabla 8. Estándares establecidos vertimiento de residuos líquidos a la red de alcantarillado público

PARÁMETRO	EXPRESADA COMO	NORMA (mg/L)
Cadmio	Cd (mg/l)	0.003
DBO5	(mg/l)	1000
DQO	(mg/l)	2000
Ph	Unidades	05-sep
Sólidos suspendidos Totales	SST (mg/l)	800
Temperatura	Grados Centígrados (º C)	<30

Fuente: Articulo 3, resolución 1074 de 1997

Tabla 7. Comparación internacional de agua potable

MAXIMA CONCENTRACION ADMISIBLE	
EMITIDA	ALUMINIO (mg/Lt)
USEPA	0,05-0,2
EEC	0,2
JAPAN	0,2

FUENTE. **DIRECCIÓN GENERAL DE ASUNTOS AMBIENTALES MINEROS**

5. METODOLOGIA

5.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este método consiste en la exposición de organismos representativos en la cadena trófica como la "Trucha Arco Iris (Oncorhynchus Mykiss)", a varias concentraciones de Cloruro de Cadmio hidratado y Acetato de Aluminio para un período de 96 horas, en las condiciones que mas adelante nombraremos en forma detallada. Tal procedimiento permite determinar CL_{96}^{50} de Cd y Al en la prueba.

Para ello tendremos en cuenta las siguientes variables:

- **Variable independiente:** La variable que se manejo como independiente durante la realización de las pruebas de toxicidad fue la concentración de las sustancias de interés (Dicromato de potasio), buscando establecer un efecto sobre una determinada población en donde todas las unidades experimentales son homogéneas.
- **Variable dependiente:** Se manejo como variable dependiente la concentración letal media del cadmio y el aluminio en un tiempo de

exposición de 96 horas, dado que éste resultado depende de los efectos del ión tóxico del cadmio y el aluminio presente en los organismos de prueba.

- **Constantes:** Permanecieron constantes los organismos empleados en cada ensayo (5 alevinos de trucha por pecera), tiempo de exposición (96 horas) y los parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH y oxigeno disuelto). Estos parámetros fueron controlados con el fin de cumplir con los protocolos internacionales, validados para éste tipo de ensayo.

El método se ejecuta en dos fases:

a) Prueba preliminar que permite establecer el intervalo de concentraciones a ser usado en la prueba definitiva;

b) Prueba definitiva que permite determinar CL_{96}^{50}

El sistema estático se recomienda para sustancias estables en medio acuoso y aquéllos de solubilidad alta y en lo posible, el análisis químico de sustancias aprobadas.

5.1.1. EQUIPOS

- Balanza analítica.
- Medidor de Multiparametro
- Medidor de pH (cintas).
- Pipetas volumétricas.
- Recipiente-Prueba (Bomboneras de vidrio).
- Acuarios de 100 litros.

Nota: Todo material que entre en contacto con la sustancia debe ser preferencialmente de vidrio.

5.1.2. REACTIVOS

- DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$)
- CLORURO DE CADMIO ($CdCl_2$)
- SULFATO DE ALUMINIO $Al_2(SO_4)_3$.

5.2. LAVADO DE MATERIALES

Para reutilizar la vidriería en las pruebas de toxicidad debe lavarse con detergente y enjuagarse con agua del grifo, acetona pura y agua destilada.
La vidriería a ser utilizada en pruebas de toxicidad debe ser previamente lavada con soluciones adecuadas para la remoción de contaminantes y enjuagar con agua destilada.

5.3. ORGANISMO-PRUEBA

Los peces deben mantenerse en aclimatación por una semana, antes de empezar la prueba, en los acuarios con: el volumen apropiado y el aireador.
Deben desecharse los individuos con malformaciones, aceptándose una mortalidad del 5% de la población. Cuando la mortalidad de la porción está entre 5% y 10%, verificar las posibles causas y, si necesario, someter el pez al tratamiento para el uso subsecuente.
El alimento de los organismos debe interrumpirse 24 horas antes de la prueba.

5.4. PRUEBA DE SENSIBILIDAD

Evaluar la sensibilidad de la población reunida, a través de la determinación de CL (I) 50; 96h, con Dicromato de potasio ($K_2Cr_20_7$).

5.5. PRUEBA TOXICOLOGICA

Se realizaron pruebas preliminares utilizando rangos entre 0.01 y 1 ppm para cadmio y aluminio, teniendo en cuenta el decreto 1594 de 1984, donde

establece los criterios de calidad admisibles, para la destinación del recurso para preservación de flora y fauna en aguas dulces. Posteriormente con los datos obtenidos en el ensayo preliminar, se realizaron las diez (10) pruebas definitivas, empleando 5 alevinos de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* por pecera, baterías de cinco concentraciones más el control y cuatro réplicas por ensayo con un total de 24 peceras por prueba toxicológica, 120 organismos por montaje, todo teniendo en cuenta la metodología CETESB, Como se muestra a continuación:

FIGURA 9. Montaje para la prueba

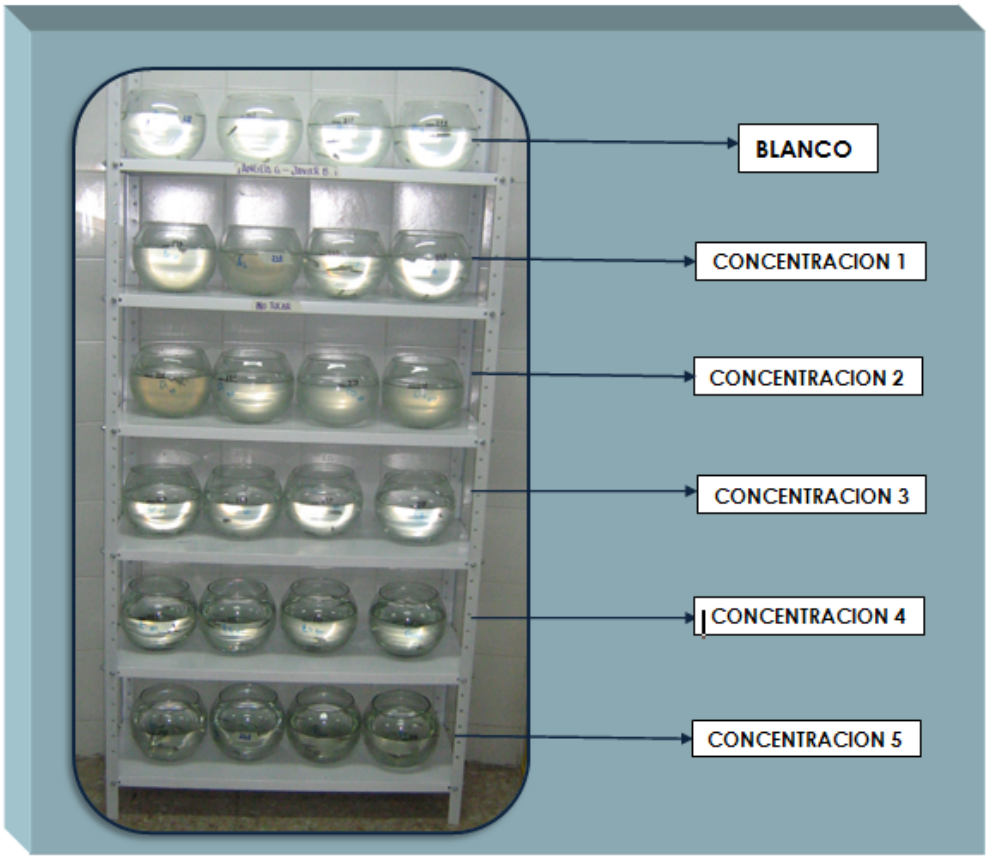


FIGURA 6. FUENTE LOS AUTORES,2008

Para la ejecución de la prueba toxicológica es necesario seguir los siguientes pasos:

a) Airear por un lapso de 15 días 50 Litros de agua del grifo
b) Proceder a preparar la solución tóxica de acuerdo a los reactivos mencionados en el numeral 5.1. y llevarlos a 500 ppm.
c) Llenar las bomboneras a un litro, agregar la solución preparada y llevar con el agua preparada a 2 litros.
d) Agregar 5 peces en cada bombonera
e)
f) Realizar las lecturas de acuerdo a las horas establecidas en la hoja de resultados.
g) Al terminar la prueba lavar las bomboneras cuidadosamente, de tal manera de no dejar ningún tipo de residuos que pueda afectar futuras pruebas.

FIGURA 10. Ejecución de la prueba toxicológica

FUENTE: LOS AUTORES FIGURA 7. Desarrollo de la prueba.

Una vez obtenidos los datos se ingresan en el programa PROBIT y ANOVA, para su posterior evaluación. [15]

Utilizando el protocolo LBp03, análisis de regresión y análisis probit, donde se da a conocer el procedimiento para la obtención de la misma; los datos obtenidos a partir del experimento diseñado estadísticamente, fueron analizados por el método conocido como Análisis de Varianza (ANOVA). Ésta es una técnica que consiste en aislar y estimar las varianzas separadas que contribuyen a la varianza total de un experimento; es entonces posible, ensayar si ciertos factores producen resultados significativos diferentes de las variables ensayadas.

5.6. Mantenimiento de los peces en el laboratorio

Los peces fueron obtenidos de la estación piscícola Truchas Suralá en Chocontá Cundinamarca. Se trajeron en bolsas de polietileno calibre tres de 100 x 40 cm a las que se le agregaron un promedio de 300 alevinos por bolsa, los peces de 4cm de tamaño y 15 días de nacidos, adicionando oxigeno para transportarlos en adecuado estado de salud. Los alevinos se aclimataron en 2 acuarios de 100 litros y 4 de 50 litros.

5.6.1. Preparación Del Agua

Para preparar el agua donde se mantendrán los alevinos de la "trucha arcoíris" es indispensable airear con 8 días de anticipación, con el fin de bajar las concentraciones de cloro residual presente en el agua, además se emplearon aireadores para lograr la cantidad necesaria de oxigeno disuelto y se llevó un control de la temperatura, oxigeno disuelto y pH del agua, obteniendo los siguientes valores OD: 6.2 mg/l, T: 17 °C y pH: 7.2

[15] Agua-teste de toxicidades aguda com peixes- sistema estático

5.6.2. Aclimatación De Los Organismos Prueba

a) Sumergir las bolsas donde vienen los alevinos en los acuario donde se desean ubicar más tarde, por un lapso no menor a 1 hora con el fin de evitar un choque térmico.
b) Tomar en las mallas los peces poco a poco introduciéndolos allí cuidadosamente y en pequeños grupos.
c) Tapar las peceras con bolsas negras con lo que se pretende que se estresen al mínimo y alimentar hasta las 3 horas siguientes.

FIGURA 11. Aclimatación De Los Organismos Prueba

FUENTE: LOS AUTORES 2008

5.6.3. Alimentación

El alimento puede ser obtenido en casas de acuario en forma de pellets siendo importante conocer la proporción de su componente principal.

La cantidad recomendada para los peces juveniles es del 5% al 7% de alimento diario respecto del peso corporal. Estos fueron alimentados dos veces al día

5.6.4. Mantenimiento de los peces en su proceso de aclimatación

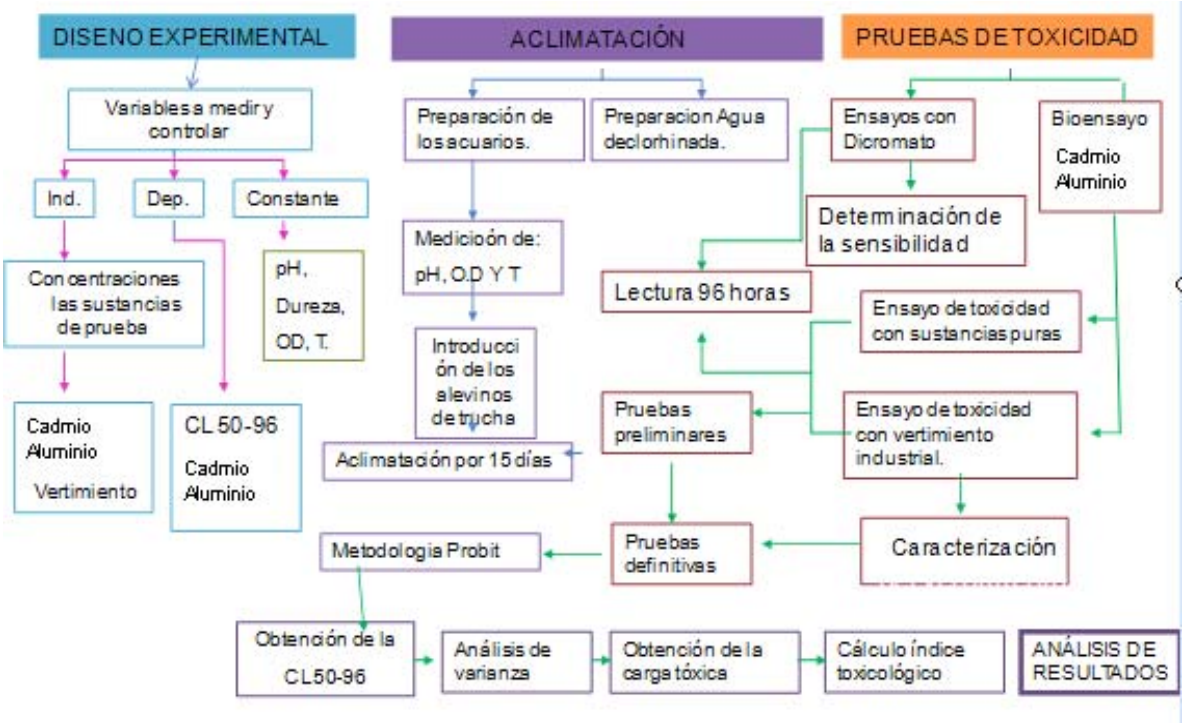
Durante el proceso de aclimatación, los acuarios deben ser limpiados por medio de una aspiradora, para remover las excremento de los peces y el exceso de comida presente en el agua, esto para evitar que el amonio generado produzca la muerte de los alevinos de trucha arco iris es decir lo primordial es que el agua debe estar limpia y el laboratorio libre de vapores tóxicos en caso de presentarse algunas enfermedades el siguiente cuadro sugiere algunos tratamientos para erradicar o prevenir futuras enfermedades:

TABLA 6. Tratamientos para erradicar o prevenir futuras enfermedades

ENFERMEDAD	SUBSTANCIA QUIMICA	CONTRACION(mg/l)	DURACION DEL TRATAMIENTO
BACTERIAS EXTERNAS	Terramicina	25	30-60 minutos
	Penicilina G. procaina	(3 ml /378 Lt)	48-72 horas
TREMATODOS MONOGENETICOS, HONGOS Y PROTOZOARIOS EXTERNOS	Formalina	250	60 minutos
	Permanganato de potasio	02-jun	30-60 minutos
	clorato de Sodio	140000-300000	5-10 minutos
		2000 - 4000	indefinidamente como minimo 24 horas
	Verde de malaquita	2	6 horas

FUENTE: Agua-teste de toxicidades aguda com peixes- sistema estático

FIGURA 12: Metodología para la determinación de la concentración letal media.



5.7. OBTENCIÓN DE RESULTADOS.

El valor se calcula con una confiabilidad del 95%. La estimación de este valor sigue un modelo matemático que asume relación continua entre dosis y respuesta. Este valor se obtiene por medio del método Probit, obteniéndose la CL^{50}-$_{96}$ con sus respectivos límites de confianza, para ello se realizó el protocolo LBp03 "Análisis de regresión y Análisis Probit". Después de tener este resultado se procede a realizar el análisis de varianza según el protocolo LBp04 "Análisis de varianza" para comprobar que a diferentes concentraciones de la sustancia pura o vertimiento, produce un diferente efecto en todos los organismos.

5.6.1. Obtención de la carga tóxica e índice toxicológico

La carga e índice toxicológico se realizó con el fin de evaluar y clasificar el vertimiento que contiene metales.

Para el cálculo del índice toxicológico se contó con la información del nivel trófico afectado *(Onchorhyncus mykiss)*, caudal del vertimiento industrial, 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).[16]

$$C\arg aTóxica(UT) = \frac{100}{CL50} \times \overline{Q}$$

En donde:

- CL 50: Concentración letal media (Concentración del efluente que produjo la mortalidad del 50% de los organismos expuestos en un período de 96 horas).
- $\overline{Q}$: Caudal promedio del efluente, el cual varía según la producción de la empresa evaluada.

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:

$$IT = Log\,(1 + UT)$$ [17]

[16] ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando Daphnia Pulex para la evaluación de muestras ambientales.1997

Con el 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, los cuales se encuentran consignados en el cuadro 6:

TABLA 7. 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: Pedro Escobar, 2007

5.6.2. Análisis de varianza para las pruebas toxicológicas.

Para lograr un análisis de varianza adecuado se siguió el protocolo LBp04 "Análisis de varianza", el cual se encuentra en el laboratorio de bioensayos de la facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.

Se inicia postulando una hipótesis nula y una hipótesis de alternativas para la realización de la ANOVA, como se muestra a continuación:

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

Para el análisis del resultado se debe tener en cuenta la siguiente condición:
Fc > Ft: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.
Fc< Ft: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

Para determinar si dos variables difieren o no significativamente una de la otra, debemos hacer uso de la distribución F, ésta distribución fue escrita por primera vez por el estadístico R.A. Fisher.
Inicialmente se deberá comenzar buscando el número de grados de libertad del grupo al que corresponda la varianza más pequeña. Una vez hallada y moviéndonos por la columna determinaremos la entrada del número de grados de libertad del grupo al que corresponda la varianza mas grande.

En este punto establecido, podremos concretar el valor crítico de F, el cual es necesario para rechazar la hipótesis nula, punto en el cual se plantea si no hay diferencias entre la varianza. La F, por si misma, se define como:

$$F: \frac{S^2 \text{ (varianza más grande)}}{S^2 \text{ (varianza más pequeña)}}$$

Para el estudio encontramos el valor crítico para F= 2.7728, por ello si Fc (calculado) es mayor que Ft (teórico), se rechaza la hipótesis nula.

5.6.3. Comparación de los resultados.

Las concentraciones letales medias del cadmio y aluminio, obtenidas en la presente investigación, fueron comparadas con otros resultados conseguidos en laboratorios de investigación en Colombia y en el exterior, para validar los resultados obtenidos.

5.7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

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

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

5.7.1. Ensayos de sensibilidad con dicromato de potasio ($k_2cr_2o_7$).

Para obtener la sensibilidad de la trucha arco iris *(Oncorhynchus mykiss)*, se calculo la concentración letal media $CL^{50}{-}_{96}$ tomando como referencia el Dicromato de Potasio, según lo establecido por la CETESB (Brasil), metodología que se ha venido trabajando en los anteriores grupos de investigación de Bioensayos de la facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.

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

FIGURA 14. Montaje de la prueba de toxicidad con Dicromato de Potasio.

Fuente: Autores 2008

CUADRO 8. Carta de control de Sensibilidad con Dicromato de Potasio.

FECHA	CL50 (mg/L)	LIMITE INFERIOR (mg/L)	LIMITE SUPERIOR (mg/L)
05/11/2007	63.06	54.00	73.15
21/11/2007	58.94	50.72	67.15
01/12/2008	53.27	46.30	59.61
01/18/2008	53.36	48.37	61.79
01/25/2008	64.65	58.08	70.92
02/08/2008	60.25	52.45	67.89
02/15/2008	57.50	49.94	64.65
02/29/2008	51.45	43.94	58.39
03/07/2008	62.62	54.92	70.29
03/14/2008	59.70	52.21	66.91
03/28/2008	60.19	52.20	68.10
04/04/2008	54.27	46.44	61.69
04/11/2008	56.08	48.15	63.69
04/18/2008	52.85	44.03	61.88
04/25/2008	49.79	43.31	55.55
05/02/2008	48.86	41.24	55.99
05/09/2008	58.10	51.02	64.76
05/16/2008	59.89	53.05	66.39
PROMEDIO	**56.43**	**49.10**	**63.66**

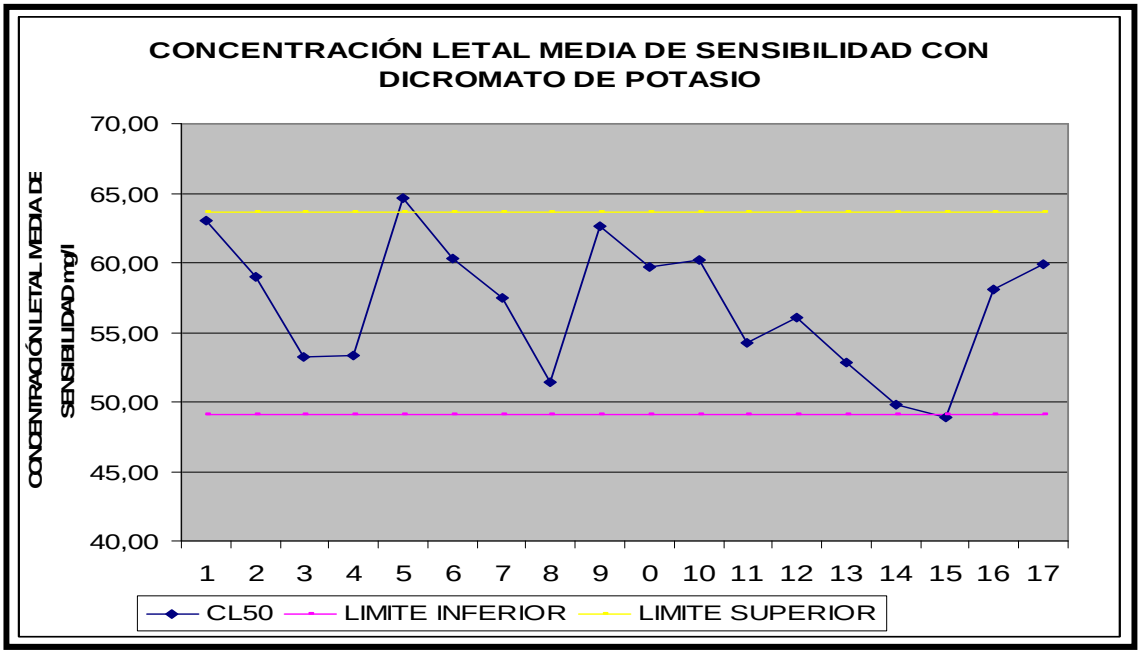
Fuente: los autores

Como resultado de la concentración letal media para la obtención de la sensibilidad de los organismos frente al tóxico de referencia en la investigación, sus límites de confianza son:

- Límite inferior: 49,19 mg/L
- **CL_{50-96}: 56,43 mg/L**
- Límite superior: 63,66 mg/L

En la Gráfica 2, se muestra la distribución de las sensibilidades obtenidas durante el tiempo de las pruebas, así mismo, el promedio obtenido y sus respectivos límites.

GRÁFICA 2: CL50-96 Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$).



Fuente: los autores

Estos ensayos se realizaron con el fin de establecer la sensibilidad de la especie y su respuesta frente a un tóxico de referencia según las repeticiones del ensayo. Con estas se certificó que la respuesta de la población se debe a la sustancia que

se desea analizar y no a variaciones del cultivo o a fallas operacionales en la aplicación del método, determinando el rango de variabilidad y sensibilidad frente al tiempo de exposición.[28]

Es primordial dejar establecida la sensibilidad de los organismos prueba a un tóxico de referencia en este caso el Dicromato de Potasio ($K_2CR_2O_7$), ya que los bioensayos con esta especie son la base fundamental en la evaluación ecotoxicológica de los vertimientos.

5.7.2. Análisis de varianza de las pruebas definitivas de sensibilidad Dicromato de Potasio $K_2Cr_2O_7$.

TABLA 9: F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de sensibilidad Dicromato de Potasio

FECHA	F calculado	F teórico
05/11/2007	15.27	2.75
21/11/2007	44.18	
12/01/2008	45.6	
18/01/2008	21.88	
25/01/2008	33.22	
08/02/2008	33.22	
15/02/2008	39.58	
29/02/2008	15.04	
07/03/2008	58.2	
07/18/2008	63.82	
28/03/2008	32.13	
04/04/2008	25.92	
11/04/2008	13.11	
18/04/2008	45.04	
25/04/2008	58.33	
02/05/2008	14.13	
09/05/2008	79.46	
16/05/2008	72.6	

FUENTE: LAS AUTORAS

Como lo muestra el cuadro 9, se observa que Fc > Ft, esto quiere decir, que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna; por lo tanto, concluimos,

que las diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba.

5.7.3. Ensayos con la sustancia pura de cadmio a partir del cloruro de cadmio ($CdCl_2$)

Para el desarrollo de las pruebas de toxicidad se emplearon alevinos de trucha arco iris de 4cm y 15 días de nacidos, expuestos a diferentes concentraciones por un periodo de 96 horas. El resultado de esta exposición es la concentración letal media, **(CL_{96}^{50})** la cual produce la mortalidad al 50% de la población expuesta.

Se realizaron 3 pruebas preliminares para determinar el 0 y el 100% de la mortalidad de los alevinos. Al obtener estos datos se realizaron 10 repeticiones con el fin de corroborar los mismos, así como la homogeneidad de los resultados. De igual manera se cumplió con los protocolos internacionales, que exigen un mínimo de 10 pruebas con la sustancia pura.

Inicialmente se empezaron las pruebas con concentraciones que variaban desde 40 hasta 80 ppm, donde los valores más altos representaban una mortalidad del 100%. Por esta razón se empezaron a bajar los valores de las concentraciones (ensayo y error), hasta encontrar el rango donde la concentración mas baja representara el 0% de mortalidad y la concentración más alta el 100% con la sustancia pura.

En la siguiente tabla, se observa la **(CL_{96}^{50})** y sus límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS) estimados para cada uno de los diez (10) ensayos de toxicidad aguda *con* ***Oncorhynchus mykiss,*** realizados con cloruro de cadmio como tóxico de referencia.

TABLA 10. Carta de control del cadmio (Cd)

Nº DE PRUEBA	FECHA	CL50 (mg/Lt)	LIM inf	LIM sup
1	27/11/2007	2,934	2,925	2,993
2	29/01/2008	3,177	2,928	3,309
3	05/02/2008	3,178	2,928	3,319
4	19/02/2008	2,934	2,925	2,993
5	04/03/2008	3,287	3,033	3,331
6	18/03/2008	3,521	3,118	3,624
7	08/04/2008	3,178	2,928	3,319
8	22/04/2008	2,934	2,925	2,993
9	06/05/2008	3,287	3,033	3,331
10	20/05/2008	2,934	2,925	2,993
PROMEDIO		3,136	2,967	3,221

Fuente: Autores, 2008

Como resultado de la concentración letal media del cadmio en la investigación, sus límites de confianza son:

- Límite inferior: 3,1311 mg/l
- **(CL_{96}^{50})=** 3,1365 mg/l
- Límite superior: 3.1418 mg/l

Como se observa en el análisis de la concentración letal (CL_{96}^{50}) del cadmio los valores de toxicidad oscilan entre un rango de 3.1311 – 3.1418 mg/l y un promedio de 3.1365 mg/L demostrando que este valor se encuentra por encima del establecido en el decreto 1594 de 1984 expresada en el artículo 45 para la preservación de flora y fauna cuyo valor es 0.01 mg/l.

5.7.4. Análisis de varianza de la prueba definitiva con cadmio.

TABLA 11. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de cadmio.

Nº DE PRUEBA	FECHA	F CALCULADO	F TEORICO
1	27/11/2007	228,77	2.75
2	29/01/2008	53,70	
3	05/02/2008	415,80	
4	19/02/2008	106,76	
5	04/03/2008	253,46	
6	18/03/2008	415,80	
7	08/04/2008	106,76	
8	22/04/2008	228,77	
9	06/05/2008	253,46	
10	20/05/2008	228,77	
PROMEDIO		229,20	

Como lo muestra el tabla 11, se observa que Fc > Ft, esto quiere decir, que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna; por lo tanto, concluimos, que las diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba.

5.7.5. Ensayos con la sustancia pura de aluminio a partir del sulfato de aluminio $Al_2(SO_4)_3$.

Se realizaron 10 pruebas definitivas con el metal, con el fin de garantizar los resultados. De igual manera se cumplió con los protocolos internacionales, que exigen un mínimo de 10 pruebas con la sustancia pura.

De las 10 pruebas de toxicidad que se realizaron, se obtuvo la **(CL_{96}^{50})** con sus límites de confianza inferior y superior, utilizando el software de la metodología Probit; para hallar la concentración letal media definitiva del aluminio, se promediaron los resultados, como se muestra a continuación en la tabla 12.

TABLA 12. Tabla de control para el aluminio

Nº DE PRUEBA	FECHA	CL50 (mg/Lt)	LIM inf	LIM sup
1	08/04/2008	0,284	0,205	0,312
2	22/04/2008	0,225	0,203	0,227
3	06/05/2008	0,224	0,213	0,225
4	20/05/2008	0,126	0,104	0,326
5	03/06/2008	0,212	0,163	0,296
6	17/06/2008	0,223	0,182	0,235
7	24/06/2008	0,285	0,243	0,315
8	08/07/2008	0,177	0,152	0,210
9	22/07/2008	0,212	0,163	0,296
10	29/07/2008	0,284	0,205	0,312
PROMEDIO		0,225	0,183	0,275

Fuente: Autores 2008

Como resultado de la concentración letal media del aluminio en la investigación, sus límites de confianza son:

- Límite inferior: 0.233 mg/L
- (CL_{96}^{50}) = 0.225 mg/L
- Límite superior: 0,240 mg/L

5.7.6. Análisis de varianza de las pruebas definitivas con aluminio.

Tabla 13. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva de aluminio.

Nº DE PRUEBA	FECHA	F CALCULADO	F TEORICO
1	27/11/2007	3,029	2.75
2	29/01/2008	3,213	
3	05/02/2008	13,076	
4	19/02/2008	4,732	
5	04/03/2008	4,231	
6	18/03/2008	5,324	
7	08/04/2008	8,488	
8	22/04/2008	128.5	
9	06/05/2008	5,324	
10	20/05/2008	8,488	
PROMEDIO		6,212	

Como lo muestra el Tabla 13, Fc > Ft, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

5.7.7. Ensayos definitivos con el vertimiento de CADMIO y ALUMINIO, y obtención de la concentración letal media $cl^{50-}{}_{96}$

- *Ensayos con el vertimiento sin tratar.*

El agua con la que se realizaron las pruebas proviene de la empresa NICROZINC LTDA, ésta muestra fue caracterizada y se determinó la concentración de cadmio y aluminio por medio de absorción atómica y colorimetria, esto se realizó en el laboratorio de la Ingeniería ambiental de la Universidad de la Salle, registrándose un valor de 2.52 mg/l de Cd y 0.1 mg/l de Al.

Los ensayos se ejecutaron utilizando las concentraciones en porcentaje de volumen de la muestra sin tratar, ya que la metodología CETESB, por la cual se

basan estos bioensayos, indican la forma de presentación de resultados (% de volumen de la muestra).

Los rangos inicialmente utilizados fueron 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100% de la muestra inicial, estos valores se tomaron con base a los proporcionados en la metodología CETESB, donde se indica tomar valores aleatorios en base 10 (ensayo y error), encontrando los resultados presentados en el cuadro 14.

Tabla 14. Concentraciones preliminares del vertimiento sin tratamiento

CONCENTRACION (PRELIMINAR) % volumen	MORTALIDAD DE ORGANISMOS				MORTALIDAD (%)
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**
Blanco	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**

Fuente. Los autores

Se realizaron pruebas preliminares con el vertimiento de cromo (20%, 40%, 60%, 80% y 100%), pero esta prueba fue descartada ya que en todos los rangos se presentó la mortalidad del 100% de los organismos expuestos.

Al obtener este rango se procedió a realizar otra prueba, disminuyendo los porcentajes de concentraciones (1%, 2%, 3%, 4% y 5%), obteniendo el rango deseado. A partir de estos datos se realizaron 5 repeticiones de pruebas para la obtención de la (CL_{96}^{50}), los cuales deberían presentar las mismas características de mortalidad, pH, dureza y OD, para garantizar que los organismos no murieran por causas ajenas al metal y se pudiera garantizar la confiabilidad de las pruebas.

Tabla 15. Tabla de control del vertimiento sin tratar.

Nº DE PRUEBA	FECHA	F CALCULADO	F TEORICO
1	18/03/2008	18,976	2.75
2	08/04/2008	147,800	
3	22/04/2008	42,553	
4	06/05/2008	73,421	
5	20/05/2008	27,865	
PROMEDIO		62,123	

Fuente: Los autores.

Como resultado de la concentración letal media del vertimiento sin tratar en la investigación, sus límites de confianza fueron:

- Límite inferior: 2,2010 % V/V de la muestra
- (CL_{96}^{50}) = **2,2074 % V/V de la muestra**
- Límite superior: 2,2138 % V/V de la muestra

5.7.8. Análisis de varianza de las pruebas definitivas del vertimiento sin tratamiento.

Tabla 16. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva con el vertimiento sin tratar.

Nº DE PRUEBA	FECHA	F CALCULADO	F TEORICO
1	18/03/2008	18,976	2.75
2	08/04/2008	147,800	
3	22/04/2008	42,553	
4	06/05/2008	73,421	
5	20/05/2008	27,865	
PROMEDIO		62,123	

Como lo muestra el tabla 16, Fc > Ft, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

5.7.9 Ensayos con el vertimiento tratado.

Después de realizar las pruebas de toxicidad con el vertimiento sin tratar, se procedió a llevar a cabo los bioensayos con el vertimiento tratado, para comparar la concentración letal media obtenida con cada una de las muestras. Se considera que el tratamiento escogido y realizado para el vertimiento con presencia de cadmio y aluminio, fue efectivo pues se removió un gran porcentaje de estos metales (98%) y la (CL_{96}^{50}) obtenida fue alta, donde con el 5% de dilución los organismos no mueren al tener contacto con el vertimiento y con el 45% de dilución, los organismos no logran sobrevivir y mueren al contacto con los metales. Ver tabla 17 .

Tabla 17. Prueba definitiva con el vertimiento tratado.

CONCENTRACION (DEFINITIVA) % volumen	MORTALIDAD DE ORGANISMOS PRUEBA DEFINITIVA				MORTALIDAD (%)
Blanco	0	0	0	0	**0**
5%	0	0	0	0	**0**
15%	0	0	0	0	**0**
25%	0	0	0	0	**0**
35%	3	3	4	3	**65**
45%	5	5	5	5	**100**

Después de realizar las cinco (5) pruebas con el vertimiento de cromo tratado, se observó que la concentración donde el 100% de los organismos mueren es de 45% y la concentración donde sobreviven los peces es de 5%. Demostrado la eficiencia del tratamiento realizado para el vertimiento industrial.

Tabla 18. Tabla de control del vertimiento tratado.

Nº DE PRUEBA	FECHA	CL50 (mg/Lt)	LIM inf	LIM sup
1	18/05/2008	32,452	26,140	36,775
2	08/05/2008	32,688	26,376	36,880
3	22/06/2008	24,182	24,313	27,843
4	06/06/2008	24,332	23,064	28,994
5		24,033	23,365	27,495
PROMEDIO		27,538	24,651	31,598

Fuente: Las autoras.

Como resultado de la concentración letal media del vertimiento después del tratamiento en la investigación, sus límites de confianza son:

- Límite inferior: 26,2714% V/V de la muestra
- (CL_{96}^{50}) = **27,5375 % V/V de la muestra**
- Límite superior: 28,5195 % V/V de la muestra

Como puede observarse todos las (CL_{96}^{50}) obtenidas por medio de las pruebas de toxicidad con el vertimiento tratado, se encuentran dentro de los límites de confianza, indicando la aprobación de las pruebas realizadas.

5.7.10. Análisis de varianza del vertimiento de tratado.

Tabla 19. F calculado vs F teórico. Prueba definitiva con el vertimiento tratado

Nº DE PRUEBA	FECHA	F CALCULADO	F TEORICO
1	18/05/2008	2O,2	2.75
2	08/05/2008	15,720	
3	22/06/2008	7,583	
4	06/06/2008	12,251	
5	06/26/2008	8,916	
PROMEDIO		11,118	

Como lo muestra el tabla 19, se observa que Fc > Ft, esto quiere decir, que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna; por lo tanto, concluimos, que las diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba

5.8. OBTENCIÓN DE LA CARGA TÓXICA E INDICE TOXICOLÓGICO.

Obtención Carga Tóxica e índice toxicológico de la muestra de sin tratamiento.

$$C\arg aTóxica(UT) = \frac{100}{CL50} \times \overline{Q}$$

$$C\arg aTóxica(UT) = \frac{100}{2.2074} * 200L/d = 9060.43$$

$$IT = Log(1+UT)$$

IT= Log (1+9060.43)

IT=3.96

Obtención carga toxica e índice toxicológico de la muestra después del tratamiento.

$$C\arg aTóxica(UT) = \frac{100}{CL50} \times \overline{Q}$$

$$C\arg aTóxica(UT) = \frac{100}{27.5375} * 200L/d = 726.282$$

$$IT = Log(1+UT)$$

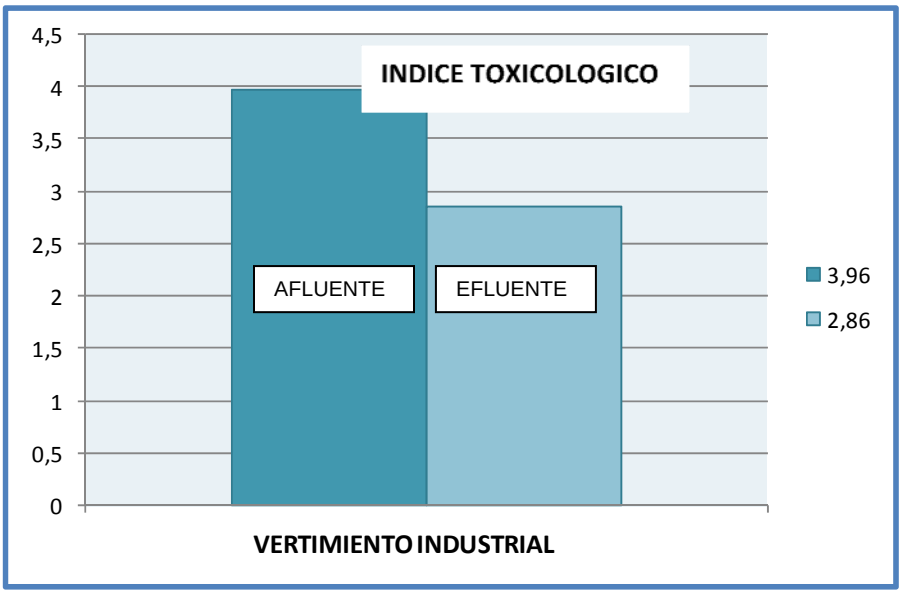
IT= Log (1+726.282)

IT=2.86

Comparando los resultados obtenidos de la carga tóxica con los rangos del índice toxicológico que se presentaban en la tabla 7, el vertimiento industrial sin tratar para la empresa NICROZINC LTDA, presenta un riesgo moderado en los vertimientos. Mientras que el vertimiento industrial tratado, presenta un riesgo reducido en los vertimientos.

Según los resultados obtenidos en el índice toxicológico para la muestra tratada es IT= 2.86 y para la muestra no tratada es IT=3.96, como se observa en el siguiente grafico

Grafica 3. Índice de toxicidad en el vertimiento de la industria



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

Para validar los resultados obtenidos con Trucha arco iris (*Oncorhynchus Mykiss)* durante la investigación, se compararon con datos logrados en otras investigaciones realizadas en el exterior y en Colombia. A continuación se muestra esta comparación con cada metal:

ORGANISMO EMPLEADO	CL 50 mg/L SENSIBILIDAD	CL 50 mg/L CADMIO	CL 50 mg/L ALUMINIO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN	ESTADO	REFERENCIA
Trucha arco iris	83.08	0.005	0,05-0,2	96	ALEVINOS	USEPA
		0.005	0,2	96	ALEVINOS	EEC
	35 - 75	0,001	0,2	96	ALEVINOS	JAPAN
		0,005		96	ALEVINOS	CANADA
Carassius auratus		100		96	ALEVINOS	Jones (1939)
Trucha arco iris		0,118		96	ALEVINOS	Reid et al. (1991)
VARIAS ESPECIES		0,3		96	ALEVINOS	Freeman y Everhart (1971)
Mystus vittatus			11,99	96	ALEVINOS	Rao y Manjula (1997)
Ciprinus carpio			10,72	96	ALEVINOS	James (2000)
C. macropomum x P. brachypomus			9,72	96	ALEVINOS	Asmine Bastardo2
Trucha arco iris	56,43	3,13	0.225	96	ALEVINO	BERNAL Y GRIJALBA

FUENTE: LOS AUTORES, 2008

Como se puede observar, la trucha arco iris es la especie mas sensible a los tóxicos porque solo con una pequeña dosis es posible encontrar un efecto de mortalidad, sus rangos varían entre 0.001 y 3.13 mg/Lt para cadmio mientras que para aluminio 0,05 y 0.225 mg/Lt de concentración letal media de dichos tóxicos. Al igual es necesario tener en cuenta que aunque se siguieron los mismos protocolos de mantenimiento de los organismos prueba, las condiciones

ambiente varían en cada uno de los estudios lo que puede interferir en los resultados esperados.

6. DISEÑO DEL HUMEDAL

HUMEDALES ARTIFICIALES

Los humedales están definidos por el Convenio Internacional de Ramsar de 1.971, como extensiones de marismas, pantanos o superficies cubiertas de agua, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces o saladas, incluidas las .extensiones de agua marina a profundidad en marea baja no exceda los seis metros[18].

En algunos países industrializados se han considerado a los humedales como un obstáculo para el desarrollo, por lo que en algunos casos. Han sido dragados y colmatados para su posterior explotación; sin embargo, en la actualidad se aprecia el valor ecológico que éstos representan, ya que proporcionan una gran productividad biológica y tienen el papel de regular los recursos hídricos.

Los humedales artificiales son sistemas acuáticos diseñados y construidos por el hombre para suplir las necesidades de tratamiento, con los que se busca aprovechar los procesos físicos, químicos y biológicos que se presentan al interactuar el agua, el medio filtrante, las plantas, los microorganismos y *la* atmósfera, por lo que se imitan las condiciones ecológicas y la capacidad de auto purificación encontradas en un humedal natural.

Los humedales tienen la capacidad de modificar todos los parámetros. Cualitativos de las aguas que pasan en forma lenta a través de ellos; a partir de esto se ha generado la técnica de humedales artificiales para tratar aguas residuales, cumpliendo las siguientes funciones:

[18]ORGANISMO PARA LA PROTECCiÓN DEL MEDIO AMBIENTE Normatividad aplicada a los humedales. Estados Unidos, EPA, 6 Nov. 2002. Disponible en: http://200.14.206.180/ecosi/6.pdf.

- Fijar físicamente algunos contaminantes a través de la adsorción en la superficie del suelo.
- Utilizar y transformar los elementos orgánicos e inorgánicos por intermedio de los microorganismos que están adheridos en las superficies.
- Lograr niveles de tratamiento con un bajo consumo de energía y poco mantenimiento.

En el tratamiento del agua residual con humedales artificiales, se desarrolla diferentes mecanismos para la eliminación de contaminantes, los cuales se basan en reacciones que ocurren naturalmente y pueden ser:

- Remoción de sólidos suspendidos por sedimentación y filtración.
- Biodegradación de la materia orgánica a partir de microorganismos aeróbicas y anaeróbicas[19].
- Remoción de metales pesados atribuida al fenómeno de precipitación, absorción y precipitación.
- Ajuste de pH.

Estos mecanismos hacen que los sistemas de humedales sean técnica y económicamente factibles para tratar muchas tipas de aguas, ventajas entre las que se pueden destacar:

- El costo de construcción y mantenimiento. Es menor al de otras opciones de tratamiento.
- Las variaciones de caudal no. afecta el funcionamiento.
- Facilita el reciclaje y la reutilización del agua.
- El manejo de químicos no. es requerida.

[19] ÑIQUE ALVAREZ, Manuel. Humedales construidos para el tratamiento de aguas -residuales [en línea). Perú, Sociedad Peruana de Gestión Ambiental [Citado 25 Mar 2004 Disponible: http://www.geocities.comlsociedadpgalpublicacíones/anolnro1/humedales_ tratamiento _aguas.hbn

- No hay generación de olores.

Además proporcionan un hábitat para muchos organismos y generan beneficios adicionales al mejoramiento de la calidad del agua, como el realce de las condiciones estéticas de los espacios abiertas.

Aunque, también se presentan algunas limitaciones respecto a su uso, entre las que están:

- Requieren generalmente grandes extensiones de terreno, en comparación con tratamientos convencionales.
- El rendimiento del sistema puede ser menos constante al de un proceso convencional.
- Los componentes biológicos son sensibles a sustancias como el amoníaco. y las pesticidas que llegan a ser tóxicos.
- Requiere una mínima cantidad de agua para que sobrevivan, no soportan estar completamente secos[20].

6.1. FUNCIONES DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES

Las actividades humanas han dado y siguen dando origen a varios tipos de humedales de interés para algunas especies vegetales.

- **Procesos de remoción físicos:**

Los humedales artificiales son capaces de proporcionar una alta eficiencia física en la remoción de contaminantes asociado con material particulado.

- **Procesos de remoción biológicos:**

La remoción biológica es quizá el camino más importante para la remoción de contaminantes en los humedales artificiales. Extensamente reconocido para la remoción de contaminantes en los estos humedales es la captación de la planta.

[20] LARA BARRERO, Op. cit., p_ 112.

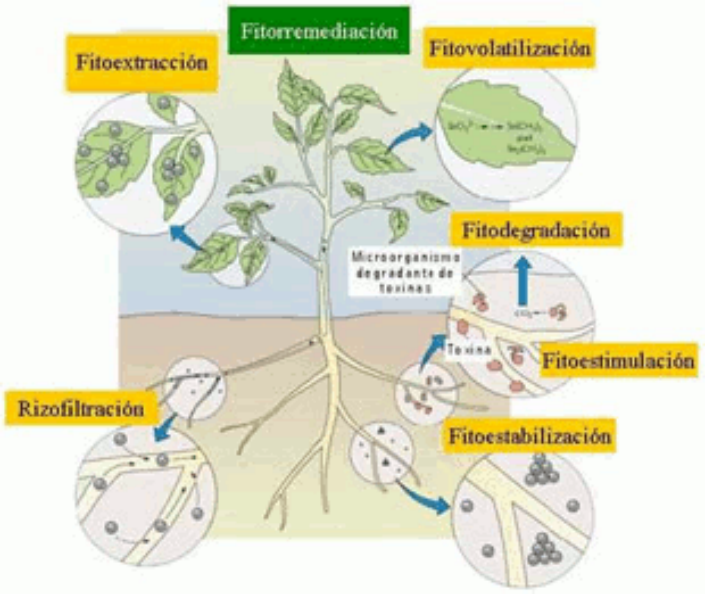
Los contaminantes que son también formas de nutrientes esenciales para las plantas, tales como nitrato, amonio y fosfato, son tomados fácilmente por las plantas del estos humedales.

- **Procesos de remoción químicos:**

El proceso químico más importante de la remoción de suelos de los humedales artificiales es la absorción, que da lugar a la retención a corto plazo o a la inmovilización a largo plazo de varias clases de contaminantes.

Las plantas pueden incorporar las sustancias contaminantes mediante distintos procesos que se representan en la siguiente ilustración y se explican en la tabla que continúa:

FIGURA 13. Procesos de incorporación de sustancias contaminantes



FUENTE: http://www.humedales.org/

6.2. TIPOS DE FITORREMEDIACIÓN, EN DONDE SE INDICA LA ZONA DE LA PLANTA EN DONDE OCURRE EL PROCESO.

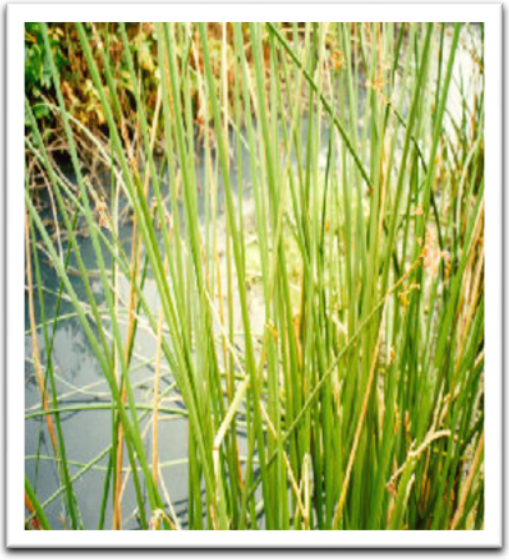
TABLA 7. Procesos utilizados por las plantas para asimilar contaminantes.

Tipo	Proceso Involucrado	Contaminación Tratada
Fitoextracción	Las plantas se usan para concentrar metales en las partes cosechables (hojas y raíces)	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc
Rizofiltración	Las raíces de las plantas se usan para absorber, precipitar y concentrar metales pesados a partir de efluentes líquidos contaminados y degradar compuestos orgánicos	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc isótopos radioactivos, compuestos fenólicos
Fitoestabilización	Las plantas tolerantes a metales se usan para reducir la movilidad de los mismos y evitar el pasaje a napas subterráneas o al aire.	Lagunas de deshecho de yacimientos mineros. Propuesto para fenólicos y compuestos clorados.
Fitoestimulación	Se usan los exudados radiculares para promover el desarrollo de microorganismos degradativos (bacterias y hongos)	Hidrocarburos derivados del petróleo y poliaromáticos, benceno, tolueno, atrazina, etc.
Fitovolatilización	Las plantas captan y modifican metales pesados o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración.	Mercurio, selenio y solventes clorados (tetraclorometano y triclorometano)
Fitodegradación	Las plantas acuáticas y terrestres captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos.	Municiones (TNT, DNT, RDX, nitrobenceno, nitrotolueno), atrazina, solventes clorados, DDT, pesticidas fosfatados, fenoles y nitrilos, etc.

FUENTE: Revista The Ecologist para España y Latinoamérica **Fecha de publicación:** 1/ABR/2008

6.3. JUNCO *(Scirpus californicus)*

No es propiamente un junco, pertenece a la familia Cyperáceas. Común en los ambientes saturados de agua. Dominan en el paisaje del humedal de la conejera, de otros humedales y de las riberas fangosas del río Bogotá. Son plantas perennes. Tienen un rizoma o tallo subterráneo muy robusto con el que se anclan firmemente al suelo blando del pantano y desarrollan allí una red de la que brotan los largos tallos aéreos cilíndricos y erguidos de verde intenso que se arquean. En el extremo de los tallos producen una pequeña espiga de color café con granos que sirven de alimento a varias especies de pájaros, entre ellos el toche de laguna o monjita. Las cañas del junco se usaban para la fabricación de esteras. Al desaparecer estos juncos, los restos vegetales con el tiempo (millones de años) contribuyen a la formación de las llamadas turberas, una especie de suelo negro con alto contenido de materia orgánica que se cree es precursor del carbón mineral o carbón de piedra.



FUENTE: ://members.tripod.com/maomolina/plantas.htm

6.4. CALCULO DE UNIDAD PILOTO HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL[21]

A continuación se presenta el cálculo completo, tendiente a determinar las características de un sistema de tratamiento de aguas residuales industriales mediante humedales artificiales de flujo Subsuperficial en una unidad piloto compacta.

Datos de partida:

- DBO entrada: 47.5 mg/l
- DBO salida: 7.30 mg/l
- SST entrada: 54 mg/l
- Caudal Q: 0.1 m^3/d
- Medio: grava media de 25mm, n=0.38, k_s=25000m^3/m^2*d,
- Vegetación: Junco
- Profundidad del humedal SFS: 0.6m
- Temperatura del agua a la entrada: 10□ C

Asumimos una temperatura del agua de diseño en el humedal SFS de 9.5 °C.

$$K_{20} = 1.104(d)^{-1}$$

$$K_{20} = 1.104(1.06)^{(9-20)} = 0.581\ d^{-1}$$

Determinación del área superficial requerida para el humedal SFS

$$A_s = \frac{Q \times (\ln Co\ -\ \ln Ce)}{K_T\ \ (y) \times (n)}$$

[21] Kadlec R. H, Knight R.L, *Treatment Wetlands*, CRC Press, 1996

Donde:

Q = Caudal de entrada

Ln Co = DBO entrada

Ln Ce = DBO salida

K_T: Constante de temperatura proveniente de las ecuaciones.

y: Profundidad de diseño del sistema, m

n: Porosidad del humedal

$$A_s = \frac{(0.1\ \frac{m^3}{d}) \times (\ln 47.5\ \frac{mg}{l}\ -\ \ln 7.30\ \frac{mg}{l})}{0.581\ d^{-1} \times\ \ 0.6\ m\ \times 0.40} = 1.3417 m^2$$

- Tiempo de retención hidráulica

$$THR = \frac{A_s\ \times y\ \times n}{Q}$$

$$THR = \frac{(1.3417\ m^2) \times (0.6\ m) \times (0.40)}{(0.1\ \frac{m^3}{d})} = 3.2\ d$$

- Ancho de la celda del humedal

$$W = \frac{1}{y}\left[\frac{(Q) \times (A_s)}{(m)\ \times (K_S)}\right]^{0.5}$$

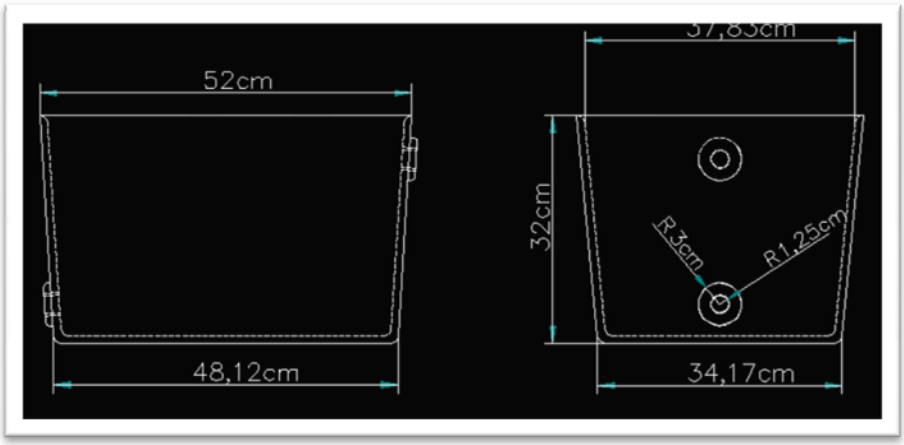
$$W = \frac{1}{0.6}\left[\frac{(0.1\ ) \times (1.3417)}{(0.05)\ \times (1000)}\right]^{0.5} = 0.20\ m$$

- Largo de la celda del humedal

6.5. CONSTRUCCIÓN DE UNIDAD PILOTO

Para la construcción se empleo los siguientes elementos:

- **RECIPIENTES RECTANGULARES PLÁSTICOS PARA LOS CUATRO NIVELES CON LAS SIGUIENTES DIMENSIONES.**



FUENTE: los autores, 2008

Los cuales permitieron alcanzar los requerimientos de área superficial, largo y ancho especificados en el diseño.

- Tubería pvc de 1", para las instalaciones hidráulicas.
- Vegetación a implantar junco (scirpus californicus) fueron extraídas del humedal de córdoba al comienzo de la fase experimental.
- Medio granular, se emplearon los medios seleccionados fueron: grava, arena y gravilla.
- Codos pvc 90º de 1".
- Válvula de globo pvc 1".
- Unión macho pvc 1".
- Soldadura pvc.

FUENTE: los autores, 2008

- RESULTADOS DE LA UNIDAD PILOTO HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL

La construcción, estabilización y arranque para el correcto funcionamiento de la unidad piloto se realizo aproximadamente en 90 días, veinte de los cuales fueron

dedicados a la construcción del humedal artificial, veinte días para la estabilización del sistema con agua potable; los días restantes para la experimentación y el análisis de la unidad en la remoción de contaminantes, el tiempo de retención hidráulica empleado fue de 3.2 días y con caudal de 0.325 m^3/día.

El agua residual industrial debe ingresar al tanque de almacenamiento de la unidad con un tratamiento preliminar de sedimentación, con el fin de prevenir la colmatación de los medios granulares.

La evaluación del correcto funcionamiento de la unidad piloto se desarrollo con base en los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados durante las cinco pruebas piloto del humedal artificial subsuperficial, obteniendo así datos del efluente y afluente descritos a continuación:

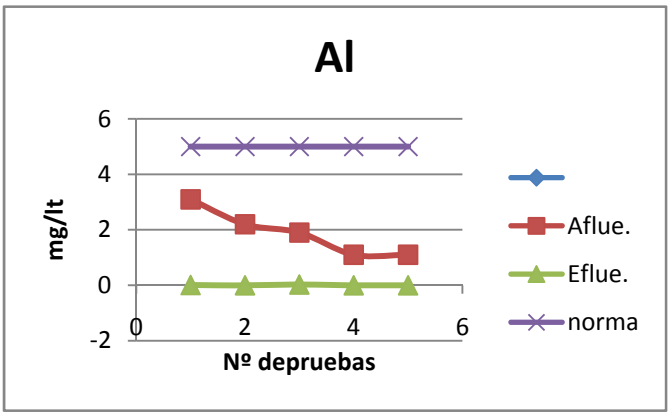
Parámetro	Método	Equipo
DBO_5	Respirometria - incubación 5 días. (SM 5010 B)	Equipo respirométrico Oxitop C
DQO	Reflujo abierto del dicromato (SM 5220 B)	
SST	Gravimétrico (SM 2540 B)	
Conductividad	Electrodo de membrana	Conductimetro -Hach CO150
Temperatura	Dilatación - sensibilidad (SM 2550 B 1)	Termómetro
Potencial de hidrogeno (pH)	Electrodo de membrana potenciómetro	pH. - metra Methtrom
Color	Comparación visual con discos calibrados de platino cloroplatino (SM 2120 B)	Colorímetro
Cadmio	Absorción atómica (SM 3030)	Espectrofotómetro de absorción atómica Parkin Elmer 300A
Aluminio	Colorimétrico - Determinación fotométrica	Fotómetro Nanocolor 400D

6.6. ANÁLISIS METALES PESADOS

Aluminio (Al):

El Aluminio fue el elemento que presentó mayores concentraciones en el afluente del la unidad, sin embargo, su comportamiento no fue estable como se muestra en la grafica 14; independiente de esto, se observa que los resultados a la salida del sistema presentaron remociones de este elemento para las cinco pruebas evaluadas, cumpliendo con las concentraciones máximas establecidas.

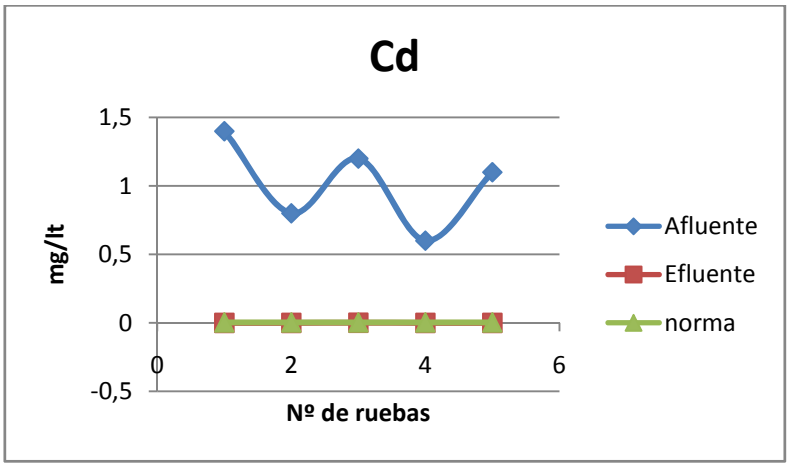
Grafica 14. Aluminio



Cadmio (Cd):

El cadmio fue el elemento que presentó menores concentraciones en el afluente del sistema, sin embargo, su comportamiento no fue estable como se muestra en la grafica 15; independiente de esto, se observa que los resultados a la salida del sistema presentaron remociones de este elemento para las cinco pruebas evaluadas, cumpliendo con las concentraciones máximas establecidas (Res. 1074/97).

Grafica 15. Cadmio



- **Análisis parámetros fisicoquímicos**

Este análisis se le efectuó con el fin de verificar que el funcionamiento de la unidad piloto también permitía cumplir, no sólo con la remoción de metales pesados, también con otros parámetros de interés sanitario para su vertimiento u otro fin, con los requerimientos establecidos en la normatividad. Ver anexo E

Demanda Bioquímica de Oxigeno (DBO_5)

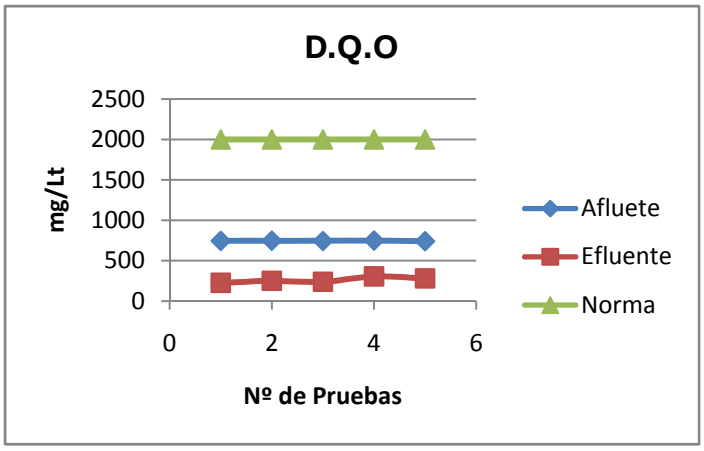
La demanda bioquímica de oxígeno presente en el agua residual industrial presentó siempre concentraciones bajas, dado que la materia orgánica disponible es prácticamente despreciable en este tipo de aguas de origen industrial, el promedio DBO_5 del afluente fue de 48.3 mg/l, y del efluente fue 20.5mg/l. cumpliendo con las concentraciones máximas establecidas (Res. 1074/97).

Demanda Química de Oxigeno (DQO)

Las concentraciones de DQO presentes en el agua residual estuvieron entre 220 y 750 mg/L, anexo E. los valores se encuentran bajo los máximos permisibles de la resolución 1074 de 1997.

En la grafica 16 se observa el comportamiento que presentó la unidad piloto, evidenciando que concentraciones menores a las de entrada, confirmando de esta manera que los contenidos de materia orgánica son bajos.

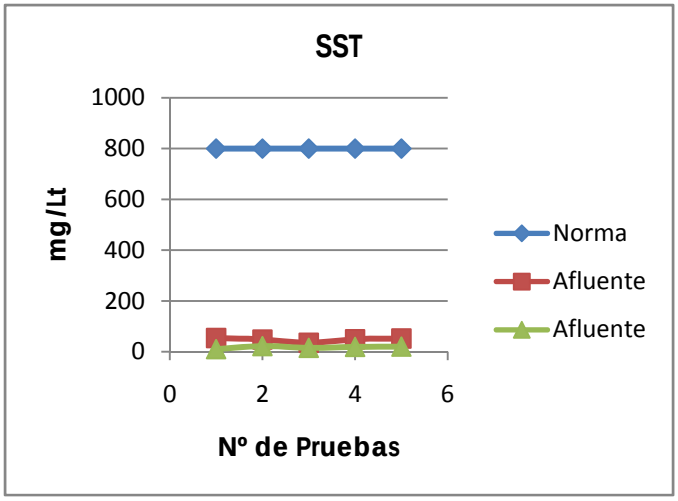
Grafica 16.DQO



Sólidos Suspendidos Totales (SST)

La cantidad de sólidos suspendidos totales presentes en el efluente de la unidad piloto fue inferior a los 17.2 mg/L, lo cual indica que se presentó una reducción significativa con respecto a la concentración del afluente, que en promedio fue de$47.6\ mg/L$. cumpliendo con las concentraciones máximas establecidas (Res. 1074/97).

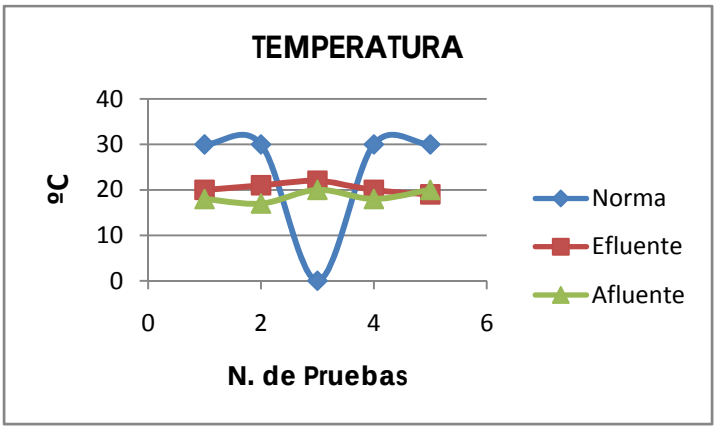
GRAFICA 17. SST



Temperatura (ºC)

La temperatura a la entrada del sistema osciló entre 20 y 22 °C y en el efluente del sistema se encontró entre los 17 y 18 °C, presentando un comportamiento constante. Cumpliendo con las concentraciones máximas establecidas (Res. 1074/97).

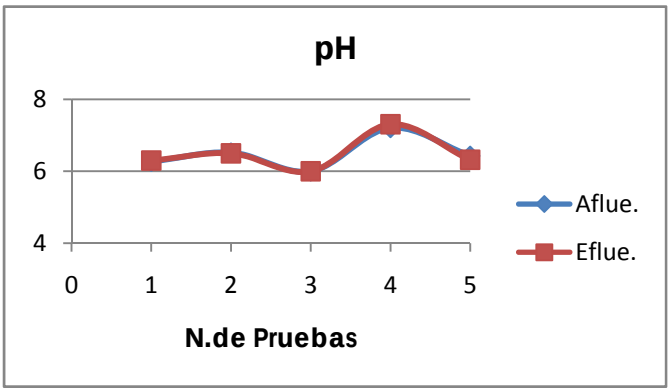
FIGURA 18. Temperatura



Potencial de hidrogeno (pH)

El potencial de hidrógeno (pH) en el agua residual de la industria presento valores alrededor de las 6 - 7 unidades. Muy similares a el pH del agua en el efluente de la unidad piloto manifestó cualidades neutras con valores entre 6 - 7 unidades, cumpliendo con las concentraciones máximas establecidas (Res. 1074/97).

FIGURA 19. pH



CONCLUSIONES

- La concentración letal media del CL $_{50\text{-}96}$ de Cadmio y Aluminio se encuentra por encima de los valores establecidos en el decreto-ley 1594 de 1984 ya que la en el caso del cadmio los valores de toxicidad oscilan entre un rango de 3.1311 – 3.1418 mg/l y una **(CL_{96}^{50})** de 3,1365 mg/l. Así mismo la concentración letal media del aluminio se encontró en un rango de 0.233 mg/L y 0,240 mg/L teniéndose una (CL_{96}^{50}) de 0.225 mg/L. Cabe anotar que estos datos son relativamente similares a algunos de normas internacionales ya citadas en el marco legal.

- En el ensayo agudo con sulfato de aluminio las reacciones más relevantes que observamos fueron el oscurecimiento de la epidermis, abundante secreción de mucus en todo el cuerpo, sofocamiento, disminución de los movimientos natatorios y algunos casos de protrusión de los globos oculares fuera de sus órbitas, reacciones que puede presentarse en el ser humano a la exposición de este metal.

- Al aplicar el cloruro de cadmio hidratado observamos algunas reacciones como natación aletargada, mucus excesivo, exoftalmia, opacidad de ojos y piel, hemorragia a nivel del ojo, deshilachamiento de las aletas, asfixia y acumulación de líquido a nivel del abdomen son señales indicativas de toxicidad al cadmio, reacciones que pueden afectar traer nefastas consecuencias en la cadena trófica.

- Se determinó la concentración letal media del vertimiento industrial galvanotecnica arrojando un límite inferior de 2,2010 % V/V de la muestra con un (CL_{96}^{50}) de 2,2074 % V/V de la muestra y un límite superior: 2,2138 %

V/V de la muestra lo que nos indica que la concentración es nociva para la población estudiada.

- Un sistema piloto compacto para la remoción de metales pesados diseñados y puesto en marcha, aplicando la técnica de humedad artificial, donde se manifestó una remoción satisfactoria de los metales evaluados: cadmio y aluminio los cuales arrojaron valores en el efluentes por debajo de la normatividad, tanto para Bogotá como para las demás regiones del país.

- El agua residual tratada por la unidad piloto no solo removió significativa de los metales estudiados, sino además mostro una disminución apreciable de otros parámetros de interés sanitario como DBO, DQO, SST y SS por debajo de la norma, durante el periodo de funcionamiento siendo esta apta para ser vertida a un cuerpo de agua (Decreto-ley 1594 del 1984).

- El Índice Toxicológico demuestra que los ensayos de toxicidad son una herramienta eficaz para clasificar las industrias que utilizan en su proceso productivo sustancias de interés sanitario. Siendo esta una herramienta y medida rápida, fácil y práctica para la incorporación de estos resultados y estos métodos de investigación en la normatividad colombiana.

RECOMENDACIONES

- Los análisis de toxicidad para la determinación de la concentración letal media se deben realizar con diferentes microorganismos de la cadena trófica para garantizar la valides de los bioensayos.

- Los bioensayos se deben realizar con todas las sustancias de interés sanitario presentes en el decreto 1594 de 1984 para garantizar la supervivencia de los ecosistemas acuáticos en el país.

- Buscando la aplicabilidad de los resultados obtenidos en diferentes áreas, se sugiere la validación de los resultados obtenidos durante esta investigación, y futuras, para garantizar la veracidad de los datos.

- Se debe hallar un nuevo rango de sensibilidad de dicromato de potasio, dado que en los últimos ensayos de toxicidad realizados se evidenció que este disminuyo nuevamente.

- Se debe garantizar que el laboratorio sea de uso exclusivo para bioensayos, ya que cualquier cambio en el ambiente puede causar alteraciones en los cultivos así como en los resultados de los experimentos.

- Los reactivos que se utilicen durante el proceso de bioensayo, deben ser reactivos analíticos y de marca reconocida, para garantizar que las soluciones sean de calidad y que no varíen los resultados por fallas de reactivos.

BIBLIOGRAFÍA

ALCAZAR, F. Documento guía del Curso Regional CPPS/PNUMA/COI, sobre Bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos marinos del Pacífico Sudeste. 1988. Cartagena - Colombia.

CAMPOS, Hernando. Contaminación Ambiental No 17: Los Metales Pesados, la Contaminación y sus Efectos Tóxicos. Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Julio-Diciembre 1987 (Año 9). Prof. Universidad Nacional de Colombia Santa Marta. (ISSN 0120674).

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.

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

CRUZ TORRES, Luís Eduardo. Factores que afectan la toxicidad. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Unidad Académica Ingeniería Ambiental. 1996.

DEL VALLS, T. y CONRADI M. Avances en ecotoxicología marina: comparación entre test de laboratorio y estudios in situ para la evaluación de la calidad ambiental de los sedimentos. Ciencias Marinas. 2000

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.

INSTITUTO COLOMBIANO DE GEOLOGÍA Y MINERÍA, Ingeominas. Recursos Minerales en Colombia 2ª ed. Tomo 1: Metales Preciosos, Minerales Metálicos. Bogotá D.C. 1987.

Kadlec R. H, Knight R.L, *Treatment Wetlands*, CRC Press, 1996.

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.

MARIA DEL CARMEN VALLEJO. Toxicología ambiental ; segunda edición ampliada junio 2007.

MARCANO, José E. Educación Ambiental, Elemento de ecología; Ecología de las aguas dulces 2° parte; clasificación ecológica de los organismos de agua dulce y comunidades del medio acuático. (Libro en línea), consultado junio de 2007. Disponible en Internet

MARTÍNEZ B, Ricardo. Metodología estadística para análisis de toxicidad. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Unidad Académica Ingeniería Ambiental.

Metcalf & Eddy, *Ingeniería de aguas residuales: Tratamiento, vertido y reutilización*, 3ª Ed, McGraw-Hill, 1995.

Ministerio del Medio Ambiente – FUNDES. Guía de buenas prácticas para el sector de galvanotecnía., la red de soluciones empresariales. Bogotá D.C

Reed S.C, Crites R.W, Middlebrooks, E.J, *Natural systems for waste management and treatment*, 2ª Ed, McGraw-Hill, 1995.

Reed, S. C., *Natural Systems for Wastewater Treatment, Manual Of Practice FD-16*, Water Pollution Control Federation (WEF), Alexandria, VA,1990.

ROMERO ROJAS, Jairo Alberto. Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principio de diseño. Segunda Edición. Bogotá. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. 2002.

SÁNCHEZ RIVAS, Guadalupe y VERA DIEGO, Giovanna. Callas. Manual Introductorio de Ecotoxicología Acuática. Perú. Instituto del Mar del Perú. Informe No 161, Junio 2001..

TORTORELLI, María. Ensayos toxicológicos con organismos acuáticos para la evaluación de la contaminación ambiental. Argentina, 1990. Universidad Nacional Lujan. Departamento de Ciencias Básicas.

ULLMANN, Fritz. Enciclopedia de Química Industrial: Editorial Gustavo Pili, S.A. Tomo VI y XI. Sección 6. Segunda Edición. Barcelona. 1950.

U.S. Environmental Protection Agency, *Handbook of constructed wetlands*, EPA.

U.S. Environmental Protection Agency, *Subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment: A Technology assessment*, EPA, 1993.

http://www.jmarcano.com/nociones/fresh2.html

http://www.fao.org/docrep/008/v7283s/V7283S04.htm

http://es.wikipedia.org/wiki/Aluminio

http://es.wikipedia.org/wiki/Cadmio

http://www.ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol320.htm

http://www.acercar.org.co/industria/manuales/galvanotecnia/

http://www.getri.es/librogalv.htm#pto1

http://www.science.oas.org/ENVIRO/sector%20de%20recubrimiento%20de%20metales.pdf

http://www.red-de-autoridades.org/cds/disco04/residuos/manuales_minimizacion/mgalvano.pdf

CONTENIDO

1. Objetivo
2. Definiciones
3. Principio del modelo
4. Procedimiento
5. Ejemplo
6. Bibliografía
7. Anexo A

1. OBJETIVO

Comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos.

2. DEFINICIONES

Variable: Conceptos que forman enunciados de un tipo particular denominado hipótesis. Las variables se refieren a propiedades de la realidad que varían, es decir, su idea contraria son las propiedades constantes de cierto fenómeno.

Variable Dependiente: Características de la realidad que se ven determinadas o que dependen del valor que asuman otros fenómenos o variables independientes.

Variables independientes: Los cambios en los valores de este tipo de variables determinan cambios en los valores de otra (variable dependiente).

Grados de libertad: Número efectivo de observaciones que contribuyen a la suma de cuadrados en un ANOVA, es decir, el número total de observaciones menos el número de datos que sean combinación lineal de otros.

Hipótesis: Proposiciones provisionales y exploratorias sobre la veracidad o falsedad de un concepto, una teoría o un modelo con un alcance de trabajo de investigación por simulación y con métodos de campo o de laboratorio.

3. PRINCIPIO DEL MODELO

El análisis de varianza parte de algunos supuestos que han de cumplirse:

- La variable dependiente debe medirse al menos a nivel de intervalo.
- Independencia de las observaciones.
- La distribución de la variable dependiente debe ser normal.
- Homogeneidad de las varianzas

Los modelos de *efectos aleatorios* asumen que en un factor se ha considerado tan sólo una muestra de los posibles valores que éste puede tomar;estos modelos se usan para describir situaciones en que ocurren diferencias incomparables en el material o grupo experimental. El ejemplo más simple es el de estimar la media desconocida de una población compuesta de individuos diferentes y en el que esas diferencias se mezclan con los errores del instrumento de medición.

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

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

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

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

4. PROCEDIMIENTO

Al realizar una prueba de toxicidad, se pasan los datos correspondientes a la Tabla 1

Tabla 1. Formato de Datos de Prueba de Toxicidad

Tratamientos	Observaciones				Yi	Yi Promedio
	1	2	3	4		

4.3. Se plantea la hipótesis nula y la hipótesis XXXX

Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_n$

H_1: $\mu_1 \neq \mu_2$, para algún par

4.4. El tratamiento de análisis de varianza se hace mediante la Tabla 2:

Tabla 2. Análisis de Varianza

FV	SS	GL	Ms	Fc	Ft
Tratamiento	SS_{TTO}	a – 1	$\frac{SS_{TTO}}{a-1}$	$\frac{SS_{TTO}/a-1}{SS_E/N-a}$	$F\alpha$ (V_1 V_2)
Error	SS_E	N – a	$\frac{SS_E}{N-a}$		
Total	SS_T	N – 1			

Donde:

- N: Número total de observaciones; N: a * n
- n: número de observaciones en cada grupo
- a: numero de tratamientos

- FV : Fuente de varianza
- SS: Suma de cuadrados
- GL: Grados de libertad
- Ms: Cuadrados medios
- Fc: F calculado
- Ft: F tabulado
- V_1: a – 1
- V_2: N – a

4.5. Para obtener el SS_{TTO}, se debe reemplazar la siguiente formula:

$$SS_{TTO} = \sum_{i=1}^{a=5} \frac{Yi^2}{n} - \frac{\overline{Y}^2}{N}$$

4.6. Para obtener el SS_T, se debe reemplazar la siguiente formula:

$$SS_T = \sum_{i=1}^{a=5} \times \sum_{J=1}^{n=5} = Yi_J{}^2 \times \frac{\overline{Y}^2}{N}$$

4.7. Para obtener el SS_E:

$$SS_E = SS_T - SS_{TTO}$$

4.7. Al obtener el Fc lo comparamos el Ft, para refutar o aceptar alguna hipótesis, esto se hace así:

Fc > Ft Se rechaza la Ho

Fc < Ft Se acepta la Ho

5. EJEMPLO

De una prueba de toxicidad que se realizó en el laboratorio, se obtuvieron los siguientes resultado:

Tabla 3. Formato de Datos de Prueba de Toxicidad

Tratamientos	Observaciones				Total	Porcentaje de mortalidad
	1	2	3	4		
10	5	5	5	5	20	100
5	5	5	5	5	20	100
1	4	3	4	3	14	70
0,5	1	2	1	0	4	20
0,1	0	1	0	1	2	10
Control	0	0	0	0	0	0

De la cual partimos de dos hipótesis así:

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

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

Teniendo en cuenta que tenemos:

Tratamientos: 6
Observaciones: 4
Total: 24

Podemos construir la tabla 2 del análisis de varianza de la siguiente forma:

Tabla 4. Análisis de Varianza

FV	SS	GL	Ms	Fc	Ft
Tratamiento	101,83	5	20,37	244,40	2.77
Error	1,5	18	0,08		
Total	103,33	23			

Como podemos observar el Fc > Ft, 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. BIBLIOGRAFÍA

- http://www.estadistico.com/arts.html?20011022
- http://www.udc.es/dep/mate/estadistica2/sec3_7.html
- http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis_de_varianza

Elaboro:	Pedro Miguel Escobar Mlalaver Alba Janneth Bernal Paredes Andrea Paola Rojas Avella
Primera Revisión:	Pedro Miguel Escobar Malaver
Segunda Revisión:	Rubén Darío Londoño Pérez

7. ANEXOS

ANEXO 1

GrafiCa donde se obtiene el F teorico

CONTENIDO

1. Objetivo
2. Definiciones
3. Principio del modelo matemático
4. Procedimiento
5. Bibliografía
6. Anexo 1: Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad

   Anexo 2: Representación gráfica del cálculo de la CL50

   Anexo 3: Determinación del Chi-cuadrado (X^2).

   Anexo 4: Factor (*p*) para el Probit calculado (*Y*).

1. OBJETIVO

Evaluar los resultados de los ensayos por medio de un modelo estadístico

2. DEFINICIONES

Concentración: Magnitud física que expresa la cantidad de un elemento o un compuesto por unidad de volumen.

Dósis: Contenido de principio activo, expresado en cantidad por unidad de toma, por unidad de volumen o de peso en función de la presentación, que se administrará de una vez.

Efecto: Consecuencia positiva o negativa, de la ocurrencia de un evento.

Modelo: Conceptualización de un evento, un proyecto, una hipótesis, el estado de una cuestión, que se representa como un esquema con símbolos descriptivos de características y relaciones más importantes con un fin: ser sometido a modelización como un diseño flexible, que emerge y se desarrolla durante el inicio de la investigación como una evaluación de su relevancia.

Toxicidad aguda: La toxicidad aguda tiene por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50% de los animales.

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

3. PRINCIPIO DEL MODELO MATEMÁTICO

En un experimento típico de pruebas de toxicidad se tiene la siguiente situación:

- Concentración de la sustancia o dosis (*d*).
- Número de individuos (*n*).
- Número de organismos muertos o afectados (*r*).
- Porcentaje de efecto (*p*).

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

La representación gráfica de *p vs*. *d*, o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal.

Una forma de abordar este problema es transformando *d* a una escala logarítmica (X = log10 (d)), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma *S* o sigmoidea normal, como se muestra en la figura 1; de esta manera la distribución de *p vs*. *X* será de tipo normal

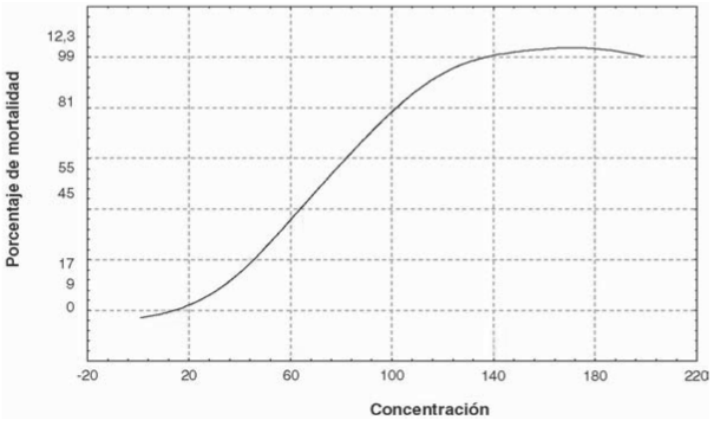


Figura 1. Relación dosis-respuesta

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

$$y = a + bx$$

Donde:

y (expresado en unidades Probit) = z + 5

z= Variable normal estándar = z_O tal que la Prob ($z \leq z_O$) = p

a y b son los estimadores de los parámetros de la recta de regresión

Asi, cuando p= 50% entonces y = 5, por lo tanto:

$X_5 = \log_{10} CL_{50}$, entonces $CL_{50} = 10^5$

Para facilitar los cálculos, simplemente se puede usar un *software* como el suministrado por la *US Environmental Protection Agency* (US EPA): *Probit Analysis Program*. El procedimiento Probit permite encontrar estimadores *m*-verosímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos, analizando porcentajes de efecto *vs.* dosis dentro del marco de la regresión.

4. PROCEDIMIENTO

Para el cálculo de la CL50 por este método es necesario contar, por lo menos, con dos porcentajes intermedios del efecto esperado (valores entre 0 y 100%).

Con los resultados obtenidos en los ensayos de toxicidad aguda con *Daphnia Pulex* se debe construir una tabla que contenga los siguientes datos:

- Concentración de la sustancia ensayada en %
- Logaritmo en base 10 de las concentraciones (x)
- Número de organismos en cada concentración
- Número de organismos muertos en cada concentración (*r*).
- Porcentaje de mortalidad en cada concentración (*P*).
- Probit empírico (*PE*).
- Probit esperado o calculado (*Y*).

Los cinco primeros resultados corresponden a datos experimentales; el Probit empírico se obtiene de la tabla 4 del Anexo 1 con el porcentaje de mortalidad observada en cada una de las concentraciones, y se tabula en la tabla 1.

Tabla 1: Cálculo de la CL50 por el método Probit

Concentración del agente tóxico (%)	Log10 de la concentración (*X*)	Núm. de organismos (*N*)	Núm. de muertos (*r*)	Porcentaje de mortalidad (*P*)	Probit empirico (*PE*)	Probit calculado (*Y*)

A partir de estos datos se elabora una gráfica en papel cuadriculado, colocando en el eje *X* el logaritmo de las concentraciones y en el eje *Y* el Probit empírico (Figura 1 Anexo 2), y se ajusta la recta a través de estos puntos. En el gráfico se traza una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la línea trazada; el valor correspondiente en el eje *X* se denomina *m* y el antilogaritmo de este valor corresponderá a la CE50 o CL50.

Para el cálculo del Probit esperado o calculado, debe hallarse el valor de *S* correspondiente a la tasa de incremento del log de la concentración (*x*) por unidad de incremento del Probit.

Para el cálculo del Probit esperado o calculado, debe hallarse el valor de *S* correspondiente a la tasa de incremento del log de la concentración (*x*) por unidad de incremento del Probit

En la recta trazada se calcula la pendiente, tomando el porcentaje donde se halló el mayor y el menor efecto, así como los probits correspondientes a estos valores, remplazando en la siguiente formula:

$$S = (X - x) / (PE - Pe)$$

Donde:

X: Mayor concentración

x: Menor concentración

PE: Probit empírico correspondiente a la mayor concentración

Pe: Probit empírico correspondiente a la menor concentración

A partir de estos datos se elabora una gráfica en papel cuadriculado, colocando en el eje *X* el logaritmo de las concentraciones y en el eje *Y* el Probit empírico (Figura 1 Anexo 2), y se ajusta la recta a través de estos puntos. En el gráfico se traza una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la línea trazada; el valor correspondiente en el eje *X* se denomina *m* y el antilogaritmo de este valor corresponderá a la CE50 o CL50.

Para el cálculo del Probit esperado o calculado, debe hallarse el valor de *S* correspondiente a la tasa de incremento del log de la concentración (*x*) por unidad de incremento del Probit.

Para el cálculo del Probit esperado o calculado, debe hallarse el valor de *S* correspondiente a la tasa de incremento del log de la concentración (*x*) por unidad de incremento del Probit

En la recta trazada se calcula la pendiente, tomando el porcentaje donde se halló el mayor y el menor efecto, así como los probits correspondientes a estos valores, remplazando en la siguiente formula:

$$S = (X - x) / (PE - Pe)$$

Donde:

X: Mayor concentración

x: Menor concentración

PE: Probit empírico correspondiente a la mayor concentración

Pe: Probit empírico correspondiente a la menor concentración

Así, los valores del Probit esperado o calculado (*Y*) para cada concentración podrán ser calculados utilizando la siguiente expresión:

$$Y = 5 + \frac{(x - m)}{S}$$

Una vez calculados se colocan en la columna correspondiente de la tabla 2.

La prueba de hipótesis utilizada para establecer la asociación entre la concentración de la sustancia tóxica y la respuesta en unidades probit es la prueba de CHI-cuadrado (X^2). Los datos para el cálculo de este valor se colocan en una tabla 5 (Anexo 3) de la siguiente forma:

- Concentración de la sustancia estudiada en %
- Logaritmo decimal de la concentración (*x*).
- Probit calculado o esperado (*Y*).
- Numero de organismos (N)
- Mortalidad observada (r)
- Porcentaje de efecto esperado (P).

La mortalidad esperada (*NP*') se calcula multiplicando (*N*) por (*P*').

El cálculo de la desviación de la mortalidad se obtiene hallando la diferencia entre la mortalidad observada y la esperada. La contribución al Chi cuadrado de cada uno de los valores se calcula:

$$(r - NP)^2 / NP(1 - P)$$

Y para el cálculo de los grados de libertad (*n*):

$$n = K - 2$$

donde *K* es el número de concentraciones utilizadas

Con los datos obtenidos se diligencia la Tabla 2 para el cálculo del intervalo de confianza:

Tabla 2. Valores de *X2* para una *P*=0.05.	
Grados de libertad(*n*)	*X2*

Para el cálculo de los límites es necesario establecer el error estándar. El error estándar del log de la concentración letal para el 50% de los organismos se obtiene a través de la siguiente expresión:

$$EE \log_{10} CL_{50} = \left\{S^2\left(\left[1/SNp + (m-x)^2 / SNp(x-x^2)\right)\right\}^{0.5}$$

4.17. Inicialmente, se construye una tabla en la cual se incorporen los siguientes datos:

- Logaritmo decimal de las concentraciones (*x*).
- Número de organismos por concentración (N).
- Probit esperado o calculado (*Y*).
- Factor *p*, el cual se obtiene de la tabla 5 del Anexo 3 con el valor *Y*.
- Productos *Np*, *Npx* y *Npx*2, obtenidos de los datos de la misma tabla
- Sumatoria de los productos correspondientes a los valores *SNp*, *SNpx* y *S Npx*2
- Factor *p* debe ser obtenido en la tabla entrando el valor de Probit calculado
- Producto *Np* resultante de la multiplicación de los valores de número de organismos por el factor *p* y su respectiva sumatoria.
- Producto *Npx* resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de las concentraciones con su respectiva sumatoria.
- Producto *Npx*2 resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de la concentración con su respectiva sumatoria.

Con todos los datos anteriores, se diligencia la Tabla 3:

Tabla 3. Cálculo del error estándar del log10 CL50.

Log 10 de la concentración (*x*)	Núm. De organismos (*N*)	Probit calculado (*Y*)	Factor (*p*)	Producto (*Np*)	Producto (*Npx*)	Producto (Npx^2)

Al tener la CL50 y no olvidando que el intervalo de confianza es 95% tendremos la concentración letal con sus limites inferior y superior respectivamente.

Para el desarrollo de esta investigación se adquirió el Software de Probit, el cual determinar la CL50-48 y los limites de confianza mas rápido, y su procedimiento es el siguiente:

Se instala el programa en un computador que cuente con un software de Windows 98 en adelante, creándose una carpeta de Probit en el escritorio.

Dentro de esta carpeta quedarán registrados varios archivos; se dirige al archivo con nombre PROBFIS2 y se da doble clic donde se abre una ventana de la siguiente manera:

```
ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCULARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
======= >
```

Da dos opciones para manejar el programa, la (1) es para introducir los datos con el teclado, la (2) para introducirlos en fila. Es este paso se escribe (1), y sale:

```
ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCULARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
======= > 1
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
======= > 3
```

Ahora se le da un nombre al archivo que se crea con los resultados que determina el programa, así:

```
ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCULARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
======= > 1
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
======= > 3
Inserisci il nome (NAME2) del file per i resultati
======= > B
```

Ahora el programa pide que se inserten el numero de concentraciones, sin el control, numero de muertes en el control, numero de organismos en el control, así:

```
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
    =======> 3
  Inserisci il nome (NAME2) del file per i resultati
    =======> B
NUMERO DI CONCENTRACIONI (escluso el controllo)=5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO=0
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO=20
```

Ahora se procede a ingresar los datos de las concentraciones comenzando por la concentración menor, el numero de muertes en cada una y el número de tratamientos, así:

```
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
    =======> 3
  Inserisci il nome (NAME2) del file per i resultati
    =======> B
NUMERO DI CONCENTRACIONI (escluso el controllo)=5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO=0
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO=20
== >INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
     CONCENTRACIONE= 0.1
     NUMERO MORTI= 0
     NUMERO TRATTATI=20
```

Así sucesivamente hasta completar los datos de las 5 concentraciones. Al terminar este paso se da enter y se cierra esta ventana; en la carpeta de probit aparece un archivo con el nombre que se le designó a esa batería donde dará los resultaos de la CL50 con los limites de confianza

Este procedimiento se debe realizar para cada batería de ensayo, quedarán registrados los resultados en su respectivo archivo.

5. EJEMPLO

Se realizó una prueba de toxicidad, de la cual se obtuvieron los siguientes porcentajes de mortalidad:

Ejemplo de cálculo de la CL50 por el método Probit.

Concentración del agente tóxico (%)	Log10 de la concentración (*X*)	Núm. de organismos (*N*)	Núm. de muertos (*r*)	Porcentaje de mortalidad (*P*)	Probit empirico (*PE*)	Probit calculado (*Y*)
100	2,0	20	15	75	5,67	5,53
50	1,7	20	9	45	4,87	4,96
25	1,4	20	5	25	4,33	4,40
12,5	1,1	20	2	10	3,72	3,84
6,25	0,8	20	1	5	3,36	3,27

No se debe olvidar que los cinco primeros resultados corresponden a datos experimentales; el Probit empírico se obtiene de la tabla x del Anexo 1 con el porcentaje de mortalidad observada en cada una de las concentraciones.

A partir de estos datos se elabora una gráfica en papel cuadriculado, colocando en el eje *X* el logaritmo de las concentraciones y en el eje *Y* el Probit empírico (Figura 1 Anexo 2), y se ajusta la recta a través de estos puntos. En el gráfico se traza una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la línea trazada; el valor correspondiente en el eje *X* se denomina *m* y el antilogaritmo de este valor corresponderá a la CL50. Teniendo en este caso un m = 1.72, por lo tanto la CL50 = 52.5 mg/l.

En la recta trazada se calcula la pendiente, tomando el porcentaje donde se halló el mayor y el menor efecto, así como los probits correspondientes a estos valores:

$$x_m = 0.8 \quad PE = 3.30$$
$$x_M = 2.0 \quad PE = 5.55$$

Si: $$S = (X - x)/(PE - PE)$$

Siendo:

xM = Mayor concentración.
xm = Menor concentración.
PE = Probit empírico correspondiente a la mayor concentración.
PE = Probit empírico correspondiente a la menor concentración.

Tendremos:

$$S = (2.0 - 0.8)/(5.55 - 3.30)$$
$$S = 0.533$$

Obteniendo así la tabla del Chi-cuadrado (X^2) como se observa en el Anexo E.

Se remplaza en la ecuación los valores:

$$n = K - 2$$
$$n = 5 - 2 = 3$$

En la tabla 3 se determina el valor de *X*2 para tres grados de libertad, el valor obtenido es 7,82; al compararlo con el valor obtenido en la tabla, se observa que:

$$7.82 > 0.482$$

Por lo tanto, la recta está bien ajustada; en caso contrario, trazar nuevamente la recta y volver a calcular el Chi cuadrado.

Tabla 3 . Valores de *X2* para una *P*=0.05.

Grados de libertad(*n*)	***x2***
1	3,34
2	5,99
3	7,82
4	9,49
5	11,4
6	12,6
7	14,4
8	15,5
9	16,9
10	18,8

Cálculo del intervalo de confianza

Para el cálculo de los límites es necesario establecer el error estándar. El error estándar del log de la concentración letal para el 50% de los organismos se obtiene a través de la siguiente expresión:

$$EE\log_{10} CL_{50} = \left\{S^2\left(\left[1/SNp + (m-x)^2 / SNp(x-x^2)\right)\right\}^{0.5}$$

Así se construye la grafica:

Cálculo del error estándar del log10 CL50.

Log 10 de la concentración (*x*)	Núm. de organismos (*N*)	Probit calculado (*Y*)	Factor (*p*)	Producto (*Np*)	Producto (*Npx*)	Producto (*Npx*2)
2,0	20	5,53	0,569	11,38	22,76	45,52
1,7	20	4,96	0,635	12,70	21,59	36,70
1,4	20	4,40	0,558	11,16	15,62	21,87
1,1	20	3,84	0,388	7,76	9,54	9,39
0,8	20	3,27	0,194	3,88	3,10	2,48
			(Σ)´	46,88	71,61	115,96

En este caso sería:

S= 0.533

x= ∑Npx / ∑Np= 1.527

m= 1.72

∑Np= 46.88 ∑Npx= 71.61 $\sum Npx^2$=115.96

$\sum Np(x-x^2)$ = Npx2 – {(∑Npx)2/∑Np} = 6.574

Sustituyendo estos valores en la expresión:

$$EE\log_{10} CL_{50} = 0.0875$$

Así, el EE de CL50 será:

$$EECL_{50} = \log 10 \times EE\log_{10} CL_{50} \times 10^m$$

Donde:

$$\log 10 = 2.3026$$
$$EE \log_{10} CL_{50} = 0.0875$$
$$10^{m} = 51.97$$

Sustituyendo los valores en la expresión:

$$EECL_{50} = 32.96$$

Como la:

$$CL_{50} = 51.97$$
$$Intervalodeconfianza = m \pm EECL_{50}$$
$$al95\% = 51.97 + 32.46 = 84.43$$
$$51.97 - 32.46 = 37.14$$

Por tanto, la CL50 con los respectivos límites será:

- Limite inferior: 41.9 ppm
- CL 50: 52.5 ppm
- Limite Superior: 63.1 ppm

Utilizando el Software con los datos del ejemplo anterior sería:

```
ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCULARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
=======> 1
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
=======> 3
Inserisci il nome (NAME2) del file per i resultati
=======> B
```

```
NUMERO DI CONCENTRACIONI (escluso el controllo)=5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO=0
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO=20

== >INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
     CONCENTRACIONE=  6.25
     NUMERO MORTI= 1
     NUMERO TRATTATI=20

== >INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
     CONCENTRACIONE= 12.50
     NUMERO MORTI=  2
     NUMERO TRATTATI=20

== >INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
     CONCENTRACIONE=  25
     NUMERO MORTI= 5
     NUMERO TRATTATI=20

== >INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
     CONCENTRACIONE=  50
     NUMERO MORTI= 9
     NUMERO TRATTATI=20

== >INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
     CONCENTRACIONE=  100
     NUMERO MORTI=  15
     NUMERO TRATTATI=20
```

Al terminar de digitar los datos en el programa, se cierra esta ventana y al abrir el archivo de nombre B, los datos salen registrados de la siguiente manera:

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI osservati	attesi
6.25	0.7959	20.	1.	0.68
12.50	1.0969	20.	2.	2.20
25.00	1.3979	20.	5.	5.28
50.00	1.6990	20.	9.	9.73
100.00	2.0000	20.	15.	14.27
	Controllo	20.	0.	0.00

==========

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE Y=a+bX :

```
(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

          Intercetta (a) =      1.5801
            Pendenza (b) =      1.9932   es = 0.3991
          Media delle  X =      1.5377
          Media delle  Y =      4.6451
              CHI quadro =      0.4327

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

         Numero di punti =      5
       Gradi di libert… =      3
     Mortalit… naturale =      0.0000   es = 0.0001
         Numero di cicli =      1
=====================================================================
END POINT      CONCENTRAZIONE            LIMITI FIDUCIALI (95%)
                                       inferiore       superiore

 LC1             3.5373                 0.7646           7.1428
 LC50           51.9726                37.1407          84.4326
```

Como se observa tanto el método manual como con el Software, los resultados de la CL 50 y los limites de confianza son iguales.

6. BIBLIOGRAFÍA

- http://www.metodologia probit.htm
- http://www.unizar.es/guiar/1/Accident/An_conse/Probit.htm

Elaboró :	Pedro Miguel Escobar Malaver Alba Janneth Bernal Paredes Andrea Paola Rojas Avella
Primera Revisión:	Pedro Miguel Escobar Malaver
Segunda Revisión:	Rubén Darío Londoño Pérez

7. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 4. Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad.

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
%	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99a	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	9,09

A Valores entre 99, 0 y 99, 9.

ANEXO 2

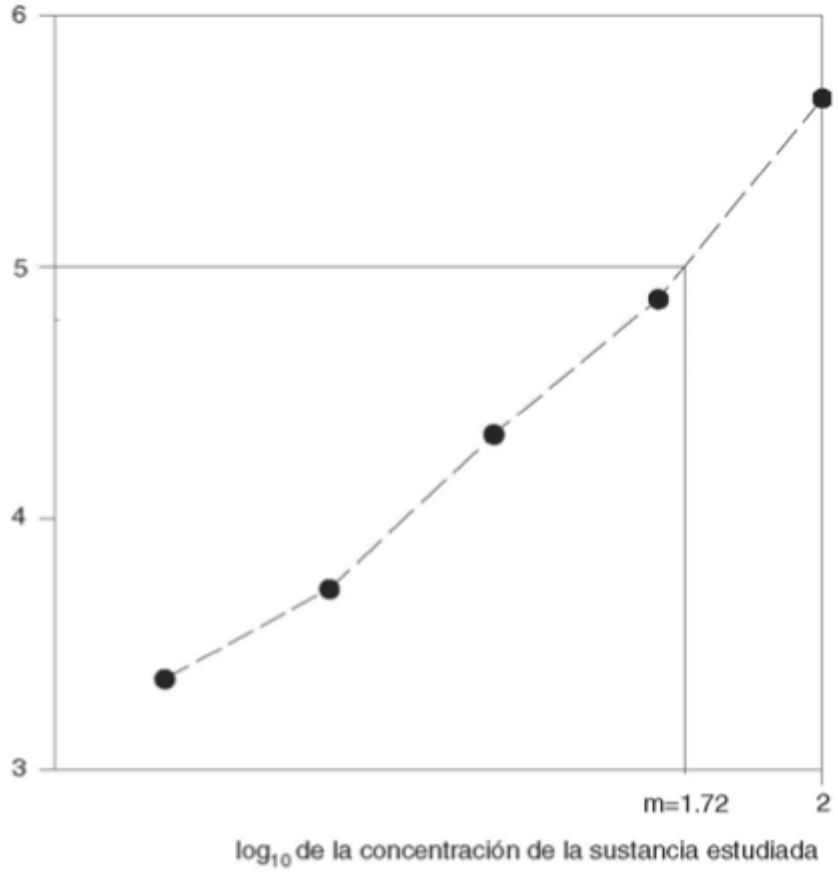


Figura 1. Representación gráfica del cálculo de la CL50

ANEXO 3

Tabla 5. Determinación del Chi-cuadrado(X2).

Concentración de la sustancia tóxica (%)	Log10 de la Concentración(X)	Probit calculado (Y)	Porcentaje de efecto esperado (P')	Núm.de organismos (N)	Núm.de muertos (r)	Mortalidad esperada (NP')	Desviación (r-NP')	Contribuc.al X2 $\frac{(r-NP')2}{NP'(1-P')}$

ANEXO 4

Tabla 6. Factor (*p*) para el Probit calculado (*Y*).

Y	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
1	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,005	0,006	0,008	0,011
2	0,015	0,019	0,025	0,031	0,040	0,069	0,062	0,076	0,092	0,110
3	0,131	0,154	0,180	0,208	0,238	0,264	0,302	0,336	0,370	0,406
4	0,439	0,471	0,503	0,532	0,558	0,583	0,601	0,616	0,627	0,634
5	0,637	0,634	0,627	0,616	0,601	0,589	0,558	0,532	0,503	0,471
6	0,439	0,405	0,370	0,336	0,302	0,269	0,238	0,208	0,180	0,154
7	0,131	0,110	0,092	0,076	0,062	0,059	0,050	0,031	0,025	0,019
8	0,015	0,011	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001

ANEXO 5

Tabla 7. Determinación del Chi-cuadrado(X2).

Concentración de la sustancia tóxica (%)	Log10 de la Concentración(X)	Probit calculado (Y)	Porcentaje de efecto esperado (P')	Núm.de organismos (N)	Núm.de muertos (r)	Mortalidad esperada (NP')	Desviación (r-NP')	Contribuc.al X2 $\frac{(r-NP')2}{NP'(1-P')}$
100	2.0	5.53	0.705	20	15	14.1	0.9	0.19
50	1.7	4.96	0.485	20	9	9.7	-0.7	0.09
25	1.4	4.40	0.275	20	5	5.5	-0.5	0.06
12.5	1.1	3.84	0.125	20	2	2.5	-0.5	0.11
6.25	0.8	3.27	0.045	20	1	0.9	0.1	0.01
								0.48

D. PROTOCOLO RESIDUOS BIOLOGICOS (BIOMASA MORTALIDAD DE PECES)

D-1. Introducción

Esta guía describe el sistema de gestión y manejo de los residuos biológicos en el laboratorio de bioensayos de la Universidad de la Salle y se ajusta a las leyes y normas existentes y a los estándares de buen manejo de los residuos peligrosos.

El propósito de esta guía proteger la salud y la seguridad del personal que genera o transporta los residuos de tipo biológico, la comunidad estudiantil y el medio ambiente.

D-2. Residuos con riesgo biológico en el laboratorio de bioensayos

Desechos animales

- Animales que se conoce han sido expuestos a agentes contaminantes tóxicos durante investigación (Investigación en escuelas veterinarias y hospitales), producción de biológicos, pruebas farmacéuticas y bioensayos.
- Animales infectados, sus jaulas, partes del cuerpo, productos sanguíneos, secreciones, excreciones y alimentos consumidos por ellos

D-3. Manejo de los residuos

El manejo (separación, empaque, marcado y recolección) de los residuos con riesgo biológico será el siguiente:

D-3.1. Manejo general

1. Todos los Residuos con riesgo biológico deben ser empacados, identificados y ubicados de manera que prevengan el riesgo para los manipuladores en cualquier momento antes de su disposición final.
2. Todos los contenedores primarios (basureros) usados para el almacenamiento y disposición deben identificarse con las etiquetas adecuadas.

3. Todos los Residuos biológicos peligrosos deben inactivarse en autoclave antes de su disposición final exceptuando los anatomopatológicos.

D-3.2. Residuos sólidos de animales infectados o partes del mismo

- Tales como cadáveres de animales o partes de ellos que se generan en investigación con agentes infecciosos
- Deben disponerse en bolsas plásticas rojas, de calibre superior a 1.4 mm, impermeables
- Las bolsas deben llenarse sólo hasta 2/3 de su capacidad
- Proceder a cerrarlas y anudarlas.
- Se deben congelar hasta su recolección para incinerado
- Se debe etiquetar así: residuo ***biológico para incineración*** con su respectivo pictograma

FICHA TECNICA 1.

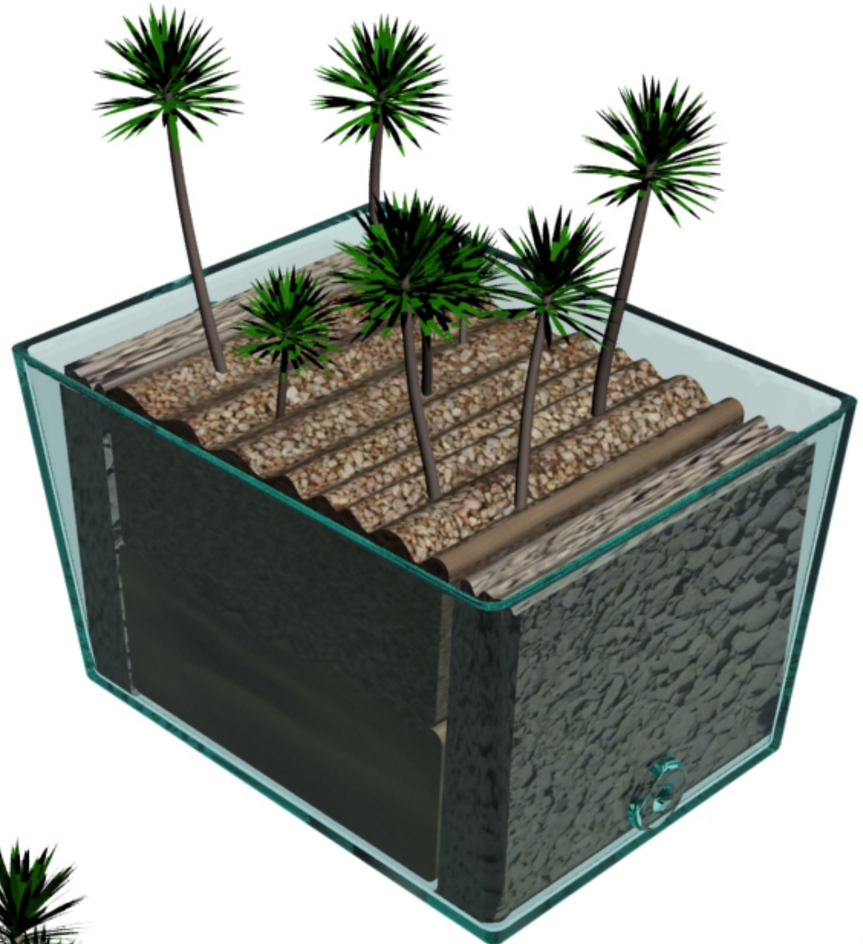
DISPOSICIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS(Alevinos de Oncorhynchus Mykiss)	
OBJETIVO: Disponer las truchas arcoíris(Alevinos de Oncorhynchus Mykiss los de manera apta que permita la prevención de futuros accidentes	
ETAPA: Segregación de residuos	
TIPO DE MEDIDA: Preventiva y de control	
RESULTADOS ESPERADOS: Prevención de riesgos ambientales y salud a los trabajadores, Disposición segura de los residuos.	
ACCIONES: Adecuar y establecer un punto de almacenamiento y disposición de los residuos.	
MEDIO UTILIZADO: contenedor, bolsas rojas e incinerador	
MONITOREO Y SEGUIMIENTO: Verificar el buen uso a los medios utilizados a partir de registros.	

DISPOSICIÓN DEL JUNCO(Scirpus californicus)	
OBJETIVO: Disponer los juncos(Scirpus californicus) de manera apta que permita la prevención de futuros accidentes	
ETAPA: Segregación de residuos	
TIPO DE MEDIDA: Preventiva y de control	
RESULTADOS ESPERADOS: Prevención de riesgos ambientales y salud a los trabajadores, Disposición segura de los residuos.	
ACCIONES: - Adecuar y establecer un punto de almacenamiento y disposición de los residuos**.**	
MEDIO UTILIZADO: contenedor y bolsas rojas	
MONITOREO Y SEGUIMIENTO: Verificar el buen uso a los medios utilizados a partir de registros.	

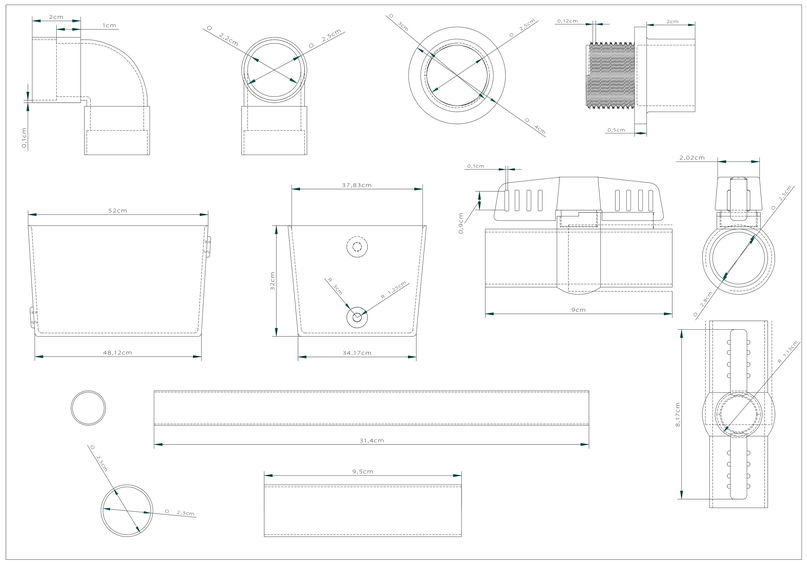
ANEXO E.

[redacted]

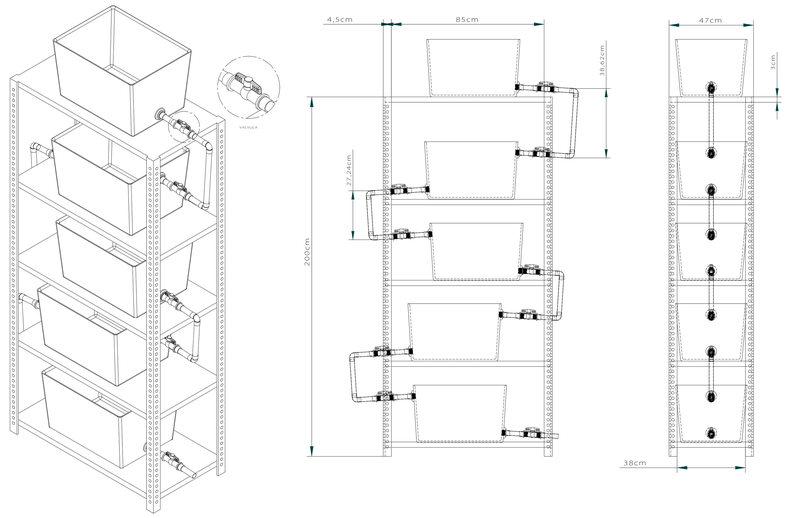
Parametro	Cd mg/l		Al mg/l	
Norma	0,003		5	
Nº prueba	Aflue.	Eflue.	Aflue.	Eflue.
1	1,4	0	3,1	0.01
2	0,8	0	2,2	0
3	1,2	0,001	1,9	0.03
4	0,6	0	1,1	0
5	1,1	0.002	1,1	0
Promedio	1,02	3E-04	1,88	0



UNIVERSIDAD DE LA SALLE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	ANGELA GRIJALBA 41031099 JAVIER BERNAL 41031049	MODELO 3D
DISEÑO DE PLANTA PILOTO HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL		REPRESENTACION GRAFICA HUMEDAL ATIFICIAL



UNIVERSIDAD DE LA SALLE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	ANGELA GRIJALBA 41031099 JAVIER BERNAL 41031049	ESCALA 1:3
DISEÑO DE PLANTA PILOTO HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL		PLANO DE MATERIALES



UNIVERSIDAD DE LA SALLE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	ANGELA GRIJALBA 41031099 JAVIER BERNAL 41031049	ESCALA 1:4
DISEÑO DE PLANTA PILOTO HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO SUBSUPERFICIAL		PLANO ISOMETRICO UNIDAD PILOTO