

1-1-2009

## **Determinación de la concentración letal media (CL50-96) de cobre (Cu) y Cinc (Zn) mediante pruebas toxicológicas (bioensayos), utilizando alevinos de *Oncorhynchus mykiss* (Trucha arco iris)**

Juán Guillermo Barreto Solano  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Guillermo Andrés Peralta Pérez  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

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

---

### **Citación recomendada**

Barreto Solano, J. G., & Peralta Pérez, G. A. (2009). Determinación de la concentración letal media (CL50-96) de cobre (Cu) y Cinc (Zn) mediante pruebas toxicológicas (bioensayos), utilizando alevinos de *Oncorhynchus mykiss* (Trucha arco iris). Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria/699](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/699)

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

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA ( $CL_{50-96}$ ) DE  
COBRE (Cu) Y CINC (Zn) MEDIANTE PRUEBAS TOXICOLÓGICAS  
(BIOENSAYOS), UTILIZANDO ALEVINOS DE *ONCORHYNCHUS MYKISS*  
(TRUCHA ARCO IRIS).**

JUAN GUILLERMO BARRETO SOLANO  
GUILLERMO ANDRES PERALTA PEREZ

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL & SANITARIA  
BOGOTÁ D. C.  
2009

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA ( $CL_{50-96}$ ) DE  
COBRE (Cu) Y CINC (Zn) MEDIANTE PRUEBAS TOXICOLÓGICAS  
(BIOENSAYOS), UTILIZANDO ALEVINOS DE *ONCORHYNCHUS MYKISS*  
(TRUCHA ARCO IRIS).**

JUAN GUILLERMO BARRETO SOLANO  
GUILLERMO ANDRES PERALTA PEREZ

TESIS DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL  
Y SANITARIO

Director  
PEDRO MIGUEL ESCOBAR MALAVER  
QUÍMICO INDUSTRIAL  
LIC. QUÍMICA Y BIOLOGÍA  
Msc ALTA GESTIÓN AMBIENTAL

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

2009

Nota de aceptación

-----  
-----  
-----

-----  
Director

-----  
Jurado 1

-----  
Jurado 2

Bogotá D. C. 7 de Septiembre de 2009



## DEDICATORIA

*A mi abuela Laura Montoya que desde el cielo nos cuida,*

*Muchas gracias por su cariño y por su apoyo infinito*

*A mi mama Patricia Solano,*

*Que junto con mi abuela pese a las dificultades pudieron sacarnos adelante*

*A mi hermano José Alejandro Barreto,*

*Quien con su ejemplo fue una inspiración en mi vida*

*A mi papa Alfredo Barreto,*

*Gracias por su apoyo moral*

*A mis amigos y amigas,*

*A todas las personas que han creído en mí.*

*Muchas gracias a todos*

*Por su apoyo,*

*Por haberme dado la fortaleza en la consecución de este gran logro .*

**JUAN**

## **DEDICATORIA**

*Aunque este trabajo de grado apenas sea un objetivo más; representa un gran logro para mi formación personal y profesional que es el título.*

*Y por eso esta dedicatoria es por el conjunto de logros que representa.*

*A mi madre por su apoyo incondicional.*

*A mi Padre por animarme y apoyarme.*

*Margariteichon para que pueda respirar tranquila.*

*Mis hermanos MLU, CPP y Jose*

*A todas aquellas personas que confían, creen, me respetan, aprecian,  
etc. a MI Persona.*

*Gracias a todos*

**GUILLERMO ANDRES**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la comunidad del laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria la cual nos ayudó en el proceso de desarrollo de los bioensayos y las otras actividades que sin ser estrictamente de bioensayos fueron vitales para continuar durante la investigación.

Al profesor Pedro Miguel Escobar Malaver director del proyecto quien nos apoyó en el desarrollo de las pruebas y consecución de los objetivos del proyecto con su amplio conocimiento en el tema de bioensayos.

A nuestras Madres y familiares que nos brindaron su apoyo incondicional en el proceso de conseguir el título como ingenieros ambientales y sanitarios.

A nuestros compañeros quienes nos apoyaron, motivaron y colaboraron para obtener el fin.

A la comunidad lasallista por brindarnos las herramientas necesarias para desarrollar nuestro potencial humano y profesional.

A la empresa de cincado por explicarnos los procesos que desarrollaban, colaborarnos permitiéndonos ingresar en su espacio de trabajo y realizar la toma de muestras de las aguas residuales que fueron parte fundamental del proyecto.

## CONTENIDO

pág.

INTRODUCCIÓN	
1	OBJETIVOS.....4
2	JUSTIFICACIÓN.....5
3	MARCO TEÓRICO.....7
3.1	TRUCHA ARCO IRIS..... 7
3.1.1	ANATOMO-FISIOLOGÍA..... 8
3.1.2	ECOLOGÍA DE LA TRUCHA ..... 10
3.1.3	DESARROLLO DE LA TRUCHA ARCOIRIS ..... 10
3.1.4	DISTRIBUCIÓN..... 11
3.1.5	ALIMENTACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS ..... 11
3.1.6	COMPORTAMIENTO (etología)..... 12
3.1.7	TOLERANCIA DE LA TRUCHA ARCO IRIS A LAS DIFERENTES VARIABLES AMBIENTALES..... 12
3.1.8	CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL ORGANISMO DE PRUEBA 15
3.1.9	FUENTES DE OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE LA TRUCHA COMO ORGANISMO DE PRUEBA ..... 17
3.2	BIOENSAYO..... 17
3.2.1	TIPOS DE BIOENSAYO ..... 17
3.2.2	TOXICIDAD..... 18
3.2.3	PRUEBAS DE TOXICIDAD..... 19
3.2.4	TÓXICOS DE REFERENCIA ..... 20
3.2.5	CARTAS DE CONTROL DE CALIDAD ..... 21
3.2.6	PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE CONTROL ..... 22
3.2.7	REPLICABILIDAD Y SENSIBILIDAD ..... 23
3.2.8	MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE TOXICIDAD..... 24
3.2.9	ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y ANÁLISIS PROBIT ..... 25

3.3	METALES.....	27
3.3.2	METALES DE PRUEBA.....	29
3.3.3	COBRE .....	29
3.3.4	CINC .....	33
3.4	GALVANOTECNIA .....	37
3.4.1	Generalidades.....	37
3.4.2	El Proceso Galvánico.....	37
3.4.3	Proceso de Galvanoplastia .....	38
3.4.4	Proceso de galvanostegia .....	39
3.4.5	CINCADO.....	41
4	METODOLOGÍA.....	44
4.1	FASE I. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	44
4.2	FASE II. ACONDICIONAMIENTO .....	44
4.2.1	RECINTO EXPERIMENTAL .....	44
4.2.2	ADAPTACIÓN, ACLIMATACIÓN Y MANTENIMIENTO DE LOS ACUARIOS.....	45
4.2.3	ORGANISMO DE PRUEBA (ADQUISICIÓN Y TRANSPORTE) 46	
4.2.4	ACLIMATACIÓN DEL ORGANISMO DE PRUEBA.....	47
4.2.5	ALIMENTACIÓN DEL ORGANISMO DE PRUEBA.....	48
4.2.6	PREPARACIÓN DEL AGUA PARA LAS PRUEBAS TOXICOLÓGICAS.....	48
4.3	FASE III. PRUEBAS TOXICOLÓGICAS.....	49
4.3.1	Montaje de las pruebas toxicológicas.....	50
4.3.2	Pruebas de sensibilidad .....	51
4.3.3	Pruebas preliminares y definitivas para cobre (Cu) utilizando $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	51
	soluciones de 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm. Para la preparación de las distintas concentraciones que se requerían se usaron estas diluciones. .....	51
4.3.4	Pruebas preliminares y definitivas para cobre (Cu) utilizando $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	51
4.3.5	Pruebas preliminares y pruebas definitivas para cinc (Zn) utilizando $\text{ZnCl}_2$ .....	51

4.3.6	PRUEBAS DE TOXICIDAD EN LA INDUSTRIA .....	53
4.3.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	53
5	INDUSTRIA EVALUADA.....	56
6	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS DE TOXICIDAD.....	56
6.1	PRUEBAS DE SENSIBILIDAD .....	57
6.1.1	Análisis de varianza para las pruebas de sensibilidad de $K_2Cr_2O_7$ . ....	57
6.1.2	Análisis Probit para las pruebas de Sensibilidad con $K_2Cr_2O_7$ 59	
6.2	PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS PARA Cobre (Cu) a partir de sulfato de cobre pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ).....	61
6.2.1	Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad de Cu .....	62
6.2.2	Análisis Probit para las pruebas de toxicidad de Cu. ....	63
6.3	PRUEBAS PRELIMINARES Y PRUEBAS DEFINITIVAS PARA CINC (Zn) A PARTIR DE ( $ZnCl_2$ ).....	67
6.3.1	Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad de Zn.....	67
6.4	PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS DEL VERTIMIENTO CRUDO DEL PROCESO DE CINCADO .....	72
6.4.1	Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad con el Vertimiento Crudo. ....	73
6.4.2	Análisis Probit para las pruebas de toxicidad de Vertimiento Crudo	74
6.5	PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS DEL VERTIMIENTO TRATADO .....	77
6.5.1	Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad con el Vertimiento Tratado. ....	78
6.6	Análisis Físico-Químicos del Vertimiento crudo y tratado. ....	79
6.7	Obtención de la carga tóxica e índice toxicológico del Vertimiento Crudo.....	79
6.8	Obtención de la carga tóxica e índice toxicológico del vertimiento tratado. ....	80
7	SELECCIÓN DE LA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO PARA EL VERTIMIENTO DE LA INDUSTRIA DE CINCADO.....	82
7.1	TEST DE JARRAS .....	86
7.2	DISEÑO DEL TRATAMIENTO PILOTO .....	88
	CRITERIOS DE DISEÑO .....	88

8	CONCLUSIONES.....	92
9	RECOMENDACIONES.....	94
10	BIBLIOGRAFÍA.....	96
	ANEXOS.....	102
	ANEXO A PROTOCOLO DE LABORATORIO ANÁLISIS PROBIT.....	103
	ANEXO B. PROTOCOLO LABORATORIO ANÁLISIS VARIANZA.....	124
	ANEXO C. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO ( $K_2Cr_2O_7$ ) .....	132
	ANEXO D. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON COBRE (Cu) UTILIZANDO SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ).....	153
	ANEXO E. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON CLORURO DE CINC ( $ZnCl_2$ ) .....	166
	ANEXO F. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO CRUDO .....	180
	ANEXO G. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO TRATADO .....	189
	ANEXO H. REGISTRO FOTOGRÁFICO.....	195
	ANEXO I. FACTURA DE COMPRA DE ALEVINOS DE TRUCHA ARCO IRIS.....	202
	ANEXO J. CARACTERIZACIONES DE Cu Y Zn ANALIZADAS POR EL LABORATORIO IVONNE BERNIER .....	205
	ANEXO K. SEGMENTACIÓN DE EL VERTIMIENTO EN COBRE (Cu) Y CINC (Zn) .....	208
	ANEXO L. PLANO DEL DISEÑO PILOTO DE TRATAMIENTO.....	211
	ANEXO M. ALGUNOS RESULTADOS $CL_{50-96}$ .....	213
	POR EL MÉTODO PROBIT. ....	213
	ANEXO N. DISEÑO CAJA DE MEZCLA RAPIDA.....	217
	ANEXO O. HOJAS DE REGISTRO DE DATOS .....	220

## LISTA DE ANEXOS

	pag.
ANEXOS.....	102
ANEXO A. PROTOCOLO DE LABORATORIO ANÁLISIS PROBIT.....	103
ANEXO B. PROTOCOLO LABORATORIO ANÁLISIS VARIANZA.....	124
ANEXO C. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ).....	132
ANEXO D. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO (CuSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O).....	153
ANEXO E. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON CLORURO DE CINC (ZnCl <sub>2</sub> ).....	166
ANEXO F. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO CRUDO..	180
ANEXO G. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO TRATADO.....	189
ANEXO H. REGISTRO FOTOGRÁFICO.....	195
ANEXO I. FACTURA DE COMPRA DE ALEVINOS DE TRUCHA ARCO IRIS.....	202
ANEXO J. CARACTERIZACIONES DE Cu Y Zn ANALIZADAS POR EL LABORATORIO IVONNE BERNIER.....	205
ANEXO K. SEGMENTACIÓN DE EL VERTIMIENTO EN COBRE (Cu) Y CINC (Zn).....	208
ANEXO L. PLANO DEL DISEÑO PILOTO DE TRATAMIENTO.....	211
ANEXO M. ALGUNOS RESULTADOS CL <sub>50-96</sub> .....	213
POR EL MÉTODO PROBIT. ....	213
ANEXO N. DISEÑO CAJA DE MEZCLA RAPIDA.....	217
ANEXO O. HOJAS DE REGISTRO DE DATOS .....	220



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1 . Comparación de algunos de los requerimientos para el crecimiento y supervivencia de la trucha como señalan algunos autores.....	16
Tabla 2. Algunas particularidades de los tipos de recubrimientos galvánicos más comunes.....	39
Tabla 3. Procesos de la galvanoplastia .....	40
Tabla 4. Composición nutricional del alimento Nutripez en Hojuelas.....	48
Tabla 5. Modelo utilizado en las cartas de control de los bieonsayos.....	52
Tabla 6. Características de las unidades de tratamiento de la empresa de cincado. ....	55
Tabla 7. Resultados de una de las pruebas definitivas con lectura a las 96 horas del Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ).....	57
Tabla 8. F calculado vs. F teórico para las pruebas definitivas de sensibilidad con $K_2Cr_2O_7$ . +/- 0.1 .....	58
Tabla 9. Carta de control de sensibilidad de $K_2Cr_2O_7$ . +/- 0.1 .....	59
Tabla 10. Diferentes valores de sensibilidad de $K_2Cr_2O_7$ de estudios nacionales e internacionales en trucha arcoiris. ....	61
Tabla 11. Resultados de las pruebas preliminares tomadas a las 96 h para cobre (Cu).....	62
Tabla 12. Resultados de una de las pruebas definitivas tomadas a las 96 h para Cu.....	62
Tabla 13. F calculado vs. F teórico para las pruebas definitivas con Cu. ....	63
Tabla 14. Carta de control para la prueba de toxicidad de Cu. ....	64
Tabla 15. Diferentes valores de pruebas de toxicidad internacionales con cobre (Cu) en trucha arcoíris. ....	66
Tabla 16. Comparación con la legislación .....	66
Tabla 17. Resultados de una de las pruebas preliminares de toxicidad de cinc (Zn).....	67
Tabla 18. Resultados de una de las pruebas definitivas de toxicidad de cinc (Zn). ....	68
Tabla 19. F calculado vs. F teórico para las pruebas de toxicidad definitivas con Zn.....	68
Tabla 20. Carta de control de la prueba de toxicidad de cinc (Zn).....	69
Tabla 21. Diferentes valores de pruebas de toxicidad de cinc (Zn) con trucha arcoiris. ....	70
Tabla 22. Comparación con la legislación. ....	72
Tabla 23. Resultados de una de las pruebas preliminares del Vertimiento Crudo. ....	73
Tabla 24. Resultados de una de las pruebas definitivas con lectura a las 96 horas del Vertimiento Crudo. ....	74

Tabla 25. F calculado vs. F teórico para las pruebas definitivas con Vertimiento Crudo. ....	74
Tabla 26. Carta de control del vertimiento crudo. ....	75
Tabla 27. Concentraciones Vertimiento Crudo y Tratado, % de Remoción y Legislación Antigua y Nueva. ....	77
Tabla 28. Resultados de una de las pruebas preliminares con lectura a las 96 horas del Vertimiento tratado. ....	78
Tabla 29. F calculado vs. F teórico para las pruebas con Vertimiento Tratado. ....	78
Tabla 30. Resultados de la caracterización del vertimiento crudo realizada el 27 de abril de 2009. ....	79
Tabla 31. Resultados de la caracterización del vertimiento tratado. ....	80
Tabla 32. Rangos de índices toxicológicos. ....	81
Tabla 33. Rangos de índices toxicológicos. ....	81
Tabla 34. Tratamientos de metales pesados Ventajas y desventajas ....	83
Tabla 35. Matriz de priorización de la alternativa de tratamiento. ....	86
Tabla 36. Rango de calificación ....	86
Tabla 37. Resultados del test de jarras. ....	87
Tabla 38. Gradientes de velocidad ....	88
Tabla 39. Parámetros de diseño de un floculador. ....	88
Tabla 40. Hoja de cálculo del clarifloculador. ....	89

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). .....	8
Figura 2. Partes del cuerpo de la trucha arco iris. ....	9
Figura 3. Zonas del agua donde predomina la trucha.....	11
Figura 4. Ciclo de vida de la trucha arco iris.....	12
Figura 5. Curva de concentración-respuesta obtenida por pruebas de toxicidad. ....	20
Figura 6. Relación entre el crecimiento y la concentración de metales esenciales. ....	28
Figura 7. Ciclo del cobre .....	32
Figura 8. Ciclo del cinc. ....	36
Figura 9. Esquema del proceso de Cincado.....	41
Figura 10. Esquema Insumos y desechos en el cincado alcalino .....	42
Figura 11. Tratamiento y disposición final del cinc .....	43
Figura 12. Esquema del laboratorio de bioensayos de la universidad de La Salle .....	45
Figura 13. Foto Acuarios empleados para mantener las condiciones óptimas de vida de los alevinos de trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). ....	46
Figura 14. Foto aclimatación de los alevinos de trucha arco iris.....	47
Figura 15. Foto tanque de 250 L para la aireación del agua de las pruebas. ....	49
Figura 16. Foto Batería de ensayos.....	50
Figura 17. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas de sensibilidad con $K_2Cr_2O_7$ . ....	60
Figura 18. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas de toxicidad para Cu. ....	65
Figura 19. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas de toxicidad de cinc (Zn). ..	71
Figura 20. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas del Vertimiento.....	76
Figura 21. Gráfica Comparación índice toxicológico Vertimiento Crudo vs. Vertimiento Tratado .....	82
Figura 22. Esquema del diseño piloto.....	91

## GLOSARIO

**Alevino o Alevín:** cría de pez que incluye la fase comprendida entre la larva y el adulto y que en ciertos peces de agua dulce se utiliza para repoblar.

**Batería de ensayos:** combinación de diversas pruebas de toxicidad con organismos representativos de cada uno de los niveles tróficos.

**Biocenosis:** conjunto de organismos de especies diversas, vegetales o animales, que viven y se reproducen en un determinado biotopo.

**Bioensayo:** Proceso experimental mediante el cual se determinan las características y la fuerza de una sustancia potencialmente tóxica o de un desecho metabolito, a través del estudio de sus efectos sobre organismos cuidadosamente escogidos y bajo condiciones específicas de laboratorio<sup>1</sup>.

**Biomagnificación:** tendencia de algunos productos químicos a acumularse a lo largo de la cadena trófica, exhibiendo concentraciones sucesivamente mayores al ascender el nivel trófico. La concentración del producto en el organismo consumidor es mayor que la concentración del mismo producto en el organismo consumido.

**Biotopo:** territorio o espacio vital cuyas condiciones ambientales son las adecuadas para que en él se desarrolle una determinada comunidad de seres vivos.

**Cadena alimantaria:** sucesión entre los organismos vivos que se nutren unos de otros en un orden determinado.

**Carta de control:** tabla utilizada para seguir cambios en el tiempo del punto final medio para un compuesto tóxico de referencia en un organismo en particular.

**Cincado:** recubrimiento de cinc que se le realiza a los metales mejorando su aspecto visual y para protegerlos de la corrosión y oxidación.

**CL<sub>50</sub> (Concentración letal media):** concentración en la que un contaminante causa la muerte del 50 % de los organismos en exposición con el mismo.

**Contaminación:** la contaminación es cualquier, sustancia o forma de energía que puede provocar algún daño o desequilibrio, irreversible o no, en el medio inicial.

---

<sup>1</sup> Mata & Quevedo, Diccionario de la biodiversidad disponible en línea en: [www.inbio.ac.cr](http://www.inbio.ac.cr)

**Control:** tratamiento que duplica todos los factores que puedan afectar el resultado, excepto la condición que está siendo investigada (**control negativo o Blanco**).

**Control positivo:** tratamiento que evalúa la respuesta tóxica con una sustancia de referencia, utilizada para controlar la sensibilidad de los organismos en el momento en el cual se evalúa.

**Ecotoxicología:** ciencia que estudia los efectos tóxicos provocados por los contaminantes sobre los ecosistemas.

**Estado de oxidación o número de oxidación:** se define como la suma de cargas positivas y negativas de un átomo, lo cual indirectamente indica el número de electrones que el átomo ha aceptado o cedido. El estado de oxidación es una aproximación conceptual, útil por ejemplo cuando se producen procesos de oxidación y reducción (procesos rédox).

Los protones de un átomo tienen carga positiva, y esta carga se ve compensada por la carga negativa de los electrones; si el número de protones y de electrones es el mismo el átomo es eléctricamente neutro.

**Etología:** parte de la biología que estudia el comportamiento de los animales.

**Ictiología:** la ictiología, generalmente definida como "el estudio de los peces" o "la rama de la zoología que trata de los peces".

**Poiquilothermia:** incapacidad de regulación de la temperatura del cuerpo, por lo que esta varía de acuerdo con la temperatura ambiental.

**Poiquilotérmico:** se dice de los animales llamados de sangre fría. Perteneciente o relativo a la poiquilothermia.

**Poiquilotermo:** poiquilotérmico

**Pruebas de toxicidad:** Una prueba de toxicidad es un ensayo en el cual un organismo o grupo de organismos son expuestos a un agente (químico, físico o biológico) para establecer y medir una respuesta previamente seleccionada. Esta respuesta se valora mediante la cuantificación del cambio en la característica (coloración, inanición, etc.) o la ocurrencia de un determinado fenómeno (muerte, inhibición en el crecimiento, etc.).

**Red trófica:** conjunto de relaciones entre cadenas alimentarias, que existen en las especies de una comunidad biológica, y que representa el flujo de materia y energía que atraviesa el ecosistema.

**Tolerancia:** se refiere al porcentaje de organismos de una población que se verá afectada a una cierta dosis. Así, la distribución de tolerancias es una cierta distribución de frecuencias o probabilidades de tolerancias a las distintas dosis del tóxico.

**Toxicidad aguda:** efecto adverso (letal o subletal) inducido sobre los organismos en prueba durante un período de exposición al material de ensayo, usualmente de pocos días.

**Valencia (química):** el máximo número de átomos univalentes (originalmente átomos de hidrógeno o cloro) que pueden combinarse con un átomo del elemento en consideración, o con un fragmento, o para el cual un átomo de este elemento puede ser sustituido.

**Xenobiótico:** se deriva del griego "xeno" ("extraño") y "bio" ("vida"). Se aplica a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que la mayoría de ellos son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio. La mayoría han aparecido en el medio ambiente durante los últimos 100 años

## ABSTRACT

This investigation was to determine the median lethal concentration ( $LC_{50-96}$ ) to:

- The reference toxicant potassium dichromate ( $K_2Cr_2O_7$ ), which will determine the sensitivity of species to the toxics. (initial stage)
- Copper (Cu), which uses copper sulfate pentahydrate ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) AR.
- Zinc (Zn), which uses zinc chloride ( $ZnCl_2$ ) AR.
- Dumping from the zinc process (before treatment and after treatment), with the presence of copper (Cu) and zinc (Zn).

The determination of the median lethal concentrations  $LC_{50-96}$  was performed by bioassay, which consisted of toxicological testing at different concentrations (five) and control for a total of six lines of test. Where was search to assess the relative strength of toxic metal agents of [copper (Cu) and zinc (Zn)] on aquatic organism. In this case using rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fingerling for their degree of sensitivity to organic pollution and slight changes in their ecosystem, historic translocation across continents, easily adaptable to artificial feeding, high degree of domestication and interesting life cycle.

Each test was made in quadruplicate in Fishbowls (24 total) and were used in 5 fingerling rainbow trout per aquarium for a total of 120 fingerlings per test. The tests were not renewed (Do not supply food or aeration during the experiment) and had a duration of 96 hours.

The test be based on observing the number of dead fish on control and at different concentrations (five) at (3, 6, 24, 48, 72 and 96) hours of exposure, these readings were taken on a sheets of control. The final reading was at 96 hours that was used Probit statistical analysis and thus determined the  $LC_{50-96}$  (dose-response) only for the definitive tests, which are those observed a mortality rate of 0% for the lowest concentration and 100% for the highest concentration in a phased manner across the five (5) concentrations. When found the range of the definitive tests was ten (10) replicas to verify the accuracy of the test.

Was also carried out a pilot design of industrial waste water treatment (clarifier) by a discharged zinc industry to remove the pollutant load to the dumping of industry and thus realizing achieve an environmentally safe for aquatic ecosystems.

## RESUMEN

El trabajo de grado consistió en determinar las Concentraciones Letales medias ( $CL_{50-96}$ ) para:

- El tóxico de referencia dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), con el cual se determinó la sensibilidad de la especie a los tóxicos. (etapa inicial)
- Cobre (Cu), en forma de sulfato de cobre pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) grado analítico.
- Cinc (Zn), en forma de cloruro de cinc ( $ZnCl_2$ ) grado analítico.
- El Vertimiento procedente del proceso de una industria de cincado (antes del tratamiento y post-tratamiento), en la cual se encontraban presentes los metales en estudio (Cu y Zn).

La determinación de estas Concentraciones Letales medias  $CL_{50-96}$  se realizó mediante bioensayos, que consistieron en hacer pruebas toxicológicas a diferentes concentraciones (cinco) y un blanco para un total de seis líneas de prueba. Donde se buscó evaluar la potencia relativa de los agentes metálicos tóxicos [cobre (Cu) y cinc (Zn)] sobre organismos acuáticos. En este caso se utilizaron alevinos de trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) por su grado de sensibilidad a las contaminaciones orgánicas y a los cambios leves en sus ecosistemas, histórica de la traslocación a través de los continentes, fácil adaptación alimentación artificial, alto grado de domesticación y sus interesante ciclo de vida.

Cada prueba se hizo por cuadruplicado en peceras (24 en total) y en cada pecera se utilizaron 5 alevinos de trucha arcoiris para un total de 120 alevinos por prueba. Las pruebas fueron sin renovación (No se suministro aireación ni alimento durante el experimento) y tuvieron una duración de 96 horas.

Las pruebas consistieron en observar el número de peces muertos en el blanco y en las diferentes concentraciones (cinco) a las (3, 6, 24, 48, 72 y 96) horas de exposición, llevándose registro de estas lecturas en hojas de control. Las lecturas definitivas fueron las de las 96 horas, datos que se utilizaron para hacer el análisis estadístico con el programa Probit y de esta manera se determinó la  $CL_{50-96}$  (relación dosis-respuesta) para las pruebas definitivas, las cuales son en las que se observa un porcentaje de mortalidad entre 0 % para la concentración más baja y 100 % para la de mayor concentración; de forma escalonada entre las cinco (5) concentraciones. Cuando se halló el rango de las pruebas definitivas se realizaron diez (10) réplicas de la prueba definitiva para comprobar la exactitud de la prueba.

Adicionalmente se realizó un diseño piloto de un tratamiento de aguas residuales industriales (clarifloculador) para remover la carga contaminante al vertimiento de la industria y de esta manera lograr alcanzar una concentración ambientalmente segura para los ecosistemas acuáticos.



## INTRODUCCIÓN

Los procesos de desarrollo del mundo actual dependen en gran medida de productos químicos para satisfacer sus necesidades en general, como por ejemplo: alimentarias, en salud, ambientales, industriales, agrícolas, y de la vida diaria en general.

Muchos de estos productos químicos (xenobióticos) al cumplir su vida útil presentan un riesgo para el entorno deteriorándolo de manera intrínseca cuando algunos de estos compuestos sobrepasan la capacidad de resiliencia del entorno, afectando los factores bióticos y abióticos, generando un entorno ambientalmente inseguro y de esta manera alterando directamente la biocenosis que sinérgicamente a su vez afecta la salud humana (egocéntricamente hablando).

A pesar de la evidencia de tiempo atrás, que se tiene acerca de la relación de los efectos tóxicos de los xenobióticos sobre el entorno, la biocenosis y la salud humana; las políticas ambientales, la gestión ambiental efectiva y la conciencia de la población en algunas naciones tienen una visión precaria y no muy responsable con el medio ambiente.

En países desarrollados estas falencias son parcialmente compensadas con los resultados de las pruebas de toxicidad con organismos vivos (bioensayos) que son utilizadas para saber el grado de peligrosidad de una sustancia para el entorno, la biocenosis y la salud humana, además de las metodologías convencionales para el control y el monitoreo ambiental.

Históricamente, el uso de métodos biológicos para detección de sustancias nocivas o peligrosas se registra desde 1776 cuando se realizaron pruebas de glifosato con ratas para hallar la concentración límite, a comienzos del siglo en 1893 se realizaron unas diluciones de bioensayos para un estudio de *Glycosylated Triketide Delta Lactones*, *Universite Catolique de Louvain*, en el siglo XX, en el año de 1922 se utilizaron en un estudio de endocrinológico, Fundación Rockefeller, en 1930 se desarrollo el primer bioensayo para probar el *Prolactin* en mamíferos, Universidad de Missouri, el uso de bioensayos con peces se inicia hacia 1940 y las pruebas con invertebrados y algas se reportan a lo largo de la década del 50. Actualmente, las evaluaciones toxicológicas integran diferentes niveles poblacionales, comunidades o ecosistemas que permiten identificar los elementos biológicos en riesgo.

El concepto de bioensayo o prueba de toxicidad se deriva de la toxicología clásica. Su definición ha sido modificada, adaptada y extendida al diagnóstico y manejo ambiental. Estas técnicas bioanalíticas son consideradas complementarias de los análisis fisicoquímicos convencionales y son alternativas eficaces para la predicción de niveles seguros de concentración.

En Colombia existe una normatividad sobre gestión, conservación y control de los recursos naturales y el medio ambiente. Sin embargo no hay una gestión ambiental efectiva para su cumplimiento, ni una conciencia, ni un compromiso ciudadano para hacerla cumplir. En el país el uso de los bioensayos es una práctica no muy difundida y la cantidad de estos análisis es todavía precaria para la demanda real del mercado.

El control y cumplimiento de las normas es llevado a cabo por distintas entidades gubernamentales; en el caso específico del recurso agua este control implica efectuar caracterizaciones físicas, químicas y bacteriológicas de las diferentes fuentes, donde los datos obtenidos se comparan con los parámetros de referencia de las normas, variando de acuerdo con el uso del recurso.

Haciendo referencia a las pruebas de toxicidad en las normas, el decreto 1594 de 1984 "*Usos del agua y residuos líquidos*" en el artículo 45 define los criterios de calidad admisible para la preservación de fauna y flora, y en él se enumeran las diferentes sustancias de interés sanitario con sus respectivos valores de concentración letal media hallados.

En el artículo 46 se hace referencia a que la autoridad ambiental competente deberá establecer mediante pruebas de toxicidad (bioensayos) los valores de concentración letal media.

En la Resolución 357 de 2009 se establecen los valores de referencia para los vertimientos realizados a la red de alcantarillado en el distrito capital y además se nombran los valores de  $CL_{50-96}$  como los objetivos de calidad de aguas de la cuenca del río Bogotá para el año 2020 en el Acuerdo 43 de la CAR de 2006.

Esta investigación es un bioensayo en el que se determina la concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) de cobre (Cu) y cinc (Zn) utilizando trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), se realiza un diseño de un tratamiento piloto a escala de laboratorio para el vertimiento de una industria de galvanotecnia que contiene los metales de interés [cobre (Cu) y cinc (Zn)] al cual se determina la concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) antes del tratamiento y post-tratamiento.

En los ensayos se usó como organismo de prueba alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) que es una especie de trucha nativa de la costa pacífica de América del norte introducida en lagos y arroyos de todo el mundo y que en Colombia fue introducida hacia 1939.

Esta especie de trucha es propicia para las pruebas de toxicidad por diversos motivos entre ellos que no tolera las poluciones acuáticas, es muy sensible a las contaminaciones orgánicas y que se tiene gran conocimiento de su biología, cría, alimentación y manejo.

Por otro lado el cobre (Cu) y cinc (Zn) son dos metales (xenobióticos) generalmente vertidos en actividades industriales y que por sus

características en concentraciones nocivas pueden generar graves afectaciones al medio ambiente y a la salud en los seres humanos.

La investigación se realizó en varias fases primero se hizo el diseño experimental, segundo la fase de acondicionamiento que consistió en preparar el laboratorio para mantener en condiciones óptimas de vida los alevinos de trucha y tercero se realizaron las pruebas toxicológicas fase en la que se montaron las baterías de ensayo.

Los resultados fueron analizados mediante métodos estadísticos y se compararon los resultados con otros estudios similares realizados.

Este documento contiene la teoría de la trucha arco iris, de los bioensayos y de las industrias de galvanotecnia, la explicación fase a fase de la investigación en la metodología y los resultados y análisis de resultados del bioensayo.

## 1 OBJETIVOS

### General

Determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de cobre (Cu) y cinc (Zn) mediante pruebas toxicológicas (bioensayos), utilizando alevinos de *Oncorhynchus mykiss* (trucha arco iris).

### Específicos

- Determinar la sensibilidad de los alevinos de *Oncorhynchus mykiss* expuestos al Dicromato de Potasio.
- Realizar los análisis fisicoquímicos de la muestra ambiental de la industria de Galvanotecnia.
- Determinar la CL<sub>50</sub> de los vertimientos de la industria de Galvanotecnia antes y después del pretratamiento a nivel de laboratorio.
- Proponer y diseñar a escala de laboratorio el pretratamiento para disminuir los niveles de toxicidad del efluente de la industria de Galvanotecnia.

## 2 JUSTIFICACIÓN

La investigación se realizó para saber la concentración que causa el 50 % de muertes de una población de alevinos de trucha arco iris (*Onchorhynchus Mykiss*) en 96 horas al ser expuestas a Cobre (Cu) y Cinc (Zn) mediante pruebas toxicológicas (bioensayos).

Los bioensayos se realizan para estimar la sensibilidad de los organismos hacia los tóxicos en este caso Cobre(Cu) y Cinc (Zn), a su vez se utilizan como criterios de calidad ambiental para hacer la legislación actual (Decreto 1594 de 1984 y Resolución 357 de 2009) mas rigurosa y por otro lado si se usan conjuntamente con las mediciones químicas y ecológicas permiten identificar, cuantificar y generar criterios para la descarga de contaminantes tóxicos (vertimientos) y garantizar la calidad ambiental de los ecosistemas acuáticos<sup>2</sup>.

Si la legislación ambiental de vertimientos actual (Decreto 1594 de 1984 y Resolución 357 de 2009) se modificara haciéndola más estricta el estado disminuiría sus gastos en saneamiento hídrico debido a que no tendría que invertir en medidas correctivas de los efectos negativos de la contaminación.

El aporte social a través de la obtención de datos como las concentraciones letales de metales pesados como cinc (Zn) y cobre (Cu) es de gran utilidad para mejorar la normatividad colombiana de vertimientos, de esta manera impactando positivamente en la sociedad incrementando la calidad de vida de la misma.

En la medida que se controlen o prohíban vertimientos con concentraciones de cinc (Zn), cobre (Cu) y otros metales pesados sobre cuerpos de agua se logrará mejorar la calidad de vida del ser humano creando un equilibrio entre el medio ambiente y el hombre en pro de un desarrollo sustentable y se protegerán los intereses sociales que representan los recursos naturales los cuales son el sustento para gran parte de la población colombiana, también se deben proteger ya que son invaluable para el desarrollo y de la humanidad.

Los resultados obtenidos de este trabajo de investigación se adecuan a la realidad y condiciones nacionales de los ecosistemas acuáticos protegiendo de una manera más efectiva la calidad del recurso hídrico y la cadena trófica de los diversos ecosistemas. Además permiten evaluar y fortalecer los mecanismos de calidad y control ambiental permitiendo tener un control efectivo sobre los vertimientos industriales.

---

<sup>2</sup> Adaptado de: DÍAZ B. Maria C., SOBRERO Cecilia, PICA G. Yolanda, Capítulo 6. Aseguramiento y Control de Calidad de Bioensayos, *ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*, México: IMTA (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua), 2004. Canada: IDRC (The International Development Research Centre), 2004.

La prevención y más aún la corrección de los efectos negativos de la contaminación son muy costosos es así que países como Estados Unidos, Japón y los europeos han incorporado a su rigurosa legislación de control de calidad del ambiente criterios que surgen de los bioensayos<sup>3</sup>.

Los resultados de esta investigación servirán de soporte para ser parte de un compilado de estudios que el programa de Ingeniería Ambiental Y Sanitaria similares con metales pesados que serán presentados ante la autoridad ambiental competente en un proyecto para modificar las leyes actuales sobre usos de agua y residuos líquidos específicamente en lo referente a las sustancias de interés sanitario, volviéndolas mas responsables con su entorno y ambientalmente seguras para los que viven y circundan en el radio de acción de las descargas contaminantes .

---

<sup>3</sup> PAGGI, Juan C. - DE PAGGI, Susana J. ***Daphnia Magna: El "Canario" De Las Aguas*** - Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-Instituto Nacional de Limnología (INALI)-Santo Tomé (Santa Fe), Argentina.

### 3 MARCO TEÓRICO

Este capítulo que incluye una definición de trucha arco iris y una descripción de su anatomo-fisiología, ecología, desarrollo, distribución, alimentación, comportamiento, tolerancia a las diferentes variables ambientales y criterios de selección; además incluye la definición de bioensayo, tipos de bioensayo, pruebas de toxicidad, tóxicos de referencia, cartas de control de calidad, preparación de las soluciones de control, replicabilidad y sensibilidad, métodos estadísticos para el análisis de resultados de pruebas de toxicidad, análisis de regresión y análisis Probit; por otro lado una introducción breve a los metales y metales de prueba; finalmente una descripción de el sector de galvanotecnia, las generalidades, el proceso galvánico, el proceso de galvanoplastia, galvanostegia y cincado.

#### 3.1 TRUCHA ARCO IRIS

**Taxonomía:** la trucha común europea fue denominada como *Salmo trutta*, *Salmo* es el género y al añadir *trutta* (*epíteto específico*) define la especie. Este sistema binomial se ha ampliado para incluir las subespecies en un sistema trinomial, así *Salmo trutta fario* es una variedad o subespecie del tronco *Salmo trutta*.

La trucha se denomina *salmo per* debido al Orden, el taxón mayor situado inmediatamente por encima del nivel familiar, se forma con la adición de “*iformes*” al tronco aun género, de ahí *Salmoniformes*.

Antiguamente el nombre genérico de la trucha era *salmo* para designar especies de la costa de América del norte, pero según los taxonomistas la truchas nativas de las cuencas del Pacífico- Norte se encuentran genéricamente más cerca del salmón del Pacífico *Oncorhynchus*, en la actualidad debido a los trabajos presentados en Junio de 1988 por la American Society of Ichthyologist and Herpetologists a la American Fisheries Society's Committee on Names of Fishes se aceptó *Oncorhynchus*, como nombre genérico más apropiado para designar a todas las truchas nativas de la cuenca del Pacífico<sup>4</sup>.

**Clasificación científica:** la trucha arco iris pertenece a la familia *Salmónidos*, dentro del orden *Salmoniformes*. Se clasifica como *Oncorhynchus mykiss*.

---

<sup>4</sup>Basado en: **BLANCO CACHAFEIRO, M. Carmen.** La trucha: Cría industrial. Mundi-Prensa Libros, 1995, 503 p. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en:

<http://books.google.com.co/books?id=wRQIRsvUbu0C&printsec=frontcover><sup>3</sup> Pg 37

Nombre común de una especie de trucha muy apreciada por los pescadores. Es originaria de Norteamérica, pero ha sido introducida en arroyos y lagos de agua fría de todo el mundo.

Es un pez, con el dorso verdoso y los flancos más claros y con una banda irisada que recorre todo su cuerpo. Presenta numerosas manchas negras en el dorso, flancos y sobre las aletas dorsal, adiposa y caudal. Su tamaño depende de la abundancia de comida y de la temperatura del agua. En algunos arroyos, los adultos miden entre (25 – 30) cm. y pesan 0,5 kg, mientras que en otros alcanzan los 114 cm y los 15 kg, Los ejemplares que emigran al mar miden entre (50 - 75) cm y pesan entre (3,5 - 5,5) kg, aunque se han capturado ejemplares de hasta 19 kg.

Figura 1. Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)<sup>5</sup>.



**Fuente:** Eric Engbretson, U.S. Fish and Wildlife Service. 2009

Las truchas, son peces que ocupan en la naturaleza, espacios acuáticos con aguas puras y cristalinas, que habitan en cauces con notables desniveles topográficos, que originan rápidos, saltos y cascadas, típicos de los ríos de alta montaña. La trucha arco iris prefiere las corrientes moderadas y ocupa generalmente los tramos medios, donde el río se ensancha con fondos pedregosos y moderada vegetación.

### 3.1.1 ANATOMO-FISIOLOGÍA

#### 3.1.1.1 Esqueleto

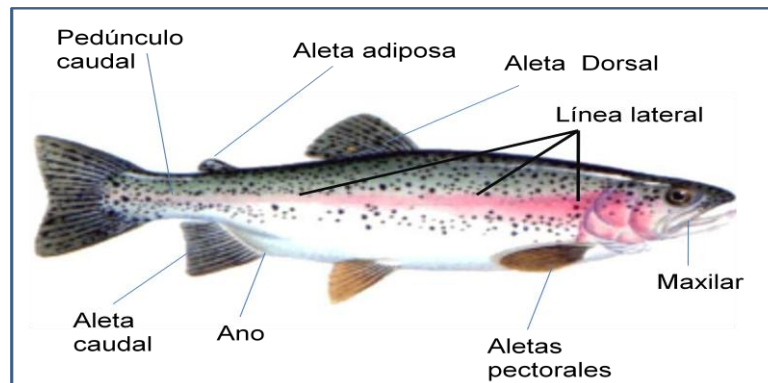
La trucha tiene un esqueleto óseo, siendo la columna vertebral el eje del cuerpo. La trucha posee de 28 a 29 vértebras firmemente unidas mediante tejido conectivo; así la columna puede ser fácilmente curvada. Los peces poseen unas costillas intramusculares falsas, eso minúsculos huesecillos en forma de “Y”.

---

<sup>5</sup> "Trucha arco iris," Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online 2008 <http://es.encarta.msn.com> © 1997-2008 Microsoft Corporation.  
[http://es.encarta.msn.com/encyclopedia\\_961543635/Trucha\\_arco\\_iris.html](http://es.encarta.msn.com/encyclopedia_961543635/Trucha_arco_iris.html)



Figura 2. Partes del cuerpo de la trucha arco iris.



**Fuente:** Adaptado de STEPHEN DRUMMOND SEDGWICK, 1988 y Notas de Ictiología, DeNauticos, 2006.

### 3.1.1.2 Respiración

El agua contiene solamente alrededor del 5% de la cantidad de oxígeno que hay disponible en el aire. Este nivel es todavía mas bajo cuando aumenta la temperatura del agua. Por lo tanto el aparato respiratorio de los peces se ha adaptado para ser más eficiente. El órgano principal son las branquias o agallas. Están formadas por unas laminillas cubiertas por un fino epitelio por el cual se produce el intercambio gaseoso; la toma de oxígeno y la eliminación de dióxido de carbono. Este epitelio si fuese extendido tendría una superficie 10 veces mayor que la del cuerpo del pez. Las branquias de la trucha consisten en dos conjuntos de cuatro arcos branquiales. Debido a la gran fragilidad de las branquias están protegidas por el opérculo (*Pieza generalmente redonda, que, a modo de tapadera, sirve para cerrar ciertas aberturas; p. ej., las de las agallas de la mayor parte de los peces, la concha de muchos moluscos univalvos o las cápsulas de varios frutos.*). El flujo de agua a las branquias es continuo y unidireccional, establecido por un sistema de bombeo. El resultado es que agua entra por la boca y sale por el opérculo pasando a través de las branquias, donde se produce el intercambio gaseoso.

### Sistema circulatorio - excretor

La trucha tiene un sistema circulatorio sencillo. El corazón bombea sangre hacia las branquias para su oxigenación y de ahí va por los capilares a los tejidos. La sangre venosa retorna al corazón. El corazón consta de tres cámaras, el seno, la aurícula y el ventrículo. En todo cuerpo animal hay un aporte constante de materiales, así como un barrido de desechos en los tejidos. El principal producto residual de la trucha es el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), que es eliminado en una alta proporción por las branquias así como el anhídrido carbónico ( $\text{CO}_2$ ). Otras partes más pequeñas de sustancias nitrogenadas y otros productos degradados son filtrados por el riñón.

El **riñón** es un órgano oscuro alargado, ubicado inmediatamente por debajo de la espina dorsal y por encima de la vejiga natatoria: se extiende desde la cabeza hasta el comienzo de la cola. Del riñón salen los uréteres por lo que es conducida la orina hacia la vejiga urinaria y de ahí al seno urogenital.

Para los peces de agua dulce el riñón es más importante que para los de agua salada, ya que por ellos se elimina el exceso de agua. La concentración salina del agua es mucho más baja que la de las células de la trucha; por lo que el agua tiende a difundir en las branquias hacia la sangre. Esta agua debe ser eliminada, función que compete al riñón, las sales son en gran parte reabsorbidas por lo que la orina, abundante, es mas diluida que la sangre<sup>6</sup>.

### 3.1.2 ECOLOGÍA DE LA TRUCHA

#### 3.1.2.1 Hábitat

Los ríos se pueden dividir en cuatro franjas, de acuerdo con la rapidez de la corriente, que se denominaran según la especie predominante así: zona de *Salmónidos*, zona del Tímalo, zona de los Barbos y zona de las Bremsas. No todos los ríos tienen estas cuatro zonas y por supuesto hay lugares de transición entre ellas donde conviven los distintos peces ver Figura 3. Zonas del agua donde predomina la trucha.

Los *salmónidos*, especialmente la trucha arco-iris, pero también el tímalo, gobio, madrilla, locha y el piscardado predominan en la zona del tímalo que son zonas un poco mas bajas, en las que el ríos son un poco mas profundos y con el agua un poco mas lenta y cálida<sup>7</sup>.

### 3.1.3 DESARROLLO DE LA TRUCHA ARCOIRIS

El desarrollo de la trucha arco iris ocurre en varias etapas que van desde ser alevinos hasta alcanzar la edad madura como se puede ver en la Figura 4. Ciclo de vida de la trucha arco iris.

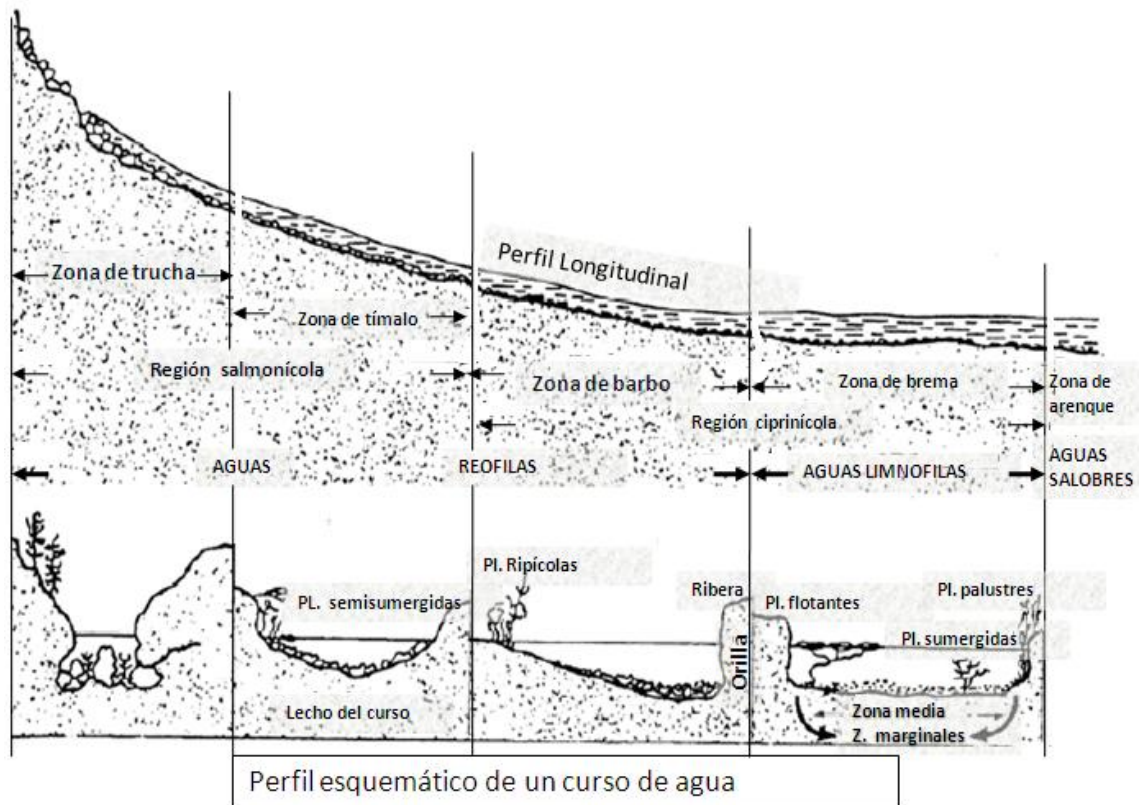
Una característica muy peculiar de los *salmónidos*, es que sus órganos sexuales presentan en los primeros períodos de vida, una cierta indiferenciación, es decir no es posible determinar microscópicamente si la glándula sexual de un ejemplar es testículo u ovario.

---

<sup>6</sup> <<http://www.revistaaquatic.com/asociaciones/PirineosPesca/sp/index.htm>> Red Pirineos-Pesca 2001. Anatomía y fisiología de la trucha. [web en línea]. [con acceso el 14 de Diciembre de 2008].

<sup>7</sup> **Id.** Ecología de la trucha: hábitat y alimentación.

Figura 3. Zonas del agua donde predomina la trucha.



Fuente: Red Pirineos-Pesca, 2001

Este fenómeno es denominado gonocorismo indiferenciado y lo presentan truchas y salmones en los primeros meses de vida, de tal forma, que aproximadamente hasta los cuatro meses estos órganos no adquieren la estructura histológica y funcional típica<sup>8</sup>.

### 3.1.4 DISTRIBUCIÓN

Desde el pacifico oriental a Alaska y a baja California. Este es uno de los peces más ampliamente introducido en el mundo por lo menos en 50 países, lo cual hace su presencia virtualmente global. En los países tropicales donde ha sido introducido solo se encuentra por encima de los 1200 m.s.n.m.m (metros sobre el nivel medio del mar).

### 3.1.5 ALIMENTACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS

La mayoría de los adultos consume insectos, moluscos, crustáceos, huevos de peces, y otros pequeños peces (incluyendo otras truchas). La mayoría de los jóvenes se alimentan de zooplancton. Las poblaciones oceánicas son vulnerables a los peces grandes, pinnípedos y Odontocetos. Las

<sup>8</sup> BLANCO CACHAFEIRO, M. Carmen. **Op. Cit.** P. 43.

poblaciones de agua dulce son depredadas por grandes peces, nutrias, osos, y pájaros.

Figura 4. Ciclo de vida de la trucha arcoiris



**Fuente:** Adaptado de Taupo for Tomorrow, Tongariro National Trout Centre , [web en línea] disponible en: <<http://www.taupofortomorrow.co.nz/fishery/trout.php>>.

### 3.1.6 COMPORTAMIENTO (etología)

Los adultos defienden agresivamente los territorios de alimentación. Todas las poblaciones de truchas arco iris son oportunistas con respecto a la migración, ya que son capaces de migrar, o por lo menos para adaptarse al agua del mar de acuerdo a los factores ambientales. Demostrando la versatilidad de adaptación y comportamiento de esta especie<sup>9</sup>.

### 3.1.7 TOLERANCIA DE LA TRUCHA ARCO IRIS A LAS DIFERENTES VARIABLES AMBIENTALES

<sup>9</sup> Grzimek's *Animal Life Encyclopedia*, 2nd Edition. Volumes 4-5, Fishes I – II, Edited by Michael Hutchins; Dennis A Thoney, Paul V. Loiselle, and Neil Schalger. Farmington Hills, MI: Gale Group, 2003. Pg 414

### 3.1.7.1 Temperatura:

La trucha arco iris, como todos los peces, no tiene capacidad propia para regular su temperatura corporal, pues esta depende totalmente del medio acuático en el que viva.

Es pues la trucha un animal poiquiloterma, a diferencia de los llamados homeotermos, como los mamíferos, que tienen siempre su propia temperatura, con independencia del medio en el que se encuentren.

De esta peculiar característica biológica se resalta la extraordinaria importancia que tiene en salmonicultura, la temperatura del agua que abastece una piscifactoría. Esta tiene una incidencia directa sobre la biología de los *salmónidos*, condiciona la maduración de las gónadas de los reproductores existentes en la instalación, el tiempo de incubación de los huevos hasta su eclosión, así como sobre el ritmo mensual de crecimiento de alevinos y adultos, y especialmente sobre el grado de actividad metabólica. Indirectamente influye de forma fundamental en el agua de cultivo, pues la concentración de oxígeno disuelto en ella, la concentración de productos metabólicos [amoníaco ( $\text{NH}_3$ )], el tiempo y grado de descomposición de los materiales depositados en el fondo de los estanques, dependen precisamente de la temperatura.

Los cambios bruscos de temperatura son muy mal tolerados, por los organismos que se cultivan a nivel industrial por lo que se requieren aguas estables, con escasas variaciones térmicas diarias.

La temperatura del agua interviene en el grado de actividad metabólica de las truchas, en aguas frías las truchas apenas ingieren alimento y su crecimiento es lento, en temperaturas altas la trucha es muy voraz<sup>10</sup>.

### 3.1.7.2 Salinidad

La salinidad puede ser importante no sólo para la supervivencia de la trucha, sino también debido a la intrusión de aguas salinas en la parte alta de algunos sistemas fluviales. Los efectos de la salinidad que se presentan en la trucha son de dos clases, tanto directos como el balance iónico (por ejemplo, cambios en la tasa de crecimiento y/o supervivencia), y los indirectos (por ejemplo, cambios en el tipo y la disponibilidad de presas o la claridad del agua)<sup>11</sup>.

---

<sup>10</sup> BLANCO CACHAFEIRO, M. Carmen. **Op. Cit.** Pg. 61, 40.

<sup>11</sup> MOLONY, Brett, *Environmental requirements and tolerances of Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and Brown trout (Salmo trutta) with special reference to Western Australia: A review*, Published by Department of Fisheries Perth, Western Australia November 2001, 5 p.

### 3.1.7.3 pH

Los ríos con aguas alcalinas, suelen albergar una fauna salmonícola superior, pues la alcalinidad o riqueza mineral, promueve la existencia de animales acuáticos de los que se alimenta la trucha, a diferencia de las aguas ácidas, que son más pobres desde el punto de vista biológico. Sin embargo, en salmonicultura se prefieren las aguas ligeramente ácidas, pues los productos tóxicos, procedentes de la alimentación artificial de los peces, muestran, en estas condiciones, efectos amortiguados<sup>12</sup>.

Edwards (1978) declaró que el pH > 9 puede matar a los salmónidos, especialmente sensible en el huevo y matar en las etapas tempranas.

### 3.1.7.4 Oxígeno Disuelto

Uno de los factores más importantes que determinan la supervivencia de la trucha es la concentración de oxígeno disuelto en el agua. Para muchas especies de salmónidos, la exposición a bajos niveles de oxígeno disuelto aprox. menor a (5,0 - 6,0) mg/L puede causar la muerte (y Doudoroff Shumway 1970, en Weithman y Haas 1984). La concentración de oxígeno ha sido identificado como factor crítico para la supervivencia de *O. mykiss* en el desove (Rubin, 1998). Una correlación es que el aumento de temperatura del agua, trae consigo una disminución de concentración de OD, que a su vez la trucha necesita para vivir.

Como consecuencia se aumentan con ella las necesidades de la trucha de oxígeno, pues como hemos visto, los peces al ser animales poiquiloterms, su actividad metabólica es proporcional a la temperatura del agua, dentro de unos límites (Wieniaski, 1971). Esta actividad esta concatenada con el aumento de la degradación orgánica, que se acelera con las altas temperaturas y como resultado de esta combinación de factores se aumenta el consumo de oxígeno (DBO y DQO).

La cantidad de peces finales en un criadero es menor, asimismo aumenta el riesgo de incidencia de las patologías en los peces, esto debido a que con la mayor temperatura hay mayor proliferación de microorganismos incluyendo los agentes patógenos.

### 3.1.7.5 Amoníaco

El amoníaco (NH<sub>3</sub>) es la forma más común de residuos nitrogenados producidos por los peces. La Toxicidad del amoníaco depende de la cantidad de amoníaco no-ionizado presente, que a su vez depende de él pH, la temperatura y la salinidad del agua. En condiciones naturales, el amoníaco no presenta mayor problema para el crecimiento de los peces, ya

---

<sup>12</sup> Id. P. 5.

que se puede diluir en grandes cuerpos de agua y tiene una reducción de la toxicidad en las aguas ácidas o neutras (Barton 1996). En las condiciones de cultivo intensivo o en aguas altamente alcalinas ( $\text{pH} > 9$ ), el amoníaco puede tener efectos sub-letales, como una reducción de la tasa de crecimiento, o pueden ser muy tóxicos (Stickney 1991) en el total de los niveles de amoníaco por encima de  $0,02 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$  (Hellawell 1986). Los problemas con el Amoníaco también pueden ser frecuentes en ríos y embalses donde el amoníaco se utiliza como abono en las zonas de captación (por ejemplo, las zonas de agricultura). El amoníaco se mide normalmente (como  $\text{NH}_3\text{-N}$ ), y el nitrito ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) que son los compuestos nitrogenados más tóxicos para los peces. En las aguas naturales es extraño encontrar el nitrito, ya que se convierte en nitrato ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), por descomposición bacteriana (Stickney, 2000). El nitrato es mucho menos tóxico que el amoníaco, pero combinado con el nitrito es uno de los compuestos nitrogenados más tóxicos para los peces de agua dulce (Westin 1974).

A diferencia de muchos otros compuestos, el amoníaco es más tóxico en aguas alcalinas. Esto se debe a la desionización de la forma más inerte del amoníaco (amonio -  $\text{NH}_4^+$ ) a la forma mas tóxica ( $\text{NH}_3$ ) en aguas alcalinas (Barton 1996), usualmente con  $\text{pH} > 8$  (Stevensen 1987; Stickney, 1991)<sup>13</sup>.

#### **3.1.7.6 Dureza del agua**

La dureza del agua es el total de "sales" (iones) de calcio y magnesio medidos en el agua (Wedemeyer 1996) pero en general se expresa en términos del carbonato de calcio total ( $\text{CaCO}_3$ ) en el agua, por lo menos en aguas con bajos o nulos niveles de cloro. La dureza del agua es un parámetro importante en la cría de los *salmónidos*, debido a los efectos de solubilidad en otros iones<sup>14</sup>.

Las variables ambientales mencionadas anteriormente son primordiales para el crecimiento y supervivencia de la trucha; varios autores señalan diferentes valores a estos parámetros reflejando las diferencias geográficas entre las distintas poblaciones como se puede ver en la tabla 1.

#### **3.1.8 CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL ORGANISMO DE PRUEBA**

Las truchas arco iris tiene mejor crecimiento que las comunes y se adaptan fácilmente a la alimentación artificial, siendo éste, entre otros, los motivos de ser una típica especie de cultivo.

---

<sup>13</sup> Molony, Brett, **Op. Cit.** P. 8.

<sup>14</sup> **Id.** P. 9.

Tabla 1 . Comparación de algunos de los requerimientos para el crecimiento y supervivencia de la trucha como señalan algunos autores.

Parámetro	Sedgwick (1985)	Stevenson (1987)	Barton (1996)	Wedemeyer (1996)	Brannon (1991)
Temperatura(°C)	10 - 15 (G) (Mejor < 21, letal > 25 – 27 (S))	10 - 16 (G) (Mejor debajo de 20, letal > 25 (S))	10 - 22 (G) > 26.5 (S))		9- 16 (G) (<26 (S))
Salinidad ‰			0 - 30 (S)		
pH	7,0-7,5 (G) (No menor a 6.0 (S))	7.0 - 7.6 (G) (No por debajo de 6.0 (S))	6,5 - 8,0 (G)	7.0 - 8-0 (G) (6,0 - 9,0)(S)	6,7 - 8,5 (G)
Oxígeno disuelto (mg/L)				> 7 (S)	7.0 (G)
Calcio (dureza) (mg/L)	>150(G)		10- 400(G)	50 - 200 (S)	> 50 mejor (G) (4 -160 (S))

Fuente: Adaptado de Molony, Brett, Ibid. P. 28.

Las truchas toleran mal las poluciones acuáticas y son muy sensibles a las contaminaciones orgánicas, así como a numerosos productos que de forma accidental se encuentran ocasionalmente en las aguas<sup>15</sup>.

Los salmónidos y especialmente la trucha arco iris hoy en día se considera una especie de alto grado de domesticación, debido al conocimiento que se tiene de su biología, cría, alimentación, manejo, etc. Las truchas de criaderos se denominan “domésticas” para diferenciarlas de aquellas otras que viven libremente en el medio natural<sup>16</sup>.

Los salmónidos son el grupo de peces de los más estudiados en todo el mundo debido a su alto valor, la tasa de crecimiento, biológicamente interesante ciclo de vida y la historia de la translocación a través de muchos continentes. Como resultado, hay un gran volumen de literatura disponible sobre la biología y la ecología de este grupo de peces. Muchos de estos estudios son útiles para las investigaciones preliminares de la translocación potencial de cepas específicas de trucha a los nuevos lugares que puedan estar en los extremos de tolerancia de la trucha<sup>17</sup>.

<sup>15</sup> BLANCO CACHAFEIRO, M. Carmen, **Op. Cit.** P. 40.

<sup>16</sup> **Id.** P. 55.

<sup>17</sup> Molony, Brett, **Op. Cit.** P. 2.



### **3.1.9 FUENTES DE OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE LA TRUCHA COMO ORGANISMO DE PRUEBA**

Utilizar organismos provenientes directamente del hábitat natural puede distorsionar los resultados obtenidos por fuentes de variabilidad no previstas, como nutrición, dinámica de la población, estrés por depredación, etc. (Sosnowski et al., 1979). Estas variables pueden ser controladas o eliminadas con las poblaciones de laboratorio; además, el entrecruzamiento consanguíneo que ocurre a lo largo del tiempo en esas poblaciones, resulta en una considerable reducción de la variabilidad genética (Lewontin, 1974).

Por otra parte, a causa de la complejidad del medio ambiente acuático y de las comunidades biológicas que lo integran es difícil establecer el grado de deterioro que afecta a las especies o comunidades acuáticas. Por esta razón es conveniente realizar bioensayos utilizando organismos vivos en condiciones controladas de laboratorio. Sin embargo, el objetivo primordial de un bioensayo es reflejar la realidad de cómo afectaría a los organismos vivos en su medio natural y para ello es recomendable paralelamente investigar continuamente las comunidades en su propio hábitat (Villamar, 1996)<sup>18</sup>.

## **3.2 BIOENSAYO**

Definición 1: Uso de organismo(s) vivo(s) como un agente de prueba para la detectar la presencia o concentración de un compuesto químico o un efecto ambiental adverso, usándolo como bioindicador.

Definición 2: Proceso experimental mediante el cual se determinan las características y la fuerza de una sustancia potencialmente tóxica o de un desecho metabolito, a través del estudio de sus efectos sobre organismos cuidadosamente escogidos y bajo condiciones específicas de laboratorio. (Mata & Quevedo 1998).<sup>19</sup>

### **3.2.1 TIPOS DE BIOENSAYO**

Los bioensayos se clasifican principalmente en bioensayos de toxicidad aguda y crónica.

---

<sup>18</sup> Mac-Quhae, César Augusto Bioensayos de toxicidad aguda en neonatos de *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Crustácea: branchiopoda) expuestos a soluciones de hidróxido de sodio (NaOH), Universidad de Oriente, Núcleo Nueva Esparta, Venezuela, 2002

<sup>19</sup> Diccionario de la Biodiversidad, Instituto Nacional de la Biodiversidad Costa Rica. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://atilla.inbio.ac.cr>

### Bioensayos de toxicidad aguda

Son aquellos que cuantifican la alteración causada por alguna sustancia tóxica, sobre los organismos de una especie; esta alteración es observada sobre parámetros que alteran funciones vitales de un organismo, ya sea mortalidad, inmovilidad o alteración en la tasa de crecimiento.

### Bioensayos de toxicidad crónica

Cuantifican los efectos en el desarrollo, reproducción o viabilidad poblacional de una especie determinada expuesta a un tóxico, por un tiempo no inferior al 20% de su ciclo de vida.

Existen muchas formas de determinar la toxicidad, para medir la respuesta de los organismos a los xenobióticos, y aunque los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador comúnmente más utilizado es la muerte del organismo de prueba. Para ensayos agudos uno de los valores más utilizados es la  $CL_{50}$  [concentración de un xenobiótico que causa al 50 % de la población en un tiempo determinado generalmente (48 – 96) horas].

Para ensayos crónicos aunque también para los agudos se pueden estimar la concentración segura o a la cual no se observa efecto en términos biológicos de la siguiente manera:

- La concentración más alta a la cual no se observa efecto (NOEC)
- La concentración más baja a la que se observa efecto (LOEC)
- La concentración efectiva (CE) correspondiente a una estimación de la concentración del tóxico que puede causar un efecto adverso observable mediante una respuesta discreta en un porcentaje dado de organismos
- Concentración letal (CL), la cual corresponde a la concentración del Tóxico o efluente o muestra que causa la muerte a un determinado Porcentaje de la población expuesta
- Concentración inhibitoria (CI), la cual corresponde a la concentración del tóxico o muestra o efluente que puede producir una reducción de una respuesta biológica en una población expuesta.

### 3.2.2 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 al tóxico.

La toxicidad evaluada en un ensayo biológico es el resultado de la interacción entre la sustancia y el sistema vivo. Sin embargo hay que tener en cuenta que el potencial nocivo de una sustancia tóxica puede ser contrarrestado por el sistema biológico a través de diferentes estrategias como reacciones metabólicas de detoxificación o excreción.

Además debe considerarse que el efecto tóxico de una sustancia sobre los sistemas biológicos es el resultado de la acción combinada de todas las sustancias presentes en el medio, incluso aquellas que no son tóxicas por naturaleza, pero que afectan las propiedades químicas o físicas del sistema y en consecuencia, las condiciones de vida de los organismos. Por ejemplo en los sistemas acuáticos existen sustancias que agotan el oxígeno, o que son coloreadas o que impiden la propagación de la luz (caso del material particulado). También se debe tener en cuenta aquellos efectos no directamente relacionados con la sustancia tóxica como el daño producido por cambios en la temperatura o por radiación<sup>20</sup>.

### 3.2.3 PRUEBAS DE TOXICIDAD

Una prueba de toxicidad es un ensayo en el cual un organismo o grupo de organismos son expuestos a un agente (químico, físico o biológico) para establecer y medir una respuesta previamente seleccionada. Esta respuesta se valora mediante la cuantificación del cambio en la característica (coloración, inanición, etc.) o la ocurrencia de un determinado fenómeno (muerte, inhibición en el crecimiento, etc.).

Los análisis de toxicidad son herramientas que al ser usadas conjuntamente con las mediciones químicas y ecológicas, permiten identificar, cuantificar y generar criterios para el control de la descarga de contaminantes tóxicos<sup>21</sup>.

La relación concentración-respuesta en toxicología es la relación cuantitativa entre la concentración del compuesto químico al cual está expuesto el organismo y la magnitud del efecto nocivo que se produce.

La respuesta gradual es cuando se obtiene una respuesta de magnitud definida para cada concentración. La curva concentración-respuesta se construye graficando en la ordenada las respuestas (R) observadas en el organismo, y en la abscisa las concentraciones (C ó [ ]) a las que fue expuesto. Ver Figura 5. Curva de concentración-respuesta obtenida por pruebas de toxicidad.

La estadística desempeña un papel importante no sólo para su cálculo, sino para la planificación y ejecución de las pruebas de toxicidad y para el análisis e interpretación de los resultados obtenidos en ellas. Por tanto, el diseño experimental, el muestreo, la modelación, 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,

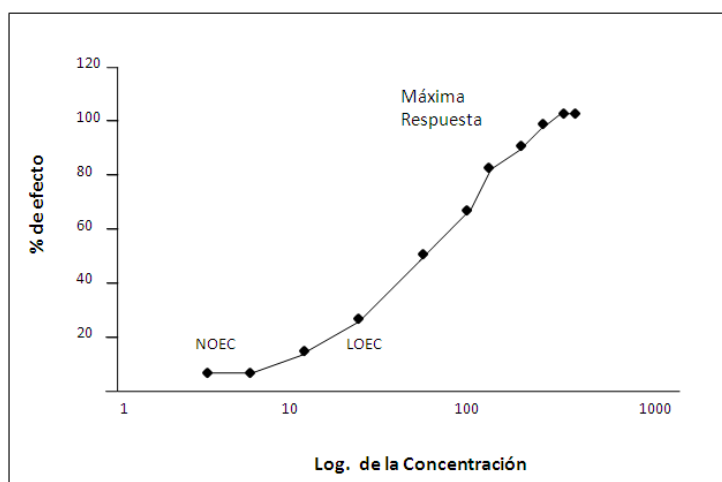
---

<sup>20</sup> Díaz Báez María Consuelo, Bustos López Martha, Espinosa Ramírez Adriana Janneth, Adaptado de *Pruebas de toxicidad acuática: Fundamentos y métodos*, Unibiblos - U. Nal. Colombia, 2004, p. ##.

<sup>21</sup> Castillo, Gabriela, (ed.). 2004 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, Capítulo 6, *Aseguramiento y Control de Calidad de Bioensayos*, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)

son aplicables a la mayoría de los datos obtenidos en este tipo de pruebas y pueden ser manejados por personas sin entrenamiento estadístico<sup>22</sup>.

Figura 4. Curva de concentración-respuesta obtenida por pruebas de toxicidad.



**Fuente:** Díaz Báez María Consuelo, Bustos López Martha, Espinosa Ramírez Adriana Janneth, *Pruebas de toxicidad acuática: Fundamentos y métodos*, Unibiblos - U. Nal. Colombia, 2004, p. 90.

### 3.2.4 TÓXICOS DE REFERENCIA

Un tóxico de referencia es un compuesto químico orgánico o inorgánico utilizado en pruebas de toxicidad con fines de control de calidad analítica de los organismos a utilizar en las pruebas

En la literatura se mencionan muchos compuestos que pueden emplearse como tóxicos de referencia; la US EPA (1993) cita el empleo de cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ ), dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y dodecil sulfato de sodio (SDS); CETESB (Brasil) cita el empleo del dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ); Enviroment Canada recomienda cinc ( $\text{Zn}^{+2}$ ) como tóxico de referencia inorgánico y fenol para las sustancias orgánicas.

Sin embargo, estos compuestos pueden sustituirse por otros, dependiendo de la especie de prueba, la matriz utilizada y los puntos finales medidos.

La precisión de los resultados de las pruebas de toxicidad en el laboratorio es calculada a través de la confección de *cartas o gráficos de control*. Este gráfico es una herramienta que permite determinar la variabilidad de los

---

<sup>22</sup> Castillo, Gabriela, (ed.). 2004 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, Capítulo 5, *Métodos estadísticos para la el análisis de resultados de toxicidad*, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)

resultados y, en consecuencia, definir la aptitud de un laboratorio para obtener resultados confiables.

### **3.2.5 CARTAS DE CONTROL DE CALIDAD**

La carta de control es la herramienta de registro que brinda los elementos de juicio para establecer los intervalos aceptables de variación de la respuesta de los organismos de prueba a un tóxico de referencia, con un margen de confianza del 95%. Esta carta es el medio de referencia para evidenciar el control de la sensibilidad de la especie empleada, de la estabilidad de la respuesta biológica y de la repetitividad (exactitud) de los resultados obtenidos.

La carta de control se genera a partir de los resultados de pruebas sucesivas al tóxico de referencia seleccionado, para el cual se obtiene el valor de la concentración de efecto medio ( $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$ ). Inicialmente ésta puede ser construida con un mínimo de cinco datos y posteriormente se debe continuar realizando ensayos con el tóxico para ingresar mensualmente nuevos valores hasta completar una serie de veinte resultados.

Los valores se van integrando a manera de puntos en un gráfico que relaciona el número de ensayo, ubicado en el eje  $X$  o abscisa, y el valor de la concentración de efecto medio ( $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$ ), en el eje  $Y$  u ordenada. Posteriormente, los valores son empleados para el cálculo del valor promedio y la desviación estándar ( $\sigma$ ) de la población de datos. Con estos parámetros estadísticos se calculan los valores límite (superior e inferior) que definen el intervalo de variación aceptable o intervalos de confianza (95%) en el que deberán encontrarse los valores de  $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$  obtenidos para futuros ensayos con el tóxico de referencia.

Los valores del límite superior e inferior se obtienen al adicionar o sustraer del promedio, respectivamente, dos desviaciones estándar de acuerdo con:

Concentración límite superior: promedio +  $2\sigma$

Concentración límite inferior: promedio –  $2\sigma$

Con la solución estándar del tóxico se preparan diluciones para obtener una serie de concentraciones, de manera que se logre obtener al menos dos valores de efecto mayor al 50% y dos más, menores a dicho porcentaje. En general, es de esperar que la serie de concentraciones utilizada produzca a través del tiempo la misma respuesta en cada concentración. La carta de control es utilizada para evaluar la tendencia de los resultados, por lo que el promedio acumulado y los límites de confianza son calculados nuevamente con cada nuevo dato obtenido. Después de dos años de colección de datos o de veinte evaluaciones, la carta control se mantiene usando solamente los veinte datos más recientes. En general, se recomienda realizar pruebas

mensuales con los tóxicos seleccionados; sin embargo, algunos laboratorios prefieren llevar a cabo ensayos con mayor frecuencia.

Valores de la  $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$  fuera del intervalo establecido son indicativos de algún cambio en la consistencia metodológica o de alteración de la sensibilidad de los organismos. En el caso de análisis de puntos finales como la  $CL_{50}$ ,  $CI_{50}$  y la  $CE_{50}$ , se espera que por azar y con una probabilidad asociada de  $P^{0.05}$ , sólo uno de los veinte ensayos se encuentre por fuera de los límites establecidos.

Si en más de un ensayo con los tóxicos de referencia el valor se encuentra por fuera de los límites, los resultados de las pruebas efectuadas deben considerarse provisionales y sujetos a confirmación. Si el problema persiste y el valor de  $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$  del tóxico de referencia se aleja significativamente del intervalo esperado, deberá realizarse una revisión de la sensibilidad de los organismos de prueba y eliminar los datos generados bajo estas circunstancias.

En este caso, se debe revisar cuidadosamente el procedimiento y repetir las pruebas con unos nuevos organismos.

El comportamiento de los gráficos de control puede cambiar en el tiempo, reduciéndose los intervalos de variación en la medida en que se adquiere habilidad en el manejo de los procedimientos de prueba. Bajo este esquema también es factible que se obtengan valores fuera de los nuevos límites; sin embargo, la incidencia de estos casos no deberá ser mayor del 5 por ciento.

### **3.2.6 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE CONTROL**

#### **3.2.6.1 Control positivo**

Generalmente, como control positivo se utiliza una solución del tóxico con una concentración cercana a la  $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$ . Para su elaboración, se prepara inicialmente una solución estándar con una alta concentración a partir de la cual se preparan soluciones menos concentradas, utilizando como diluyente el medio recomendado para cada prueba. En todos estos procedimientos se debe emplear material volumétrico. Estas diluciones deben prepararse hasta obtener una concentración cercana al valor promedio de la  $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$ , obtenida en cada laboratorio.

Preparación de las soluciones para determinación de la  $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$  del tóxico de referencia:

Cada laboratorio debe conocer el patrón de respuesta de sus organismos al tóxico de referencia, lo cual permitirá determinar las concentraciones óptimas para elaborar la curva dosis-respuesta.

Para determinar el volumen de solución estándar necesario para la preparación de la concentración de interés, puede emplearse la siguiente regla:

$$V_i \times C_i = V_F \times C_F$$

Donde:

$V_i$  y  $V_f$  corresponden a los volúmenes iniciales y finales, y  $C_i$  y  $C_f$  a las concentraciones iniciales y finales.

Se recomienda hacer chequeos periódicos de la concentración del tóxico, dado que fenómenos de volatilización, evaporación, etcétera, pueden afectar la concentración del compuesto en la solución.

Preservación de las soluciones del tóxico de referencia:

Las soluciones del tóxico deben mantenerse en frascos ámbar o protegidos de la luz con cubierta de papel aluminio a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (refrigeración). En estas condiciones de preservación, la solución de prueba puede perdurar por más de 45 días y la solución estándar por más de seis meses. Mientras no se detecten resultados fuera de los límites normales de respuesta indicado por la carta control del tóxico de referencia, los patrones podrán usarse por un prolongado periodo de tiempo. Sin embargo, se sugiere efectuar su renovación a los 45 días y seis meses, respectivamente. Es importante también realizar la valoración química de la solución de prueba.

### **Blanco de procedimiento**

Se recomienda incluir un blanco de procedimiento por cada batería de ensayos. La preparación del blanco depende del método aplicado, sin embargo se debe seguir todo el protocolo establecido para la muestra. La toxicidad resultante en este blanco no debe exceder el 10% (APHA, 1998); en caso contrario los resultados quedan invalidados, pues la respuesta estaría indicando interferencias producto del procesamiento de la muestra. Los resultados de toxicidad para el blanco no deben mostrar efecto, de lo contrario los resultados reportados para las muestras no son aceptables<sup>23</sup>.

### **3.2.7 REPLICABILIDAD Y SENSIBILIDAD**

La sensibilidad de las pruebas depende del número de réplicas por concentración, nivel de significancia establecido y tipo de análisis estadístico

---

<sup>23</sup> Castillo, Gabriela, (ed.). 2004 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)

que se lleve a cabo. Por esta razón, cuando la variabilidad permanece constante, la sensibilidad de la prueba puede incrementarse aumentando el número de réplicas. Sin embargo, el mínimo número de réplicas variará con los objetivos de la prueba y el método estadístico seleccionado para el análisis de los datos.

Existen muchos factores que pueden afectar el éxito y la precisión de un ensayo de toxicidad; los más importantes son:

- Experiencia y habilidad del analista.
- Edad, condición y sensibilidad de los organismos de prueba.
- Calidad del agua de dilución.
- Control de temperatura.
- Calidad y cantidad de alimento suministrado a los organismos.

Por tanto, los resultados dependen del origen y tipo de las especies utilizadas y de las condiciones bajo las cuales se llevan a cabo las pruebas, tales como temperatura, oxígeno disuelto, alimento y calidad del agua de dilución. Igualmente, la replicabilidad y precisión serán función del número de organismos utilizados por concentración<sup>24</sup>.

### **3.2.8 MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE TOXICIDAD**

En la toxicología 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.

El análisis de relaciones entre dos o más variables necesario en la mayoría de los casos, requiere la utilización de técnicas estadísticas de regresión. Sin embargo, antes de ser aplicadas, se requiere la selección de la ecuación matemática con la que se relacionaran y la definición del tipo de variables.

Las variables cuantitativas son procesadas en forma directa a través del análisis estadístico de regresión, mientras que las cualitativas deben ser transformadas antes de ser analizadas. Este último caso se presenta en los ensayos donde se evalúa la mortalidad ya que sólo pueden existir los

---

<sup>24</sup> Castillo, Gabriela, (ed.). 2004 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)



estados vivo o muerto (variable cualitativa) y debe ser expresada como porcentaje de muertos antes de ser analizada.

En las pruebas de toxicidad, los más utilizados son los de tipo empírico o descriptivo (es un modelo que intenta describir cuantitativamente los patrones de las observaciones sin basarse en los procesos subyacentes o mecánica del proceso) de forma rectilínea, a los cuales se llega muchas veces luego de haber transformado una o las dos variables estudiadas (variable cualitativa). La utilización de transformaciones no sólo altera la forma de la relación estudiada, sino que también modifica el comportamiento de las variables con respecto a los supuestos del método estadístico a ser aplicado.

La selección del método para estimar 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-Kärber (no paramétrico)
- El método gráfico.

### 3.2.9 ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y ANÁLISIS PROBIT

Para el cálculo de las  $CL_{50}$ /  $CE_{50}$ /  $CI_{50}$ , generalmente se usa el análisis Probit (con o sin ajuste). En un experimento típico de pruebas de toxicidad aguda se tiene la siguiente situación:

Concentración de la sustancia o dosis ( $d$ )

Número de individuos expuestos ( $n$ )

Número de organismos muertos o afectados ( $r$ )

Porcentaje de efecto ( $p$ )<sup>25</sup>

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

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

---

<sup>25</sup> Díaz Báez María Consuelo, Bustos López Martha, Espinosa Ramírez Adriana Janneth, Adaptado de *Pruebas de toxicidad acuática: Fundamentos y métodos*, Unibiblos - U. Nal. Colombia, 2004

de un modelo lineal. Una forma de abordar este problema es transformando  $d$  a una escala logarítmica ( $X = \log_{10} (d)$ ), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea normal; 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 (5) 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:

$$y \text{ (expresado en unidades probit)} = z + 5$$

$$z = \text{variable normal estándar} = z_0 \text{ tal que la Prob } (z \leq z_0) = p$$

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

así, cuando  $p = 50\%$  entonces  $y = 5$ , por lo tanto:

$$x_5 = \log_{10} CL_{50}, \text{ entonces } CL_{50} = 10^{x_5}$$

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 cuantales, analizando porcentajes de efecto vs. dosis; dentro del marco de la regresión<sup>26</sup>.

### 3.2.9.1 Método gráfico

Además de los métodos anteriores, se puede utilizar el método gráfico para estimar la  $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$ . De forma similar, se parte de los datos obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda, y utilizando papel logarítmico se grafican en el eje de las  $X$  las concentraciones (mg/L) y en el eje de las  $Y$  el porcentaje de mortalidad. Se colocan los puntos de los porcentajes de mortalidad observados (en escala lineal) en función de las concentraciones probadas (en escala logarítmica); se conectan los puntos obtenidos más cercanos al 50% del efecto observado, o sea, a la mayor concentración que

---

<sup>26</sup> Castillo, Gabriela, (ed.). 2004 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)

no causa efecto tóxico y a la menor concentración que causa efecto tóxico. A partir de la recta trazada, se obtiene el punto de corte correspondiente al 50% del efecto observado. Este valor corresponde a la  $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$  del estímulo o agente estudiado (Hubert, 1980 y 1995; Finney, 1978). Cuando no se logra hacer un ajuste adecuado de los datos, se pueden utilizar otros métodos para hacer las estimaciones de  $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$ .<sup>27</sup>

### 3.3 METALES

Se denomina a los elementos químicos caracterizados por ser buenos conductores del calor y la electricidad, poseen alta densidad, y son sólidos en temperaturas normales (excepto el mercurio y el galio); sus sales forman iones electropositivos (cationes) en disolución.

El concepto de metal se refiere tanto a elementos puros, así como aleaciones con características metálicas, como el acero y el bronce. Los metales comprenden la mayor parte de la tabla periódica de los elementos y se separan de los no metales por una línea diagonal entre el boro y el polonio. En comparación con los no metales tienen baja electronegatividad y baja energía de ionización, por lo que es más fácil que los metales cedan electrones y más difícil que los ganen<sup>28</sup>.

Los metales como el cobre (Cu) y cinc (Zn) que son los metales de estudio, son micronutrientes esenciales en los seres vivos, pero estos pueden llegar a ser tóxicos si se encuentran por encima de cierta concentración. Ver Figura 6.

Las principales fuentes de contaminación por metales son:

- Intemperismo geológico
- Procesamiento industrial de minerales y metales
- Uso de metales y componentes metálicos
- Lixiviación de metales en rellenos sanitarios y depósitos de basuras.

---

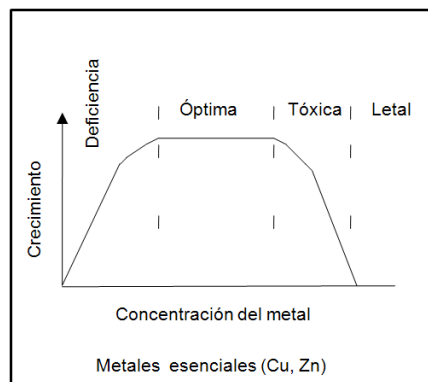
<sup>27</sup> Castillo, Gabriela, (ed.). 2004 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, Capítulo 5, *Métodos estadísticos para la el análisis de resultados de toxicidad*, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)

<sup>28</sup> Colaboradores de Wikipedia. *Metal* [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2009 [fecha de consulta: 30 de julio del 2009]. Disponible en <http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Metal&oldid=28507108>.

Los contaminantes metálicos de origen industrial pueden alcanzar los ambientes acuáticos a través de tres vías:

- Deposición de material atmosférico
- Escorrentía superficial y lixiviación de suelos contaminados
- Disposición de residuos industriales y urbanos en los cuerpos de agua

Figura 5. Relación entre el crecimiento y la concentración de metales esenciales.



Fuente: adaptado Forstner y Wittman, 1981

La escorrentía de aguas lluvias ocasiona un drenaje difuso en áreas rurales y es la fuente no puntual mas importante de metales en aguas continentales.

La solubilidad es uno de los factores determinantes para la dinámica y distribución de un contaminante. En el agua la solubilidad de un compuesto metálico esta afectada por el grado de ionización, el contenido mineral del medio, el pH, la temperatura, el oxígeno disuelto, la presencia de acomplejantes y el potencial de oxido reducción.

### 3.3.1.1 Bioacumulación

Algunos organismos acuáticos tienen la capacidad de acumular metales sin que esto les cause un daño aparente. De esta forma, concentraciones de metales pueden ingresar a la cadena alimenticia y causar daños considerables en el consumidor final. Debido a que esta se biomagnifica y a su vez la concentración del metal aumenta.

El efecto de toxicidad de los metales sobre los organismos depende de:

- Factores del estado de oxidación
- La forma molecular del metal (organometálicos,  $\text{CH}_3\text{Hg}$ ; inorgánicas, arsenico)
- Liposolubilidad: afinidad de él metal por los lípidos

### 3.3.2 METALES DE PRUEBA

A continuación se presentan las características del cobre (Cu) y del cinc (Zn) que fueron los metales empleados en las pruebas toxicológicas (bioensayos) de esta investigación.

### 3.3.3 COBRE

El cobre es el primer elemento del subgrupo Ib de la tabla periódica y también incluye los otros metales de acuñación, plata y oro. Su átomo tiene la estructura electrónica  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^1$ . El bajo potencial de ionización del electrón  $4s^1$  da por resultado una remoción fácil del mismo para obtener cobre(I), o ion cuproso,  $Cu^+$ , y el cobre(II), o ion cúprico,  $Cu^{2+}$ , se forma sin dificultad por remoción de un electrón de la capa 3d. Tiene dos isótopos naturales estables  $^{63}Cu$  y  $^{65}Cu$ . También se conocen nueve isótopos inestables (radiactivos). El cobre se caracteriza por su baja actividad química. Se combina químicamente en alguno de sus posibles estados de valencia. La valencia más común es la de 2+ (cúprico), pero 1+ (cuproso) es también frecuente; la valencia 3+ ocurre sólo en unos cuantos compuestos inestables<sup>29</sup>.

Los compuestos de cobre (I) apenas tienen importancia en la industria y se convierten fácilmente en compuestos de cobre (II) al oxidarse por la simple exposición al aire. Los compuestos de cobre (II) son estables<sup>30</sup>.

El cobre es maleable, dúctil y un buen conductor del calor y la electricidad.

Las especies disueltas en agua incluyen  $Cu^{2+}$ ,  $CuO_2H^-$  y  $Cu^+$ . Tanto el sulfuro cúprico como el cuproso tiene muy baja solubilidad, las concentraciones de cobre pueden ser muy altas en las aguas ácidas procedentes de las minas, llegando a concentraciones de varios cientos de miligramos por litro (mg/L).

#### 3.3.3.1 Fuentes

El Cobre puede ser liberado en el medioambiente tanto por actividades humanas como por procesos naturales. Ejemplo de fuentes naturales son las tormentas de polvo, descomposición de la vegetación, incendios forestales y aerosoles marinos.

#### 3.3.3.2 Propiedades físicas y químicas

---

<sup>29</sup> Lenntech [Agua residual](http://www.lenntech.com/espanol/tabla-periodica/cu.htm) & purificación del aire Holding B.V. Rotterdamseweg, Holanda, 1998. Disponible en Internet desde: <http://www.lenntech.com/espanol/tabla-periodica/cu.htm>

<sup>30</sup> "Cobre," *Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online* 2008 <http://es.encarta.msn.com> © 1997-2008 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos

**Símbolo:** Cu

**Número atómico:** 29

**Peso atómico:** 63.546

**Densidad:** Un metal comparativamente pesado, sólido puro, tiene una densidad de 8.96 g/cm<sup>3</sup> a 20°C, mientras que el del tipo comercial varía con el método de manufactura, oscilando entre 8.90 y 8.94.

**Punto de ebullición:** punto de ebullición normal es de 2595°C (4703°F)

**Estado de oxidación:** +1, +2

**Punto de fusión:** El punto de fusión del cobre es de 1083°C (+/-) 0.1°C (1981.4°F +/- 0.2°F).

### 3.3.3.3 Fuentes y Obtención

Los óxidos y carbonatos de cobre [Cu<sub>2</sub>O (cuprita), Cu<sub>2</sub>S (calcocita), CuFeS<sub>2</sub> (calcopirita) Cu<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·Cu(OH)<sub>2</sub> (malaquita) y 2•CuCO<sub>3</sub>·Cu(OH)<sub>2</sub> (azurita)]<sup>31</sup> pueden ser lixiviados con ácido sulfúrico para producir una solución cúprica a partir de la que el cobre, se puede obtener por electrólisis.

### 3.3.3.4 Usos

El uso principal del cobre (la mitad de su producción) es en las instalaciones eléctricas. El cobre es un componente de muchas aleaciones junto con otros metales como la plata, cadmio, estaño y cinc. Cobre y cinc (latón), cobre y estaño (bronce), cobre y níquel (metal monel). El sulfato de cobre se utiliza como alguicida y molusquicida en el agua, y como fungicida vegetal, mezclado con cal<sup>32</sup>.

### 3.3.3.5 Toxicidad

Los efectos adversos de salud más comunes del exceso de ingesta oral de cobre son dolores gastrointestinales. Náuseas, vómitos y dolor abdominal se han notificado poco después de ingerir soluciones de sulfato de cobre o bebidas en recipientes que permiten fácilmente liberar el cobre. La ingestión de agua potable con una concentración > 3 mg Cu/L va a producir síntomas gastrointestinales. La ingestión de grandes cantidades de sales de cobre, mas frecuentemente sulfato de cobre puede producir necrosis hepática o la

---

<sup>31</sup> VALVERDE, V., Juan L, Id.

<sup>32</sup> VALVERDE, V., Juan L., PEREZ De-Gregorio C., José J., *Manual de Toxicología Medioambiental Forense*, Ed. Centro de estudios Ramón Areces, S. A., 2001, 361 p., Madrid, España

muerte. En los estudios epidemiológicos no se ha encontrado relación entre la exposición al cobre y el cáncer<sup>33</sup>.

### **3.3.3.6 Difusión y dispersión**

El Cobre se puede difundir y dispersar de distintas formas en el agua, en el aire y en el suelo así:

#### ***En el agua***

Varios procesos influyen en el destino del cobre en los sistemas acuáticos; estos incluyen complejación con ligandos orgánicos e inorgánicos, sorción de óxidos de metales, arcillas, partículas y material orgánico, bioacumulación y el intercambio entre los sedimentos y agua.

Gran parte del cobre vertido al agua es en forma de partículas y tiende a sedimentarse, a precipitarse o es adsorbido por la materia orgánica, por hierro hidratado, arcilla y óxidos de manganeso en el agua o por los sedimentos de la columna de agua. Normalmente se alcanza el equilibrio dentro de las 24 h.

El ion de cobre (I) es inestable en soluciones acuosas tendiendo desproporcionadamente a formar cobre (II) y cobre metálico a menos que este un ligando presente. Los únicos compuestos de cobre insolubles en el agua son el sulfuro, cianuro y fluoruro. El cobre en estado de cobre (II) forma compuestos coordinados con ligando orgánicos e inorgánicos. El amoníaco y los iones de cloruro son ejemplos de especies que forman ligandos estables con cobre. El cobre también forma complejos estables con ligandos orgánicos tales como el ácido húmico. En el agua de mar la materia orgánica es generalmente el mas importante agente acomplejante.<sup>34</sup>

En los ríos se depositan lodos contaminados con Cobre en sus orillas, debido al vertido de aguas residuales.

La mayoría de los compuestos del Cobre se depositarán y se enlazarán tanto a los sedimentos del agua como a las partículas del suelo. En el agua superficial el cobre puede viajar largas distancias, tanto suspendido sobre las partículas de lodos como iones libres.

Compuestos solubles del Cobre forman la mayor amenaza para la salud humana. Usualmente se encuentra en los cuerpos de agua después de ser liberados al ambiente en practicas de agricultura.

---

<sup>33</sup> KLAASSEN, Curtis D., Casarett and Doull's toxicology the basic science of poisons , seventh edition, McGraw-Hill, University of Kansas Medical Center, Kansas, 2008

<sup>34</sup> International Programme on Chemical Safety (IPCS) [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc200.htm>

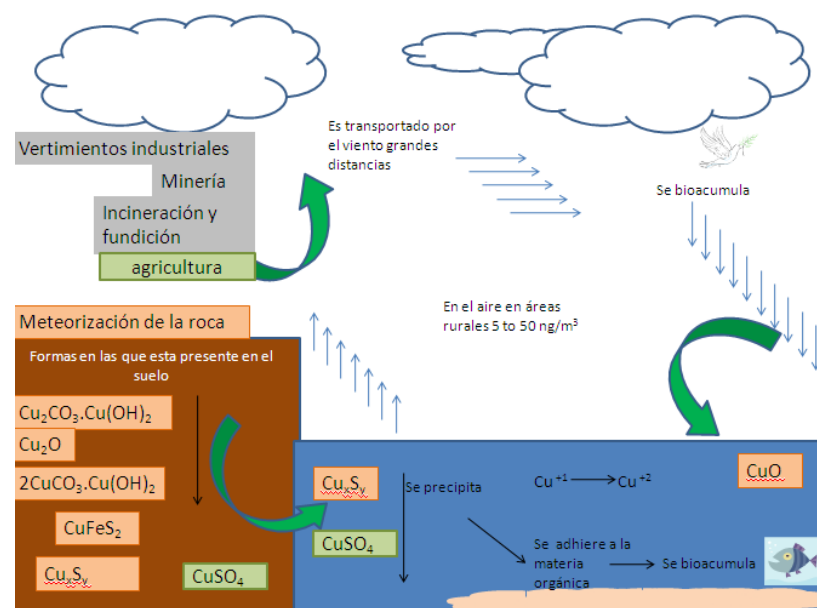
## En el suelo

En el medio ambiente terrestre existen una serie de factores importantes que influyen en la migración del cobre en el suelo. Estos incluyen la naturaleza propia del suelo, su pH, el tipo, la distribución de la materia orgánica, potencial redox, la presencia de óxidos, la condición base de los suelos y su capacidad de intercambio catiónico, la tasa de descomposición de la hojarasca y la reacción arcilla-arena y a las partículas de limo. El tiempo de permanencia de cobre en el suelo es función de las condiciones climáticas y de la vegetación presente en el sitio.

Cuando el Cobre termina en el suelo este es fuertemente enlazado a la materia orgánica y minerales. Como resultado este no se desplaza muy lejos antes de ser liberado y es difícil que se infiltre en el agua subterránea.

El Cobre no se disocia en el ambiente y por eso se puede acumular en plantas y animales cuando este es encontrado en suelos.

Figura 6. Ciclo del cobre



Fuente: los autores.

## En la atmosfera

El Cobre es emitido a la atmosfera, principalmente a través de la liberación durante la combustión. Permanece un periodo de tiempo considerable antes de precipitarse mezclado con la agua lluvia, el cuál finalmente se acumula en los suelos.

El cobre es liberado a la atmosfera en forma de material particulado o adsorbido por material particulado. Es removido por sedimentación gravitacional, deposición seca, lavado por la lluvia. La Velocidad de eliminación y la distancia recorrida desde la fuente de origen dependen de



las características, tamaño de las partículas y la velocidad del viento. La sedimentación gravitatoria rige la solución de la eliminación de las partículas grandes (> 5 micras), mientras que las partículas más pequeñas se eliminan por otras formas de deposición húmeda y seca. La importancia relativa de la humedad en comparación con la deposición seca en general, aumenta con la disminución de tamaño de las partículas<sup>35</sup>.

En la figura 7., se puede observar las formas en que se encuentra en cobre en el ambiente.

### **3.3.4 CINC**

Es un metal maleable, dúctil y de color gris. El cinc es uno de los elementos menos comunes; se estima que forma parte de la corteza terrestre en un (0.0005-0.02) %. Ocupa el lugar 25 en orden de abundancia entre los elementos. Su principal mineral es la blenda, marmatita o esfalerita de cinc, ZnS. Es un elemento esencial para el desarrollo de muchas clases de organismos vegetales y animales.

El cinc puro es de color blanco azulado, lustroso y moderadamente duro (2.5 en la escala de Mohs). El aire húmedo provoca su empañamiento superficial, haciendo que tenga color gris. El cinc puro es dúctil y maleable pudiéndose enrollar y tensar, pero cantidades pequeñas de otros metales como contaminantes pueden volverlo quebradizo<sup>36</sup>.

#### **3.3.4.1 Fuentes**

El cinc rara vez se encuentra en la naturaleza en su estado metálico, pero muchos minerales contienen cinc como componente principal. Los niveles promedio de cinc en suelo y rocas aumentan comúnmente en este orden: arena (10- 30 mg/kg), roca granítica (50 mg/kg), arcilla (95 mg/kg) y basalto (100 mg/kg) La esfalerita (ZnS) es el más importante mineral puro y la principal fuente de producción de cinc<sup>37</sup>.

La mayoría del cinc es vertido durante actividades industriales, como la minería, la combustión de carbón y residuos y el procesamiento del acero<sup>38</sup>.

#### **3.3.4.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS**

**Símbolo:** Zn

**Número atómico:** 30

---

<sup>35</sup> Ibid.

<sup>36</sup> Lenntech, Ibid.

<sup>37</sup> International Programme on Chemical Safety (IPCS), Op cit.

<sup>38</sup> Lenntech, Op. cit:

**Peso atómico:** 65,409

**Densidad:** 7,14 g/m<sup>3</sup>

**Punto de ebullición:** 908° C

**Estado de oxidación:** + 2

**Punto de fusión:** 420 °C,

#### **3.3.4.3 Usos**

Se utiliza principalmente en el galvanizado de acero y productos de hierro y en la producción de latón. El compuesto más corriente en el ámbito industrial es el óxido de cinc (ZnO), que tiene baja solubilidad en muchos disolventes. Entre otros compuestos esta el cloruro de cinc (ZnCl<sub>2</sub>), sulfato de cinc (ZnSO<sub>4</sub>), y carbamatos de cinc (Zn-COONH<sub>4</sub>) como el zineb y ziram con acción fungicida<sup>39</sup>.

#### **3.3.4.4 Toxicidad**

La toxicidad aguda del cinc por exceso de ingestión no es común, pero el dolor gastrointestinal y la diarrea han sido reportados por ingestión de bebidas en utensilios de lata galvanizadas. La siguiente intoxicación mas común es la inhalación de óxido de cinc, y en menor medida otros compuestos de cinc donde el efecto más común es la "fiebre de humo-metal" que se caracteriza por generar fiebre, dolor de pecho, escalofríos, tos, disnea, náuseas, dolor muscular, fatiga y leucocitosis. La inhalación aguda de altos niveles de cloruro de cinc como en el caso de los usos militares resulta en pronunciado daño a la membrana mucosa incluidos el edema intersticial, la fibrosis, neumonitis, edema de la mucosa bronquial y ulceración. Tras la exposición a largo plazo a dosis más bajas de el cinc, generalmente resultan como síntomas una disminución absorción de cobre, lo que lleva a los primeros síntomas de la deficiencia de cobre, tales como disminución de eritrocitos o deficiencia en el número de hematocritos<sup>40</sup>.

#### **3.3.4.5 Dispersión y difusión**

El cinc se puede difundir y dispersar de distintas formas en el agua, en el aire y en el suelo así:

##### ***En el agua y en el sedimento***

El cinc en el agua se encuentra en siete formas:

- Material particulado (diámetro > 450 nm).

---

<sup>39</sup> VALVERDE, V., Juan L, Op. Cit.

<sup>40</sup> KLAASSEN, Curtis D, Op. cit.

- Ion metálico hidratado de forma simple, e.g.,  $\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$  (diámetro 0.8 nm).
- Complejos inorgánicos simples, e.g.,  $\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_5\text{Cl}^+$ ,  $\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}^+$  (diámetro 1 nm).
- Complejos orgánicos simples, e.g., Zn-citrate, Zn-glycinate [diámetro (1–2) nm].
- Complejo inorgánico estable, e.g.,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{ZnCO}_3$ ,  $\text{Zn}_2\text{SiO}_4$  [diámetro (1–2) nm].
- Complejos orgánicos estables, e.g., Zn-humate, Zn-cysteinate [diámetro (2–4) nm].
- Adsorbido en coloides inorgánicos, e.g.,  $\text{Zn}^{2+}\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Zn}^{2+}\text{SiO}_2$  [diámetro (100–500) nm].
- Adsorbido en coloides inorgánicos, e.g.,  $\text{Zn}^{2+}$ -ácido húmico,  $\text{Zn}^{2+}$ -detritus orgánico [diámetro (100–500) nm].

En solución cuatro de seis ligandos se pueden coordinar con el ion de cinc. Los complejos se forman con ligandos polares, como ejemplo el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), las aminas, iones de cianuro ( $\text{CN}$ ) e iones de elementos halógenos. El cinc es un metal atmosférico reactivo. El hidróxido  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  se precipita en soluciones alcalinas, pero un exceso de esta, el cinc se vuelve a disolver para formar  $\text{ZnO}_2^{2-}$ , los cuales son hidrox-complejos tales como  $\text{Me}^+[\text{Zn}(\text{OH})_3]$ ,  $\text{Me}_2^+[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$  and  $\text{Me}_2^+[\text{Zn}(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})_2]^{2-}$ .

La distribución y transporte de cinc en el agua, sedimentos y en el suelo depende de las especies de cinc presentes en el ambiente. La solubilidad del cinc es principalmente determinada por el pH. En valores de pH ácido, el cinc puede estar presente en la fase acuosa en forma iónica. El cinc puede precipitar a valores de pH superiores a 8.0. También puede formar complejos orgánicos estables, por ejemplo con los ácidos húmicos o fúlvicos. La formación de tales complejos puede aumentar la movilidad y/o solubilidad del cinc. Es poco probable que el cinc se infiltre en el suelo debido a que es adsorbido en la arcilla y materia orgánica. Los suelos ácidos y suelos arenosos con bajo contenido orgánico tiene una reducida capacidad para absorber cinc<sup>41</sup>.

En los cuerpos de agua con vertimientos de cinc los peces presentes pueden bioacumularlo en sus cuerpos; y en la cadena alimenticia se biomagnifica<sup>42</sup>.

### ***En el suelo***

---

<sup>41</sup> International Programme on Chemical Safety (IPCS), Op. cit.

<sup>42</sup> Lenntech, Op. cit.

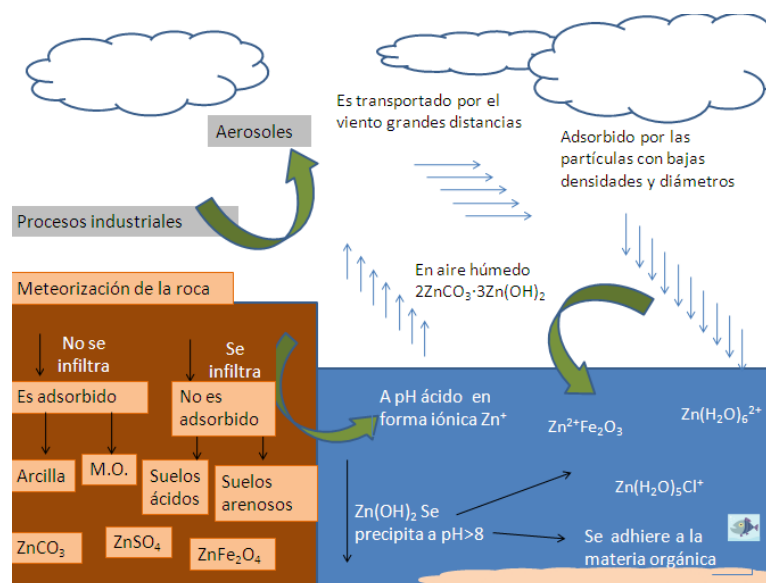
La mayor fuente de cinc en el suelo son los minerales de sulfuro de cinc, tales como la esfalerita y *wurtzita* y en una menor cantidad smithsonita ( $\text{ZnCO}_3$ ), willemita ( $\text{Zn}_2\text{SiO}_4$ ), cincita ( $\text{ZnO}$ ), zinkosita ( $\text{ZnSO}_4$ ) franklinita ( $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ) and hopeita ( $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )<sup>43</sup>.

En el suelo el cinc actúa como un agente inhibitorio del crecimiento de las especies de flora circundante a la zona de influencia del foco de contaminación, la mayoría de las cuales no poseen mecanismos para incorporar al cinc en su proceso metabólico y debido a esto un número limitado de plantas tiene la capacidad de sobrevivir; lo cual es directamente proporcional a su diversidad.

El cinc puede interrumpir la actividad en los suelos, con efectos negativos en la actividad de microorganismos y lombrices. Probablemente disminuyendo la velocidad de descomposición de la materia orgánica.

También altera la permeabilidad de la membrana celular, inhibición de la fotosíntesis y alteración en las concentraciones de Cu, Fe y Mn<sup>44</sup>.

Figura 7. Ciclo del cinc.



Fuente: los autores

### En la atmósfera

Es estable en aire seco, pero al exponerse a aire húmedo es cubierto con una capa adherente de cinc o carbonato básico ( $2 \cdot \text{ZnCO}_3 \cdot 3 \cdot \text{Zn(OH)}_2$ ), de este modo aislando el metal y retardando su corrosión.

<sup>43</sup> International Programme on Chemical Safety (IPCS), Op. cit

<sup>44</sup> Lenntech, Op. cit.

El cinc se vincula principalmente a las partículas de aerosoles en la atmósfera. El tamaño de las partículas se determina por la fuente de emisión de cinc. Una proporción importante de cinc se libera de los procesos industriales y es adsorbido en partículas lo suficientemente pequeñas para estar en el rango de respiración humano.

El transporte y la distribución del cinc atmosférico varían según el tamaño de las partículas y las propiedades de los compuestos de cinc en cuestión. El cinc se elimina de la atmósfera por deposición seca y húmeda. El cinc adsorbido por las partículas con bajas densidades y diámetros puede ser transportado a largas distancias<sup>45</sup>.

En la Figura 8. se observan las formas en que se encuentra el cinc en el ambiente.

### **3.4 GALVANOTECNIA**

#### **3.4.1 Generalidades**

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

El sector industrial Galvánico hace parte de la Cadena Productiva Metalmeccánica aportando bienes de consumo intermedio y bienes de capital, entendidos como artículos utilizados inmediatamente por el usuario final o para ser incorporados en la fabricación de otros bienes y en artículos que directa o indirectamente contribuyen a la producción de maquinaria y equipos respectivamente<sup>46</sup>.

#### **3.4.2 El Proceso Galvánico**

La galvanotecnica es una técnica que consiste en la transformación de una superficie que puede ser o no metálica mediante un recubrimiento metálico. Es un proceso electroquímico por el cual se deposita una capa fina de metal sobre una base generalmente metálica<sup>47</sup>. Se recomienda cuando por costos

---

<sup>45</sup> International Programme on Chemical Safety (IPCS), Op. cit.

<sup>46</sup> Ministerio del medio ambiente, FUNDES La red de soluciones empresariales, Guía De Buenas Prácticas para el Sector Galvanotécnica 2001, p 5 web en línea disponible en : [http://www1.minambiente.gov.co/prensa/publicaciones/guias\\_ambientales.htm](http://www1.minambiente.gov.co/prensa/publicaciones/guias_ambientales.htm)

<sup>47</sup> "Galvanotécnica," Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online 2009 <http://es.encarta.msn.com> © 1997-2009 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos. <http://es.encarta.msn.com/encyclopedia/761562645/galvanotecnica.html>

o por razones estructurales es necesario modificar las características del metal base seleccionada. En general, los procedimientos tienen como finalidad modificar las propiedades de la superficie de los metales y estas pueden estar asociadas a motivos decorativos o funcionales dentro de los cuales se encuentran:

- Aumento de resistencia a la corrosión.
- Aumento de resistencia al ataque de sustancias químicas.
- Incremento de la resistencia a la fricción y al rayado.
- Mejoramiento de propiedades eléctricas o mecánicas.
- Mejoramiento de propiedades ópticas.
- Ofrecer sustrato de anclaje de pinturas.
- Ejercer lubricación<sup>48</sup>.

Los metales que se utilizan normalmente en galvanotecnia son: cadmio, cromo, cobre, oro, níquel, plata y estaño. Las cuberterías plateadas, los accesorios cromados de automóvil y los recipientes de comida estañados son productos típicos de galvanotecnia<sup>49</sup>. En la Tabla 2. “Algunas particularidades de los tipos de recubrimientos galvánicos más comunes” que se muestra a continuación se puede encontrar una descripción de los diferentes tipos de recubrimiento galvánico según el metal empleado.

En galvanotecnia se consideran dos tipos de procesos: la galvanoplastia y la galvanostegia. El primero se refiere al proceso en que los recubrimientos metálicos se hacen sobre superficies de materiales no conductores. Mientras que en el segundo los recubrimientos siempre se realizan sobre materiales metálicos.

### **3.4.3 Proceso de Galvanoplastia**

La galvanoplastia se utiliza cuando se requieren formas completas y depósitos de materiales bastante finos. Los moldes de plástico, cera y parafina se hacen conductores utilizando grafito o cinc en polvo y recubriéndolas electrolíticamente con un metal.

Este es el proceso de fabricación de moldes, básico para las industrias manufactureras de muñecos, discos fonográficos, de algunas partes automotrices y otras.

En algunos casos, las partes de plásticos se metalizan directamente para lograr objetos con acabado metálico como en el caso de la bisutería, tapas de recipientes para perfumes, algunas autopartes, placas para circuitos impresos, artículos para el hogar, grifería etc.

---

<sup>48</sup> Ministerio del medio ambiente, FUNDES **Op. cit.** p 72

<sup>49</sup> Galvanotécnica Encarta® 2009 **Op. cit.**

Tabla 2. Algunas particularidades de los tipos de recubrimientos galvánicos más comunes.

Nombre	Metal	Campo de aplicación mas común
Cobreado	Cobre	Capa base para el cromado o la vulcanización en acero de derivados del caucho. Recubrimiento decorativo de piezas de materiales no metálicos. Generación de las venas conductoras de circuitos impresos.
Cromado	Cromo	Recubrimiento anticorrosivo y decorativo. Recubrimiento resistente a la fricción en materiales ferrosos. Material para el relleno de zonas desgastadas en piezas de fricción. Superficie muy dura en ciertas aplicaciones.
Acerado	Hierro	Material de relleno en zonas desgastadas en hierro gris y acero.
Niquelado	Níquel	Recubrimiento anticorrosivo y decorativo. Capa base para el cromado. Recubrimiento de contactos eléctricos en conectores comunes.
Cadmiado	Cadmio	Para facilitar la soldadura blanda en componentes eléctricos. Recubrimiento de contactos eléctricos en conectores comunes.
Galvanizado	Cinc	Recubrimiento anticorrosivo del acero.
Estañado	Estaño	Recubrimiento anticorrosivo temporal del acero. Para facilitar la soldadura blanda en componentes eléctricos.
Dorado	Oro	Recubrimiento protector y decorativo de bisutería. Protección anticorrosiva de venas en circuitos impresos. Recubrimiento de contactos eléctricos en conectores seguros. Conexiones internas de circuitos integrados.
Plateado	Plata	Recubrimiento protector y decorativo de bisutería.
Latonado	Latón	Recubrimiento protector y decorativo de bisutería. Recubrimiento antifricción de asentamiento en chumaceras.

Fuente: Disponible en :  
<http://www.sabelotodo.org/electrotecnia/galvanotecnica/galvanotecnica.html>

### 3.4.4 Proceso de galvanostegia

La galvanostegia se refiere a los recubrimientos hechos electrolíticamente sobre superficies metálicas.

La galvanostegia puede ser de dos categorías, catódica o anódica.

El proceso de metalizado de plásticos como se puede observar en la Tabla 3

<sup>50</sup>.

Tabla 3. Procesos de la galvanoplastia

ACTIVIDAD	MATERIAS PRIMAS	RESIDUOS GENERADOS
1. DESENGRASE	solventes orgánicos: tricloroetileno	vertimientos (enjuagues contaminados), emisiones (VOCs)
2. SENSIBILIZACIÓN	ácido sulfúrico, Ácido crómico en solución	vertimientos (enjuagues contaminados, goteo al piso)
3. ACTIVACIÓN	Ácido clorhídrico, cloruro estañoso	vertimientos (goteo al piso)
4. NUCLEACIÓN	Cloruro de paladio	vertimientos (enjuagues agotados)
5. POSTNUCLEACIÓN	Reductor. Hiposulfito sódico, formaldehído	Emisiones (VOCs)
6. PREMETALIZADO	sales de Cu, Ni, Ag, ácido sulfúrico, ácido crómico	vertimientos (goteo al piso)
7. METALIZADO	sales de Cu, Ni, Ag, ácido sulfúrico, ácido crómico	vertimientos (goteo al piso, baños gastados)

Fuente: Ministerio del medio ambiente, FUNDES La red de soluciones empresariales, Guía De Buenas Prácticas para el Sector Galvanotécnica 2001, p 5 web en línea disponible en : [http://www1.minambiente.gov.co/prensa/publicaciones/guias\\_ambientales.htm](http://www1.minambiente.gov.co/prensa/publicaciones/guias_ambientales.htm)

La galvanostegia catódica tiene tres objetivos fundamentales: ejercer protección contra la corrosión, dar buen aspecto, cambiar alguna propiedad superficial como dar mayor dureza, mejorar la conductividad, ejercer lubricación.

La galvanostegia anódica conocida comúnmente como anodizado, implica la formación de películas de óxido del mismo metal para que aisle y proteja las piezas metálicas.

En general, las industrias galvanotécnicas se pueden clasificar en dos categorías: industrias de servicios, industrias de integrados. Las industrias

<sup>50</sup> Ministerio del medio ambiente, FUNDES Op. cit. p 72-73



de servicio a su vez se dividen en industrias de pulido y brillo e industrias de acabado.

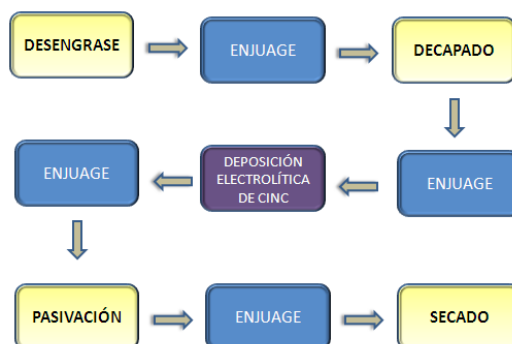
Las industrias de pulido y brillo se encargan de convertir las superficies de las piezas metálicas rugosas en brillantes mediante un tratamiento mecánico. La operación de una industria de pulido y brillo consta de varias etapas, en las cuales la rugosidad es eliminada paulatinamente por la acción abrasiva de discos elaborados con diferentes materiales.

Todos los procedimientos conllevan cierto número de operaciones en las que se utiliza gran cantidad de sustancias químicas, produciendo vertimientos y emisiones tanto al agua como al aire y al suelo.

### 3.4.5 CINCADO

Existe el cincado ácido y el alcalino, habiéndose producido un aumento significativo en la aplicación del primero por motivos ambientales, ya que en el cincado ácido no se emplean compuestos cianurados. Ambos procesos son similares y difieren solo en la ausencia de compuestos cianurados en la variante ácida, cuya desventaja operativa es que requiere de un control mucho más riguroso en cuanto a composición y pureza que representa un obstáculo importante para una mayor difusión de este proceso<sup>51</sup>. Ver figura 9 cincado.

Figura 8. Esquema del proceso de Cincado



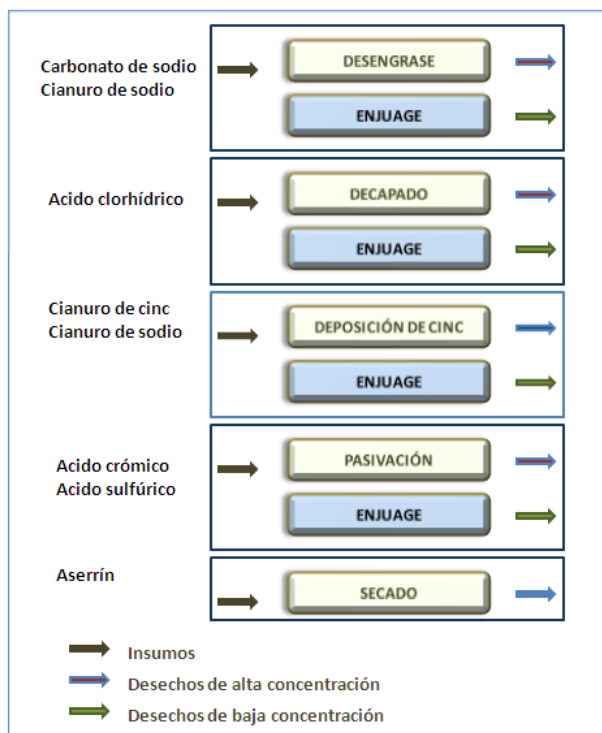
Fuente: CEPIS/OPS/OMS, INCYTH,GTZ *Manual De Minimizacion De Residuos En La Industria De Acabado De Metales* Lima;, 1997, 72 p.

El cincado comprende varias etapas en las que se emplean diferentes insumos y se generan sustancias de desecho en altas y bajas concentraciones a continuación en la Figura 10. “Insumos y desechos en el cincado alcalino” se puede observar mejor este proceso.

<sup>51</sup> CEPIS/OPS/OMS, INCYTH,GTZ *Manual De Minimizacion De Residuos En La Industria De Acabado De Metales* Lima;, 1997, 72 p. Tab. web disponible en línea en: <http://www.bvsde.paho.org/eswww/fulltext/gtz/manmire/mmrindam.html>

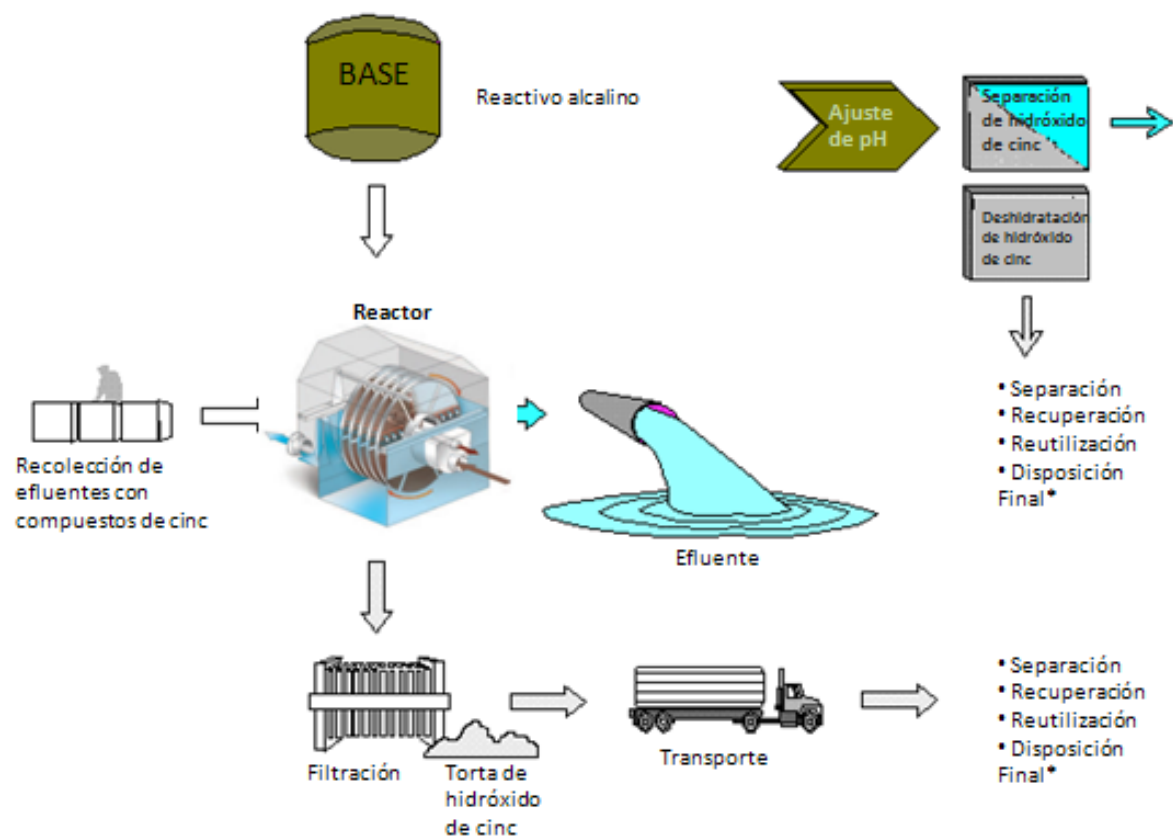
Los métodos de tratamiento y disposición final de desechos generados por la actividad de galvanotecnia son los mismos que se aplican a los residuos peligrosos. El criterio fundamental es el de la "cuna a la tumba", es decir, la gestión de desechos se inicia en el punto de generación, la fuente, y termina en el punto de disposición final, que para este caso se recomienda en primera medida es hacer la separación en la fuente en los diferentes puntos donde se generen los metales; la segunda medida es hacer recuperación de los metales aplicando diferentes métodos que apliquen para cada caso; en tercer lugar está la Reutilización de los metales recuperados e incorporación de estos de nuevo en el proceso productivo; y finalmente debido a costos, practicidad, falta de tecnología, etc., si no se pudieran separar ni recuperar, tendrían que ser llevados a disposición final aunque es una solución transitoria y no definitiva para los problemas ambientales generados por la acumulación de los metales por ejemplo en un relleno de seguridad. Ver la Figura 11.

Figura 9. Esquema Insumos y desechos en el cincado alcalino



Fuente: CEPIS/OPS/OMS, INCYTH,GTZ *Manual De Minimización De Residuos En La Industria De Acabado De Metales* Lima;, 1997.

Figura 10. Tratamiento y disposición final del cinc



\* Aunque es lo último que se debe hacer, hay casos que por costos, contexto y soluciones prácticas se debe realizar aunque es una solución temporal del problema y no definitiva.

Fuente: Adaptado de: CEPIS/OPS/OMS, INCYTH, GTZ *Manual De Minimización De Residuos En La Industria De Acabado De Metales* Lima, 1997, 72

## 4 METODOLOGÍA

A continuación se describen cada una de las fases y procedimientos con los que se realizó esta investigación.

### 4.1 FASE I. DISEÑO EXPERIMENTAL

En esta investigación se utilizaron las siguientes variables: variable independiente: la concentración de las sustancias de prueba, variable dependiente: la muerte de los organismos, y constantes: los organismos empleados en cada ensayo (5 alevinos de trucha arcoíris por pecera), tiempo de exposición (96 horas) y parámetros fisicoquímicos [ $T^{\circ}$ , pH y OD (oxígeno disuelto)].

Inicialmente se realizó una prueba preliminar utilizando rangos de concentraciones entre (20 - 100) ppm  $K_2Cr_2O_7$ , (0,1 - 0,5) ppm  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  y (2 - 10) ppm  $ZnCl_2$  de la respectiva sustancia. Posteriormente, con los datos de los rangos obtenidos en el ensayo preliminar se realizaron las pruebas definitivas utilizando cinco organismos por pecera con cinco concentraciones diferentes, las cuales aumentan descendientemente, cada concentración se realiza por cuadruplicado e igualmente se hace para el control o blanco. Para un total de 24 peceras por ensayo. Una vez obtenidos los resultados de mortalidad se realizan: el análisis de varianza y análisis Probit, como fin determinar la respectiva  $CL_{50-96}$ .

El tipo de prueba toxicológica que se realizó es **aguda** debido a que se cuantifica la alteración causada por la respectiva sustancia en este caso mortalidad y es **estática** en la cual no existe renovación de las soluciones test a lo largo de toda la prueba de 96 h de duración. Además no se suministró aireación ni alimento durante el experimento.

### 4.2 FASE II. ACONDICIONAMIENTO

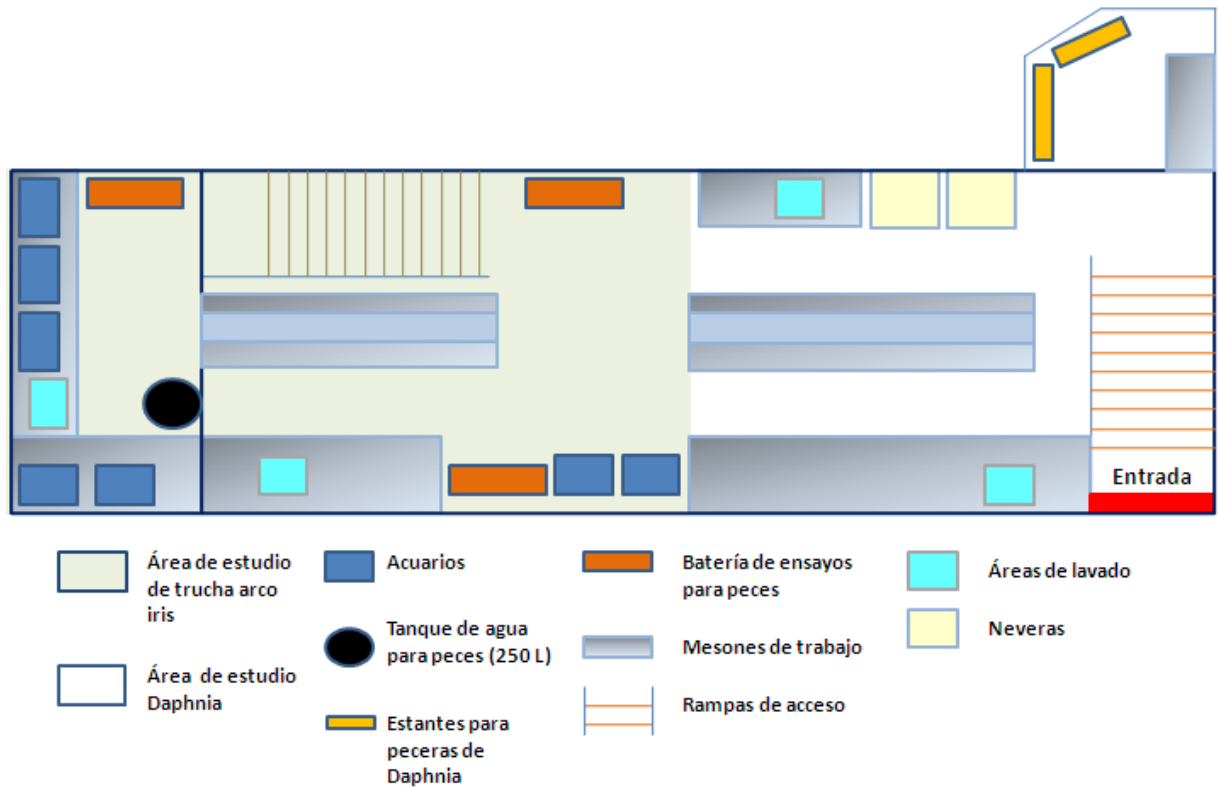
#### 4.2.1 RECINTO EXPERIMENTAL

Las pruebas de toxicidad se realizaron en el laboratorio de bioensayos de la Universidad de La Salle, que es el lugar dentro de la Universidad dotado de todo lo necesario para hacer este tipo de investigaciones y en el se encuentran mesones para la preparación de las diluciones y mediciones fisicoquímicas, áreas de lavado y un sistema de ventilación (extracción y suministro de aire). Ver figura 12. Esquema del laboratorio de bioensayos de la universidad de La Salle.

En él se ubicaron: 3 acuarios con volúmenes de 63 L, 90 L y 110 L para la permanencia de los alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) antes de cada prueba, un tanque de 250 L con una bomba sumergible (2000 L / h) en su interior para mantener agua aireada libre de cloro y un estante para la batería de ensayos que consistía de 24 peceras de vidrio con una capacidad de 2.5 L para las pruebas de toxicidad.

En el Laboratorio de ingeniería ambiental y sanitaria se realizaron análisis fisicoquímicos, preservación de las muestras y preparación de soluciones.

Figura 11. Esquema del laboratorio de bioensayos de la universidad de La Salle



Fuente: los autores

#### 4.2.2 ADAPTACIÓN, ACLIMATACIÓN Y MANTENIMIENTO DE LOS ACUARIOS

Los acuarios se adaptaron con el fin de garantizar las condiciones óptimas de vida de los alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) empleando los siguientes implementos: filtro, grava, aireadores, mangueras, difusores, un material de cubierta y agua.

- Filtro: se ubicó en el fondo del acuario para mantener el agua libre de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) u otros desechos producto del metabolismo de los peces.
- Grava: se depositó alrededor del filtro usándola como sustrato en el que habitan bacterias que son las encargadas de descomponer los desechos y convertirlos en nutrientes.
- Aireadores: permanecieron conectados al exterior del acuario a mangueras y estas a su vez a difusores que fueron distribuidos uniformemente dentro de los acuarios para el suministro de aire.
- Fotoperiodo: de doce horas aproximadamente de luz artificial (neón).

- Material de cubierta: se utilizó plástico para cubrir la parte superior de los acuarios manteniendo el agua libre de partículas, Vapores Orgánicos Volátiles, evitar la muerte involuntaria de los alevinos por su comportamiento natural de saltar además de evitar la evaporación.
- Agua del grifo: proveniente del acueducto para llenar el acuario dejándola libre de cloro en (3 – 5) días (en algunas ocasiones se usó el agua libre de cloro previamente aireada con una bomba sumergible (2000 L / h) en un tanque de 250 L).

Figura 12. Foto Acuarios empleados para mantener las condiciones óptimas de vida de los alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).



Fuente: los autores

#### 4.2.2.1 Limpieza o sifoneo de los acuarios

El procedimiento de limpieza o sifoneo se realizó en tres momentos

1. Previo a la introducción de los alevinos al preparar el acuario
2. Durante la permanencia de los alevinos en los acuarios
3. Una vez iniciada la prueba de toxicidad.

La primera fase al igual que la tercera consistió en extraer toda el agua de los acuarios y todos los implementos, limpiar todas las superficies del acuario con abundante agua repetidas veces sin utilizar ningún jabón o detergente. En la segunda fase ocasionalmente se retiraron sólidos en suspensión en el agua del acuario y se realizó aspirado en la grava para retirar los desechos (excremento, materia orgánica) producidos por los peces que contienen amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) el cual es el principal producto residual de la trucha y que por encima de  $0.02 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$  es muy tóxico para los peces.

#### 4.2.3 ORGANISMO DE PRUEBA (ADQUISICIÓN Y TRANSPORTE)

El organismo que se empleo en las pruebas toxicológicas fue el alevín de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) de 4 cm, 0,8 g (peso promedio) y 1 mes y 15 días de nacido en promedio.

Los peces fueron comprados a distintos proveedores inicialmente a la empresa Truchas Suralá Ltda. ubicada en Choconta Cundinamarca, una finca situada en la región de Guavio y posteriormente a la empresa Acuagranja Ltda. ubicada en la Av. Boyacá con calle 99 Bogotá, los organismos que se utilizaron fueron transportados en dos (2) bolsas de polietileno de (70 x 35) cm calibre tres (3) con capacidad aproximadamente 200 Truchas Arcoíris de 4cm cada bolsa. Las bolsas se les adiciona oxígeno para garantizar las condiciones de OD en su transporte y son empacadas en cajas con unas bolsas de gel congelado para mantener las condiciones de temperatura óptimas.

#### 4.2.4 ACLIMATACIÓN DEL ORGANISMO DE PRUEBA

Los alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) venían en bolsas que fueron introducidas en los acuarios ya preparados, inmediatamente después de llegar al laboratorio. La introducción consistió en sumergirlas en el agua y dejarlas flotando durante una hora aproximadamente sin destaparlas (garantizando el oxígeno en su interior) todo esto con el fin de homogenizar las temperaturas del agua de la bolsa con la del acuario con el propósito de evitar el choque térmico. Los peces fueron introducidos en los acuarios teniendo cuidado de no mezclar el agua de las bolsas con el agua del acuario pues al momento de ser transportados los niveles de amoníaco aumentan por el estrés y en consecuencia excretan en mayor cantidad y esto podría llegar a ser muy tóxico para los organismos. Ver figura 14.

Figura 13. Foto aclimatación de los alevinos de trucha arco iris.



Fuente: Los autores

\*\* Según los protocolos internacionales (CETESB), los peces deben permanecer en los acuarios 15 días antes de ser realizadas las pruebas.

#### 4.2.5 ALIMENTACIÓN DEL ORGANISMO DE PRUEBA

Antes de la realización de las pruebas de toxicidad durante el tiempo que permanecieron los alevinos de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en el laboratorio se les alimentó con Nutripez en Hojuelas, que se les suministró dos veces al día de acuerdo a las indicaciones del fabricante (200 mg/día de acuerdo al peso y la edad). En la Tabla 4. Se observa la composición nutricional del alimento:

Tabla 4. Composición nutricional del alimento Nutripez en Hojuelas

<b>Proteína mínima</b>	<b>38%</b>
<b>Grasa mínima</b>	<b>8%</b>
<b>Fibra máxima</b>	<b>2.5%</b>
<b>Ceniza máxima</b>	<b>9.8%</b>
<b>Humedad máxima</b>	<b>5%</b>

Fuente: Peces Ornamentales El Tiple Ltda.

**\*\*Se recomienda que las dietas para peces tengan en general un mayor contenido de proteína<sup>52</sup>.**

Actualmente la industria de alimentos concentrados en Colombia provee un producto balanceado, que suple los requerimientos alimenticios de la trucha arco iris con esta composición nutricional Proteína entre (40 – 50) %, grasa entre (7 – 18) %, cenizas 10%, humedad 12% y fibra un 3%.<sup>53</sup>

No se suministró alimento desde el día anterior a la realización de la prueba de toxicidad ni durante las 96 horas del experimento debido al amoníaco (NH<sub>3</sub>) que es la forma más común de residuos nitrogenados provenientes de la excreta, que podría afectar la supervivencia de los alevinos alterando los resultados y condiciones de la prueba.

#### 4.2.6 PREPARACIÓN DEL AGUA PARA LAS PRUEBAS TOXICOLÓGICAS

El agua que se empleó en las pruebas fue agua potable que previo al ensayo toxicológico permaneció aireando en un tanque de 250 L durante un periodo mínimo de 1 semana. Se controló la concentración de oxígeno disuelto que debía permanecer por encima de los 5.5 mg/L, el pH en un rango de 6.5 a 7.8 y la temperatura < 20°C porque de esto depende la supervivencia de la trucha y la veracidad de la prueba (si no se cumplen estas mínimas condiciones, en el ensayo

---

<sup>52</sup> Pokniak R, José. Nutrición de peces. TECNO VET; Año 3 N°2, agosto 1997  
[http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D9163%2526ISID%253D448,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9163%2526ISID%253D448,00.html)

<sup>53</sup> CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL, “TRUCHA ARCOÍRIS EN COLOMBIA: estructura y costos de producción”, SISTEMA DE INFORMACIÓN DE PRECIOS Y MERCADOS para la producción acuícola y pesquera, Boletín semanal Número 13 Vol. 5, 26 Marzo- 1 Abril 2009.



toxicológico los resultados pueden ser influenciados negativamente por estas variables). Ver figura 15.

Figura 14. Foto tanque de 250 L para la aireación del agua de las pruebas.



Fuente: los autores.

### 4.3 FASE III. PRUEBAS TOXICOLÓGICAS

Esta fase consistió en la realización de las pruebas toxicológicas para las cuales se emplearon unos equipos y materiales siguiendo unos procedimientos como se describe a continuación:

#### EQUIPOS

- Balanza analítica marca *Sartorius*
- Medidor de Multiparámetro marca *Hanna*

#### MATERIALES

Item	Volumen (mL)	Cantidad
Pipetas	5	1
	10	1
	25	1
Balones aforados	1000	4
Espátula	N/A	1
Vidrio de reloj	N/A	1
Peceras	2500	24
Probetas	10	1
	40	1
	50	1
	100	2
	250	2
	500	2
	1000	2
Balde	10000	1

Fuente: los autores.

### 4.3.1 Montaje de las pruebas toxicológicas

Se montó una batería de ensayos usando un estante de seis entrepaños en donde se distribuyeron 24 peceras de vidrio (4 peceras por entrepaño) de 2.5 L de capacidad cada una, a su vez las concentraciones se dividieron una por entrepaño y la restante es el control de la prueba.

Los ensayos se iniciaban en el momento de introducir cinco alevinos en cada una de las peceras, que en su interior ya contenían la solución correspondiente para el tipo de prueba y concentración del ensayo a realizar y finalizaron a las 96 horas de iniciada la misma.

El fotoperiodo que se utilizó en el bioensayo fue de 12 horas aproximadamente de luz artificial (neón).

La cobertura plástica se utilizó en las PECERAS al igual que en los acuarios para mantener el agua libre de partículas, Vapores Orgánicos Volátiles, que podrían cambiar eventualmente las condiciones del ensayo, evitar la muerte involuntaria de los alevinos por su comportamiento natural de saltar, además de evitar la evaporación.

Figura 15. Foto Batería de ensayos.



Fuente: los autores

Es importante definir que una vez iniciado el procedimiento anterior, se hizo cuantificación del número de organismos muertos en cada recipiente durante las (3, 6, 24, 48, 72 y 96) horas de experimentación y los resultados de esta lectura se

consignaron en las hojas de registro como se puede observar en la Tabla 5. y que se pueden encontrar en el Anexo O. Hojas de registro de datos.

#### **4.3.2 Pruebas de sensibilidad**

La sensibilidad de los alevinos fue evaluada, realizando pruebas en las cuales se utilizó el dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) que es un tóxico de referencia. El propósito de esta prueba fue determinar la capacidad de respuesta de los organismos en el ensayo.

Las pruebas se realizaron con cinco concentraciones distintas expresadas en ppm de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) y un control por cuadruplicado obteniendo el test definitivo, se replicó 20 veces el ensayo, con el fin que los resultados fueran estadísticamente representativos.

#### **4.3.3 Pruebas preliminares y definitivas para cobre (Cu) utilizando $CuSO_4 \cdot 5H_2O$**

Para la realización de las pruebas se preparó una solución madre de 1000 ppm de sulfato de cobre pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) a partir de la que se prepararon unas soluciones de 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm. Para la preparación de las distintas concentraciones que se requerían se usaron estas diluciones.

#### **4.3.4 Pruebas preliminares y definitivas para cobre (Cu) utilizando $CuSO_4 \cdot 5H_2O$**


Para la realización de las pruebas se preparó una solución madre de 1000 ppm de sulfato de cobre pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) a partir de la que se prepararon unas soluciones de 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm. Para la preparación de las distintas concentraciones que se requerían se usaron estas diluciones.

Se llevaron a cabo unos ensayos preliminares utilizando rangos de concentraciones de sulfato de cobre pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) entre (0,5 - 5) ppm para determinar los rangos en los que posiblemente se podría encontrar la  $CL_{50-96}$ .

Utilizando los nuevos rangos obtenidos en donde se encuentra la  $CL_{50-96}$  se realizaron 10 pruebas definitivas con Sulfato de Cobre Pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) con el fin que los resultados fueran estadísticamente representativos.

#### **4.3.5 Pruebas preliminares y pruebas definitivas para cinc (Zn) utilizando $ZnCl_2$**

Para la realización de las pruebas se preparó una solución madre de 1000 ppm de (Zn) a partir de la que se prepararon unas soluciones de 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm utilizando cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ). Para la preparación de las distintas concentraciones que se requerían se usaron estas soluciones.



**UNIVERSIDAD DE LA SALLE**  
Educar para Pensar, Decidir y Servir

REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON

SUSTANCIA DE PRUEBA \_\_\_\_\_

INICIO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORAS  
FINALIZACION: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORAS

[illegible][illegible]

RESPONSABLE\* \_\_\_\_\_

LIMITE SUPERIOR

CL50:

LIMITE INFERIOR

Fuente: Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca- CAR

Se llevaron a cabo unos ensayos preliminares utilizando rangos entre (2 – 10) ppm para determinar los rangos en los que se posiblemente se podría encontrar la CL<sub>50-96</sub>.

Utilizando los nuevos rangos obtenidos en donde se encuentra la CL<sub>50-96</sub> se realizaron 10 pruebas definitivas con cloruro de zinc (ZnCl<sub>2</sub>).

#### **4.3.6 PRUEBAS DE TOXICIDAD EN LA INDUSTRIA**

Se realizó un muestreo puntual al vertimiento de la industria de Cincado y se le hizo una caracterización fisicoquímica usando espectrofotometría de absorción atómica con llama directa aire-acetileno SM 3111 B y C con el que se determinó la presencia de cobre (Cu) y cinc (Zn) que son los metales de interés.

Al vertimiento se le realizaron 5 pruebas toxicológicas para determinar la CL<sub>50-96</sub>. Posteriormente se diseñó un tratamiento a nivel de laboratorio para retirar el cobre (Cu) y el cinc (Zn). Nuevamente se realizaron 5 pruebas toxicológicas al agua tratada para determinar la CL<sub>50-96</sub> y se realizó una caracterización.

En las caracterizaciones realizadas se midieron los siguientes parámetros: oxígeno disuelto (OD) según SM 4500-O G. método de electrodo de membrana, pH según el SM 4500-H<sup>+</sup> B. método electrométrico, temperatura según el SM 2550 B y Turbiedad según el método SM 2130 B, usando el turbidímetro.

#### **4.3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

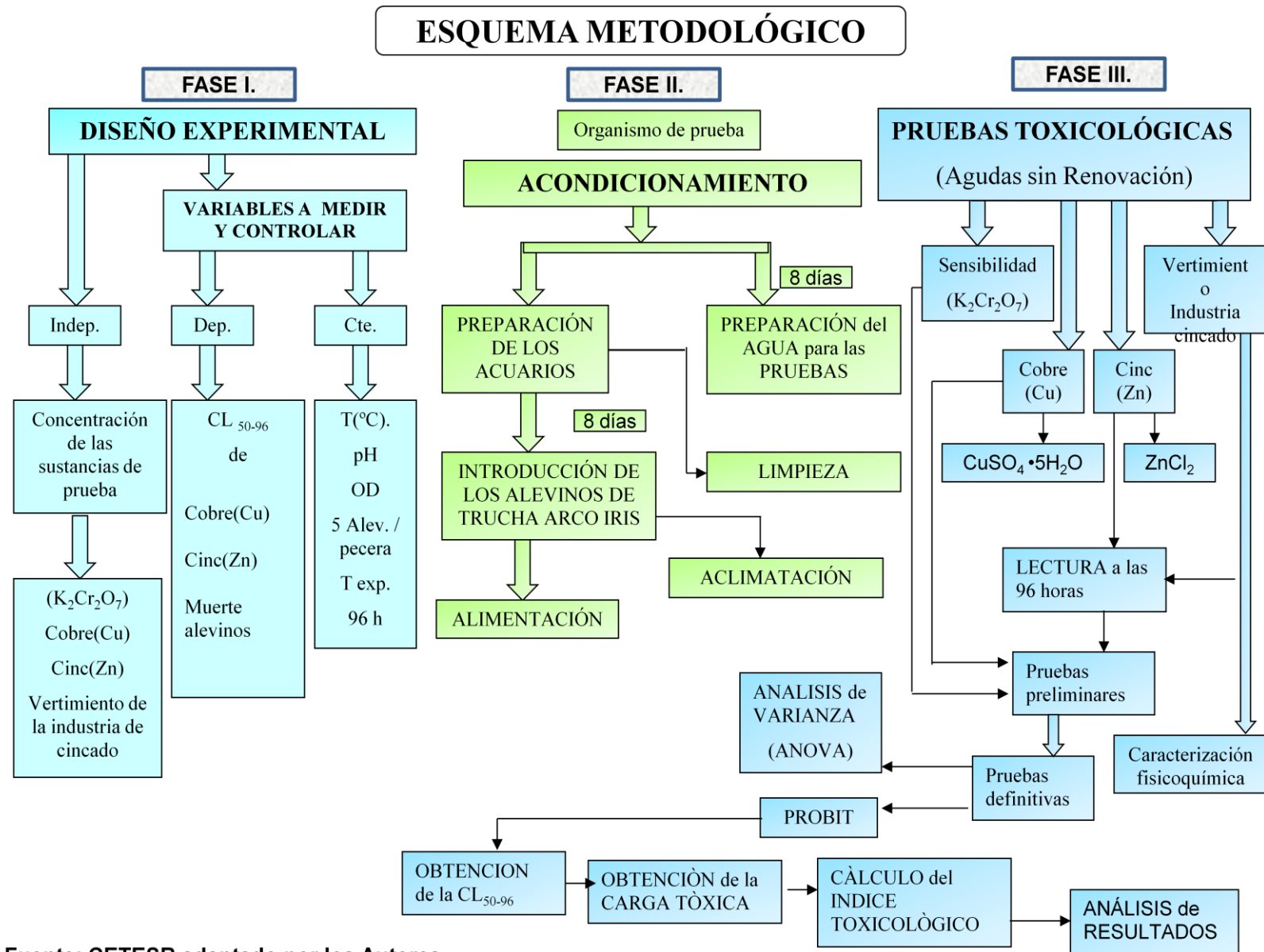
##### **4.3.7.1 ANÁLISIS DE VARIANZA**

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) siguiendo el protocolo LB07 que se encuentra en el ANEXO B del laboratorio de bioensayos de la Universidad de La Salle.

El análisis que se realizó fue por una sola vía en la que se compararon las varianzas muestrales de la cantidad de organismos muertos por concentración a las 96 horas en las pruebas toxicológicas de sensibilidad y pruebas definitivas de Cu (cobre), Zn (cinc), el vertimiento crudo y el vertimiento tratado.

El método tiene un 95 % de confianza y un Margen de error del 5 %.

Se usaron dos programas estadísticos para la realización de estos cálculos que fueron EXCEL y STATGRAPHICS Versión 5.1 PLUS que permite la realización sistemática de distintos análisis estadísticos.



Fuente: CETESB adaptado por los Autores.

#### 4.3.7.2 PROBIT

##### Descripción

El método Probit es un procedimiento estadístico paramétrico para hallar la  $CL_{50}$  siguiendo el protocolo LBp03 del laboratorio de bioensayos de la Universidad de La Salle Anexo A.

El análisis consiste en transformar los datos de la mortalidad observados a  $\log_{10}$  para obtener una aproximación lineal de los parámetros en la regresión con iteración y con base en es datos obtenidos se estima la  $CL_{50}$ .

El método da resultados con un 95 % de confianza y un margen de error del 5 %.

Para la aplicación del método se usaron las pruebas toxicológicas agudas realizadas a las sustancias de interés.

Los métodos estadísticos aplicados son los recomendados por el manual Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms (USEPA, 2002), el libro Ensayos Toxicológicos Y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas (castillo,2004), el libro Pruebas de Toxicidad Acuática: Fundamentos y métodos (Díaz, 2004) y el protocolo de CETESB.

Tabla 6. Características de las unidades de tratamiento de la empresa de cincado.

UNIDAD	CAPACIDAD	CANTIDAD	pH
Tanque de igualación	5 m <sup>3</sup>	1	1.5 – 2.3
3 tanques de oxidación	250 L	3	10- 11,5
Reactor		1	2,00
Sedimentador	1200 L	1	8-9
Filtros De Arena	---	---	---
Tanque Final	30 m <sup>3</sup>	1	---
Intercambiador Iónico	---	2	---

Fuente: Los autores

Las fases explicadas anteriormente fueron sintetizadas en el esquema metodológico.

## **5 INDUSTRIA EVALUADA**

Se realizó un muestreo puntual al vertimiento de una industria de galvanotecnia ubicada en Bogotá en la localidad de Puente Aranda.

La industria se especializa en recubrimiento con Cinc (Zn) por electrólisis a un indeterminado número de piezas aplicando diversos procesos fisicoquímicos descritos a continuación:

Desengrase, sensibilización, activación, nucleación, postnucleación, premetalizado y metalizado.

Los vertimientos producidos son especialmente metales pesados como níquel, cobre, zinc, hierro, cromo que son tratados en una planta compacta para el tratamiento de aguas residuales. La planta se encuentra ubicada en el segundo piso de la industria y está conformada por las siguientes unidades de tratamiento que se observan en la tabla 6.

## **6 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS DE TOXICIDAD**

Los resultados que se presentan a continuación son el producto de una ardua y larga investigación que se llevó a cabo durante los meses de enero a diciembre del año 2008 y de marzo a julio del año 2009; aproximadamente en 12 meses para la determinación de la concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) en trucha arco iris, en la cual se mantuvieron las condiciones óptimas para el desarrollo de las pruebas de sensibilidad ( $K_2Cr_2O_7$ ) y toxicidad de (Cu) y (Zn), fue realizado con el fin de mejorar la normatividad actual de Colombia en cuanto a vertimientos.

Los bioensayos que se realizaron tuvieron una duración de 96 horas, donde a las 24 horas después de haber iniciado la prueba se observaba la tendencia de mortalidad, la cual era clave para saber si el porcentaje de mortalidad esperado entre (0 -100) % seguiría la tendencia para alcanzarlo al finalizar los bioensayos (ver hojas de registro en el ANEXO O).

En los registros tomados el blanco en algunas ocasiones presentó muertes que no superaron el 10% garantizando la validez de los bioensayos según lo estipulado por los protocolos para pruebas toxicológicas con alevinos de trucha arcoiris de CETESB.

Los datos que se muestran en esta sección son los registros tomados a las 96 horas para las pruebas de sensibilidad, las pruebas de toxicidad y los resultados de la aplicación de los métodos de análisis estadísticos: ANOVA (análisis de varianza) y Probit en las cartas de control.

Adicionalmente se realiza el análisis de los datos y se muestran las gráficas de la  $CL_{50-96}$  vs. Número de bioensayos realizadas basadas en los datos calculados por Probit.



## 6.1 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

La sensibilidad de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) se calculó hallando la concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) empleando como tóxico de referencia el dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ). Se realizaron veinte (20) pruebas usando un rango entre (20 - 100) ppm en los que se observó una mortalidad entre el (0 – 100) %. La tabla 7. muestra los resultados de una de las pruebas de sensibilidad realizadas.

### 6.1.1 Análisis de varianza para las pruebas de sensibilidad de $K_2Cr_2O_7$ .

A continuación se muestra la tabla con los resultados estadísticos de ANOVA para la prueba de sensibilidad de  $K_2Cr_2O_7$ .

Tabla 7. Resultados de una de las pruebas definitivas con lectura a las 96 horas del Dicromato de Potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ).

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2Cr_2O_7$ (08/ENE/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	4	2	4	4	14	70
60	3	3	5	5	16	80
80	4	5	5	4	18	90
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	0	0	0	0	0

Fuente: los autores.

Al realizar el análisis de varianza se plantearon dos hipótesis:

$H_0$ : El efecto de las diferentes concentraciones es igual para todos los organismos

$H_1$ : Las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismos expuestos.

Se comprobaron comparando los valores de  $F_c$  (f calculado) y  $F_t$  (f teórico) así:

$F_c > F_t$ : Se rechaza la hipótesis nula.

$F_c > F_t$  Se rechaza la  $H_0$

$F_c < F_t$  Se acepta la  $H_0$

Al comparar  $F_c$  vs  $F_t$  (Tabla 8.) de las veinte pruebas realizadas se puede decir que  $F_c > F_t$  lo que comprueba que las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismos expuestos.

En la Figura 17. “Concentración vs. Número de Pruebas de sensibilidad con  $K_2Cr_2O_7$ ” donde se observa el comportamiento de la  $CL_{50}$  siempre con tendencia al promedio lo cual nos indica la sensibilidad de la trucha al  $K_2Cr_2O_7$ .

Los resultados de la prueba se comparan con otros estudios nacionales e internacionales que se muestran en la tabla 10.

Los resultados de la concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) para las sustancias de interés empleadas en esta investigación fueron comparados con los datos de otras investigaciones (tabla 10) de donde se puede decir que el valor de sensibilidad 59,7 mg/L de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) comparado con el obtenido en la USEPA 83,08 mg/L  $K_2Cr_2O_7$  presenta una diferencia de 23,4 mg/L lo que indica que se acerca bastante al valor validado por la USEPA y con los estudios de la Universidad de la Salle se observa que los valores están muy cercanos, comprobando de esta manera la estandarización de la sensibilidad para el laboratorio de bioensayos.

Tabla 8. F calculado vs. F teórico para las pruebas definitivas de sensibilidad con  $K_2Cr_2O_7$ . +/- 0.1

Fecha	f calculado	f teórico
4-Feb-07	11.6	<b>2.8</b>
5-Nov-07	15.3	
21-Nov-07	44.2	
8-Jan-08	29.9	
14-Jan-08	72.6	
21-Jan-08	21.9	
4-Feb-08	33.8	
11-Feb-08	33.1	
25-Feb-08	39.6	
3-Mar-08	15.1	
10-Mar-08	58.2	
25-Mar-08	63.8	
31-Mar-08	32.1	
7-Apr-08	25.9	
18-Apr-08	13.1	
21-Apr-08	45.1	
28-Apr-08	58.3	
6-May-08	14.1	
12-May-08	79.5	
01 DIC 2008	89.2	

Fuente: los autores.

### 6.1.2 Análisis Probit para las pruebas de Sensibilidad con $K_2Cr_2O_7$

Tabla 9. Carta de control de sensibilidad de  $K_2Cr_2O_7$ .  $\pm 0.1$

Fecha	CL <sub>50-96</sub> (mg $K_2Cr_2O_7$ / L)	Límite de confianza al 95 % (mg $K_2Cr_2O_7$ / L)	
		Inferior	Superior
4-Feb-07	64.3	46.9	95.5
5-Nov-07	63.1	54.3	73.1
21-Nov-07	59.0	51.0	67.1
8-Jan-08	61.5	54.18	69.2
14-Jan-08	64.3	58.4	69.4
21-Jan-08	56.1	45.4	64.4
4-Feb-08	65.8	56.0	72.5
11-Feb-08	64.1	54.9	71.4
25-Feb-08	57.6	50.5	64.5
3-Mar-08	54.0	43.0	62.1
10-Mar-08	60.5	53.2	68.0
25-Mar-08	59.9	52.8	66.9
31-Mar-08	62.6	55.0	70.3
7-Apr-08	62.9	50.3	71.0
18-Apr-08	60.3	52.8	64.3
21-Apr-08	55.9	48.6	63.4
28-Apr-08	52.8	46.0	59.2
6-May-08	55.7	48.4	63.3
12-May-08	57.4	51.0	63.3
01 Diciembre 2008	56.0	49.2	62.3
PROMEDIO	59.7	51.1	68.1

Fuente: los autores.

Como resultados promedio se hallaron los límites de confianza y la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) del  $K_2Cr_2O_7$   $\pm 0.1$ :

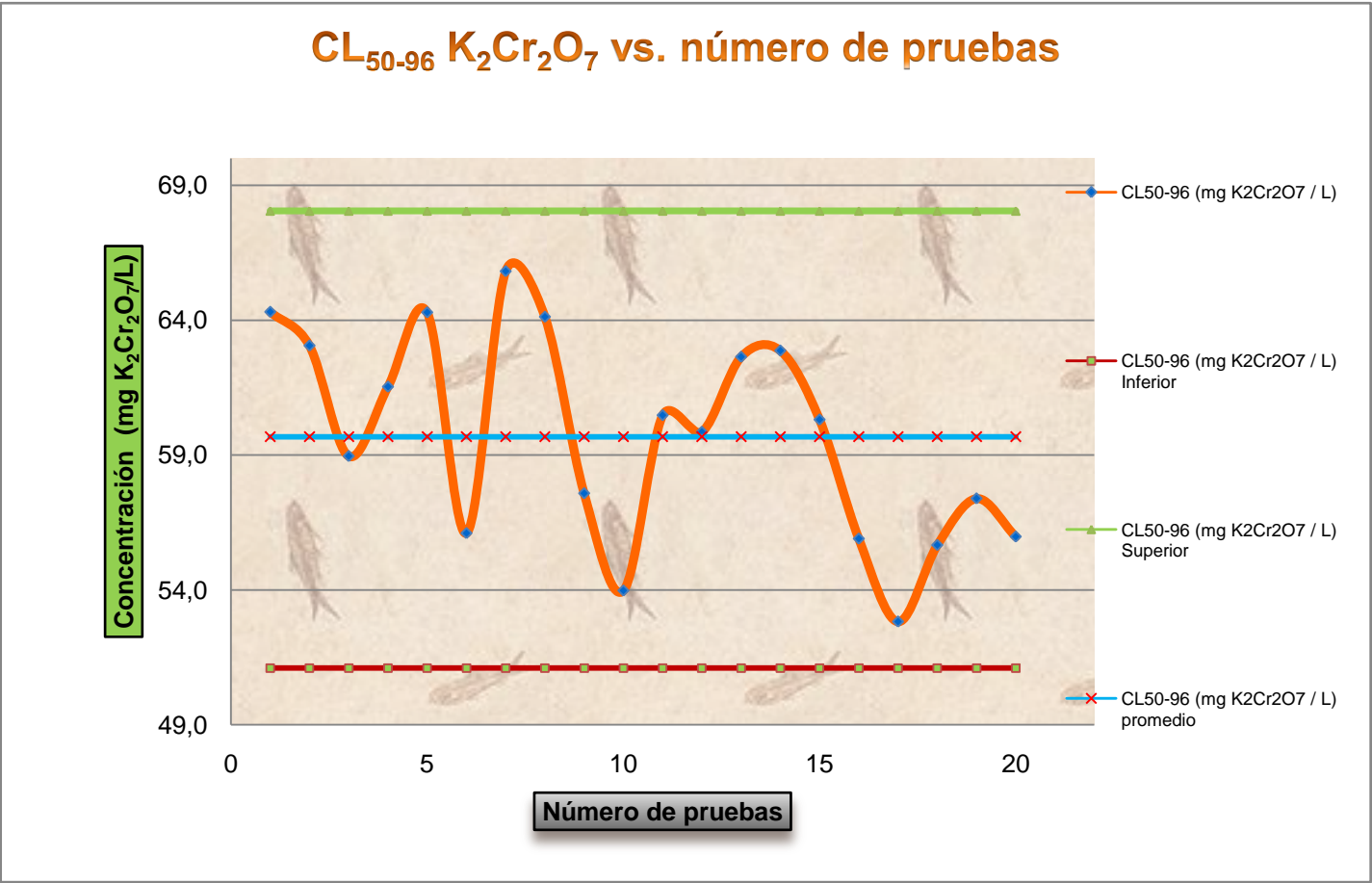
Límite inferior: 51,1 mg/L

**CL<sub>50-96</sub>: 59.7 mg/L**

Límite superior: 68.1 mg/L

Al analizar la carta de control Tabla 9 y la Figura 17. de resultados de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) se observa que los valores de (CL<sub>50-96</sub>)  $\pm 0.1$  a pesar de oscilar entre un rango de (52,8 – 65.8) mg/L en ningún momento superan el límite superior o inferior demostrando que la fase de acondicionamiento del organismo de prueba no presentó fallas, que las

Figura 16. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas de sensibilidad con  $K_2Cr_2O_7$ .



Fuente: Los autores.

Tabla 10. Diferentes valores de sensibilidad de  $K_2Cr_2O_7$  de estudios nacionales e internacionales en trucha arcoiris.

CL <sub>50</sub> mg $K_2Cr_2O_7$ / L Sensibilidad	Tiempo de exposición (h)	Peso (g)	Etapas de crecimiento	Referencia
83.08				USEPA
56.43	96	1.1	ALEVINOS	GRIJALBA Y BERNAL, Universidad de la Salle, Bogotá, 2008
35 -75	96		ALEVINOS	FAO, Corporate Document, Respositore, 2001
54.0731	96	1.0	ALEVINOS (35 - 45) días de nacido.	BARROS Y GAMEZ, Universidad de la Salle, Bogotá, 2008
52.2183	96	1.1	ALEVINOS	ORTIZ Y AGUDELO, Universidad de la Salle, Bogotá, 2008
52.39	96	1.0	ALEVINOS	SANCHEZ Y ANDRADE, Universidad de la Salle, Bogotá, 2009
59.7	96	0.9	ALEVINOS	PERALTA BARRETO, Universidad de La Salle, Bogotá, 2009.

Fuente: los autores.

variables se controlaron de una manera segura y que por lo tanto hay consistencia en las pruebas realizadas.

## 6.2 PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS PARA Cobre (Cu) a partir de sulfato de cobre pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )

Se realizaron cuatro pruebas preliminares con cobre (Cu) que se utilizaron para determinar las concentraciones a utilizar en las pruebas definitivas teniendo en cuenta que la mortalidad observada estuviera entre el (0 – 100) %.

En la Tabla 11. se observan los resultados obtenidos de la primera prueba de toxicidad para la que se usó un rango entre (0,1 - 5) ppm de Cu. En ella se puede observar claramente que la mortalidad a concentraciones superiores a 0,1 ppm es del 100 % en las cuatro replicas, definiendo el nuevo rango a utilizar en concentraciones  $\leq 0.1$  ppm que se utilizó en las siguientes pruebas preliminares hasta encontrar el rango de las pruebas definitivas.

Finalmente basados en los resultados de las pruebas preliminares se obtuvo que el rango entre (0,01 - 0,15) ppm es el que muestra porcentajes de mortalidad entre (0 – 100) % como se puede observar en la Tabla 12. Se realizaron 10 pruebas definitivas que mostraron la validez de este rango que se pueden encontrar en el Anexo D.

Tabla 11. Resultados de las pruebas preliminares tomadas a las 96 h para cobre (Cu).

PRUEBA PRELIMINAR DE Cu (4/FEB/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	5	5	5	5	100	20
0,5	5	5	5	5	100	20
1	5	5	5	5	100	20
3	5	5	5	5	100	20
5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

Fuente: los autores.

Tabla 12. Resultados de una de las pruebas definitivas tomadas a las 96 h para Cu.

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (1) (20/OCT2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	1	0	5	1
0,05	2	0	1	0	15	3
0,07	3	2	1	1	35	7
0,1	5	3	4	5	85	17
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

Fuente: los autores.

En esta prueba Definitiva el número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó mas de una prueba y en este caso se le designó (1).

### 6.2.1 Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad de Cu

En la tabla 13 se encuentran los resultados estadísticos de ANOVA para la prueba de toxicidad de Cu.

Al realizar el análisis de varianza se plantearon dos hipótesis:

Ho: El efecto de las diferentes concentraciones es igual para todos los organismos

$H_1$ : Las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismos expuestos.

Se comprobaron comparando los valores de  $F_c$  (f calculado) y  $F_t$  (f teórico) así:

$F_c > F_t$ : Se rechaza la hipótesis nula.

$F_c > F_t$  Se rechaza la  $H_0$

$F_c < F_t$  Se acepta la  $H_0$

Al comparar  $F_c$  vs.  $F_t$  (tabla 13) de las diez pruebas realizadas se puede decir que  $F_c > F_t$  lo que comprueba que las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismos expuestos.

Tabla 13. F calculado vs. F teórico para las pruebas definitivas con Cu.

FECHA	f calculado	f teórico
7-Oct-08	28.2	<b>2.8</b>
(1) 14 OCT 2008	28.5	
(2) 14 OCT2008	14.0	
(1) 20OCT2008	36.4	
(2)20 OCT 2008	27.0	
(1) 19 NOV2008	21.8	
(2) 19 NOV 2008	21.8	
(1)25 NOV 2008	36.4	
(2)25 NOV 2008	21.8	
27 NOV 2008	47.5	

Fuente: Los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó mas de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

### 6.2.2 Análisis Probit para las pruebas de toxicidad de Cu.

En la Figura 18 “Concentración vs. Número de Pruebas de toxicidad para Cu.” se observa el comportamiento de la  $CL_{50}$  siempre con tendencia al promedio lo cual nos indica la sensibilidad de la trucha al tóxico en este caso Cobre (Cu).

Los resultados de la prueba se compararon con otros estudios internacionales que se muestran en la tabla 15.

Al analizar la tabla 15 se puede observar que el valor de concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) para cobre (Cu) grado analítico que se obtuvo en esta investigación es de 0,07 mg/L, al compararlo con los de otros estudios se observa que el valor de concentración letal media ( $CL_{50-96}$ ) mas alto obtenido en otras investigaciones apenas muestra una diferencia de 0,20 mg/L y si se compara con el mas bajo una diferencia de 0,05 mg/L lo que indica que los

resultados son consistentes y que las diferencias en los valores son debido a las diferentes condiciones ambientales de los laboratorios.

Tabla 14. Carta de control para la prueba de toxicidad de Cu.

Fecha	CL <sub>50-96</sub> (mg Cu / L)	Límite de confianza al 95 % (mg Cu / L)	
		Inferior	Superior
7-Oct-08	<b>0.075</b>	0.063	0.086
(1) 14 OCT 2008	<b>0.061</b>	0.052	0.069
(2) 14 OCT2008	<b>0.060</b>	0.045	0.075
(1) 20OCT2008	<b>0.068</b>	0.045	0.095
(2)20 OCT 2008	<b>0.070</b>	0.059	0.079
(1) 19 NOV2008	<b>0.068</b>	0.045	0.095
(2) 19 NOV 2008	<b>0.068</b>	0.045	0.095
(1)25 NOV 2008	<b>0.069</b>	0.045	0.095
(2)25 NOV 2008	<b>0.061</b>	0.035	0.096
27NOV2008	<b>0.062</b>	0.048	0.077
PROMEDIO	<b>0.07</b>	0.05	0.09

Fuente: Los autores

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizo mas de una prueba y en este caso se les designo (1) y (2).

El rango de oscilación de la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) para la prueba realizada se observa que esta variando siempre entre el rango promedio, comprobando que todos los peces tuvieron la misma sensibilidad a la exposición al toxico durante todas las pruebas realizadas.

Como resultados promedio se hallaron los límites de confianza y la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) del Cu:

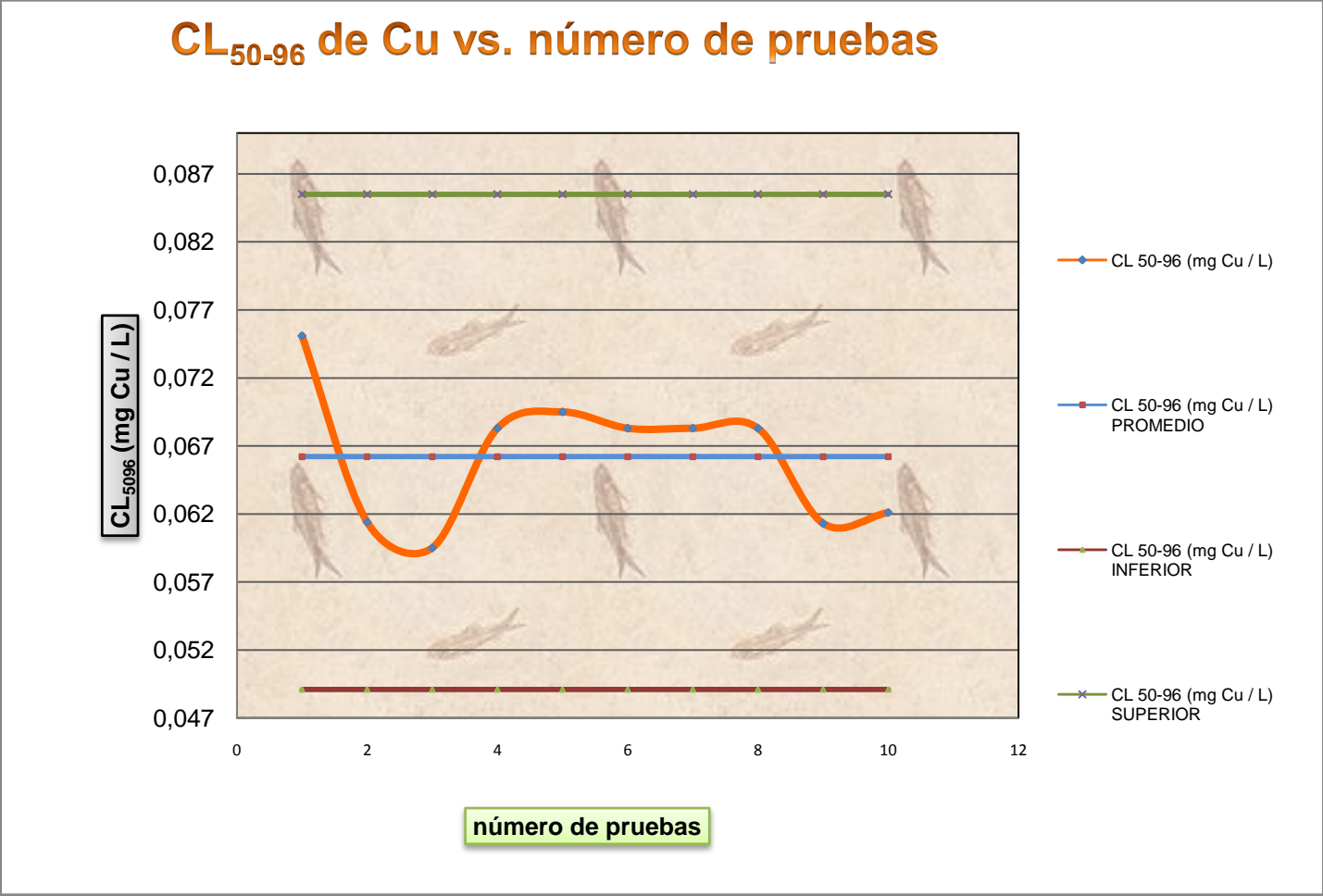
Límite inferior: 0,05mg/L

**CL<sub>50-96</sub>: 0,07 mg/L**

Límite superior: 0,09 mg/L



Figura 17. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas de toxicidad para Cu.



Fuente: los autores.

Al analizar la carta de control (tabla 14) y la Figura 18. concentración vs. número de pruebas de los resultados cobre (Cu) se observa que los valores de (CL<sub>50-96</sub>) oscilan entre un rango de (0,06 - 0,08) mg/L sin superar en ningún momento el límite superior o inferior, demostrando que la fase de acondicionamiento del organismo de prueba no presentó fallas, que las variables se controlaron de una manera segura y que por lo tanto hay consistencia en las pruebas realizadas.

Tabla 15. Diferentes valores de pruebas de toxicidad internacionales con cobre (Cu) en trucha arcoíris.

CL <sub>50</sub> mg Cu/L	CL <sub>50</sub> mg CuSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O/ L	Tiempo de exposición (h)	Peso (g)	Etapas de crecimiento	Referencia
	0.25	96	0,5 - 3	ALEVINOS	Qureshi, A.A., Flood, K. W., Thompson, S. R., Janhurst, S. M., Inniss, C. S., and rokosh, D. A., American Society for Testing and Materials, 1982, pp. 179 - 195
	0.094	96	7,12 ± 0,6	-	Ayşe Gündoğdu, Research article, ARAŞTIRMA MAKALESİ, Journal of FisheriesSciences.com, 2008
	0.16			-	BAGDONAS and VOSYLIENE, 2006
0,042 (0,039- 0,046)		96	0.496	ALEVINOS	BESSER, John, MEBANE, Christopher, MOUNT, David, IVEY, Chris, KUNZ, James, GREER, Eugene, MAY, Thomas and INGERSOLL, Christopher. , Vol. 26, No. 8, pp. 1657–1665, Allen Press Publishing Service Inc 2007, USA.
0.056		96		ALEVINOS	
0.059		96		ALEVINOS	
0.02					Howarth & Sprague, 1978
<b>0.07</b>		<b>96</b>	<b>0.9</b>	<b>ALEVINOS</b>	<b>PERALTA BARRETO, Universidad de La Salle, Bogotá, 2009.</b>

Fuente: Los autores

Tabla 16. Comparación con la legislación

Parámetro	Unidades	CL <sub>50-96</sub> hallada en la investigación	LEGISLACIÓN	
			ANTIGUA	NUEVA
			Dec. 1594 de 1984 (CL <sub>50-96</sub> )	norma CAR Acuerdo 43 de 2006* (CL <sub>50-96</sub> )
Cobre (Cu)	mg Cu/L	0.07	0.1	0.2

Fuente: los autores.

Por otro lado al comparar el valor promedio que se obtuvo con los valores de (CL<sub>50-96</sub>) en la carta de control de cobre (Cu) con los valores de (CL<sub>50-96</sub>) del

decreto 1594 de 1984 en el artículo 45 para la preservación de flora y fauna se puede decir que el valor de  $CL_{50-96} = 0,07$  mg/L hallado en esta investigación comparado con el del decreto  $CL_{50-96} = 0.10$  mg/L es inferior con una diferencia de 0.03 mg/L, y con el Acuerdo CAR 43 de 2006\*  $CL_{50-96} = 0.20$  mg / L es inferior con un diferencia de 0.10 mg/L.

Tabla 17. Resultados de una de las pruebas preliminares de toxicidad de cinc (Zn).

PRUEBA PRELIMINAR DE Zn (27/NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
2	5	5	5	5	100	20
4	5	5	5	5	100	20
6	5	5	5	5	100	20
8	5	5	5	5	100	20
10	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	0	0	0	0

Fuente: los autores

### 6.3 PRUEBAS PRELIMINARES Y PRUEBAS DEFINITIVAS PARA CINCO (Zn) A PARTIR DE (ZnCl<sub>2</sub>).

En cada tabla se calculó a través de una sumatoria el número de muertes totales y los porcentajes de mortalidad de los peces según la concentración. El blanco en algunas ocasiones presentó muertes que no fueron mayores al 10% garantizando la validez de la prueba.

Se realizaron 5 pruebas preliminares con cinc (Zn) que se utilizaron para determinar las concentraciones a utilizar en las pruebas definitivas teniendo en cuenta que la mortalidad observada estuviera entre el (0 – 100) %. En la tabla 17 se observan los resultados obtenidos en la primera prueba para la que se utilizaron un rango entre (2 - 10) ppm de Zn.

Finalmente basados en los resultados de las pruebas preliminares se obtuvo que el rango entre (0.1 -1.5) ppm de cinc (Zn) es el que muestra porcentajes de mortalidad entre (0 -100) % como se puede observar en la Tabla 18. Se realizaron 10 pruebas definitivas validando este rango que se puede encontrar en el Anexo E.

#### 6.3.1 Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad de Zn

---

\* Estos valores del acuerdo son unos objetivos de calidad de agua para el río Bogotá al año 2020.

En la tabla 19 se observan los resultados estadísticos de ANOVA para la prueba de toxicidad de Zn.

Tabla 18. Resultados de una de las pruebas definitivas de toxicidad de cinc (Zn).

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (1) (03/MAR/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	2	1	0	0	15	3
0,7	1	2	0	1	20	4
1	5	4	3	4	80	16
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

Fuente: Los autores.

En esta prueba Definitiva el número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó mas de una prueba y en este caso se le designó (1).

Tabla 19. F calculado vs. F teórico para las pruebas de toxicidad definitivas con Zn.

FECHA	f calculado	f teórico
(1) 03 MAR 2009	55.3	<b>2.8</b>
(2) 03 MAR 2009	23.9	
(1) 10 MAR 2009	56.8	
(2) 10 MAR 2009	18.6	
(1) 17 MAR 2009	38.5	
(2) 17 MAR 2009	30.9	
(1) 31 MAR 2009	49.6	
(2) 31 MAR 2009	33.0	
21 ABR 2009	36.0	
28 ABR 2009	32.7	

Fuente: los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó mas de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

Al realizar el análisis de varianza se plantearon dos hipótesis:

$H_0$ : El efecto de las diferentes concentraciones es igual para todos los organismos

$H_1$ : Las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismos expuestos.

Se comprobaron comparando los valores de  $F_c$  (f calculado) y  $F_t$  (f teórico) así:

$F_c > F_t$ : Se rechaza la hipótesis nula.

$F_c > F_t$  Se rechaza la  $H_0$

$F_c < F_t$  Se acepta la  $H_0$

Al comparar  $F_c$  vs.  $F_t$  (Tabla 19.) de las diez pruebas realizadas se puede decir que  $F_c > F_t$  lo que comprueba que las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismo expuestos.

Tabla 20. Carta de control de la prueba de toxicidad de cinc (Zn).

Fecha	$CL_{50-96}$ (mg Zn / L)	Límite de confianza al 95 % (mg Zn / L)	
		Inferior	Superior
(1) 03 MAR 2009	<b>0.72</b>	0.62	0.82
(2) 03 MAR 2009	<b>0.74</b>	0.65	0.83
(1) 10 MAR 2009	<b>0.72</b>	0.60	0.83
(2) 10 MAR 2009	<b>0.75</b>	0.66	0.84
(1) 17 MAR 2009	<b>0.67</b>	0.57	0.76
(2) 17 MAR 2009	<b>0.64</b>	0.54	0.73
(1) 31 MAR 2009	<b>0.68</b>	0.55	0.80
(2) 31 MAR 2009	<b>0.71</b>	0.59	0.81
21 ABR 2009	<b>0.71</b>	0.60	0.81
27 ABR 2009	<b>0.70</b>	0.59	0.79
PROMEDIO	<b>0.70</b>	0.60	0.80

Fuente: Los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó más de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

En la Figura 19. "Concentración vs. Número de Pruebas de toxicidad para cinc (Zn)." donde se observa el comportamiento de la  $CL_{50}$  siempre con tendencia al

promedio lo cual nos indica la sensibilidad de la trucha al tóxico en este caso cinc (Zn).

El rango de oscilación de la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) para la prueba realizada se observa que esta variando siempre entre el rango promedio, comprobando que todos los peces tuvieron la misma sensibilidad a la exposición al toxico durante todas las pruebas realizadas.

Los resultados de la prueba se comparan con otros estudios internacionales que se muestran en la tabla 21.

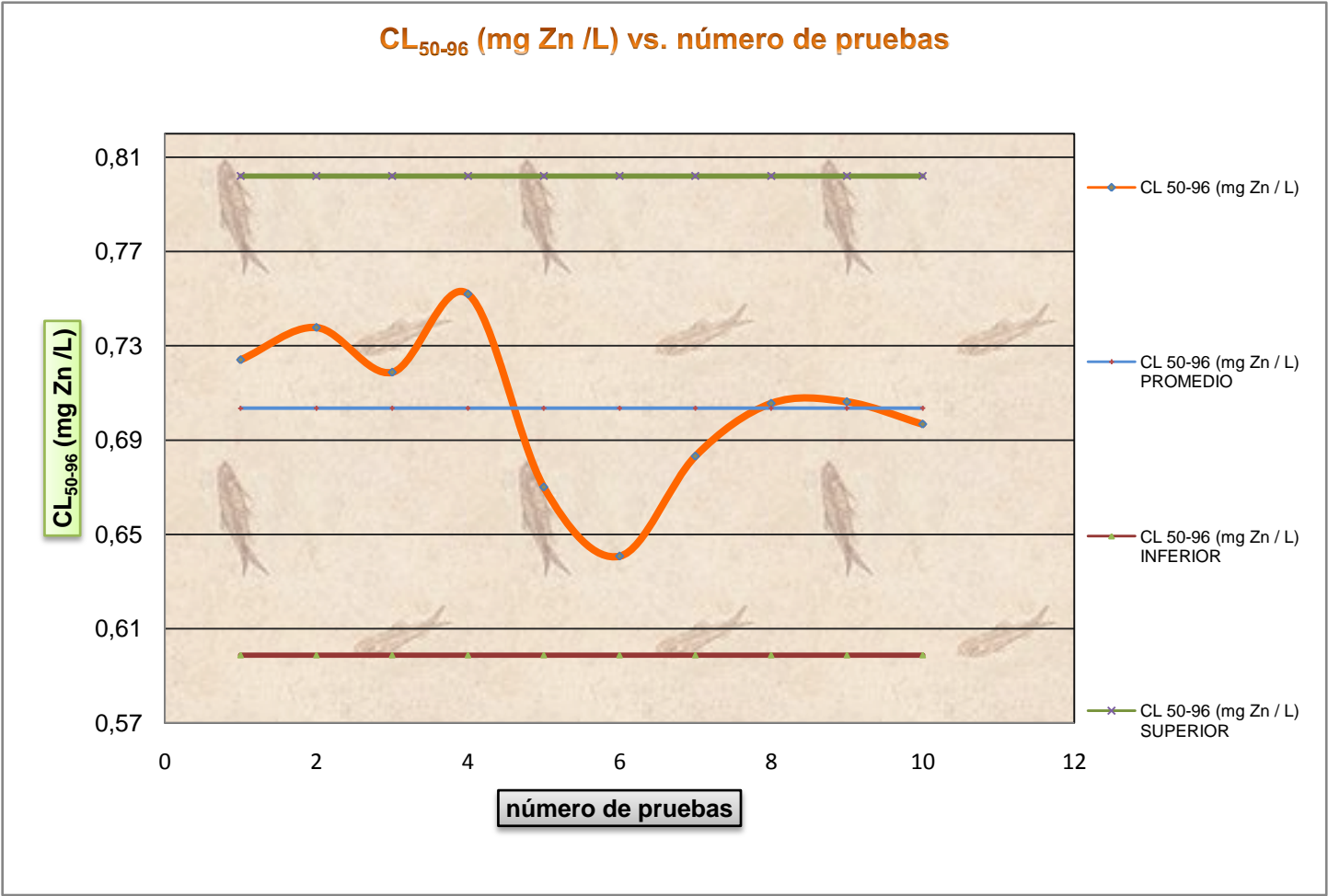
Al comparar los valores obtenidos de la prueba de toxicidad de cinc (Zn) con la tabla 21. se observa que el valor de 0.7 mg Zn / L se encuentra cercano al de 0.5 mg Zn /L. presenta consistencia en los valores obtenidos en donde la máxima diferencia es 1,5 mg/L excepto por uno de los resultados cuyo valor 12.9 mg/L excede el valor más alto en 12,2 mg/L, esto se puede explicar debido a que la edad de las truchas utilizadas en este ensayo es mayor y así mismo es su resistencia a los contaminantes.

Tabla 21. Diferentes valores de pruebas de toxicidad de cinc (Zn) con trucha arcoiris.

CL <sub>50</sub> mg Zn/ L	CL <sub>50</sub> mg ZnCl <sub>2</sub> / L	Tiempo de exposición (h)	Peso (g)	Etapas de crecimiento	Referencia
	12.88	96	3,02 ±0.21	-	Ayşe Gündoğdu, Research article, ARAŞTIRMA MAKALESİ, Journal of FisheriesSciences.com, 2008
0,175 (0,150- 0,201)		96	0.496	ALEVINOS	BESSER, John, MEBANE, Christopher, MOUNT, David, IVEY, Chris, KUNZ, James, GREER, Eugene, MAY, Thomas and INGERSOLL, Christopher. , Vol. 26, No. 8, pp. 1657–1665, Allen Press Publishing Service Inc 2007, USA.
0.504		96		ALEVINOS	
0.29		96		ALEVINOS	
	0.17			ALEVINOS	Buhl & Hamilton (1990)
	2.17		0.6	ALEVINOS	
	1.76			ALEVINOS	Chapman & Stevens (1978)
<b>0.7</b>		<b>96</b>	<b>0.8</b>	<b>ALEVINOS</b>	<b>PERALTA BARRETO, Universidad de La Salle, 2009</b>

Fuente: Los autores.

Figura 18.Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas de toxicidad de cinc (Zn).



Fuente: los autores.

Como resultados promedio se hallaron los límites de confianza y la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) del cinc (Zn):

Límite inferior: 0,6 mg/L

**CL<sub>50-96</sub>: 0,7 mg/L**

Límite superior: 0,8 mg/L

Al analizar la carta de control (Tabla 20.) y la Figura 19. concentración vs. número de pruebas de los resultados de cinc (Zn) se observa que los valores de CL<sub>50-96</sub> oscilan entre un rango de (0,6 - 0,8) mg/L sin superar en ningún momento el límite superior o inferior, demostrando que la fase de acondicionamiento del organismo de prueba no presentó fallas, que las variables se controlaron de una manera segura y que por lo tanto hay consistencia en las pruebas realizadas.

Tabla 22. Comparación con la legislación.

Parámetro	Unidades	CL <sub>50-96</sub> hallada en la investigación	LEGISLACIÓN	
			ANTIGUA	NUEVA
			Dec. 1594 de 1984 (CL <sub>50-96</sub> )	norma CAR Acuerdo 43 de 2006* (CL <sub>50-96</sub> )
Cinc (Zn)	mg Zn/L	0.7	0.01	2

Fuente: los autores.

Por otro lado al comparar el valor promedio que se obtuvo con los valores de CL<sub>50-96</sub> en la carta de control de cinc (Zn) con los valores de CL<sub>50-96</sub> del decreto 1594 de 1984 en el artículo 45 para la preservación de flora y fauna se puede decir que el valor de CL<sub>50-96</sub> hallado en esta investigación 0,7 mg/L comparado con el del decreto CL<sub>50-96</sub> = 0.01 mg/L es superior con una diferencia de 0,7, y con el acuerdo CAR 43 de 2006\* CL<sub>50-96</sub> = 2 mg / L es inferior con una diferencia de 1.3 mg/L.

#### 6.4 PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS DEL VERTIMIENTO CRUDO DEL PROCESO DE CINCADO

Para la realización de las pruebas con el vertimiento puro se realizó un procedimiento para subir el pH desde 1.9 hasta 6.6 unidades de pH con hidróxido de sodio 1 N; al momento de preparar las diferentes diluciones el vertimiento debía ser homogenizado debido a que el hidróxido de sodio precipitaba la solución.

---

\* Estos valores del acuerdo son unos objetivos de calidad de agua para el río Bogotá al año 2020.



De esta manera se garantizan las condiciones originales de concentración del vertimiento crudo y el pH necesario (cercano a neutro) para la realización de las pruebas y garantizar que fueran los compuestos tóxicos del vertimiento de cincado los que realmente causaron la mortalidad de los peces y no el pH.

Tabla 23. Resultados de una de las pruebas preliminares del Vertimiento Crudo.

<b>PRUEBA PRELIMINAR del Vertimiento Crudo (26/MAY/2009)</b>						
<b>CONCENTRACIÓN NOMINAL  (%)</b>	<b>Nº organismos muertos por pecera</b>				<b>% Mortalidad obtenido</b>	<b>Total Muertos (unidad)</b>
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>		
0,01	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0
0,1	0	1	0	1	10	2
0,3	4	3	4	4	75	15
0,5	5	5	5	5	100	20
0,7	5	5	5	5	100	20
1,0	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

**Fuente:** los autores.

Se realizaron 5 pruebas preliminares con el vertimiento que se utilizaron para determinar las concentraciones a utilizar en las pruebas definitivas teniendo en cuenta que la mortalidad observada estuviera entre el (0 – 100) %. En la tabla 23 se observan los resultados obtenidos en la primera prueba para la que se utilizaron un rango entre (0.01 – 1.0) %.

Basados en los resultados de las pruebas preliminares se obtuvo que el rango entre (0.07 - 0.5) % del Vertimiento Crudo es el que muestra porcentajes de mortalidad entre (0 - 100) % como se puede observar en la Tabla 24. Se realizaron 5 pruebas definitivas que mostraron la validez de este rango que se pueden encontrar en el Anexo F.

#### **6.4.1 Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad con el Vertimiento Crudo.**

Al comparar  $F_c$  vs.  $F_t$  (Tabla 25.) de las cinco pruebas realizadas se puede decir que  $F_c > F_t$  lo que comprueba que las diferentes concentraciones tienen un efecto diferente sobre los organismo expuestos.

Tabla 24. Resultados de una de las pruebas definitivas con lectura a las 96 horas del Vertimiento Crudo.

PRUEBA DEFINITIVA del Vertimiento Crudo (08/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,07	0	0	0	0	0	0
0,1	0	1	1	2	20	4
0,2	0	2	3	1	30	6
0,3	4	3	2	3	60	12
0,4	3	4	4	4	75	15
0,5	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	1	0	0	5	1

Fuente: los autores.

#### 6.4.2 Análisis Probit para las pruebas de toxicidad de Vertimiento Crudo

El resultado de este porcentaje de  $CL_{50}$  representa la toxicidad combinada de distintos tóxicos que se encuentran el Vertimiento Crudo y se involucran en el proceso de cincado el cual magnifica el efecto nocivo.

Tabla 25. F calculado vs. F teórico para las pruebas definitivas con Vertimiento Crudo.

FECHA	f calculado	f teórico
1-Jun-09	36.4	2.6
(1) 02 JUN 2009	46.9	
(2) 02 JUN 2009	61.1	
8-Jun-09	28.5	
9-Jun-09	53.2	

Fuente: los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó mas de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

Tabla 26. Carta de control del vertimiento crudo.

Fecha	CL <sub>50-96</sub> (% Vertimiento Crudo / L)	Límite de confianza al 95 % (% Vertimiento Crudo / L)	
		Inferior	Superior
1-Jun-09	0.24	0.18	0.28
(1) 02 JUN 2009	0.20	0.16	0.26
(2) 02 JUN 2009	0.22	0.19	0.26
8-Jun-09	0.26	0.19	0.31
9-Jun-09	0.20	0.17	0.24
PROMEDIO	0.23	0.18	0.27

Fuente: los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó más de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

Como resultados se hallaron los promedios de los límites de confianza y el promedio de la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) del Vertimiento obteniendo lo siguiente:

Límite inferior: 0,18 % vertimiento / L

**CL<sub>50-96</sub>: 0,23 % vertimiento / L**

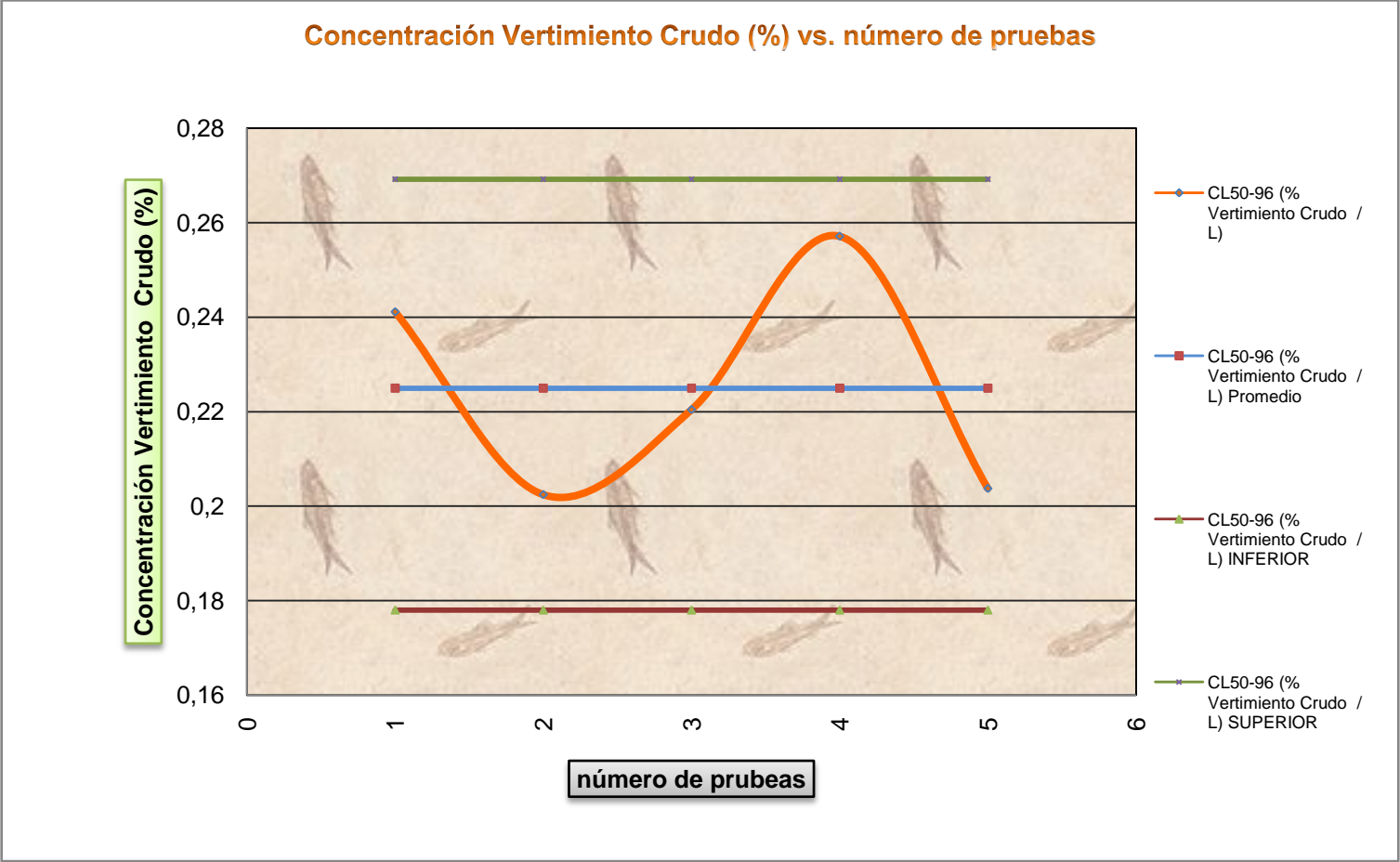
Límite superior: 0,27 % vertimiento / L

El rango de oscilación de la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) para la prueba realizada se observa que esta variando siempre entre el rango promedio, comprobando que todos los peces tuvieron la misma sensibilidad a la exposición al Vertimiento Crudo durante todas las pruebas realizadas.

Al analizar la carta de control (Tabla 26.) y la Figura 20. concentración vs. número de pruebas de los resultados del Vertimiento (%) se observa que los valores de CL<sub>50-96</sub> oscilan entre un rango de (0,20 - 0,26)% sin superar en ningún momento el límite superior o inferior, demostrando que la fase de acondicionamiento del organismo de prueba no presentó fallas, que las variables se controlaron de una manera segura y que por lo tanto hay consistencia en las pruebas realizadas.

Estos resultados se presentan en porcentaje (%) y para dar un poco de énfasis en los metales en estudio cobre (Cu) y cinc (Zn) en el Anexo K se podrán consultar la cartas de control para cada uno de ellos; donde se observa el comportamiento individual haciendo una correlación entre la concentración inicial de cada uno con el porcentaje de vertimiento aunque sin tener en cuenta la magnitud y el volumen de cada uno aunque según el análisis del proceso productivo se sabe que en cinc es mucho mas representativo debido a que el proceso productivo es de cincado.

Figura 19. Gráfica Concentración vs. Número de Pruebas del Vertimiento.



Fuente: los autores.

Los porcentajes encontrados en las pruebas definitivas fueron pasados a mg/L usando los resultados de la caracterización de Cu y Zn cuyos valores se pueden encontrar en el Anexo K.

Tabla 27. Concentraciones Vertimiento Crudo y Tratado, % de Remoción y Legislación Antigua y Nueva.

Parámetro	Concentración Vertimiento CRUDO proceso de cincado	Concentración Vertimiento TRATADO proceso de cincado	Unidades	Remoción (%)	LEGISLACIÓN	
					ANTIGUA	NUEVA
					Dec. 1594 de 1984 (mg/L)	Res. 3957 de 2009 (mg/L) <sup>†</sup>
Cobre (Cu)	4.9	0.1	mg Cu/L	97.95	0.1	0.25
Cinc (Zn)	550	0.39	mg Zn/L	99.93	0.01	2

Fuente: los autores.

## 6.5 PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS DEL VERTIMIENTO TRATADO

Los resultados de las pruebas con el vertimiento tratado no muestran ningún dato significativo en cuanto a la dosis letal se refiere; lo que demuestra la eficiencia del tratamiento (clarifloculador + intercambiador iónico); como se muestra en la tabla 28.

No se presentó mortalidad en el vertimiento tratado debido a la gran eficiencia que presentaron las unidades de clarifloculador + intercambiador iónico como se muestra en la tabla 27.

Como se observa en la tabla la eficiencia de remoción fue muy alta y por este motivo no se presentan muertes en las pruebas del vertimiento tratado.

Lo que sí se aprecia es la inconsistencia de la mayor permisividad de la legislación con respecto a la antigua, aunque este tema se sale de contexto es la responsabilidad como Ingenieros Ambientales y Sanitarios nombrar este aspecto. Se realizaron cinco (5) pruebas preliminares con el vertimiento pero no se observó que la mortalidad estuviera entre el (0 – 100) %. En la Tabla 28. se observan los resultados obtenidos en la primera prueba para la que se utilizaron un rango entre (10 – 100) %.

---

<sup>†</sup> Cobre (Cu) y Cinc (Zn) Totales

### 6.5.1 Análisis de varianza para las pruebas de toxicidad con el Vertimiento Tratado.

Al observar  $F_c$  vs.  $F_t$  (tabla 29) de las tres primeras pruebas realizadas se puede decir que  $F_c \gg F_t$  lo que comprueba que después del tratamiento no hay muertos y por eso el  $f_c$  da muchísimo mayor que el  $f$  teórico.

Tabla 28. Resultados de una de las pruebas preliminares con lectura a las 96 horas del Vertimiento tratado.

PRUEBA PRELIMINAR DEL Vertimiento tratado (23/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
10	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

Fuente: los autores.

Y al observar las dos últimas pruebas el  $F_c < F_t$  lo cual nos indica que los datos de la prueba son inconsistentes.

Tabla 29.  $F$  calculado vs.  $F$  teórico para las pruebas con Vertimiento Tratado.

FECHA	$f$ calculado	$f$ teórico
16-Jun-09	65535	2.6
19-Jun-09	65535	2.8
23-Jun-09	65535	
(1) 07 JUL 2009	0.6	
(2) 07 JUL 2009	0.6	

Fuente: los autores.

La CL<sub>50-96</sub> posible para el vertimiento tratado por deducción es mayor al 100 % del vertimiento tratado y se hace un estimativo habiendo una correlación entre la carga antes del tratamiento con el % de la CL<sub>50-96</sub> del vertimiento Crudo y carga después del tratamiento nos daría un estimativo de 233%.

## 6.6 Análisis Físico-Químicos del Vertimiento crudo y tratado.

El agua que se usó para la caracterización fisicoquímica fue la del vertimiento de una empresa de cincado, que es descargada en un tanque de igualación de 5m<sup>3</sup> de donde se realizó un muestreo puntual.

Tabla 30. Resultados de la caracterización del vertimiento crudo realizada el 27 de abril de 2009.

Parámetro	Resultado	Unidades	Método	Técnica
Cobre (Cu)	4,9	mg Cu/L	SM 3111 B	Absorción Atómica
Cinc (Zn)	550	mg Zn/L	SM 3111 B	Absorción Atómica
pH	1,88	de pH	SM 4500-H+	Electrométrico
Temperatura	20	°C	SM 2550 B	Termómetro
OD	N.D.	mg/L	SM 4500-O	Electrodo de membrana
Turbiedad	14,2	NTU	SM 2130 B	Turbidímetro

Fuente: los autores.

Los parámetros cobre (Cu) y cinc (Zn) se enviaron al Laboratorio Ivonne Bernier certificado por el IDEAM para su análisis (Anexo J), y los análisis de pH, turbiedad, oxígeno disuelto (OD), temperatura se analizaron in situ y en el laboratorio de ingeniería ambiental y sanitaria de la Universidad de La Salle.

## 6.7 Obtención de la carga tóxica e índice toxicológico del Vertimiento Crudo.

CL<sub>50-96</sub> = 0.23% del Vertimiento Crudo

Este análisis se realizó con el fin de evaluar y clasificar el vertimiento del proceso de Cincado.

Para el cálculo de la carga tóxica se utilizó la siguiente ecuación: expresada en unidades toxicas

Tabla 31. Resultados de la caracterización del vertimiento tratado.

Parámetro	Resultado	Unidades	Método	Técnica
Cobre (Cu)	0,1	mg Cu/L	SM 3111 B	Absorción Atómica
Cinc (Zn)	0,383	mg Zn/L	SM 3111 B	Absorción Atómica
pH	6,4	de pH	SM 4500-H+	Electrométrico
Temperatura	18	°C	SM	Termómetro
OD	5.1	mg/L	SM 4500-O	Electrodo de membrana
Turbiedad	7	NTU	SM 2130 B	Turbidímetro

Fuente: los autores.

$$C \text{ arg a Tóxica } (UT) = \frac{100}{CL_{50-96}} \times \bar{Q}$$

$CL_{50-96}$  = concentración letal media del efluente del proceso de cincado

$\bar{Q}$  = caudal promedio del efluente del proceso de cincado

$$C \text{ arg a Tóxica } (UT) = \frac{100}{0,2249} \times 3 \frac{m^3}{día} = 1333.6889$$

Para el cálculo del índice toxicológico se utilizó la siguiente ecuación: expresada en unidades

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

$$IT = \text{Log} (1 + 1333.6889) = 3.1254$$

El índice toxicológico obtenido = 3.13 para el vertimiento crudo nos indica que la industria de cincado tiene una carga tóxica MODERADA según el estimativo de los rangos de índices toxicológicos de Escobar, 1997.

## 6.8 Obtención de la carga tóxica e índice toxicológico del vertimiento tratado.

Asumiendo una  $CL_{50-96}$  del 100% para el vertimiento tratado.



Para el cálculo de la carga tóxica se utilizó la siguiente ecuación: expresada en unidades

$$Carga\ Tóxica\ (UT) = \frac{100}{CL_{50-96}} \times \bar{Q}$$

$$Carga\ Tóxica\ (UT) = \frac{100}{100} \times 3 \frac{m^3}{día} = 3$$

Tabla 32. Rangos de índices toxicológicos.

Rangos	Carga tóxica
1- 1,99	Despreciable
2 - 2,99	Reducida
3 - 3,99	Moderada
4 - 4,99	Considerable
> 5	Elevada

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

Para el cálculo del índice toxicológico se utilizó la siguiente ecuación expresada en unidades:

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

$$IT = Log (1 + 3) = 0.6021$$

Tabla 33. Rangos de índices toxicológicos.

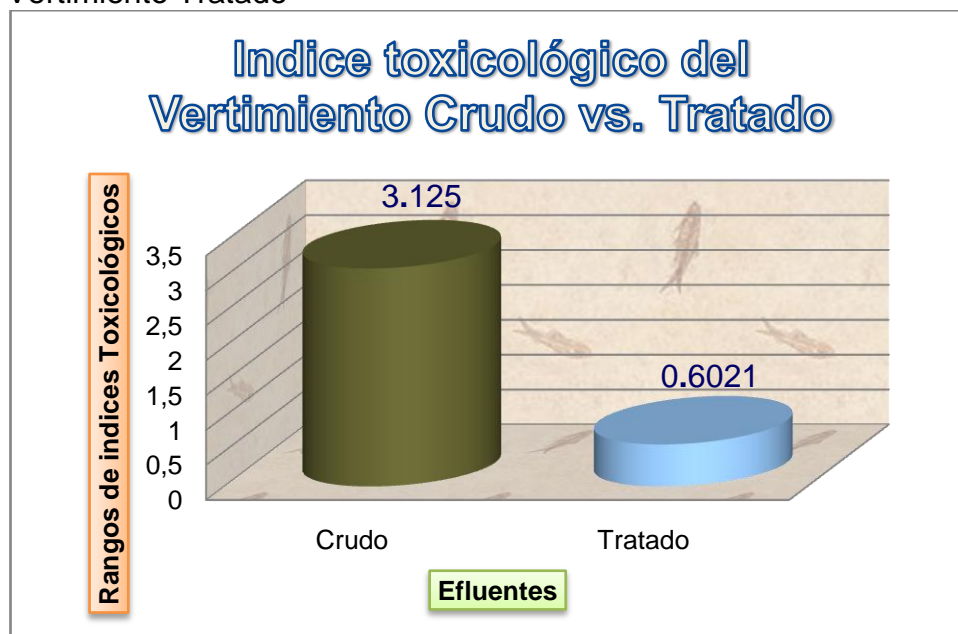
Rangos	Carga tóxica
1- 1,99	Despreciable
2 - 2,99	Reducida
3 - 3,99	Moderada
4 - 4,99	Considerable
> 5	Elevada

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

El índice toxicológico obtenido = 0.6 para el Vertimiento Tratado nos indica que la industria de cincado NO tiene una carga tóxica según el estimativo de los rangos de índices toxicológicos (ESCOBAR, 1997) en su efluente y no representa ningún riesgo para el medio ambiente y se comprueba esta afirmación porque en las pruebas toxicológicas no se murió ningún pez inclusive con el 100 % de la concentración.

Se observa en la Figura 21. la diferencia de toxicidad entre el Vertimiento Crudo y el Tratado.

Figura 20. Gráfica Comparación índice toxicológico Vertimiento Crudo vs. Vertimiento Tratado



Fuente: los autores.

## 7 SELECCIÓN DE LA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO PARA EL VERTIMIENTO DE LA INDUSTRIA DE CINCADO.

Para el vertimiento de la industria de cincado se elaboró la Tabla 34. en la que se compararon las ventajas y desventajas de los posibles tratamientos que se podían utilizar. Estos tratamientos se escogieron como opciones debido a que presentaban altas eficiencias de remoción de los metales pesados.

Para la selección del tratamiento se elaboró una matriz de priorización Tabla 35., en la que se asignó una calificación de 1 a 5 a las diferentes características de cada tratamiento Tabla 36., estas calificaciones fueron dadas teniendo en

cuenta las ventajas y desventajas de cada alternativa y las características propias de la industria.

Tabla 34. Tratamientos de metales pesados Ventajas y desventajas

Tratamiento		Ventajas	Desventajas	% Remoción de metales
Convencionales	Precipitación química	<p><b>Control y mantenimiento</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Es un sistema completamente cerrado que uno mismo puede operar y requiere poco mantenimiento. Solo necesita la renovación de los químicos utilizados.</li> <li>• Es una tecnología con fácil disponibilidad de equipos y productos químicos.</li> </ul> <p><b>Costos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Los químicos que se usan para el tratamiento son muy baratos especialmente la cal.</li> </ul> <p><b>Área</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Áreas pequeñas</li> </ul>	<p><b>Riesgos ocupacionales</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trabaja con químicos corrosivos lo que incrementa los problemas de salud en los operadores.</li> </ul> <p><b>Impacto ambiental</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Maneja químicos especialmente la cal que incrementa el volumen de lodos en un 50 %.</li> </ul> <p><b>Control y mantenimiento</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Es necesario transportar Grandes cantidades de químicos al sitio del tratamiento.</li> </ul> <p><b>Costos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Los polímeros pueden ser costosos</li> </ul>	98% Cu 99% Zn
	Ósmosis inversa	<p><b>Eficiencia</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Elimina un elevado porcentaje de todo tipo de contaminantes (iones, orgánicos, pirógenos, virus, bacterias, partículas, coloides)</li> </ul> <p><b>Control y mantenimiento</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No necesita reactivos agresivos de limpieza; mantenimiento mínimo</li> <li>• Buen control de los parámetros operativos</li> <li>• Es un proceso fácilmente automatizado</li> </ul>	<p><b>Control y mantenimiento</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Requiere mantenimiento frecuente para evitar saturación de la membrana.</li> <li>• Requiere de presiones muy altas para su funcionamiento.</li> <li>• Mediana selectividad y tolerancia a cambios de pH.</li> <li>• Bajo tiempo de vida con soluciones corrosivas.</li> <li>• Es necesario separar partículas insolubles o en suspensión para evitar saturación de las membranas.</li> </ul>	97%-99%

		<b>Costos</b> • Bajos costos de operación debido a la escasa necesidad de energía  <b>Impacto ambiental</b> La recuperación de metales pesados es posible.	<b>Costos</b> Alto costo por remplazar la membrana.	
	Intercambio iónico	<b>Eficiencia</b> • Alta eficiencia para la remoción de metales.  <b>Impacto ambiental</b> • Es posible la recuperación de metales por electrólisis.	<b>Control y mantenimiento</b> • El efluente debe ser filtrado para remover partículas y aceites en suspensión que pueden dañar las resinas. • La posible competencia entre metales pesados y otros cationes. • Las resinas no son muy tolerantes al cambio de pH • Los materiales orgánicos pueden envenenar la resina. • La presencia de Ca, Na y Mn disminuye su rendimiento debido a que pueden saturar la resina  <b>Costos</b> • Alto costo de las resinas de intercambio iónico • Alto costo de los químicos utilizados para la regeneración de las resinas.	95%-98%
	<b>No convencionales</b>  Técnicas fitorremediadoras (rizofiltración)	<b>Costos</b> • Utiliza plantas como bombas extractoras de bajo costo para depurar suelos y aguas contaminadas.  <b>Impacto ambiental</b> • Incrementa la actividad y población microbiana en el subsuelo, que es la encargada de elevar la cantidad de carbono orgánico.	<b>Control y mantenimiento</b> • Depende de la profundidad de penetración de las raíces. • Depende de tres factores para transportar los contaminantes desde la superficie externa hacia el interior de la planta por la raíz, que son: las propiedades del compuesto, las condiciones ambientales y las características de la especie de planta.	75%-98%

		<b>Impacto ambiental</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Retarda el movimiento e intercepción de compuestos tóxicos.</li> </ul> <b>Impacto ambiental</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mejora la aireación del suelo por la liberación de oxígeno a través de las raíces de las plantas.</li> <li>• Promueve las transformaciones de compuestos tóxicos a compuestos con menor toxicidad.</li> </ul>		
	Humedales artificiales	<b>Costos</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• El costo de construcción y mantenimiento es menor al de otras opciones de tratamiento.</li> <li>• Las variaciones de caudal no afectan el funcionamiento.</li> </ul> <b>Impacto ambiental</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• El manejo de químicos no es requerido.</li> <li>• No hay generación de olores.</li> <li>• Facilita el reciclaje y la reutilización del agua.</li> </ul>	<b>Área</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Requieren generalmente grandes extensiones de terreno, en comparación con tratamientos convencionales.</li> </ul> <b>Eficiencia</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• El rendimiento del sistema puede ser menos constante al de un proceso convencional.</li> </ul> <b>Control y mantenimiento</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Los componentes biológicos son sensibles a sustancias como el amoníaco y los pesticidas que llegan a ser tóxicos.</li> <li>• Requiere una mínima cantidad de agua para que sobrevivan, no soportan estar completamente secos.</li> <li>• Los diseños óptimos del sistema no se han desarrollado.</li> </ul>	98% Zn 71% Cu

Fuente: los autores.

La alternativa que se seleccionó fue la precipitación química debido a que comparada con las demás es relativamente económica, no ocupa una gran área a diferencia de los humedales artificiales, es fácil su control y mantenimiento y aunque genera impacto ambiental por la generación de lodos esto se puede controlar dependiendo del tipo coagulante a utilizar.

Para la implementación de la precipitación química como unidad piloto de tratamiento se diseñó un clarifloculador, que es una unidad de forma cilíndrica con forma de tolva en la parte inferior que coagula, flocula y sedimenta al mismo tiempo.

El clarifloculador necesita otras unidades complementarias para su funcionamiento tales como un tanque de neutralización (pozo de bombeo) para mantener las condiciones óptimas de pH y bombas dosificadores conectadas a tanques donde se preparan soluciones con las dosis óptimas de coagulantes y floculantes.

Tabla 35. Matriz de priorización de la alternativa de tratamiento.

Tratamiento		CARACTERÍSTICAS					TOTAL
		ÁREA	INVERSIÓN	CONTROL Y MANTENIMIENTO	IMPACTO AMBIENTAL	EFICIENCIA	
Convencionales	Precipitación química	3	3	3	3	3	15
	Ósmosis inversa	3	1	2	3	4	13
	Intercambio iónico	4	1	1	3	4	13
No convencionales	Técnicas fitorremediadoras	1	3	3	4	3	14
	Humedales artificiales	1	3	3	4	3	14

Fuente: los autores

Tabla 36. Rango de calificación

Calificación	Criterio de selección
5	Óptimo
1	Menos conveniente

Fuente: los autores

## 7.1 TEST DE JARRAS

En la realización del test de jarras se plantearon dos opciones de sustancias a utilizar como coagulantes el Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) y el sulfato de aluminio de las cuales se escogió el Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) debido a que sedimenta mas rápido el precipitado, forma mejor tamaño de los floculos y tiene un mejor nivel de remoción de metales.<sup>54</sup>

<sup>54</sup> SOTO REGALADO, Eduardo, LOZANO RAMIREZ, Tomas , BARBARÍN CASTILLO, Juan Manuel, ALCALÁ RODRIGUEZ, Monica, "Remoción de metales pesados en aguas residuales mediante agentes

Las dosis óptimas de coagulante se determinaron a partir de un test de jarras empleando Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) como se muestra en la Tabla 37.

Tabla 37. Resultados del test de jarras

	Parámetros medidos	Concentraciones	Productos Químicos	Análisis
<b>Jarra 1</b>	pH = 7 Turbidez= 14 N TU Color= 40 mg/l Pt, Co	50mg/l	[ ] Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ )= 10000ppm Vol.= 5ml	El precipitado fue mínimo con un sobrenadante de color verde claro
<b>Jarra 2</b>	pH = 7.5 Turbidez =10 NTU Color= 36 mg/l Pt, Co	100mg/l	[ ] Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ )= 10000ppm Vol.= 10ml	Se precipitó una parte de los sólidos, quedando el agua de un color verde claro
<b>Jarra 3</b>	pH = 7 Turbidez= 6 NTU Color= 30 mg/l Pt, Co	150mg/l	[ ] Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ )= 10000ppm Vol.= 15ml	Se formaron Flocs pero no se alcanzó a precipitar completamente quedando sólidos suspendidos en el agua.
<b>Jarra 4</b>	pH= 8 Turbidez= 4 NTU Color= 21 mg/l Pt, Co	200mg/l	[ ] Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ )= 10000ppm Vol.= 20ml	El precipitado que se formó fue de color verde oscuro y el sobrenadante quedó transparente
<b>Jarra 5</b>	pH= 8.3 Turbidez= 6 NTU Color= 20 mg/l Pt, Co	250mg/l	[ ] Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ )= 10000ppm Vol.= 25ml	El precipitado que se formó fue de color verde oscuro y el sobrenadante quedó con un color verde claro

Fuente: los autores.

Se encontró que la jarra 4 que es donde el Cloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) se aplicó en una concentración de 200 mg / L a un pH de 8 es en la que se produce mayor precipitación o mas clarifica el agua, escogiendo esta como la dosis mas apropiada.

Se utilizó como floculante un polielectrolito aniónico en una concentración < 1 mg/L.

## 7.2 DISEÑO DEL TRATAMIENTO PILOTO

### CRITERIOS DE DISEÑO

- Velocidad ascensional
- Tasa de sedimentación
- Volumen de almacenamiento de lodos
- Tiempo de retención
- Caudal de diseño
- Gradiente de mezcla
- 

En el diseño se incluyeron los gradientes de velocidad (Empíricos) hidráulico para la mezcla rápida y la mezcla lenta (Tabla 38.)

Tabla 38. Gradientes de velocidad

Mezcla rápida	(200- 1000) s-1
Mezcla lenta	(5-100) s-1

Fuente: Ingeniero Roberto Balda

Tabla 39. Parámetros de diseño de un floculador

<b>Velocidad de Floculación</b>
Entre 15 y 45 cm/s, Sedimenta por debajo de los 10 cm/s y rompe por encima de los 70cm/s
<b>Tiempo de Floculación</b>
Si tiene alto color y turbiedad de 15 a 30 min
Si tiene bajo color y turbiedad de 30 a 45 min

Fuente: Ingeniero Roberto Balda

Para el diseño del clarifloculador no se usó el caudal de vertimiento de la industria (3 m<sup>3</sup>/ día aprox.) sino uno bastante menor de 1 L/min teniendo en cuenta que era un ensayo piloto. La hoja de cálculo se muestra en la Tabla 40.

El clarifloculador diseñado es angosto de apenas 24 cm y con una altura de 1,5 m sin contar la tolva de lodos, esto se debe a que es una unidad piloto.

Este clarifloculador se diseño inicialmente con un cono de mezcla rápida en el interior utilizando valores empíricos entre (30 – 60) segundos; pero debido a que las dimensiones halladas en el diseño fueron mínimas se decidió sustituirlo



por una caja de mezcla rápida, que va conectada a un “feed well” que conduce el líquido hacia una tolva de lodos ubicada en la parte inferior del clarifloculador en donde se reduce la velocidad debido al cambio de diámetro y se realiza la mezcla lenta.

Tabla 40. Hoja de cálculo del clarifloculador

<b>DISEÑO DEL CLARIFLOCULADOR (1)</b>		
<b>Parámetros</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidad</b>
<b>Tiempo de retención</b>	40	min
<b>Tiempo de retención</b>	2400	seg
<b>Caudal(Q)</b>	1	L/min
Caudal(Q)	1,66 E-05	m <sup>3</sup> /s
Volumen total	0,04	m <sup>3</sup>
<b>Velocidad ascensional mayor</b>	120	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> -día
Velocidad ascensional mayor	0,0014	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> -seg
Área menor	0,012	m <sup>2</sup>
<b>Diámetro menor</b>	0,12	m
<b>Velocidad ascensional menor</b>	30	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> -día
Velocidad ascensional menor	0,00035	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> -seg
Área mayor	0,048	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> -seg
<b>Diámetro mayor</b>	0,25	m
Altura(h)	0,062	m
<b>Altura tolva intermedia(h2)</b>	0,11	m
Ángulo	30	grados
Ángulo	0,52	radianes
<b>Tiempo de retención del cilindro</b>	60	min
Tiempo de retención del cilindro	3600	seg

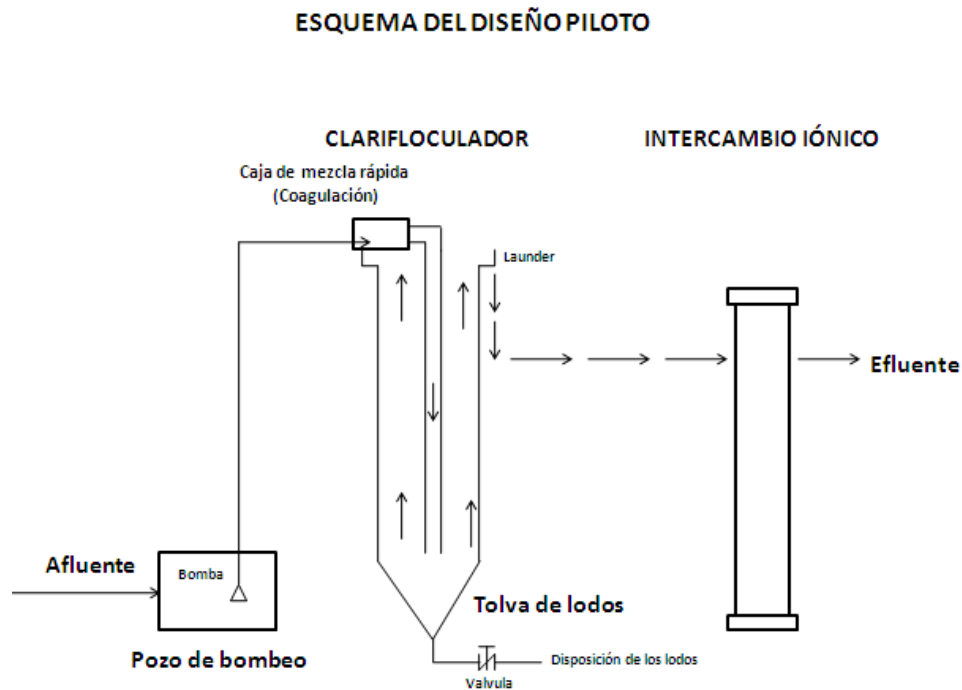
Volumen total del cilindro	0,06	m <sup>3</sup>
Altura total del cilindro	1,25	m
<b>Altura total del cilindro( con un borde libre del 20 %)</b>	1,50	m
<b>DISEÑO DE LA TOLVA (2)</b>		
Ángulo 1	30	grados
Ángulo 1	0,52	radianes
a	0,037	m
<b>Altura de la tolva (b)</b>	0,064	m
<b>Ht (Altura total del clarifloculador)</b>	1,67	m
<b>CONO DE MEZCLA INTERNO(3)</b>		
velocidad	0,02	m/s
Tiempo de retención	30	seg
Volumen total	0,0005	m <sup>3</sup>
Área	0,00083	m <sup>2</sup>
Diámetro mayor	0,033	m
Diámetro menor(10% del diámetro mayor del clarifloculador)	0,012	m
Ángulo 1	45	grados
Ángulo 2	0,785	radianes
Altura (h1)	0,022	m
Área mayor	0,00083	m
Área menor	0,00012	m
Altura del cilindro interior	0,047	m

Fuente: los autores.

Adicional a este tratamiento para lograr una mayor eficiencia se complementó con unas resinas de intercambio iónico dándole un muy alto porcentaje de

remoción como se muestra a continuación en la Figura 22. Esquema del diseño piloto.

Figura 21. Esquema del diseño piloto.



Fuente: los autores

### ARRANQUE DE LA UNIDAD DE TRATAMIENTO.

1. Caracterización del agua del vertimiento de la industria.
2. Realización del test de jarras para determinar las dosis de coagulantes y floculantes a aplicar.
3. Limpieza de la unidad.
4. Llenado del pozo de bombeo.
5. Realización de las pruebas hidráulicas para detectar fugas o daños en los accesorios.

## 8 CONCLUSIONES

- Los resultados reflejan que la sensibilidad de las truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), fue la misma en todas las pruebas con el tóxico de referencia ( $K_2Cr_2O_7$ ), Cobre (Cu), Cinc (Zn) y el Vertimiento crudo. Al analizar los valores de  $CL_{50-96}$  de las cartas de control y las gráficas se observa la tendencia de los valores hacia el promedio de las  $CL_{50-96}$  halladas además de no sobrepasar los límites superior e inferior promedio.
- La  $CL_{50-96}$  promedio para la prueba de sensibilidad con  $K_2Cr_2O_7$  que se obtuvo fue de 59.6774 mg  $K_2Cr_2O_7$  / L.
- Al comparar el resultado de sensibilidad del  $K_2Cr_2O_7 = 59.6774$  mg  $K_2Cr_2O_7$  / L con otros valores de sensibilidad obtenidos en estudios internacionales y hechos en el mismo laboratorio de bioensayos de la Universidad de La Salle, se observó que los valores no presentan grandes diferencias; validando la veracidad del resultado obtenido.
- La  $CL_{50-96}$  promedio para la prueba de toxicidad con Cu que se obtuvo fue de 0.0662 mg Cu / L.
- La  $CL_{50-96}$  promedio para la prueba de toxicidad con Zn que se obtuvo fue de 0.7036 mg Zn/ L.
- Al comparar los resultados de cobre Cu = 0.0662 mg Cu / L y cinc Zn = 0.7036 mg Zn/ L con otros valores de sensibilidad obtenidos en estudios internacionales, se observó que los valores no presentan grandes diferencias; validando la veracidad de los resultados obtenidos.
- La  $CL_{50-96}$  promedio para la prueba de toxicidad con el Vertimiento Crudo nos arrojó un resultado de 0.2249 % Vertimiento crudo / L.
- La determinación de las concentraciones letal media ( $CL_{50}$ ) para las sustancias de estudio {el cobre (Cu) y el cinc (Cu)} son de gran utilidad para utilizarlos como criterios de calidad ambiental.
- Se ampliara el conocimiento sobre los efectos del cobre y del cinc en los ecosistemas acuáticos lo que permitirá fortalecer los mecanismos de calidad y control ambiental sobre los vertimientos industriales.
- A pesar del limitado alcance de la información proveniente de los ensayos de toxicidad para su extrapolación a escala ambiental, los estudios con organismos en laboratorio, en condiciones controladas y estandarizadas para la evaluación de respuestas, han venido siendo las fuentes de información predominantes para la evaluación ecológica de los efectos de los contaminantes tóxicos.

- Para los análisis fisicoquímicos de los metales de estudio realizados al vertimiento crudo de la industria de cincado se obtuvieron los siguientes resultados: cinc (Zn) 550 mg Zn /L encontrando una concentración alta, cobre (Cu) 4,9 mg/L, Turbidez 14.2 NTU y un pH de 1.88 mg/ L muy ácido; los resultados de estos parámetros son debido a la naturaleza proceso productivo.
- Para el tratamiento las eficiencias obtenidas fueron las siguientes: cobre (Cu) 97% y cinc (Zn) 99% observando un alta remoción; pero debido a una carencia de tecnificación y políticas de producción más limpia en el proceso productivo no se alcanzan a remover las cargas contaminantes incumpliendo algunas de las normas para vertimientos.
- Para el tratamiento la concentración de cobre (Cu) del efluente tratado fue de 0.1 mg Cu/L cumpliendo con el Dec. 1594 de 1984 (0.1 mg Cu/L) justo, y de igual manera con la Res. 3957 de 2009 (0.25 mg Cu<sub>Total</sub>/L), 24 veces por debajo de la norma; demostrando la permisividad de la nueva norma.
- Para el tratamiento la concentración de cinc (Zn) del efluente tratado fue 0.383 mg Zn/L incumpliendo con el Dec. 1594 de 1984 (0.01 mg Cu/L) 38 veces por encima de la norma y cumpliendo con la Res. 3957 de 2009 (2 mg Zn<sub>Total</sub>/L) 5 veces por debajo de la norma; demostrando la permisividad de la nueva norma.
- La CL<sub>50 - 96</sub> que se determinó al vertimiento crudo de la industria fue de 0.2 % demostrando que es tóxico inclusive en concentraciones muy bajas.
- El índice toxicológico calculado para el vertimiento crudo fue de 3.125 representando una carga tóxica considerable.
- El índice toxicológico calculado para el vertimiento tratado fue de 0.6021 demostrando que no hay carga tóxica debido a que está fuera de rango señalando la eficiencia del tratamiento.
- Los resultados obtenidos en este estudio fueron realizados en el laboratorio bajo condiciones controladas (fotoperíodo, temperatura, oxígeno, pH, nutrientes) y no son representativos de todo el ecosistema acuático.

## 9 RECOMENDACIONES

- Para la consecución y una buena realización de un bioensayo se requiere que la especie a utilizar este disponible en el mismo sitio donde se va realizar la prueba toxicológica.
- Al realizar bioensayos se deben garantizar todas las condiciones óptimas de manutención de la especie que se esté trabajando para garantizar que las condiciones del ensayo y que sus resultados son los esperados por la exposición al tóxico y no por alguna condición externa al bioensayo.
- El recinto experimental que se destine para la realización de los bioensayos solo debe ser usado para este fin para evitar cualquier alteración externa sobre los resultados de las pruebas.
- La limpieza en los acuarios y peceras debe ser hábito para evitar interferencias en los resultados y la supervivencia de la trucha.
- Utilizar las evaluaciones toxicológicas junto con el análisis químico debido a que son herramientas complementarias para evaluar, monitorear y controlar la contaminación que pueda alterar o impactar de alguna manera el entorno y la biocenosis es una ventaja para la precisión de los diagnósticos ambientales.
- La cooperación entre la academia y la industria privada es vital para formar alianzas donde se promueva el apoyo mutuo para el desarrollo de proyectos de carácter ambiental logrando un desarrollo concertado entre los actores de la sociedad y de esta manera lograr una construcción de sociedad mas amable.
- Al saber el gran impacto que causa en el ambiente los vertimientos y emisión de contaminantes como los metales pesados (Cu y Zn) en el medio ambiente; que podrían llegar a afectar la salud humana (egocéntricamente hablando) se debe reflexionar sobre ¿como ser un consumidor responsable? Y no dejarnos influenciar por lo medios de comunicaciones masivos los cuales nos inculcan necesidades ficticias que causan el detrimento ambiental y mayor presión sobre los recursos.
- Los resultados obtenidos de los ensayos de toxicidad deben ser nuevamente evaluados a través de estudios de campo, pues en condiciones de laboratorio se obtienen unos resultados, que al ser llevados a un ecosistema real se pueden validar los valores de las dosis letales obtenidas o no.
- Para mantener las truchas arcoíris domesticas (*Oncorhynchus mykiss*) en cautiverio se requiere mucho tiempo y dedicación para controlar todas las variables que podrían llegar a afectar su bienestar.

- La ecología de poblaciones debe conectar información toxicológica con modelos poblacionales para predecir efectos a esa escala.
- Es necesario realizar frecuentes caracterizaciones fisicoquímicas al vertimiento de la industria de cincado ya que diariamente los procesos realizados varían e igualmente las características del mismo.

## 10 BIBLIOGRAFÍA

1. APHA, AWWA, WPCF, “*Métodos normalizados para análisis de aguas potables y residuales*”, Editorial Díaz de Santos, S.A, 1992, 1816 p.
2. BAGDONAS and VOSYLIENE, 2006
3. BERTULLO, Víctor H., Unidad temática de ciencias del mar, Unidad Clases teóricas de Ecología Acuática y Biología Marina, Montevideo, 7 de marzo de 2002, última actualización: 25 de marzo de 2004, [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://www.pes.fvet.edu.uy/cienmar/madid/glosario.html>
4. BESSER, John, MEBANE, Christopher, MOUNT, David, IVEY, Chris, KUNZ, James, GREER, Eugene, MAY, Thomas and INGERSOLL, Christopher. "Sensitivity of mottled sculpins (*cottus bairdi*) and rainbow trout (*onchorhynchus mykiss*) to acute and chronic toxicity of Cadmium, copper, and zinc", U.S. Geological Survey, Columbia Environmental Research Center, Columbia, Missouri, U.S. Geological Survey, Idaho Water Science Center, Boise, Idaho, U.S. Environmental Protection Agency, Midcontinent Ecology Division, Duluth, Minnesota, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 26, No. 8, pp. 1657–1665, Allen Press Publishing Service Inc 2007, USA.
5. BLANCO CACHAFEIRO, M. Carmen. La trucha: Cría industrial. Mundi-Prensa Libros, 1995, 503 p. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://books.google.com.co/books?id=wRQIRsvUbu0C&printsec=frontcover>
6. BLANCO, Adrián, El sustrato del acuario, 2005-2006 [web en línea]. Disponible en: [http://peces-tropicales.idoneos.com/index.php/El\\_sustrato](http://peces-tropicales.idoneos.com/index.php/El_sustrato)
7. BUHL & HAMILTON (1990).
8. CASTILLO, Gabriela, (ed.). 2004 Ensayos Toxicológicos Y Métodos De Evaluación De Calidad De Aguas Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, IDRC/IMTA. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: [www.idrc.ca](http://www.idrc.ca)
9. CEPIS/[OPS](#)/OMS, INCYTH,GTZ *Manual De Minimización De Residuos En La Industria De Acabado De Metales* Lima;, 1997, 72 p web disponible en línea en: <http://www.bvsde.paho.org/eswww/fulltext/gtz/manmire/mmrindam.html>
10. CETESB. *Análisis estadístico de resultados de pruebas de toxicidad aguda*. L50.17, 1992.



11. CHAPMAN (1978b).
12. CHAPMAN & STEVENS (1978).
13. "Cobre," *Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online 2008*  
<http://es.encarta.msn.com> © 1997-2008 Microsoft Corporation.  
*Reservados todos los derechos*
14. Colaboradores de Enciclopedia, Enciclopedia, Estado de oxidación,  
Artículo de la enciclopedia libre universal en español, última  
actualización: 28 abr. 2008 [publicación en línea]. Disponible desde  
Internet en:  
[http://enciclopedia.us.es/index.php/Estado\\_de\\_oxidaci%C3%B3n](http://enciclopedia.us.es/index.php/Estado_de_oxidaci%C3%B3n)
15. Colaboradores de Wikipedia. *Metal* [en línea]. Wikipedia, La  
enciclopedia libre, 2009 [fecha de consulta: 30 de julio del 2009].  
Disponible en:  
<<http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Metal&oldid=28507108>>.
16. Colaboradores de Wikipedia. Xenobiótico [en línea]. Wikipedia, La  
enciclopedia libre, 2009 [fecha de consulta: 22 de marzo del 2009].  
Disponible desde Internet en:  
<http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Xenobi%C3%B3tico&oldid=25018034>.
17. COPPOLA, Linda, Rochester Institute of Technology, 2000 [web en  
línea]. [con acceso el 19 de Enero de 2009]. Disponible desde Internet  
en: [www.gramatica.biz/gramatica/referencias-bibliograficas.html](http://www.gramatica.biz/gramatica/referencias-bibliograficas.html)
18. CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL, "*TRUCHA ARCOÍRIS  
EN COLOMBIA: estructura y costos de producción*", SISTEMA DE  
INFORMACIÓN DE PRECIOS Y MERCADOS para la producción  
acuícola y pesquera, Boletín semanal Número 13 Vol. 5, 26 Marzo- 1  
Abril 2009.
19. DAMERON, C., *Copper*.
20. DÍAZ-BÁEZ, María, BUSTOS, L., Martha, ESPINOSA, R., Adriana,  
*Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos*, Ed.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Unibiblos - U. Nal.  
Colombia, 2004. ISBN 9587013859, 9789587013856, 116 páginas.
21. DÍAZ B. Maria C., SOBRERO Cecilia, PICA G. Yolanda, Capítulo 6.  
Aseguramiento y Control de Calidad de Bioensayos, *ENSAYOS*

TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, México: IMTA (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua), 2004. Canada: IDRC (The International Development Research Centre), 2004.

22. DRUMMOND SEDGWICK, Stephen, *Cría de la Trucha*, Zaragoza: Acribia, 1988. 180 p. Pg. 3
23. ENGBRETSON, Eric /U.S. Fish and Wildlife Service. Web en línea disponible en: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/489906/rainbow-trout>
24. ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando Daphnia Pulex para la evaluación de muestras ambientales. 1997.
25. "Galvanotécnica," Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online 2009 <http://es.encarta.msn.com> © 1997-2009 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos. <http://es.encarta.msn.com/encyclopedia/761562645/galvanotecnica.html>
26. Galvanotecnia, Web en línea. [con acceso el 3 de Julio de 2009] disponible en : <http://www.sabelotodo.org/electrotecnia/galvanotecnica/galvanotecnica.html>
27. GRIJALBA, C., Angela, BERNAL, L., Javier, *Determinación de la Concentración Letal Media (CL<sub>50-96</sub>) de Cadmio Y Aluminio mediante bioensayos con trucha arcoíris "alevinos de Oncorhynchus Mykiss"*, Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá D. C., 2008, 139 p.
28. *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*, 2nd Edition. Volumes 4-5, Fishes I – II, Edited by Michael Hutchins; Dennis A Thoney, Paul V. Loiselle, and Neil Schalger. Farmington Hills, MI: Gale Group, 2003. Pg 414
29. GÜNDÜĞÜ, Ayşe, Acute toxicity of zinc and copper for Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Research article, ARAŞTIRMA MAKALESİ, Journal of Fisheries Sciences.com, 2008.
30. Howarth & Sprague, 1978.
31. ICONTEC, **Trabajos escritos: presentación y referencias bibliográficas**, Contacto Grafico, Bogotá D. C., 2008, 23 p.

32. Instituto Nacional de la Biodiversidad Costa Rica, Diccionario de la Biodiversidad, [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://atilla.inbio.ac.cr>
33. IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada) ha hecho algunos intentos de llegar a una definición desambigua de valencia. La versión actual, adoptada en 1994
34. JIMÉNEZ, Blanca E. La contaminación ambiental en México: causa, efectos y tecnología apropiada, México Limusa, Colegio de Ingenieros Ambientales de México, A. C., Instituto de Ingeniería de la UNAM y FEMISCA, 2001, 926 p.
35. KLAASSEN, Curtis D., Casarett and Doull's toxicology the basic science of poisons, seventh edition, McGraw-Hill, University of Kansas Medical Center, Kansas, 2008
36. LENNTECH, *Agua residual & purificación del aire*, Holding B.V. Rotterdamseweg, Holanda, 1998. Disponible en Internet desde: <http://www.lenntech.com/espanol/tabla-peiodica/cu.htm>
37. Mac-QUHAE, César Augusto, *Bioensayos de toxicidad aguda en neonatos de Moina macrocopa (Straus, 1820) (Crustácea: branchiopoda) expuestos a soluciones de hidróxido de sodio (NaOH)*, Universidad de Oriente, Núcleo Nueva Esparta, Venezuela, 2002.
38. MOLONY, Brett, *Environmental requirements and tolerances of Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and Brown trout (Salmo trutta) with special reference to Western Australia: A review*, Published by Department of Fisheries Perth, Western Australia November 2001, 5 p.
39. MONGE P., Luis, ALVAREZ, P., Monica, Determinación de la Concentración Letal Media (CL<sub>50-48</sub>) de cromo y cobre en *daphnia magna* para el vertimiento de una industria de galvanotecnia y propuesta de pre-tratamiento para la disminución de la toxicidad de dicho vertimiento, Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá D. C., 2008, 132 p.
40. MARI, M., José A, Caribbean Journal of Science, *Manual de Redacción Científica*, Publicación Especial No. 3, 1998-2008. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://www.caribjsci.org/epub1/introduccion.htm>
41. MATIAS, P., Carolina, DURAN, P., Alejandra, *Determinación de la CL<sub>50-96</sub> del mercurio y el cromo utilizando alevinos de trucha (Oncorhynchus Mykiss)*,


Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá D. C., 2008, 109 p.

42. MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE, FUNDES La red de soluciones empresariales, Guía de Buenas Prácticas para el Sector Galvanotécnica 2001, p 5 web en línea disponible en: [http://www1.minambiente.gov.co/prensa/publicaciones/guias\\_ambientales.htm](http://www1.minambiente.gov.co/prensa/publicaciones/guias_ambientales.htm)
43. PAGGI, Juan C. - DE PAGGI, Susana J. *Daphnia Magna: El "Canario" De Las Aguas* -Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-Instituto Nacional de Limnología (INALI)-Santo Tomé (Santa Fe).
44. PAULY, Daniel, *Ictiología*, [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://filaman.uni-kiel.de/Manual/Spanish/fishbaseichthyology00002628.htm>
45. PÉREZ CARRERA, Alejo, FONTECOBA, Cintia, GRASSI, Diego y FERNÁNDEZ CIRELLI, Alicia., "Eficiencia De Plantas Acuáticas Para La Biorremediación De Aguas Contaminadas Con Elementos Tóxicos", Buenos Aires. CONAGUA 2007 [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: <http://hydriaweb.com.ar/kb/entry/67/>
46. PERALTA, BARRETO, 2009
47. POKNIAK R, José. *Nutrición de peces*. TECNO VET; Año 3 N°2, agosto 1997  
[http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D9163%2526ISID%253D448,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9163%2526ISID%253D448,00.html)
48. QURESHI, A., A., FLOOD, K. W., THOMPSON, S. R., JANHURST, S. M., INNISS, C. S., and ROKOSH, D. A., "Comparison of a luminescent bacterial test with other bioassays for determining toxicity of pure compounds and complex effluents, " *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: fifth conference*, ASTM STP 766, J.G. PEARSON, R. B. Foster, and W. E. Bishop, Eds., American Society for Testing and Materials, 1982, pp. 179 – 195.
49. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA, *Diccionario de la lengua española*, Vigésima segunda edición, 2001. Disponible en línea < [www.rae.es](http://www.rae.es) >
50. Red Pirineos-Pesca 2001 [web en línea]. [con acceso el 14 de Diciembre de 2008].  
<<http://www.revistaaquatic.com/asociaciones/PirineosPesca/sp/index.htm>>


51. SOTO REGALADO, Eduardo, LOZANO RAMIREZ, Tomas , BARBARÍN CASTILLO, Juan Manuel, ALCALÁ RODRIGUEZ, Monica, "Remoción de metales pesados en aguas residuales mediante agentes químicos", Departamento de ingeniería química de la facultad de ciencias químicas UANL, Vol. VII, No 23, México, 2004 .
52. TONGARIRO NATIONAL TROUT CENTRE [web en línea] *Taupo for Tomorrow* <<http://www.taupofortomorrow.co.nz/fishery/trout.php>>.
53. "Trucha arco iris," Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online 2008 <http://es.encarta.msn.com> © 1997-2008 Microsoft Corporation. [http://es.encarta.msn.com/encyclopedia\\_961543635/Trucha\\_arco\\_iris.html](http://es.encarta.msn.com/encyclopedia_961543635/Trucha_arco_iris.html)
54. USEPA
55. VALVERDE, V., Juan L., PEREZ De-Gregorio C., José J., *Manual de Toxicología Medioambiental Forense*, Ed. Centro de estudios Ramón Areces, S. A., 2001, 361 p., Madrid, España
56. VELOZA M, Bernardo, TRIANA, C., Walter, "*Utilización del hongo phanerochaete chrysosporium para la remoción de cianuro en reactores de carga secuencial para la industria de recubrimientos electrolíticos (galvanotécnica)*" Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá D. C., 2005, 76 p.
57. ZAFRA, P., Angelica, RODRIGUEZ, M., Gabriela, "*Diseño de una unidad piloto compacta para la remoción de metales pesados (zn, ni, cu) presentes en agua residual de la industria challenger s.a., empleando humedales subsuperficiales con tres especies de vegetación*". Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá D. C., 2005, 120 p.

## **ANEXOS**

## **ANEXO A PROTOCOLO DE LABORATORIO ANÁLISIS PROBIT**

<b>FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	<b>LB06</b>
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL MÉTODO DE PROBIT</b>	Página 1 de 22
		Versión 0
<p><b>CONTENIDO</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Objetivo</li> <li>Definiciones</li> <li>Principio del modelo matemático</li> <li>Procedimiento</li> <li>Bibliografía</li> <li>Anexo I Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad Anexo II Representación gráfica del cálculo de la <math>CL_{50}</math>  Anexo II Determinación del Chi-cuadrado (<math>X^2</math>).  Anexo III Factor (<math>p</math>) para el Probit calculado (<math>Y</math>).</li> </ol> <p><b>1. OBJETIVO</b></p> <p>Evaluar los resultados de los ensayos por medio de un modelo estadístico</p> <p><b>2. DEFINICIONES</b></p> <p><u>Concentración:</u> La concentración es la magnitud física que expresa la cantidad de un elemento o un compuesto por unidad de volumen.</p> <p><u>Dosis:</u> Contenido de principio activo, expresado en cantidad por unidad de volumen o de peso.</p> <p><u>Efecto:</u> Consecuencia positiva o negativa, de la ocurrencia de un evento debido a una causa.</p> <p><u>Modelo:</u> Conceptualización teórica 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.</p>		



<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 2 de 22
		Versión 0

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 para este caso de estudio 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 organismos.

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:

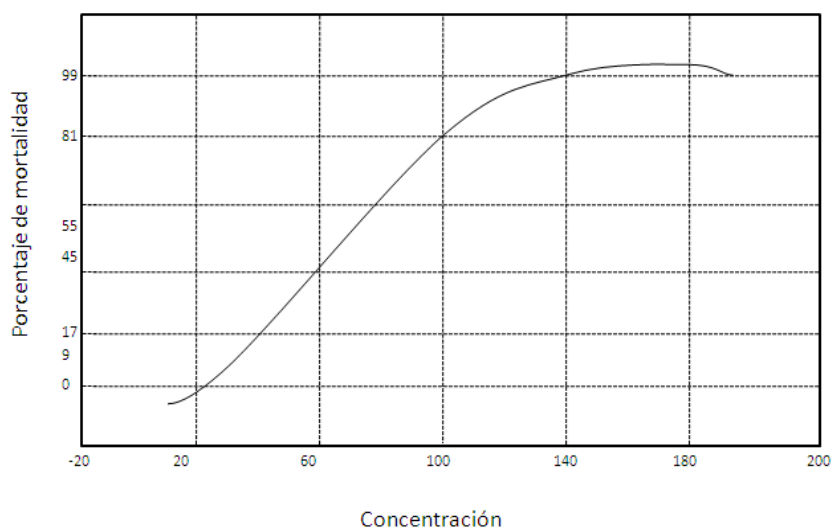
- Concentración de la sustancia o dosis ( $d$ ).
- Número de individuos ( $n$ ).
- Número de organismos muertos o afectados ( $r$ ).
- Porcentaje de efecto ( $p$ ).

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

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 ( $X = \log_{10}(d)$ ), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea normal, como se muestra en la figura 1; de esta manera la distribución de  $p$  vs.  $X$  será de tipo normal

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 3 de 22
		Versión 0



**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:

$$y \text{ (expresado en unidades Probit)} = z + 5$$

$$z = \text{Variable normal estándar} = z_0 \text{ tal que la Prob}(z \leq z_0) = p$$

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

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

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

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 4 de 22
		Versión 0

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  $CL_{50-96}$  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 *Trucha arco iris* (*Oncorhynchus mykiss*) se debe construir una tabla que contenga los siguientes datos:

- Concentración de la sustancia ensayada en %
- Logaritmo en base 10 de las concentraciones ( $x$ )
- Numero 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 del anexo A con el porcentaje de mortalidad observada en cada una de las concentraciones.

<b>Tabla 1: Cálculo de la CL50 por el método Probit</b>						
Concentración del agente tóxico (%)	Log10 de la concentración ( $X$ )	Núm. de organismos ( $N$ )	Núm. de muertos ( $r$ )	Porcentaje de mortalidad ( $P$ )	Probit empírico ( $PE$ )	Probit calculado ( $Y$ )

A partir de estos datos se elabora una gráfica en papel cuadrículado, colocando en el eje  $x$  el logaritmo de las concentraciones y en el eje  $Y$  el Probit empírico (figura 1 Anexo B), 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  $CE_{50}$  o  $CL_{50}$ .

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 5 de 22
		Versión 0

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 cuadrulado, colocando en el eje  $x$  el logaritmo de las concentraciones y en el eje  $Y$  el Probit empírico (figura 1 Anexo B), 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  $CE_{50}$  o  $CL_{50}$ .

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,

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 6 de 22
		Versión 0

reemplazando 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:

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

Una vez calculados se colocan en la columna correspondiente de la tabla 1.

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 2 (anexo C) 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:

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

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 7 de 22
		Versión 0

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 realiza la siguiente tabla 3 para el cálculo del intervalo de confianza:

Tabla 3. Valores de $X^2$ para una $P=0.05$ .	
Grados de libertad( $n$ )	$X^2$

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:

$$EE \log_{10} CL_{50} = \frac{1}{\sqrt{Np}} \sqrt{\frac{1}{Np} + \frac{(m-x)^2}{Np(x-x^2)}}$$

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 4 del Anexo C 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  $Np$ ,  $Npx$  y  $Npx^2$
- 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.

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 8 de 22
		Versión 0

- Producto  $Npx^2$  resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de la concentración con su respectiva sumatoria.

Con todos los datos se obtiene la siguiente tabla 5:

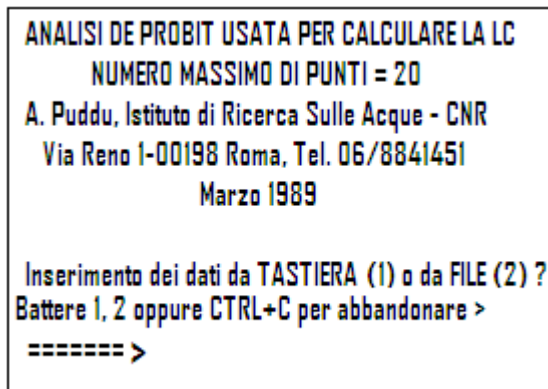
Tabla 5. Cálculo del error estándar del log <sub>10</sub> CL <sub>50</sub> .						
Log 10 de la concentración (x)	Núm. De organismos (N)	Probit calculado (Y)	Factor (p)	Producto (Np)	Producto (Npx)	Producto (Npx <sup>2</sup> )

Al tener la CL<sub>50</sub> y no olvidando que el intervalo de confianza es 95% tendremos la concentración letal con sus límites inferior y superior respectivamente.

Para el desarrollo de esta investigación se adquirió el Software de Probit, el cual determinar la CL<sub>50-96</sub> y los límites de confianza de forma mas rápida, 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 quedaran registrados varios archivos; se dirige al archivo con nombre PROBFIS2 y se da doble clic donde se abre una ventana de la siguiente manera:



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:

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 10 de 22
		Versión 0

```

C:\DOCUME-1\41031047\ESCRIT-1\probit\PROBFIS2.EXE

ANALISI DEI PROBIT USATA PER CALCOLARE 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:

```

C:\DOCUME-1\41031047\ESCRIT-1\probit\PROBFIS2.EXE

ANALISI DEI PROBIT USATA PER CALCOLARE 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 risultati

===>      Zn<1>10_MAR_09_

```

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

:



<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 11 de 22
		Versión 0

```

C:\DOCUME~1\41031047\ESCRIT-1\probit\PROBFIS2.EXE
ANALISI DEI PROBIT USATA PER CALCOLARE 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 risultati
===> Zn<1>10_MAR_09
NUMERO DI CONCENTRAZIONI (escluso il controllo) = 5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO = 1
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO = 20

```

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

```


C:\DOCUME~1\41031047\ESCRIT-1\probit\PROBFIS2.EXE
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 risultati
===> Zn<1>10_MAR_09
NUMERO DI CONCENTRAZIONI (escluso il controllo) = 5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO = 1
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO = 20
==> INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. INFERIORE
CONCENTRAZIONE = 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 designo a esa batería donde dará los resultaos de la CL50 son los limites de confianza

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

## 5. EJEMPLO

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT	Página 12 de 22
		Versión 0

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

**Ejemplo de cálculo de la CL<sub>50</sub> 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 empírico (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 de anexo A con el porcentaje de mortalidad observada en cada una de las concentraciones.

A partir de estos datos se elabora una gráfica en papel cuadrículado, colocando en el eje x el logaritmo de las concentraciones y en el eje Y el Probit empírico (figura 1 Anexo B), 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:

$x_m = 0.8$

$PE = 3.30$

$x_M = 2.0$


$PE = 5.55$

Si:

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

Siendo:

*xM* = Mayor concentración.

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 13 de 22
		Versión 0

$x_m$  = 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 al Anexo E.

Se remplaza en la ecuación los valores:

$$n = K - 2$$


$$n = 5 - 2 = 3$$

En la tabla 4 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.

<b>Grados de libertad(n)</b>	<b><math>x^2</math></b>
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

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 14 de 22
		Versión 0

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:

$$EE \log_{10} CL_{50} = \frac{1}{\sqrt{N}} \sqrt{\frac{1}{SP} + \frac{(m-x)^2}{SP(x-x^2)}}$$

Así se construye la grafica:

**Cálculo del error estándar del log<sub>10</sub> CL<sub>50</sub>.**


Log 10 de la concentración (x)	Núm. de organismos (M)	Probit calculado (Y)	Factor (p)	Producto (Np)	Producto (Npx)	Producto (Npx <sup>2</sup> )
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

**Cálculo del error estándar del log<sub>10</sub> CL<sub>50-96</sub>.**

Log 10 de la concentración (x)	Núm. de organismos (M)	Probit calculado (Y)	Factor (p)	Producto (Np)	Producto (Npx)	Producto (Npx <sup>2</sup> )
0,1	20					
0,5	20					
1	20					
1,5	20					
2	20					
			(Σ)'			

En este caso sería:

S= 0.533

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 15 de 22
		Versión 0

$$x = \sum Npx / \sum Np = 1.527$$

$$m = 1.72$$

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

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

Sustituyendo estos valores en la expresión:

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

Así, el EE de CL50 será:

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

$$\log 10 = 2.3026$$

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

$$10^m = 51.97$$

Sustituyendo los valores en la expresión:

$$EECL_{50} = 32.96$$

Como la:

$$CL_{50} = 51.97$$

$$\text{Intervalo de confianza} = m \pm EECL_{50}$$

$$al 95\% = 51.97 + 32.46 = 84.43$$

$$51.97 - 32.46 = 37.14$$

Por tanto, la CL50 con los respectivos límites será:

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

Utilizzando el Software con los datos de el ejemplo anterior seria:

```
ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCOLARE 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 risultati
===== > B
```

```
NUMERO DI CONCENTRAZIONI (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:

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 16 de 22
		Versión 0

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI osservati	N.MORTI 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.

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT	Página 17 de 22
		Versión 0

6. BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.metodologia probit.htm>
- [http://www.unizar.es/guiar/1/Accident/An\\_conse/Probit.htm](http://www.unizar.es/guiar/1/Accident/An_conse/Probit.htm)

ANEXO A

**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.

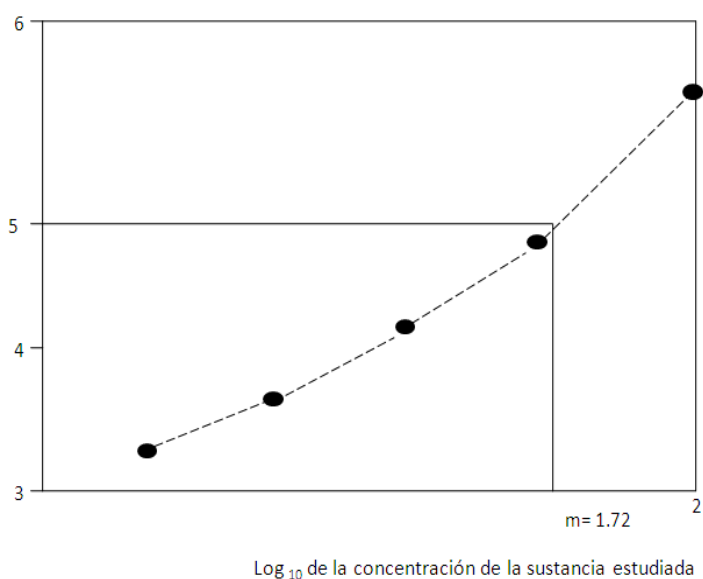
Primera Revisión:	Pedro Miguel Escobar Malaver
Segunda Revisión:	Rubén Darío Londoño



<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT</b>	Página 18 de 22
		Versión 0

## 7. ANEXOS

### ANEXO B




**Figura 1. Representación gráfica del cálculo de la CL50**

### ANEXO D


**Tabla 4. 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

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <div>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</div> <div>Bogotá - Colombia</div>	LB06
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT	Página 20 de 22
		Versión 0

ANEXO C

Tabla 2. 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 (r-NP')2 <div>NP'(1-P')</div>


FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB06
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS, MEDIANTE EL METODO DE PROBIT	Página 22 de 22
		Versión 0


ANEXO E

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 (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

## **ANEXO B. PROTOCOLO LABORATORIO ANÁLISIS VARIANZA**

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB07
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA)</b>	Página 1 de 7
		Versión 0
<b>CONTENIDO</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>Objetivo</li> <li>Definiciones</li> <li>Principio del modelo</li> <li>Procedimiento</li> <li>Ejemplo</li> <li>Bibliografía</li> <li>Anexo A</li> </ol> <p><b>1. OBJETIVO</b></p> <p>Comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos.</p> <p><b>2. DEFINICIONES</b></p> <p><u>Variable</u>: 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.</p> <p><u>Variable Dependiente</u>: características de la realidad que se ven determinadas o que dependen del valor que asuman otros fenómenos o variables independientes.</p> <p><u>Variables independientes</u>: Los cambios en los valores de este tipo de variables determinan cambios en los valores de otra (variable dependiente).</p> <p><u>Grados de libertad</u>: 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.</p> <p><u>Hipótesis</u>: Las hipótesis son proposiciones provisionales y exploratorias sobre la veracidad o falsedad de un <u>concepto</u>, una <u>teoría</u> o un <u>modelo</u> con un alcance de trabajo de investigación por simulación y con métodos de campo o de laboratorio</p> <p><b>1. PRINCIPIO DEL MODELO</b></p> <p>El análisis de varianza parte de algunos supuestos que han de cumplirse:</p>		

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB07
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA)	Página 2 de 7
		Versión 0

- 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).

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

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.

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

1. PROCEDIMIENTO

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


<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB07
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA)</b>	Página 3 de 7
		Versión 0

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 alterna

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_n$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2, \text{ para algún par}$$

4.4. El tratamiento de análisis de varianza se haría de acuerdo a las ecuaciones dadas en la tabla 2:

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
- $V_1: a - 1$
- $V_2: N - a$

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB07
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA)</b>	Página 5 de 7
		Versión 0

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	$SS_T$	$N - 1$			

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

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

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

$$SS_T = \sum_{i=1}^{a=5} \times \sum_{j=1}^{n=5} Y_{ij}^2 \times \frac{\bar{Y}^2}{N}$$

4.7. Para obtener el  $SS_E$ :

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



<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB07
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA)</b>	Página 6 de 7
		Versión 0

4.5. Al obtener el  $F_c$  lo comparamos el  $F_t$ , el cual se encuentra en el libro [Diseño y análisis de experimentos Douglas C. Montgomery](#) (anexo A), para refutar o aceptar alguna hipótesis,

$F_c > F_t$  Se rechaza la  $H_0$

esto se hace así:

$F_c < F_t$  Se acepta la  $H_0$

#### 1. EJEMPLO:

De una prueba de toxicidad con trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) que se realizó en el laboratorio, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 1. Formato de datos de pruebas de toxicidad registro tomado a las 96 h.

CONCENTRACIÓN NOMINAL	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	3	1	1	2	35	7
1	2	3	5	5	75	15
1,5	5	5	5	5	100	20
2	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	0	0	0	0

De la cual partimos de dos hipótesis así:

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

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

Teniendo en cuenta que tenemos:

Tratamientos:	6
Observaciones:	4
Total:	24

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

Tabla 2. Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fc	Probabilidad	Valor crítico para Ft
Entre grupos	108,333333	5	21,6666667	41,0526316	3,17077E-09	2,77285315
Dentro de los grupos	9,5	18	0,52777778			
Total	117,833333	23				


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

## 2. BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.estadistico.com/arts.html?20011022>
- [http://www.udc.es/dep/mate/estadistica2/sec3\\_7.html](http://www.udc.es/dep/mate/estadistica2/sec3_7.html)
- [http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis\\_de\\_varianza](http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis_de_varianza)

Primera Revisión: Pedro Miguel Escobar Malaver

Segunda Revisión: Rubén Darío Londoño

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB07
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>ANÁLISIS VARIANZA (ANOVA)</b>	Página 7 de 7
		Versión 0

### 3. ANEXOS ANEXO A

Fuente: Diseño y análisis  
de experimentos Douglas  
C. Montgomery

IV. Puntos porcentuales de la distribución $F$ (continuación)																				
		$F_{0.10, \nu_1, \nu_2}$																		
$\nu_2 \backslash \nu_1$	Grados de libertad del numerador ( $\nu_1$ )																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$	
1	39.86	49.50	53.59	55.83	57.24	58.20	58.91	59.44	59.86	60.19	60.71	61.22	61.74	62.00	62.26	62.53	62.79	63.06	63.33	
2	8.53	9.00	9.16	9.24	9.29	9.33	9.35	9.37	9.38	9.39	9.41	9.42	9.44	9.45	9.46	9.47	9.47	9.48	9.49	
3	5.54	5.46	5.39	5.34	5.31	5.28	5.27	5.25	5.24	5.23	5.22	5.20	5.18	5.18	5.17	5.16	5.15	5.14	5.13	
4	4.54	4.32	4.19	4.11	4.05	4.01	3.98	3.95	3.94	3.92	3.90	3.87	3.84	3.83	3.82	3.80	3.79	3.78	3.76	
5	4.06	3.78	3.62	3.52	3.45	3.40	3.37	3.34	3.32	3.30	3.27	3.24	3.21	3.19	3.17	3.16	3.14	3.12	3.10	
6	3.78	3.46	3.29	3.18	3.11	3.05	3.01	2.98	2.96	2.94	2.90	2.87	2.84	2.82	2.80	2.78	2.76	2.74	2.72	
7	3.59	3.26	3.07	2.96	2.88	2.83	2.78	2.75	2.72	2.70	2.67	2.63	2.59	2.58	2.56	2.54	2.51	2.49	2.47	
8	3.46	3.11	2.92	2.81	2.73	2.67	2.62	2.59	2.56	2.54	2.50	2.46	2.42	2.40	2.38	2.36	2.34	2.32	2.29	
9	3.36	3.01	2.81	2.69	2.61	2.55	2.51	2.47	2.44	2.42	2.38	2.34	2.30	2.28	2.25	2.23	2.21	2.18	2.16	
10	3.29	2.92	2.73	2.61	2.52	2.46	2.41	2.38	2.35	2.32	2.28	2.24	2.20	2.18	2.16	2.13	2.11	2.08	2.06	
11	3.23	2.86	2.66	2.54	2.45	2.39	2.34	2.30	2.27	2.25	2.21	2.17	2.12	2.10	2.08	2.05	2.03	2.00	1.97	
12	3.18	2.81	2.61	2.48	2.39	2.33	2.28	2.24	2.21	2.19	2.15	2.10	2.06	2.04	2.01	1.99	1.96	1.93	1.90	
13	3.14	2.76	2.56	2.43	2.35	2.28	2.23	2.20	2.16	2.14	2.10	2.05	2.01	1.98	1.96	1.93	1.90	1.88	1.85	
14	3.10	2.73	2.52	2.39	2.31	2.24	2.19	2.15	2.12	2.10	2.05	2.01	1.96	1.94	1.91	1.89	1.86	1.83	1.80	
15	3.07	2.70	2.49	2.36	2.27	2.21	2.16	2.12	2.09	2.06	2.02	1.97	1.92	1.90	1.87	1.85	1.82	1.79	1.76	
16	3.05	2.67	2.46	2.33	2.24	2.18	2.13	2.09	2.06	2.03	1.99	1.94	1.89	1.87	1.84	1.81	1.78	1.75	1.72	
17	3.03	2.64	2.44	2.31	2.22	2.15	2.10	2.06	2.03	2.00	1.96	1.91	1.86	1.84	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69	
18	3.01	2.62	2.42	2.29	2.20	2.13	2.08	2.04	2.00	1.98	1.93	1.89	1.84	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69	1.66	
19	2.99	2.61	2.40	2.27	2.18	2.11	2.06	2.02	1.98	1.96	1.91	1.86	1.81	1.79	1.76	1.73	1.70	1.67	1.63	
20	2.97	2.59	2.38	2.25	2.16	2.09	2.04	2.00	1.96	1.94	1.89	1.84	1.79	1.77	1.74	1.71	1.68	1.64	1.61	
21	2.96	2.57	2.36	2.23	2.14	2.08	2.02	1.98	1.95	1.92	1.87	1.83	1.78	1.75	1.72	1.69	1.66	1.62	1.59	
22	2.95	2.56	2.35	2.22	2.13	2.06	2.01	1.97	1.93	1.90	1.86	1.81	1.76	1.73	1.70	1.67	1.64	1.60	1.57	
23	2.94	2.55	2.34	2.21	2.11	2.05	1.99	1.96	1.92	1.89	1.84	1.80	1.74	1.72	1.69	1.66	1.62	1.59	1.55	
24	2.93	2.54	2.33	2.19	2.10	2.04	1.98	1.94	1.91	1.88	1.83	1.78	1.73	1.70	1.67	1.64	1.61	1.57	1.53	
25	2.92	2.53	2.32	2.18	2.09	2.02	1.97	1.93	1.89	1.87	1.82	1.77	1.72	1.69	1.66	1.63	1.59	1.56	1.52	
26	2.91	2.52	2.31	2.17	2.08	2.01	1.96	1.92	1.88	1.86	1.81	1.76	1.71	1.68	1.65	1.61	1.58	1.54	1.50	
27	2.90	2.51	2.30	2.17	2.07	2.00	1.95	1.91	1.87	1.85	1.80	1.75	1.70	1.67	1.64	1.60	1.57	1.53	1.49	
28	2.89	2.50	2.29	2.16	2.06	2.00	1.94	1.90	1.87	1.84	1.79	1.74	1.69	1.66	1.63	1.59	1.56	1.52	1.48	
29	2.89	2.50	2.28	2.15	2.06	1.99	1.93	1.89	1.86	1.83	1.78	1.73	1.68	1.65	1.62	1.58	1.55	1.51	1.47	
30	2.88	2.49	2.28	2.14	2.03	1.98	1.93	1.88	1.85	1.82	1.77	1.72	1.67	1.64	1.61	1.57	1.54	1.50	1.46	
40	2.84	2.44	2.23	2.09	2.00	1.93	1.87	1.83	1.79	1.76	1.71	1.66	1.61	1.57	1.54	1.51	1.47	1.42	1.38	
60	2.79	2.39	2.18	2.04	1.95	1.87	1.82	1.77	1.74	1.71	1.66	1.60	1.54	1.51	1.48	1.44	1.40	1.35	1.29	
120	2.75	2.35	2.13	1.99	1.90	1.82	1.77	1.72	1.68	1.65	1.60	1.55	1.48	1.45	1.41	1.37	1.32	1.26	1.19	
$\infty$	2.71	2.30	2.08	1.94	1.85	1.77	1.72	1.67	1.63	1.60	1.55	1.49	1.42	1.38	1.34	1.30	1.24	1.17	1.00	

## **ANEXO C. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO ( $K_2Cr_2O_7$ )**

## ENSAYO 1

PRUEBA DE SENSIBILIDAD K <sub>2</sub> CR <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (4/FEB/2007)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	1	1	0	2	10
40	0	1	0	2	3	15
60	3	3	2	0	8	40
80	1	2	5	1	9	45
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	66	5	13,2	11,59	4,06 E-05	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	20,5	18	1,14			
<b>Total</b>	86,5	23				

## ENSAYO 2

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (05/NOV/2007)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	2	2	1	0	5	25
60	2	3	1	1	7	35
80	5	4	1	3	13	65
100	4	4	5	5	18	90
CONTROL	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	64,71	5	12,94	15,28	6,21 E-06	2,77
Dentro de los grupos	15,25	18	0,85			
Total	79,96	23				

### ENSAYO 3

PRUEBA DE SENSIBILIDAD K <sub>2</sub> CR <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (21/NOV/2007)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	1	1	5	25
60	2	1	3	2	8	40
80	5	4	3	3	15	75
100	5	5	5	4	19	95
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	76,71	5	15,34	44,18	1,74 E-09	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	6,25	18	0,35			
<b>Total</b>	82,96	23				

## ENSAYO 4

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (08/ENE/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	0	1	4	20
60	3	1	2	1	7	35
80	3	2	5	4	14	70
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	80,88	5	16,16	29,86	4,09 E-08	2,77
Dentro de los grupos	9,75	18	0,54			
Total	90,63	23				



## ENSAYO 5

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (14/ENE/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	1	0	1	3	15
60	3	2	1	1	7	35
80	5	5	4	5	19	95
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	0	1	0	1	5

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	100,83	5	20,17	72,6	2,71 E-11	2,77
Dentro de los grupos	5	18	0,28			
Total	105,83	23				

## ENSAYO 6

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (21/ENE/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	0	0	3	2	5	25
60	4	3	3	2	12	60
80	4	5	4	3	16	80
100	4	5	5	5	19	95
<b>CONTROL</b>	0	1	1	0	2	10

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	76	5	15,2	21,89	4,50 E-07	2,77
Dentro de los grupos	12,5	18	0,69			
<b>Total</b>	<b>88,5</b>	<b>23</b>				

## ENSAYO 7

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (04/FEB/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	0	0	1	0	1	5
60	3	2	1	1	7	35
80	5	3	4	3	15	75
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	2	0	0	2	10

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	66	5	13,2	11,59	4,06 E-05	2,77
Dentro de los grupos	20,5	18	1,14			
Total	86,5	23				

## ENSAYO 8

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (11/FEB/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	0	0	1	0	1	5
60	3	2	1	1	7	35
80	5	3	4	3	15	75
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	2	0	0	2	10

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	85,38	5	17,08	33,23	1,75 E-08	2,77
Dentro de los grupos	9,25	18	0,51			
Total	94,63	23				

## ENSAYO 9

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (25/FEB/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	0	2	1	1	4	20
60	3	2	3	2	10	50
80	5	2	4	4	15	75
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	85,21	5	17,04	39,58	4,27 E-09	2,77
Dentro de los grupos	7,75	18	0,43			
Total	92,96	23				

## ENSAYO 10

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (3/MAR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	3	2	1	0	6	30
60	3	5	4	1	13	65
80	5	4	3	4	16	80
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	1	0	0	2	3	15

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	77,33	5	15,47	15,05	6,90 E-06	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	18,5	18	1,03			
<b>Total</b>	95,83	23				

## ENSAYO 11

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (10/MAR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	0	1	4	20
60	1	2	2	3	8	40
80	4	3	3	4	14	70
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	80,83	5	16,17	58,2	1,76 E-10	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	5	18	0,28			
<b>Total</b>	85,83	23				

## ENSAYO 12

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (25/MAR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	0	0	3	15
60	2	3	3	2	10	50
80	4	4	3	3	14	70
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	84,21	5	16,84	63,82	8,08 E-11	2,77
Dentro de los grupos	4,75	18	0,26			
<b>Total</b>	88,96	23				



### ENSAYO 13

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (31/MAR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	1	1	0	3	15
60	2	2	3	0	7	35
80	3	5	3	4	15	75
100	5	5	4	5	19	95
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	80,3333333	5	16,0666667	32,1333333	2,2871E-08	2,77285315
<b>Dentro de los grupos</b>	9	18	0,5			
<b>Total</b>	89,3333333	23				

## ENSAYO 14

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (07/ABR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	2	0	2	10
40	2	1	1	0	4	20
60	3	2	3	2	10	50
80	4	5	3	3	15	75
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	1	1	0	2	10

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	70,21	5	14,04	25,92	1,24 E-07	2,77
Dentro de los grupos	9,75	18	0,54			
Total	79,96	23				

## ENSAYO 15

PRUEBA DE SENSIBILIDAD K <sub>2</sub> CR <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (18/ABR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	1	0	4	20
60	2	3	3	1	9	45
80	5	5	3	0	13	65
100	5	5	5	5	20	100
CONTROL	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	78,33	5	15,67	13,12	1,78 E-05	2,77
Dentro de los grupos	21,5	18	1,19			
Total	99,83	23				

## ENSAYO 16

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (21/ABR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	2	1	2	0	5	25
60	2	2	4	3	11	55
80	4	3	3	4	14	70
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	81,33	5	16,27	45,05	1,48 E-09	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	6,5	18	0,36			
<b>Total</b>	87,83	23				

## ENSAYO 17

PRUEBA DE SENSIBILIDAD K2CR2O7 (28/ABR/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	1	1	2	5	25
60	3	3	4	2	12	60
80	4	5	3	5	17	85
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	105,33	5	21,07	58,34	1,72 E-10	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	6,5	18	0,36			
<b>Total</b>	111,83	23				

## ENSAYO 18

PRUEBA DE SENSIBILIDAD K2CR2O7 (6/MAY/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	2	1	6	30
60	2	4	3	0	9	45
80	5	2	3	5	15	75
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	87,38	5	17,48	14,14	1,07 E-05	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	22,25	18	1,24			
<b>Total</b>	109,63	23				

## ENSAYO 19

PRUEBA DE SENSIBILIDAD $K_2CR_2O_7$ (12/MAY/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	1	0	1	3	15
60	2	3	2	2	9	45
80	3	5	5	5	18	90
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	99,33	5	19,87	79,47	1,25 E-11	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	4,5	18	0,25			
<b>Total</b>	103,83	23				

## ENSAYO 20

PRUEBA DE SENSIBILIDAD K2CR2O7 (01/DIC/08)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				Número total organismos muertos	% Mortalidad obtenido
	A	B	C	D		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	0	2	1	4	20
60	3	2	3	2	10	50
80	4	5	4	4	17	85
100	5	5	5	5	20	100
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	92,88	5	18,58	89,16	4,67 E-12	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	3,75	18	0,21			
<b>Total</b>	96,63	23				



**ANEXO D. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON  
COBRE (Cu) UTILIZANDO SULFATO DE  
COBRE PENTAHIDRATADO ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )**

## PRUEBAS PRELIMINARES

### ENSAYO 1

PRUEBA PRELIMINAR DE Cu (4/FEB/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	5	5	5	5	100	20
0,5	5	5	5	5	100	20
1	5	5	5	5	100	20
3	5	5	5	5	100	20
5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### ENSAYO 2

PRUEBA PRELIMINAR DE Cu (20/FEB/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	0	1	5	1
0,03	0	1	0	0	5	1
0,05	2	0	1	0	15	3
0,07	4	0	3	4	55	11
0,1	4	5	5	0	70	14
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### ENSAYO 3

PRUEBA PRELIMINAR DE Cu (08/ABR/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,05	2	1	0	0	15	3
0,06	1	3	4	2	50	10
0,07	3	1	4	4	60	12
0,09	4	3	4	3	70	14
0,1	5	5	4	4	90	18
<b>CONTROL</b>	0	0	1	0	5	1

### ENSAYO 4

PRUEBA PRELIMINAR DE Cu (30/SEP/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	0	0	0	0
0,05	2	1	1	1	25	5
0,07	3	1	3	4	55	11
0,1	4	5	4	3	80	16
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	1	0	5	1

## PRUEBAS DEFINITIVAS

### ENSAYO 1

PRUEBA DEFINITIVA de Cu (07/OCT/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	1	0	0	5	1
0,05	1	2	0	1	20	4
0,07	3	1	2	4	50	10
0,1	4	3	4	3	70	14
0,15	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	1	0	5	1

### Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	74,33	5	14,87	28,17	6,47 E-08	2,77
Dentro de los grupos	9,5	18	0,53			
Total	83,83	23				

## ENSAYO 2

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu(1) (14/OCT/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	1	1	0	10	2
0,05	2	0	1	2	25	5
0,07	2	5	2	5	70	14
0,1	4	4	5	5	90	18
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	92,21	5	18,44	24,14	2,14 E-07	2,77
Dentro de los grupos	13,75	18	0,76			
<b>Total</b>	105,96	23				

### ENSAYO 3

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (2) (14/OCT/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	0	1	5	1
0,05	2	3	1	0	30	6
0,07	3	1	2	5	55	11
0,1	5	4	2	3	70	14
0,15	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	75,83	5	15,17	14	1,14 E-05	2,77
Dentro de los grupos	19,5	18	1,08			
Total	95,33	23				

## ENSAYO 4

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu(1) (20/OCT2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	1	0	5	1
0,05	2	0	1	0	15	3
0,07	3	2	1	1	35	7
0,1	5	3	4	5	85	17
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	91	5	18,2	36,4	8,42 E-09	2,77
Dentro de los grupos	9	18	0,5			
<b>Total</b>	100	23				

## ENSAYO 5

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (2) (20/OCT2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	0	0	0	0
0,05	2	0	3	0	25	5
0,07	3	2	1	3	45	9
0,1	4	3	4	5	80	16
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	86,33	5	17,27	27,03	8,94 E-08	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	11,5	18	0,64			
<b>Total</b>	97,83	23				



## ENSAYO 6

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (1) (19/NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	1	0	0	0	5	1
0,05	1	0	0	2	15	3
0,07	1	4	2	0	35	7
0,1	5	5	4	3	85	17
0,15	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	91	5	18,2	21,84	4,56 E-07	2,77
Dentro de los grupos	15	18	0,83			
Total	106	23				

## ENSAYO 7

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (2) (19/NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	0	1	5	1
0,05	0	1	2	0	15	3
0,07	4	0	2	1	35	7
0,1	3	5	4	5	85	17
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	91	5	18,2	21,84	4,58 E-07	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	15	18	0,83			
<b>Total</b>	106	23				

## ENSAYO 8

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu(1) (25/NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	1	0	0	0	5	1
0,05	2	1	0	0	15	3
0,07	3	2	1	1	35	7
0,1	5	3	5	4	85	17
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	91	5	18,2	36,4	8,42 E-09	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	9	18	0,5			
<b>Total</b>	100	23				

## ENSAYO 9

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (2)(25/NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	1	1	0	10	2
0,05	1	2	1	0	20	4
0,07	2	3	3	1	45	9
0,1	4	4	4	3	75	15
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	91	5	18,2	21,84	4,58 E-07	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	15	18	0,83			
<b>Total</b>	106	23				

## ENSAYO 10

PRUEBA DEFINITIVA DE Cu (27 /NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	1	0	0	0	5	1
0,05	2	2	0	0	20	4
0,07	3	3	2	3	55	11
0,1	3	4	4	4	75	15
0,15	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	82,38	5	16,48	47,45	9,65 E-10	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	6,25	18	0,35			
<b>Total</b>	88,63	23				

## **ANEXO E. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON CLORURO DE CINC ( $\text{ZnCl}_2$ )**

## PRUEBAS PRELIMINARES

### ENSAYO 1

PRUEBA PRELIMINAR DE Zn (27/NOV/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
2	5	5	5	5	100	20
4	5	5	5	5	100	20
6	5	5	5	5	100	20
8	5	5	5	5	100	20
10	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### ENSAYO 2

PRUEBA PRELIMINAR DE Zn (03/DIC/2008)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	3	1	1	2	35	7
1	2	3	5	5	75	15
1,5	5	5	5	5	100	20
2	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### ENSAYO 3

PRUEBA PRELIMINAR DE Zn (03/FEB/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	1	5	1
0,5	0	2	1	0	15	3
1	4	5	5	5	95	19
1,5	5	5	5	5	100	20
2	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### ENSAYO 4

PRUEBA PRELIMINAR DE Zn (1) (24/FEB/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	1	0	1	10	2
0,5	1	3	2	2	40	8
1	5	5	5	5	100	20
1,5	5	5	5	5	100	20
2	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0



## ENSAYO 5

PRUEBA PRELIMINA DE Zn (2) (24/FEB/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	1	0	5	1
0,5	2	2	1	3	40	8
1	5	4	5	5	95	19
1,5	5	5	5	5	100	20
2	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## PRUEBAS DEFINITIVAS

### ENSAYO 1

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (1) (03/MAR/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	2	1	0	0	15	3
0,7	1	2	0	1	20	4
1	5	4	3	4	80	16
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	84,5	5	16,9	55,31	2,69 E-10	2,77
<b>Within Groups</b>	5,5	18	0,31			
<b>Total</b>	90	23				

## ENSAYO 2

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn(2) (03/MAR/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	0	1	0	2	15	3
0,7	4	1	2	0	35	7
1	5	3	4	5	85	17
1,5	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
94,7083333	5	18,94	23,93	2,29 E-07	2,77
14,25	18	0,79			
108,958333	23				

### ENSAYO 3

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (1) (10/MAR/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	0	1	1	1	15	3
0,7	1	1	2	3	35	7
1	3	3	4	4	70	14
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	1	5	1

### Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	78,83	5	15,77	56,76	2,17 E-10	2,77
<b>Within Groups</b>	5	18	0,28			
<b>Total</b>	83,83	23				

## ENSAYO 4

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (2) (10/MAR/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	0	0	2	1	15	3
0,7	2	1	0	4	35	7
1	2	5	5	4	80	16
1,5	5	5	5	5	100	20
CONTROL	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	90,33	5	18,07	18,58	1,52 E-06	2,77
Dentro de los grupos	17,5	18	0,97			
Total	107,83	23				

## ENSAYO 5

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (1) (17 MAR 2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	1	1	2	1	25	5
0,7	3	2	1	4	50	10
1	4	5	3	5	85	17
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	90,83	5	18,17	38,47	5,38 E-09	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	8,5	18	0,47			
<b>Total</b>	99,33	23				

## ENSAYO 6

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (2) (17 MAR 2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	2	2	1	1	30	6
0,7	2	4	1	4	55	11
1	3	5	4	5	85	17
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Entre grupos</b>	90	5	18	30,86	3,16 E-08	2,77
<b>Dentro de los grupos</b>	10,5	18	0,58			
<b>Total</b>	100,5	23				

## ENSAYO 7

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (1) (31 MAR 2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	1	2	3	1	35	7
0,7	4	2	4	2	60	12
1	5	4	4	3	80	16
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	75,83	5	15,17	49,64	6,64 E-10	2,77
<b>Within Groups</b>	5,5	18	0,31			
<b>Total</b>	81,33	23				



## ENSAYO 8

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (2) (31 MAR 2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	1	1	3	1	30	6
0,7	3	4	4	2	65	13
1	5	4	5	3	85	17
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	80,21	5	16,04	33	1,8 E-08	2,77
<b>Within Groups</b>	8,75	18	0,49			
<b>Total</b>	88,96	23				

## ENSAYO 9

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (21 ABR 2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	1	1	2	1	25	5
0,7	1	2	4	2	45	9
1	4	4	5	3	80	16
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	1	5	1

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	82,38	5	16,48	35,95	9,32 E- 09	2,77
<b>Within Groups</b>	8,25	18	0,46			
<b>Total</b>	90,63	23				

## ENSAYO 10

PRUEBA DEFINITIVA DE Zn (28 ABR 2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (ppm)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5	2	1	0	1	20	4
0,7	3	4	3	1	55	11
1	5	4	3	3	75	15
1,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	86,33	5	17,27	32,72	1,98 E-08	2,77
<b>Within Groups</b>	9,5	18	0,53			
<b>Total</b>	95,83	23				

## **ANEXO F. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO CRUDO**

## PRUEBAS PRELIMINARES

### ENSAYO 1

PRUEBA PRELIMINAR del Vertimiento (11/MAY/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
1	5	5	5	5	100	20
5	5	5	5	5	100	20
10	5	5	5	5	100	20
20	5	5	5	5	100	20
50	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### ENSAYO 2

PRUEBA PRELIMINAR del Vertimiento (19/MAY/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,0001	1	0	2	1	20	4
0,001	3	2	3	3	55	11
0,01	3	5	4	5	85	17
0,1	5	5	5	5	100	20
0,5	5	5	5	5	100	20
1	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	2	1	0	1	20	4

### ENSAYO 3

PRUEBA PRELIMINAR del Vertimiento (20/MAY/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,0001	0	0	0	0	0	0
0,0005	0	0	0	0	0	0
0,001	0	0	1	0	5	1
0,005	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0
0,1	1	1	2	1	25	5
<b>CONTROL</b>	0	0	1	0	5	1

### ENSAYO 4

PRUEBA PRELIMINAR del Vertimiento (26/MAY/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,0001	0	0	0	0	0	0
0,0005	0	0	0	0	0	0
0,001	0	0	1	0	5	1
0,005	0	0	0	0	0	0
0,01	1	1	0	2	20	4
0,05	0	0	0	0	0	0
0,1	1	1	2	1	25	5
<b>CONTROL</b>	0	1	1	0	10	2

## ENSAYO 5

PRUEBA PRELIMINAR del Vertimiento (26/MAY/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,01	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0
0,1	0	1	0	1	10	2
0,3	4	3	4	4	75	15
0,5	5	5	5	5	100	20
0,7	5	5	5	5	100	20
1,0	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## PRUEBAS DEFINITIVAS

### ENSAYO 1

PRUEBA DEFINITIVA del Vertimiento (01/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,07	0	0	0	0	0	0
0,1	0	1	0	1	10	2
0,2	2	1	3	2	40	8
0,3	3	4	3	4	70	14
0,4	4	3	5	4	80	16
0,5	5	5	5	5	100	20
CONTROL	2	0	0	0	10	2

### Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	93,71	6	15,62	36,44	4,80 E-10	2,57
Dentro de los grupos	9	21	0,43			
Total	102,71	27				



## ENSAYO 2

PRUEBA DEFINITIVA del Vertimiento (1) (02/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,07	0	0	0	0	0	0
0,1	0	1	0	1	10	2
0,2	2	1	3	2	40	8
0,3	3	4	3	4	70	14
0,4	4	3	5	4	80	16
0,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	1	0	1	10	2

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	93,71	6	15,62	46,86	4,37 E-11	2,57
<b>Dentro de los grupos</b>	7	21	0,33			
<b>Total</b>	100,71	27				

### ENSAYO 3

PRUEBA DEFINITIVA del Vertimiento (2) (02/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,07	0	0	0	0	0	0
0,1	1	1	0	1	15	3
0,2	1	2	3	2	40	8
0,3	3	4	3	3	65	13
0,4	4	3	5	4	80	16
0,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	95,93	6	15,99	61,05	3,32 E-12	2,57
<b>Dentro de los grupos</b>	5,5	21	0,26			
<b>Total</b>	101,43	27				

## ENSAYO 4

PRUEBA DEFINITIVA del Vertimiento (08/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,07	0	0	0	0	0	0
0,1	0	1	1	2	20	4
0,2	0	2	3	1	30	6
0,3	4	3	2	3	60	12
0,4	3	4	4	4	75	15
0,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	1	0	0	5	1

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	85,36	6	14,23	28,45	4,79 E-09	2,57
Dentro de los grupos	10,5	21	0,5			
Total	95,86	27				

## ENSAYO 5

PRUEBA DEFINITIVA del Vertimiento (09/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
0,07	0	0	0	0	0	0
0,1	2	1	1	1	25	5
0,2	1	3	3	1	40	8
0,3	3	3	4	3	65	13
0,4	5	4	4	4	85	17
0,5	5	5	5	5	100	20
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre grupos</b>	95	6	15,83	53,2	1,27 E-11	2,57
<b>Dentro de los grupos</b>	6,25	21	0,30			
<b>Total</b>	101,25	27				

## **ANEXO G. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO TRATADO**

## PRUEBAS PRELIMINARES

### ENSAYO 1

PRUEBA DEFINITIVA DEL Vertimiento tratado (16/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
10	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
CONTROL	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0	6	0	65535	-----	2,57
Within Groups	0	21	0			
Total	0	27				

## ENSAYO 2

PRUEBA DEFINITIVA DEL Vertimiento tratado (19/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
10	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	0	5	0	65535	#¡NUM!	2,77
<b>Within Groups</b>	0	18	0			
<b>Total</b>	0	23				

### ENSAYO 3

PRUEBA DEFINITIVA DEL Vertimiento tratado (23/JUN/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
10	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
<b>CONTROL</b>	0	0	0	0	0	0

### Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	0	5	0	65535	#¡NUM!	2,77
<b>Within Groups</b>	0	18	0			
<b>Total</b>	0	23				



## ENSAYO 4

PRUEBA PRELIMINAR DEL Vertimiento tratado (1) (07/JUL/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
10	0	0	0	0	0	0
25	0	0	1	0	5	1
50	0	0	0	0	0	0
75	0	0	1	0	5	1
100	0	0	0	0	0	0
CONTROL	0	1	0	0	5	1

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	0,38	5	0,08	0,6	0,70	2,77
<b>Within Groups</b>	2,25	18	0,13			
<b>Total</b>	2,63	23				

## ENSAYO 5

PRUEBA DEFINITIVA DEL Vertimiento tratado (2) (07/JUL/2009)						
CONCENTRACIÓN NOMINAL (%)	Nº organismos muertos por pecera				% Mortalidad obtenido	Total Muertos (unidad)
	A	B	C	D		
10	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	0	5	1
75	1	0	0	0	5	1
100	0	0	0	0	0	0
<b>CONTROL</b>	0	0	1	0	5	1

## Análisis de varianza

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<b>Between Groups</b>	0,38	5	0,08	0,6	0,70	2,77
<b>Within Groups</b>	2,25	18	0,13			
<b>Total</b>	2,63	23				

## **ANEXO H. REGISTRO FOTOGRÁFICO**



Foto 1. Aclimatación de la trucha arco iris



Foto 2. Alevinos de trucha arco iris

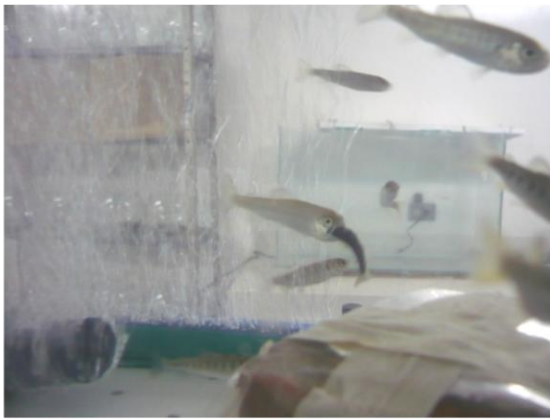


Foto 3. Canibalismo entre las truchas.



Foto 4. Difusión de oxígeno dentro de los acuarios



Foto 5. Limpieza de los Acuarios



Foto 6. Lavado de los elementos de trabajo.



Foto 7. Preparación de las soluciones de Cu y Zn para las pruebas toxicológicas.



Foto 8. Preparación de soluciones de prueba



Foto 9. Soluciones de 1000,100,10 y 1 ppm de Cu



Foto 10. Batería de ensayos prueba toxicológica con Cu parte superior.



Foto 11. Batería de ensayos prueba toxicológica con Cu parte inferior .



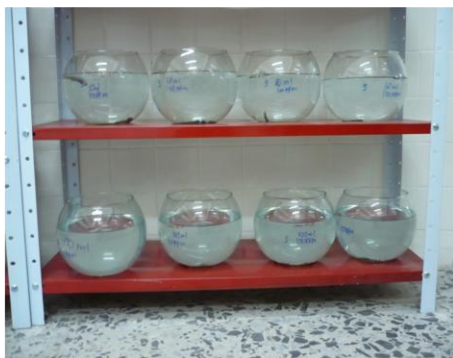


Foto 12. Batería de ensayos prueba toxicológica preliminar con Cu parte inferior.



Foto 13. Batería de ensayos prueba toxicológica preliminar con Zn parte superior el 27/11/2008



Foto 15. Batería de ensayos prueba toxicológica preliminar con Zn parte media el 27/11/2008



Foto 14. Pruebas de sensibilidad con Dicromato de Potasio



Foto 16. Batería de ensayos pruebas toxicológicas con Zn parte inferior el 27/11/2008



Foto 17. Vertimiento crudo con un pH ácido de 1.88.



Foto 18. Vertimiento crudo de la industria



Foto 19. Vertimiento crudo luego de aumentarle el pH con NaOH donde se observa la precipitación química



Foto 20. Prueba toxicológica con el vertimiento (soluciones al 20 y al 50 %)

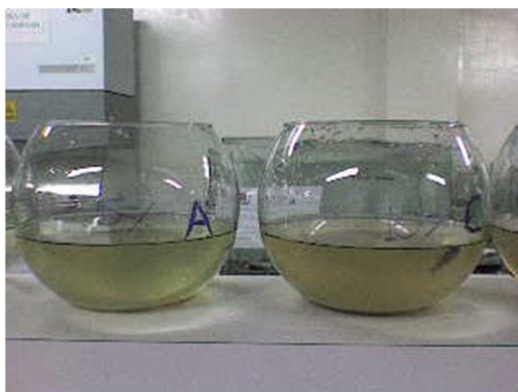


Foto 21. Prueba toxicológica con el vertimiento (soluciones al 5 y al 10 %)



Foto 22. Prueba toxicológica con el vertimiento (Blanco y solución al 1 %)





Foto 23. Muestreo puntual del vertimiento crudo de la industria de cincado. (Tanque de igualación)



Foto 24. Planta Tratamiento Aguas Residuales (PTAR) de la industria de cincado. (Tanques de oxidación)



Foto 25. Planta Tratamiento Aguas Residuales (PTAR) de la industria de cincado. Intercambiador iónico.



Foto 26. Toma de muestra del vertimiento crudo de la industria de cincado.





Foto 27. Planta Tratamiento Aguas Residuales (PTAR) de la industria de cincado. Sedimentador.



Foto 29. Secado de los lodos residuales en la industria de cincado.



Foto 30. Almacenamiento de los lodos residuales en la industria de cincado.




Foto 28. Planta Tratamiento Aguas Residuales (PTAR) de la industria de cincado. Sedimentador.



Foto 31. Toma de muestra al vertimiento tratado en la industria de cincado.

## **ANEXO I. FACTURA DE COMPRA DE ALEVINOS DE TRUCHA ARCO IRIS**



FACTURA DE VENTA

Nº 12455

**TRUCHAS SURALA LTDA.**  
 NIT. 800.190.239-9 - IVA REGIMEN COMUN.  
 CRA. 8 No. 1-58 Sur Tels. 091 856 2115 - FAX 091 856 2126 CHOCONTA CUND. / CEL. 315 7811505 - 313 3095129 - 3013969337 / Página Web: www.tsurala.com - E-mail: surala@terra.com.co

PLANTA EL LAUREL 00012455

VENDIDO A:  
 PERALTA PEREZ GUILLERMO ANDRES  
 U. LA SALLE  
 3105531070

CODIGO CLIENTE:  
 NIT. 80.085.296  
 PEDIDO No.  
 CONDICIONES DE PAGO:  
 INTERESES POR MORA:

DIA MES AÑO  
 FECHA FACTURA 27 8 08  
 DIA MES AÑO  
 FECHA VENCE 27 8 08

B060T4

ESTA FACTURA SE ASIMILA EN SUS EFECTOS A LA LETRA DE CAMBIO SEGUN ARTICULO 774 DEL CODIGO DE COMERCIO

CODIGO	DESCRIPCION	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	VALOR TOTAL
TA0041 CYB0011	ALEVINDS X4CM IMPORTADOS EMPAQUE ALEVINDS	X4CM UNID	130 1	198 2,200	25,740 2,200
ENTREGAR EN BRICERO / PABLO					
SON VEINTI SIETE MIL NOVECIENTOS CUARENTA PESOS M/CTE.					
<small>           *UNICAMENTE SE RECIBEN RECLAMOS HASTA 24 HORAS DESPUES DE ENTREGADO EL PRODUCTO. *NO SE ACEPTAN RECLAMOS POR FALLAS EN LA ENTREGA DE LOS ALEVINDS. *NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES DESPUES DE QUE HAYA SALIDO EL PRODUCTO DE LA PLANTA. POR MEDIO DE LA PRESENTE FACTURA DE VENTA EL COMPRADOR Y ACEPTANTE DECLARAN HABER RECIBIDO REAL Y MATERIALMENTE LAS MERCANCIAS DESCRITAS EN ESTE TITULO VALOR Y SE OBLIGA A PAGAR A TRUCHAS SURALA LTDA. EL PRECIO EN LA FORMA PACTADA AGU MISMO. RESOLUCION DIAN No. 320000290616 DE FEBRERO 20 DE 2008 - NUMERACION DEL 12001 AL 13500 ACTIVIDAD ECONOMICA 203 TARIFA ICA 4 X MIL NO SOMOS GRANDES CONTRIBUYENTES NI RETENEDORES DE IVA         </small>					
RETE ICA. IVA <b>TOTAL \$ 27,940</b>					
ACEPTADA (FIRMA Y SELLO) C.C. O NIT.					

VENDEDOR  
 AS

FAVOR PAGAR EN CHEQUE CRUZADO A NOMBRE DE TRUCHAS SURALA LTDA.

UD. ESTA ADQUIRIENDO LOS MEJORES ALEVINDS DISPONIBLES EN EL MERCADO.

100Y05 P1440000 NIT 20 363 901 - 1 ML 6562315



**acuagranja** Ltda.



**FACTURA CAMBIARIA  
DE COMPREVENTA No.**

**42848**

NIT. 890.324.487-3 IVA REGIMEN COMUN

00042848

RESOLUCION DIAN 300000495026 DE 2008/08/01  
HABILITA FACTURAS NROS 42070 AL 50000  
RESOLUCION DIAN 300000494123 DE 2008/07/29  
NUMERACION AUTORIZADA DEL 50001 AL 100000

RESOLUCIÓN DIAN No. 300000384181 Fecha: 2006/07/21 Habilita: del 35533 al 50000

FAVOR GIRAR CHEQUE CRUZADO A NOMBRE DE ACUAGRANJA LTDA.

<b>SEÑORES</b> <b>PERALTA PEREZ GUILLERMO ANDRES</b> CALLE 155 No. 9 - 45 TEL. 7518692-3105531070 BOGOTA		FECHA FACTURA 27 11 2008	CIUDAD BOGOTÁ	ORDEN DE COMPRA	NIT. O.C.C. 80085296
<b>DIRECCIÓN ENVÍO</b> RECÓGE EN LAS INSTALACIONES DE ACUAGRANJA LTDA.		OPERADOR DE ENVÍO		CONDICIONES DE PAGO CONTADO	FECHA DE VENCIMIENTO 28 11 2008
		FLETE PREPAGADO <input type="checkbox"/> AL COBRO <input type="checkbox"/> NO		VENDEDOR SANDRA JENNY PRIETO BELLO	
CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	TOTAL	
0193 - AT2	ALEVINOS DE TRUCHA ARCO IRIS DE 2"	100.00	300.00	30,000.00	
Gracias por su compra !				DESCUENTO	0.00
PESO:				FLETES	0.00
NÚMERO DE CAJAS:					
<b>OBSERVACIONES</b> CANCELADO Y ENTREGADO CON RECIBO DE CAJA No. <u>37402</u> POR VALOR DE \$ 30.000 PESOS M/CTE <i>Flora Sanchez</i> CANCELADO 27 NOV 2008				SUB-TOTAL	30,000.00
				MAS VALOR IVA	0.00
				SUB-TOTAL	30,000.00
				MENOS RTE-FUENTE	0.00
				MENOS RETE-IVA	0.00
				MENOS RETE-ICA	30,000.00
				<b>NETO A PAGAR</b>	
LA FACTURA CAMBIARIA DE COMPREVENTA SE ASIMILA EN TODOS SUS EFECTOS LEGALES A LA LETRA DE CAMBIO DE ACUERDO CON LO PREVISTO EN EL CÓDIGO DEL COMERCIO ARTICULO 774 ACTIVIDAD ECONÓMICA 5229 TARIFA 11.04% NO SOMOS GRANDES CONTRIBUYENTES A PARTIR DEL VENCIMIENTO DE ESTA FACTURA SE CAUSARA INTERESES DE MORA A LA TASA DE LA LEY.					
TREINTA MIL PESOS					
SON:					
ACUAGRANJA LTDA.		ACEPTADA POR EL CUENTE (FIRMA Y SELLO)			
		<i>Juan G. Barreto</i>			
NIT. 890.324.487-3					

Avenida Carrera 45 No. 137-24 (Paralela Autopista Norte) • Nueva Sede: Avenida Carrera (Av. Boyacá) 71 No. 99-28  
PBX: 615 3344 • Fax: 520 4277 • Celular 310-245-2909 • acuagranja@acuagranja.com.co  
www.acuagranja.com.co • Bogotá D.C. • Colombia

Tecnología de  
**Calidad en  
Acuicultura**

**ANEXO J. CARACTERIZACIONES DE Cu Y Zn  
ANALIZADAS POR EL LABORATORIO  
IVONNE BERNIER**



CALIDAD, SEGURIDAD E HIGIENE VAN DE LA MANO

Control de Calidad  
Aguas – Alimentos – Ambiental  
Análisis Microbiológicos, Moleculares y  
Fisicoquímicos  
Asesoría e Investigación

## Informe de Laboratorio - Análisis Fisicoquímico de Aguas No. A 11666

Fecha de Recepción: 4/27/2009 Fecha de Análisis: 4/27/2009

Fecha de Informe: 5/2/2009

Fecha de Muestreo: No Reportada

El Informe ha sido Modificado por IBLAB: No Modificado

Página 1 de 1

### Información del Cliente

Cód	Cliente	Atención	Dirección	Teléfono	Fax	ID	#ID	Ciudad
1020	Guillermo Andres Peralta Perez	Guillermo Andres Peralta Perez	Calle 155 No. 9-45	310-5531070	7510036	Cédula de Ciudadanía	80.085.296	Bogotá D.C

### Datos de la Muestra

Ref IBLAB	Identificación de la Muestra	Lote	Muestreo	Peso	Und	Cantidad	Presentación	Proveedor	Observaciones
47391	Aguas de GALVANOPLASTIA	Realizado Cliente	0	Sin unidad	1	De acuerdo SM 21th tabla 1060-I		Guillermo Andres Peralta Perez	Comprobante de muestreo No. 15466, la muestra se recibe cerrada a temperatura ambiente, tomada por el Cliente y traída al laboratorio. Muestra tomada en recipientes suministrados por IBLAB según SM 21th Tabla 1060-I

### Tabla de Resultados

Parámetro	Unidades	Método	Técnica	Resultado	Norma	Rango	Concepto	Incertidumbre	Prevalencia
Cobre	mg Cu/L	SM 3111 B	Absorción Atómica	4.90	No se realizaron comparaciones con normas	-	--	0.04	
Zinc	mg Zn/L	SM 3111 B	Absorción Atómica	550	No se realizaron comparaciones con normas	-	--	6	
<>									

No se realizaron comparaciones con normas

RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA

PROHIBIDA TODA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DE ESTE INFORME SIN AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO

Ivonne Bernier P  
Chief Operation Officer - COO

Maria Consuelo Duarte  
Quality to Customer - Q2C

Liza Bibiana Rodriguez  
Chemical Analyzer - CA

Calle 49 No. 70C -31 PBX: (57 1) 416 63 01 E-mail: direccion tecnica@iblaboratorio.com - http://www.iblaboratorio.com - http://sage.iblaboratorio.com - Bogotá - COLOMBIA



IGALDAD, SEGURIDAD E HIGIENE VAN DE LA MANO

## Informe de Laboratorio - Análisis Físicoquímico de Aguas No. A 11675

Fecha de Muestreo: No Reportada

Fecha de Impresión: 5/6/2009

Fecha de Recepción: 4/30/2009

El Informe ha sido Modificado por IBLAB: No Modificado

Fecha de Análisis: 4/30/2009

Fecha de Informe: 5/6/2009

Página 1 de 1

### Información del Cliente

Cód	Cliente	Atención	Dirección	Teléfono	Fax	ID	#ID	Ciudad
1020	Guillermo Andres Parahin Perez	Guillermo Andres Parahin Perez	Calle 155 No. 9-45	310-5531070	7510036	Cédula de Ciudadanía	80.085.296	Bogotá D.C

### Datos de la Muestra

Ref IBLAB	Identificación de la Muestra	Lote	Muestreo	Peso	Und	Cantidad	Presentación	Proveedor	Observaciones
47387	Aguá Galvanotecnia	Realizado Cliente	0	Sin unidad	1	De acuerdo SM 21th tabla 10601		Guillermo Andres Parahin Perez	Comprobante de muestreo No. 15498, la muestra se recibe a temperatura ambiente, tomada por el cliente y traída al laboratorio. Muestra tomada en recipientes suministrados por IBLAB según SM 21th Tabla 10601.

### Tabla de Resultados

Parámetro	Unidades	Método	Técnica	Resultado	Norma	Rango	Concepto	Incertidumbre	Prevalencia
Cobre	mg Cu/L	SM 3111 B	Absorción Atómica	0.100	No se realizaron comparaciones con normas	-	--	0.001	
Zinc	mg Zn/L	SM 3111 B	Absorción Atómica	0.383	No se realizaron comparaciones con normas	-	--	0.005	

No se realizaron comparaciones con normas

RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA

PROHIBIDA TODA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DE ESTE INFORME SIN AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO

Ivonne Bernier P  
Chief Operation Officer - COO  
Calle 49 No. 70C -31 PBX: (57 1) 416 63 01 E-mail: direccionetecnica@iblaboratorio.com - http://www.iblaboratorio.com - Bogotá - COLOMBIA

Maria Consuelo Duarte  
Quality to Customer - Q2C  
Liza Bibiana Rodriguez  
Chemical Analyzer - CA  
http://www.iblaboratorio.com - http://sage.iblaboratorio.com - Bogotá - COLOMBIA

## **ANEXO K. SEGMENTACIÓN DE EL VERTIMIENTO EN COBRE (Cu) Y CINC (Zn)**



Tabla. Carta de control de Cu en el Vertimiento.

Fecha	CL <sub>50-96</sub> (mg Vertimiento Cu / L)	Límite de confianza al 95 % (mg Cu / L)	
		Inferior	Superior
1-Jun-09	<b>0.0118</b>	0.0089	0.0139
(1) 02 JUN 2009	<b>0.0118</b>	0.0089	0.0139
(2) 02 JUN 2009	<b>0.0108</b>	0.0091	0.0127
8-Jun-09	<b>0.0126</b>	0.0093	0.0150
9-Jun-09	<b>0.0100</b>	0.0084	0.0118
PROMEDIO	0.0114	0.00892	0.01346

Fuente: los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó más de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

Como resultados se hallaron los promedios de los límites de confianza y el promedio de la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) de Cu en el Vertimiento obteniendo lo siguiente:

Límite inferior: 0,0089 mg vertimiento Cu/ L

**CL<sub>50-96</sub>: 0,011 mg vertimiento Cu / L**

Límite superior: 0,013 mg vertimiento Cu / L

Tabla. Carta de control de Zn en el Vertimiento.

Fecha	CL <sub>50-96</sub> (mg Vertimiento Zn / L)	Límite de confianza al 95 % (mg Zn/ L)	
		Inferior	Superior
1-Jun-09	1.3261	0.9953	1.5620
(1) 02 JUN 2009	1.3261	0.9953	1.5620
(2) 02 JUN 2009	1.2124	1.0262	1.4204
8-Jun-09	1.4138	1.0477	1.6820
9-Jun-09	1.1203	0.9382	1.3251
PROMEDIO	1.27974	1.0005	1.5103

Fuente: los autores.

El número (#) entre paréntesis antes de la fecha, indica que en esta fecha se realizó más de una prueba y en este caso se les designó (1) y (2).

Como resultados se hallaron los promedios de los límites de confianza y el promedio de la concentración letal media (CL<sub>50-96</sub>) de Zn en el Vertimiento obteniendo lo siguiente:

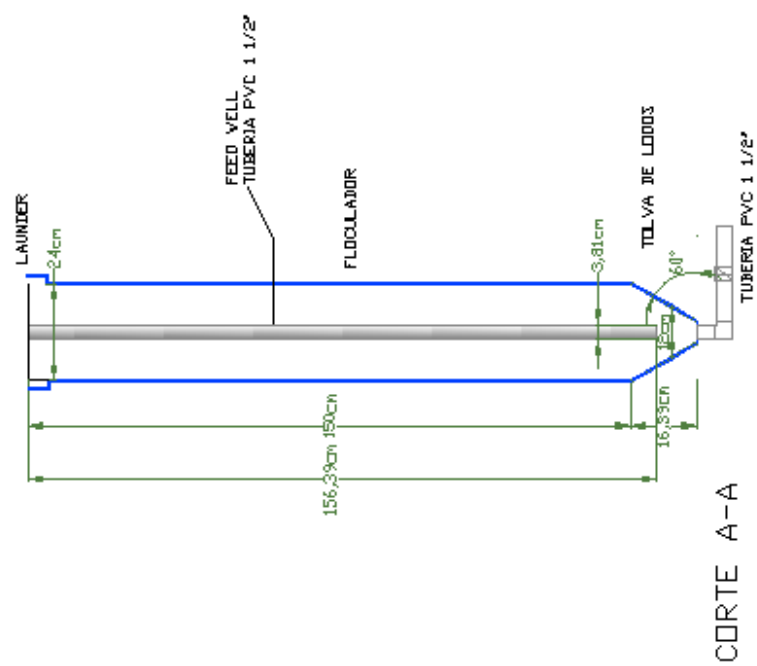
Límite inferior: 1,00 mg vertimiento Zn / L

**CL<sub>50-96</sub>: 1,28 mg vertimiento Zn/L**

Límite superior: 1,51 mg vertimiento Zn / L

## **ANEXO L. PLANO DEL DISEÑO PILOTO DE TRATAMIENTO**

# DISEÑO A ESCALA PILOTO DE UN CLARIFLOCULADOR



VISTA DE PLANTA



DISEÑO A ESCALA  
PILOTO DE UN  
CLARIFLOCULADOR

JUAN GUILLERMO BARRETO SOLANO 41031047  
GUILLERMO ANDRES PERALTA PEREZ 41012111  
ESCALA: 1:

**ANEXO M. ALGUNOS RESULTADOS  $CL_{50-96}$   
POR EL MÉTODO PROBIT.**

# **EJEMPLO DEL CALCULO DE CL<sub>50-96</sub> PARA COBRE (Cu) REALIZADA EL (1)14OCT2008**

STIMA DI CHI QUADRO OTTENUTA PER SOTTRAZIONE = 10.04366

CONCENTRAZIONE	LOG (CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.01	-2.0000	20.	2.	1.14
0.05	-1.3010	20.	5.	10.28
0.07	-1.1549	20.	14.	12.91
0.10	-1.0000	20.	18.	15.35
0.15	-0.8239	20.	20.	17.45
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE  $Y=a+bX$  :

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

Intercetta (a) =	8.6668	
Pendenza (b) =	2.7568	es = 0.4566
Media delle X =	-1.1916	
Media delle Y =	5.3818	
CHI quadro =	10.0437	

\* CHI quadro significativo. Il fattore di eterogeneit...  
non è utilizzato. Usare molta cautela\*

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT (95%)	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI	
		inferiore	superiore
LC1	0.0067	0.0005	0.0155
LC50	0.0468	0.0249	0.0687

NOTA: Se LC è al di fuori del range di conc. analizzate,  
il valore deve essere preso con estrema cautela trattandosi  
di un valore stimato per estrapolazione.  
La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza.  
Se è necessaria altra assistenza, rivolgersi ad un esperto  
di statistica.

# **EJEMPLO DEL CALCULO DE CL<sub>50-96</sub> PARA CINC (Zn) REALIZADA EL (1)10MAR2009**

CONCENTRAZIONE	LOG (CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.10	-1.0000	20.	0.	0.57
0.50	-0.3010	20.	3.	2.25
0.70	-0.1549	20.	7.	7.44
1.00	0.0000	20.	14.	15.12
1.50	0.1761	20.	20.	19.39
Controllo		20.	1.	0.57

## PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$ :

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

Intercetta (a) = 5.6727  
 Pendenza (b) = 6.7698 es = 1.3591  
 Media delle X = -0.0878  
 Media delle Y = 5.0786  
 CHI quadro = 2.2199

## ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5  
 Gradi di libert... = 3  
 Mortalit... naturale = 0.0283 es = 0.0260  
 Numero di cicli = 3

END POINT (95%)	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI	
		inferiore	superiore
LC1	0.3606	0.2047	0.4676
LC50	0.7955	0.6859	0.9076

NOTA: Se LC  $\hat{S}$  al di fuori del range di conc. analizzate, il valore deve essere preso con estrema cautela trattandosi di un valore stimato per estrapolazione.  
 La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza.  
 Se  $\hat{S}$  necessaria altra assistenza, rivolgersi ad un esperto di statistica.

# **EJEMPLO DEL CALCULO DE CL<sub>50-96</sub> PARA DICROMATO DE POTASIO (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) REALIZADA EL 21ABR2008**

=====				
CONCENTRAZIONE	LOG (CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	
attesi				
20.00	1.3010	20.	0.	0.58
40.00	1.6021	20.	5.	5.11
60.00	1.7782	20.	11.	10.52
80.00	1.9031	20.	14.	14.37
100.00	2.0000	20.	20.	16.71
Controllo		20.	0.	0.00

## PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$ :

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

Intercetta (a) = -4.1965  
Pendenza (b) = 5.2631 es = 0.7756  
Media delle X = 1.7779  
Media delle Y = 5.1609  
CHI quadro = 1.9527

## ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5  
Gradi di libert... = 3  
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001  
Numero di cicli = 1

END POINT (95%)	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI	
		inferiore	superiore
LC1	20.1996	12.6752	26.4066
LC50	55.8911	48.6347	63.4123

NOTA: Se LC  $\hat{S}$  al di fuori del range di conc. analizzate,  
il valore deve essere preso con estrema cautela trattandosi  
di un valore stimato per estrapolazione.  
La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza.  
Se  $\hat{S}$  necessaria altra assistenza, rivolgersi ad un esperto  
di statistica.



## **ANEXO N. DISEÑO CAJA DE MEZCLA RAPIDA.**

## CAJA DE MEZCLA RAPIDA

Generalmente el clarifloculador lleva un cono de mezcla al interior pero debido a las dimensiones que se hallaron en la hoja de diseño teniendo en cuenta que es un diseño piloto se decidió diseñar una caja de mezcla rapida.

La caja de mezcla rapida funciona mecanicamente con un mezclador en su interior. A continuación se muestra el esquema del diseño piloto: <sup>55</sup>

DISEÑO A ESCALA PILOTO		
DISEÑO CAJA DE MEZCLA RAPIDA		
Tiempo de retención	60	seg
Caudal	1	L/min
Caudal	1,667E-05	m3/s
Volumen	0,001	m3
Altura	0,001	m
Diametro	0,0011	m
Área	0,0000	m2
Gradiente hidráulico	900	1/s
DISEÑO DEL MEZCLADOR		
Diametro del impulsor	0,000376222	m
Velocidad tangencial de las paletas	0,6	m/s
Número de reynolds	100000	
DISEÑO A ESCALA INDUSTRIAL		
DISEÑO CAJA DE MEZCLA RAPIDA		
Tiempo de retención	30	seg
Caudal	10	L/min
Caudal	6,000E-02	m3/s
Volumen	1,8	m3
Altura	0,05	m
Diametro	0,3386	m
Área	0,0900	m2
Gradiente hidráulico	900	1/s
DISEÑO DEL MEZCLADOR		
Diametro del impulsor	0,11286653	m
Velocidad tangencial de las paletas	0,6	m/s
Número de reynolds	100000	

---

<sup>55</sup> ROMERO ROJAS, Jairo alberto. Purificación del agua, Editorial escuela colombiana de ingeniería, 2ª edición, Colombia, 2006.

El cilindro diseñado no cuenta con las dimensiones mínimas debido a que el diámetro es muy reducido de manera que para el ensayo piloto se empleo un cilindro de mayor tamaño.

## **ANEXO O. HOJAS DE REGISTRO DE DATOS**

CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA - CAR  
SUBDIRECCIÓN CIENTÍFICA  
División de Evaluación Técnica, Laboratorio Ambiental  
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON trucha Aveoiris

SUSTANCIA DE PRUEBA: CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O INICIO: 19 / NOV / 2008 / 11:00 HORAS  
FINALIZACIÓN: 23 / NOV / 2008 / 11:00 HORAS

Concentración Nominal (ppm)	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.07	0	0	0	0	2	0	1	0	4	0	2	1
0.10	0	1	0	0	1	3	2	3	3	5	4	5
0.15	0	0	1	1	4	4	3	4	5	5	4	5
CONTROL												

[Nominal] (ppm).	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS				N° muertos /N° total	% mortal obtenidos
	N° organismos muertos por pecera				N° organismos muertos por pecera				N° organismos muertos por pecera					
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D		
0.01	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1/20	5
0.05	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	2	0	3/20	15
0.07	4	0	2	1	4	0	2	1	4	0	2	1	7/20	35
0.10	3	5	4	5	3	5	4	5	3	5	4	5	17/20	85
0.15	5	5	5	0	5	5	5	0	5	5	5	0	20/20	100
CONTROL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

RESPONSABLE: \_\_\_\_\_

Límite Superior:

CL<sub>50</sub>:

Límite Inferior:

C.C.A.

Forma SC-03-199

CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA - CAR  
SUBDIRECCIÓN CIENTÍFICA

División de Evaluación Técnica. Laboratorio Ambiental  
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON Tucha Arcavis

SUSTANCIA DE PRUEBA: CoSO4.5H2O INICIO: 19/9 / Feb / 2007 / II HORAS  
FINALIZACIÓN: 19/9 / Feb / 2007 / II HORAS

Concentración Nominal	4 Feb 2007 3 HORAS 3:40 p.m. 3m				5 Feb 2007 6 HORAS 11:51 p.m.				6 Feb 2007 24 HORAS Tarde			
	Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
0.1 ppm	0	3	0	2	3	3	4	3	3	3	3	3
0.15 ppm	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1.0 ppm	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
3.0 ppm	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
CONTROL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[ppm]	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS				Nº muertes / Nº total	% mortal obtenido
	Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera					
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D		
0.1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	20/20	100%
0.15	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	20/20	100%
1.0	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	20/20	100%
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	20/20	100%
BLANCO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/20	0

RESPONSABLE: \_\_\_\_\_

Límite Superior: \_\_\_\_\_

CL 50: \_\_\_\_\_

Límite Inferior: \_\_\_\_\_

C.C.A.

Forma SC-034-09

008

PD



CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA - CAR  
SUBDIRECCIÓN CIENTÍFICA  
División de Evaluación Técnica, Laboratorio Ambiental  
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON Trucha Arcañito

SUSTANCIA DE PRUEBA: ZnCl<sub>2</sub> INICIO: 10 / MAR / 2009 / 10:00 Am HORAS  
FINALIZACIÓN: 14 / MAR / 2009 / 10:00 HORAS

Concentración Nominal	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
0.7	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	1
1.0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	4	2
1.5	0	0	1	1	0	0	2	2	1	2	2	2
CONTROL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS				N° muertes / N° total	% mortal obtenido
	N° organismos muertos por pecera				N° organismos muertos por pecera				N° organismos muertos por pecera					
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D		
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/20	0
0.5	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	3/20	15
0.7	0	0	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	7/20	35
1.0	2	2	4	3	3	2	4	4	3	3	4	4	14/20	70
1.5	2	3	2	2	4	4	4	4	3	3	3	3	20/20	100
Control	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1/20	5

RESPONSABLE: \_\_\_\_\_

Límite Superior:

CL 50:

Límite Inferior:

CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA - CAR

SUBDIRECCIÓN CIENTÍFICA

División de Evaluación Técnica, Laboratorio Ambiental

REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON

Tucha Arcoiris

SUSTANCIA DE PRUEBA: ZnCl<sub>2</sub>

INICIO: 23 / Nov / 2008 / 11:00 HORAS  
FINALIZACIÓN: 01 / DEC / 2008 / 11:00 HORAS

Diluido a 100 ppm

Concentración Nominal	3 HORAS				5 HORAS				24 HORAS			
	Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
2 ppm	1	3	3	1	2	5	2	1	5	5	5	5
4 ppm	2	4	3	5	3	5	5	5	5	5	5	5
6 ppm	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
8 ppm	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
10 ppm	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
CONTROL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Concentración Nominal (ppm)	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS				Nº muertos / Nº total	% mortal obtenido
	Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera				Nº organismos muertos por pecera					
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D		
2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	70/70	100
4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	70/70	100
6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	70/70	100
8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	70/70	100
10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	70/70	100
BLANCO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/40	0

RESPONSABLE: Juan Barreto  
Andrés Peralta

Límite Superior:

CL 50:

Límite Inferior:

C.C.A.

Forma SC-01-100

00