



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL**

**DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD POR ALUMINIO DEL EFLUENTE  
DE LA PLANTA POTABILIZADORA DE EL CEBOLLAR EN EL RÍO  
TOMBAMBA, UTILIZANDO BIOENSAYOS ECOTOXICOLÓGICOS**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE MAGISTER EN TOXICOLOGÍA  
INDUSTRIAL Y AMBIENTAL**

**AUTORA: DRA. BIOQ. FARM. ROSALÍA VALENTINA MOSCOSO CALLE**

**DIRECTOR: DR. REMIGIO R. CORTEZ RODRÍGUEZ. PhD**

**ASESOR: DR. ERVELIO ELISEO OLAZÁBAL MANSO PhD**

**CUENCA, ECUADOR**

**2014**



## RESUMEN

El uso de sulfato de aluminio como coagulante, en el proceso de potabilización del agua, permite la remoción de materia suspendida, facilitando su sedimentación y posterior filtración. Como consecuencia, las unidades de sedimentación y filtración, necesitan de lavado y mantenimiento, generando residuos que contienen materia húmica y aluminio. El efluente resultante del mantenimiento en la Planta potabilizadora de El Cebollar de Cuenca, es vertido directamente al Río Tomebamba; por ello el objetivo de la presente tesis fue evaluar las concentraciones de aluminio residual en dicho efluente, determinando su toxicidad sobre el medio, utilizando bioensayos ecotoxicológicos. Se realizaron muestreos en la descarga del efluente antes de su vertido sobre el río Tomebamba, y en zonas aguas arriba y abajo de éste. Se determinaron las concentraciones de aluminio mediante Espectrofotometría por ICP. Se realizaron bioensayos en modelos ecotoxicológicos de *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, según protocolos de la OECD. Se obtuvieron las concentraciones de aluminio del efluente y de los puntos aguas arriba y abajo del vertido, los caudales del efluente y del río; además, la toxicidad ambiental en los modelos ecotoxicológicos utilizados, calculando los índices CL50, CI50, UT e ICOTOX. Los resultados, definieron un grado de “alta toxicidad” generado por el efluente sobre el Río Tomebamba, a pesar de que en época de invierno, el río tiene una buena capacidad de asimilación del efluente, mientras que en época de bajas precipitaciones, el río pierde esta capacidad, y no hay protección sobre los efectos tóxicos generados.

**PALABRAS CLAVE:** ALUMINIO, TOXICIDAD, BIOENSAYOS ECOTOXICOLÓGICOS, EFLUENTES.

## ABSTRACT

The use of aluminum sulfate as a coagulant, in the water purification process, allows the removal of suspended matter, facilitating subsequent filtration and sedimentation. As a result, sedimentation and filtration units, cleaning and maintenance need of generating wastes containing humic matter and aluminum. The resulting effluent water from treatment in plant maintenance El Cebollar of Cuenca, is poured directly into the Tomebamba River; hence the goal of this thesis was to evaluate residual levels of aluminum in said effluent, determining toxicity on the medium using ecotoxicological bioassays. Samples were taken in the discharge of effluent before discharge on Tomebamba River and in areas upstream and downstream of it. Aluminum concentrations were determined using ICP spectrophotometry. Bioassays were performed in ecotoxicological models *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*, as the OECD protocols. Aluminum concentrations in the effluent and points upstream and downstream of the discharge, the flow of the effluent and the river were obtained; additional environmental toxicity in ecotoxicological models used, calculating the LC50, IC50, UT and ICOTOX indices. The results defined a degree of "highly toxic" effluent generated on Tomebamba River, although in winter time, the river has a good capacity to assimilate the effluent, whereas in times of low rainfall, the river loses this capacity, and no protection on the toxic effects generated.

**KEYWORDS:** ALUMINUM TOXICITY, ECOTOXICOLOGICAL BIOASSAYS, EFFLUENT

**TABLA DE CONTENIDOS**

<b>RESUMEN.....</b>	<b>2</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>9</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>14</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>15</b>
<b>ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA.....</b>	<b>16</b>
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>18</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>20</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>20</b>
2.1 EL AGUA.....	20
2.1.1 AGUA POTABLE.....	22
2.1.2 AGUA RESIDUAL.....	22
2.2 POTABILIZACION DEL AGUA.....	23
2.3 PLANTA DE POTABILIZACION DE EL CEBOLLAR.....	25
2.4 EL ALUMINIO Y LA CALIDAD DEL AGUA.....	26
2.4.1 Sulfato de aluminio.....	29
2.4.2 Efectos del aluminio en el Medio Ambiente.....	30
2.4.3 Contaminación de Efluentes.....	31
2.4.4 Efectos tóxicos del aluminio en el ser humano.....	31
2.5 ECOTOXICOLOGIA.....	31
2.6 BIOENSAYOS EN EL MEDIO AMBIENTE.....	33
2.6.1 Ensayos biológicos.....	33
2.6.2 Prueba de toxicidad.....	33
2.6.3 Criterios para la Selección de Pruebas de bioensayos.....	34
2.6.4 Tipos de Pruebas de Toxicidad.....	35
2.6.5 Parámetros determinados a través de las Pruebas de Toxicidad.....	35
2.6.6 EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL A TRAVÉS DE LA ESTIMACIÓN DE UNIDADES DE TOXICIDAD (UT).....	36
2.6.6.1 Determinación de las Unidades de Toxicidad.....	37



2.6.6.2	Criterios para Unidades de Toxicidad.....	38
2.6.6.3	Índice de Contaminación Tóxica – ICOTOX.....	39
2.6.7	Batería de ensayos.....	39
2.6.7.1	Bioensayo con Cladóceros.....	40
2.6.7.2	Bioensayo en peces.....	40
2.6.7.3	Bioensayo de germinación de semillas.....	41
2.6.8	Protocolo.....	42
2.6.9	Replicado.....	42
2.7	pH.....	42
2.7.1	pH metro.....	42
2.8	ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA (AES) CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP).....	43
2.9	MÉTODOS DE PRUEBA.....	43
2.9.1	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas residuales).....	44
<b>CAPITULO III</b> .....		45
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....		45
3.1	SELECCIÓN DE LA DESCARGA A SER ESTUDIADA.....	45
3.2	DISEÑO ESTADISTICO DEL EXPERIMENTO.....	47
3.3	METODOLOGIA DE CAMPO.....	49
3.3.1	Muestreo.....	49
3.3.2	Transporte y Preservación de Muestras.....	56
3.4	SELECCIÓN DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA.....	57
3.4.1	Daphnia magna.....	57
3.4.2	Semillas de Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> ).....	59
3.4.3	Poecilia reticulata.....	60
3.5	DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD EN LA DESCARGA DEL VERTIDO.....	61
3.6	Registro de la Información obtenida a partir de las pruebas de toxicidad.....	63
3.7	ANALISIS ESTADISTICO.....	63
3.7.1	ANALISIS ANOVA.....	64
3.7.2	POST ANOVA.....	65



3.7.3	ANALISIS PROBIT.....	67
3.7.4	ESTIMACION DE LAS UNIDADES DE TOXICIDAD.....	68
3.7.5	CONCENTRACION TOXICA Y CRITERIO DE CONCENTRACION MAXIMA.....	69
3.7.6	CALCULO DEL ICOTOX.....	71
3.7.7	DIFERENCIAS DE MEDIAS PARA LOS PARAMETROS DE CRECIMIENTO DE LAS SEMILLAS DE L. SATIVA, P.VULGARIS Y Z.MAYS.....	71
3.7.8	INFORMACION FISICO-QUIMICA.....	71
<b>CAPITULO IV.....</b>		<b>73</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>73</b>
4.1	PARAMETROS FISICO-QUIMICOS.....	73
4.2	DETERMINACION DE LA TOXICIDAD.....	74
4.2.1	INDICADORES DE TOXICIDAD.....	76
4.2.2	DIFERENCIAS DE MEDIAS EN LOS PARAMETROS DE CRECIMIENTO DE LAS SEMILLAS DE L. SATIVA, P. VULGARIS Y Z. MAYS.....	79
4.2.3	DETERMINACION DE LAS UNIDADES DE TOXICIDAD.....	88
4.2.4	CALCULO DE LA CONCENTRACION TOXICA Y CRITERIO DE CONCENTRACION MAXIMA.....	91
4.2.5	DETERMINACION DEL ICOTOX.....	92
<b>CAPITULO V.....</b>		<b>94</b>
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>94</b>
<b>CAPITULO VI.....</b>		<b>97</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>97</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>		<b>101</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>106</b>



**LISTA DE TABLAS**

Tabla 2.3	Información general del aluminio.....	26
Tabla 2.4	Información general del Sulfato de aluminio.....	29
Tabla 2.5	Nivel de incidencia Toxicológico en Unidades de Toxicidad.....	37
Tabla 2.6	Nivel de Incidencia Toxicológico de acuerdo al índice de contaminación ICOTOX.....	39
Tabla 3.1	Integración de las muestras compuestas. Cálculo de alícuotas.....	52
Tabla 3.2	Volúmenes requeridos para realizar los bioensayos y análisis físico-químicos.....	53
Tabla 3.3	Caudales calculados del efluente y registro de temperaturas en el muestreo .....	55
Tabla 3.4	Ensayos de toxicidad seleccionados para la determinación de toxicidad de aluminio en el Efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar de la ciudad de Cuenca.....	62
Tabla 3.5	Número de organismos utilizados por réplica y concentración para cada bioensayo.....	66
Tabla 3.6	Nivel de Incidencia Toxicológico basado en Unidades de Toxicidad..	69
Tabla 3.7	Parámetros de crecimiento de las semillas de <i>L. sativa</i> , <i>P. vulgaris</i> y <i>Z. mays</i> .....	72
Tabla 4.1	Informe de resultados de concentraciones de aluminio y valor de pH de las muestras del vertido del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar y a 200 m aguas arriba y 180 m aguas abajo del vertimiento. (Laboratorio de Saneamiento. ETAPA EP).....	74
Tabla 4.2	Indicadores de toxicidad estimados para el vertimiento del efluente de la planta de potabilización de El Cebollar para <i>Daphnia magna</i> ...	75
Tabla 4.3	Indicadores de toxicidad estimados para el vertimiento del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar para <i>Lactuca sativa</i> .....	75
Tabla 4.4	Indicadores de toxicidad estimados para el vertimiento del efluente de la Planta de potabilización de El cebollar para <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	75
Tabla 4.5	Indicadores de toxicidad estimados para el vertimiento del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar para <i>Z. mays</i> .....	79



Tabla 4.6.1 Cálculo de UT, en el primer muestreo, en <i>D. magna</i> , <i>L. sativa</i> , <i>P. vulgaris</i> y <i>Z. mays</i> .....	89
Tabla 4.6.2 Cálculo de UT, en el segundo muestreo, en <i>D. magna</i> , <i>L. sativa</i> , <i>P. vulgaris</i> y <i>Z. mays</i> .....	89
Tabla 4.6.3 Cálculo de UT, en el tercer muestreo, en <i>D. magna</i> , <i>L. sativa</i> , <i>P. vulgaris</i> y <i>Z. mays</i> .....	90
Tabla 4.7 Cálculo de la Concentración Tóxica, en referencia a <i>D. magna</i> , que se determinó como especie más sensible .....	91
Tabla 4.8 Valores de ICOTOX, calculados en base a las UT, referidas a <i>Daphnia magna</i> , considerada la especie de mayor sensibilidad en los ensayos ecotoxicológicos del presente estudio .....	92



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Esquema General del Proceso de Potabilización del Agua.....	24
Figura 2.2	Planta de Potabilización de Agua de El Cebollar (Cuenca-Ecuador). Vista Aérea .....	26
Figura 3.1	Ubicación geográfica de la Planta El Cebollar y Puntos de Muestreo .....	46
Figura 3.2	Estado del sedimentador previo a su lavado.....	46
Figura 3.3	Colmatación de las unidades de filtración.....	47
Figura 3.4	Puntos del muestreo del Efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar, aguas arriba y abajo del efluente .....	49
Figuras 3.5 y 3.6	Sitio de descarga del efluente de la Planta de El Cebollar y su posterior salida sobre el Río Tomebamba .....	50
Figuras 3.7 y 3.8	Sitios de toma de muestra aguas arriba y aguas abajo del efluente ....	50
Figuras 3.9 y 3.10	Toma de muestras aguas arriba y aguas abajo de efluente.....	51
Figuras 3.11 y 3.12	Toma de muestras aguas arriba y aguas abajo de efluente .....	51
Figura 3.13	Medición de Temperatura en el sitio del muestreo.....	54
Figura 3.14	Esquema de un sedimentador. Corte longitudinal.....	55
Figuras 3.15 y 3.16	Identificación de muestras.....	56
Figuras 3.17 y 3.18	Daphnia magna.....	57
Figura 3.19	Semillas de Lactuca sativa germinadas.....	59
Figura 3.20	Germinación de semillas de L. sativa (Lechuga), P. vulgaris (Fréjol) y Zea mays (Maíz).....	60
Figura 3.21	Poecilia reticulata. (Pez Guppy).....	61
Figura 3.22	Esquema de Balance de Masas para determinación de la Concentración Tóxica.....	70
Figura. 4.1	Comparación de la concentración de aluminio en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar. PRIMER MUESTREO .....	75
Figura 4.2	Comparación de la concentración de aluminio en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar. SEGUNDO MUESTREO .....	75
Figura 4.3	Comparación de la concentración de aluminio en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar. TERCER MUESTREO .....	76

Figura 4.4 Diferencias de longitud del radical para <i>Lactuca sativa</i> por réplica, frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización El Cebollar en el primer muestreo (E1).....	80
Figura 4.4.1 Diferencia de medias de longitud del radical para <i>Lactuca sativa</i> , en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....	80
Figura 4.5 Diferencias de longitud del radical para <i>Lactuca sativa</i> por réplica, frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el segundo muestreo (E2) .....	81
Figura 4.5.1 Diferencia de medias de longitud del radical para <i>Lactuca sativa</i> , en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el segundo muestreo (E2) ...	81
Figura 4.6 Diferencias de longitud del radical para <i>Lactuca sativa</i> por réplica, frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el tercer muestreo (E3) .....	82
Figura 4.6.1 Diferencia de medias de longitud del radical para <i>Lactuca sativa</i> , en el Efluente de Planta de potabilización de El Cebollar en el tercer muestreo (E3) .....	82
Figura 4.7 Diferencia de longitud del radical para <i>Phaseolus vulgaris</i> , para cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....	83
Figura 4.7.1 Diferencia de medias de longitud del radical para <i>Phaseolus vulgaris</i> , en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....	84
Figura 4.8 Diferencia de longitud del radical para <i>Zea mays</i> , para cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....	84
Figura 4.8.1 Diferencia de medias de longitud del radical para <i>Zea mays</i> , en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....	85
Figura 4.9 Diferencias de altura de la planta para <i>P. vulgaris</i> con cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....	86



Figura 4.9.1 Diferencia de medias de la altura de la planta para *P. vulgaris* en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....86

Figura 4.10 Diferencias de altura de la planta para *Z. mays* con cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....87

Figura 4.10.1 Diferencia de medias de la altura de la planta para *Z. mays* en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1) .....87



Universidad de Cuenca  
Clausula de derechos de autor

Rosalía Valentina Moscoso Calle, autora de la tesis “DETERMINACION DE LA TOXICIDAD POR ALUMINIO DEL EFLUENTE DE LA PLANTA POTABILIZADORA DE EL CEBOLLAR EN EL RIO TOMBAMBA, UTILIZANDO BIOENSAYOS ECOTOXICOLOGICOS”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de MAGISTER EN TOXICOLOGIA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor/a

Cuenca, septiembre 12 de 2014

Rosalía Valentina Moscoso Calle

C.I: 0103038527



Rosalía Valentina Moscoso Calle, autora de la tesis "DETERMINACION DE LA TOXICIDAD POR ALUMINIO DEL EFLUENTE DE LA PLANTA POTABILIZADORA DE EL CEBOLLAR EN EL RIO TOMBAMBA, UTILIZANDO BIOENSAYOS ECOTOXICOLOGICOS", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, septiembre 12 de 2014

Rosalía Valentina Moscoso Calle

C.I: 0103038527



## DEDICATORIA

A mi Señor Dios, el Creador de todo, por enseñarme que cuidar la naturaleza es también mi trabajo.

A mi amado Esposo Pablo, por ser mi fuerza y serenidad, la fortaleza en mi debilidad, el consejo y la energía para conseguir lo imposible. Para él todo mi amor.

A mis hermosas hijas María Paz y María Paula, gracias por inspirar todos los días de mi vida. Este trabajo es por ellas y para ellas.

A mis queridos padres, Edgar y Esther. Su amor, sabiduría y consejo, han sido siempre los compañeros inseparables en el camino de mi vida.

**ROSALÍA**



## **AGRADECIMIENTOS**

Un agradecimiento muy sincero a los Doctores Remigio Cortez y Erelvio Olazábal, Director y Tutor del presente trabajo, por su incommensurable aporte profesional, y sobre todo por su gentileza, sensibilidad y caballerosidad. Para ellos, mi eterna gratitud.

Mi reconocimiento a los Ingenieros Xavier Sánchez A. y Fausto Sarmiento L., funcionarios de la Subgerencia de Operaciones de Agua y Saneamiento de ETAPA EP, y a los funcionarios de la Planta de Potabilización de El Cebollar, por su decisivo apoyo en el desarrollo de este trabajo.

Al Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca, por planificar y realizar esta Maestría.

**ROSALÍA MOSCOSO CALLE**



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

<b>AA</b>	Aguas arriba
<b>Ab</b>	Aguas Abajo
<b>Al</b>	Aluminio
<b>Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub></b>	Sulfato de Aluminio
<b>APHA</b>	American Public Health Association (Asociación Americana de Salud Pública)
<b>AWWA</b>	American Water Works Association (Asociación Americana de Obras Acuáticas)
<b>°C</b>	Grado Celsius
<b>CEPIS</b>	Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria
<b>CE50/CI50</b>	Concentración Efectiva o de Inhibición media
<b>CL50</b>	Concentración Letal media
<b>CMC</b>	Criterio de Concentración Máxima
<b>cm<sup>3</sup></b>	Centímetro cúbico
<b>CT</b>	Concentración Tóxica
<b>E</b>	Efluente
<b>ETAPA EP</b>	Empresa Pública de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento
<b>ICP/AES</b>	Inductively coupled plasma/atomic emission spectrometry (Espectroscopía de emisión atómica con Plasma acoplado inductivamente)
<b>ICOTOX</b>	Índice de Contaminación Toxicológico
<b>L</b>	Litro
<b>LOEC</b>	Lowest Observed Effect Concentration
<b>m<sup>3</sup></b>	Metro cúbico
<b>mg</b>	Miligramo
<b>min</b>	Minuto
<b>NOEC</b>	No Observed Effect Concentration
<b>OECD</b>	Organisation for Economic Co-operation and Development (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos)
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud



<b>OPPTS</b>	Office of Prevention, Pesticides and Toxics Substances
<b>OPS</b>	Organización Panamericana de la Salud
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>Q</b>	Caudal
<b>s</b>	segundo
<b>SPSS 22</b>	Programa estadístico IBM versión 22
<b>t</b>	tiempo
<b>US EPA</b>	United States Environmental Protection Agency (Agencia Americana de Protección Ambiental)
<b>UT</b>	Unidades de Toxicidad
<b>V</b>	Volumen
<b>WEF</b>	Water Environment Federation (Federación Ambiental del Agua)
<b>µg</b>	Microgramo

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

El aluminio (Al) fue considerado, durante mucho tiempo, virtualmente inocuo para los seres humanos. Sin embargo, su impacto sobre los sistemas biológicos ha sido objeto de mucha controversia en las décadas pasadas y una profusa investigación ha demostrado que puede producir efectos adversos para la vida de plantas y animales (Nesse, 2003).

A finales del siglo XIX comenzó "*la era del aluminio*", cuando se logró un procedimiento sencillo y económico para su obtención. Durante el siglo XX, la química moderna de los compuestos órgano-metálicos, enfocó su atención en el empleo de reactivos de aluminio como catalizadores y la preparación de materiales; de esta manera, el elemento estructural más abundante y más versátil para ser usado por el hombre, quedó liberado al mundo (Nesse, 2003)

Actualmente varias Organizaciones Internacionales que se dedican a velar por el bienestar de la población, señalan que el Sulfato de aluminio, coagulante utilizado de manera generalizada, puede causar impacto en el equilibrio de los ecosistemas, sugiriendo limitar su uso (OMS, 2006).

La importancia de este estudio, se basa en la necesidad de establecer la existencia o no de un impacto de los residuos de aluminio vertidos al río Tomebamba en el efluente de la planta de El Cebollar, para la vida subacuática cercana al punto de descarga; de tal forma que, permita sugerir, se revisen alternativas de tratamiento de los "lodos" de la Planta, antes de ser vertidos al cuerpo receptor como destino final.

La Ecotoxicología utiliza diferentes biomodelos como herramientas para detectar la toxicidad de compuestos en forma de gases, líquidos o sólidos que se encuentren en el ambiente. En la presente tesis, se utilizó una



batería de 5 modelos ecotoxicológicos (*Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays*) debido a que un solo modelo no puede dar una evaluación del efecto sobre toda la cadena trófica del ecosistema.

## CAPITULO II

### 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 EL AGUA

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

El agua puede ser considerada como un recurso renovable cuando se controla cuidadosamente su uso, tratamiento, liberación, circulación; de lo contrario es un recurso no renovable en una localidad determinada.

No es usual encontrar el agua pura en forma natural, aunque en el laboratorio puede llegar a obtenerse o separarse en sus elementos constituyentes, que son el hidrógeno (H) y el oxígeno (O). Cada molécula de agua está formada por un átomo de oxígeno y dos de hidrógeno, unidos fuertemente en la forma H-O-H.

En nuestro planeta las aguas ocupan una alta proporción en relación con las tierras emergidas, y se presentan en diferentes formas (Ramos, 2003):

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

Aproximadamente 97% del agua del planeta es salina, en mares y océanos; apenas 3% del agua total es dulce (no salina), y de esa cantidad un poco más de dos terceras partes se encuentran congeladas en los glaciares y casquetes helados en los polos y altas montañas.

Desde los mares, ríos, lagos, e incluso desde los seres vivos, se evapora agua constantemente hacia la atmósfera, hasta que llega un momento en que se



precipita de nuevo hacia el suelo; de esta agua que cae, una parte se evapora, otra se escurre por la superficie del terreno hasta los ríos, lagos, lagunas y océanos, y el resto se infiltra en las capas de la tierra, y fluye también subterráneamente hacia ríos, lagos y océanos. Esta agua subterránea es la que utilizan los vegetales, los cuales la devuelven después de nuevo a la atmósfera.

Como observamos, al volver el agua a la atmósfera se completa un ciclo, que se denomina Ciclo Hidrológico o Ciclo del Agua. De esta manera la naturaleza garantiza que el agua no se pierda y pueda volver siempre a ser utilizada por los seres vivos.

La vida en la Tierra ha dependido siempre del agua; las investigaciones han revelado que la vida se originó en el agua, y que los grupos zoológicos que han evolucionado hacia una existencia terrestre, siguen manteniendo dentro de ellos su propio medio acuático, encerrado, y protegido contra la evaporación excesiva.

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

Dada la importancia del agua para la vida de todos los seres vivos, y debido al aumento de las necesidades de ella por el continuo desarrollo de la humanidad, el hombre está en la obligación de proteger este recurso y evitar toda influencia nociva sobre las fuentes del preciado líquido.

El agua dulce es un recurso renovable pero la disponibilidad de agua fresca limpia, no contaminada, está disminuyendo de manera constante. En muchas partes del mundo, la demanda de agua ya excede el abastecimiento; a medida que aumenta la población mundial, así también aumenta la demanda de agua limpia. (Valverde, 2005)

Es una práctica acostumbrada el ubicar industrias y asentamientos humanos a la orilla de las corrientes de agua, para utilizar dicho líquido y, al mismo tiempo, verter los residuos del proceso industrial y de la actividad humana; esto trae como consecuencia la contaminación de las fuentes de agua y, por consiguiente, la pérdida de grandes volúmenes de este recurso. (Ramos, 2003)

Actualmente, muchos países que se preocupan por la conservación, prohíben esta práctica y exigen el tratamiento de los residuos hasta llevarlos a medidas admisibles para la salud humana.

Es un deber de todos cuidar nuestros recursos hidrológicos, así como crear la conciencia de que el agua es uno de los recursos más preciados de la naturaleza, por el papel que desempeña en la vida de todos los seres vivos.

### **2.1.1 AGUA POTABLE**

Según la OMS, Agua Potable es el agua utilizada para los fines domésticos y la higiene personal, así como para beber y cocinar. (OMS, 2014)

Es el agua para el consumo humano que puede ser consumida sin restricción debido a que, gracias a un proceso de purificación, no representa un riesgo para la salud y cumple con las normas de calidad promulgadas por las autoridades locales e internacionales.

### **2.1.2 AGUA RESIDUAL**

Puede definirse como agua de composición variada proveniente de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, servicios agrícolas, pecuarios, domésticos y en general, de cualquier otro uso, que por su naturaleza no pueden utilizarse nuevamente en el proceso que la generó, y al ser vertidos en cuerpos receptores pueden implicar una alteración a los ecosistemas acuáticos o afectar la salud humana. (US EPA, 2012)





## 2.2 POTABILIZACION DEL AGUA

La OMS, a través de sus Guías para la calidad del agua, enfatiza que:

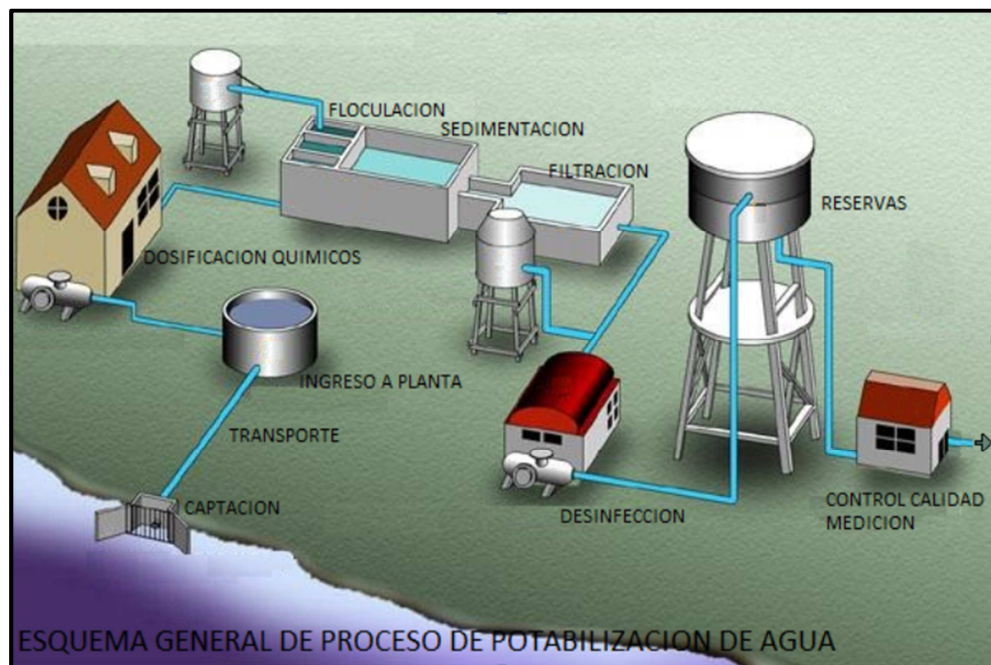
“Las enfermedades relacionadas con la contaminación del agua de consumo tienen una gran repercusión en la salud de las personas. Las medidas destinadas a mejorar la calidad del agua de consumo proporcionan beneficios significativos para la salud.

El agua es esencial para la vida y todas las personas deben disponer de un suministro satisfactorio (suficiente, inocuo y accesible). La mejora del acceso al agua potable puede proporcionar beneficios tangibles para la salud. Debe realizarse el máximo esfuerzo para lograr que la inocuidad del agua de consumo sea la mayor posible”.

Dentro de los diversos procesos de potabilización del agua, recomendadas por las Guías, se encuentra el Tratamiento en las llamadas Plantas de Potabilización. El proceso de potabilización en estas plantas, siguen una serie de pasos que pueden resumirse en las siguientes etapas:

- Captación o toma del agua cruda.
- Tratamiento Primario: Desarenador y Presedimentadores. Antes del envío o transporte del caudal del agua captado hacia la planta, se lo somete a procesos primarios de tratamiento, diseñados para retener sólidos de tamaño fino a medio (gravas y arenas), y cierto material flotante (ramas, hojas, etc.) mediante unidades desarenadoras y presedimentadoras.
- Procesos físico-químicos:
  - Coagulación: Proceso en el que el agua cruda reacciona con agentes coagulantes, principalmente, Sulfato de aluminio, y polímeros, que son sustancias aglomerantes, cuya función es la de formar “grumos” o “coágulos”, con las impurezas que se encuentran suspendidas en el agua, volviéndolas partículas de mayor tamaño y peso.

- Floculación: Proceso en el que, a través de agitación mecánica o hidráulica, en un movimiento lento del agua, se produce la unión de varias moléculas del material químico suspendido con las impurezas (grumos o coágulos), para formar partículas más grandes llamadas *flóculos*. Este proceso tiene lugar en compartimentos o unidades llamadas floculadores.
- Decantación: Luego de la floculación, el agua pasa a unos estanques, en donde ocurre la “precipitación” o “decantación” de los Flóculos, al fondo de los mismos. Para que esto ocurra, es necesario que el agua permanezca varias horas en los estanques “decantadores”.



**Figura 2.1** Esquema General del Proceso de Potabilización del Agua

- Filtración: El agua decantada, entra a estanques en donde se procede a clarificar o filtrar. En la parte superior de estos estanques, se encuentran capas de arena y grava de diferente tamaño, por donde pasa el agua y en donde quedan retenidas las partículas que aún se encuentran suspendidas y que no fueron retenidas en los procesos anteriores. El agua pasa cristalina a la siguiente etapa.

Cuando las unidades de filtración se han saturado, porque están llenas de las impurezas retenidas, se procede al lavado de las mismas, invirtiendo el sentido del flujo de agua que pasa por ellas, y enviando esta agua por canales de limpieza. Este proceso es el llamado **retrolavado** de los filtros.

- **Desinfección:** Este es el último proceso en la potabilización del agua, consiste generalmente en la inyección de cloro, para su desinfección total, eliminando microorganismos que pudieran estar todavía presentes en el agua. De esta manera se garantiza, aparte de un agua desinfectada, la prevención de la contaminación en redes de distribución, y además sirve como indicador de calidad. La cloración, garantiza la calidad sanitaria del agua.
- **Bombeo:** Esta etapa, permite que el agua ya potabilizada, y mediante bombeo, sea llevada a tanques de almacenamiento, para su posterior distribución a las ciudades. Esta etapa depende de la configuración topográfica de la zona de distribución, ya que puede ser reemplazada por distribución a gravedad.

### **2.3 PLANTA DE POTABILIZACION DE EL CEBOLLAR**

La Planta de Tratamiento de El Cebollar, abastece de agua potable a gran parte de la ciudad de Cuenca con 2`100.000 m<sup>3</sup> por mes en promedio, sirviendo a 200.000 personas aproximadamente; está situada en la zona noroeste de la ciudad de Cuenca a 2639 msnm. La Planta potabiliza desde 1949 con excelente calidad, garantizando la salud de todos sus consumidores. En el transcurso del tiempo la Planta se ha ampliado hasta triplicar la capacidad inicial de procesamiento teniendo una capacidad máxima de 1.000 L/s. La planta de El Cebollar, tiene el sistema de tratamiento de tipo convencional, es decir, consta de las siguientes fases: Captación, Conducción, Mezcla rápida, Floculación, Sedimentación, Filtración, Desinfección, Reserva y Distribución. (OMS, 2006)



**Figura 2.2** Planta de Potabilización de Agua de El Cebollar (Cuenca-Ecuador). Vista Aérea.

## 2.4 EL ALUMINIO Y LA CALIDAD DEL AGUA

El aluminio es el elemento metálico más abundante y constituye alrededor del 8% de la corteza terrestre, su símbolo Al, número atómico 13, peso atómico 26.9815, que pertenece al grupo IIIA del sistema periódico. El aluminio puro es blando y tiene poca resistencia mecánica, pero puede formar aleaciones con otros elementos para aumentar su resistencia y adquirir varias propiedades útiles. En la tabla 2.3 se observan algunas de sus propiedades fundamentales.

Nombre	Aluminio
# CAS	7429-90-5
Número atómico	13
Valencia	3
Estado de oxidación	3
Electronegatividad	1,5
Radio covalente (Å)	1,18
Radio iónico (Å)	0,5
Radio atómico (Å)	1,43
Configuración electrónica	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>1</sup>
Primer potencial de ionización (eV)	6
Masa atómica (g/mol)	26,9815
Densidad (g/ml)	2,7
Punto de ebullición (°C)	2450
Punto de fusión (°C)	660

**Tabla 2.3** Información general del aluminio



Es frecuente la utilización de sales de aluminio en el tratamiento del agua como coagulantes para reducir el color, la turbidez, y el contenido de materia orgánica y de microorganismos. Este uso puede incrementar la concentración de aluminio en el agua tratada; una concentración residual alta puede conferir al agua color y turbidez no deseables. La concentración de aluminio que da lugar a estos problemas es, en gran medida, función de varios parámetros de calidad del agua y factores relativos al funcionamiento de la planta de tratamiento del agua. La principal vía de exposición al aluminio de la población general es el consumo de alimentos, sobre todo de los que contienen compuestos de aluminio utilizados como aditivos alimentarios. La contribución del agua de consumo a la exposición total por vía oral al aluminio suele ser menor que el 5% de la ingesta total. (OMS, 2006)

Al parecer, el ser humano absorbe mal el aluminio y sus compuestos, aunque la tasa y grado de absorción no se han estudiado adecuadamente para todos los sectores de la población. El grado de absorción del aluminio es función de varios parámetros, como el tipo de sal de aluminio administrada, el pH (que influye en la especiación y solubilidad del aluminio), la biodisponibilidad y factores nutricionales. Estos parámetros deben tenerse en cuenta en la dosimetría de tejidos y evaluación de la respuesta. Debido a estas consideraciones específicas acerca de la toxicocinética y toxicodinamia del aluminio, no es adecuado determinar un valor de referencia basado en los estudios con animales disponibles actualmente. (OMS, 2006)

Hay escasos indicios de que la ingestión de aluminio por vía oral produzca toxicidad aguda en el ser humano, a pesar de la frecuente presencia del elemento en alimentos, agua de consumo y numerosos antiácidos. *Las Guías para la Calidad del Agua Potable* de la OMS, 2006, pág. 246, citan la Monografía de la OMS de 1997, en relación al aluminio de la serie de *Criterios de Salud Ambiental*, en la que se ha sugerido la hipótesis de que la exposición al aluminio puede ser un factor de riesgo para el desarrollo o aparición temprana de la enfermedad de Alzheimer en el ser humano. Por lo



tanto también sugiere, tomar medidas para controlar la exposición de la población en general.

Debido a las limitaciones de los datos de estudios con animales como modelo para el ser humano y la incertidumbre a la que están sujetos los datos de estudios con personas, no puede calcularse actualmente un valor de referencia basado en efectos sobre la salud para el aluminio. (OMS, 2006).

Se reconocen los efectos beneficiosos del uso de aluminio como coagulante en el tratamiento del agua. Teniendo esto en cuenta, y también los posibles efectos perjudiciales para la salud del aluminio (es decir, su posible neurotoxicidad), se calcula una concentración factible, basada en la optimización del proceso de coagulación en plantas de tratamiento de agua de consumo que utilizan coagulantes que lo contienen, para reducir al mínimo las concentraciones de aluminio en aguas tratadas. (OMS, 2006)

Existen varios métodos para reducir al mínimo las concentraciones residuales de aluminio en aguas tratadas: realizar el proceso de coagulación a un pH óptimo, evitar el uso de dosis excesivas de aluminio, mezclar el coagulante adecuadamente en el lugar de aplicación, ajustar la velocidad de las paletas en la floculación a su valor óptimo, y filtrar de forma eficiente el flóculo de aluminio. En condiciones operativas adecuadas, la concentración de aluminio puede reducirse hasta 0,1 mg/L o menos en instalaciones de tratamiento del agua de gran tamaño. En instalaciones pequeñas (como las que dan servicio a poblaciones de menos de 10 000 personas) puede ser difícil alcanzar esta concentración, ya que las plantas pequeñas tienen poca capacidad para amortiguar las fluctuaciones en la operación; además, estas instalaciones suelen contar con recursos escasos y un acceso limitado a los conocimientos necesarios para solucionar problemas operativos específicos.

En estas instalaciones pequeñas, es factible alcanzar una concentración de 0,2 mg/L o menos de aluminio en el agua tratada. (OMS. 2006, p.246)



### 2.4.1 Sulfato de aluminio

El sulfato de aluminio es una sal, cuya fórmula es  $Al_2(SO_4)_3$ . Se trata de un sólido blanco (en el caso del sulfato de aluminio tipo A, con un contenido de hierro inferior 0.5%) y marrón para el caso del sulfato de aluminio tipo B (contenido de hierro inferior al 1,5%).

En la tabla 2.4 se observan algunas propiedades del mismo.

Su uso principal en la industria, es como coagulante en la purificación de agua potable, en la industria del papel y como mordiente en la industria textil.

Tiene propiedades como coagulante, puesto que a un pH neutro, o ligeramente ácido o alcalino, puede precipitar, arrastrando partículas suspendidas en el agua, clarificándola.

Nombre	Sulfato de aluminio
# CAS	10043-01-3
Fórmula	$Al_2(SO_4)_3$
Estado	Sólido
Apariencia	Cristales blancos
Densidad	2672 kg/m <sup>3</sup> ; 2,672g/cm <sup>3</sup>
Masa molar (g/mol)	342,150 g/mol
Solubilidad en agua	87 g/100 ml de agua

**Tabla 2.4** Información general del Sulfato de aluminio

El Sulfato de aluminio,  $Al_2(SO_4)_3$  es una de las sales más usadas en la remoción de contaminantes, con características que lo hace muy conveniente en su uso: forma un *floc* ligeramente pesado, es de bajo costo y es de uso relativamente sencillo. Los mecanismos de remoción del material particulado, pueden ocurrir por varios mecanismos, sea por co-precipitación del material o a través de la formación de especies insolubles por interacción entre los compuestos hidrolizables del coagulante y las sustancias húmicas. Es ampliamente usada en la industria, comúnmente como floculante en la purificación de agua y en la industria del papel. (Restrepo, 2007)





## 2.4.2 Efectos del aluminio en el Medio Ambiente

Las fases sólidas que contienen aluminio en el medio ambiente, son relativamente insolubles, particularmente a un pH neutro; por ello, la mayoría de aguas naturales contienen bajas concentraciones de aluminio disuelto. Sin embargo, en los entornos ácidos o taponados que reciben aportes muy acidificantes, las concentraciones de aluminio pueden aumentar a niveles perjudiciales, para los organismos acuáticos y las plantas terrestres; la sensibilidad a este metal, difieren mucho de una especie a otra, y dentro de cada especie, depende de la cepa y la etapa de desarrollo en que se encuentre. (Garzón, 2004)

Los efectos del aluminio son de extremada importancia, mayormente debido a los problemas de acidificación. Es conocido que el aluminio se puede acumular en las plantas y por ende, también causar problemas de salud en los animales que se alimenten de ellas. Las concentraciones de aluminio parecen ser muy altas en lagos acidificados; en estos lagos el número de peces y anfibios están disminuyendo debido a las reacciones de los iones de aluminio con las proteínas de las agallas de los peces y los embriones de las ranas; y por supuesto, también sobre los pájaros y otros animales que consumen peces contaminados e insectos y sobre animales que respiran el aluminio a través del aire.

Los efectos sobre los pájaros que consumen peces contaminados son alteraciones en la dureza de la cáscara de los huevos, es más fina y los pollitos nacen con bajo peso. En animales que respiran el aluminio a través del aire se observan problemas de pulmones, pérdida de peso y disminución de la actividad. Otro efecto negativo en el ambiente del aluminio es que sus iones pueden reaccionar con los fosfatos, haciendo que éstos no estén disponibles para los organismos acuáticos.

Altas concentraciones de aluminio no sólo pueden ser encontrados en lagos ácidos y aire, también en aguas subterráneas y suelos ácidos; hay fuertes

indicadores de que el aluminio puede dañar las raíces de los árboles cuando éstas están localizadas en las aguas subterráneas.

### 2.4.3 Contaminación de Efluentes

**Efluente:** En Ecología un efluente es un curso de agua de descarga o vertido de procesos industriales, urbanos o agrícolas.

En una planta de tratamiento de agua potable de filtración rápida se agregan coagulantes y otros reactivos que harán que estos lodos contengan, además de las sustancias orgánicas, otras sustancias adicionales para el tratamiento deseado, por ejemplo, sulfato de aluminio y como subproducto *hidróxido de aluminio*.

Si bien es cierta la potabilización del agua es necesaria, por lo que sus procesos están justificados, el hecho de que con el *tratamiento* se contamina la fuente de agua superficial, aunque sea paradójico, es una realidad.

### 2.4.4 Efectos tóxicos del aluminio en el ser humano

Respecto al ser humano, a pesar de que la toxicidad por aluminio ha sido bien documentada, los mecanismos por los que actúa, no han sido totalmente esclarecidos. Se tienen evidencias de sus acciones perjudiciales en los sistemas celulares y órganos como: cerebro, hígado, hueso, músculo esquelético, corazón y médula ósea. Estudios recientes, hablan sobre la relación del aluminio con la Enfermedad de Alzheimer e insuficiencia renal. Su toxicidad dependerá de la especie química reactiva del aluminio, en función del pH del medio y la capacidad de otros ligandos que interfieran en la hidratación del ión metálico. (Nesse, 2003)

## 2.5 ECOTOXICOLOGIA

Se define a la Ecotoxicología como “la ciencia que estudia la polución, su origen y efectos sobre los seres vivos y sus ecosistemas”

Capó (2007), cita a Truhaut (1975), quien estableció el término de Ecotoxicología en lugar de Toxicología Ambiental, usada hasta ese momento. La Toxicología Ambiental estudia la dosis de un tóxico, pero sin su efecto. En cambio, la Ecotoxicología, evalúa cómo una sustancia que puede ser tóxica para un ambiente definido, interactúa con su ecosistema, en sus acciones y efectos sobre los organismos que lo conforman, de acuerdo a la dosis, tiempo o exposición a la misma y su evolución.

Según Truhaut (1975), los estudios ecotoxicológicos tienen tres secuencias:

1. Liberación del polulante, su origen, sus medios y vías de transporte, factores que influyen en su difusión, sus posibles alteraciones físico-químicas y posibles procesos de acumulación.
2. Ingreso de los polulantes en el medio biológico, es decir su entrada a las cadenas biológicas, alimentarias, etc., que involucra la absorción de estas sustancias por los seres vivos, y sus consiguientes procesos de concentración, retención o biomagnificación, dinamización e interacciones con sus estructuras orgánicas.
3. Calificación y Cuantificación de los efectos patológicos sobre los seres vivos y sus ecosistemas. Con ello, realizar deducciones epidemiológicas y profilácticas.

La Ecotoxicología, permite también realizar un diagnóstico evaluativo que tiende a la predicción, cuyos fundamentos son:

1. La determinación de la dosis del ambiente,
2. La evaluación de la carga y
3. La predicción del riesgo.

De esta manera, los estudios ecotoxicológicos, permitirán informar y alertar la peligrosidad de las actividades tendientes al desarrollo humano, y la degradación del medio ambiente como consecuencia de ello, así como permitirán prevenir los posibles efectos en las comunidades, y ayudando en la



toma de decisiones, de acuerdo al beneficio/riesgo evaluado, que va siempre en concordancia con la calidad de vida.

## **2.6 BIOENSAYOS EN EL MEDIO AMBIENTE**

Generalmente, los contaminantes suelen actuar mezclados y a veces pueden interactuar entre ellos, en consecuencia, la determinación netamente química y sus concentraciones, no suele aclarar sus posibles efectos a nivel biológico. Es necesario entonces, disponer de ensayos que permitan determinar los efectos de los contaminantes en un medio específico, a través de la valoración de sus posibles interacciones en organismos de prueba, cuyos resultados, sean extrapolables a situaciones reales.

### **2.6.1 Ensayos biológicos**

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. (Castillo, 2004)

### **2.6.2 Prueba de toxicidad**

Según Castillo (2004) un ensayo de toxicidad permite la determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantal) o el grado de efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra.

En la actualidad, los ensayos de toxicidad, proporcionan información para la evaluación ecológica de los efectos de los contaminantes tóxicos, a través de estudios con organismos en laboratorio, en condiciones controladas y estandarizadas para la determinación de respuestas, y poder establecer la

relación de sus efectos sobre la abundancia, producción y persistencia de las poblaciones y los ecosistemas. Estas respuestas pueden ser de inhibición o magnificación, y pueden ser evaluados por la reacción de los organismos, tales como la muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, alteraciones en la morfología o fisiología, etc.

### **2.6.3 Criterios para la Selección de Pruebas de bioensayos**

Se siguen varios criterios para la selección de Pruebas Biológicas en laboratorio para la evaluación ecotoxicológica de una sustancia química:

1. Objetivos a alcanzar; es decir para qué se necesitan los bioensayos.
2. Factibilidad:
  - Bajo costo
  - Materiales y métodos disponibles
  - Tiempo máximo de desarrollo
  - Pruebas simples de procedimiento
  - Lectura fácil de resultados.
3. De los organismos:
  - Fácil obtención
  - Fácil mantenimiento
  - Representatividad ecológica: De un grupo funcional, de un grupo taxómico, de una ruta de exposición, de un tipo de respuesta.
  - Estadio más sensible
  - Respuesta relevante al tóxico
  - Sensibilidad a bajas concentraciones
  - Sensibilidad a un amplio espectro de tóxicos
  - Disponibilidad de información de su biología
  - Disponibilidad de información sobre su sensibilidad a tóxicos (Base de datos)
  - Amplia distribución geográfica
  - Especies nativas del lugar
4. De la prueba

- Concentraciones químicas reales
- Técnicamente seguros y no contaminantes
- Factibilidad de ser estandarizada
- Exactitud y precisión analítica
- Aplicación universal
- Significado ecológico de los resultados
- Buenas prácticas de laboratorio
  - Validación de la salud de los organismos de prueba
  - Requerimientos mínimos de sobrevivencia/reproducción en pruebas y testigos
  - Comprobación de concentraciones nominales

#### 2.6.4 Tipos de Pruebas de Toxicidad.

En general las pruebas de toxicidad pueden clasificarse, de acuerdo a Castillo (2004), según los siguientes criterios:

- El método usado para incorporar la muestra al sistema de ensayo: estático, con renovación, flujo continuo.
- El propósito para el que son usadas: control de calidad de vertidos, toxicidad relativa, evaluación de sustancias específicas, etc.
- Tiempo de duración, de acuerdo al ciclo de vida del organismo de prueba:
  - **Agudo:** Se desarrolla en un período corto (minutos, horas o algunos días), dentro del ciclo de vida del organismo empleado.
  - **Crónico:** Se desarrolla en un período relativamente largo de exposición, que represente un lapso superior al 10%, del período de vida del organismo de prueba.

#### 2.6.5 Parámetros determinados a través de las Pruebas de Toxicidad.

Se pueden determinar, a través de las pruebas de toxicidad, concentraciones de tipo letal o subletal para los organismos de prueba. Se describen los siguientes parámetros (CEPIS, 2001):

**CL<sub>50</sub>: Concentración Letal media:** Concentración a la cual el 50% de los organismos de prueba son muertos, durante un período específico de exposición (24, 48 a 96 horas generalmente).

**CE<sub>50</sub>: Concentración Efectiva o de Inhibición media:** Concentración de Efecto, a la que se produce una reducción del 50% en alguna medida del impacto crónico (reducción de la fecundidad, crecimiento, etc.), durante un período de exposición específico, que puede ser el ciclo de vida de los organismos de prueba (meses o un período mayor).

**NOEC:** Concentración en la que NO se observa efecto. Es la concentración mayor de tóxico a la que no se producirá ningún efecto negativo, aun cuando la exposición sea continua.

**LOEC:** concentración más baja de la sustancia tóxica a la cual se observa efecto sobre el organismo de prueba, en las condiciones y tiempo establecidos.

**TOEC:** Concentración umbral a la cual se observa efecto (media geométrica del NOEC y LOEC).

## 2.6.6 EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL A TRAVÉS DE LA ESTIMACIÓN DE UNIDADES DE TOXICIDAD (UT)

La CEPIS (2001), emite dos criterios para considerar a las sustancias tóxicas:

1. Como “sustancia química individual”, es decir una sustancia química específica (aluminio, Plomo, Lindano, etc.).
2. Como “toxicidad total del efluente”; sin embargo al considerarse al efluente como una mezcla compleja de sustancias químicas, de difícil caracterización individual específica, su toxicidad, se mide a través de pruebas toxicológicas, las que a su vez proporcionan parámetros como la CL<sub>50</sub>, CI<sub>50</sub>, NOEC, LOEC, etc., a partir de los cuales se determinan las unidades de toxicidad en cuerpos de agua y vertimientos.



### 2.6.6.1 Determinación de las Unidades de Toxicidad

La relación entre la toxicidad y la concentración del bioensayo es inversamente proporcional, es decir que a menor concentración letal para el 50% de los organismos del mismo (CL<sub>50</sub>, CI<sub>50</sub>), mayor es la toxicidad del efluente.

Según Castillo (2004), una Unidad de Toxicidad, UT, define el grado de toxicidad de un efluente, o la concentración de una sustancia expresada como fracción del punto final de toxicidad medido.

La CEPIS (2001), establece para el cálculo de la UT:

$$UT = 100/(CL_{50} \text{ o } CI_{50})$$

Donde el valor de CL<sub>50</sub> o CI<sub>50</sub> está expresado como porcentaje del efluente en agua de dilución.

La UT también debe ser definida para cada una de las medidas de toxicidad:

UT<sub>a</sub> = Unidad de Toxicidad aguda

UT<sub>c</sub> = Unidad de Toxicidad crónica (con un CL<sub>50</sub> establecido para siete días).

Ramírez (2003), cita a Zagatto, et al., quien propone la siguiente tabla para expresar el Nivel de Incidencia Toxicológico basado en Unidades de Toxicidad.

NIVEL DE INCIDENCIA	UNIDADES TÓXICAS
No tóxico	1
Levemente tóxico	> 1 - 1,3
Moderadamente tóxico	> 1,3 - 2
Tóxico	>2 - 4
Muy tóxico	> 4

**Tabla 2.5** Nivel de incidencia Toxicológico en Unidades de Toxicidad.

### 2.6.6.2 Criterios para Unidades de Toxicidad

La US EPA de los Estados Unidos, ha propuesto niveles de unidades de toxicidad aguda y crónica, para la protección de los ecosistemas acuáticos.

Para la protección de los efectos agudos, se ha propuesto el **Criterio de Concentración Máxima, CMC** (por sus siglas en inglés) para la toxicidad total del efluente, el cual no puede exceder de 0.3 Unidades de toxicidad aguda, medidos en la especie más sensible, de tres estudiadas.

$$CMC < 0.3 UT_a$$

Para la protección crónica, se estableció el **Criterio de Concentración Continua (CCC)**, la cual no debe exceder de 1,0 Unidades de toxicidad crónica, para la más sensible de por lo menos tres especies de prueba.

$$CCC < 0.1 UT_c$$

Con la determinación de las Unidades de Toxicidad, se pueden hacer cálculos de dilución, para poder encontrar la Concentración Tóxica (CT) en un cuerpo de agua, en una sección aguas abajo de un vertimiento, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$CT = \frac{Q_{caa} * UT_{caa} + Q_v * UT_v}{Q_{cab}}$$

En donde:

$Q_v$  = Caudal del vertimiento ( $m^3/s$ )

$UT_v$  = Unidades de Toxicidad medidas en el vertimiento (UT)

$Q_{caa}$  = Caudal del cuerpo receptor antes del vertimiento ( $m^3/s$ )

$UT_{caa}$  = Unidades de Toxicidad en el cuerpo receptor antes del vertimiento (UT)

$Q_{cab}$  = Caudal del cuerpo receptor aguas abajo del vertimiento ( $m^3/s$ )

CT = Concentración Tóxica, en Unidades de Toxicidad en el cuerpo receptor después del vertimiento (UT).

Si se asume que las UT en el cuerpo receptor aguas arriba del vertimiento ( $UT_{caa}$ ) son despreciables, se tiene:

$$CT = \frac{Q_v * UT_v}{Q_{cab}}$$

### 2.6.6.3 Índice de Contaminación Tóxica – ICOTOX

Este índice permite valorar el impacto ambiental en aguas continentales causado por vertimientos. Se calcula a partir de las Unidades de Toxicidad, y tienen por objeto hacerlas comparables con otros índices de toxicidad. (Restrepo, 2003)

Se lo obtiene a partir de la siguiente ecuación:

$$ICOTOX = 0,26 + 0,96 \text{ Log (UT)}$$

NIVEL DE INCIDENCIA	VALOR DE ICOTOX
No Tóxico	<0,26
Levemente Tóxico	0,26-0,37
Moderadamente Tóxico	0,37-0,55
Tóxico	0,55-0,84
Muy Tóxico	>0,84

**Tabla 2.6** Nivel de Incidencia Toxicológico de acuerdo al índice de contaminación ICOTOX

Para valores UT superiores a 4, el índice ICOTOX, se vuelve automáticamente igual a 1, indicando un nivel de incidencia muy tóxico.

### 2.6.7 Batería de ensayos

Combinación de diversos ensayos de toxicidad con diferentes organismos. En la realización de las pruebas de toxicidad, se recomienda la utilización de más de una especie, para permitir una determinación cuidadosa y más ajustada de la toxicidad, debido a que los organismos acuáticos, responden de diversa forma a los tóxicos. Puede ser que los invertebrados reaccionen

con menor sensibilidad frente a los peces frente a un determinado tóxico, o puede ser lo contrario frente a otra sustancia.

#### **2.6.7.1 Bioensayo con Cladóceros**

La prueba se basa en la determinación de efectos letales agudos como inmovilización o mortalidad, observados en un tiempo de 48 horas, en especies de cladóceros planctónicos.

Los cladóceros más usados para este tipo de bioensayos son: *Daphnia magna*, *Daphnia exilis*, *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia* o *Moina Macrocopa*. La identidad de las mismas debe ser especificada por un especialista, debiéndose proporcionar el origen de la cepa, y en lo posible el número de catálogo.

Todas estas especies, son filtradoras, consumiendo variedad de partículas, incluidas especies de microalgas, y materia orgánica suspendida. Por ello se les considera componentes importantes en los ecosistemas acuáticos, que permiten el flujo energético entre los productores primarios y superiores de consumidores de las cadenas tróficas de los sitios donde se encuentran.

#### **2.6.7.2 Bioensayo en peces**

Los peces son considerados los organismos de prueba idóneos, para la realización de los ensayos de toxicidad, debido a su posición en la cadena trófica. Permiten además la realización de estudios histológicos y patológicos.

La CEPIS (2001), considera que los peces al ser fuente importante de alimento para los seres humanos, los estudios realizados en ellos sobre el contenido y concentración de sustancias tóxicas, son un componente importante dentro de un estudio toxicológico.

En peces, se pueden hacer, una amplia gama de bioensayos para diferentes etapas de desarrollo de su organismo, como son bioensayos en huevos, larvas, reproducción, etc.

Tienen una serie de ventajas:

- Están en el nivel más alto de la cadena trófica, constituyéndose en el predictor más certero de las condiciones de un medio acuático.
- La toxicología en los peces puede ser fácilmente estudiada, debido a que parámetros como la química sanguínea, tejidos y órganos, pueden valorarse sin dificultad. (Castillo, 2004)

### **2.6.7.3 Bioensayo de germinación de semillas**

Son pruebas importantes para la evaluación del efecto de los tóxicos en la promoción o inhibición del desarrollo y surgimiento radicular (efecto letal) en la semilla a diferentes concentraciones del tóxico, además de proporcionar datos sobre el alargamiento radicular (efecto subletal). Estos son parámetros de fitotoxicidad.

Las pruebas de toxicidad en semillas, proporcionan datos acerca del posible efecto de los tóxicos y contaminantes en las comunidades vegetales, cercanas a las márgenes de cuerpos de agua contaminados.

Presentan algunas ventajas:

- Fácil manipulación
- Bajo costo
- Las plantas son más sensibles al estrés ambiental.
- Mínimos requerimientos en cuanto a las condiciones de realización de las pruebas y ajuste de las muestras.
- Son bioensayos de fácil y rápida germinación, por lo tanto se pueden desarrollar en pocos días.

- No se requiere de aparatos especializados.
- El tiempo de exposición al tóxico es reducido. (Castillo, 2004)

### **2.6.8 Protocolo**

Es un conjunto de procedimientos explícitos para un ensayo o experimento, de acuerdo con lo establecido entre las partes y descrito en un documento.

### **2.6.9 Replicado**

Es una cámara o recipiente de ensayo, conteniendo un número especificado de organismos en una concentración/dilución de muestra definida o de agua de dilución como control. En un ensayo de toxicidad con cinco concentraciones de ensayo y un control que usa tres replicados, se utilizan 18 cámaras de ensayo con tres cámaras por concentración. Un replicado debe ser una unidad separada o independiente de ensayo.

## **2.7 pH**

El pH es la medida de acidez o alcalinidad de una disolución, la escala de pH típicamente va de 0 a 14 en disolución acuosa. Se puede medir de forma precisa mediante un pH-metro, o empleando indicadores. Se conoce que a mayor acidez, la toxicidad por aluminio es también mayor. (US EPA, 2012 b)

### **2.7.1 pH metro**

Instrumento analítico que consta de un sensor o electrodo selectivo para el ion hidrógeno y de un sistema electrónico que captura la señal de concentración como una señal eléctrica y la traduce en una escala de valores numéricos. En consideración a que cualquier diferencia de concentración puede asociarse a una diferencia de potencial eléctrico, un pH metro es, en principio, un voltímetro que mide diferencias de potencial eléctrico, asociadas



a diferencias de concentración. De ahí el origen de su denominación como “potenciómetro”.

## **2.8 ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA (AES) CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP)**

De una manera muy general, la espectroscopía de emisión atómica es un proceso en el que se mide la luz emitida por un átomo o ión en estado excitado.

El principio del análisis de metales mediante *espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma acoplado por inducción* (ICP/AES, del inglés «*inductively coupled plasma/atomic emission spectrometry*») es el siguiente:

Una fuente de plasma acoplado por inducción es un flujo de gas argón ionizado mediante la aplicación de una frecuencia de radio. Se genera un aerosol de la muestra en un nebulizador y una cámara de nebulización y se lleva a continuación al plasma a través de un tubo inyector. La temperatura alta del plasma calienta y los átomos de la muestra y los excita. Al regresar a su estado fundamental, los átomos excitados producen espectros de emisión de los iones. Un monocromador separa longitudes de onda específicas correspondientes a diferentes elementos y un detector mide la intensidad de radiación de cada longitud de onda. Se logra así una reducción significativa de la interferencia de sustancias químicas.

En muestras de agua poco contaminadas, pueden realizarse análisis simultáneos o secuenciales sin que sea necesario un tratamiento previo especial para alcanzar límites de detección bajos para muchos elementos. Esto, junto con la ampliación del intervalo analítico de tres a cinco cifras, implica que pueden analizarse múltiples metales. (OMS, 2006)

## **2.9 MÉTODOS DE PRUEBA**

La Norma Oficial Ecuatoriana, determina que se deberán aplicar los métodos establecidos en el manual “Standard Methods for the Examination of Water



and Wastewater”, en su más reciente edición, para la aplicación de técnicas y métodos para establecer los valores y concentración de los diferentes parámetros de análisis de aguas, y en consideración de las Normas del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:98. Agua. (APHA, 2011; TULAS, 2003)

### **2.9.1 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas residuales)**

Desde 1905, este manual ha representado la “mejor práctica actual de análisis de agua”, pues se trata de una referencia integral que abarca todos los aspectos y técnicas de análisis de agua y aguas residuales. Esta es una publicación conjunta de la American Public Health Association (APHA), la American Water Works Association (AWWA) y la Water Environment Federation (WEF).



## CAPITULO III

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### METODOLOGÍA

Para evaluar la toxicidad por aluminio del efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar sobre el Río Tomebamba, se desarrolló una metodología basada en el minucioso y estricto procedimiento científico, el uso de métodos estandarizados, garantizado por laboratorios que cuentan con las certificaciones de calidad y por tanto garantizando la replicabilidad de resultados.

Se realizaron los siguientes procedimientos:

- Selección de la descarga a ser estudiada
- Diseño estadístico del experimento
- Metodología de campo
- Selección y manejo de los organismos de prueba
- Determinación de la toxicidad en la descarga del vertido
- Registro de la Información obtenidas a partir de las pruebas de toxicidad
- Información físico-química
- Procesamiento de datos y análisis de la información
- Determinación de resultados

#### 3.1 SELECCIÓN DE LA DESCARGA A SER ESTUDIADA

Luego de varias entrevistas y reuniones con personal técnico de la empresa ETAPA EP; se identificó el punto de vertido del efluente de la planta potabilizadora de El Cebollar al Río Tomebamba, se procedió posteriormente a una visita de reconocimiento en campo para definir los puntos de muestreo aguas arriba y aguas abajo de la descarga, y en la descarga misma; también se pudo definir la logística necesaria para el muestreo.



**Figura 3.1** Ubicación geográfica de la Planta El Cebollar y Puntos de Muestreo

Posteriormente se mantuvo una reunión con el personal técnico a cargo de la Planta, para conocer las rutinas y los manuales de operación y mantenimiento, con la finalidad de identificar probables fechas para realizar los muestreos, en coincidencia con al lavado de unidades y factores climáticos diversos.



**Figura 3.2** Estado del sedimentador previo a su lavado



**Figura 3.3** Colmatación de las unidades de sedimentación

### **3.2 DISEÑO ESTADÍSTICO DEL EXPERIMENTO**

Las pruebas de toxicidad, se basan en los principios teóricos del diseño estadístico de experimentos, cuya técnica permite identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental (relación causa-efecto, relación dosis-respuesta), además de garantizar la validez y confiabilidad de los resultados obtenidos.

En este tipo de pruebas, se consideran, los niveles de medición de cada una de las variables y el número de organismos o individuos que se utilizarán en la experimentación. Además, se deben considerar todas las variables o situaciones controlables y no controlables del experimento, debido a su importancia para garantizar la validez o confiabilidad de la prueba. Los resultados obtenidos deben ser atribuibles a la relación causa-efecto evaluada y no a factores no considerados en el experimento.

De acuerdo a lo indicado, se definirán los siguientes aspectos (Díaz, 2009):

a) Reconocimiento y formulación del problema, para identificar claramente las causas que lo originan.

- b) Selección de factores o variables independientes que se van a analizar y escoger sus rangos o niveles ya sean fijos (conocidos) o aleatorios (al azar), además del número de factores y niveles que determinarán el tamaño del experimento.
- c) Selección de las variables de respuesta. La variable dependiente o de respuesta debe ser aquella que proporcione una información real sobre el problema en estudio. Se debe indicar cómo va a medirse esa variable y la precisión de las variables.
- d) Selección del diseño experimental. Se selecciona el diseño más adecuado, para garantizar la confiabilidad de los resultados (número de factores, agrupación de unidades experimentales y número de repeticiones por cada bloque).
- e) Realización del experimento: Recolección de datos, control del plan trazado inicialmente, atención al mecanismo de aleatorización, manejo de instrumentos de medida, definición de unidades experimentales, mantenimiento de la forma más uniforme las condiciones ambientales de experimentación, personal entrenado.
- f) Análisis de los datos.
- g) Conclusiones y recomendaciones.

El diseño experimental del presente estudio, se basó en las normas de la OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), y de la Agencia de Medio Ambiente de Estados Unidos US EPA. (Test de la OPPTS, Office of Chemical Safety and Pollution Prevention), que plantean los Protocolos de Bioensayos para el desarrollo de las pruebas de toxicidad, y que fueron realizados en el Laboratorio de Fisiología Vegetal, de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo, de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Laboratorio Certificado.

El análisis Físico-químico de las muestras, es decir determinación de concentración de aluminio y valoración del pH, se realizó en el Laboratorio de Saneamiento de la Empresa Pública de Telecomunicaciones, Agua Potable y Saneamiento de la ciudad de Cuenca, ETAPA EP. Laboratorio Certificado. Los



análisis, se basan en las normas establecidas en el Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, Edición 22.

### 3.3 METODOLOGIA DE CAMPO

#### 3.3.1 Muestreo

La recolección de muestras se realizó en los puntos escogidos para el Efluente (Tubería exclusiva que viene directamente de la planta de potabilización, y en el Río Tomebamba, aguas arriba y aguas abajo del vertido del efluente).



**Figura 3.4** Puntos del muestreo del Efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar, aguas arriba y abajo del efluente.

Se realizaron 3 muestreos, con los cuales se cubrieron condiciones punta del efluente, generadas por el vaciado para lavado de diferentes unidades de tratamiento: sedimentadores y floculadores, coincidiendo con estados climáticos distintos que producen condiciones diferentes de caudal del río: cauce normal y creciente.

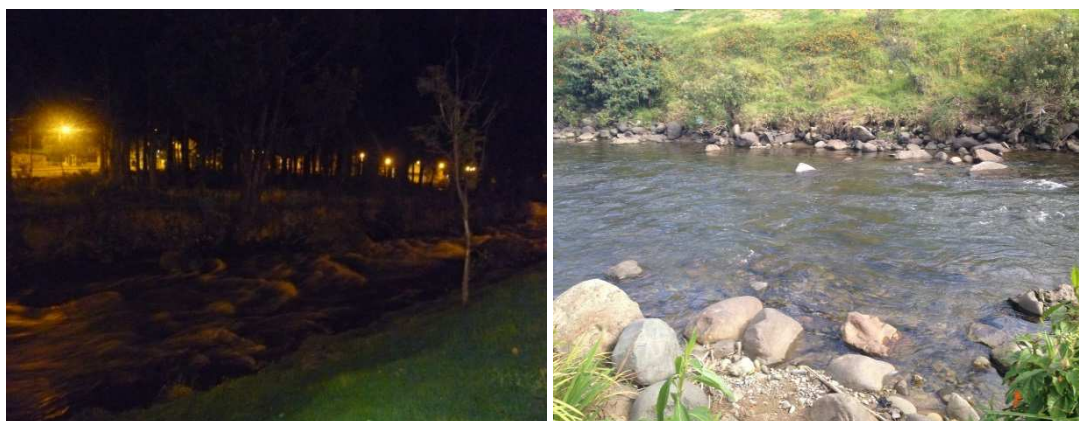
En cada jornada se recolectaron y conformaron muestras compuestas, con una duración equivalente a la duración del vaciado de las unidades de tratamiento en

mantenimiento. Cada muestra compuesta resultó de la sumatoria de las sub muestras tomadas cada 15 minutos durante el periodo de vertido del efluente (aproximadamente 50 minutos). (Fig. 3.9, 3.10, 3.11, 3.12)

La muestra compuesta se conformó en sitio, tomando partes proporcionales en volumen de cada sub muestra.



**Figuras 3.5 y 3.6** Sitio de descarga del efluente de la Planta de El Cebollar y su posterior salida sobre el Río Tomebamba.



**Figuras 3.7 y 3.8** Sitios de toma de muestra aguas arriba y aguas abajo del efluente

La extracción de las sub muestras se realizó mediante el siguiente procedimiento:

- En el efluente, la facilidad de acceso, permitió la toma de la muestra en forma directa; esto se realizó cada 15 minutos aproximadamente, hasta culminar con el vaciado de la unidad en mantenimiento desde la Planta.





**Figuras 3.9 y 3.10** Toma de muestras en el efluente.

- En los puntos aguas arriba y aguas abajo del efluente, se colocó en una pértiga para toma de muestras un recipiente de polietileno lineal, extrayendo la muestra equivalente a 2 litros de volumen. Así mismo, esto se realizó cada 15 minutos.



**Figuras 3.11 y 3.12** Toma de muestras aguas arriba y aguas abajo de efluente.

Con estas sub muestras se procedió a conformar las muestras compuestas finales.

La pértiga fue utilizada para la extracción de muestras en el río, para asegurar que sea tomada en un punto de flujo homogéneo; es decir, al ser un río de montaña, es necesario evitar puntos muertos de flujo por efectos de la forma del lecho y por la cantidad de piedras de considerable tamaño que contiene. Los volúmenes de muestras compuestas recolectados, y en función de los análisis y bioensayos requeridos, fueron los siguientes:



FECHA MUESTREO	# MUESTRAS NECESARIA (para ensayos laboratorio)		# SUB Muest.	HORA de extrac.	VOLUMEN RECOGIDO DE SUBMUESTRA A (cm <sup>3</sup> )	* ALICUOTA PARA COMPOSICIÓN (FISICO-QUIMICO) (cm <sup>3</sup> )	* ALICUOTA PARA COMPOSICIÓN (BIOENSAYOS) (cm <sup>3</sup> )	VOLUMEN MUESTRA COMPUESTA (FISICO QUIMICO) (cm <sup>3</sup> )	VOLUMEN MUESTRA COMPUESTA (BIOENSAYOS) (cm <sup>3</sup> )
	1000 cm <sup>3</sup>	4000 cm <sup>3</sup>							
<i>EFLUENTE</i>									
<b>12/06/2013</b>	1	1	1	20h15	2.000	250	1.000	1.000	4.000
			2	20h31	2.000	250	1.000		
			3	20h45	2.000	250	1.000		
			4	21h02	2.000	250	1.000		
<i>AGUAS ARRIBA DE DESCARGA DE EFLUENTE</i>									
<b>12/06/2013</b>	1	1	1	20h15	6.000	1.000	4.000	1.000	4.000
<i>AGUAS ABAJO DE DESCARGA DE EFLUENTE</i>									
<b>12/06/2013</b>	1	1	1	20h18	2.000	250	1.000	1.000	4.000
			2	20h35	2.000	250	1.000		
			3	20h48	2.000	250	1.000		
			4	21h06	2.000	250	1.000		
<i>EFLUENTE</i>									
<b>26/06/2013</b>	1	1	1	19h50	2.000	333	1.333	1.000	4.000
			2	20h05	2.000	333	1.333		
			3	20h21	2.000	333	1.333		
<i>AGUAS ARRIBA DE DESCARGA DE EFLUENTE</i>									
<b>26/06/2013</b>	1	1	1	20h27	6.000	1.000	4.000	1.000	4.000
<i>AGUAS ABAJO DE DESCARGA DE EFLUENTE</i>									
<b>26/06/2013</b>	1	1	1	19h53	2.000	333	1.333	1.000	4.000
			2	20h09	2.000	333	1.333		
			3	20h24	2.000	333	1.333		
<i>EFLUENTE</i>									
<b>20/08/2013</b>	1	1	1	19h24	2.000	333	1.333	1.000	4.000
			2	19h41	2.000	333	1.333		
			3	19h56	2.000	333	1.333		
<i>AGUAS ARRIBA DE DESCARGA DE EFLUENTE</i>									
<b>20/08/2013</b>	1	1	1	20h05	6.000	1.000	4.000	1.000	4.000
<i>AGUAS ABAJO DE DESCARGA DE EFLUENTE</i>									
<b>20/08/2013</b>	1	1	1	19h27	2.000	333	1.333	1.000	4.000
			2	19h44	2.000	333	1.333		
			3	20h00	2.000	333	1.333		

\* Se considera caudal constante de la descarga

**Tabla 3.1** Integración de las muestras compuestas. Cálculo de alícuotas



Los volúmenes de muestras compuestas recolectados, y en función de los análisis y bioensayos requeridos, fueron los siguientes:

Muestra	Punto de muestreo	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Cantidad
<b>Análisis físico-químico</b>			
Muestra 1 12/06/2013	Aguas arriba de descarga efluente	1.000	1
	Efluente	1.000	1
	Aguas abajo de descarga efluente	1.000	1
Muestra 2 26/06/2013	Aguas arriba de descarga efluente	1.000	1
	Efluente	1.000	1
	Aguas abajo de descarga efluente	1.000	1
Muestra 3 20/08/2013	Aguas arriba de descarga efluente	1.000	1
	Efluente	1.000	1
	Aguas abajo de descarga efluente	1.000	1
<b>Bioensayo</b>			
Muestra 1 12/06/2013	Aguas arriba de descarga efluente	4.000	1
	Efluente	4.000	1
	Aguas abajo de descarga efluente	4.000	1
Muestra 2 26/06/2013	Aguas arriba de descarga efluente	4.000	1
	Efluente	4.000	1
	Aguas abajo de descarga efluente	4.000	1
Muestra 3 20/08/2013	Aguas arriba de descarga efluente	4.000	1
	Efluente	4.000	1
	Aguas abajo de descarga efluente	4.000	1

**Tabla 3.2** Volúmenes requeridos para realizar los bioensayos y análisis físico-químicos

Se indica que, la temperatura fue medida en campo para cada muestra, utilizando un termómetro calibrado marca COMARK, modelo C28 K TYPE.



**Figura 3.13** Medición de Temperatura en el sitio del muestreo.

Los datos obtenidos en la toma de muestras realizadas en las diferentes fechas seleccionadas, en el efluente de la planta de potabilización, aguas arriba y aguas abajo, presentan:

1. Fecha del muestreo
2. Hora de inicio de lavado de sedimentadores, hora de llegada de la descarga del efluente hacia el río Tomebamba y duración en tiempo del lavado del sedimentador
3. Hora de la toma de muestras, la temperatura y el pH, en cada sitio de muestreo
4. Tiempo de descarga del efluente
5. Volumen calculado del sedimentador

Este valor se calculó a través de los datos de capacidad del sedimentador, proporcionados por la misma Planta de El Cebollar.

6. Caudal medio de descarga

Se calculó a través de los datos obtenidos del volumen del sedimentador medido y el tiempo de descarga del efluente, con la fórmula:

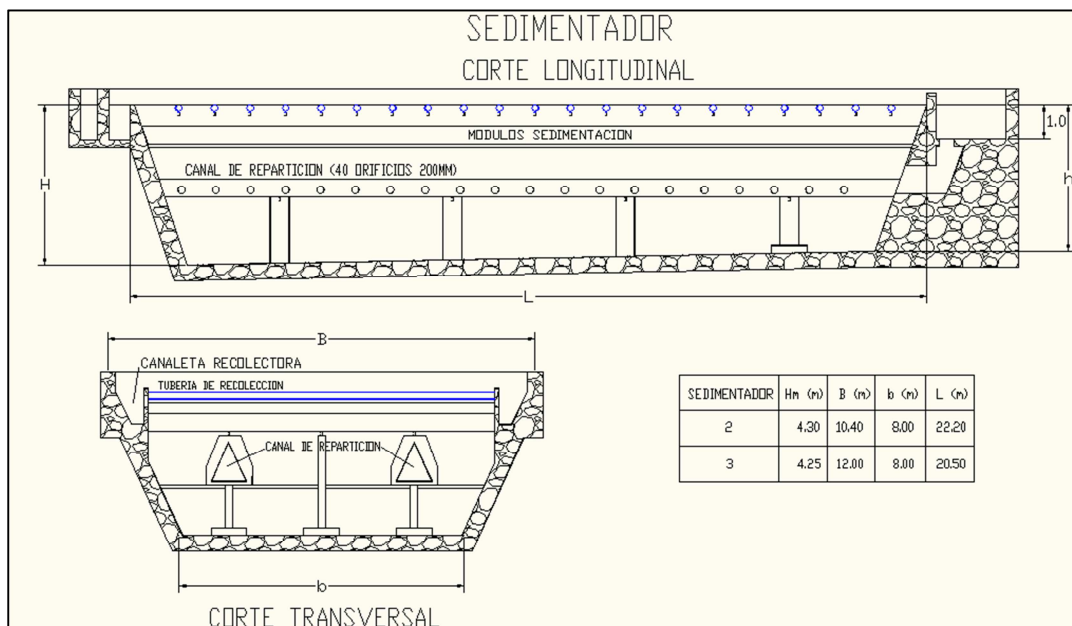
$$Q = \frac{V \text{ (m}^3\text{)} \times 1000}{t \text{ (min.)} \times 60}$$

En donde:

Q= Caudal medio de descarga L/s)

V= Volumen del sedimentador (m<sup>3</sup>)

t= Tiempo de descarga del sedimentador (min)



**Figura 3.14** Esquema de un sedimentador. Corte longitudinal.

<b>MUESTREO</b>	<b>MUESTREO 1 12/06/2013</b>	<b>MUESTREO 2 26/06/2013</b>	<b>MUESTREO 3 20/08/2013</b>
	DESCARGA: COLEGIO SAGRADOS CORAZONES LAVADO SEDIMENTADOR 3	DESCARGA: COLEGIO SAGRADOS CORAZONES LAVADO SEDIMENTADOR 2	DESCARGA: COLEGIO SAGRADOS CORAZONES LAVADO SEDIMENTADOR 2
<b><u>MEDIDA DE TIEMPO DE LLEGADA</u></b>			
FECHA	12/06/2013	26/06/2013	20/08/2013
HORA INICIO LAVADO	19h45	19h33	19h07
HORA DE LLEGADA DE EFLUENTE	19h56	19h39	19h19
TIEMPO DE LLEGADA	11m16s	06min	12min
<b><u>EFLUENTE</u></b>			
HORA DE TOMA DE MUESTRA	20h15-20h31-20h45-21h02	19h50-20h05-20h21	19h24-19h41-19h56
TEMPERATURA MEDIA	12.4 °C	13 °C	11°C
<b><u>PUNTO AGUAS ABAJO</u></b>			
HORA DE TOMA DE MUESTRA	20h05	20h17	19h33
TEMPERATURA MEDIA	11.4 °C	13 °C	11°C
<b><u>PUNTO AGUAS ARRIBA</u></b>			
HORA DE TOMA DE MUESTRA	20h15	20h27	20h05
TEMPERATURA	11.4 °C	13 °C	11°C
<b><u>TIEMPO DE DESCARGA DE CAUDAL DE EFLUENTE</u></b>			
HORA DE LLEGADA DE EFLUENTE	19h56	19h39	19h19
HORA DE FINALIZACIÓN EFLUENTE	21h22	20h33	20h10
TIEMPO DE DESCARGA	1h26	54min	51min
VOLUMEN CALCULADO DE SEDIM.	871 m <sup>3</sup>	925,672 m <sup>3</sup>	925,672 m <sup>3</sup>
CAUDAL MEDIO DE DESCARGA	168,80 L/s	285,70Lit/s	302,51 L/s
CAUDAL MEDIO DEL RIO			
TOMBAMBA EN MUESTREO	27410 L/s	2280 L/s	2790 L/s

**Tabla 3.3** Caudales calculados del efluente y registro de temperaturas en el muestreo

### 3.3.2 Transporte y Preservación de Muestras

Las muestras recolectadas fueron almacenadas en recipientes de polietileno lineal (inerte) con capacidad para almacenar un volumen de muestra suficiente para la realización de las diferentes pruebas de toxicidad y análisis físico-químicos.

La selección del tamaño de los recipientes, se escogió considerando que después de su llenado, el volumen vacío restante no permita la oxigenación excesiva de la muestra ni tampoco se generen condiciones anaerobias por falta de aire, lo que provocaría que la muestra se altere; se consideró además que dispongan de cierre hermético.

Las muestras recolectadas, fueron etiquetadas debidamente, identificando el sitio de la recolección y temperatura y pH medidos. Fueron conservados en refrigeración a 4°C, hasta su envío hacia los Laboratorios de Saneamiento de ETAPA EP para los análisis físico-químicos y el de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil para los bioensayos.



**Figuras 3.15 y 3.16** Identificación de muestras.

El traslado de las muestras hacia los laboratorios, se realizaron en cajas térmicas, y geles congelantes, garantizando el transporte y entrega en los laboratorios en condiciones óptimas.

### 3.4 SELECCIÓN DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA

La selección adecuada de los organismos de prueba, permite obtener una máxima información de los bioensayos, y resultados representativos de las condiciones ambientales de los ecosistemas evaluados. Así también es importante seleccionar organismos de diferentes niveles tróficos, que aporten con información real de lo que sucede con los contaminantes que llegan al medio acuático.

En el presente estudio, se utilizaron como especies bioindicadoras en la realización de los ensayos toxicológicos, los siguientes organismos: *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*. Las razones se exponen a continuación.

#### 3.4.1 *Daphnia magna*



Figuras 3.17 y 3.18 *Daphnia magna*

Dentro del grupo cladóceros, las especies del género *Daphnia* (*D. magna*, *D. pulex*; *D. similis*), son los más usados como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad.

*Daphnia magna* es un crustáceo del zooplancton de agua dulce, conocido como “pulga de agua” que mide de 1 a 3 mm. Vive de manera natural en



cuerpos de aguas naturales como lagos, lagunas, charcas temporales, etc., alimentándose de algas microscópicas y sirviendo, a su vez, de alimento a los peces. Las "pulgas de agua" tienen varios aspectos biológicos interesantes que las hacen ideales para los ensayos. A su corta vida (3 ó 4 semanas) se suma una alta fecundidad: una vez alcanzada su madurez se reproduce cada 48 horas. Prácticamente todos los individuos que se utilizan son genéticamente idénticos. Esto se debe a que se reproducen por "partenogénesis" (parthenos = virgen), es decir que los huevos se desarrollan en embriones sin previa fecundación.

Pero la característica más interesante es su sensibilidad a los tóxicos, ya que es capaz de acusar la presencia de, por ejemplo, 0,005 mg del peligroso mercurio en el agua, y aún menores concentraciones de numerosos pesticidas y residuos industriales.

Las pruebas de toxicidad se hacen con los neonatos, que son los juveniles con edad menor a 24 horas. La respuesta que se evalúa es la inmovilización o mortalidad de los organismos de prueba a las 48 horas de exposición a los tóxicos en estudio.

Con *D. magna* y otros Cladóceros se hacen, generalmente, dos tipos de bioensayos: de toxicidad aguda y de toxicidad crónica. En los de toxicidad aguda se evalúa la concentración del tóxico (conocido o desconocido) que es capaz de matar o inmovilizar el 50 % de la población (CL<sub>50</sub> o CE<sub>50</sub>) en 48 horas. Si un test de toxicidad aguda no detecta efecto alguno de mortandad o inmovilización esto no siempre significa que el agua analizada no contenga sustancia alguna capaz de producir otro tipo de daño. Para estos casos se utilizan los test de toxicidad crónica en los que la evaluación se basa en la capacidad reproductiva o el crecimiento de los individuos. Es posible, entonces, con estas técnicas, dar en pocas horas una respuesta sobre la incidencia de efluentes industriales en un ambiente acuático. (Castillo, 2004)

### 3.4.2 Semillas de Lechuga (*Lactuca sativa*)



**Figura 3.19** Semillas de *Lactuca sativa* germinadas

Se trata de una prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición), que permite evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. El punto final de la prueba, es determinar la inhibición en la germinación y en la elongación de la radícula y el hipocotilo. La presencia de cualquier sustancia tóxica, puede interferir en el desarrollo de la plántula, así como en los procesos fisiológicos que ocurren durante esta fase tan sensible de germinación y crecimiento.

La evaluación del desarrollo de la radícula y del hipocotilo, es muy importante por ser indicadores representativos, que determinan la capacidad de establecimiento y desarrollo de la planta. Y por esta misma razón, se puede ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles, muchas veces disueltos en concentraciones tan bajas, que pueden no inhibir la germinación, pero sí, retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la raíz o del hipocotilo. Estos son dos indicadores subletales muy sensibles, que permiten evaluar el efecto biológico de diversas sustancias en los vegetales, adicional al efecto sobre la germinación que podría darse.

Las pruebas de toxicidad en semillas, proporcionan datos acerca del posible efecto de los tóxicos y contaminantes en las comunidades vegetales,



cercanas a las márgenes de cuerpos de agua contaminados, aún más si se tratan de márgenes en zonas hortícolas.

En general, muchas de las reacciones y procesos involucrados en el desarrollo, son similares para la gran mayoría de las semillas o plántulas, de manera que los bioensayos de toxicidad son iguales para las diferentes especies (*Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*, por ejemplo). Son bioensayos de fácil y rápida germinación, por lo tanto se pueden desarrollar en pocos días. Además de ser pruebas de bajo costo, no se requiere de aparatos especializados y el tiempo de exposición al tóxico es reducido. (Castillo, 2004)



**Figura 3.20** Germinación de semillas de *L. sativa* (Lechuga), *P. vulgaris* (Fréjol) y *Zea mays* (Maíz).

### 3.4.3 *Poecilia reticulata*

El uso de peces en el desarrollo de bioensayos, es de relevancia, debido a su ubicación y función en el medio acuático, no solamente por encontrarse en diversos niveles de la cadena trófica, sino además por ser vertebrados, se les considera como buenos representantes de organismos superiores. En ellos los efectos tóxicos, son más fáciles de interpretar. Esto es también de vital importancia para la industria de cultivo de peces con fines económicos.

Para *P. reticulata*, la prueba se realiza utilizando como organismos de prueba a los juveniles, recién avivados de la hembra vivípara, o sea con una edad menor a 24 horas. Estos son expuestos a varios niveles de concentración del



agua que contiene la sustancia problema, más un nivel de control. Cada concentración debe tener 3 réplicas, utilizando 10 individuos en cada una.



**Figura 3.21** *Poecilia reticulata*. (Pez Guppy)

El punto final de la prueba, es determinar los efectos de intoxicación aguda, por muerte o inmovilidad de los individuos estudiados, durante un tiempo de exposición de 96 horas.

Este bioensayo se usa además para evaluar los efectos tóxicos agudos, que podrían ocasionar efluentes con o sin tratamiento, así como también muestras de agua de sistemas acuáticos de diverso origen, como descargas de aguas contaminadas, o aguas subterráneas contaminadas. (Martínez-Jerónimo, 2008)

### **3.5 DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD EN LA DESCARGA DEL VERTIDO**

Una vez recolectadas las muestras, se las identificó y etiquetó adecuadamente. Luego fueron debidamente transportadas en cajas térmicas con geles congelantes, para mantener la estabilidad de las mismas, hacia el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil, cuya Acreditación Técnica, le otorga el reconocimiento oficial de su competencia técnica para generar resultados confiables a partir de las pruebas que realiza.

Este laboratorio, se rige a los Protocolos de Bioensayos establecidos internacionalmente, por la Comunidad Económica Europea, la Agencia de Polución Ambiental de los Estados Unidos, US EPA y otros entes encargados de estandarizar los procedimientos de laboratorio, para la realización de los bioensayos como la OECD, y OPPTS.

En la Tabla 3.2, se detallan los protocolos empleados en la realización de los bioensayos del presente trabajo.

Bioensayo	Referencia
<b><i>Daphnia magna</i></b>	OECD 202. 1984
- % de inmovilización	
<b><i>Poecilia reticulata (Guppy)</i></b>	OECD 203. 1992
- % de mortalidad	
<b><i>Lactuca sativa (Lechuga)</i></b>	EPA OPPTS850.4100 (1996)
- % índice de germinación	
- elongación radical	
<b><i>Phaseolus vulgaris (frijol negro)</i></b>	EPA OPPTS 850.4200 (1996)
- % de germinación.	
Ensayos de emergencia:	
- altura de planta,	
- largo de raíz,	
- peso húmedo de la planta	
- peso húmedo de la raíz,	
- peso seco de planta,	
- peso seco de la raíz,	
- % de materia seca de planta,	
- % de materia de la raíz,	
- número de nódulos,	
- número de hojas.	
<b><i>Zea mays (maíz).</i></b>	EPA OPPTS 850.4230 (1996)
- % de germinación.	
Ensayos de emergencia:	
- altura de planta,	
- largo de raíz,	
- peso húmedo de la planta	
- peso húmedo de la raíz,	
- peso seco de planta,	
- peso seco de la raíz,	
- % de materia seca de planta,	
- % de materia de la raíz,	

**Tabla 3.4** Ensayos de toxicidad seleccionados para la determinación de toxicidad de aluminio en el Efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar de la ciudad de Cuenca. Cada uno de los bioensayos, se rigieron a los protocolos indicados (Anexos 4, 5, 6 y 7)

Los resultados obtenidos, fueron anotados en tablas de registro establecidas para cada caso (Anexo 8).

### **3.6 Registro de la Información obtenida a partir de las pruebas de toxicidad**

La información obtenida, fue registrada en formatos diseñados, en los que se anotan datos generales de cada prueba (fecha, sitio de monitoreo), los resultados del experimento, observaciones y valores de los parámetros físico-químicos de control y para cada uno de los organismos de prueba (*D. magna*, *P. reticulata*, *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*).

Los datos ordenados, fueron registrados en documentos Excel, y posteriormente procesados en el paquete estadístico SPSS 22.

### **3.7 ANALISIS ESTADISTICO**

A partir de los datos obtenidos en los bioensayos (Anexo 9), se elaboraron tablas en Excel, para ordenar los mismos, y continuar con el análisis estadístico.

El desarrollo del análisis estadísticos para la obtención de la información y la evaluación de la toxicidad en el efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar de la ciudad de Cuenca, así como aguas arriba y abajo del vertido del efluente, se realizó aplicando el estadístico ANOVA de un factor para definir si hay diferencia significativa entre los niveles de concentración probados frente al control. En el caso de existir esta diferencia, se aplica el POST-ANOVA, para determinar si existe letalidad de los organismos de prueba superior al 50%, en cuyo caso, aplicaremos el análisis PROBIT, para definir la  $CL_{50}$  o  $CI_{50}$ , y el Test de Dunnett, para establecer los valores de NOEC y LOEC en cada situación. (Anexo 9).

Se determinaron adicionalmente, las diferencias de medias entre los parámetros de crecimiento de las semillas de *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*. (Figuras 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 y Anexo 10)

Posteriormente, y con los Datos determinados por los análisis físico-químicos, se calcularon las Unidades de Toxicidad, y su correlación con los mismos.

### 3.7.1 ANALISIS ANOVA

Se probó la existencia de un efecto (mortalidad, para daphnias y peces, e inhibición de la germinación para semillas), estadísticamente significativo de la muestra con sus diferentes niveles de concentración, sobre los organismos expuestos. La prueba usada fue el estadístico ANOVA, con un nivel de significancia del 0.05 ( $\alpha$ ), es decir una confiabilidad del 95%.

La hipótesis nula,  $H_0$ , en este caso fue:

$$H_0: \mu_{C1} = \mu_{C2} = \mu_{C3} = \mu_{C4} \dots \mu_{C9} = \mu_{\text{control}}$$

Dónde:

C= Concentración en porcentaje de la muestra.

La hipótesis alterna,  $H_1$ , fue:

$$H_1: \mu_{Ci} \neq \mu_{Cj}$$

Se estableció como regla de decisión que:

- **Si  $\alpha \geq$  nivel de significancia (Sig.) asociado a la prueba, entonces no se rechaza  $H_0$ .**

Esto significa que: No hay evidencia para afirmar que existe una diferencia significativa entre el promedio de organismos vivos de las diferentes concentraciones y el grupo control (sometido sólo a agua de dilución).

- **Si  $\alpha <$  nivel de significancia (Sig.) asociado a la prueba, entonces se rechaza  $H_0$  y se acepta  $H_1$ .**

Esto significa que: Existe una diferencia significativa entre el promedio de organismos vivos de las diferentes concentraciones y el grupo control (sometido sólo a agua de dilución).

Para el caso del análisis estadístico de daphnias, se utilizó la prueba ANOVA de un factor considerando las siguientes variables:

- Vivos: es el número de organismos vivos en cada réplica de la prueba, una vez finalizada la misma. En este trabajo se utilizaron cinco organismos por réplica, con un total de cuatro réplicas. Un total de 20 individuos por cada nivel de concentración.
- Concentración: que corresponde al porcentaje de muestra (sustancia tóxica problema). Para Daphnia, fueron nueve niveles de concentración, más un control (porcentaje de muestra 0).

Para el caso de semillas de lechuga, fréjol y maíz, también se utilizó la prueba Anova de un factor con las siguientes variables:

- Germinación: Expresado por el porcentaje de semillas que germinaron en cada réplica, al final de la prueba. En el presente estudio, se realizaron 3 réplicas utilizando 10 semillas en cada una. Un total de 30 semillas para cada nivel de concentración.
- Concentración: Representa el porcentaje de muestra (sustancia tóxica problema)  
(Ver Tabla 3.5)

### 3.7.2 POST ANOVA

En aquellos casos en los que se aceptó la hipótesis nula, se concluyó que no hubo evidencia de toxicidad para la muestra analizada.

Bioensayos	N° réplicas	Concentración por réplica	N° Organismos por réplica	N° total observados por concentración
1. <i>Daphnia magna</i>	4	0 (control)	5	20
		100	5	20
		80	5	20
		40	5	20
		20	5	20
		8	5	20
		5	5	20
		2	5	20
		0.5	5	20
*2. <i>Poecilia reticulata</i>	2	100	10	20
3. <i>Lactuca sativa</i>	3	0 (control)	10	30
		100	10	30
		10	10	30
		5	10	30
		2	10	30
		1	10	30
4. <i>Phaseolus vulgaris</i>	3	0 (control)	10	30
		100	10	30
		10	10	30
		5	10	30
		2	10	30
		1	10	30
5. <i>Zea mays</i>	3	0 (control)	10	30
		100	10	30
		10	10	30
		5	10	30
		2	10	30
		1	10	30

\*En el caso de *Poecilia reticulata*, se realizaron sólo 2 réplicas porque la concentración al 100% no dio respuesta de toxicidad

**Tabla 3.5** Número de organismos utilizados por réplica y concentración para cada bioensayo

Para los casos en los que se rechazó la hipótesis nula, se debió realizar la prueba POST-ANOVA (POST HOC), o llamada también prueba de comparaciones múltiples o comparación por pares. Esta prueba permite identificar los grupos que presentan diferencias significativas, y es necesario realizarla, pues la prueba de ANOVA, sólo permite establecer que al menos

un promedio de un grupo es diferente a los demás, pero no identifica cuál es ese grupo.

Se realizó la prueba de Dunnett, la cual compara las concentraciones de cada grupo frente al grupo control de concentración cero.

- La hipótesis nula fue, en cada grupo, que el promedio de organismos vivos en el grupo comparado es igual al promedio de organismos vivos en el grupo control.
- La hipótesis alterna fue que el promedio de organismos vivos en el grupo comparado es menor al del grupo control.

En el caso de las semillas, se compara el promedio de germinación de las semillas con las del grupo control, estableciéndose las mismas hipótesis nula y alterna.

En los casos de Daphnia y germinación de semillas, a partir de la prueba POST-ANOVA, se determinaron la concentración NOEC (concentración más alta de efecto no observado), la cual corresponde a la concentración más alta en la que no se presenta diferencia significativa con el grupo control y la concentración LOEC, que es la concentración más baja a la que se observa efecto.

### **3.7.3 ANALISIS PROBIT**

En las muestras en las que se determinó una letalidad superior al 50%, se debió calcular, a más del NOEC y LOEC, la concentración letal 50 o  $CL_{50}$  para el caso de Daphnia y la concentración inhibitoria 50 o  $CI_{50}$  para el caso de germinación de semillas. Para ello se utilizó un análisis Probit.

En este análisis se relaciona la tasa de respuesta, letalidad (mortalidad para Daphnia o no germinación para semillas), de los organismos frente a un

estímulo (concentración de la muestra tanto del efluente de la Planta de potabilización como aguas arriba y aguas abajo del vertimiento).

Los datos de los bioensayos se organizaron en tablas de Excel, para luego aplicar el análisis Probit, a través del paquete estadístico SPSS versión 22.

Se establecieron las siguientes variables:

- Ensayo: Es el número de muestras estudiadas. Toma valores entre 1 a 4
- Réplica: Es el número de la réplica para cada muestra. Toma valores 1 a 3
- Concentración: Representado como porcentaje de muestra. El valor varía de acuerdo a la muestra, y el período de muestreo.
- Número total de organismos: Es el número de individuos usados en cada réplica (5 en daphnias y 10 para semillas)
- Respuesta: Corresponde al número de individuos muertos (para Daphnia) o no germinados (para semillas)

Los resultados obtenidos a través del análisis Probit permitió estimar la concentración a la que se presenta un determinado porcentaje de letalidad entre 0% a 99%, con su correspondiente intervalo de confianza del 95%.

Con estos datos se construyeron las curvas dosis-respuesta para las tres muestras evaluadas, y para cada uno de los bioensayos hechos, y además la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub> y CI<sub>50</sub>). (Anexo 9)

### **3.7.4 ESTIMACION DE LAS UNIDADES DE TOXICIDAD**

Una vez establecidos los valores de los diferentes indicadores de toxicidad para cada vertimiento, se elaboraron tablas para comparar el NOEC, LOEC, CL<sub>50</sub> y CI<sub>50</sub> de cada organismo de prueba. Esto con la finalidad de evaluar la sensibilidad de cada especie frente a los diferentes ciclos de monitoreo del vertimiento del efluente.



Para los casos en que se determinó el valor de  $CL_{50}$ , se realizó el cálculo de las Unidades de Toxicidad, UT, a través de la siguiente fórmula:

### Unidades de Toxicidad

$$UT = 100/CL_{50}$$

La siguiente tabla expresa el Nivel de Incidencia Toxicológica basado en Unidades de Toxicidad.

NIVEL DE INCIDENCIA	UNIDADES TÓXICAS
No tóxico	1
Levemente tóxico	> 1 - 1,3
Moderadamente tóxico	> 1,3 - 2
Tóxico	> 2 - 4
Muy tóxico	> 4

**Tabla 3.6** Nivel de Incidencia Toxicológica basado en Unidades de Toxicidad

### 3.7.5 CONCENTRACION TOXICA Y CRITERIO DE CONCENTRACION MAXIMA

Con la determinación de las Unidades de Toxicidad, se pueden hacer cálculos de dilución, para poder encontrar la Concentración Tóxica (CT) en un cuerpo de agua, en una sección aguas abajo de un vertimiento, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$CT = \frac{Q_{caa} * UT_{caa} + Q_v * UT_v}{Q_{cab}}$$

En donde:

$Q_v$  = Caudal del vertimiento ( $m^3/s$ )

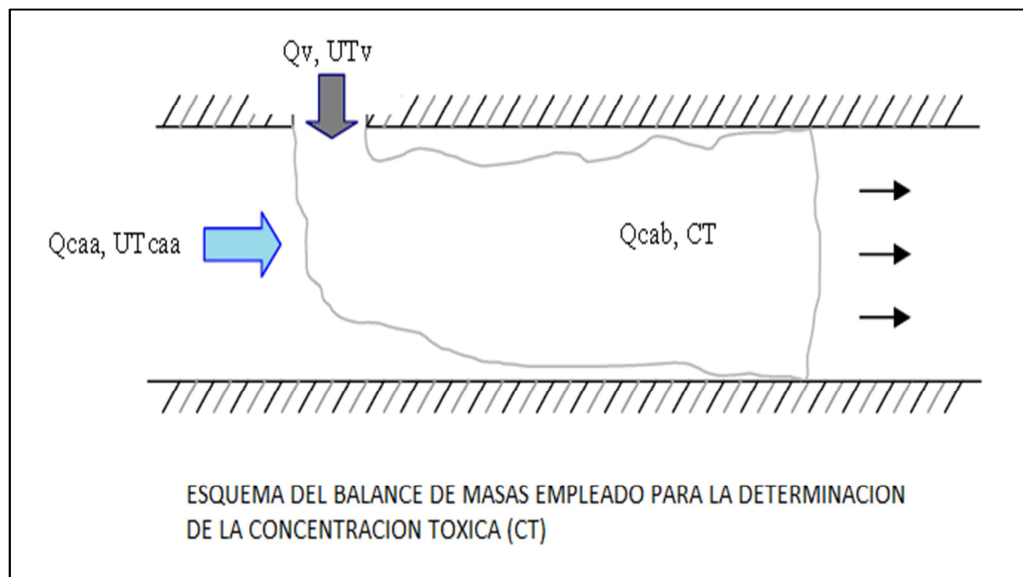
$UT_v$  = Unidades de Toxicidad medidas en el vertimiento (UT)

$Q_{caa}$  = Caudal del cuerpo receptor antes del vertimiento ( $m^3/s$ )

$UT_{caa}$  = Unidades de Toxicidad en el cuerpo receptor antes del vertimiento (UT)

$Q_{cab}$  = Caudal del cuerpo receptor aguas abajo del vertimiento ( $m^3/s$ )

CT = Concentración Tóxica, en Unidades de Toxicidad en el cuerpo receptor después del vertimiento (UT).



**Figura 3.22** Esquema de Balance de Masas para determinación de la Concentración Tóxica.

Si se asume que las UT en el cuerpo receptor aguas arriba del vertimiento ( $UT_{caa}$ ) son despreciables, se tiene:

$$CT = \frac{Q_v \times UT_v}{Q_{cab}}$$

En 1985, la US EPA, emitió el criterio de Concentración Máxima (CMC), a través del cual, el nivel de toxicidad en un cuerpo receptor de agua es aceptable cuando su CMC, después de recibir el vertimiento, es menor a 0,3 UT, medidos en la especie más sensible, de tres estudiadas.

### Nivel de Toxicidad Aceptable: $CMC < 0,3 UT$

El CMC, nos da una referencia de la capacidad de asimilación que presenta un cuerpo receptor de agua al recibir un vertimiento tóxico.

En el presente estudio, se realizó el cálculo de la CT en el Río Tomebamba luego de recibir el vertimiento del efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar, para compararlo con el CMC ( $< 0,3 UT$ ) establecido por la US EPA, para un cuerpo receptor de agua.

### 3.7.6 CALCULO DEL ICOTOX

Se determinó además el Índice de Contaminación Tóxica, ICOTOX, para valorar el impacto ambiental en aguas continentales causado por el vertimiento del efluente, según la fórmula establecida en la sección 2.6.6.3; y determinar su nivel de incidencia tóxica.

### 3.7.7 DIFERENCIAS DE MEDIAS PARA LOS PARAMETROS DE CRECIMIENTO DE LAS SEMILLAS DE *L. SATIVA*, *P.VULGARIS* Y *Z.MAYS*

Se efectuó la determinación de la diferencia de medias en los parámetros de crecimiento de las semillas de *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*.

Esta determinación fue realizada para las muestras provenientes del efluente, pues en los puntos aguas arriba y abajo del punto de vertido de éste en los tres momentos, no dieron efecto de toxicidad con la concentración pura. (Figuras 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 y Anexo 10).

Se compararon las longitudes de radical de las tres semillas evaluadas. Y en el caso de *P. vulgaris* y *Z. mays*, adicionalmente se evaluaron las diferencias de medias para la altura de las plantas como indicador de fitotoxicidad. (Tabla 3.7)

El procedimiento se efectuó en cada una de las concentraciones junto a las del grupo control, en sus 3 réplicas, y se elaboraron los gráficos de comparación de medias utilizando el Software Excel 2010.

### 3.7.8 INFORMACION FISICO-QUIMICA

Las muestras colectadas del vertimiento del efluente de la Planta de Potabilización, y aguas arriba y abajo del mismo, en los tres muestreos realizados, fueron analizadas en el Laboratorio de Saneamiento de ETAPA

EP, en donde se evaluaron los siguientes parámetros físico-químicos: Concentración de aluminio, y pH. EL valor de temperatura se determinó en el momento del muestreo.

La estimación del pH tiene relevancia, puesto que se ha considerado que un medio ácido, aumenta la toxicidad por aluminio. (Peuranen, 1993)

BIOENSAYO	PARAMETRO DE CRECIMIENTO
1. <i>Lactuca sativa</i>	• Elongación del radical
2. <i>Phaseolus vulgaris</i>	• Altura de la planta • Largo de la raíz
3. <i>Zea mays</i>	• Altura de la planta • Largo de la raíz

**Tabla 3.7** Parámetros de crecimiento de las semillas de *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS

A partir de los resultados obtenidos tanto en las pruebas físico-químicas como en las de toxicidad, realizadas en el efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar, y en los puntos aguas arriba y abajo del mismo, se procedió a la determinación numérica de la toxicidad, basada en los niveles del efecto letal,  $CL_{50}$  y  $CI_{50}$ . Se calculó el valor del NOEC y LOEC, para determinar la concentración más alta sin efecto tóxico y la más baja a la que se observa el efecto tóxico estudiado.

Los resultados del cálculo de NOEC, LOEC,  $CL_{50}$  y  $CI_{50}$ , así como las correspondientes Curvas Dosis-Respuesta, se encuentran detallados en el Anexo 9

#### 4.1 PARAMETROS FISICO-QUIMICOS

Se determinó el pH como un parámetro físico-químico de relevancia, puesto que se ha evidenciado una dependencia directa de la toxicidad del aluminio frente a pH ácidos.

En la Tabla 4.1, se encuentran expresados la concentración de aluminio y pH, análisis realizados en el Laboratorio de Saneamiento de ETAPA EP.

- Según esta tabla, se puede observar que los valores de pH, tienden a la neutralidad, por lo tanto, no representan un riesgo de aumento de toxicidad del aluminio.
- En relación a la concentración, claramente podemos ver, que los valores encontrados, en el efluente en los 3 muestreos, superan los establecidos en la Norma Ecuatoriana de Calidad Ambiental y Descarga de efluentes, según la cual, el límite de descarga de aluminio en un cuerpo de agua dulce es 5 mg/L (5000 $\mu$ g/L) (Anexo 1).

MUESTRA	PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	120 m. AGUAS ARRIBA DEL EFLUENTE	PUNTO DE DESCARGA DEL EFLUENTE COLEGIO SAGRADOS CORAZONES	180 m. AGUAS ABAJO DEL EFLUENTE
1	pH	SM 4500 H B	13/06/2013	-	7,33	6,55	7,08
(12/06/2013)	Aluminio	SM/3120/ICP	14/06/2013	µg/L	763,4	195030	2012,8
2	pH	SM 4500 H B	27/06/2013	-	7,38	6,39	6,93
(26/06/2013)	Aluminio	SM/3120/ICP	28/06/2013	µg/L	197,2	1976450	93802
3	pH	SM 4500 H B	22/08/2013	-	7,03	6,96	7,25
(21/08/2013)	Aluminio	SM/3120/ICP	23/08/2013	µg/L	169,5	9001,3	498,2

SM: STANDARD METHODS, Ed. 22

**Tabla 4.1** Informe de resultados de concentraciones de aluminio y valor de pH de las muestras del vertido del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar y a 200 m aguas arriba y 180 m aguas abajo del vertimiento. (Laboratorio de Saneamiento. ETAPA EP)

En referencia a las concentraciones del aluminio aguas arriba del vertimiento, en los tres muestreos, son bajas respecto de lo que la norma refiere.

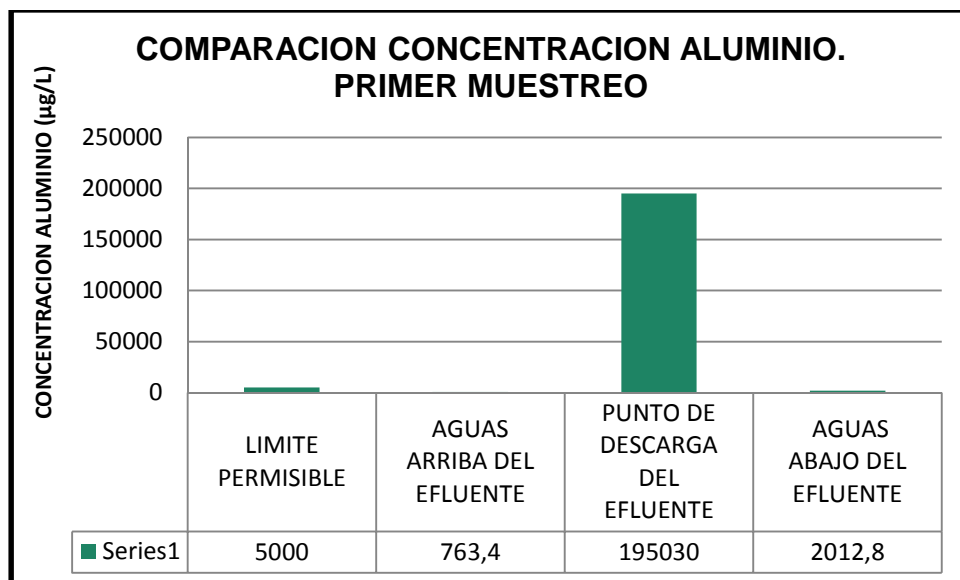
Sin embargo en el punto aguas abajo del vertido del efluente, en el segundo muestreo, podemos observar un valor muy alto de concentración de aluminio, que se relaciona con los casi 2 millones de µg/L, del efluente. Esto implicaría que el río puede arrastrar cantidades todavía considerables de sustancia a distancias mayores y que en dependencia del caudal del momento, podría estimarse un valor de toxicidad que debería ser sujeto de seguimientos permanentes.

Gráficamente, podemos representar las comparaciones de las concentraciones de aluminio de los diferentes puntos de muestreo, con respecto a la Norma Ecuatoriana vigente, de acuerdo a las Figuras 4.1, 4.2 y 4.3

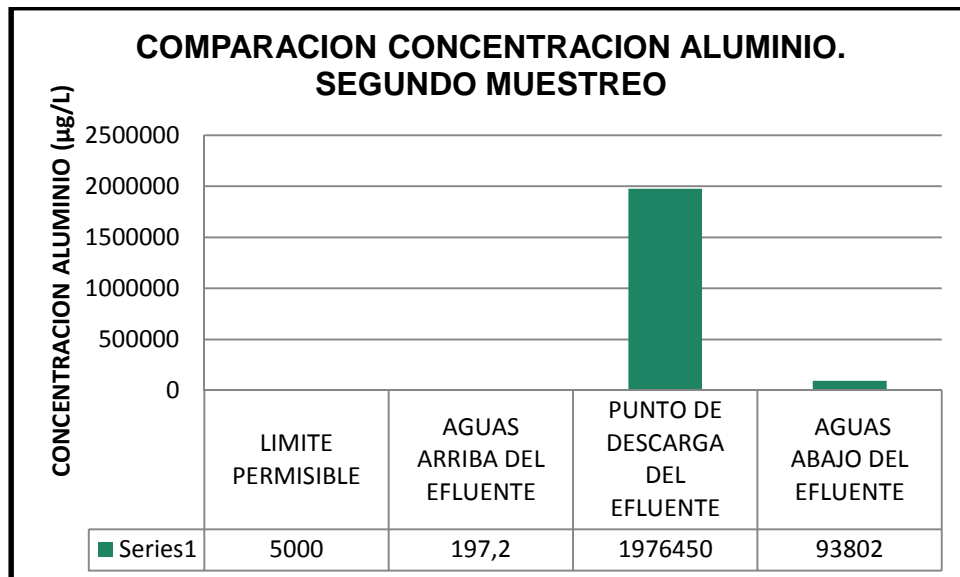
## 4.2 DETERMINACION DE LA TOXICIDAD

A partir de los resultados obtenidos de las pruebas de toxicidad, con los bioensayos escogidos (*D. magna*, *L. sativa*, *P. vulgaris*, *Z. mays*), realizados en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil, se procedió al cálculo de los Indicadores de Toxicidad, NOEC,

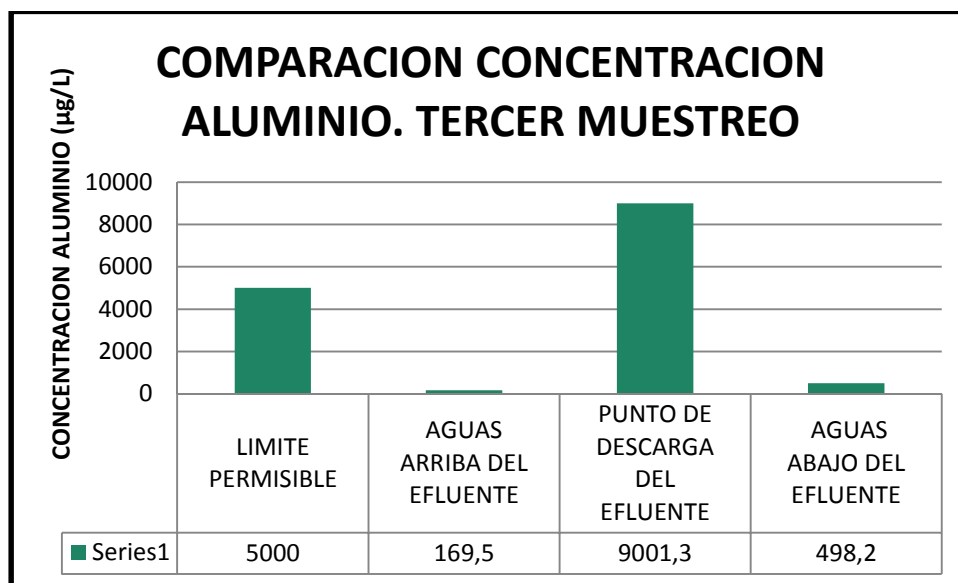
LOEC, CL50 y CI50, que a su vez permitió determinar las Unidades de Toxicidad



**Figura 4.1** Comparación de la concentración de aluminio en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar. PRIMER MUESTREO.



**Figura 4.2** Comparación de la concentración de aluminio en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar. SEGUNDO MUESTREO.



**Figura 4.3** Comparación de la concentración de aluminio en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar. TERCER MUESTREO.

#### 4.2.1 INDICADORES DE TOXICIDAD

En base a los datos obtenidos de los bioensayos realizados en las muestras recogidas en el efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar, aguas arriba y aguas abajo del vertimiento, durante los tres períodos de muestreo, se pudieron obtener las tablas 4.2, 4.3, 4.4 y 4.5, en donde se presentan los Indicadores de Toxicidad calculados.

1. Los resultados que evidenció la prueba ANOVA, indican que existen diferencias significativas entre el control y las diferentes concentraciones estudiadas en cada una de las muestras tomadas, y con ello se pudo determinar los indicadores NOEC y LOEC.



Muestra	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3			
	P	NOE	LOE	CL5	P	NOE	LOE	CL5	P	NOE	LOE	CL5
	(Sig.)	(%)	(%)	(%)	(Sig.)	(%)	(%)	(%)	(Sig.)	(%)	(%)	(%)
	0,00			10,2	0,00			10,9	0,00			11,8
E	0	0,5	2	9	0	0,5	2	7	0	0,5	5	4
AA	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Ab	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

E= Efluente

AA= Aguas Arriba

Ab= Aguas abajo

‡= Valor no especificado, no hubo respuesta toxicológica, aun con la muestra pura.

**Tabla 4.2** INDICADORES DE TOXICIDAD ESTIMADOS PARA EL VERTIMIENTO DEL EFLUENTE DE LA PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE EL CEBOLLAR PARA *Daphnia magna*

Muestra	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3			
	P	NOE	LOE	CI50	P	NOE	LOE	CI50	P	NOE	LOE	CI50
	(Sig.)	(%)	(%)	(%)	(Sig.)	(%)	(%)	(%)	(Sig.)	(%)	(%)	(%)
	0,00			64,8	0,00			66,2	0,00			67,6
E	0	‡	1	7	0	‡	1	1	0	‡	1	3
AA	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Ab	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

E= Efluente

AA= Aguas Arriba

Ab= Aguas abajo

‡= Valor no especificado. Se considera muy cercano al control (0%)

‡= Valor no especificado, no hubo respuesta toxicológica, aun con la muestra pura.

**Tabla 4.3** INDICADORES DE TOXICIDAD ESTIMADOS PARA EL VERTIMIENTO DEL EFLUENTE DE LA PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE EL CEBOLLAR PARA *Lactuca sativa*

Muestra	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3			
	P (Sig.)	NOEC (%)	LOEC (%)	CI50 (%)	P (Sig.)	NOEC (%)	LOEC (%)	CI50 (%)	P (Sig.)	NOEC (%)	LOEC (%)	CI50 (%)
E	0,000	†	1	71,69	0,000	1	2	79,82	0,000	1	2	84,39
AA	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Ab	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

E= Efluente

AA= Aguas Arriba

Ab= Aguas abajo

†= Valor no especificado. Se considera muy cercano al control (0%)

‡= Valor no especificado, no hubo respuesta toxicológica, aun con la muestra pura.

**Tabla 4.4** INDICADORES DE TOXICIDAD ESTIMADOS PARA EL VERTIMIENTO DEL EFLUENTE DE LA PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE EL CEBOLLAR PARA *Phaseolus vulgaris*

Muestra	MUESTREO 1				MUESTREO 2				MUESTREO 3			
	P (Sig.)	NOEC (%)	LOEC (%)	CI50 (%)	P (Sig.)	NOEC (%)	LOEC (%)	CI50 (%)	P (Sig.)	NOEC (%)	LOEC (%)	CI50 (%)
E	0,000	1	2	92,22	0,000	1	2	92,22	0,000	1	2	91,77
AA	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Ab	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

E= Efluente

AA= Aguas Arriba

Ab= Aguas abajo

‡= Valor no especificado, no hubo respuesta toxicológica, aun con la muestra pura.

**Tabla 4.5** INDICADORES DE TOXICIDAD ESTIMADOS PARA EL VERTIMIENTO DEL EFLUENTE DE LA PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE EL CEBOLLAR PARA *Zea mays*

2. Se puede observar, al comparar los valores de NOEC y LOEC en *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*, para los tres muestreos, que las concentraciones en las que se empieza a observar efecto tóxico (LOEC), están muy cercanas a las concentraciones donde aún no se presenta el efecto tóxico (NOEC), evidenciando de esta manera que a pequeños incrementos de la concentración del vertimiento, se pueden presentar efectos tóxicos sobre los organismos de prueba.

3. Se observa que, los valores de CI<sub>50</sub>, en semillas, son relativamente elevados, lo que sugiere un cierto grado de resistencia de los tres

organismos. Si comparamos con la  $CL_{50}$  de *Daphnia*, cuyos valores son más bajos, sugiere que de todos los bioensayos utilizados, la especie más sensible a los efectos tóxicos del aluminio es *Daphnia magna*.

4. En relación a los resultados obtenidos en los puntos Aguas Arriba y Abajo del vertimiento del efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar, no se pudieron establecer los índices de toxicidad, debido a que no hubo respuesta tóxica, inclusive usando las concentraciones de las muestras puras (100% de la concentración), en ninguno de los tres muestreos.

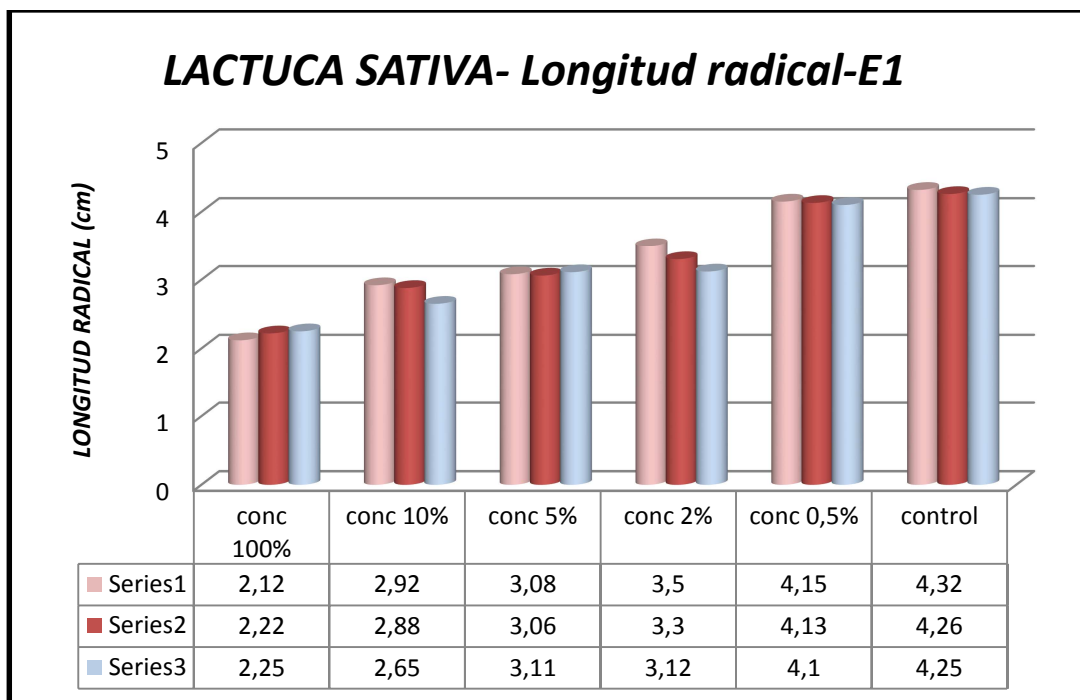
5. En las tablas construidas, no constan las respuestas del bioensayo con *Poecilia reticulata*, esto se debe a que el organismo, no presentó ninguna evidencia de respuesta letal a ninguna de las concentraciones puras de ninguno de los muestreos del efluente, ni de los puntos aguas arriba y abajo del vertido del mismo (Anexo 8.B). Esto sugiere que *P. reticulata* es un organismo resistente a los efectos tóxicos del aluminio, en las condiciones del estudio realizado.

#### **4.2.2 DIFERENCIAS DE MEDIAS EN LOS PARAMETROS DE CRECIMIENTO DE LAS SEMILLAS DE *L. SATIVA*, *P. VULGARIS* Y *Z. MAYS***

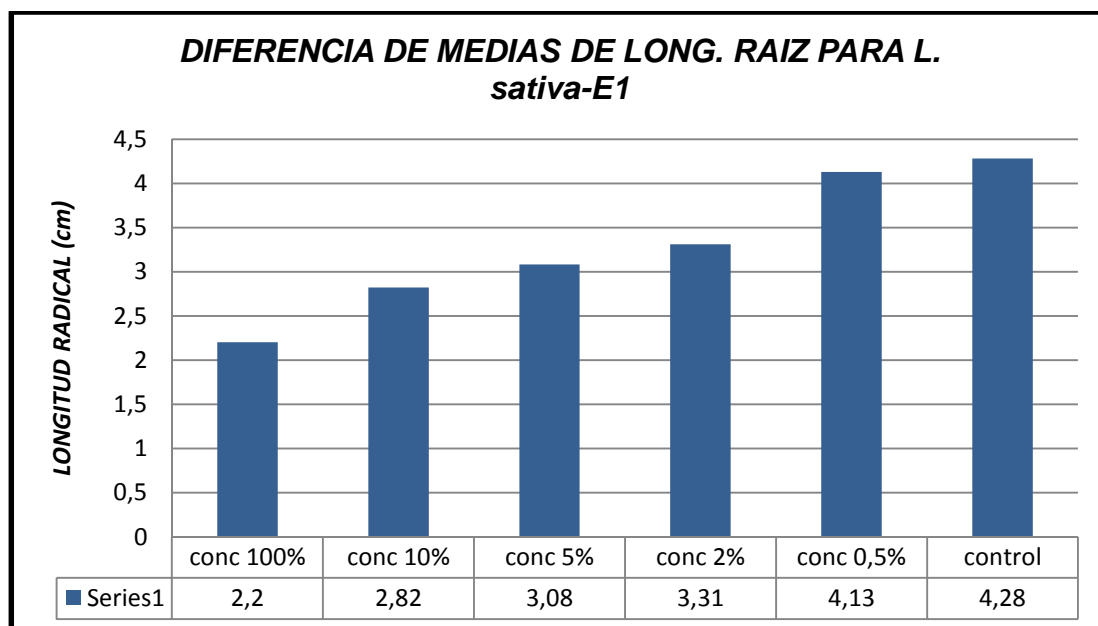
Se pudo estimar la influencia de la toxicidad por aluminio sobre los parámetros de crecimiento para las tres especies de semillas, básicamente en el efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar en los tres muestreos. En los puntos aguas arriba y abajo del vertido, no hubo evidencia de toxicidad, aún en la concentración de las muestras puras.

1. Como se pueden observar, para *Lactuca sativa*, en los tres muestreos realizados, los resultados expresados en las Figuras 4.4, 4.5 y 4.6, demuestran la existencia de toxicidad en el efluente de la Planta de Potabilización, evidenciados por la disminución de la longitud del radical, a

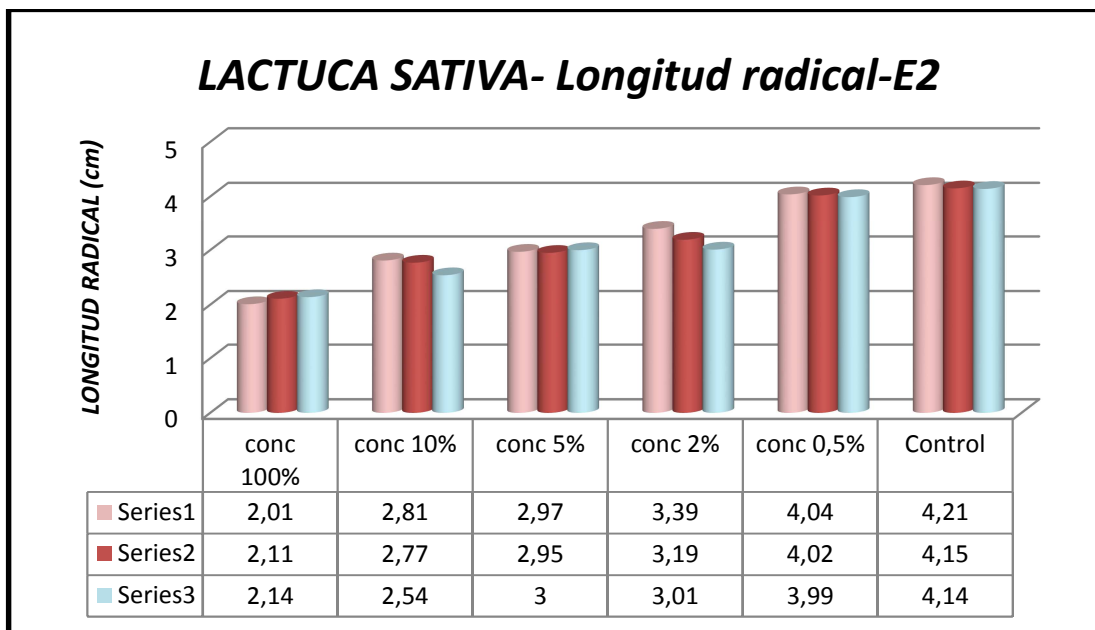
medida que aumenta la concentración del aluminio, respecto del grupo control.



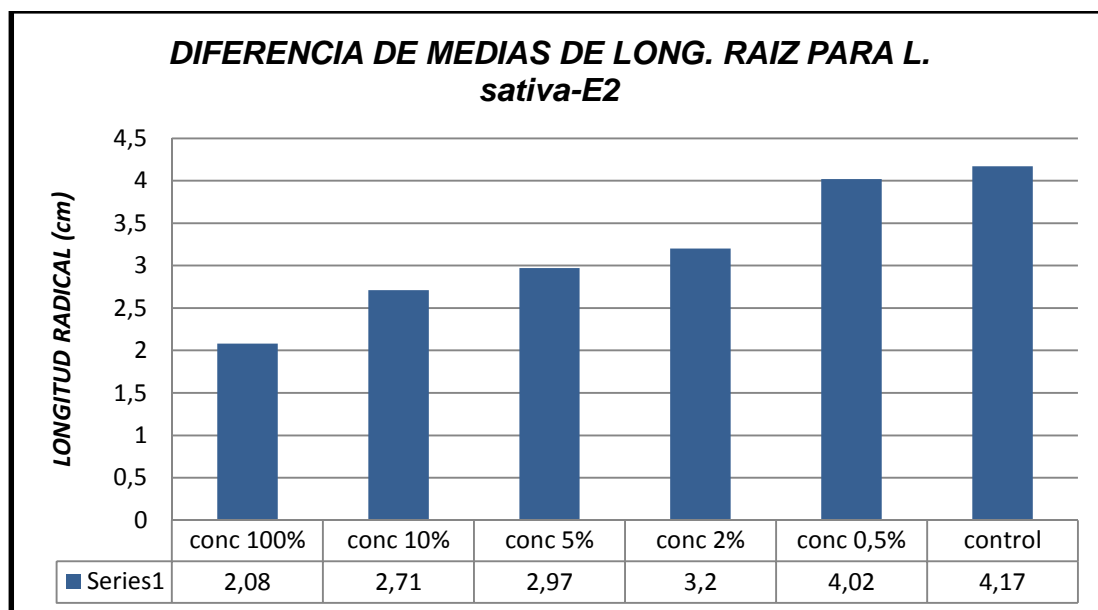
**Figura 4.4** Diferencias de longitud del radical para *Lactuca sativa* por réplica, frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización El Cebollar en el primer muestreo (E1).



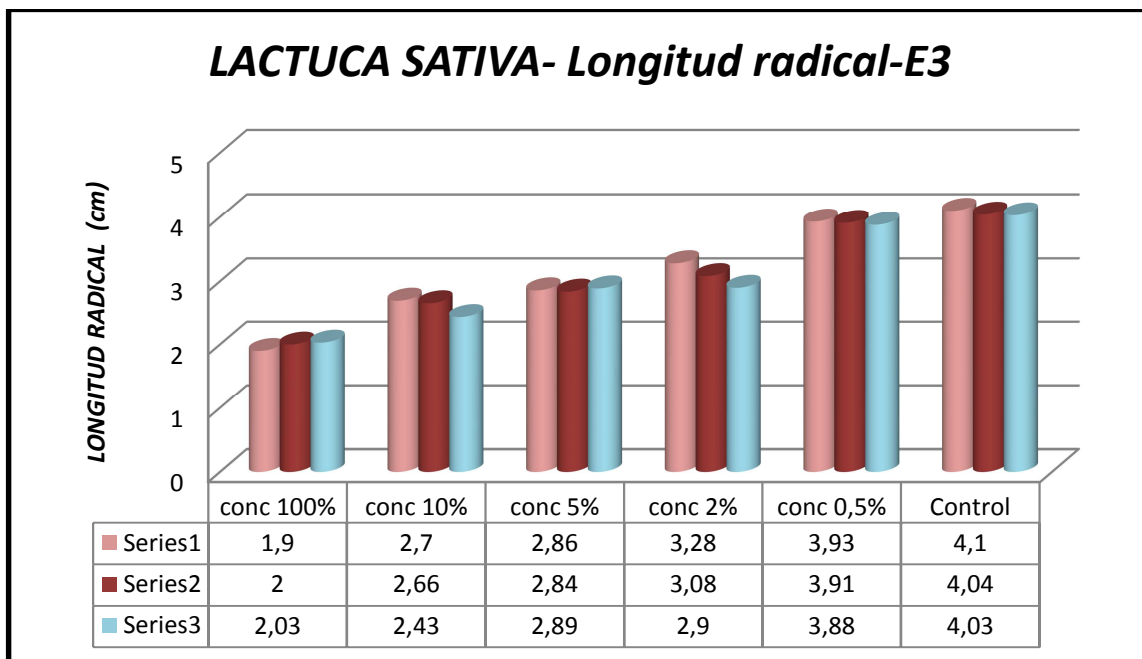
**Figura 4.4.1** Diferencia de medias de longitud del radical para *Lactuca sativa*, en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1).



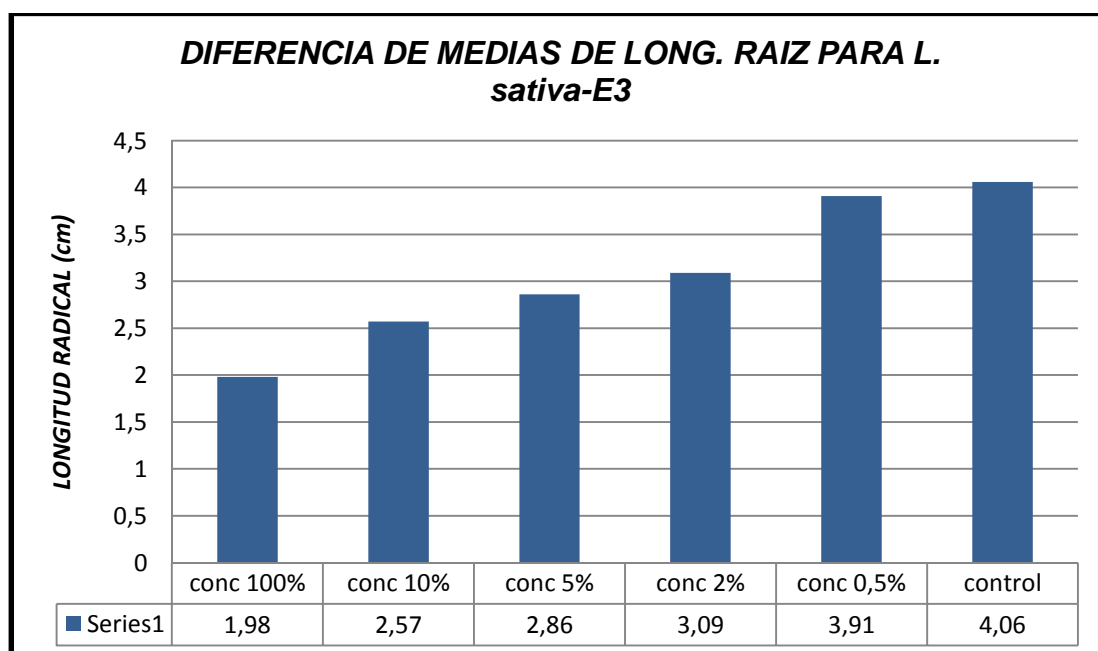
**Figura 4.5** Diferencias de longitud del radical para *Lactuca sativa* por réplica, frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el segundo muestreo (E2).



**Figura 4.5.1** Diferencia de medias de longitud del radical para *Lactuca sativa*, en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el segundo muestreo (E2).



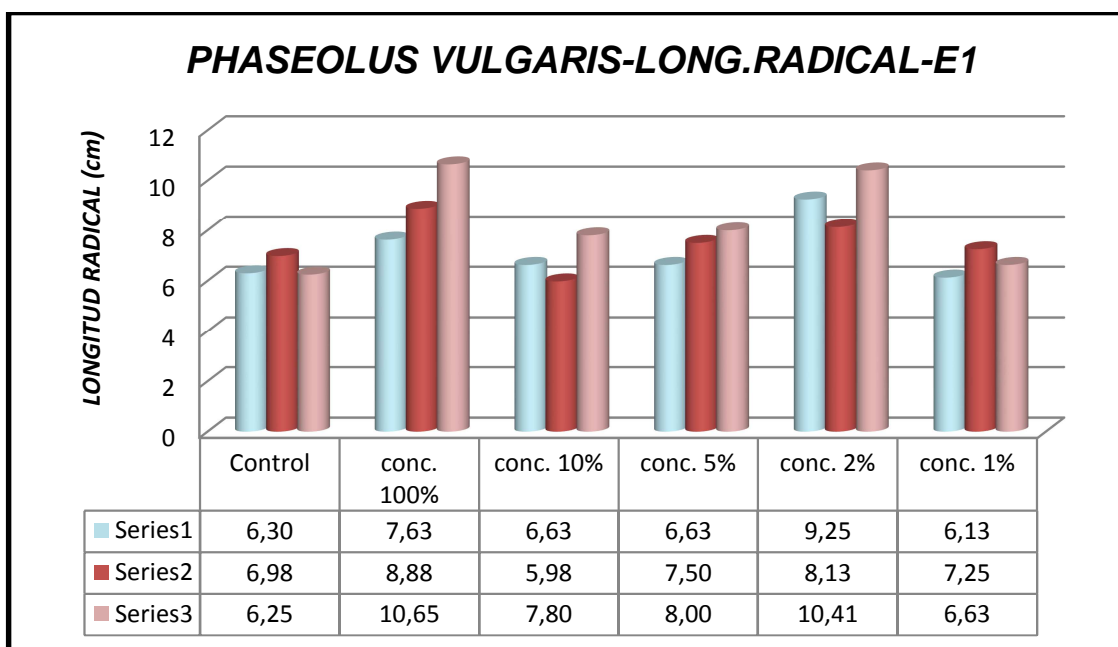
**Figura 4.6** Diferencias de longitud del radical para *Lactuca sativa* por réplica, frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el tercer muestreo (E3).



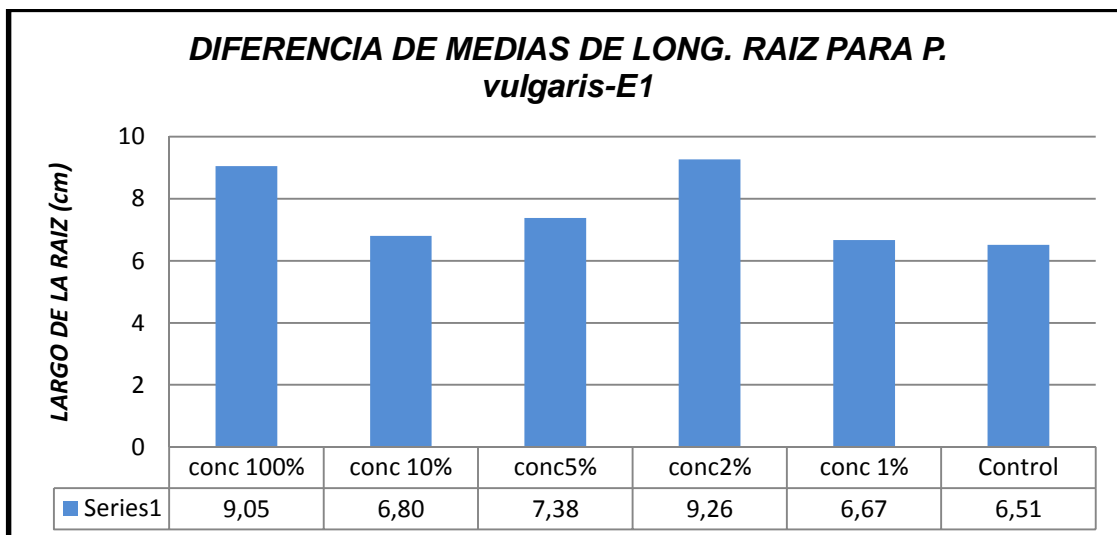
**Figura 4.6.1** Diferencia de medias de longitud del radical para *Lactuca sativa*, en el Efluente de Planta de potabilización de El Cebollar en el tercer muestreo (E3).

2. Para *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, se observa que no existen variaciones en la longitud del radical frente al control, por lo que se considera que no hay sensibilidad en este parámetro frente al aluminio.

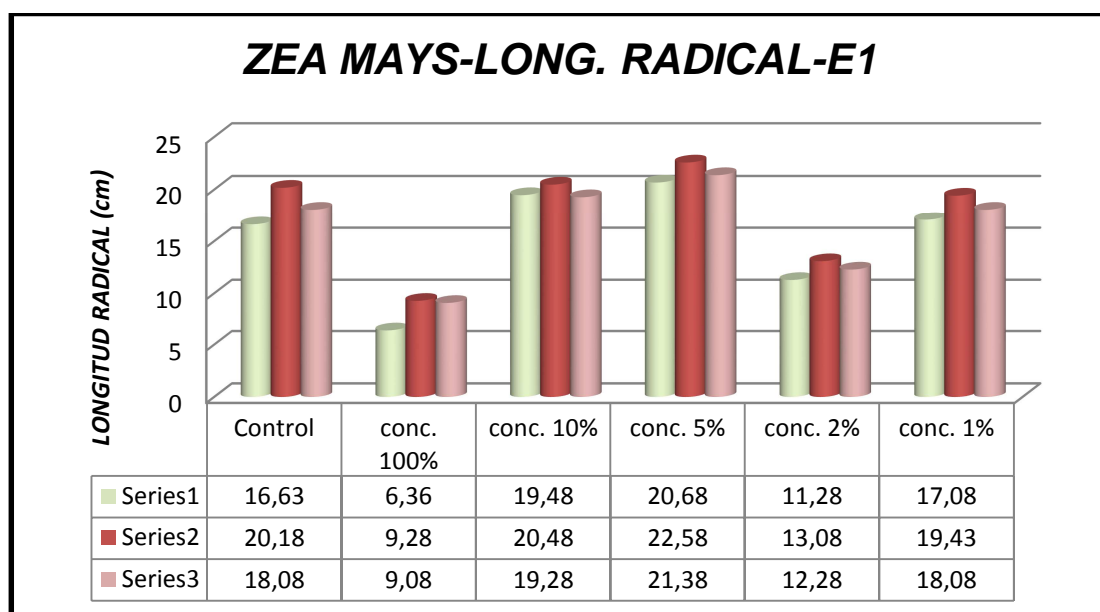
Las figuras 4.7, 4.7.1 y 4.8, 4.8.1 del muestreo 1 (E1) expresan lo mencionado en referencia al parámetro de longitud de radical para las dos especies de semillas. Como los resultados de los muestreos 2 y 3 (E2 y E3) son similares, la interpretación es igual que para el muestreo 1. Los gráficos respectivos, están incluidos en el Anexo 10.



**Figura 4.7** Diferencia de longitud del radical para *Phaseolus vulgaris*, para cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1).

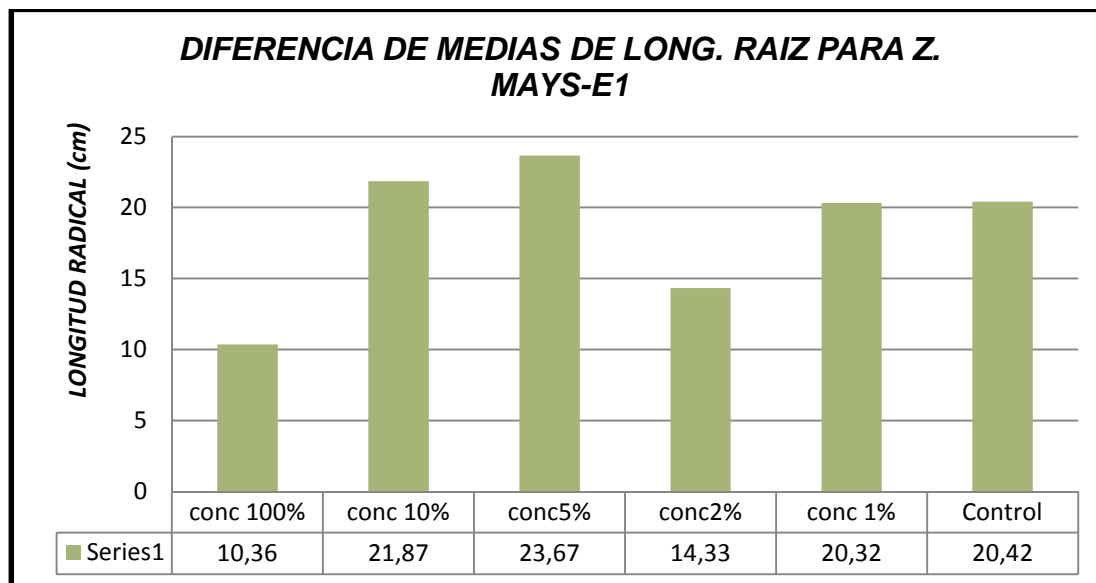


**Figura 4.7.1** Diferencia de medias de longitud del radical para *Phaseolus vulgaris*, en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1).



**Figura 4.8** Diferencia de longitud del radical para *Zea mays*, para cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1).

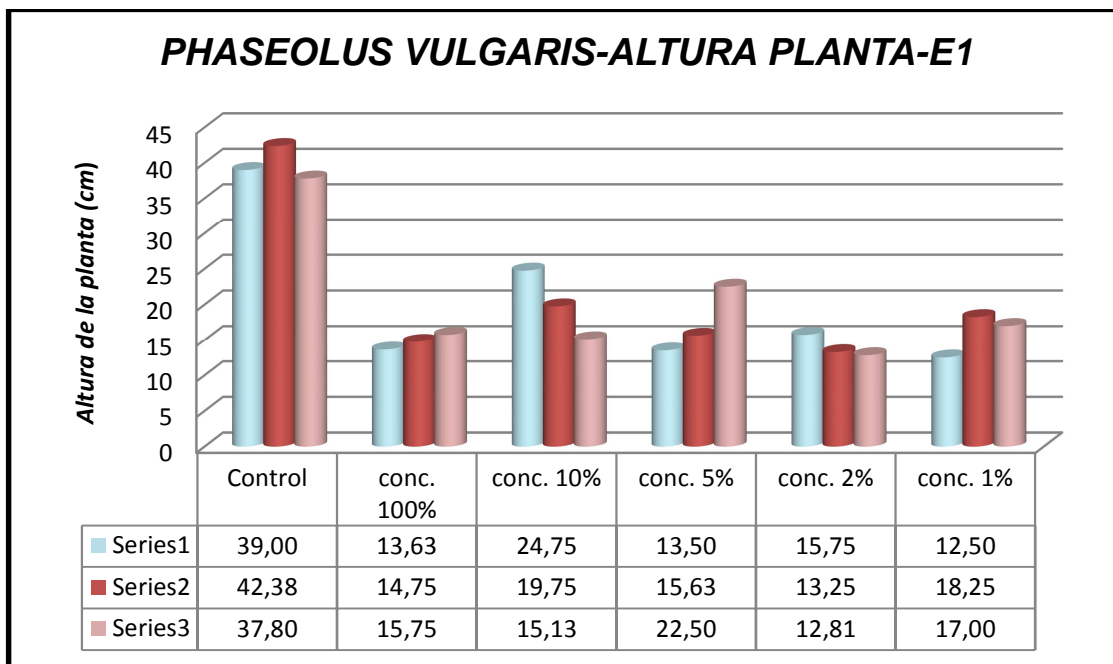




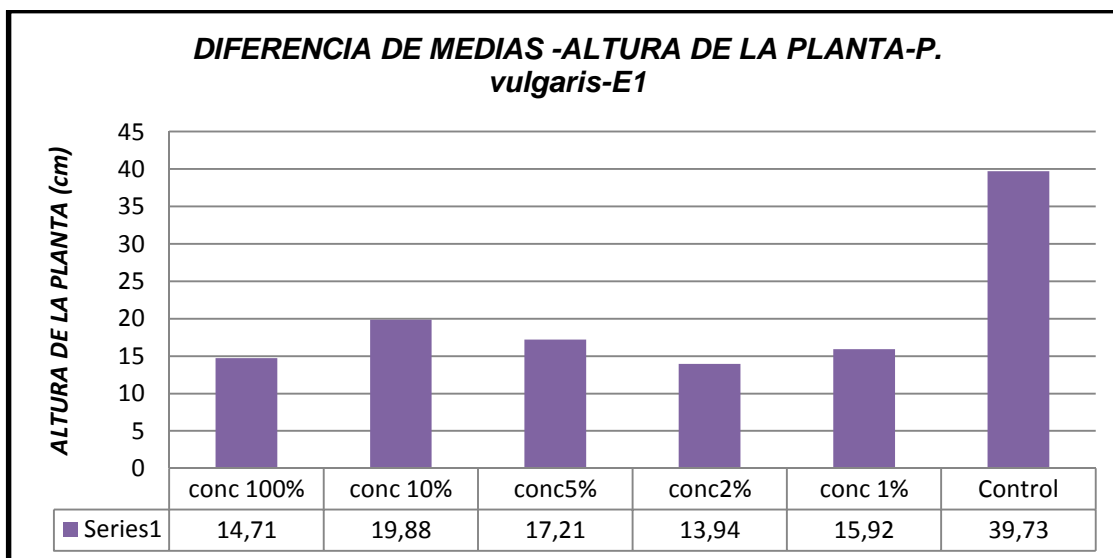
**Figura 4.8.1** Diferencia de medias de longitud del radical para *Zea mays*, en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1).

3. En referencia a los resultados obtenidos en *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, a más de evaluar la longitud del radical se realizó la medición de la altura de la planta como indicador de fitotoxicidad, cuyas estimaciones se expresan en las Figuras 4.9, 4.9.1 y 4.10, 4.10.1 que corresponden al muestreo 1 (E1), en donde se puede observar, para *P. vulgaris* un efecto de disminución de la altura de la planta, a las concentraciones evaluadas, lo cual evidencia el efecto tóxico del aluminio sobre este parámetro de desarrollo para esta especie. Sin embargo, para *Z. mays*, no se observa una variación importante en la altura de la planta, lo que sugiere que esta especie de semilla, no es muy sensible a los efectos tóxicos del aluminio, además que en diluciones del 1%, parecen tener influencia positiva sobre este parámetro, lo cual puede deberse a la poca cantidad de tóxico, y de pronto la presencia de sustancias nutritivas, que de alguna forma pudieran estimular el desarrollo de la planta.

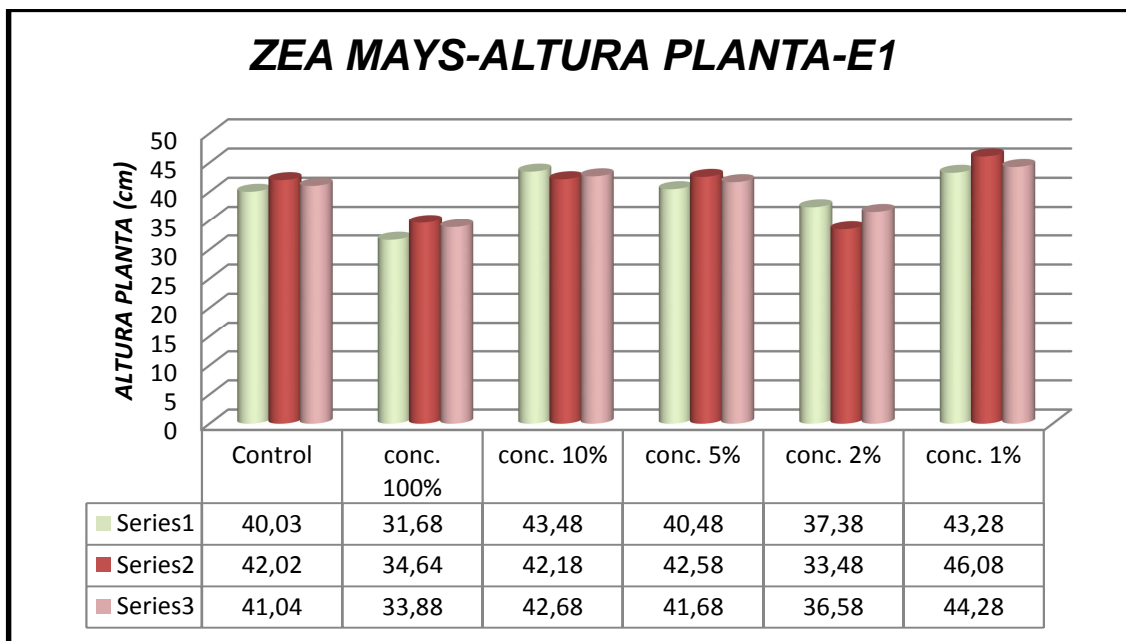
Los gráficos resultantes de los muestreos 2 y 3 del efluente (E2 y E3), para las dos especies señaladas (Anexo 10), son similares a los presentados en el muestreo 1, por lo tanto su interpretación es igual.



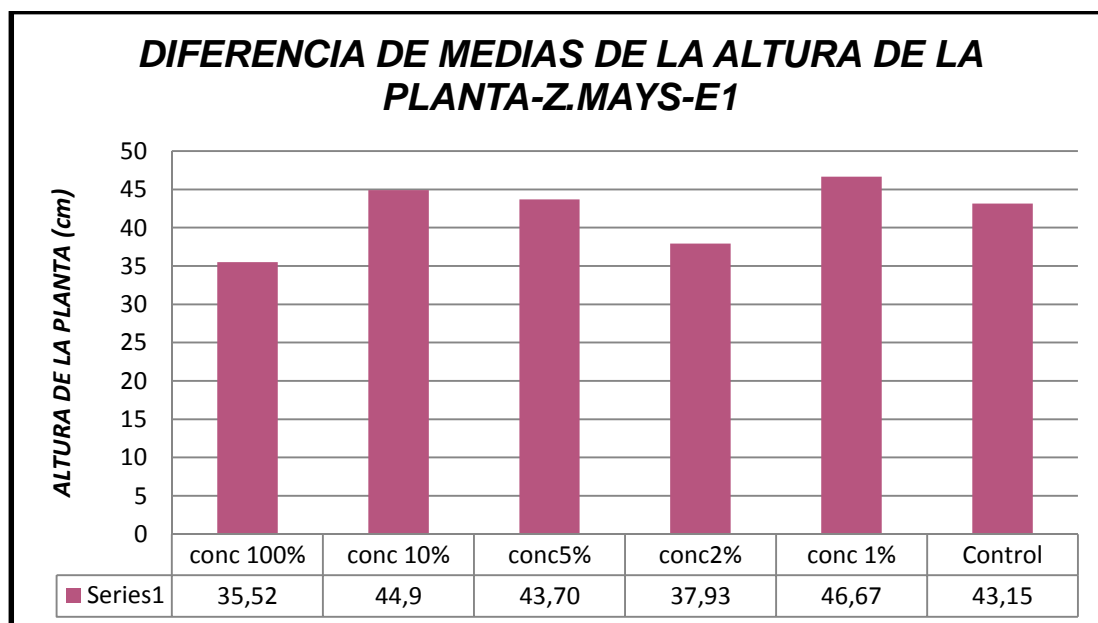
**Figura 4.9** Diferencias de altura de la planta para *P. vulgaris* con cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1)



**Figura 4.9.1** Diferencia de medias de la altura de la planta para *P. vulgaris* en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1)



**Figura 4.10** Diferencias de altura de la planta para *Z. mays* con cada réplica frente a las concentraciones en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1)



**Figura 4.10.1** Diferencia de medias de la altura de la planta para *Z. mays* en el Efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar en el primer muestreo (E1)

### 4.2.3 DETERMINACION DE LAS UNIDADES DE TOXICIDAD

Con el fin de cuantificar la toxicidad del vertimiento estudiado, se procedió a determinar las Unidades de Toxicidad (UT), en base a los índices tabulados anteriormente, para evaluar el impacto ambiental del efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar, sobre su medio receptor, el Río Tomebamba de la ciudad de Cuenca. Se aplicó la siguiente fórmula:

#### Unidades de Toxicidad

$$UT = 100/CL_{50}$$

De acuerdo a la clasificación toxicológica para efluentes industriales, basada en Unidades de Toxicidad, se tiene la siguiente tabla

<b>NIVEL DE INCIDENCIA</b>	<b>UNIDADES TÓXICAS</b>
No tóxico	1
Levemente tóxico	> 1 - 1,3
Moderadamente tóxico	> 1,3 – 2
Tóxico	>2 – 4
Muy tóxico	> 4

Los resultados se expresan en las Tablas 4.6.1, 4.6.2, 4.6.3

**MUESTREO 1**

QV1= 168,80 L/s

	Sitio	CL <sub>50</sub>	UT=100/CL 50	NIVEL TOXICIDAD
<b>D. MAGNA</b>	<b>E</b>	<b>10,29</b>	<b>9,72</b>	<b>Muy tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>L. SATIVA</b>	<b>E</b>	<b>64,87</b>	<b>1,54</b>	<b>Moderadamente tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>P. VULGARIS</b>	<b>E</b>	<b>71,69</b>	<b>1,39</b>	<b>Moderadamente tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>Z. MAYS</b>	<b>E</b>	<b>92,22</b>	<b>1,08</b>	<b>Levemente tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-

~ : No se puede valorar estos índices ni Aguas Arriba, ni Aguas Abajo, pues no hubo respuesta tóxica en estos puntos

E: Efluente Planta de Potabilización

AA: Aguas Arriba del vertimiento

AB: Aguas Abajo del vertimiento

**Tabla 4.6.1** Cálculo de UT, en el primer muestreo, en *D. magna*, *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*

**MUESTREO 2**

Q2= 285,75 L/s

	Sitio	CL <sub>50</sub>	UT=100/CL 50	NIVEL TOXICIDAD
<b>D. MAGNA</b>	<b>E</b>	<b>10,97</b>	<b>9,12</b>	<b>Muy Tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>L. SATIVA</b>	<b>E</b>	<b>66,21</b>	<b>1,51</b>	<b>Moderadamente tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>P. VULGARIS</b>	<b>E</b>	<b>79,82</b>	<b>1,25</b>	<b>Levemente tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>Z. MAYS</b>	<b>E</b>	<b>92,22</b>	<b>1,08</b>	<b>Levemente tóxico</b>
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-

~ : No se puede valorar estos índices ni Aguas Arriba, ni Aguas Abajo, pues no hubo respuesta tóxica en estos puntos

E: Efluente Planta de Potabilización

AA: Aguas Arriba del vertimiento

AB: Aguas Abajo del vertimiento

**Tabla 4.6.2** Cálculo de UT, en el segundo muestreo, en *D. magna*, *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*

**MUESTREO 3**
**QV3= 302,51 L/s**

	Sitio	CL <sub>50</sub>	UT=100/CL 50	NIVEL TOXICIDAD
<b>D. MAGNA</b>	E	11,84	8,45	Muy tóxico
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>L. SATIVA</b>	E	67,63	1,48	Moderadamente tóxico
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>P. VULGARIS</b>	E	84,39	1,18	Levemente tóxico
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-
<b>Z. MAYS</b>	E	91,77	1,09	Levemente tóxico
	AA	~	~	-
	AB	~	~	-

~ : No se puede valorar estos índices ni Aguas Arriba, ni Aguas Abajo, pues no hubo respuesta tóxica en estos puntos

E: Efluente Planta de Potabilización

AA: Aguas Arriba del vertimiento

AB: Aguas Abajo del vertimiento

**Tabla 4.6.3** Cálculo de UT, en el tercer muestreo, en *D. magna*, *L. sativa*, *P. vulgaris* y *Z. mays*

De acuerdo a la Tabla 3.4, de la sección 3.7.4 de la Revisión bibliográfica, que permite una clasificación toxicológica para efluentes industriales, en base a las Unidades de toxicidad, se puede observar lo siguiente:

- Para *Daphnia magna*, se observaron valores de UT superiores a 4 UT, considerado “muy tóxico”, condición igual para los tres muestreos.
- Para *Lactuca sativa*, los valores de UT, se establecen en el nivel de “moderadamente tóxico”, para los tres muestreos.
- Para *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, los valores de UT, se encuentran en el nivel de “levemente tóxicos” para los tres muestreos, exceptuando el caso de *P. vulgaris* en el primer muestreo donde se clasifica en el nivel de “moderadamente tóxico”.

De este análisis, se desprende que el efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar de la ciudad de Cuenca, que se origina del vaciado de las unidades de sedimentación para su lavado y mantenimiento, presentó un efecto altamente tóxico sobre el Río Tomebamba, en su punto de descarga,

debido a la presencia de una alta concentración de aluminio, proveniente del Sulfato de aluminio utilizado en el proceso de floculación.

#### 4.2.4 CALCULO DE LA CONCENTRACION TOXICA Y CRITERIO DE CONCENTRACION MAXIMA

El cálculo de la Concentración Tóxica, se realizó en el punto de muestreo aguas abajo del vertimiento del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar, es decir a 180 m.; según las normas de la US EPA (2005), deben ser consideradas las UT, del organismo más sensible, de un grupo de tres bioensayos usados, que para el presente estudio fue *Daphnia magna*.

El cálculo se hizo a través de la fórmula: (Sección 2.6.6.2)

$$CT = \frac{Q_v * UT_v}{Q_{cab}}$$

Obteniéndose el siguiente cuadro:

	Qv (L/s)	UTv	Qcab (L/s)	CT
MUESTREO 1	168,8	9,72	27410	0,060
MUESTREO 2	285,75	9,12	2280	1,14
MUESTREO 3	302,51	8,45	2790	0,92

**Tabla 4.7** Cálculo de la Concentración Tóxica, en referencia a *D. magna*, que se determinó como especie más sensible.

El valor de CT, para cada muestreo, fue comparado con el Criterio de Concentración Máxima, que contempla como toxicidad total del efluente, un valor que no debe exceder de 0,3 UTa, para garantizar la protección sobre efectos agudos de un vertido hacia su cuerpo receptor.

- Como podemos observar, en el primer muestreo, la CT calculada para esa fecha tiene un valor inferior al CMC (<0.3), pese a su clasificación de toxicidad “muy tóxico”, lo cual quiere decir, que el río tiene una buena capacidad de asimilación, al recibir el vertimiento tóxico. Esto se puede explicar puesto que,

como se puede observar en la tabla 4.7, el caudal del río en esa fecha y a la hora determinada, era muy alto (época de lluvias abundantes).

- En el segundo muestreo, podemos ver que el CT es muy superior al valor máximo de 0,3 UTa, lo cual es un indicador determinante de que en un caudal bajo del río, frente a una toxicidad alta del efluente, pierde la capacidad de asimilación del vertimiento, por tanto, no hay protección sobre los efectos tóxicos generados.
- En el tercer muestreo, la situación es parecida a la del segundo, lo que confirma que una alta toxicidad del efluente frente a caudales bajos del río, dan como resultado una toxicidad total elevada para el cuerpo receptor.

#### 4.2.5 DETERMINACION DEL ICOTOX

El cálculo del Índice de Contaminación Toxicológica, ICOTOX se lo realizó en base a las UT obtenidas para *Daphnia magna*, que demostró ser la especie más sensible al efecto tóxico del aluminio, contenido en el efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar.

Aplicamos la siguiente fórmula:

$$\text{ICOTOX} = 0,26 + 0,96 \log (\text{UT})$$

	UT <sub>Daphnia</sub>	ICOTOX
muestra 1	9,72	1,21
muestra 2	9,12	1,18
muestra 3	8,45	1,15

**Tabla 4.8** Valores de ICOTOX, calculados en base a las UT, referidas a *Daphnia magna*, considerada la especie de mayor sensibilidad en los ensayos ecotoxicológicos del presente estudio.

En base a la tabla 2.4, para valores UT superiores a 4, el índice ICOTOX, se vuelve automáticamente igual a 1, indicando un nivel de incidencia “muy tóxico”.





En los tres muestreos, el ICOTOX dio un valor superior a 1, dando un nivel de incidencia “muy tóxico”.

Esto significa que, el impacto ambiental en el Río Tomebamba, causado por el vertimiento del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar, tiene un nivel de incidencia calificado como “MUY TOXICO”.

## CAPITULO V

### 5. DISCUSIÓN

En una planta de tratamiento de agua potable de filtración rápida se agregan coagulantes y otros reactivos que harán que estos lodos generados en su proceso contengan, además de las sustancias orgánicas, otras sustancias adicionales para el tratamiento deseado, por ejemplo, sulfato de aluminio y como subproducto *hidróxido de aluminio*.

Si bien es cierto, la potabilización del agua es necesaria, por lo que sus procesos están justificados, el hecho de que con el *tratamiento* se contamina la fuente de agua superficial, aunque sea paradójico, es una realidad.

Uno de los objetivos que se persigue con el monitoreo de efluentes, es velar por el cumplimiento de las reglamentaciones de descarga, y predecir los posibles impactos de la misma en un sitio específico del cuerpo receptor, en relación a su contenido de mezclas de sustancias, que puedan resultar tóxicas y plantear mejoras en los procesos tecnológicos de control de la contaminación.

La US EPA, con el fin de garantizar objetivos de calidad aceptables para el cuerpo receptor de efluentes, ha desarrollado procedimientos específicos y detallados, en base a ensayos de toxicidad que logran evaluar los efectos letales y subletales de sustancias específicas. Con ello, sugiere un criterio de aceptabilidad de descargas en el que el efluente no debe superar las 0,3 UT durante un día, ni con una frecuencia mayor a una vez cada tres años. (US EPA, 1993; 1994).

Por otro lado, este organismo sugiere estimar las concentraciones permisibles de sustancias tóxicas a través de ecuaciones que se basan en los balances de masas y la dinámica del cuerpo receptor. Todo esto permite implementar el



monitoreo del efluente en el sitio de descarga y proyectar su efecto sobre el cuerpo receptor.

De acuerdo a la Normativa Ecuatoriana, la concentración máxima permisible de aluminio en la descarga de efluentes es de 5000 µg/L. (TULAS, 2003)

Las concentraciones de aluminio determinadas en el efluente de la planta de potabilización de El Cebollar de la ciudad de Cuenca, arrojan datos que superan lo permitido en la normativa citada, por lo cual, se hizo una evaluación de sus efectos de toxicidad a través de bioensayos, con *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*. En los puntos de muestreo aguas arriba del vertimiento del efluente, no se encontraron concentraciones de aluminio que resultaren tóxicas para su entorno. Aguas abajo del vertimiento, encontramos en el primer y tercer muestreo, concentraciones de aluminio no tóxicas, pero el segundo muestreo, si dio concentraciones muy superiores a lo permitido en la normativa vigente. A pesar de ello, no se evidenció la existencia de toxicidad, para ninguno de los bioensayos de prueba, que podría deberse a la formación de ligandos de aluminio en el agua de río, en ese punto de muestreo. (US EPA, Aluminium, 1988)

En publicaciones de investigaciones y estudios de toxicidad aguda y crónica con el aluminio liberado desde el sulfato de aluminio, evidencian los efectos dañinos sobre la ictiofauna, especialmente a nivel de la epidermis y los tejidos branquiales, además de alteraciones en el desarrollo de huevos y larvas de anfibios. (Leino, 1990; Berntseen, 1998; Peuranen, 1993)

De igual forma, se pudo determinar en peces y especies de invertebrados, efectos de toxicidad aguda y crónica. (US EPA. Aluminium, 1988).

En cuanto a la toxicidad del aluminio sobre especies de semillas de lechuga, maíz y fréjol, ha sido evidenciada a través de alteraciones en la germinación,

así como en la elongación de la raíz y crecimiento de la planta. (Garzón, 2004; Bennet, 1984)

En el presente estudio, se pudo determinar, que las especies más sensibles al efecto tóxico del aluminio, de acuerdo a sus Unidades de Toxicidad, son *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*. Esto reviste vital importancia, debido a que en el caso de *Daphnia*, es un componente importante, al ser alimento de peces y otros organismos superiores, como base de la cadena trófica de los medios acuáticos. Y en el caso de *Lactuca*, permite establecer datos acerca del posible efecto de los contaminantes en las comunidades vegetales, cercanas a las márgenes de cuerpos de agua contaminados, sobre todo si se tratan de márgenes en zonas hortícolas.

Por lo tanto, el efluente de la planta de potabilización de El Cebollar, presentó un efecto altamente tóxico en su punto de descarga sobre el Río Tomebamba.

Los ICOTOX, calculados en el efluente, para los tres muestreos, indican niveles de incidencia tóxicos, superiores a 1, lo que se interpreta como un impacto ambiental en el Río Tomebamba, calificado como "MUY TOXICO".

La carga tóxica para el segundo y tercer muestreo, pudo demostrar valores superiores a 0,3 UT, lo que define una baja capacidad de asimilación del río, que coincide con caudales relativamente bajos del mismo. No así en el primer muestreo, en donde la carga tóxica es inferior a la CMC, pese a un efecto altamente tóxico del efluente, que coincide con un caudal muy alto del río, demostrándose su buena capacidad de asimilación en época de invierno.

## CAPITULO VI

### 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la presente investigación se realiza la “Determinación de la toxicidad por aluminio del efluente de la Planta potabilizadora de El Cebollar en el Río Tomebamba, utilizando bioensayos ecotoxicológicos”, a través de los siguientes procedimientos:

- Se definieron tres sitios de muestreo, correspondientes al punto de vertido del efluente de la Planta, ubicada en la rivera izquierda del Río Tomebamba, a la altura del Colegio Sagrados Corazones, otro punto aguas arriba a 120 m del vertimiento del efluente y un tercero a 180 m. aguas abajo del vertimiento.
- Los muestreos fueron realizados en tres momentos distintos, de acuerdo a las necesidades de lavado de las unidades de sedimentación y filtración de la Planta potabilizadora, que correspondieron a épocas de alta y baja precipitación de lluvia.
- Para cada uno de los muestreos se determinaron las concentraciones de aluminio y valor de pH en el Laboratorio de Saneamiento de la empresa ETAPA EP.
- Los ensayos ecotoxicológicos, se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil, usando como especies de prueba: *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*.
- Se determinaron los índices de toxicidad del CL<sub>50</sub> y CI<sub>50</sub>, además del NOEC, LOEC, Unidades de Toxicidad, ICOTOX y Niveles de Concentración Tóxica del vertimiento.

Llegándose a las siguientes conclusiones:

1. Las concentraciones de aluminio, en el efluente de la Planta de potabilización, superan ampliamente, los niveles máximos permitidos en la normativa Ecuatoriana.
2. De acuerdo a las Unidades de Toxicidad, en base a  $CL_{50}$  y  $CI_{50}$ , se establece que el vertimiento del efluente, tiene un nivel de incidencia “Muy tóxico” para *D. magna*, “Moderadamente tóxico” para *L. sativa* y “Levemente Tóxico” para *P. vulgaris* y *Z. mays*; se determinó además que *P. reticulata*, es una especie resistente al efecto tóxico del aluminio.
3. En relación al efecto del aluminio sobre la elongación de la raíz para *Lactuca sativa*, en los tres muestreos realizados, los resultados demuestran la existencia de toxicidad en el efluente de la Planta de Potabilización, evidenciados por la disminución de la longitud del radical, a medida que aumenta la concentración del aluminio. No así para *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, por lo que se les considera especies más resistentes al efecto tóxico del aluminio.
4. Para *P. vulgaris* se presentó disminución de la altura de la planta, a las concentraciones evaluadas, lo cual evidencia el efecto tóxico del aluminio sobre este parámetro de desarrollo para esta especie. Para *Z. mays*, no se observa una variación importante en la altura de la planta, lo que sugiere que esta especie de semilla, no es muy sensible a los efectos tóxicos del aluminio, además que bajas diluciones, parecen tener influencia positiva sobre este parámetro, lo cual puede deberse a la poca cantidad de tóxico, y posiblemente la presencia de sustancias nutritivas, que de alguna forma podrían estimular el desarrollo de la planta.
5. Los ICOTOX, obtenidos a partir de la especie más sensible (*Daphnia magna*), son superiores a 1, en los tres muestreos, lo que significa que el impacto ambiental en el Río Tomebamba, causado por el vertimiento del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar, tiene un nivel de incidencia calificado como “MUY TOXICO”.

6. Las Concentraciones Tóxicas (CT), determinadas en relación al  $CMC < 0,3$ , dan como resultado que en épocas de alta precipitación de lluvia (primer muestreo), el Río Tomebamba tiene una alta capacidad de asimilación ( $CT < 0,3$ ), mientras que en épocas de baja pluviosidad (segundo y tercer muestreo), las CT son superiores a 0,3, lo que significa que el río pierde la capacidad de asimilación del vertimiento, por tanto, no hay protección sobre los efectos tóxicos generados.
7. *Poecilia reticulata*, no se vio afectada por las concentraciones de aluminio presentes, determinándose que esta especie no es sensible al tóxico estudiado. Sin embargo, se sugiere realizar monitoreos de tipo crónico, por posibles efectos de bioacumulación que se han comprobado se pueden dar en estas especies.
8. No se evidenció efectos tóxicos por aluminio en los puntos aguas arriba y abajo del vertimiento del efluente, inclusive utilizando las muestras puras obtenidas para el estudio.
9. Hasta hoy, no se había realizado un estudio sobre la determinación de las concentraciones de aluminio, descargadas al Río Tomebamba a través del efluente de la Planta de Potabilización de El Cebollar, y su impacto ambiental, razón por la cual, la presente investigación, constituye un referente para próximos seguimientos que permitan monitorear la calidad del vertido de dicho efluente, para minimizar su impacto sobre las comunidades de organismos acuáticos y vegetales cercanos a la zona de vertimiento, así como mantener en vigilancia la calidad del agua en lo referente a su toxicidad por aluminio, aguas abajo del punto de vertimiento.



## RECOMENDACIONES

- Implementar mecanismos de control, para monitorear la cantidad de aluminio vertido a partir del efluente de la Planta de potabilización de El Cebollar, y llevarla a concentraciones permisibles de acuerdo a la normativa vigente.
- Implementar procesos de tratamiento de los lodos resultantes del lavado de las unidades de sedimentación y filtración de la referida planta, previos a la descarga del efluente, para garantizar la calidad del vertimiento.
- Revisar y optimizar los requerimientos de Sulfato de aluminio utilizado en el proceso de floculación durante la potabilización del agua, a través de los ajustes necesarios de acuerdo a las condiciones físicas y químicas del agua a tratar.
- Evaluar la concentración de aluminio, en los lodos depositados en el lecho del río, aguas abajo del vertimiento del efluente, para evaluar posibles efectos tóxicos por acumulación o sedimentación del mismo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ATSDR. *Resúmenes de Salud Pública. aluminio (Aluminium)*. 2008. Recuperado el 15 de junio de 2012 de ATSDR (Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades). [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs22.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs22.html)
2. Bello Gutierrez, J.; López de Cerain Salsamendi, A. (2001). *Fundamentos de Ciencia Toxicológica*. España. Edit. Díaz de Santos.
3. Benavidez, S.C.. 1997. *Toxicidad aguda de la fracción acuosa del lodo residual de la planta de tratamiento de agua potable de Puerto Mallarino a través de bioensayos con microcústáceos y planarias*. Cali. Universidad del Valle. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología.
4. Bennet, R. J., et al. (1984). *The primary site of aluminium injury in the root of Zea mays L*. South African Journal of Plant and Soil. Vol. 2, Issue 1, 1985. Recuperado el 5 de junio de 2014 de: <http://dx.doi.org/10.1080/02571862.1985.10634130>
5. Berntseen, M.A.G.; et al. 1998. *Responses of skin mucoses cells to aluminium exposure at low pH in Atlantic Salmon SALMO SALAR SMALTS*. Canadians Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 54 (5): 1039-1045.
6. Capó, M. (2007). *Principios de Ecotoxicología: Diagnóstico, Tratamiento y Gestión del Medio Ambiente*. España. Ed. Tébar
7. Castillo, G., et al. (2004). *Ensayos toxicológicos y Métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. México. Ed. México: IMT.
8. CEPIS. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. *Manual de Evaluación y Manejo de Sustancias Tóxicas en Aguas superficiales. Sección 2. Evaluación y Manejo del Riesgo*. Versión actualizada 2001. OPS/CEPIS/PUB/01.66
9. Cleveland, L., et al. (1986). *Interactive toxicity of aluminium and acidity to early life stage of brook trout*. Trans. An. Fish. Soc. 115: 610-620.

10. DIAZ, A. (2009). *Diseño estadístico de experimentos*. 2ª ed. Colombia. Ed. Universidad de Antioquia.
11. DINAMA. (1996) Laboratorio. *Manual de Procedimientos Analíticos para Aguas y Efluentes*. Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Dirección Nacional de Medio Ambiente.
12. DOMITROVIC, H.A. (1997). *El empleo de peces autóctonos para la realización de ensayos de toxicidad: evaluación de la especie Aequidens portalegrensis* (Hensel, 1870). *Revista de Ictiología* 5 (1-2): 37-42p.
13. Garzón, T. (2004). *Estudio de la compartimentación celular en plantas modelo, sometidas a estrés por aluminio*. España. Universitat Autònoma de Barcelona. Recuperado el 2 de junio de 2014 de: <http://ddd.uab.cat/pub/tesis/2004/tdx-1025104-171232/tgl1de1.pdf>
14. Guías para la calidad del agua potable. (2014). 3ªed. OMS 2014.
15. Heredia, J., et al. (2004). *Experimentación en el tratamiento de aguas residuales*. España. Edit. Universidad de Extremadura Servicio.
16. Hall, J.A.; Golding, L.A. (1998). *Standard methods for whole effluent toxicity testing: development and application*. Report no. MFE80205. NIWA report for the Ministry for the Environment, Wellington, New Zealand.
17. LM Mayero, F.; Mencias Rodríguez, Z. (2000). *Manual de toxicología básica*. España. Edit. Díaz de Santos.
18. Leino, R.L.; et al. (1990). *Multiple effects of acid and aluminum on brood stock and progeny of fathead minnows, with emphasis on histopathology*. *Can. J. Zool.* 68: 234-244
19. Martínez-Jerónimo, F. F., et al. (2008). *Ensayo de toxicidad aguda con larvas y juveniles de los peces Brachydanio rerio y Poecilia reticulata*. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México (P. Ramírez Romero y A. Mendoza Cantú Compiladoras). Instituto Nacional de Ecología, Semarnat, 115-126.

20. NIWA Ecotoxicology Laboratory. (1998). *Freshwater Cladoceran (Ceriodaphnia dubia) Acute Toxicity Test Protocol*. Apendix to Hall, J., Golding, L. (1998). Standard Methods for whole effluent toxicity testing: developmet and application. Report No. MFE 80205. New Zeland.
21. OECD 202. 1981. Daphnia sp. Acute Immobilisation. (Adopted as Daphnia sp.14-day Reproduction Test including an Acute Immobilisation. Updated 13 April 2004.
22. OECD 203. 1981. Fish, Acute Toxicity Test. Updated 17 July 1992.
23. OECD 208. 1984. Terrestrial Plants, Growth Test.
24. OECD 227. 2006. Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test.
25. Rodolfo Landa Contreras, L., et al. *Concentración de cationes en frijol común en respuesta a aluminio*. Terra Latinoamericana, vol. 28, núm. 2, abril-junio, 2010, pp. 119-127, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C.
26. OPPTS 850.4200. 1996. *Ecological Effects Test Guidelines. Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test*. United States Environmental Protection Agency. Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7101). EPA 712-C-96-154.
27. Ogilvie, D.M. & Stechey D.M. (1983). *Effects of aluminium on respiratory esponse and spontaneous activity of rainbow trout, Salmo garidneri*. Envirom. Toxicol. Chem.2:43-48.
28. Peuranen, S., et al. (1993). *Effects of acidity and aluminium on fish gills in laboratory experiments and in the field*. The Science of the Total Environmental. Vol 134. Supplement 2: 979-988.
29. Ramos, R., et al. (2003). *El Agua en el Medio Ambiente: Muestreo y Análisis*. 1ª.ed. México. Ed. Plaza y Valdés, S.A. de C.V.
30. Reid S.D., et al. (1991). *Acclimation to sublethal aluminium: modifications of metal-gill surface interactions of juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mikyss)*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. n. 48 (10): 1996-2005.

31. Restrepo, I., et al. (2007). *Avances en Investigación y Desarrollo en Agua y Saneamiento para el cumplimiento de las metas del milenio*. Colombia. Ed. Universidad del Valle.
32. Restrepo R., et al. (2003). *Evaluación de impactos ambientales ocasionados por vertimientos sobre aguas continentales*. Colombia. Colombia: Ambiente y Desarrollo ISSN: 0121-7607. Ed. Javegraf v.12 fasc.2003 p.53 – 80. Recuperado el 6 de abril de 2014 de: [www.academia.edu/891594/Evaluacion de Impactos Ambientales Causados por Vertimientos Sobre Aguas Continentales](http://www.academia.edu/891594/Evaluacion_de_Impactos_Ambientales_Causados_por_Vertimientos_Sobre_Aguas_Continentalas). (2014)
33. Satizabal, A; et. al. (1999). *Toxicidad aguda del aluminio sobre Daphnia magna en aguas con diferentes niveles de dureza*. Actual Biol 21 (71): 131-142
34. Smith, T.R., & Haines T.A. (1995). *Mortality, growth, swimming activity and gill morphology of Brook Trout (Salvelinus fontinalis) and Atlantic Salmon (Salmo salar) exposed to low pH With and without aluminium*. Environmental Pollution, 90 (1):33-40.
35. Torres Y., (2012). *Recolección y Preservación de muestras de agua*. Tomado de US APHA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
36. TULAS (Texto Unificado de Legislación Secundaria del MAE). (2003) *Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua*. Libro VI. Anexo I. Ministerio del Medio Ambiente del Ecuador. Revisión 2012.
37. US APHA, AWWA, WEF. (2011). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Ed. 21.
38. US EPA. (2002a). *Methods for Measuring the Acute Toxicity of effluents and Receiving waters to Freshwater and Marine Organisms*. Fifth Edition. US EPA. Office of Water (43037)
39. US EPA (2002b). *Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms*, Fourth Edition. US EPA. Office of Water (43037)



40. US EPA. (2012a). *Effluent Guidelines*. Appendix F: Definitions. 2012-08-14. US EPA.
41. US EPA. (2012b). *Monitoring pH*. National Service Center for Environmental Publication. Tomado de <http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe>
42. Valverde, T., et al. (2005). *Ecología y Medio Ambiente*. México. Ed. Pearson
43. Villarroel Utrillas M. J. 2004. Tesis Doctoral: *Alteraciones Fisiológicas en el Crustáceo Daphnia magna por exposición a plaguicidas*. Server de Publicaciones. Universitat de Valencia.

## **ANEXOS**

### **ANEXO N° 1 NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DESCARGA DE EFLUENTES. (EXTRACTADO DE TULAS 2003. REVISION 2013)**

#### **NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES : RECURSO AGUA**

##### **LIBRO VI ANEXO 1**

##### **0 INTRODUCCIÓN**

La presente norma técnica ambiental es dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental y se somete a las disposiciones de éstos, es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional.

La presente norma técnica determina o establece:

- a) Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado;
- b) Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos; y,
- c) Métodos y procedimientos para determinar la presencia de contaminantes en el agua.

##### **1 OBJETO**

La norma tiene como objetivo la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental, en lo relativo al recurso agua.

El objetivo principal de la presente norma es proteger la calidad del recurso agua para salvaguardar y preservar la integridad de las personas, de los ecosistemas y sus interrelaciones y del ambiente en general.

Las acciones tendientes a preservar, conservar o recuperar la calidad del recurso agua deberán realizarse en los términos de la presente Norma.



## 2 DEFINICIONES

### 2.3 Aguas residuales

Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, que hayan sufrido degradación en su calidad original.

## 3 CLASIFICACION

### 3.2 Criterios generales de descarga de efluentes

1. Normas generales para descarga de efluentes, tanto al sistema de alcantarillado como a los cuerpos de agua.
2. Límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para descarga de efluentes al sistema de alcantarillado.
3. Límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para descarga de efluentes a un cuerpo de agua o receptor.
  - a) Descarga a un cuerpo de agua dulce.
  - b) Descarga a un cuerpo de agua marina.

## 4 DESARROLLO

### 4.2 Criterios generales para la descarga de efluentes

#### 4.2.1 Normas generales para descarga de efluentes, tanto al sistema de alcantarillado, como a los cuerpos de agua

**4.2.1.1 El regulado deberá mantener un registro de los efluentes generados, indicando el caudal del efluente, frecuencia de descarga, tratamiento aplicado a los efluentes, análisis de laboratorio y la disposición de los mismos, identificando el cuerpo receptor.**

Es mandatorio que el caudal reportado de los efluentes generados sea respaldado con datos de producción.

**4.2.1.2** En las tablas # 11, 12 y 13 de la presente norma, se establecen los parámetros de descarga hacia el sistema de alcantarillado y cuerpos de agua (dulce y marina), los valores de los límites máximos permisibles, corresponden a promedios diarios. La Entidad Ambiental de Control deberá establecer la normativa complementaria en la cual se establezca: La frecuencia de monitoreo, el tipo de muestra (simple o compuesta), el número de muestras a tomar y la interpretación estadística de los resultados que permitan determinar si el regulado cumple o no con los límites permisibles fijados en la presente normativa para descargas a sistemas de alcantarillado y cuerpos de agua.

**4.2.1.3** Se prohíbe la utilización de cualquier tipo de agua, con el propósito de diluir los efluentes líquidos no tratados.

**4.2.1.4** Las municipalidades de acuerdo a sus estándares de Calidad Ambiental deberán definir independientemente sus normas, mediante ordenanzas, considerando los criterios de calidad establecidos para el uso o los usos asignados a las aguas. En sujeción a lo establecido en el Reglamento para la Prevención y Control de la Contaminación.

**4.2.1.6** Las aguas residuales que no cumplan previamente a su descarga, con los parámetros establecidos de descarga en esta Norma, deberán ser tratadas mediante tratamiento convencional, sea cual fuere su origen: público o privado. Por lo tanto, los sistemas de tratamiento deben ser modulares para evitar la falta absoluta de tratamiento de las aguas residuales en caso de paralización de una de las unidades, por falla o mantenimiento.

**4.2.1.8** Los laboratorios que realicen los análisis de determinación del grado de contaminación de los efluentes o cuerpos receptores deberán haber implantado buenas prácticas de laboratorio, seguir métodos normalizados de análisis y estar certificados por alguna norma internacional de laboratorios, hasta tanto el organismo de acreditación ecuatoriano establezca el sistema de acreditación nacional que los laboratorios deberán cumplir.

**4.2.1.10** Se prohíbe descargar sustancias o desechos peligrosos (líquidos-sólidos-semisólidos) fuera de los estándares permitidos, hacia el cuerpo receptor, sistema de alcantarillado y sistema de aguas lluvias.

**4.2.1.14** El regulado deberá disponer de sitios adecuados para caracterización y aforo de sus efluentes y proporcionarán todas las facilidades para que el personal técnico encargado del control pueda efectuar su trabajo de la mejor manera posible.

**4.2.1.21** Los sedimentos, lodos y sustancias sólidas provenientes de sistemas de potabilización de agua y de tratamiento de desechos y otras tales como residuos del área de la construcción, cenizas, cachaza, bagazo, o cualquier tipo de desecho doméstico o industrial, no deberán disponerse en aguas superficiales, subterráneas, marinas, de estuario, sistemas de alcantarillado y cauces de agua estacionales secos o no, y para su disposición deberá cumplirse con las normas legales referentes a los desechos sólidos no peligrosos.

### **4.2.3 Normas de descarga de efluentes a un cuerpo de agua o receptor: Agua dulce y agua marina**

**4.2.3.2** Se prohíbe todo tipo de descarga en:

- a) Las cabeceras de las fuentes de agua.
- b) Aguas arriba de la captación para agua potable de empresas o juntas administradoras, en la extensión que determinará el CNRH, Consejo Provincial o Municipio Local y,
- c) Todos aquellos cuerpos de agua que el Municipio Local, Ministerio del Ambiente, CNRH o Consejo Provincial declaren total o parcialmente protegidos.

**4.2.3.7** Toda descarga a un cuerpo de **agua dulce**, deberá cumplir con los valores establecidos a continuación (ver tabla 1.a).

**TABLA 1.a Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce**

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y Grasas.	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3
Alkil mercurio		mg/l	<b>No detectable</b>
Aldehídos		mg/l	2,0
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	2,0
Boro total	B	mg/l	2,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	0,1
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo ECC	mg/l	0,1
Cloruros	Cl <sup>-</sup>	mg/l	1 000
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	Nmp/100 ml		*Remoción > al 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	* Inapreciable en dilución: 1/20
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/l	0,2
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub>	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/l	1,0
Estaño	Sn	mg/l	5,0
Fluoruros	F	mg/l	5,0
Fósforo Total	P	mg/l	10

\* Aquellos regulados con descarga de coliformes fecales menores o iguales a 3.000, quedan exentos de tratamiento.

## ANEXO N° 2

### DETERMINACION DEL pH

#### DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

##### Puesta a punto de la calibración

Se realizará en su lugar habitual de trabajo y dentro de los márgenes de temperatura adecuados.

Primero se realizará su puesta a punto habitual o diaria utilizando las disoluciones tampón al efecto de que dispone el usuario. Para ello se seguirá el siguiente proceso:

- a) El sistema de medida del pH debe estar funcionando durante al menos 30 minutos antes de iniciar el proceso de calibración.
- b) Ajuste de la compensación manual de temperatura en el valor al cual será realizada la puesta a punto de las soluciones tampón. Este valor se determina midiendo con el termómetro la temperatura de las soluciones tampón.
- c) Examinar el electrodo para comprobar que no existe defecto alguno o presencia de burbujas de aire en su interior, en el caso de que las hubiere sacudir el electrodo de forma similar a los termómetros clínicos para bajar la temperatura.
- d) Limpiar el electrodo exteriormente con abundante agua destilada.
- e) Sumergir el electrodo (o electrodos si no son combinados) en la solución tampón a temperatura controlada. La solución utilizada debe ser la de pH más próximo al pH interno del electrodo de vidrio, que suele ser pH 7.
- f) Esperar el equilibrio térmico durante aproximadamente 1 minuto. Una vez estabilizada la lectura, accionar el mando de punto neutro calibración-estandarización-asimetría hasta conseguir una indicación del pH de la solución tampón.



g) Retirar el electrodo/s de la disolución y lavarlos con abundante agua destilada o con la solución tampón que será utilizada a continuación. Pueden secarse los electrodos sin frotar.

h) Sumergir el electrodo en otro vaso que contenga otra disolución tampón de pH diferente a la anterior (suele utilizarse pH 4).

i) Esperar el equilibrio térmico durante aproximadamente 1 minuto. Una vez estabilizada la lectura, accionar el mando de pendiente-escala para ajustar la indicación al valor de pH de la solución tampón utilizada.

De esta forma el aparato queda ajustado en toda su escala y listo para realizar medidas de pH sobre sustancias de pH desconocido. La escala ha quedado ajustada en dos puntos de la recta que relaciona los potenciales (mV) generados por el electrodo en función del pH de las disoluciones en que se sumerge.

Si se requiriese el ajuste empleando además otro punto de calibración (por ejemplo, pH 9) deberán repetirse los puntos g) a i).

## ANEXO N° 3

### ANALISIS EXPERIMENTAL POR ICP (US APHA 2011)

#### 1. Discusión general

Espectroscopia de emisión con plasma acoplado inductivamente (ICP) se desarrolló en el mediados de 1960 como un método rápido, sensible y conveniente para la determinación de metales en el agua (Greenfield 1964, Wendt 1965) y muestras de aguas residuales (Agencia de Protección ambiental 1994, Garbarino 1985). Los metales disueltos se determinan en muestras filtradas y aciduladas. Metales totales se determinan después de la digestión apropiada. Se debe tener cuidado para asegurar que potenciales interferencias se relacionan, especialmente cuando los sólidos disueltos exceden 1500 mg/L.

#### 2. Interferencias

Las interferencias y su tratamiento se describen en el Manual de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Ed. 21, sección 3121 B, c.

#### 3. El aparato

a. Fuente de ICP: Consta de un generador de radiofrecuencia (RF) capaz de generar al menos 1.1 KW de potencia, la antorcha, la bobina de tesla, bobina de carga, red de impedancia, nebulizador, compartimiento de aerosol y drenaje. Reguladores de flujo de alta calidad son necesarios para ambos, el nebulizador soporte flujo de gas argón y el plasma. Se recomienda una bomba peristáltica para regular el flujo de la muestra al nebulizador. El tipo de nebulizador y compartimiento de aerosol utilizado dependerá de las muestras a ser analizadas, así como en el fabricante del equipo. En general, se utilizan nebulizadores neumáticos de diseño concéntrico o cross-flow. Muestras viscosas y muestras que contengan partículas o de alto contenido de sólidos disueltos (> 5000 mg/L) pueden requerir nebulizadores especiales.



b. Espectrómetro: Puede ser el espectrómetro de tipo simultáneo (polychromator) o secuencial (monocromador) con ruta de aire, gas inerte purgado, o vacío óptico. Se requiere de una banda espectral de 0.05 nm o menos. El instrumento debe permitir el examen de los antecedentes espectrales alrededor de las líneas de emisión utilizadas para la determinación de metales. Es necesario poder medir y corregir de fondo una o más posiciones a ambos lados de las líneas de análisis espectral.

#### 4. Reactivos y estándares

Utilizar los reactivos de grado de ultra alta pureza o equivalente. Ácidos redestilados son aceptables. Secar todas las sales a 105 ° C durante 1 h y almacenarlos en un desecador antes del pesaje. Usar agua desionizada, preparada haciendo pasar agua a través de al menos dos etapas de deionización por una cama de resinas de intercambio catiónico/aniónico. Utilizar agua desionizada para la preparación de los estándares de calibración, reactivos y para la dilución.

a. Ácido clorhídrico, HCl, conc y 1+1.

b. Ácido nítrico, HNO<sub>3</sub>, conc.

c. Ácido nítrico, HNO<sub>3</sub>, 1+1: Añadir 500 mL conc HNO<sub>3</sub> a 400 mL de agua y diluir a 1 L.

d. Soluciones madre estándar: consulte la sección 3111B, sección 3111D y 3114B de la sección. Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales.

**PRECAUCIÓN:** Muchas sales metálicas son extremadamente tóxicas y puede ser fatal si se ingiere. Lávese las manos bien después de manipular.

e. Estándares de calibración: Preparar mezcla estándares de calibración en las concentraciones que se muestra en la tabla 3120: I del manual de Métodos Estandarizados para el Análisis de Agua y Aguas residuales. Combinando volúmenes adecuados de las soluciones madre en 100 mL matraces aforados. Agregar 2 mL 1+1 HNO<sub>3</sub> y 10 mL 1+1 HCl y diluir hasta 100 mL con agua.





Antes de preparar la mezcla de estándares, analizar cada solución por separado para determinar posibles interferencias espectrales o la presencia de impurezas. Preparar la mezcla de estándares, cuidar que los elementos sean compatibles y estables. Almacenar las soluciones de mezclas de estándares en FEP fluorocarbono o botella de polietileno no utilizados. Verificar los estándares de calibración inicialmente utilizando el estándar de control de calidad; monitorear semanalmente para estabilidad. Se recomiendan las siguientes combinaciones utilizando lo sugerido en las líneas analíticas en la tabla 3120: I. Combinaciones alternativas son aceptables.

- 1) Solución estándar I: manganeso, berilio, cadmio, plomo, selenio y zinc.
- 2) Solución estándar II de mezclado: bario, cobre, hierro, vanadio y cobalto.
- 3) Mezclado solución estándar III: molibdeno, silicio, arsénico, estroncio y litio.
- 4) Solución estándar IV de mezclado: calcio, sodio, potasio, aluminio, cromo y níquel.

Solución mixta 5) V: antimonio, boro, magnesio, plata y talio. Si la adición de plata resulta en una precipitación inicial, añadir 15 mL de agua y el frasco caliente hasta solución borra. Enfriar y diluir hasta 100 mL con agua. Para esta combinación de ácido limitar la concentración de plata a 2 mg/L.

La Plata en estas condiciones es estable en una matriz de agua del grifo, para concentraciones más altas de 30 d. de plata requieren HCl adicional.

f. Calibración en blanco: diluir 2 mL 1++ 1 HNO<sub>3</sub> y 10 mL 1++ 1 HCl a 100 mL con agua.

Prepare una cantidad suficiente para ser utilizado para limpiar el sistema entre los estándares y las muestras.

g. Método en blanco: llevar un reactivo en blanco a través del procedimiento de preparación de la muestra completa. Preparar método en blanco para contener el mismo tipo de ácido y concentraciones como las soluciones de la muestra.



- h. Estándar de verificación de instrumento: preparar estándares de verificación del instrumento combinando compatibles elementos a una concentración de 2 mg/L.
- i. Muestra de control de calidad del instrumento: obtener un estándar acuoso de referencia certificado de una fuente externa y prepare de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el proveedor. Utilice el mismo ácido matriz como los estándares de calibración.
- j. Ejemplo de control de calidad de método: llevar a cabo una muestra de control de calidad del instrumento a través de un procedimiento completo de preparación de la muestra.
- k. Argón: utilizar grado técnico o grado de soldador. Si el gas parece ser una fuente de problemas, utilice grado pre purificado.

## 5. Procedimiento

- a. Preparación de la muestra: ver sección 3030F.
- b. Condiciones de funcionamiento: Debido a las diferencias entre marcas y modelos de instrumentos, no hay instrucciones detalladas que puedan proporcionarse. Siga las instrucciones del fabricante.

Establecer el límite de detección instrumental, precisión, posiciones de corrección de fondo óptimo, rangos dinámicos lineales e interferencias para cada línea de análisis. Comprobar que la configuración del equipo y condiciones de funcionamiento satisfacen los requisitos analíticos y que pueden ser reproducidos en una base día a día. Una relación de la intensidad de emisión de iones de átomo [Cu(I) 324.75 nm / nm Mn(II) 257.61] puede ser utilizado para reproducir las condiciones óptimas para el análisis con varios elementos en forma precisa. El Cu/Mn cociente de intensidad puede ser incorporado en el procedimiento de calibración, incluidas las especificaciones para sensibilidad y para precisión. Mantener registros diarios o semanales de

las intensidades de Cu y Mn o las intensidades de las líneas del elemento crítico. También registrar la configuración de alineación óptica de la policromador, tasa de absorción de la muestra, las lecturas de energía (incidente, reflejado), atenuación de tubo fotomultiplicador, flujo de masa configuración del controlador y mantenimiento del sistema.

c. Instrumento de calibración: configurar el instrumento tal como se indica Caliente durante 30 minutos el policromador, realizar una alineación óptica utilizando la lámpara de perfil o solución. Verifique la alineación de antorcha de plasma y la abertura de entrada del espectrómetro, especialmente si el mantenimiento de la introducción de la muestra se realizó al sistema. Hacer Cu/Mn o ajuste de relación de intensidad similar. Calibrar el instrumento según procedimiento recomendado del fabricante mediante calibración de los estándares y en blanco. Aspirar cada estándar o el blanco por un mínimo de 15 s después de alcanzar el plasma antes de la integración de señal de comienzo. Enjuague con solución de calibración en blanco o similar para por lo menos 60 s entre cada estándar para eliminar cualquier remanente de la estándar anterior. Antes de analizar las muestras, realizar del análisis estándar de verificación del instrumento. Valores de concentración obtenidos no debe desviarse de los valores reales en más de  $\pm 5\%$  (o los límites de control establecidos, "lo que sea menor").

d. Análisis de muestras: Comenzar cada muestra que se ejecute con un análisis de la calibración en blanco, luego analizar el método en blanco. Esto permite un control de los reactivos de preparación de muestra y los procedimientos de contaminación. Analizar las muestras, alternándolos con análisis de calibración en blanco. Enjuague por al menos 60 s con ácido diluido entre las muestras y los espacios en blanco. Después de introducir cada muestra o deje en blanco sistema se estabilice antes de iniciar la integración de la señal. Examinar cada análisis de la calibración en blanco para Compruebe que no se ha producido ningún efecto de memoria de arrastre. Si se observa el arrastre, repita el enjuague hasta se obtienen valores en blanco. Realizar diluciones apropiadas y la acidificación de la



muestra determinar las concentraciones más allá del rango de calibración lineal.

El control de calidad instrumental, y el método del control de calidad se especifica en la sección 3120 B, e y f respectivamente del Manual de Métodos Estandarizados para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales ed. 21.

#### 6. Cálculos y correcciones

Ver Manual de Métodos estándar para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales, ed. 21, sección 3120 B, 5: a, b, c, d, e.

#### 7. Informes de datos

El informe de datos analíticos se expresa en unidades de concentración en miligramos por litro con tres cifras significativas. Informe de resultados por debajo del límite de detección determinado como no detectan menos que el límite de detección indicada se corrige por dilución de la muestra.

## ANEXO N° 4

### **OECD 202. PROTOCOLO DE ENSAYO DE TOXICIDAD CON *DAPHNIA MAGNA***

Para el desarrollo de pruebas de toxicidad aguda con *D. magna* se emplean neonatos (< 24 h nacidos) expuestos a diferentes concentraciones de una muestra o de un agente tóxico durante un periodo de 48 h. Como resultado de dicha exposición es posible determinar la concentración de la muestra o compuesto problema, que produce la muerte al 50% de la población de neonatos expuestos (concentración letal media o CL50), con un nivel de confiabilidad del 95 por ciento.

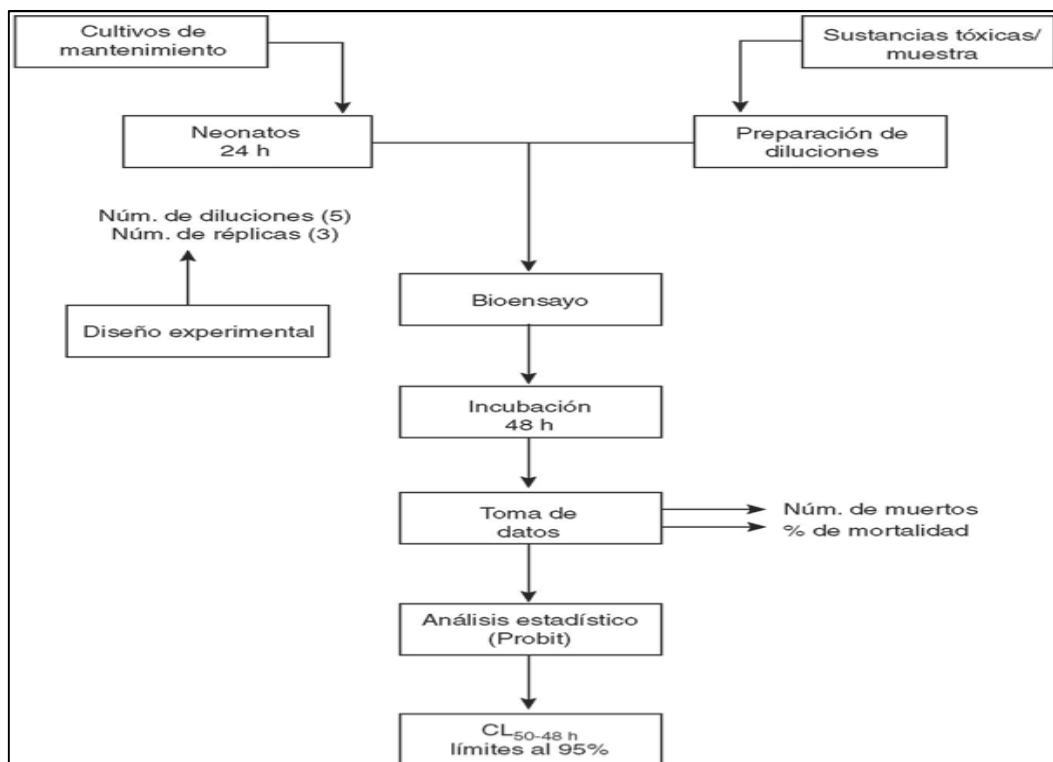
También puede determinarse la concentración mínima donde aún se observa efecto de mortalidad (Lower Observable Effect Concentration, LOEC), así como aquella donde la muestra no produce la muerte de neonatos (No Observable Effect Concentration, NOEC). Cuando no hay un conocimiento de la toxicidad de las muestras es recomendable llevar a cabo una prueba preliminar, en la cual se prepara un amplio número de concentraciones sin réplicas (por ejemplo: 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10 y 100%). Para la prueba se colocan 30 mL de cada una de las diluciones en los vasos de prueba, se transfieren diez neonatos y a las 24 h se registra el número de organismos muertos.

Con esta información podrá establecerse el intervalo de concentración en el cual se puede esperar el 0 y el 100% de mortalidad. Este intervalo se utiliza como guía para la preparación de las diluciones en las pruebas definitivas. Para la preparación de las diluciones de las muestras se utiliza como medio de dilución agua dura reconstituida (180 y 160 mg/L CaCO<sub>3</sub>), sin ningún suplemento. En la preparación del agua se deben determinar los parámetros (numeral 4.2.3) señalados anteriormente (APHA, 1998).

## **Preparación de las soluciones de prueba: Muestras ambientales (efluentes y aguas superficiales)**

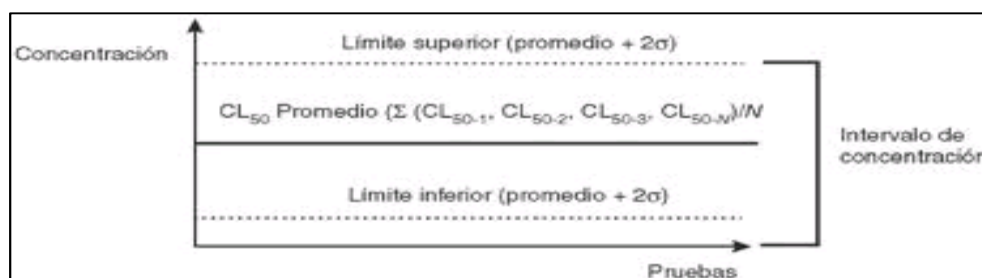
Para preparar las diluciones de la muestra se recomienda utilizar un factor de dilución de 0,5, el cual permite cubrir un amplio intervalo de dilución (por ejemplo, 100; 50; 25; 12,5; 6,25%, etcétera). Si se observa un alto porcentaje de mortalidad durante las primeras horas del bioensayo, es necesario realizar más diluciones de la muestra y repetir el bioensayo. Las pruebas definitivas requieren por lo menos cinco diluciones, por lo que es necesario preparar un mínimo de 100 mL por dilución. Este volumen será suficiente para el llenado de las tres réplicas (25 mL en cada uno) de cada concentración. Como recipientes se pueden emplear vasos de polietileno desechables (figura 4.2.5) de 30 mL, o vasos de precipitado de vidrio de 50 mililitros. Además de las diferentes concentraciones de la muestra, se debe preparar junto con las respectivas réplicas un control negativo con agua dura reconstituida sin suplementos, y un control positivo con una solución del tóxico de referencia (Cr VI) en la concentración que, según la carta control previamente elaborada, corresponda a la CL50.

Una vez preparadas cada una de las soluciones, se transfieren diez neonatos de menos de 24 h de nacidos a cada uno de los recipientes. Para realizar este procedimiento se puede utilizar una pipeta despuntada. Terminada la transferencia se cubren los vasos con papel Parafilm y se colocan bajo condiciones controladas de iluminación y temperatura (tabla 4.2.2) por un periodo de 48 horas. Transcurrido el tiempo establecido se revisan los vasos de prueba y se registra el número de organismos muertos en cada uno. La muerte se reconoce por la carencia de movilidad o la ausencia de ritmo cardíaco. Antes de efectuar las lecturas se agitan los recipientes en forma circular para reactivar el movimiento de los organismos que se posan inmóviles en el fondo. Aquellos que no presenten movilidad pueden observarse con un microscopio estereoscópico para confirmar la ausencia de ritmo cardíaco. En las figuras 4.2.5 y 4.2.6 se presenta un esquema del procedimiento de prueba, así como el diagrama de flujo de las actividades seguidas durante la elaboración de las pruebas de toxicidad con *Daphnia magna*.



## Expresión de los resultados

**Cálculo de la CL50:** Para el cálculo de la CL50 y sus respectivos límites de confianza al 95% se utiliza el método Probit, ya sea manualmente o con ayuda de paquetes estadísticos que tengan este procedimiento. El método de análisis Probit permite estimar la CE50 o CL50 ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit. Esta transformación permite el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit 0,5, corresponderá a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población. Una de las restricciones del método es que para el cálculo de la CE50 o CL50 deben obtenerse valores intermedios entre 0 y 100% de mortalidad.



## Aceptabilidad de los resultados

- La mortalidad en el control negativo no debe exceder el 10%.
- La concentración final de oxígeno disuelto debe ser mayor de 2 mg/L. Una de las restricciones del método es que para el cálculo de la CE50 o CL50 deben obtenerse valores intermedios entre 0 y 100% de mortalidad.
- La mortalidad en el control negativo no debe exceder el 10%.
- La concentración final de oxígeno disuelto debe ser mayor de 2 mg/L.

La CL50 para el tóxico de referencia deberá estar dentro de los límites de confianza preestablecidos en la carta control. En caso de emplear un control positivo de concentración cercana a la CL50, los valores de mortalidad obtenidos deberán encontrarse cercanos al 50%. Se puede considerar aceptable el encontrar mortalidades entre el 33 y 57 por ciento.



**ANEXO N°5****PROCOLO OECD 208  
ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON SEMILLAS DE LECHUGA  
(*LACTUCA SATIVA L.*)****Introducción**

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga es una prueba estática de toxicidad aguda que permite estimar la fitotoxicidad de sustancias tóxicas solubles en agua y otras matrices sólidas sobre la germinación de las semillas y sobre el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Se puede aplicar para determinar toxicidad en los efluentes industriales, lixiviados, aguas residuales, superficiales, subterráneas, intersticiales, agua potable y lodos.

La evaluación del efecto en el crecimiento de radícula y de la plántula permite examinar el efecto tóxico de los compuestos solubles en agua presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero si inhibir el crecimiento de la planta. Por esta razón las inhibiciones de la raíz y de la plántula constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en plantas. Aportando así información adicional a los estudios de germinación.

Asimismo la prueba permite evaluar la fitotoxicidad de muestras coloreadas o muy turbias sin tener que filtrar la muestra previamente.

La sensibilidad de la especie, la facilidad y la rapidez de la germinación de la semilla de lechuga permite desarrollar la prueba en pocos días. Esto asociado con los requerimientos de materiales y equipos básicos de laboratorio permiten que la prueba sea de bajos costos y que se pueda incorporar en una batería de bioensayos.



La prueba consiste básicamente en determinar el efecto de la inhibición en la germinación, la inhibición en la elongación de la raíz y de la plántula producida por el tóxico en una muestra, luego de haberlas expuesto por 120 horas. Comparándolo siempre con el crecimiento normal en el control negativo.

### **Objetivos:**

- Realizar un bioensayo de toxicidad utilizando semillas de lechuga (*L. sativa*)
- Practicar la preparación de la dilución serial de muestra para bioensayos de toxicidad.
- Calcular el porcentaje de germinación de las semillas expuestas.
- Determinar las concentraciones que producen el cincuenta por ciento de inhibición en el crecimiento de la raíz y de la plántula de la semilla de lechuga (EC50).

### **Materiales y procedimiento general**

Conductímetro

pH metro

Oxigenó metro

Lámpara con magnificación

Cajas petri de vidrio 100 x 15 mm

Tubos cónicos graduados 50 ml

Gradillas para tubos

Papel aluminio

Papel absorbente no tóxico

Probeta 100 ml

Pinzas planas (sí algún estudiante tiene favor traer)

Pipeta automáticas 5 y 10 ml y puntas o pipetas graduadas 5-10 ml

Semillas de lechuga

Papel milimétrico y semilogarítmico (estudiantes)

Guantes (estudiante)

### **Preparación de la muestra y controles**

Prepare 50 ml de las diluciones 1:2 (100, 50, 25, 12.5, 6.25%); cada dilución se realiza diluyendo por la mitad la concentración previa.

Mida el pH, oxígeno disuelto, temperatura y conductividad en los controles y las concentraciones baja, media y alta.

Se usa agua reconstituida dura para las diluciones y como el control negativo.

El control positivo que se usa es el zinc bivalente 20  $\mu\text{g}$  /ml.

### **Ejecución del ensayo**

Coloque dos círculos de papel absorbente en cada caja petri.

Coloque aproximadamente 160 semillas sobre papel toalla.

Agregue 5,0 ml de la muestra a las respectivas cajas petri.

Seleccione las semillas de tamaño y color similar, que no presenten rotura de tegumento.

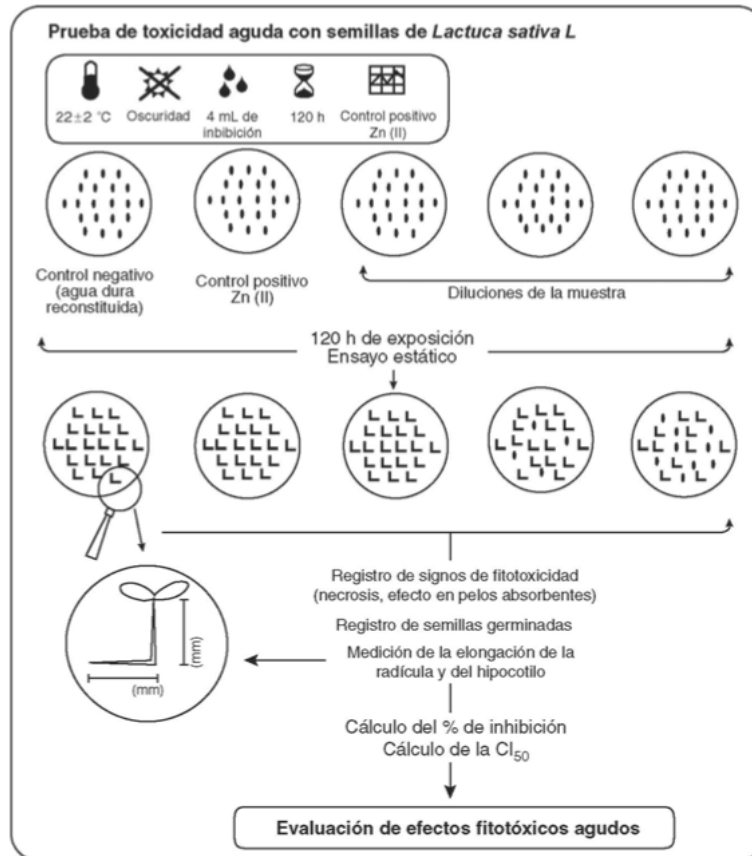
Con la ayuda de una pinza ponga 20 semillas en hileras de cinco en cada una de las cajas petri (solo una caja por concentración/dilución). Inicie siempre por el control negativo y finalizando con la concentración mayor.

Tape las cajas y envuélvalos con papel aluminio para evitar que les entre la luz.

Coloque las cajas en un lugar seguro a temperatura ambiental durante la duración de la prueba.

Después de cinco días cuente el número de semillas germinadas.

Mida la longitud de la raíz y de la plántula con ayuda de una lámpara de magnificación y papel milimetrado. Ver hoja de anotaciones.



## Resultados

Calcule la desviación estándar y el coeficiente de variación de los datos.

Determine el porcentaje de germinación de las semillas.

Calcule el porcentaje de inhibición del crecimiento de la raíz y de la plántula:

Determinen gráficamente la concentración de inhibición media (EC<sub>50</sub>):

Grafique los datos en un papel semilogarítmico de 3 ciclos (eje X, concentración de la muestra (en la escala semilogarítmica); y eje Y, % de Inhibición). Trace una línea de mejor ajuste. Dibuje una línea perpendicular desde el punto de 50% de inhibición a la curva. El valor  $EC_{50}$  corresponderá a

la concentración de la muestra en le eje X.

$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Prom. Crecimiento tratamiento} - \text{Prom. Crecimiento control negativo}}{\text{Promedio crecimiento control negativo}} \times 100$

**ANEXO N°6****PROTOCOLO OECD 208****ESTUDIOS DE TOXICIDAD AGUDA EN PLANTAS TERRESTRES DE LAS  
ESPECIES: *ZEA MAYS L.* (MAÍZ) Y *PHASEOLUS VULGARIS* (FRIJOL  
NEGRO)**Parámetros del ensayo:

1. Tipo de suelo: Contenido de K = 9.4 mg/Kg Ca. =11.6 mg/Kg. ,Mg. =10.7 mg/Kg., Materia orgánica = 12 %
2. pH: debe estar entre 5 y 7.5
3. Contenido de C: menor de 20 %
4. Partículas de suelo < o = 5 mm.
5. Germinación del control negativo > 65 %
6. Volumen de aplicación de agua variable para mantener el % de humedad entre 60 y 80
7. Sistema de riego. Manual
8. No. de réplicas / tratamiento 5
9. No. plantas por pote: depende de las especie a evaluar (4)
10. Duración del ensayo: 14 días
11. Temperatura: 25 +/- 2 ° C
12. Humedad del suelo: 60-80 %
13. Volumen de suelo: 400 g.
14. Día cero : cuando el 65 % o más de las semillas del grupo control germinaron
15. Modelo biológico

Se utilizan tres especies de plantas no objetivo, para el producto a evaluar, el cual se aplicará de forma única al inicio del ensayo de forma directa sobre el suelo donde se siembran las semillas las que quedan en contacto con el producto a evaluar.



## ANEXO N°7

### PROTOCOLO OECD 203

#### TEST DE TOXICIDAD AGUDA EN PECES.

**Condiciones de exposición.**

Duración preferiblemente 96 horas. Registro de mortalidad a 24, 48 y 96 horas.

**Carga:** Máximo de carga 1.0 g de peces/litro es recomendado para ensayos estáticos y semiestáticos.

**Luz:** 12 a 16 horas de fotoperíodos de luz diaria.

**Temperatura:** Apropiaada para la especie de 21-25  $\pm$ 2°C.

**Concentración de Oxígeno:** No menos que 60 por ciento de valor de saturación. La aireación puede usarse si esta no significa una pérdida significativa de la sustancia investigada.

**Alimentación:** Ninguna.

**Perturbaciones:** Deben evitarse perturbaciones que puedan cambiar el comportamiento de los peces.

**Numero de peces:**

Al menos 7 peces deben ser usados por cada concentración del ensayo y en el control.

**Especie de pez:** *Poecilia reticulata*. (Teleostei Poeciliidae) Peters. Guppy

**ANEXO N°8**
**REGISTRO DE RESULTADOS DE PRUEBAS TOXICOLÓGICAS**

**Tabla 8.A Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Daphnia magna* en el Efluente de la Planta de El Cebollar sobre el Río Tomebamba**

<b>PRIMER MUESTREO EFLUENTE PLANTA DE EL CEBOLLAR (E1)</b>										
<b>Concentración</b>		<b>N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*</b>						<b>Medidas Físico-Químicas</b>		
<b>N°</b>	<b>%</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>OD</b>	<b>pH</b>	
1	100	5	5	5	5	20	100	6	7,4	
2	80	5	5	5	5	20	100	6	7,4	
3	40	5	5	5	5	20	100	6	7,4	
4	20	4	4	4	4	16	80	6	7,4	
5	10	3	4	3	3	13	65	6	7,4	
6	8	2	2	3	2	9	45	6	7,4	
7	5	2	2	2	1	7	35	6	7,4	
8	2	1	1	1	1	4	20	6	7,4	
9	0,5	0	0	0	0	0	0	6	7,4	
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4	

\*(R): Cada réplica corresponde a 20 individuos.

<b>PRIMER MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA1)</b>										
<b>Concentración</b>		<b>N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*</b>						<b>Medidas Físico-Químicas</b>		
<b>N°</b>	<b>%</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>OD</b>	<b>pH</b>	
1	100	0	0	0	0	0	0	6	7,4	
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4	

<b>PRIMER MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb1)</b>										
<b>Concentración</b>		<b>N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*</b>						<b>Medidas Físico-Químicas</b>		
<b>N°</b>	<b>%</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>OD</b>	<b>pH</b>	
1	100	0	1	0	1	2	10	6	7,4	
2	80	0	0	0	0	0	0	6	7,4	
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4	

**SEGUNDO MUESTREO EFLUENTE PLANTA DE EL CEBOLLAR (E2)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*					Medidas Físico-Químicas			
N°	%	R1	R2	R3	R4	Total	%	OD	pH	
1	100	5	5	5	5	20	100	6	7,4	
2	80	5	5	5	5	20	100	6	7,4	
3	40	5	5	5	5	20	100	6	7,4	
4	20	3	4	4	4	15	75	6	7,4	
5	10	3	4	4	3	14	70	6	7,4	
6	8	1	2	3	2	8	40	6	7,4	
7	5	1	2	2	1	6	30	6	7,4	
8	2	1	1	1	1	4	20	6	7,4	
9	0,5	0	0	0	0	0	0	6	7,4	
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4	

\*(R): Cada réplica corresponde a 20 individuos.

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA2)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*					Medidas Físico-Químicas			
N°	%	R1	R2	R3	R4	Total	%	OD	pH	
1	100	0	0	0	0	0	0	6	7,4	
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4	

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb2)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*					Medidas Físico-Químicas			
N°	%	R1	R2	R3	R4	Total	%	OD	pH	
1	100	1	1	0	0	2	10	6	7,4	
2	80	0	0	0	0	0	0	6	7,4	
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4	



**TERCER MUESTREO EFLUENTE PLANTA DE EL CEBOLLAR (E3)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*						Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	R3	R4	Total	%	OD	Ph
1	100	5	5	5	5	20	100	6	7,4
2	80	5	5	5	5	20	100	6	7,4
3	40	5	5	5	5	20	100	6	7,4
4	20	4	3	4	3	14	70	6	7,4
5	10	2	4	4	3	13	65	6	7,4
6	8	1	2	2	2	7	35	6	7,4
7	5	1	1	2	1	5	25	6	7,4
8	2	1	0	1	1	3	15	6	7,4
9	0,5	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4

\*(R): Cada réplica corresponde a 20 individuos.

**TERCER MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA3)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*						Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	R3	R4	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4

**TERCER MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb3)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*						Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	R3	R4	Total	%	OD	pH
1	100	0	1	1	0	2	10	6	7,4
2	80	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4

**Tabla 8.B Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Poecilia reticulata* en el Efluente de la Planta de El Cebollar sobre el Río Tomebamba**

---

**PRIMER MUESTREO EFLUENTE (E1)**

---

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*			Medidas Físico-Químicas		
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

---

---

**PRIMER MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA1)**

---

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*			Medidas Físico-Químicas		
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

---

---

**PRIMER MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb1)**

---

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*			Medidas Físico-Químicas		
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

---

**SEGUNDO MUESTREO EFLUENTE (E2)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*				Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA2)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*				Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb2)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*				Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

**TERCER MUESTREO EFLUENTE (E3)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*				Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

**TERCER MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA3)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*				Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

**TERCER MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb3)**

Concentración		N° Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R)*				Medidas Físico-Químicas	
N°	%	R1	R2	Total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	6	7,4

**NOTA:** NO SE EVALUARON MAS CONCENTRACIONES, DEBIDO A QUE NO HUBO EFECTO CON LAS CONCENTRACIONES PURAS

**Tabla 8.C Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Lactuca sativa* en el Efluente de la Planta de El Cebollar sobre el Río Tomebamba**

<b>PRIMER MUESTREO EFLUENTE E1</b>						
Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de	cm tres	Indice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*	
N°	%					
1	100		2,2		65,57	
2	10		2,82		46,67	
3	5		3,08		27,8	
4	2		3,31		17,8	
5	1		4,13		8,9	
	CONTROL		4,28		2,2	

<b>PRIMER MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA1)</b>						
Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de	cm tres	Indice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*	
N°	%					
1	100		4,18		3,4	
	CONTROL		4,28		2,2	

<b>PRIMER MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb1)</b>						
Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de	cm tres	Indice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*	
N°	%					
1	100		4,2		4,7	
	CONTROL		4,28		2,2	

**SEGUNDO MUESTREO EFLUENTE E2**

Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de tres cm	Indice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
N°	%			
1	100	2,08		64,43
2	10	2,71		45,57
3	5	2,97		28,9
4	2	3,2		17,8
5	1	4,02		7,9
	CONTROL	4,17		1,1

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA2)**

Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de tres cm	Indice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
N°	%			
1	100	4,14		3,57
	CONTROL	4,17		1,1

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb2)**

Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de tres cm	Indice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
N°	%			
1	100	4,16		3,4
	CONTROL	4,17		1,1

**TERCER MUESTREO EFLUENTE E3**

Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de tres cm	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
N°	%			
1	100	1,98		64,43
2	10	2,57		44,43
3	5	2,86		27,8
4	2	3,09		18,9
5	1	3,91		8,9
CONTROL		4,06		2,2

**TERCER MUESTREO AGUAS ARRIBA EFLUENTE (AA3)**

Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de tres cm	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
N°	%			
1	100	4,1		3,70
CONTROL		4,06		2,2

**TERCER MUESTREO AGUAS ABAJO EFLUENTE (AAb3)**

Concentración		Longitud promedio de réplicas*	Radical de tres cm	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
N°	%			
1	100	4,17		5,7
CONTROL		4,06		2,2

**Tabla 8.D Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Phaseolus vulgaris* en el Efluente de la Planta de El Cebollar sobre el Río Tomebamba**

\*Promedio de 3 réplicas

PRIMER MUESTREO EFLUENTE E1												
Concentración	LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H	
N°	%	cm	%	cm	g	G	g	g	%	%		
1	100	9,05	63,33	14,71	1,00	0,09	0,31	0,02	9,1	7,51	0,17	2
2	10	6,80	46,67	19,88	1,50	0,13	0,21	0,03	8,84	12,07	2,83	4,25
3	5	7,38	33,33	17,21	1,52	0,13	0,4	0,05	8,84	9,73	0,25	4,92
4	2	9,26	20,00	13,94	0,83	0,08	0,23	0,02	9,37	8,1	0,25	2,31
5	1	6,67	10,00	15,92	1,64	0,15	0,27	0,02	9,47	9,87	5,33	4,75
<b>Control</b>		6,51	0	39,73	2,46	0,40	0,28	0,19	10,39	15,55	9,25	5,50

PRIMER MUESTREO AGUAS ARRIBA (AA1)												
Concentración	LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H	
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%		
1	100	6,13	6,67	39,04	2,20	0,35	0,26	0,17	10,17	15,35	9,03	5,31
<b>Control</b>		6,51	0	39,73	2,46	0,40	0,28	0,19	10,39	15,55	9,25	5,50

PRIMER MUESTREO AGUAS ABAJO (AAb1)												
Concentración	LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H	
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%		
1	100	6,10	3,33	37,48	2,25	0,33	0,24	0,43	10,08	15,20	8,96	5,17
<b>Control</b>		6,51	0	39,73	2,46	0,40	0,28	0,19	10,39	15,55	9,25	5,50



**SEGUNDO MUESTREO EFLUENTE E1**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
N°	%	cm	%	cm	g	G	g	g	%	%		
1	100	8,35	60	13,68	0,94	0,07	0,26	0,12	8,59	6,46	0,18	1,95
2	10	6,10	43,33	18,85	1,44	0,11	0,30	0,13	8,33	11,02	2,78	4,2
3	5	6,68	26,67	16,18	1,46	0,11	0,20	0,15	8,33	8,68	0,23	4,87
4	2	8,56	16,67	12,91	0,77	0,06	0,39	0,12	8,86	7,05	0,23	2,26
5	1	5,97	10	14,89	1,58	0,13	0,22	0,12	8,96	8,82	6,81	4,7
<b>Control</b>		6,49	0	36,15	2,45	0,38	0,26	0,18	10,38	15,29	9,53	5,31

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ARRIBA (AA2)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%		
1	100	5,48	6,67	38,02	2,32	0,31	0,25	0,19	9,35	14,43	7,97	5,25
<b>Control</b>		6,49	0	36,15	2,45	0,38	0,26	0,18	10,38	15,29	9,53	5,31

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ABAJO (AAb2)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%		
1	100	5,29	3,33	36,46	2,23	0,29	0,23	0,45	9,26	14,28	7,9	5,11
<b>Control</b>		6,49	0	36,15	2,45	0,38	0,26	0,18	10,38	15,29	9,53	5,31

**TERCER MUESTRERO EFLUENTE E3**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
N°	%	cm	%	cm	g	G	g	g	%	%		
1	100	7,65	46,7	12,65	0,88	0,05	0,29	0,22	8,08	5,41	0,17	1,89
2	10	5,40	43,3	17,82	1,38	0,09	0,19	0,23	7,82	9,97	2,73	4,14
3	5	5,98	33,3	15,15	1,40	0,09	0,38	0,25	7,82	7,63	0,20	4,81
4	2	7,86	16,7	11,88	0,70	0,04	0,21	0,22	8,35	6,00	0,20	2,20
5	1	5,27	6,7	13,86	1,52	11	0,25	0,22	8,45	7,77	6,77	4,64
<b>Control</b>		7,69	0	37,35	2,87	0,8	0,68	0,60	11,49	15,64	10,64	5,57

**TERCER MUESTREO AGUAS ARRIBA (AA3)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
N°	%	cm	%	cm	G	g	g	g	%	%		
1	100	4,83	6,7	37,00	2,30	0,27	0,24	0,21	8,53	13,51	6,91	5,19
<b>Control</b>		7,69	0	37,35	2,87	0,80	0,68	0,60	11,49	15,64	10,64	5,57

**TERCER MUESTREO AGUAS ABAJO (AAb3)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%		
1	100	4,64	3,3	35,44	2,21	0,25	0,22	0,47	0,47	13,36	6,84	5,05
<b>Control</b>		7,69	0	37,35	2,87	0,80	0,68	0,60	11,49	15,64	10,64	5,57

**SIMBOLOGIA****LR** Largo de la raíz (cm)**GER** Porcentaje de semillas no germinadas (%)**ALTP** Altura de la planta (cm)**PHP** Peso húmedo de la planta (g)**PSP** Peso seco de la planta (g)**PHR** Peso húmedo de la raíz (g)**PSR** Peso seco de la raíz (g)**MSP** Materia seca de la planta (%)**MSR** Materia seca de la raíz (%)**#N** Número de nódulos**#H** Número de hojas

**Tabla 8.E Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Zea mays* en el Efluente de la Planta de El Cebollar sobre el Río Tomebamba**

\*Promedio de 3 réplicas

<b>PRIMER MUESTREO EFLUENTE E1</b>										
Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%
1	100	10,36	53,33	35,52	18,38	2,26	13,03	2,08	9,73	15,53
2	10	21,87	36,67	44,9	24,72	1,77	11,00	1,89	7,53	17,93
3	5	23,67	23,33	43,70	34,54	1,90	18,40	1,97	7,35	10,67
4	2	14,33	13,33	37,93	20,77	2,54	23,87	4,18	9,67	18,10
5	1	20,32	6,67	46,67	32,85	1,97	30,67	6,52	8,06	21,80
<b>Control</b>		20,42	0	43,15	30,87	2,61	15,46	3,38	7,43	20,73

<b>PRIMER MUESTREO AGUAS ARRIBA (AA1)</b>										
Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	G	g	g	g	%	%
1	100	18,84	3,33	40,83	29,93	2,13	15,37	3,27	7,38	20,03
<b>Control</b>		20,42	0	43,15	30,87	2,26	15,46	3,38	7,43	20,73

<b>PRIMER MUESTREO AGUAS ABAJO (AAb1)</b>										
Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	G	g	g	g	%	%
1	100	17,81	3,33	40,49	29,22	2,06	15,17	3,14	7,27	19,31
<b>Control</b>		20,42	0	43,15	30,87	2,26	15,46	3,38	7,43	20,73

**SEGUNDO MUESTREO EFLUENTE E2**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	G	g	g	g	%	%
1	100	9,3	53,33	34,46	17,32	1,71	12,21	1,93	8,70	14,50
2	10	20,81	36,67	43,84	23,66	1,84	10,18	1,74	6,50	16,90
3	5	22,61	23,33	42,64	33,48	2,48	10,92	1,82	6,32	9,64
4	2	13,27	13,33	36,87	19,71	1,91	11,94	2,73	8,64	17,07
5	1	19,26	6,67	45,61	31,79	2,55	13,09	3,10	7,03	20,77
<b>Control</b>		19,36	0	42,09	29,81	2,20	14,64	3,23	6,40	19,70

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ARRIBA (AA2)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	G	g	g	g	%	%
1	100	18,08	3,33	40,07	29,17	2,23	15,52	3,42	7,53	20,18
<b>Control</b>		19,36	0	42,09	29,81	2,20	14,64	3,23	6,40	19,70

**SEGUNDO MUESTREO AGUAS ABAJO (AAb2)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	G	g	g	g	%	%
1	100	17,05	3,33	39,73	28,46	8,16	15,32	3,29	7,42	19,46
<b>Control</b>		19,36	0	42,09	29,81	2,20	14,64	3,23	6,40	19,70

**TERCER MUESTREO EFLUENTE E3**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%
1	100	8,24	46,67	33,4	16,26	1,65	11,39	1,78	7,67	13,47
2	10	19,75	36,67	42,78	22,60	1,78	9,36	1,59	5,47	15,87
3	5	21,55	26,67	41,58	32,42	2,42	10,10	1,67	5,29	8,61
4	2	12,21	16,67	35,81	18,65	1,85	11,12	2,58	7,61	16,04
5	1	18,2	6,67	44,55	30,73	2,49	12,27	2,95	6,00	19,74
<b>Control</b>		18,30	0	41,03	28,75	2,14	13,82	3,08	5,37	18,67

**TERCER MUESTREO AGUAS ARRIBA (AA3)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%
1	100	17,32	3,33	39,30	28,41	2,33	15,67	3,57	7,68	20,33
<b>Control</b>		18,3	0	41,03	28,75	2,14	13,82	3,08	5,37	18,67

**TERCER MUESTREO AGUAS ABAJO (AAb3)**

Concentración		LR	GERM	ALTP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
N°	%	cm	%	cm	g	g	g	g	%	%
1	100	16,29	6,67	38,97	27,70	2,26	15,47	3,44	7,57	19,94
<b>Control</b>		18,3	0	41,03	28,75	2,14	13,82	3,08	5,37	18,67

**SIMBOLOGIA**

<b>LR</b>	Largo de la raíz (cm)
<b>GER</b>	Porcentaje de semillas no germinadas (%)
<b>ALTP</b>	Altura de la planta (cm)
<b>PHP</b>	Peso húmedo de la planta (g)
<b>PSP</b>	Peso seco de la planta (g)
<b>PHR</b>	Peso húmedo de la raíz (g)
<b>PSR</b>	Peso seco de la raíz (g)
<b>MSP</b>	Materia seca de la planta (%)
<b>MSR</b>	Materia seca de la raíz (%)

**ANEXO N°9****ANALISIS ESTADISTICOS****Prueba de Dunnet, Anova y post –Anova**

- La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.
- Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control negativo (tratamiento con dosis 0 o porcentaje de muestra igual al 0%), y comparan todos los demás grupos con éste.
- **NOEC (Concentración de Efecto No Observado):** Concentración más alta en la que no se presenta diferencia significativa con el grupo control.
- **LOEC (Concentración más baja de Efecto Observado):** Concentración más baja en la que se observa efecto significativo con el grupo control.

**9. A DAPHNIA MAGNA****9. A. 1 DAPHNIA MAGNA E1 (Efluente1)****ANOVA**

vivos1 #daphnias

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	145,725	9	16,192	215,889	,000
Dentro de grupos	2,250	30	,075		
Total	147,975	39			

**Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.**

## POST HOC

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: vivos1 #daphnias

T de Dunnett (<control)

(I) concent %	(J) concent %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
0,5 NOEC	0	,000	,194	,900	,49
2 LOEC	0	-1,000 <sup>*</sup>	,194	,000	-,51
5	0	-1,750 <sup>*</sup>	,194	,000	-1,26
8	0	-2,250 <sup>*</sup>	,194	,000	-1,76
10	0	-3,250 <sup>*</sup>	,194	,000	-2,76
20	0	-4,000 <sup>*</sup>	,194	,000	-3,51
40	0	-5,000 <sup>*</sup>	,194	,000	-4,51
80	0	-5,000 <sup>*</sup>	,194	,000	-4,51
100	0	-5,000 <sup>*</sup>	,194	,000	-4,51

NOEC= 0,5%  
LOEC= 2%

## VALIDACION DE SUPUESTOS

### HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

vivos1 #daphnias

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
7,000	9	30	,000

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## ALEATORIEDAD

#### Prueba de rachas

	vivos1 #daphnias
Valor de prueba <sup>a</sup>	2,28
Casos < Valor de prueba	21
Casos >= Valor de prueba	19
Casos totales	40
Número de rachas	5
Z	-4,962
Sig. asintótica (bilateral)	,000

Sig.<0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.

a. Media

## NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		vivos1 #daphnias
N		40
Parámetros normales	Media	2,28
	Desviación estándar	1,948
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,179
	Positivo	,179
	Negativo	-,137
Estadístico de prueba		,179
Sig. asintótica (bilateral)		,002

**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de prueba.**

a. La distribución de prueba es normal.

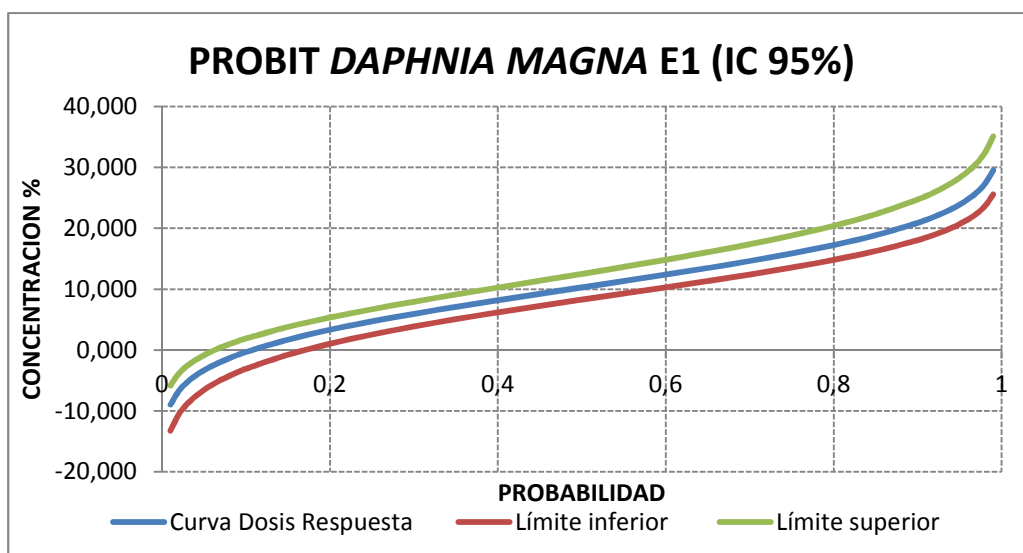
## ANALISIS PROBIT

### Límites de confianza

muestra 1		95% de límites de confianza para concent %			
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior	
PROBIT	1	0,01	-8,949	-13,232	-5,822
		0,02	-6,695	-10,541	-3,843
		0,03	-5,265	-8,844	-2,578
		0,04	-4,189	-7,574	-1,619
		0,05	-3,314	-6,546	-,834
		0,06	-2,570	-5,675	-,162
		0,07	-1,917	-4,914	,430
		0,08	-1,332	-4,236	,964
		0,09	-,800	-3,622	1,451
		0,1	-,311	-3,059	1,902
		0,15	1,716	-,756	3,797
		0,2	3,327	1,038	5,341
		0,25	4,709	2,546	6,696
		0,3	5,949	3,872	7,941
		0,35	7,099	5,076	9,119
		0,4	8,190	6,197	10,259
		0,45	9,246	7,260	11,383
		0,5	10,285	8,288	12,507
		0,55	11,324	9,298	13,650
		0,6	12,380	10,309	14,827
		0,65	13,471	11,337	16,059
		0,7	14,621	12,407	17,372
		0,75	15,862	13,546	18,803



0,8	17,244	14,800	20,413	
0,85	18,854	16,244	22,305	
0,9	20,881	18,042	24,706	
0,91	21,370	18,474	25,288	
0,92	21,902	18,941	25,922	
0,93	22,487	19,455	26,621	
0,94	23,140	20,026	27,402	
0,95	23,885	20,677	28,294	
0,96	24,760	21,439	29,345	<b>CL50= 10,285%</b>
0,97	25,835	22,374	30,639	<b>(8,288-12,507</b>
0,98	27,265	23,613	32,363	
0,99	29,519	25,558	35,087	



## 9. A. 2 DAPHNIA MAGNA E2 (Efluente2)

### ANOVA

vivos 2 #daphnias

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	146,100	9	16,233	97,400	,000
Dentro de grupos	5,000	30	,167		
Total	151,100	39			

**Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.**

### POST HOC

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: vivos 2 #daphnias

T de Dunnett (<control)

(I) concent %	(J) concent %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
0,5 NOEC	0	,000	,289	,900	,73
2 LOEC	0	-1,000 <sup>*</sup>	,289	,006	-,27
5	0	-1,500 <sup>*</sup>	,289	,000	-,77
8	0	-2,000 <sup>*</sup>	,289	,000	-1,27
10	0	-3,500 <sup>*</sup>	,289	,000	-2,77
20	0	-3,500 <sup>*</sup>	,289	,000	-2,77
40	0	-5,000 <sup>*</sup>	,289	,000	-4,27
80	0	-5,000 <sup>*</sup>	,289	,000	-4,27
100	0	-5,000 <sup>*</sup>	,289	,000	-4,27

**NOEC= 0,5%**

**LOEC= 2%**

### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

vivos 2 #daphnias

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,000	9	30	,000

**Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas**

## ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	vivos 2 #daphnias
Valor de prueba <sup>a</sup>	2,35
Casos < Valor de prueba	21
Casos >= Valor de prueba	19
Casos totales	40
Número de rachas	5
Z	-4,962
Sig. asintótica (bilateral)	,000

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

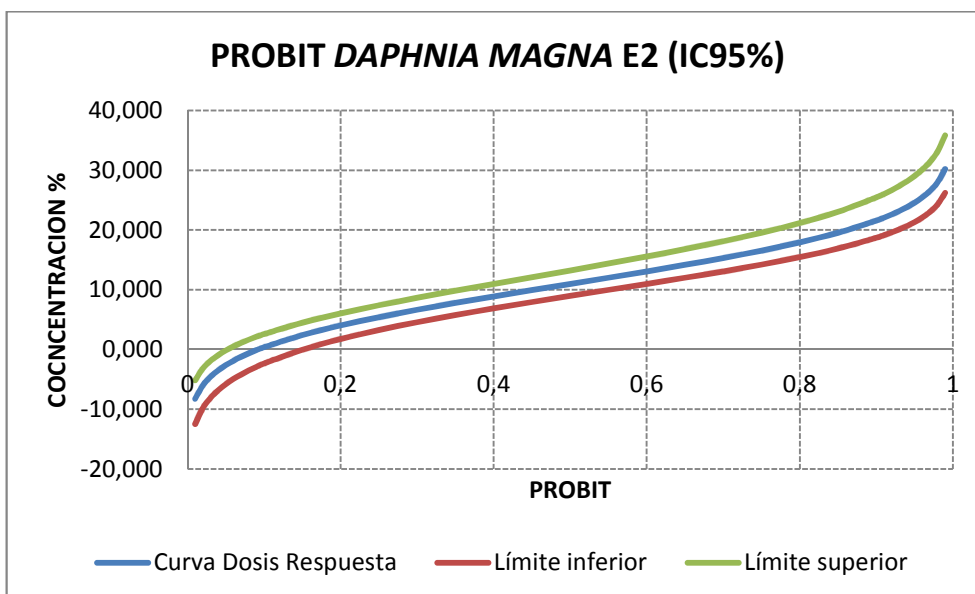
		vivos 2 #daphnias
N		40
Parámetros normales	Media	2,35
	Desviación estándar	1,968
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,184
	Positivo	,184
	Negativo	-,174
Estadístico de prueba		,184
Sig. asintótica (bilateral)		,002

**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba**

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
muestra 2		95% de límites de confianza para concent %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 2	0,01	-8,267	-12,501	-5,170
	0,02	-6,013	-9,813	-3,188
	0,03	-4,583	-8,118	-1,920
	0,04	-3,508	-6,850	-,959
	0,05	-2,633	-5,824	-,173
	0,06	-1,888	-4,955	,501
	0,07	-1,235	-4,196	1,095
	0,08	-,650	-3,519	1,630
	0,09	-,118	-2,907	2,119
	0,1	,371	-2,345	2,571

0,15	2,398	-,049	4,474	<b>CL50= 10,967% (8,954-10,966)</b>
0,2	4,008	1,738	6,024	
0,25	5,390	3,239	7,386	
0,3	6,631	4,559	8,637	
0,35	7,781	5,758	9,820	
0,4	8,872	6,873	10,966	
0,45	9,928	7,931	12,095	
0,5	10,967	8,954	13,224	
0,55	12,006	9,961	14,371	
0,6	13,061	10,967	15,551	
0,65	14,153	11,993	16,786	
0,7	15,302	13,059	18,102	
0,75	16,543	14,196	19,537	
0,8	17,925	15,447	21,148	
0,85	19,536	16,889	23,043	
0,9	21,562	18,685	25,446	
0,91	22,052	19,116	26,029	
0,92	22,584	19,584	26,663	
0,93	23,168	20,097	27,362	
0,94	23,821	20,668	28,143	
0,95	24,566	21,318	29,036	
0,96	25,441	22,080	30,087	
0,97	26,517	23,014	31,382	
0,98	27,947	24,252	33,106	
0,99	30,201	26,197	35,831	



### 9. A. 3 DAPHNIA MAGNA E3 (Efluente3)

#### ANOVA

vivos 3 # daphnias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	151,900	9	16,878	84,389	,000
Dentro de grupos	6,000	30	,200		
Total	157,900	39			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

#### POST HOC

##### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: vivos 3 # daphnias

T de Dunnett (&lt;control)

(I) concent %	(J) concent %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
0,5 NOEC	0	,000	,316	,900	,80
2	0	-,750	,316	,070	,05
5 LOEC	0	-1,250 <sup>*</sup>	,316	,002	-,45
8	0	-1,750 <sup>*</sup>	,316	,000	-,95
10	0	-3,250 <sup>*</sup>	,316	,000	-2,45
20	0	-3,500 <sup>*</sup>	,316	,000	-2,70
40	0	-5,000 <sup>*</sup>	,316	,000	-4,20
80	0	-5,000 <sup>*</sup>	,316	,000	-4,20
100	0	-5,000 <sup>*</sup>	,316	,000	-4,20

NOEC= 0,5%

LOEC= 5%

#### VALIDACION DE SUPUESTOS

##### HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

###### Prueba de homogeneidad de varianzas

vivos 3 # daphnias

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,412	9	30	,000

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	vivos 3 # daphnias
Valor de prueba <sup>a</sup>	2,45
Casos < Valor de prueba	19
Casos >= Valor de prueba	21
Casos totales	40
Número de rachas	5
Z	-4,962
Sig. asintótica (bilateral)	,000

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		vivos 3 # daphnias
N		40
Parámetros normales	Media	2,45
	Desviación estándar	2,012
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,188
	Positivo	,188
	Negativo	-,179
Estadístico de prueba		,188
Sig. asintótica (bilateral)		,001

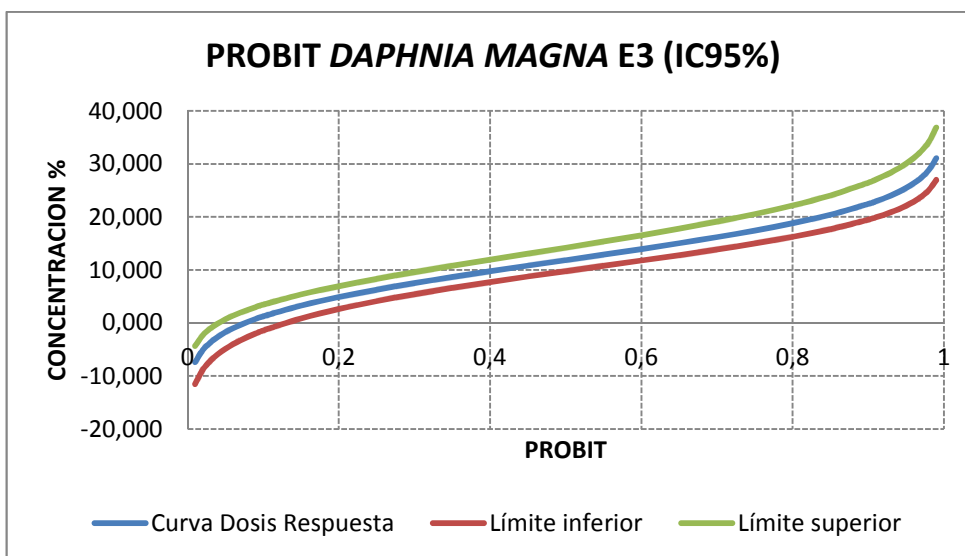
**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
muestra 3		95% de límites de confianza para concent %		
PROBIT		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT	0,01	-7,392	-11,545	-4,336
	0,02	-5,138	-8,865	-2,347
	0,03	-3,708	-7,176	-1,073
	0,04	-2,632	-5,913	-,108
	0,05	-1,757	-4,891	,683
	0,06	-1,013	-4,026	1,361
	0,07	-,360	-3,271	1,959

0,08	,225	-2,598	2,498
0,09	,757	-1,989	2,991
0,1	1,246	-1,431	3,447
0,15	3,273	,849	5,365
0,2	4,884	2,621	6,931
0,25	6,265	4,108	8,306
0,3	7,506	5,416	9,569
0,35	8,656	6,603	10,765
0,4	9,747	7,708	11,921
0,45	10,803	8,757	13,058
0,5	11,842	9,773	14,195
0,55	12,881	10,772	15,349
0,6	13,937	11,773	16,535
0,65	15,028	12,793	17,775
0,7	16,178	13,855	19,096
0,75	17,419	14,988	20,534
0,8	18,800	16,236	22,149
0,85	20,411	17,676	24,046
0,9	22,438	19,470	26,451
0,91	22,927	19,900	27,034
0,92	23,459	20,367	27,669
0,93	24,044	20,880	28,368
0,94	24,697	21,451	29,150
0,95	25,442	22,100	30,043
0,96	26,317	22,862	31,095
0,97	27,392	23,796	32,390
0,98	28,822	25,034	34,114
0,99	31,076	26,978	36,840

**CL50= 11,842% (9,773-14,195)**



## 9. B LACTUCA SATIVA

### 9. B. 1 LACTUCA SATIVA E1 (EFLUENTE 1)

#### ANOVA

germinación # semillas germinadas

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	253,056	5	50,611	546,600	,000
Dentro de grupos	4,444	48	,093		
Total	257,500	53			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

#### PRUEBAS POST HOC

##### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación # semillas

T de Dunnett (<control)

(I) concent %	(J) concent %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
1 LOEC	0	-1,000 <sup>*</sup>	,272	,006	-,32
2	0	-2,000 <sup>*</sup>	,272	,000	-1,32
5	0	-3,000 <sup>*</sup>	,272	,000	-2,32
10	0	-4,667 <sup>*</sup>	,272	,000	-3,99
100	0	-6,667 <sup>*</sup>	,272	,000	-5,99

NOEC= Valor no especificado, debido a que es un nivel muy bajo, semejante al del grupo control (concentración 0%)

LOEC= 1%

#### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 1 # semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
12,800	5	12	,000

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas



## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

Prueba de rachas	
	germinación 1 # semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,11
Casos < Valor de prueba	9
Casos >= Valor de prueba	9
Casos totales	18
Número de rachas	3
Z	-3,158
Sig. asintótica (bilateral)	,002

Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra		
		germinación 1 # semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,11
	Desviación estándar	2,324
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,149
	Positivo	,107
	Negativo	-,149
Estadístico de prueba		,149
Sig. asintótica (bilateral)		,020

Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.

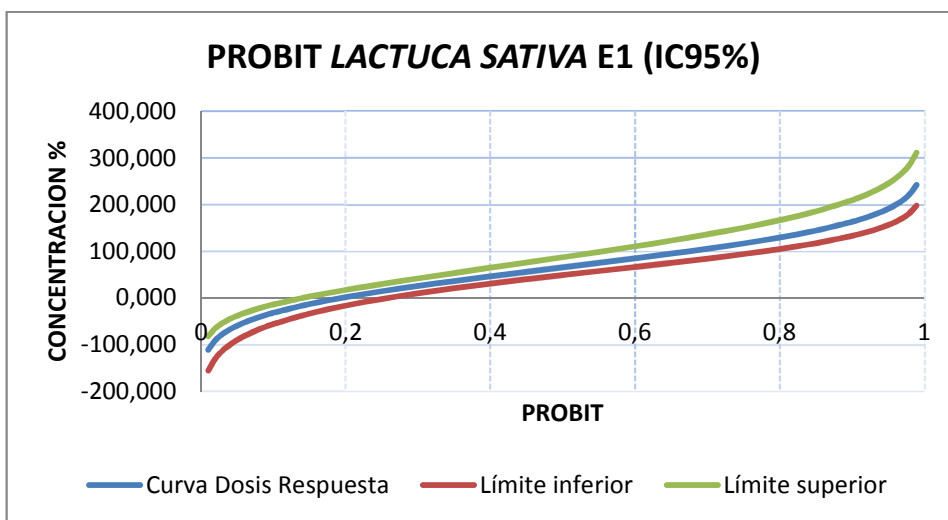
## ANALISIS PROBIT

### Límites de confianza

ensayo 1	PROBIT	95% de límites de confianza para concent %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 1	0,01	-111,486	-156,111	-82,443
	0,02	-90,822	-129,695	-65,125
	0,03	-77,710	-113,034	-54,039
	0,04	-67,848	-100,568	-45,632
	0,05	-59,825	-90,480	-38,740
	0,06	-52,996	-81,940	-32,829
	0,07	-47,009	-74,492	-27,606
	0,08	-41,648	-67,860	-22,893

0,09	-36,772	-61,862	-18,572
0,1	-32,284	-56,373	-14,563
0,15	-13,703	-34,056	2,445
0,2	1,065	-16,935	16,578
0,25	13,734	-2,813	29,268
0,3	25,112	9,359	41,175
0,35	35,655	20,195	52,652
0,4	45,660	30,104	63,915
0,45	55,339	39,385	75,119
0,5	64,865	48,269	86,395
0,55	74,391	56,950	97,874
0,6	84,070	65,601	109,708
0,65	94,074	74,399	122,082
0,7	104,617	83,547	135,247
0,75	115,995	93,307	149,566
0,8	128,665	104,068	165,618
0,85	143,432	116,505	184,435
0,9	162,014	132,032	208,232
0,91	166,502	135,767	213,996
0,92	171,377	139,818	220,263
0,93	176,738	144,265	227,161
0,94	182,726	149,225	234,872
0,95	189,554	154,873	243,676
0,96	197,577	161,499	254,029
0,97	207,440	169,630	266,771
0,98	220,551	180,419	283,729
0,99	241,216	197,386	310,496

CI50= 64,865% (48,269-86,395)



## 9. B. 2 LACTUCA SATIVA E2 (EFLUENTE 2)

### ANOVA

germinación 2 # semillas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	83,167	5	16,633	149,700	,000
Dentro de grupos	1,333	12	,111		
Total	84,500	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

### PRUEBAS POST HOC

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación 2 # semillas

T de Dunnett (<control)

(I) concent 2 %	(J) concent 2 %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza superior
1	LOEC 0	-1,000*	,272	,006	-,32
2	0	-2,000*	,272	,000	-1,32
5	0	-3,000*	,272	,000	-2,32
10	0	-4,667*	,272	,000	-3,99
100	0	-6,333*	,272	,000	-5,65

NOEC= Valor no especificado, debido a que es un nivel muy bajo, semejante al del grupo control (concentración 0%)

LOEC= 1%

### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 2 # semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
12,800	5	12	,000

Sig.<0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	germinación 2 # semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,17
Casos < Valor de prueba	9
Casos >= Valor de prueba	9
Casos totales	18
Número de rachas	3
Z	-3,158
Sig. asintótica (bilateral)	,002

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		germinación 2 # semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,17
	Desviación estándar	2,229
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,146
	Positivo	,112
	Negativo	-,146
Estadístico de prueba		,146
Sig. asintótica (bilateral)		,020

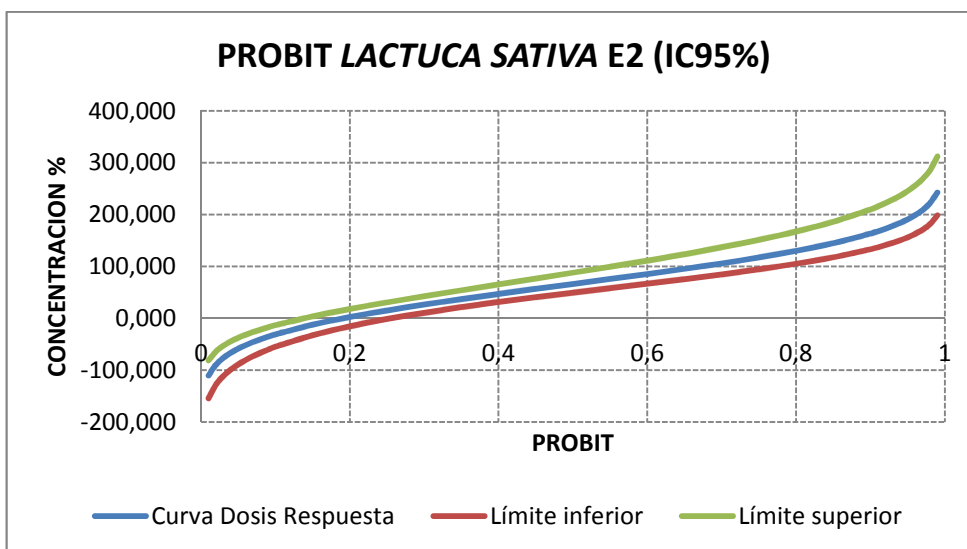
**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANÁLISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 2	PROBIT	95% de límites de confianza para concent %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 2	0,01	-110,139	-154,489	-81,253
	0,02	-89,474	-128,083	-63,926
	0,03	-76,363	-111,429	-52,831
	0,04	-66,500	-98,971	-44,417
	0,05	-58,478	-88,892	-37,517
	0,06	-51,649	-80,359	-31,599
	0,07	-45,662	-72,918	-26,368
	0,08	-40,301	-66,294	-21,647

0,09	-35,425	-60,304	-17,318
0,1	-30,937	-54,823	-13,301
0,15	-12,356	-32,549	3,749
0,2	2,412	-15,474	17,928
0,25	15,082	-1,399	30,666
0,3	26,459	10,729	42,618
0,35	37,002	21,525	54,134
0,4	47,007	31,401	65,431
0,45	56,686	40,654	76,662
0,5	66,212	49,516	87,960
0,55	75,738	58,178	99,458
0,6	85,417	66,815	111,306
0,65	95,421	75,601	123,692
0,7	105,964	84,740	136,866
0,75	117,342	94,492	151,193
0,8	130,012	105,247	167,251
0,85	144,780	117,678	186,074
0,9	163,361	133,200	209,876
0,91	167,849	136,933	215,641
0,92	172,724	140,983	221,909
0,93	178,085	145,430	228,808
0,94	184,073	150,389	236,520
0,95	190,901	156,036	245,325
0,96	198,924	162,661	255,679
0,97	208,787	170,791	268,422
0,98	221,898	181,579	285,382
0,99	242,563	198,544	312,150

CI50= 66,212% (49,516-87,960)



### 9. B. 3 LACTUCA SATIVA E3 (EFLUENTE 3)

#### ANOVA

germinación3 # semillas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	79,778	5	15,956	143,600	,000
Dentro de grupos	1,333	12	,111		
Total	81,111	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

#### PRUEBAS POST HOC

##### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación3 # semillas

T de Dunnett (&lt;control)

(I) concent3 %	(J) concent3 %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza
					Límite superior
1 LOEC	0	-1,000*	,272	,006	-,32
2	0	-2,000*	,272	,000	-1,32
5	0	-3,000*	,272	,000	-2,32
10	0	-4,333*	,272	,000	-3,65
100	0	-6,333*	,272	,000	-5,65

NOEC= Valor no especificado, debido a que es un nivel muy bajo, semejante al del grupo control (concentración 0%)

LOEC= 1%

#### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 3 # semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
12,800	5	12	,000

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

Prueba de rachas

	germinacion3 # semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,22
Casos < Valor de prueba	9
Casos >= Valor de prueba	9
Casos totales	18
Número de rachas	3
Z	-3,158
Sig. asintótica (bilateral)	,002

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		germinacion3 # semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,22
	Desviación estándar	2,184
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,139
	Positivo	,102
	Negativo	-,139
Estadístico de prueba		,139
Sig. asintótica (bilateral)		,020

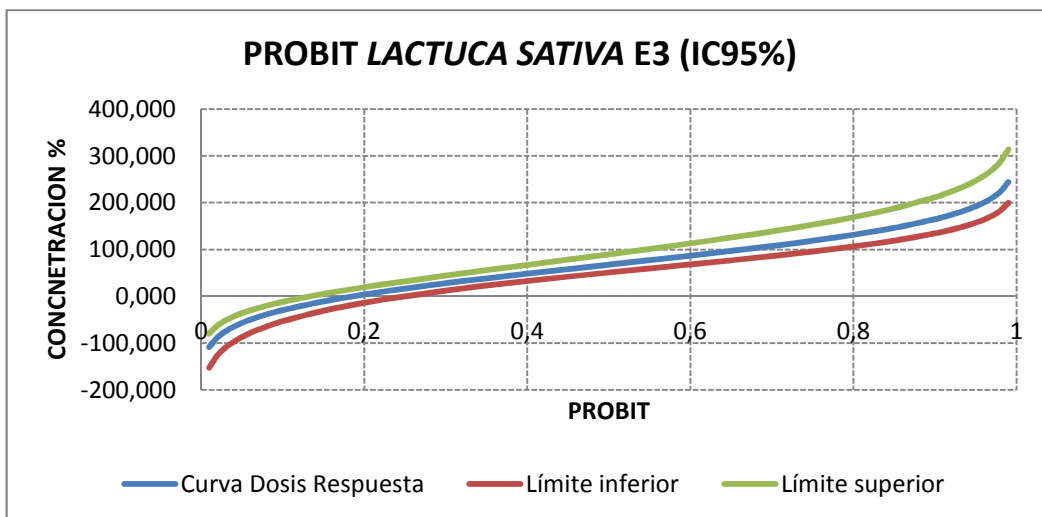
**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 3	PROBIT	95% de límites de confianza para concent %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 3	0,01	-108,719	-152,765	-79,999
	0,02	-88,055	-126,373	-62,657
	0,03	-74,944	-109,731	-51,551
	0,04	-65,081	-97,284	-43,125
	0,05	-57,058	-87,216	-36,215
	0,06	-50,230	-78,694	-30,285
	0,07	-44,242	-71,264	-25,044

0,08	-38,881	-64,650	-20,312
0,09	-34,006	-58,671	-15,973
0,1	-29,518	-53,201	-11,945
0,15	-10,936	-30,983	5,162
0,2	3,832	-13,967	19,400
0,25	16,501	,050	32,195
0,3	27,879	12,125	44,199
0,35	38,422	22,876	55,761
0,4	48,426	32,715	67,095
0,45	58,106	41,939	78,356
0,5	67,631	50,777	89,677
0,55	77,157	59,421	101,193
0,6	86,837	68,044	113,055
0,65	96,841	76,820	125,452
0,7	107,384	85,949	138,635
0,75	118,762	95,694	152,969
0,8	131,431	106,444	169,033
0,85	146,199	118,871	187,860
0,9	164,781	134,389	211,666
0,91	169,268	138,122	217,431
0,92	174,144	142,171	223,700
0,93	179,505	146,617	230,600
0,94	185,492	151,576	238,312
0,95	192,321	157,222	247,117
0,96	200,344	163,846	257,472
0,97	210,207	171,976	270,216
0,98	223,318	182,763	287,176
0,99	243,982	199,728	313,944

CI50= 67,631% (50,777-89,677)





## 9. C PHASEOLUS VULGARIS

### 9. C. 1 PHASEOLUS VULGARIS E1 (EFLUENTE1)

#### ANOVA

semillas germinadas

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	83,778	5	16,756	100,533	,000
Dentro de grupos	2,000	12	,167		
Total	85,778	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

#### PRUEBAS POST HOC

##### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: semillas germinadas

T de Dunnett (<control)<sup>a</sup>

(I) concentración %	(J) concentración %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
1 LOEC	0	-1,000*	,333	,021	-,17
2	0	-2,000*	,333	,000	-1,17
5	0	-3,333*	,333	,000	-2,50
10	0	-4,667*	,333	,000	-3,83
100	0	-6,333*	,333	,000	-5,50

NOEC= Valor no especificado, debido a que es un nivel muy bajo, semejante al del grupo control (concentración 0%)

LOEC= 1%

#### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 1 #semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
9,600	5	12	,001

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas 2

	germinación 1 #semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,11
Casos < Valor de prueba	9
Casos >= Valor de prueba	9
Casos totales	18
Número de rachas	3
Z	-3,158
Sig. asintótica (bilateral)	,002

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		germinación 1 #semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,11
	Desviación estándar	2,246
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,154
	Positivo	,104
	Negativo	-,154
Estadístico de prueba		,154
Sig. asintótica (bilateral)		,020

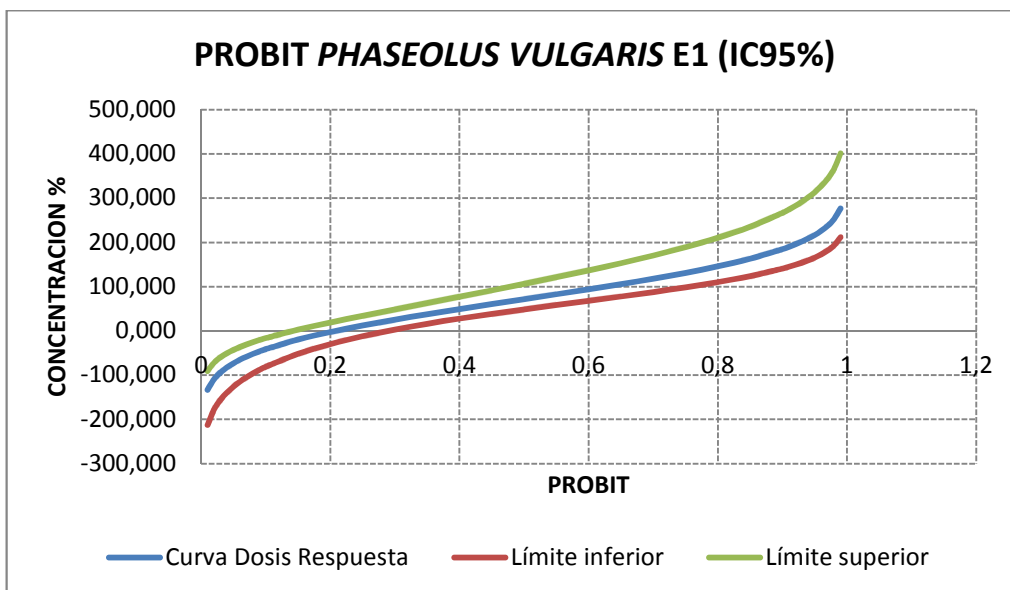
**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 1	PROBIT	95% de límites de confianza para concentración %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 1	0,01	-133,482	-212,812	-90,862
	0,02	-109,441	-177,956	-71,983
	0,03	-94,187	-155,972	-59,874
	0,04	-82,712	-139,526	-50,672
	0,05	-73,379	-126,223	-43,114
	0,06	-65,434	-114,964	-36,616
	0,07	-58,469	-105,150	-30,860
	0,08	-52,232	-96,418	-25,653

0,09	-46,559	-88,527	-20,865
0,1	-41,338	-81,313	-16,409
0,15	-19,720	-52,107	2,703
0,2	-2,539	-29,966	18,964
0,25	12,201	-12,039	33,982
0,3	25,438	3,046	48,483
0,35	37,704	16,130	62,814
0,4	49,343	27,809	77,151
0,45	60,604	38,526	91,603
0,5	71,686	48,624	106,276
0,55	82,769	58,374	121,297
0,6	94,030	68,006	136,834
0,65	105,669	77,739	153,116
0,7	117,935	87,811	170,460
0,75	131,172	98,518	189,339
0,8	145,912	110,292	210,510
0,85	163,093	123,869	235,334
0,9	184,711	140,791	266,731
0,91	189,932	144,857	274,335
0,92	195,604	149,267	282,603
0,93	201,841	154,107	291,703
0,94	208,807	159,504	301,876
0,95	216,751	165,647	313,490
0,96	226,085	172,851	327,147
0,97	237,560	181,691	343,955
0,98	252,813	193,415	366,324
0,99	276,855	211,847	401,627

CI50= 71,686% (48,624-106,276)



## 9. C. 2 PHASEOLUS VULGARIS E2 (EFLUENTE2)

### ANOVA

semillas germinadas 2

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	74,278	5	14,856	44,567	,000
Dentro de grupos	4,000	12	,333		
Total	78,278	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

### PRUEBAS POST HOC

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: semillas germinadas 2

T de Dunnett (<control)

(I) concentración 2 %	(J) concentración 2 %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
1 NOEC	0	-1,000	,471	,094	,18
2 LOEC	0	-1,667*	,471	,008	-,49
5	0	-2,667*	,471	,000	-1,49
10	0	-4,333*	,471	,000	-3,15
100	0	-6,000*	,471	,000	-4,82

NOEC= 1%

LOEC= 2%

### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 2 #semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,000	5	12	,045

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	germinación 2 #semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,39
Casos < Valor de prueba	8
Casos >= Valor de prueba	10
Casos totales	18
Número de rachas	5
Z	-2,161
Sig. asintótica (bilateral)	,031

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

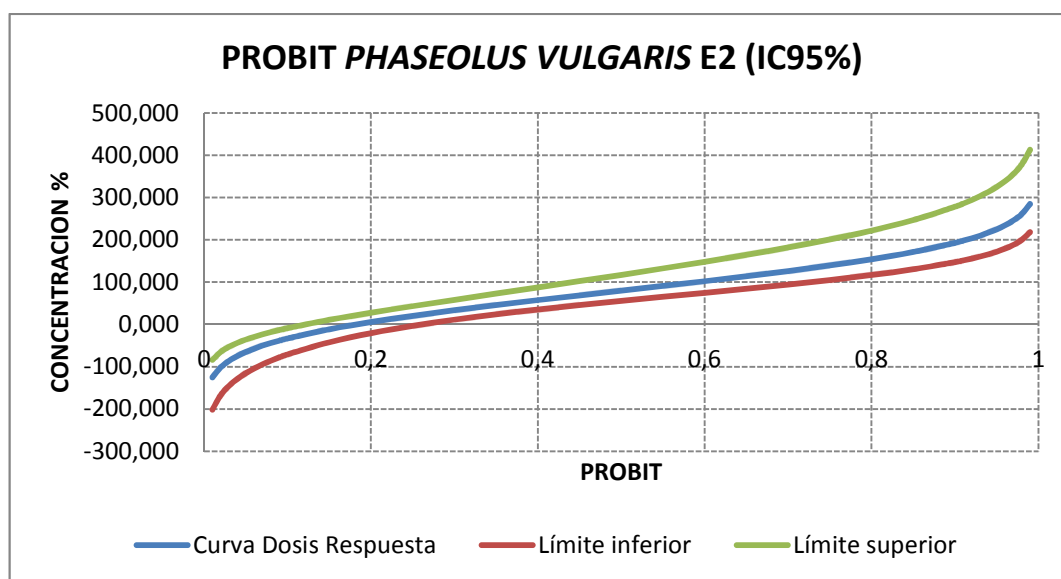
	germinación 2 #semillas	
N	18	
Parámetros normales	Media	7,39
	Desviación estándar	2,146
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,168
	Positivo	,112
	Negativo	-,168
Estadístico de prueba	,168	
Sig. asintótica (bilateral)	,019	

**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 2	PROBIT	95% de límites de confianza para concent %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 2	0,01	-125,348	-201,719	-84,054
	0,02	-101,307	-166,957	-65,081
	0,03	-86,053	-145,056	-52,889
	0,04	-74,578	-128,689	-43,609
	0,05	-65,245	-115,463	-35,972
	0,06	-57,300	-104,283	-29,396
	0,07	-50,335	-94,550	-23,560
	0,08	-44,098	-85,900	-18,270

0,09	-38,425	-78,094	-13,397	<b>CI50= 79,820% (55,601-117,200)</b>
0,1	-33,204	-70,968	-8,853	
0,15	-11,586	-42,245	10,742	
0,2	5,595	-20,649	27,548	
0,25	20,335	-3,286	43,130	
0,3	33,572	11,275	58,155	
0,35	45,838	23,917	72,929	
0,4	57,477	35,247	87,614	
0,45	68,738	45,700	102,331	
0,5	79,820	55,601	117,200	
0,55	90,903	65,204	132,368	
0,6	102,164	74,726	148,015	
0,65	113,803	84,376	164,380	
0,7	126,069	94,384	181,788	
0,75	139,306	105,042	200,716	
0,8	154,046	116,777	221,926	
0,85	171,227	130,323	246,782	
0,9	192,845	147,219	278,204	
0,91	198,066	151,281	285,812	
0,92	203,738	155,687	294,085	
0,93	209,975	160,523	303,189	
0,94	216,941	165,915	313,366	
0,95	224,885	172,054	324,984	
0,96	234,219	179,255	338,645	
0,97	245,694	188,090	355,457	
0,98	260,947	199,811	377,829	
0,99	284,989	218,239	413,137	



### 9. C. 3 PHASEOLUS VULGARIS E3 (EFLUENTE3)

#### ANOVA

germinación 3

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	57,111	5	11,422	18,691	,000
Dentro de grupos	7,333	12	,611		
Total	64,444	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

#### PRUEBAS POST HOC

##### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación 3

T de Dunnett (&lt;control)

(I) concentración 3 %	(J) concentración 3 %	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
1 NOEC	0	-,667	,638	,407	,93
2 LOEC	0	-1,667 <sup>*</sup>	,638	,041	-,07
5	0	-3,333 <sup>*</sup>	,638	,000	-1,74
10	0	-4,333 <sup>*</sup>	,638	,000	-2,74
100	0	-4,667 <sup>*</sup>	,638	,000	-3,07

NOEC = 1%

LOEC = 2%

#### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 3 #semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,624	5	12	,031

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

Prueba de rachas	
	germinación 3 #semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,56
Casos < Valor de prueba	9
Casos >= Valor de prueba	9
Casos totales	18
Número de rachas	3
Z	-3,158
Sig. asintótica (bilateral)	,002

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra		
		germinación 3 #semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,56
	Desviación estándar	1,947
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,160
	Positivo	,121
	Negativo	-,160
Estadístico de prueba		,160
Sig. asintótica (bilateral)		,020

**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

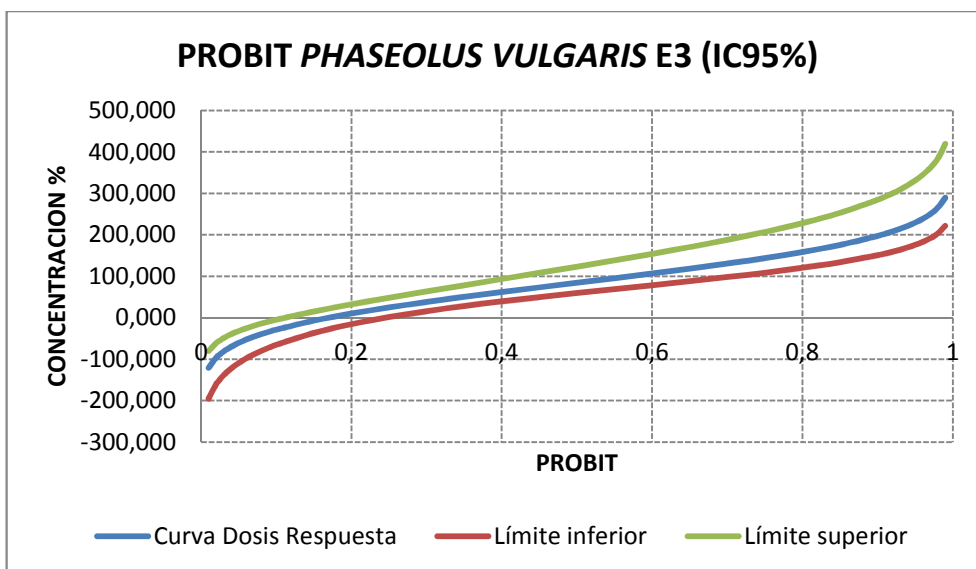
## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 3	PROBIT	95% de límites de confianza para concent %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 3	0,01	-120,783	-195,450	-80,279
	0,02	-96,741	-160,738	-61,256
	0,03	-81,488	-138,880	-49,020
	0,04	-70,013	-122,556	-39,698
	0,05	-60,679	-109,374	-32,018
	0,06	-52,735	-98,237	-25,398
	0,07	-45,769	-88,549	-19,517
	0,08	-39,532	-79,945	-14,180



0,09	-33,860	-72,188	-9,259
0,1	-28,639	-65,113	-4,664
0,15	-7,021	-36,670	15,212
0,2	10,160	-15,388	32,331
0,25	24,900	1,659	48,229
0,3	38,137	15,935	63,539
0,35	50,403	28,342	78,548
0,4	62,042	39,488	93,417
0,45	73,303	49,801	108,273
0,5	84,386	59,596	123,249
0,55	95,468	69,118	138,497
0,6	106,729	78,578	154,207
0,65	118,368	88,180	170,621
0,7	130,634	98,149	188,067
0,75	143,871	108,775	207,027
0,8	158,611	120,483	228,264
0,85	175,792	134,007	253,142
0,9	197,410	150,884	284,583
0,91	202,631	154,942	292,195
0,92	208,304	159,344	300,472
0,93	214,541	164,176	309,580
0,94	221,506	169,564	319,761
0,95	229,451	175,700	331,382
0,96	238,784	182,897	345,047
0,97	250,259	191,728	361,863
0,98	265,513	203,444	384,240
0,99	289,554	221,866	419,553

CI50= 84,386% (59,596-123,249)



## 9. D. ZEA MAYS

### 9. D. 1 ZEA MAYS E1 (Efluente1)

#### ANOVA

germinación 1 semillas

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	59,778	5	11,956	43,040	,000
Dentro de grupos	3,333	12	,278		
Total	63,111	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

## PRUEBAS POST HOC

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación 1 semillas

T de Dunnett (<control)

(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
1 1 %	0 1 %	-.667	,430	,221	,41
2 1 %	0 1 %	-1,333*	,430	,018	-,26
5 1 %	0 1 %	-2,333*	,430	,000	-1,26
10 1 %	0 1 %	-3,667*	,430	,000	-2,59
100 1 %	0 1 %	-5,333*	,430	,000	-4,26

NOEC = 1%  
LOEC = 2 %

## VALIDACION DE SUPUESTOS

### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 1 #semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,200	5	12	,046

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	germinación 1 #semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,78
Casos < Valor de prueba	7
Casos >= Valor de prueba	11
Casos totales	18
Número de rachas	5
Z	-2,080
Sig. asintótica (bilateral)	,038

Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

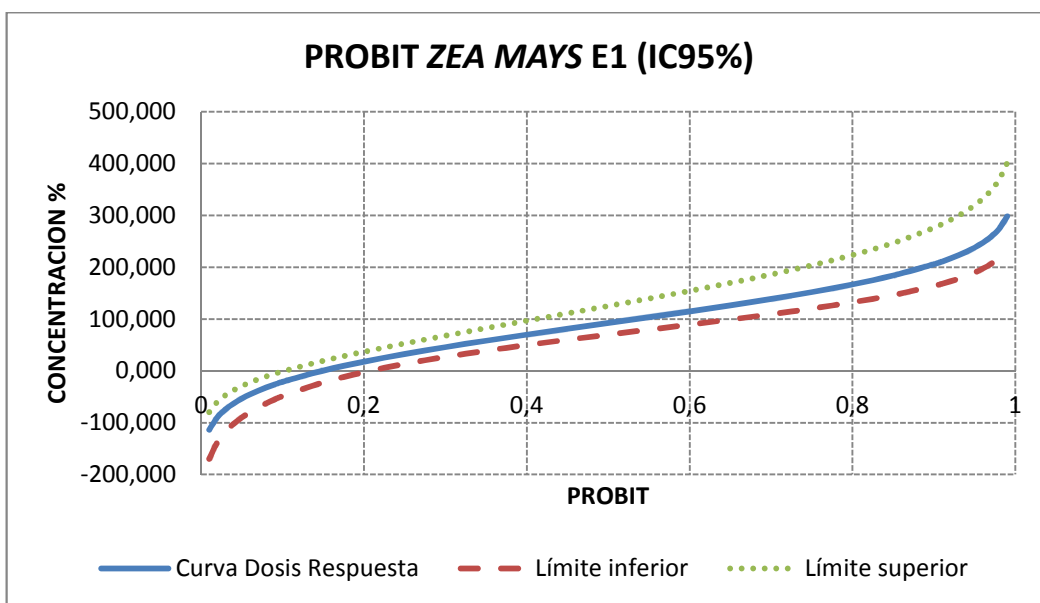
		germinación 1 #semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,78
	Desviación estándar	1,927
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,182
	Positivo	,124
	Negativo	-,182
Estadístico de prueba		,182
Sig. asintótica (bilateral)		,012

Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 1	PROBIT	95% de límites de confianza para concentración %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 1	0,01	-113,706	-169,929	-79,535
	0,02	-89,576	-137,659	-59,728
	0,03	-74,267	-117,345	-47,001
	0,04	-62,750	-102,178	-37,313
	0,05	-53,382	-89,934	-29,339
	0,06	-45,408	-79,593	-22,472
	0,07	-38,417	-70,600	-16,377
	0,08	-32,157	-62,615	-10,852
	0,09	-26,464	-55,417	-5,763

0,1	-21,223	-48,853	-1,017	<b>CI50= 92,217% (69,881-125,017)</b>
0,15	,474	-22,461	19,417	
0,2	17,719	-2,650	36,823	
0,25	32,513	13,352	52,749	
0,3	45,798	26,929	67,844	
0,35	58,109	38,908	82,435	
0,4	69,791	49,827	96,727	
0,45	81,094	60,060	110,886	
0,5	92,217	69,881	125,072	
0,55	103,340	79,507	139,451	
0,6	114,643	89,134	154,218	
0,65	126,325	98,955	169,608	
0,7	138,636	109,196	185,936	
0,75	151,922	120,149	203,656	
0,8	166,716	132,251	223,481	
0,85	183,960	146,264	246,685	
0,9	205,657	163,787	275,988	
0,91	210,898	168,005	283,080	
0,92	216,591	172,582	290,790	
0,93	222,851	177,609	299,273	
0,94	229,842	183,216	308,754	
0,95	237,816	189,604	319,575	
0,96	247,184	197,098	332,299	
0,97	258,701	206,299	347,953	
0,98	274,011	218,512	368,781	
0,99	298,141	237,725	401,644	



## 9. D. 2 ZEA MAYS E2 (Efluente2)

### ANOVA

germinación 2 semillas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	59,778	5	11,956	43,040	,000
Dentro de grupos	3,333	12	,278		
Total	63,111	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

### PRUEBAS POST HOC

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación 2 semillas

T de Dunnett (<control)

(I) concentración 2 (%)	(J) concentración 2 (%)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza de Límite superior
1 NOEC	0	-,667	,430	,221	,41
2 LOEC	0	-1,333*	,430	,018	-,26
5	0	-2,333*	,430	,000	-1,26
10	0	-3,667*	,430	,000	-2,59
100	0	-5,333*	,430	,000	-4,26

NOEC= 1%  
LOEC= 2%

### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 2 #semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,200	5	12	,046

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas

## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	germinación 2 #semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,78
Casos < Valor de prueba	7
Casos >= Valor de prueba	11
Casos totales	18
Número de rachas	5
Z	-2,080
Sig. asintótica (bilateral)	,038

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		germinación 2 #semillas
N		18
Parámetros normales	Media	7,78
	Desviación estándar	1,927
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,182
	Positivo	,124
	Negativo	-,182
Estadístico de prueba		,182
Sig. asintótica (bilateral)		,012

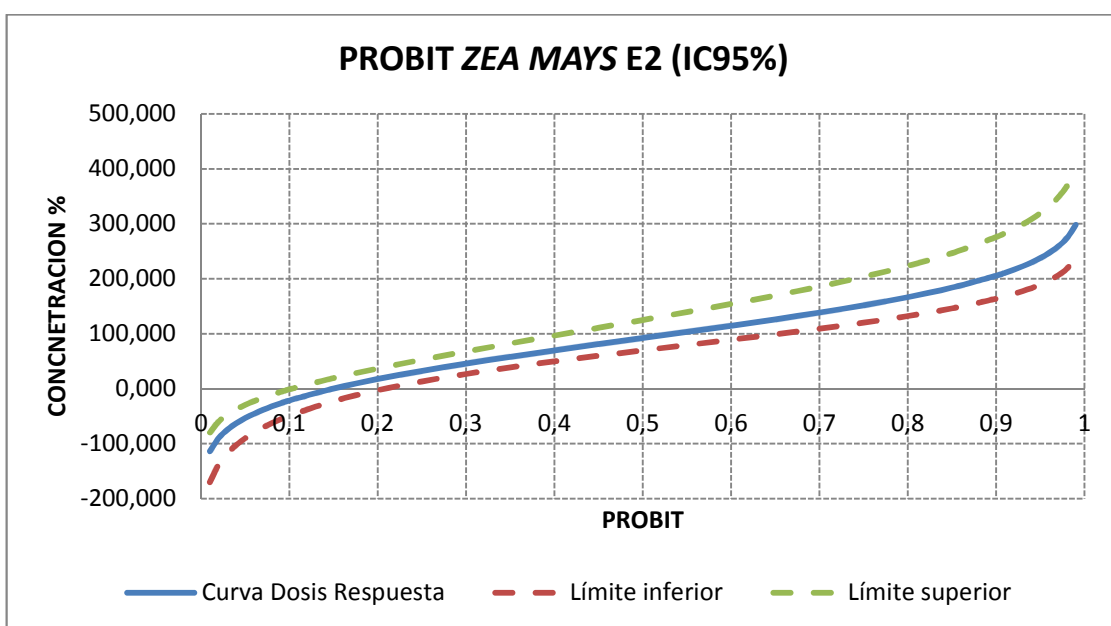
**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANALISIS PROBIT

Límites de confianza				
ensayo 2	PROBIT	95% de límites de confianza para concentración %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
	0,01	-113,706	-169,929	-79,535
	0,02	-89,576	-137,659	-59,728
	0,03	-74,267	-117,345	-47,001
	0,04	-62,750	-102,178	-37,313
	0,05	-53,382	-89,934	-29,339
	0,06	-45,408	-79,593	-22,472
	0,07	-38,417	-70,600	-16,377
	0,08	-32,157	-62,615	-10,852
	0,09	-26,464	-55,417	-5,763
	0,1	-21,223	-48,853	-1,017

0,15	,474	-22,461	19,417
0,2	17,719	-2,650	36,823
0,25	32,513	13,352	52,749
0,3	45,798	26,929	67,844
0,35	58,109	38,908	82,435
0,4	69,791	49,827	96,727
0,45	81,094	60,060	110,887
0,5	92,217	69,881	125,072
0,55	103,340	79,507	139,451
0,6	114,643	89,134	154,218
0,65	126,325	98,955	169,608
0,7	138,636	109,196	185,936
0,75	151,922	120,149	203,656
0,8	166,716	132,251	223,481
0,85	183,960	146,264	246,685
0,9	205,657	163,787	275,988
0,91	210,898	168,005	283,080
0,92	216,591	172,582	290,790
0,93	222,851	177,609	299,273
0,94	229,842	183,216	308,754
0,95	237,816	189,604	319,575
0,96	247,184	197,098	332,299
0,97	258,701	206,299	347,953
0,98	274,011	218,512	368,781
0,99	298,141	237,725	401,645

CI50= 92,217% (69,881-125,072)



### 9. D. 3 ZEA MAYS E3 (Efluente3)

#### ANOVA

germinación 3 semillas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	47,778	5	9,556	34,400	,000
Dentro de grupos	3,333	12	,278		
Total	51,111	17			

Sig. <0,05, por tanto, una de las concentraciones tuvo un efecto sobre los organismos probados.

#### PRUEBAS POST HOC

##### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: germinación 3 semillas

T de Dunnett (<control)

(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite superior
1 NOEC 3 %	0 3 %	-,667	,430	,221	,41
2 LOEC	0	-1,667*	,430	,004	-,59
5	0	-2,667*	,430	,000	-1,59
10	0	-3,667*	,430	,000	-2,59
100	0	-4,667*	,430	,000	-3,59

NOEC= 1%

LOE = 2%

#### VALIDACION DE SUPUESTOS

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

germinación 3 # semillas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,200	5	12	,046

Sig. <0,05: Existe homogeneidad en las varianzas



## PRUEBA DE ALEATORIEDAD

### Prueba de rachas

	germinación 3 # semillas
Valor de prueba <sup>a</sup>	7,78
Casos < Valor de prueba	8
Casos >= Valor de prueba	10
Casos totales	18
Número de rachas	5
Z	-2,161
Sig. asintótica (bilateral)	,031

**Sig. <0,05: Se cumple el supuesto de aleatoriedad.**

a. Media

## PRUEBA DE NORMALIDAD

### Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		germinación 3 # semillas
N		18
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	7,78
	Desviación estándar	1,734
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,148
	Positivo	,125
	Negativo	-,148
Estadístico de prueba		,148
Sig. asintótica (bilateral)		,020 <sup>c,d</sup>

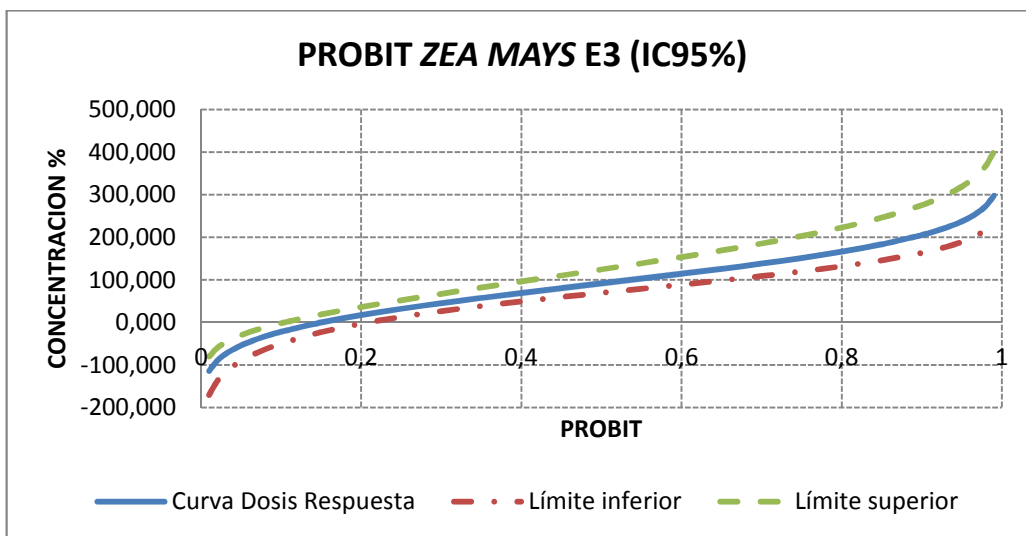
**Sig. <0,05: Existe normalidad en la distribución de la prueba.**

## ANALISIS PROBIT

### Límites de confianza

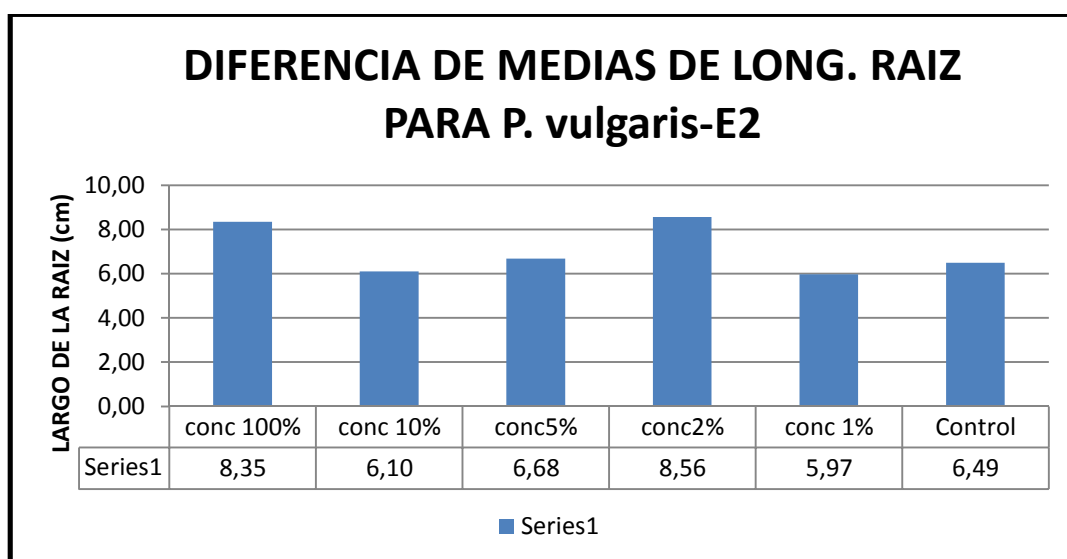
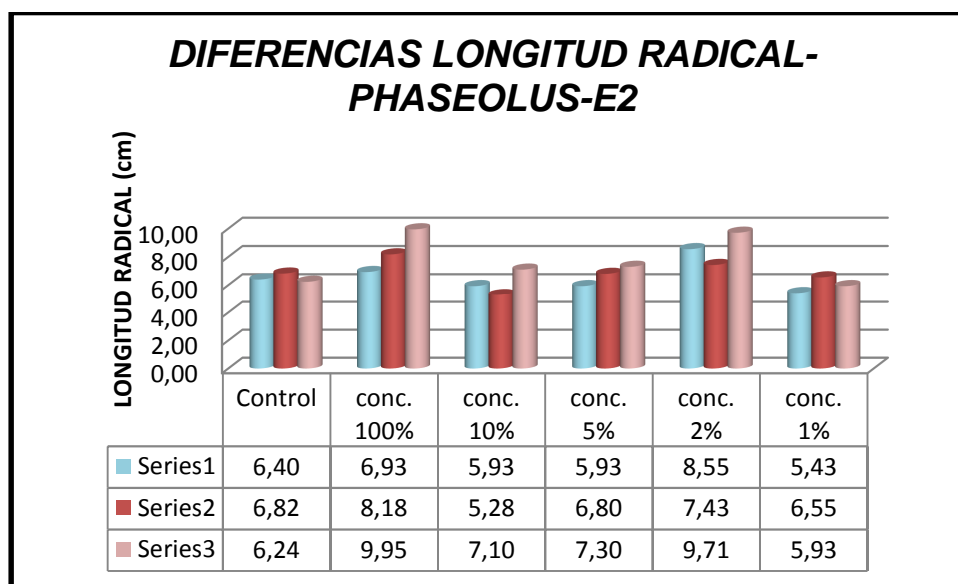
ensayo 3	PROBIT	95% de límites de confianza para concentración %		
		Curva Dosis Respuesta	Límite inferior	Límite superior
PROBIT 3	0,01	-114,154	-170,405	-79,992
	0,02	-90,024	-138,124	-60,197
	0,03	-74,714	-117,801	-47,479
	0,04	-63,197	-102,625	-37,799
	0,05	-53,829	-90,373	-29,833
	0,06	-45,855	-80,025	-22,973
	0,07	-38,864	-71,024	-16,886
	0,08	-32,604	-63,032	-11,368

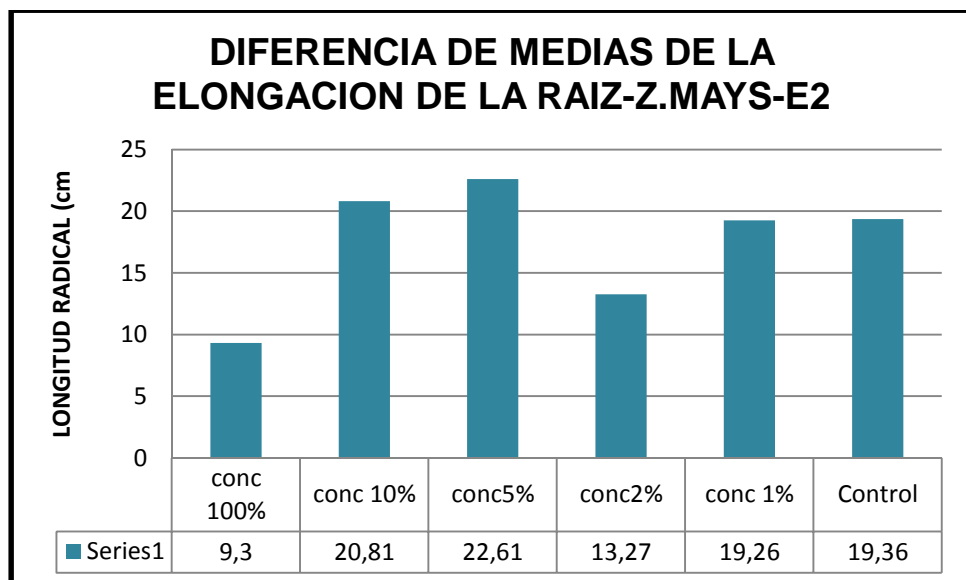
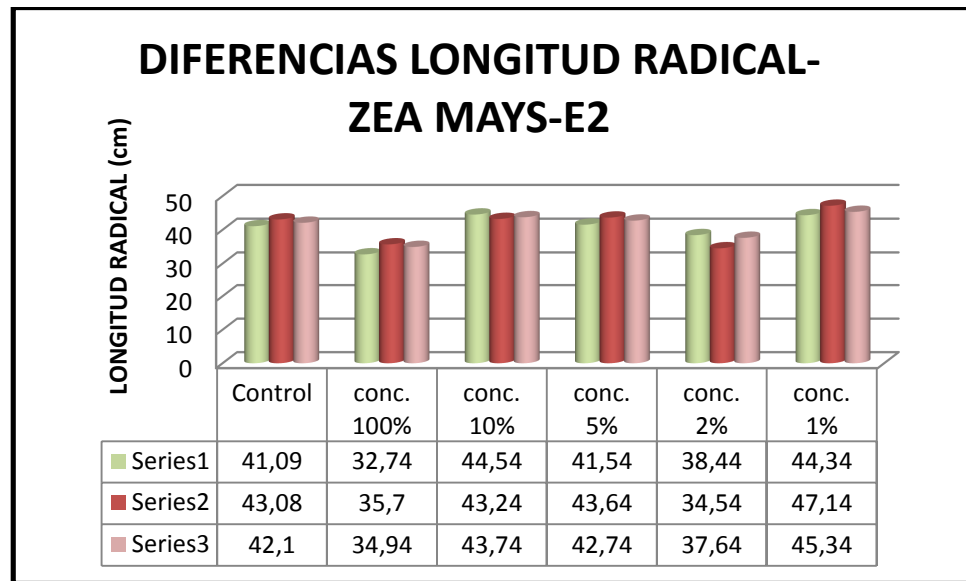
0,09	-26,911	-55,827	-6,285	<b>CI 50= 91,770% (69,555-124,465)</b>
0,1	-21,670	-49,256	-1,546	
0,15	,027	-22,833	18,857	
0,2	17,271	-2,999	36,239	
0,25	32,065	13,019	52,149	
0,3	45,351	26,605	67,235	
0,35	57,662	38,587	81,823	
0,4	69,344	49,507	96,115	
0,45	80,647	59,738	110,276	
0,5	91,770	69,555	124,465	
0,55	102,893	79,178	138,848	
0,6	114,196	88,801	153,617	
0,65	125,878	98,619	169,011	
0,7	138,189	108,856	185,343	
0,75	151,474	119,805	203,067	
0,8	166,268	131,904	222,896	
0,85	183,513	145,913	246,103	
0,9	205,210	163,432	275,410	
0,91	210,451	167,649	282,503	
0,92	216,144	172,225	290,214	
0,93	222,404	177,251	298,698	
0,94	229,395	182,857	308,180	
0,95	237,369	189,244	319,002	
0,96	246,737	196,737	331,727	
0,97	258,254	205,937	347,382	
0,98	273,563	218,148	368,212	
0,99	297,693	237,358	401,078	



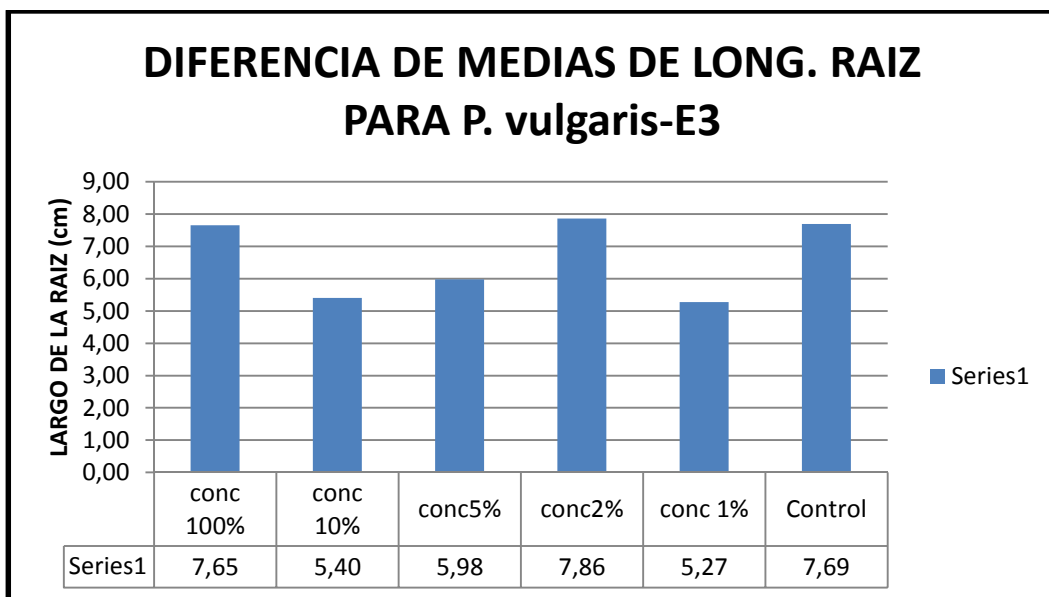
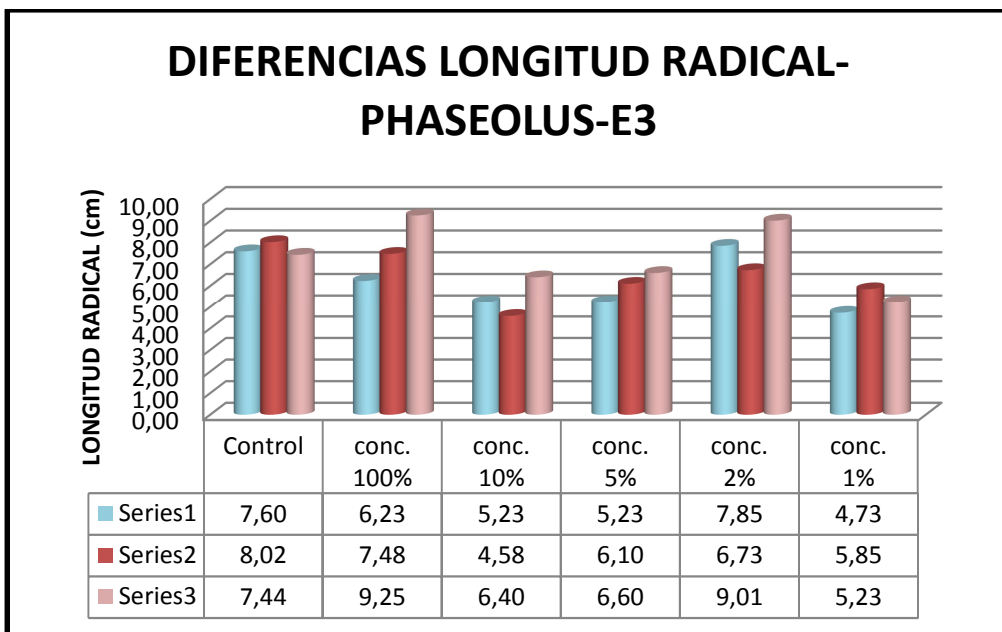
**ANEXO N° 10**
**COMPARACION MEDIAS SEMILLAS**

**10.A DIFERENCIA DE LONGITUD DEL RADICAL Y DIFERENCIA DE MEDIAS DE LONGITUD DEL RADICAL PARA *PHASEOLUS VULGARIS* Y *ZEA MAYS*, EN EL EFLUENTE DE LA PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE EL CEBOLLAR EN EL SEGUNDO Y TERCER MUESTREO (E2 Y E3) MUESTREO 2 (E2)**

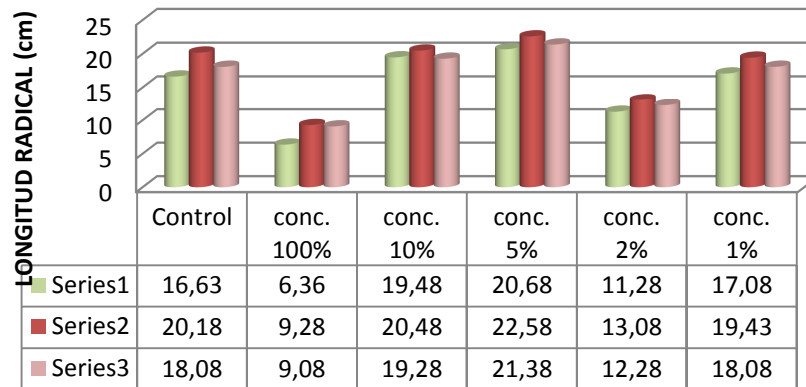




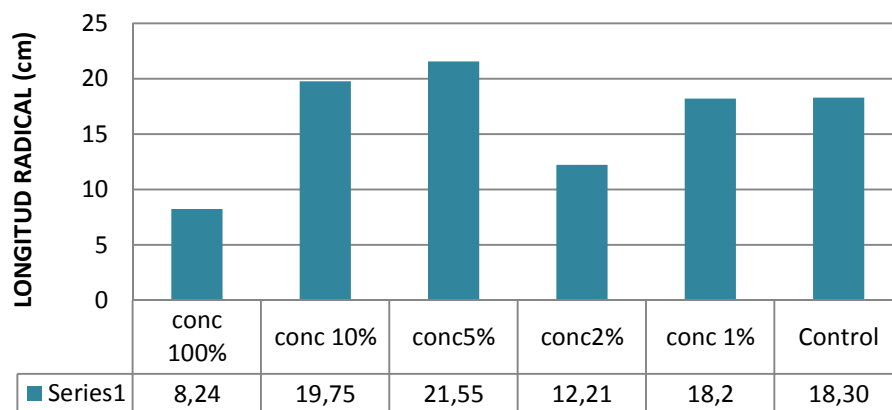
**MUESTREO 3 (E3)**



### DIFERENCIAS LONGITUD RADICAL- ZEA MAYS-E3

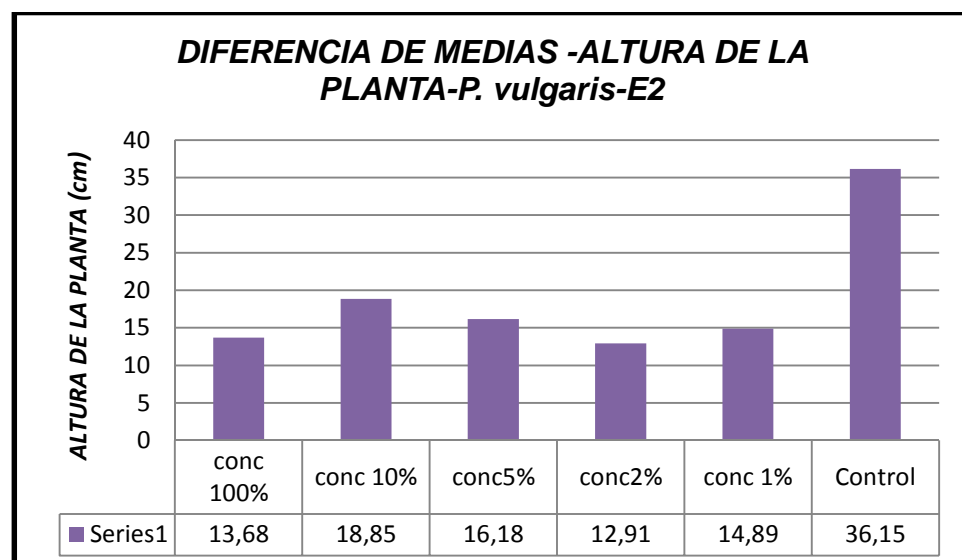
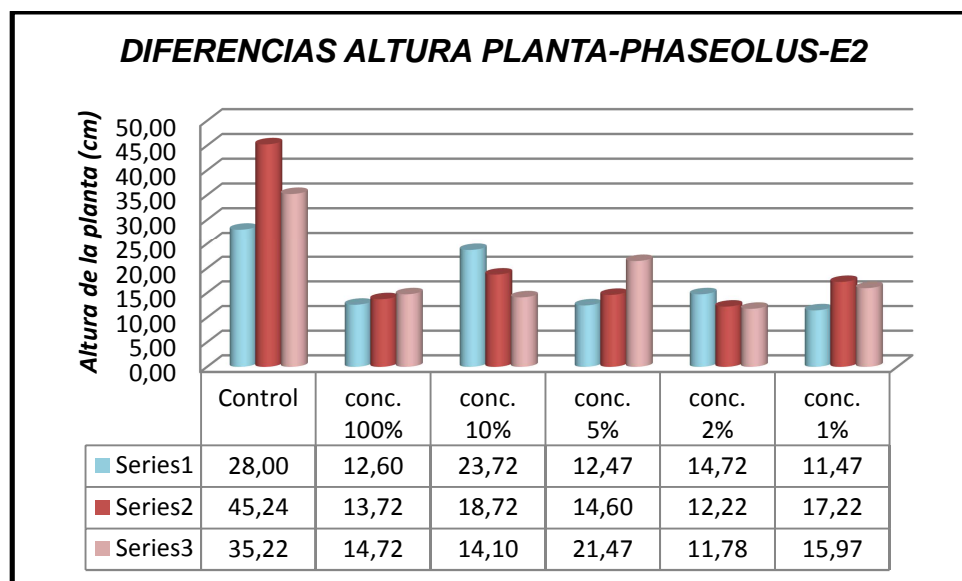


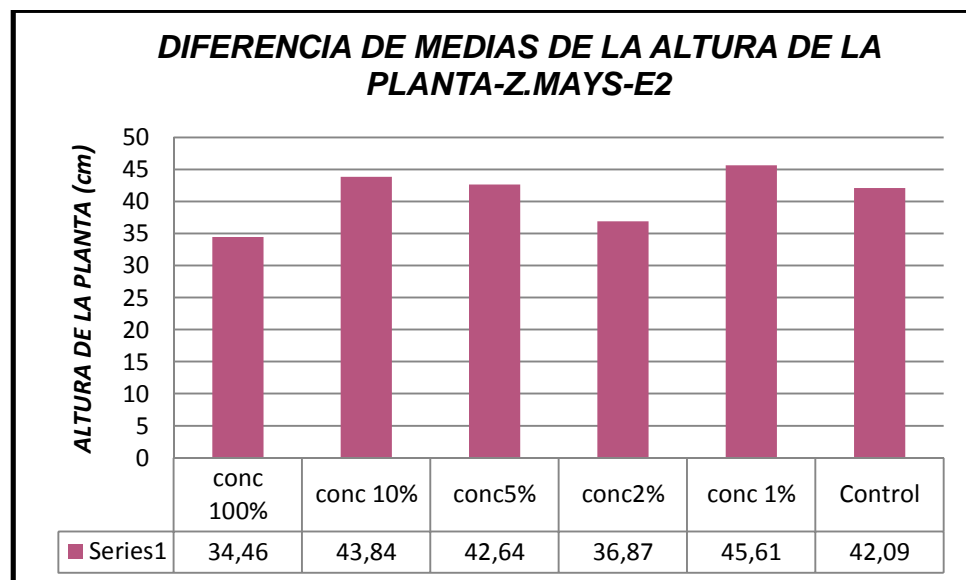
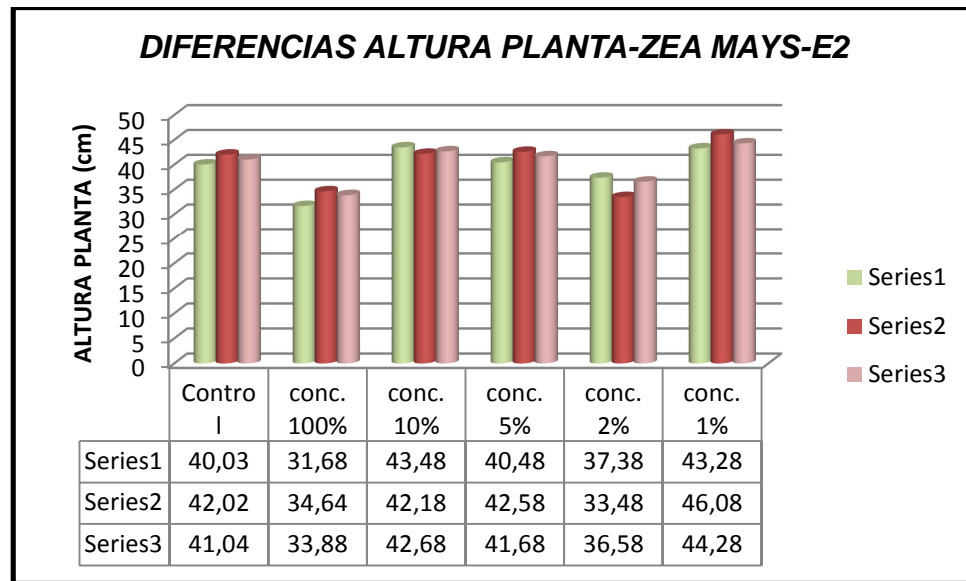
### DIFERENCIA DE MEDIAS DE LA ELONGACION DE LA RAIZ-Z.MAYS-E3



**10.B DIFERENCIA DE LA ALTURA DE LA PLANTA Y DIFERENCIA DE MEDIAS DE LA ALTURA DE LA PLANTA PARA *PHASEOLUS VULGARIS* Y *ZEA MAYS*, EN EL EFLUENTE DE LA PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE EL CEBOLLAR EN EL SEGUNDO Y TERCER MUESTREO (E2 Y E3)**

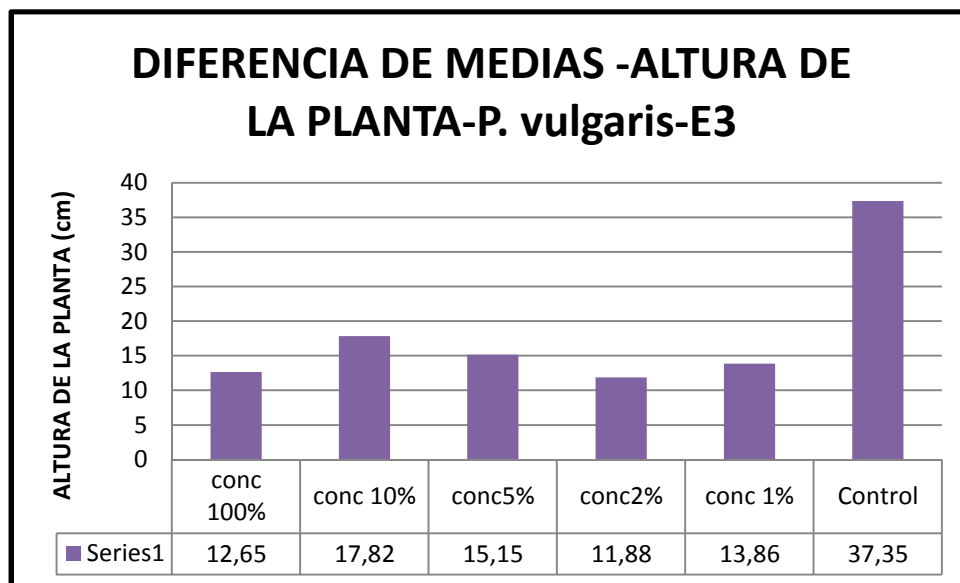
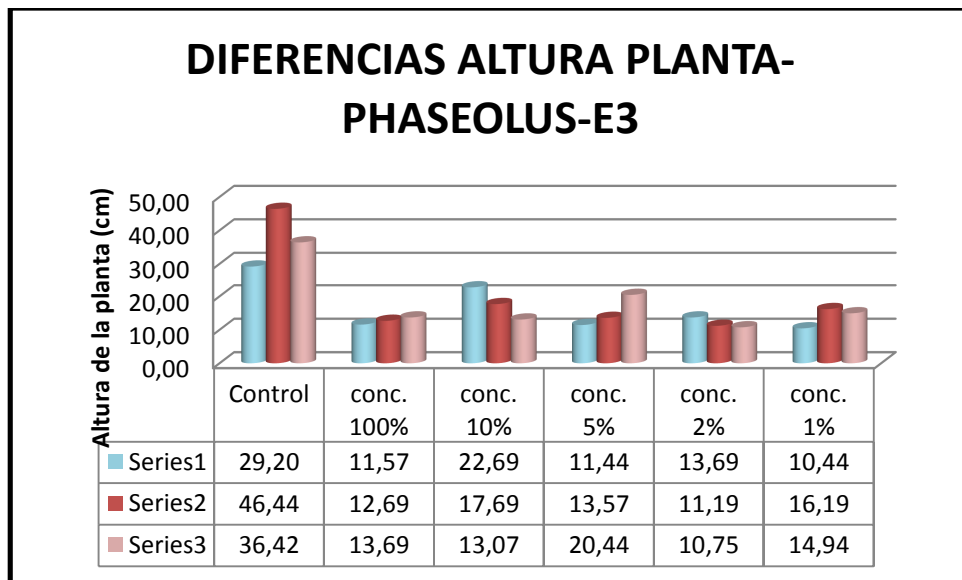
**MUESTREO 2 (E2)**



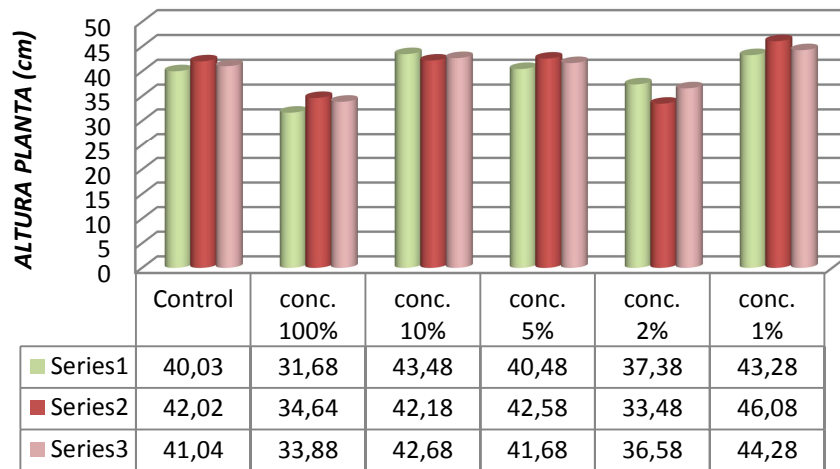




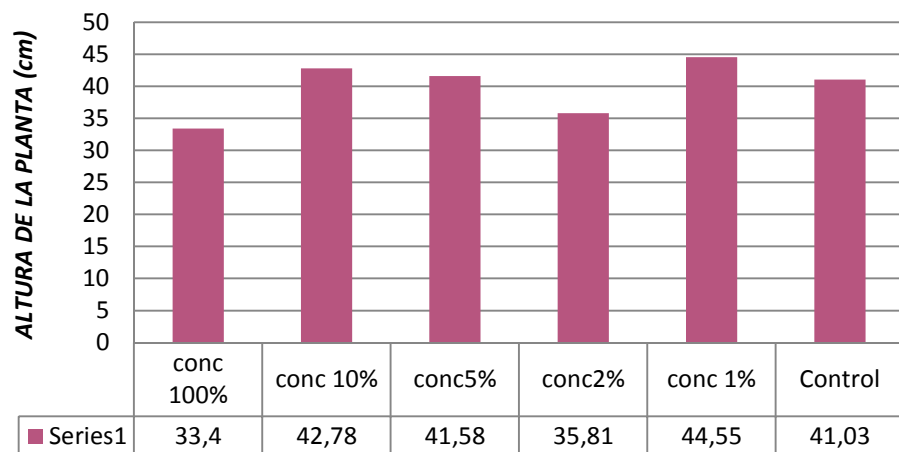
**MUESTREO 3 (E3)**



**DIFERENCIAS ALTURA PLANTA-ZEA MAYS-E3**




**DIFERENCIA DE MEDIAS DE LA ALTURA DE LA PLANTA-Z.MAYS-E3**





## ANEXO N° 11

## ORDENES Y RESULTADOS DE LABORATORIO, PRUEBAS FÍSICO-QUÍMICAS

 <b>ETAPA</b> <small>EMPRESA NACIONAL DE TALENTO HUMANO</small> <b>LABORATORIO DE SANEAMIENTO</b>	<b>FORMULARIO PARA RECEPCIÓN DE MUESTRAS</b>
---	--

N° DE PEDIDO: 341/03/13 CÓDIGO MUESTRA: 341/01-03/13  
 SOLICITA EL ANÁLISIS: Ing. Dra. Rosalía Moscoso R.U.C.: 0103033527  
 DIRECCIÓN: San Juan  
 CORREO ELECTRÓNICO: rosalia.moscoso.c@luc.com TELÉFONO: 0992017489  
 FUENTE: Efluente Planta del Cebillar LUGAR: Planta Cebillar  
 MUESTRAS TOMADAS POR: Dra. Rosalía Moscoso  
 ENTREGADAS EN EL LABORATORIO POR: Ing. Pablo Muñoz  
 FECHA DE RECEPCIÓN: 2013/06/13 FECHA ENTREGA RESULTADOS: 2013/06/20

## ANÁLISIS REQUERIDOS

- |   |   |  |                                  |
|---|---|--|----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Alcalinidad Fenolteína | <input type="checkbox"/> O.D.                             | <input checked="" type="checkbox"/> Aluminio | <input type="checkbox"/> Plomo   |
| <input type="checkbox"/> Alcalinidad Total      | <input checked="" type="checkbox"/> pH                    | <input type="checkbox"/> Antimonio           | <input type="checkbox"/> Potasio |
| <input type="checkbox"/> Cianuro libre          | <input type="checkbox"/> Sólidos Sedimentables            | <input type="checkbox"/> Arsénico            | <input type="checkbox"/> Selenio |
| <input type="checkbox"/> Clorofila a            | <input type="checkbox"/> Sólidos Suspendedos              | <input type="checkbox"/> Bario               | <input type="checkbox"/> Sodio   |
| <input type="checkbox"/> Cloruros               | <input type="checkbox"/> Sólidos Susp. Volátiles          | <input type="checkbox"/> Berilio             | <input type="checkbox"/> Vanadio |
| <input type="checkbox"/> Color aparente         | <input type="checkbox"/> Sólidos Totales                  | <input type="checkbox"/> Bismuto             | <input type="checkbox"/> Zinc    |
| <input type="checkbox"/> Color real             | <input type="checkbox"/> Sólidos Totales Volátiles        | <input type="checkbox"/> Boro                |                                  |
| <input type="checkbox"/> Conductividad          | <input type="checkbox"/> Sólidos Disueltos                | <input type="checkbox"/> Cadmio              |                                  |
| <input type="checkbox"/> DBO <sub>5</sub>       | <input type="checkbox"/> Subs. Solubles al Hexano         | <input type="checkbox"/> Cobalto             |                                  |
| <input type="checkbox"/> DQO                    | <input type="checkbox"/> Sulfatos                         | <input type="checkbox"/> Cobre               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Densidad aparente      | <input type="checkbox"/> Sulfuros                         | <input type="checkbox"/> Cromo               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Dureza Cálcica         | <input type="checkbox"/> Turbiedad                        | <input type="checkbox"/> Estaño              |                                  |
| <input type="checkbox"/> Dureza Total           |   | <input type="checkbox"/> Estroncio           |                                  |
| <input type="checkbox"/> Fósforo Total          | <input type="checkbox"/> Pesticidas Organoclorados        | <input type="checkbox"/> Hierro              |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitratos               | <input type="checkbox"/> Pesticidas Organofosforados      | <input type="checkbox"/> Litio               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitritos               | <input type="checkbox"/> Radiactividad $\alpha$ y $\beta$ | <input type="checkbox"/> Manganeseo          |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitrógeno Amoniacal    |   | <input type="checkbox"/> Mercurio            |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitrógeno Orgánico     | <input type="checkbox"/> Coliformes                       | <input type="checkbox"/> Molibdeno           |                                  |
| <input type="checkbox"/> NKT                    | <input type="checkbox"/> Parásitos                        | <input type="checkbox"/> Niquel              |                                  |
|   |   | <input type="checkbox"/> Plata               |                                  |

OBSERVACIONES: 341/01/13 muestra agua arriba del efluente, 341/02 punto de descarga del efluente  
Colegio Sagrado Corazón; 341/02 130 mts aguas abajo del Efluente


COSTO: Cuarenta y tres Ecuas COSTO + IVA: —

FIRMA CLIENTE: [Firma] CI: 0102258688

FIRMA RECEPCIÓN DE MUESTRA: [Firma]

MC0402-05



 <b>ETAPA</b> <small>EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES Y SERVICIOS ALTERNATIVOS DE COMUNICACION</small> <b>LABORATORIO DE SANEAMIENTO</b>	<b>FORMULARIO PARA RECEPCIÓN DE MUESTRAS</b>
--	--

Nº DE PEDIDO: 372/03/13 CÓDIGO MUESTRA 372/01-03/13  
 SOLICITA EL ANÁLISIS: Dra. Rosalva Floriano R.U.C.: 0105238827  
 DIRECCIÓN: San Jacquín  
 CORREO ELECTRÓNICO: \_\_\_\_\_ TELÉFONO: 0992017489  
 FUENTE: Efluente Planta de Gualaja LUGAR: Planta Gualaja  
 MUESTRAS TOMADAS POR: Dra. Rosalva Floriano  
 ENTREGADAS EN EL LABORATORIO POR: Ing. Pablo Ruiz  
 FECHA DE RECEPCIÓN: 2013/06/27 FECHA ENTREGA RESULTADOS: 2013/07/05

**ANÁLISIS REQUERIDOS**

- |  |   |  |                                  |
|--|---|--|----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Alcalinidad Fenolaleína | <input type="checkbox"/> O.D.                             | <input checked="" type="checkbox"/> Aluminio | <input type="checkbox"/> Plomo   |
| <input type="checkbox"/> Alcalinidad Total       | <input checked="" type="checkbox"/> pH                    | <input type="checkbox"/> Antimonio           | <input type="checkbox"/> Potasio |
| <input type="checkbox"/> Cianuro libre           | <input type="checkbox"/> Sólidos Sedimentables            | <input type="checkbox"/> Arsénico            | <input type="checkbox"/> Selenio |
| <input type="checkbox"/> Clorofila a             | <input type="checkbox"/> Sólidos Suspendidos              | <input type="checkbox"/> Bario               | <input type="checkbox"/> Sodio   |
| <input type="checkbox"/> Cloruros                | <input type="checkbox"/> Sólidos Susp. Volátiles          | <input type="checkbox"/> Berilio             | <input type="checkbox"/> Vanadio |
| <input type="checkbox"/> Color aparente          | <input type="checkbox"/> Sólidos Totales                  | <input type="checkbox"/> Bismuto             | <input type="checkbox"/> Zinc    |
| <input type="checkbox"/> Color real              | <input type="checkbox"/> Sólidos Totales Volátiles        | <input type="checkbox"/> Boro                |                                  |
| <input type="checkbox"/> Conductividad           | <input type="checkbox"/> Sólidos Disueltos                | <input type="checkbox"/> Cadmio              |                                  |
| <input type="checkbox"/> DBO <sub>5</sub>        | <input type="checkbox"/> Subs. Solubles al Hexano         | <input type="checkbox"/> Cobalto             |                                  |
| <input type="checkbox"/> DQO                     | <input type="checkbox"/> Sulfatos                         | <input type="checkbox"/> Cobre               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Densidad aparente       | <input type="checkbox"/> Sulfuros                         | <input type="checkbox"/> Cromo               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Dureza Cálcica          | <input type="checkbox"/> Turbiedad                        | <input type="checkbox"/> Estaño              |                                  |
| <input type="checkbox"/> Dureza Total            |   | <input type="checkbox"/> Estroncio           |                                  |
| <input type="checkbox"/> Fósforo Total           | <input type="checkbox"/> Pesticidas Organoclorados        | <input type="checkbox"/> Hierro              |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitratos                | <input type="checkbox"/> Pesticidas Organofosforados      | <input type="checkbox"/> Litio               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitritos                | <input type="checkbox"/> Radiactividad $\alpha$ y $\beta$ | <input type="checkbox"/> Manganeseo          |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitrógeno Amoniacal     |   | <input type="checkbox"/> Mercurio            |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitrógeno Orgánico      | <input type="checkbox"/> Coliformes                       | <input type="checkbox"/> Molibdeno           |                                  |
| <input type="checkbox"/> NKT                     | <input type="checkbox"/> Parásitos                        | <input type="checkbox"/> Niquel              |                                  |
|  |   | <input type="checkbox"/> Plata               |                                  |

OBSERVACIONES: 372/01: 12mts. aguas arriba del efluente; 372/02: punto descargas del efluente colegio Sagrada Corazon; 372/03: 18mts aguas abajo del efluente


COSTO: \_\_\_\_\_ COSTO + IVA: \_\_\_\_\_

FIRMA CLIENTE: [Signature] CI: 0102238688

FIRMA RECEPCIÓN DE MUESTRA: [Signature]

MC0402-05



 <b>ETAPA</b> <small>EMPRESA NACIONAL DE INVESTIGACIONES Y SERVICIOS DE ACREDITACIÓN Y CONTROL</small> <b>LABORATORIO DE SANEAMIENTO</b>	<b>FORMULARIO PARA RECEPCIÓN DE MUESTRAS</b>
--	--

N° DE PEDIDO: 444/03/13 CÓDIGO MUESTRA 444/01-03/13  
 SOLICITA EL ANÁLISIS: Seta - Rosalía Moscoso R.U.C.: \_\_\_\_\_  
 DIRECCIÓN: San Joaquín  
 CORREO ELECTRÓNICO: \_\_\_\_\_ TELÉFONO: 0992017439  
 FUENTE: Descargas Efluentes Celulosa LUGAR: Río Tunabamba  
 MUESTRAS TOMADAS POR: Seta Rosalía Moscoso  
 ENTREGADAS EN EL LABORATORIO POR: Ing. Wilson Pablo Muñoz  
 FECHA DE RECEPCIÓN: 2013/08/22 FECHA ENTREGA RESULTADOS: 2013/09/29

**ANÁLISIS REQUERIDOS**

- |  |   |  |                                  |
|--|---|--|----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Alcalinidad Fenolaleína | <input type="checkbox"/> O.D.                             | <input checked="" type="checkbox"/> Aluminio | <input type="checkbox"/> Plomo   |
| <input type="checkbox"/> Alcalinidad Total       | <input checked="" type="checkbox"/> pH                    | <input type="checkbox"/> Antimonio           | <input type="checkbox"/> Potasio |
| <input type="checkbox"/> Cianuro libre           | <input type="checkbox"/> Sólidos Sedimentables            | <input type="checkbox"/> Arsénico            | <input type="checkbox"/> Selenio |
| <input type="checkbox"/> Clorofila a             | <input type="checkbox"/> Sólidos Suspendidos              | <input type="checkbox"/> Bario               | <input type="checkbox"/> Sodio   |
| <input type="checkbox"/> Cloruros                | <input type="checkbox"/> Sólidos Susp. Volátiles          | <input type="checkbox"/> Berilio             | <input type="checkbox"/> Vanadio |
| <input type="checkbox"/> Color aparente          | <input type="checkbox"/> Sólidos Totales                  | <input type="checkbox"/> Bismuto             | <input type="checkbox"/> Zinc    |
| <input type="checkbox"/> Color real              | <input type="checkbox"/> Sólidos Totales Volátiles        | <input type="checkbox"/> Boro                |                                  |
| <input type="checkbox"/> Conductividad           | <input type="checkbox"/> Sólidos Disueltos                | <input type="checkbox"/> Cadmio              |                                  |
| <input type="checkbox"/> OBO <sub>5</sub>        | <input type="checkbox"/> Subs. Solubles al Hexano         | <input type="checkbox"/> Cobalto             |                                  |
| <input type="checkbox"/> DQO                     | <input type="checkbox"/> Sulfatos                         | <input type="checkbox"/> Cobre               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Densidad aparente       | <input type="checkbox"/> Sulfuros                         | <input type="checkbox"/> Cromo               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Dureza Cálctica         | <input type="checkbox"/> Turbiedad                        | <input type="checkbox"/> Estaño              |                                  |
| <input type="checkbox"/> Dureza Total            |   | <input type="checkbox"/> Estroncio           |                                  |
| <input type="checkbox"/> Fósforo Total           | <input type="checkbox"/> Pesticidas Organoclorados        | <input type="checkbox"/> Hierro              |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitratos                | <input type="checkbox"/> Pesticidas Organofosforados      | <input type="checkbox"/> Lítio               |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitritos                | <input type="checkbox"/> Radiactividad $\alpha$ y $\beta$ | <input type="checkbox"/> Manganeso           |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitrógeno Amoniacal     |   | <input type="checkbox"/> Mercurio            |                                  |
| <input type="checkbox"/> Nitrógeno Orgánico      | <input type="checkbox"/> Coliformes                       | <input type="checkbox"/> Molibdeno           |                                  |
| <input type="checkbox"/> NKT                     | <input type="checkbox"/> Parásitos                        | <input type="checkbox"/> Níquel              |                                  |
|  |   | <input type="checkbox"/> Plata               |                                  |

OBSERVACIONES: 444/01 Agua arriba Efluente; 444/02 Descarga Efluente Planta  
444/03 Agua abajo Efluente

COSTO: \_\_\_\_\_ COSTO + IVA: \_\_\_\_\_  
 FIRMA CLIENTE:  CI: 0102258688  
 FIRMA RECEPCIÓN DE MUESTRA: 

MC0402-05



 <b>ETAPA</b> UNIVERSIDAD DE CUENCA LABORATORIO DE SANEAMIENTO Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca Telf : 4175557 - 4175568	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	Página 1 de 1
--	------------------------------	---------------

FECHA: 2013/06/20

INFORME Nº: 341/13

**CLIENTE**NOMBRE: Dra. Rosalía Moscoso  
DIRECCIÓN: San Joaquín - Cuenca**MUESTRA**CODIGO: 341/01-03/13  
DESCRIPCIÓN: Efluente planta del Cebollar  
PROCEDENCIA: Planta del Cebollar  
FECHA DE RECEPCIÓN: 2013/06/13  
ENTREGADAS POR: Ing. Pablo Muñoz

## RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	120 mts. AGUAS ARRIBA DEL EFLUENTE 341/01/13
pH	SM 4500 H B	2013/06/13		7.33
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/06/14	µg/l	763.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	PUNTO DE DESCARGA DEL EFLUENTE COLEGIO SAGRADOS CORAZONES 341/02/13
pH	SM 4500 H B	2013/06/13		6.55
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/06/14	µg/l	195030


PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	180 mts. AGUAS ABAJO DEL EFLUENTE 341/03/13
pH	SM 4500 H B	2013/06/13		7.08
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/06/14	µg/l	2012.8

SM: STANDARD METHODS, Edición 22

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso  
RESPONSABLE DEL LABORATORIO



 <b>ETAPA</b> EMPRESA NACIONAL DE TRATAMIENTO DE AGUAS <b>LABORATORIO DE SANEAMIENTO</b> Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca Telf : 4175557 - 4175568	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	Página 1 de 1
--	------------------------------	---------------

FECHA: 2013/07/05

INFORME N°: 372/13

**CLIENTE**

NOMBRE: DRA. ROSALÍA MOSCOSO  
 DIRECCIÓN: San Joaquín - Cuenca

**MUESTRA**

CODIGO:  
 DESCRIPCIÓN: Efluente planta de tratamiento de agua Potable  
 PROCEDENCIA: El Cebollar  
 FECHA DE RECEPCIÓN: 2013/06/27  
 ENTREGADAS POR: Ing. Pablo Muñoz

## RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	120 mts. AGUAS ARRIBA DEL EFLUENTE 372/01/13
pH	SM 4500 H B	2013/06/27		7.38
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/06/28	µg/l	197.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	PUNTO DESCARGA DEL EFLUENTE COLEGIO SAGRADOS CORAZONES 372/02/13
pH	SM 4500 H B	2013/06/27		6.39
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/06/28	µg/l	1976450.0


PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	180 mts AGUAS ABAJO DEL EFLUENTE 372/03/13
pH	SM 4500 H B	2013/06/27		6.93
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/06/28	µg/l	93802.0

SM: STANDARD METHODS, Edición 22

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso  
 RESPONSABLE DEL LABORATORIO



 <b>ETAPA</b> INSTITUTO ECUATORIANO DE INVESTIGACIONES AGRICOLAS, ELIMINADORAS Y FERTILIZANTES	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	Página 1 de 1
<b>LABORATORIO DE SANEAMIENTO</b> Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca Telf : 4175557 - 4175568		

FECHA: 2013/08/29

INFORME N°: 494/13

**CLIENTE**NOMBRE: DRA. ROSALÍA MOSCOSO  
DIRECCIÓN: San Joaquín - Cuenca**MUESTRA**CODIGO: 494/01-03/13  
DESCRIPCIÓN: Efluente planta de tratamiento de agua Potable  
PROCEDENCIA: El Cebollar  
FECHA DE RECEPCIÓN: 2013/08/22  
ENTREGADAS POR: Ing. Pablo Muñoz

## RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	AGUAS ARRIBA DEL EFLUENTE 494/01/13
pH	SM 4500 H B	2013/08/22		7.03
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/08/23	µg/l	169.5

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	DESCARGA DEL EFLUENTE DE LA PLANTA 494/02/13
pH	SM 4500 H B	2013/08/22		6.96
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/08/23	µg/l	9001.3

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	AGUAS ABAJO DEL EFLUENTE 494/03/13
pH	SM 4500 H B	2013/08/22		7.25
ALUMINIO	SM/3120/ICP	2013/08/23	µg/l	498.2

SM: STANDARD METHODS, Edición 22

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso  
RESPONSABLE DEL LABORATORIO