



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

**“DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD DEL ALUMINIO PRESENTE EN EL
SISTEMA DE ALCANTARILLADO DE AGUAS RESIDUALES DE LA
PLANTA DE TRATAMIENTO DE UCUBAMBA DE LA CIUDAD DE CUENCA”**

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

AUTORA: DRA. JULIETA DEL CARMEN REINOSO CARRASCO

DIRECTOR: DR. REMIGIO CORTEZ RODRÍGUEZ PHD

ASESOR: DR. ERVELIO ELISEO OLAZÁBAL MANSO PHD

CUENCA, ECUADOR

2014



RESUMEN

La Planta de Tratamientos de aguas Residuales PTAR UCUBAMBA de Cuenca consta de lagunas de oxigenación que realizan la operación de tratamiento devolviendo al medio ambiente aguas libres de contaminación. Para el cumplimiento de la Norma Ecuatoriana de vertimiento se realiza un constante monitoreo de los posibles contaminantes, entre los cuales se ha detectado la llegada de grandes cantidades de aluminio, que superan los límites permisibles. La presente investigación se realizó para evaluar el nivel de toxicidad en el sistema de alcantarillado de la mencionada Planta de Tratamientos mediante el Método de Plasma Inductivamente Acoplado (ICP), y bioensayos ecotoxicológicos con *Daphnia magna*, *Poecillia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*. Los resultados mostraron elevadas concentraciones de aluminio a la entrada de la PTAR UCUBAMBA. En el estudio realizado con los biomodelos se pudo observar que los niveles de incidencia toxicológica se clasificaron como muy tóxico para *Daphnia magna* y como levemente tóxico para *Lactuca sativa*, mientras que para los otros biomodelos los valores de letalidad son inferiores al 50%, por lo que no hay clasificación de toxicidad, sin embargo se encuentran diferencias significativas, con respecto al control hasta en el 50% en los parámetros de crecimiento de las semillas de *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, con esta información, la empresa ETAPA tiene datos certeros que le permitirán evaluar el proceso y considerar realizar estos estudios en los efluentes de fábricas que utilizan aluminio, para mejorar la depuración y evitar daños que a la larga pueden ser irreparables.

Palabras Claves: nivel de toxicidad, aluminio, contaminación, sistema de alcantarillado, aguas residuales.



ABSTRACT

The Wastewater Treatment Plant PTAR UCUBAMBA is formed by oxygenating lagoons performing the treatment operation and as a consequence, avoiding the proliferation of diseases, giving back to the environment pollution free waters. In order to fulfill the requirements of the Ecuadorian Norm of dumping a constant monitoring of possible contaminants is carried out, among these contaminants a large amount of aluminum has been detected, which exceeds the permissible limits, mainly because there are industries that use this element as part of its procedures and discharge into the sewer system.

This research was conducted to assess the level of toxicity in the sewer system of the treatment plant before mentioned, by Inductively Coupled Plasma Method (ICP), and *Daphnia magna*, *Poecillia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*. bioassays ecotoxicological. The results showed that at the arrival of the PTAR UCUBAMBA high concentrations of Al are present and the levels of toxicological impact are classified as very toxic to *Daphnia magna* and slightly toxic to *Lactuca sativa*, while for other biomodels the lethality is below 50 % therefore there is no toxicity classification, however there are significant differences in regard to the control of the 50% in the growth parameters of *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays* seeds. With this information, ETAPA has accurate data to help evaluate the process and consider performing these studies in effluent from factories using Al, to improve treatment and prevent damage that ultimately cannot be repaired, hence the great importance of this study.

Keywords: level of toxicity, aluminum, pollution, sewage system, sewage.



TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	2
Abstract	3
Agradecimiento	8
Dedicatoria	10
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 El Aluminio.....	14
2.2 Toxicidad	14
2.3 Efectos tóxicos de Aluminio (Al).	15
2.3.1 La enfermedad de Alzheimer	15
2.3.2 El estrés oxidativo.	16
2.3.3 La interferencia con el metabolismo del hierro.....	16
2.3.4 Osteomalacia	17
2.3.5 La hormona paratiroidea.	17
2.3.6 Daño renal.....	17
2.3.7 Cáncer de mama.....	18
2.4 La acumulación de aluminio.	18
2.4.1 Disponibilidad oral.	19
2.4.2 Distribución corporal del aluminio.....	19
2.4.3 Acumulación de aluminio en el hueso.....	19
2.4.4 Aluminio en agua potable.....	20
2.5 Restricción y eliminación del aluminio.	20
2.5.1 Química de complejación y restricción del aluminio.....	20
2.5.2 Los moduladores de la absorción gastrointestinal de aluminio.	21
2.5.3 Ligandos dietéticos.....	21
2.6 La ingestión dietética de aluminio.....	21
2.6.1 Aluminio en el té.....	22
2.6.2 Absorción no gastrointestinal de Aluminio.....	23
2.6.3 Eliminación del Aluminio	23
2.6.4 Aluminio, apo – transferrina y albúmina de suero.	23
2.6.5 Aluminio y la terapia de quelación.....	24



2.6.6	Los efectos secundarios de los quelantes.....	24
2.7	ECOTOXICOLOGÍA.....	25
2.8	ENSAYOS DE TOXICIDAD.....	27
2.9	DEFINICIONES.....	29
2.9.1	Aguas residuales.....	29
2.9.2	Efluente.....	29
2.9.3	Depuración.....	30
2.9.4	Lagunas de Oxigenación.....	30
2.9.5	Métodos De Prueba.....	30
2.9.6	Límites de descarga al sistema de alcantarillado público.....	30
2.9.7	Caudalímetro.....	30
2.9.8	Peachímetro.....	30
2.9.9	La toxicidad.....	31
2.9.10	Toxicidad aguda.....	31
2.9.11	Toxicidad crónica.....	31
2.9.12	Ensayo de toxicidad.....	31
2.9.13	Control positivo.....	31
2.9.14	ICP: ICP-MS.....	31
2.9.15	Bioensayos.....	32
2.9.16	Bioensayo acuático.....	32
2.9.17	CL.....	32
2.9.18	LOEC.....	32
2.9.19	NOEC.....	32
CAPÍTULO III:	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1	Organización del trabajo.....	33
3.2	Selección de sitios estratégicos en el sistema de alcantarillado de aguas residuales para toma de muestras.....	33
3.3	Toma de muestras en los sitios seleccionados y preparación de muestra compuesta de 24 horas.....	35
3.4	Determinación de parámetros físico – químicos en los laboratorios de ETAPA.....	40
3.5	Selección de los organismos de prueba, para la determinación de toxicidad por aluminio.....	41



3.5.1 Daphnia magna	41
3.5.2 Poecillia reticulata (Guppy).....	42
3.5.3 Lactuca sativa (Lechuga), Phaseolus vulgaris (frijol negro) y Zea mays (maíz).....	42
3.6 Determinación de la toxicidad por aluminio en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.....	43
3.7 Procesamiento y Análisis de la Información.....	45
3.7.1 Registro de la Información Obtenida a través de las Pruebas de Toxicidad	45
3.7.2 Análisis Estadístico	45
3.7.2.1 Prueba ANOVA	45
3.7.2.2 Análisis PROBIT	48
3.7.3 Diferencias de medias para los parámetros de crecimiento de las semillas de Lactuca Sativa, Phaseolus Vulgaris y Zea Mays	49
3.7.4 Estimación de las Unidades de Toxicidad.....	50
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	51
4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	51
4.1 Parámetros Físico – Químicos	51
4.2 Determinación de Toxicidad.....	55
4.2.1 Indicadores de Toxicidad	55
4.2.2 Diferencias de medias para los parámetros de crecimiento de las semillas de <i>Lactuca Sativa</i> , <i>Phaseolus Vulgaris</i> y <i>Zea Mays</i>	58
4.2.3 Determinación de las Unidades de Toxicidad	62
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	66
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
Conclusiones	68
Recomendaciones	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXOS.....	79
Anexo 1: Técnica de Recolección de Muestras Compuestas	79
Anexo 2: Técnica de pH. Descripción del Método	81
Anexo 3: Descripción del ICP y su Técnica de Aplicación.....	82
Anexo 4: Protocolos de Ensayo de Toxicidad con Biomodelos	83



Anexo 5: Tablas de registro de los resultados obtenidos en el laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil..... 92

Anexo 6: Diferencias de medias para los parámetros de crecimiento de las semillas de *Lactuca Sativa*, *Phaseolus Vulgaris* y *Zea Mays* 107

Anexo 7: Pruebas estadísticas utilizando el programa estadístico SPSS. 20 para determinar si existe efecto tóxico en base a las concentraciones de aluminio sobre los biomodelos utilizados. Determinación de CL50 – NOEC Y LOEC 110

Anexo 8: TABLA Límites de descarga al sistema de alcantarillado público determinado por la Norma Ecuatoriana 126



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Julieta del Carmen Reinoso Carrasco, autora de la tesis "DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD DEL ALUMINIO PRESENTE EN EL SISTEMA DE ALCANTARILLADO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE UCUBAMBA DE LA CIUDAD DE CUENCA" 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 Toxicología Industrial Y Ambiental. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 11 de Julio del 2014

Julieta del Carmen Reinoso Carrasco
CI. 010214920-0



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Julieta del Carmen Reinoso Carrasco, autora de la tesis "DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD DEL ALUMINIO PRESENTE EN EL SISTEMA DE ALCANTARILLADO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE UCUBAMBA DE LA CIUDAD DE CUENCA" certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora

Cuenca, 11 de Julio del 2014

Julieta del Carmen Reinoso Carrasco
CI. 010214920-0



DEDICATORIA

A mi esposo, José David

A mis hijos, Juan José y María del Carmen

A mis padres, Gilberto e Inés

Quienes son:

El complemento, la continuación y la razón de mi existencia.

Julieta del Carmen.



AGRADECIMIENTO

Agradezco sinceramente la colaboración del Dr. Remigio Cortez y del Dr. Ervelio Orazabal quienes en sus roles de tutor y asesor han sabido guiar el desarrollo de la presente investigación con ética y sabiduría. Agradezco sobremanera la colaboración y apoyo incondicionales de los directivos, representantes y trabajadores de la Empresa Pública Municipal de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento de Cuenca – ETAPA, y de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de Ucubamba de la Ciudad de Cuenca, pues sin ellos no hubiera sido posible culminar con éxito el presente trabajo.

Julieta del Carmen Reinoso Carrasco.



CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso escaso y cada día su demanda es mayor debido al desarrollo industrial, el crecimiento poblacional entre otros factores. Es necesario no sólo velar por la utilización y la distribución eficiente del agua dulce sino también salvaguardar el estado de la cuenca de captación, el tratamiento y la eliminación adecuada de las aguas de desecho (después del consumo). Además se debe considerar el vínculo existente entre la utilización de los recursos hídricos y los ecosistemas que abastecen el agua, pues cuando escasea o se la utiliza indebidamente, el agua puede ser destructiva. Teniendo en cuenta estas consideraciones la Empresa Pública Municipal de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento de Cuenca ETAPA como responsable de la dotación de servicios de agua potable y saneamiento ha entregado a la ciudad de Cuenca la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) ubicada en el sector de Ucubamba, manteniéndose en funcionamiento desde el mes de noviembre de 1999. La planta cuenta con Lagunas de oxigenación donde se llevan a cabo una serie de procesos de depuración de las aguas residuales de la ciudad de Cuenca, en las que se realiza el tratamiento biológico con las condiciones requeridas de carga orgánica y balance de oxígeno para la obtención de una biomasa de algas unicelulares y condiciones adecuadas de mortalidad bacteriana asegurándose la separación de los nematodos intestinales de acuerdo a las guías de la OMS. Siendo los objetivos de esta planta tratar las aguas residuales que llegan para evitar la proliferación de enfermedades y devolver al medio ambiente aguas libres de contaminación y que cumplan la norma establecida de vertimiento por lo que se realiza un constante monitoreo de los posibles contaminantes. Entre los análisis se lleva un control analítico de la concentración de aluminio que llega a la PTAR, pero no se ha determinado su grado de toxicidad. El aluminio se utiliza en muchas industrias y es parte del residual de la misma por lo que en las lagunas de oxigenación se van acumulando grandes cantidades de este elemento y se hace necesario determinar si a las concentraciones finales de aluminio generan un impacto negativo en el tratamiento biológico anteriormente mencionado. Por lo que en esta investigación mediante la



utilización de bioensayos ecotoxicológicos con los biomodelos: *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*; se evalúa si esta acumulación de aluminio llega a concentraciones que provoquen efectos tóxicos que afecten al tratamiento biológico que se lleva a cabo en las lagunas de oxigenación y en la vida acuática, con lo cual la empresa ETAPA contará con parámetros cuantificables, con respecto al impacto que puede tener las concentraciones de aluminio que llegan a la PTAR. Para determinar dicha toxicidad.



CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 EL ALUMINIO

El aluminio es uno de los elementos más abundantes de la corteza terrestre (8%) y uno de los metales más caros en obtener. La producción anual se cifra en unos 33,1 millones de toneladas, siendo China y Rusia los productores más destacados, con 8,7 y 3,7 millones respectivamente. Una parte muy importante de la producción mundial es producto del reciclaje. En 2005 suponía aproximadamente un 20% de la producción total.⁷⁸

Es bien sabido que la exposición a diversos elementos tiene un efecto notable sobre la salud humana. El efecto de un elemento está determinado por varias características, incluyendo su similitud con elementos de necesidad biológica, el metabolismo, y el grado de interacción con los procesos fisiológicos. El aluminio es crítico debido a su predominio en la vida diaria, se ha observado interferencia con diversos procesos biológicos, la relación polémica con la enfermedad de Alzheimer, y la falta de función fisiológica. Además, dado que este metal ha sido investigado por una posible relación con varios estados patológicos, existe un importante volumen de investigación disponible acerca de los efectos del aluminio en los sistemas biológicos. Para el aluminio, al igual que para el hierro, esta revisión se centra en: (1) La evaluación de las pruebas de toxicidad, (2) la posibilidad de bioacumulación, y (3) explorar métodos de gestión de su acumulación.

2.2 Toxicidad

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



demostrado que puede producir efectos adversos en plantas, animales acuáticos y seres humanos.⁵⁵

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

La exposición al aluminio se produce principalmente cuando:

- Se consumen medicamentos que contengan altos niveles de aluminio.
- Se inhala polvo de aluminio que esté en la zona de trabajo.
- Se vive donde se extrae o procesa aluminio.
- Se colocan vacunas que contengan aluminio.
- Se ingieren alimentos cítricos preparados sobre una superficie de aluminio.

Cualquier persona puede intoxicarse con aluminio o sus derivados, pero algunas personas son más propensas a desarrollar toxicidad por aluminio⁵⁵

2.3 Efectos tóxicos de Aluminio (Al).

A continuación se relacionan algunos efectos tóxicos del aluminio.

2.3.1 La enfermedad de Alzheimer

El aluminio ha sido investigado como un contribuyente al desarrollo y progresión de la enfermedad de Alzheimer (EA) durante décadas^{37, 46, 68, 71,75}, aunque el posible papel de aluminio en EA sigue siendo discutida en la literatura. Por ejemplo, en un estudio se ha encontrado que las neuronas piramidales de los seres humanos, contenían aluminio en el núcleo y en mayor cantidad en el citoplasma celular. Otros estudios han sugerido que el aluminio tiene al menos un papel secundario en el desarrollo de EA^{3, 49,64} Sin embargo, la evidencia de un papel primario, del aluminio en la inducción de EA es incompatible^{4, 5,45} Las investigaciones para dar esta respuesta continúan.



2.3.2 El estrés oxidativo.

El aluminio es también considerado como un mediador de estrés oxidativo ^{1, 8, 21, 74,82} es así que existen varios estudios, para tratar de entender los mecanismos subyacentes del aluminio como catalizador del estrés oxidativo. ^{2,8} por ejemplo, en un estudio ⁶⁵ se encontró que los iones Al^{3+} aumentan la cantidad de hierro inducida por la peroxidación lipídica en microsomas de hígado de rata a pH 7,4. Este estudio también encontró Al^+ que acelera la peroxidación de los eritrocitos por el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Otro estudio encontró parecidos resultados. ⁶¹

2.3.3 La interferencia con el metabolismo del hierro.

Se ha postulado que la administración oral de aluminio interfiere con la absorción del hierro (Fe), por lo que en muchos casos se presenta anemia ^{11, 16,44} Un estudio ⁴⁴ en *ratas Wistar* demostró la posibilidad de que la unión transferrina – hierro sea alterada por aluminio a través de la administración de una decocción de *Camellia sinensis* (té verde). Se encontró que la concentración de aluminio en el suero aumentaba después de la administración de té de manera dosis-dependiente. También se observó que el contenido de hierro de todos los órganos analizados se redujo en comparación con los controles. Esto sugiere que la presencia de aluminio en el té verde puede afectar el metabolismo de hierro. Sin embargo, se sabe que el té verde contiene aluminio y polifenoles. Los polifenoles son conocidos por quelar hierro y tal vez contribuir a la deficiencia de hierro y anemia. ^{30, 54,83} Por otra parte, se afirma ²⁴ que el consumo excesivo de infusiones de té puede ser el mayor contribuyente de aluminio entre todas las demás fuentes alimentarias. Otros estudios han sugerido hipótesis similares relacionados con la posibilidad de que el té verde es una fuente importante de aluminio ^{76,80} Es importante tener en cuenta la posibilidad de que las infusiones de la planta de *C. sinensis* puede contribuir a problemas de salud, especialmente teniendo en cuenta el creciente interés en el consumo de té verde debido a sus beneficios para la salud.



2.3.4 Osteomalacia

El aluminio también se ha implicado en el desarrollo de osteomalacia (ablandamiento de los huesos), ^{1, 29,72}, especialmente en pacientes de hemodiálisis que experimentan alta exposición de aluminio desde el dializado. ^{1, 34, 36,73} Se ha postulado el aumento de la incidencia de la enfermedad ósea en pacientes que requieren administración a largo plazo de la nutrición parenteral total (NPT) en relación con la contaminación de aluminio en soluciones nutritivas. ^{9,56} Sin embargo, hay que tener en cuenta que estas dos observaciones ocurren en las circunstancias poco comunes de agudo (dializados) o no gastrointestinales (TPN).

2.3.5 La hormona paratiroidea.

Considerando además la toxicidad de aluminio se conoce que el aluminio perturba la hormona paratiroidea (PTH) por interferencia con el metabolismo del calcio, que a su vez altera la actividad de los osteoclastos. ³² Sin embargo, la PTH no se considera por Jeffrey et al. ³² ser la forma primaria por la que aluminio altera el metabolismo óseo. En su lugar, estos autores sugieren que la interrupción de aluminio a la PTH puede contribuir al desarrollo de la enfermedad ósea, agravar una enfermedad existente, o interactuar con alguna otra condición, precipitando así la enfermedad.

2.3.6 Daño renal.

Relacionado con la observación de que la mayor parte de aluminio se excreta por la orina, se sabe que los riñones se afectan por una exposición al aluminio. ⁴⁰ En la acumulación de aluminio en el riñón, las células tubulares renales están dañadas. En ratas con función renal normal, la administración intraperitoneal de aluminio causó inflamación, hemorragia, fibrosis en los glomérulos, túbulos proximales, y en la cápsula de Bowman. ⁴⁰ Se ha planteado la hipótesis de que este daño es causado por el Aluminio, debido a aumentos inducidos por las especies reactivas del oxígeno (ROS) .^{40, 42} Otros estudios realizados en ratas encontró acumulación de aluminio en el riñón normal, acompañada de daños en el riñón. ^{1, 17,43}



2.3.7 Cáncer de mama.

Algunos estudios han sugerido que el aluminio presente en los antitranspirantes que contienen sales de aluminio puede aumentar el riesgo de cáncer de mama.^{13,47} Una confusión con esta situación es la posibilidad de que los hábitos de afeitado de la axila puede perturbar la barrera dérmica que de otra manera puede restringir la absorción de aluminio. Por otra parte, algunos estudios han afirmado que la posibilidad de un mayor riesgo de cáncer de mama debido a estas sales de aluminio es inexistente basado en la investigación disponible⁵³ es decir se necesita más investigación.²⁵ La pregunta sobre el papel de aluminio en el desarrollo de cáncer de mama todavía está siendo investigada, y parece prematuro extraer una conclusión en este momento.

2.4 La acumulación de aluminio.

Hay considerables pruebas para apoyar la hipótesis de que el aluminio se acumula en los seres humanos. Se ha observado que en seres humanos, los niveles de aluminio en tejidos se correlacionan positivamente con la edad^{27,38} Además, al menos un estudio²⁸ ha encontrado que la concentración tisular de aluminio aumenta exponencialmente con la edad. Esto sugiere dos posibilidades. En primer lugar, la exposición diaria común es mayor que la capacidad de eliminación del cuerpo, resultando en la acumulación. En segundo lugar, el aumento exponencial del aluminio relacionado con la edad puede ser debido al descenso general renal relacionado con la edad,^{12, 18,52} que daría lugar a una capacidad cada vez menor para eliminar aluminio. Por lo tanto, puede ser cada vez más importante manejar la exposición de aluminio con la edad avanzada o de lo contrario la función renal declinante.

Aunque una proporción relativamente pequeña de aluminio se deposita en los tejidos, la eliminación del aluminio es importante tenerla en cuenta. Mientras que la eliminación del aluminio es difícil de cuantificar, se ha estimado que el aluminio en el cerebro humano tiene vida media de 7 años.^{12,81} Esta eliminación lenta, de nuevo, sugiere el potencial de acumulación de aluminio.



2.4.1 Disponibilidad oral.

La biodisponibilidad oral de aluminio es de bajo a moderado en los seres humanos (0,001 a 24%) dependiendo de la dosis, y una dosis mayor puede tener menor biodisponibilidad.¹⁷ Sin embargo, este rango incluye una amplia gama de velocidades de absorción observados. Los valores en el centro de este rango se observan más comúnmente. Por ejemplo, un estudio ²⁸ indicó que el 4% de la ingesta total de aluminio será retenido por los seres humanos con función renal normal. Además, puede ser que no exista dependencia de la dosis para la biodisponibilidad por administración oral de aluminio, como se ha observado en un estudio animal.³⁸

2.4.2 Distribución corporal del aluminio.

Una vez que se produce la absorción, la distribución de aluminio es muy extendida ², con aluminio presente en la mayoría de los tejidos y con pocas excepciones, como el cristalino del ojo (en el pescado) ^{.18} En ratas que recibieron una única inyección intravenosa de pequeñas cantidades de aluminio ²⁴, la mayor proporción de aluminio inyectada se encontró acumulada en el hueso (0,9%) y renal (0,2%).¹ La proporción más baja se encontró en el cerebro y el músculo (0,02% cada uno). Sahin et al.⁶⁹ investigaron la deposición de aluminio en ratones inoculados con hidróxido de aluminio por vía oral durante 105 días. En el grupo de tratamiento, se observó el contenido de aluminio de hígado, riñón y cerebro que fue del 30%, 60%, y 34% mayores, respectivamente, que el grupo control. En los seres humanos, el aluminio se estima que tienen una distribución de aproximadamente 60, 25, 10, 3, 1, y <1% en esqueleto, pulmón, músculo, hígado, cerebro y sangre respectivamente ⁸²

2.4.3 Acumulación de aluminio en el hueso.

Un sitio principal de acumulación de aluminio es en el hueso, ⁸², donde contribuye al desarrollo de la osteomalacia, ⁷³ especialmente en pacientes con hemodiálisis crónica. Jeffrey et al ³² postuló que la vida media de aluminio en el hueso puede depender del tipo de hueso que se incorpora (es decir, cortical vs trabecular). Jeffrey et al. También sugirió que un umbral de toxicidad para la



exposición a aluminio sería útil en la prevención de los trastornos óseos relacionados con aluminio.

2.4.4 Aluminio en agua potable.

El agua potable, posible fuente de ingesta crónica conduce a la acumulación de aluminio, el aluminio que contiene puede ser natural, o por los procesos de tratamiento de agua. La biodisponibilidad del aluminio de esta fuente se estima en torno al 0,3% .¹² Varios estudios epidemiológicos han encontrado correlaciones entre la EA y las altas concentraciones de aluminio en el agua potable. Uno de estos estudios advirtieron que limitar el aluminio residual en el agua potable se merece "atención seria." ⁴⁸ Hay que señalar que los estudios epidemiológicos tienen sus limitaciones, incluido éste, que fueron realizados por Levallois.⁴¹

2.5 Restricción y eliminación del aluminio.

Existe evidencia sustancial que apoya la hipótesis de que aluminio es tóxico. Además, las pruebas de la vida media de aluminio en los tejidos, así como en la distribución del aluminio, indican que este se acumula en los seres humanos. Por lo tanto, un análisis de restricción de aluminio y la eliminación es apropiado.

2.5.1 Química de complejación y restricción del aluminio.

Al tratar de comprender formas para evitar la absorción gastrointestinal de aluminio, es importante tener en cuenta la química de los complejos de Al. La química de complejos de aluminio ha recibido considerable atención de los investigadores. Dos aspectos de la formación de complejos de aluminio son importantes para discutir: disolución para la absorción y la complejación en el entorno fisiológico. Cada uno de estos procesos puede ocurrir de manera muy diferente y por lo tanto deben ser considerados por separado.

En agua a pH neutro, el aluminio es poco soluble. Cuando el pH disminuye desde 7,0 hasta 5,0, el aluminio forma complejos de hidratos en solución. Este



fenómeno presta apoyo a los consejos de cocina común contra los alimentos ácidos en los utensilios de cocina de aluminio, porque el aluminio se disuelve más fácilmente en ambientes ácidos. Cuando el pH se aumentó posteriormente, desprotonaciones sucesivas traen como resultado la formación de un aluminato tetraédrico a $\text{pH} > 6,2$, incluyendo el pH fisiológico.³²

2.5.2 Los moduladores de la absorción gastrointestinal de aluminio.

Debido a que el pH fisiológico es cercano a la neutralidad, los investigadores han investigado cuáles complejos fisiológicos de aluminio puede facilitar el transporte de aluminio en el cuerpo. Varios investigadores^{3,35} han sugerido que el complejo de aluminio – maltolato puede ser un candidato tal Maltol está presente en la dieta como un potenciador del sabor añadido a los alimentos. aluminio – maltolato es estable en el intervalo de pH de 3.0-10.0. En parte debido a este comportamiento químico del complejo de aluminio – maltolato, se ha sugerido como un complejo para administrar en un modelo de conejo en el estudio del desarrollo de EA y patologías.⁴

2.5.3 Ligandos dietéticos.

Autores han sugerido la utilización de ligandos dietéticos que pueden jugar un papel importante en la mejora de la absorción de aluminio y la retención, entre los cuales se incluyen: ascorbato, lactato, succinato, malato, oxalato, gluconato, citrato, fluoruro, glutamato, galato, clorogenato, cafeato, protocatecuato, tartrato,² y posiblemente polyfenoles.⁸³ Fósforo¹ y silica^{1, 2,15} que parecen reducir la absorción.

2.6 La ingestión dietética de aluminio.

La ingestión dietética de aluminio ha sido estimada en 4.9 mg/día.^{27, 28} Debido a que el aluminio es abundante en la corteza terrestre, la mayoría de los alimentos producidos son cultivados en este medio. Los alimentos de los animales son las plantas sembradas en el suelo, por lo que se deduce que la mayor parte de la cadena alimentaria humana puede ser una fuente de baja exposición, crónica al aluminio. Alimentos conocidos por ser altos en aluminio



incluyen maíz, queso amarillo, sal, hierbas, especias, y té, así como los alimentos que incorporan aluminio que contiene agentes de fermentación tales como el fosfato de sodio y aluminio (SALP), a menudo utilizado en los polvos para hornear.^{1,80} Una restricción de estos alimentos puede ser útil para reducir la carga crónica de aluminio. El aluminio también se utiliza en la purificación del agua potable. Otra fuente de exposición al aluminio incluyen recipientes y utensilios para cocina.

2.6.1 Aluminio en el té

El contenido de aluminio en los tés es muy variable. Street et al.^{70,79} encontraron infusiones de té a que tenían entre 0,2 mg L⁻¹ a 9,3 mg L⁻¹ después de una infusión de 5-min. Para poner esto en perspectiva, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda una concentración máxima de aluminio en el agua potable (por "consideraciones estéticas", y no de salud) de 0,2 mg L⁻¹.⁷⁰ Esto hace que muchos investigadores⁷⁰ hayan encontrado hasta 46 veces más alta la concentración de aluminio en infusiones de té que la recomendada por la OMS como estándar. Esta evidencia presenta la posibilidad de que el aluminio del té verde se absorbe tan bien como el aluminio de otras fuentes dietéticas, debido a los grupos hidroxilo fenólicos que proporcionan múltiples sitios de complejación,^{24,70} siendo la causa de que se considere que el té verde puede contribuir a la acumulación de tóxicos por la Liga Americana. Una investigación²⁴ afirmó que beber en exceso el té verde puede duplicar el consumo de aluminio (considerando además que el 95% de la ingesta de aluminio es normalmente de los alimentos, y sólo el 1-2% de agua potable).⁸⁰ El té verde ha sido investigado por su potencial terapéutico y aplicaciones preventivas, por lo que sería poco aconsejable dejar el consumo de té verde por completo. Si el té contribuye sustancialmente a la toxicidad relacionada con el aluminio requiere investigación adicional.

Además, consumir té verde sin componentes ácidos como el jugo de limón, que se practica a veces, debe ser reconsiderado. Varios estudios encontraron componentes ácidos, tales como citrato presente en zumos de cítricos, facilitando una mayor absorción gastrointestinal de aluminio.^{1, 2, 31,82} Por



ejemplo, un estudio ³³ en ratas encontró que 1 h después de la administración oral de aluminio, el grado de acumulación de aluminio aumentó en un factor de 2 a 5, en presencia de citrato, dependiendo de tejido y otros factores.

2.6.2 Absorción no gastrointestinal de Aluminio

La absorción gastrointestinal no es la única ruta de absorción de aluminio. Otras vías de admisión han sido investigadas incluyendo dérmica, nasal y respiratoria ² Un estudio preliminar ²² encontró aproximadamente 4 g de aluminio absorbido transdérmicamente por una única administración de un antitranspirante que contiene aluminio. Otro estudio encontró que, en un solo paciente ocurrió la disminución del aluminio en el plasma y orina después de discontinuar el uso de un antitranspirante ²⁶ La cuestión de la absorción transdérmica del aluminio es una preocupación y se sigue investigando. Para la mayoría de los individuos, la ingesta oral de aluminio es una fuente mucho mayor de exposición.

2.6.3 Eliminación del Aluminio

La restricción del aluminio es importante para prevenir y reducir la acumulación del mismo. Suponiendo que la acumulación de aluminio, por sí mismo, eventualmente resultará en una patología, es beneficioso evitar la acumulación y por ende la patología. Por supuesto, este es el caso sólo si los métodos de medición de aluminio y eliminación no son más perjudiciales que la presencia de niveles de aluminio no patológicas. Además, algunas poblaciones pueden ser sometidas a la exposición de aluminio debido a las condiciones de salud que requieren tratamientos que pueden estar contaminados con aluminio (es decir, pacientes en hemodiálisis). Para complicar aún más la cuestión está la posibilidad de que el aluminio en algunos tejidos pueden tener un vida media bastante larga. Así, la restricción dietética de aluminio es útil, pero no será eficaz en el alivio de la carga de aluminio en algunas circunstancias o tejidos.

2.6.4 Aluminio, apo – transferrina y albúmina de suero.

Una característica importante de aluminio es que se encuentra unido a apo-transferrina ⁵¹ y albúmina del suero ^{1, 19} Esta característica de la unión del



aluminio al suero es importante para considerar terapias de reducción de aluminio, como la quelación y la flebotomía. Un estudio⁶⁷ investigó constantes competitivas de unión de Al^{3+} y citrato, albúmina de suero humano (HSA), y transferrina humana en suero (HSTF), llegando a la conclusión de que en los pacientes de hemodiálisis 34% de suero de aluminio está unido a HSA, 60% se une a HSTF, y el resto unido al citrato. Esta unión sustancial a HSA⁶⁷ estaba en contraste con otros estudios,⁶⁶ que estimó una tasa menor de unión a HSA y una tasa de unión mucho más alta a HSTF.

2.6.5 Aluminio y la terapia de quelación.

Quelantes desferroxamina y otros utilizados en el tratamiento de sobrecarga de hierro (Fe) han sido frecuentemente discutidos en la literatura como un quelante de aluminio^{6, 7, 15, 32, 39, 66,82} Un estudio²⁰ encontró que la terapia con desferroxamina produjo una reducción de aluminio en la superficie ósea de 44% a 13% en pacientes con hemodiálisis.

Una evaluación de la conveniencia de la terapia de quelación se podría hacer con el llamado "desafío quelante",⁷³ mediante el cual a un paciente se le administra una sola dosis de quelante y la excreción urinaria del metal (en este caso, aluminio) se compara antes y después de la tratamiento. Esto ayudaría a los médicos y pacientes en la evaluación de la magnitud de la acumulación de aluminio en el paciente.

2.6.6 Los efectos secundarios de los quelantes.

Desferroxamina y otros quelantes clínicos se sabe que tienen efectos secundarios graves, tales como mucormicosis¹⁴ (también referido como cigomicosis), "anomalías oculares y auditivos, neurotoxicidad sensomotora, los cambios en la función renal, toxicidad pulmonar,"⁶² así como retraso en el crecimiento en la altura desarrollo de niños⁷⁴ Debido a ello, los métodos alternativos de eliminación de aluminio son aceptables.

En una investigación³⁹ se evaluó la efectividad de 10 quelantes, solos o en combinación, en la eliminación de aluminio en el núcleo. Se encontró una



combinación de ácido ascórbico y Feralex-G, un quelante descrito recientemente diseñado para uso oral, resultando una combinación eficaz. Esta combinación elimina entre el 29% y el 35% de aluminio unido al núcleo, dependiente de la concentración de ácido ascórbico. El mecanismo utilizado para explicar la eficacia de esta combinación se denomina "quelación lanzadera molecular", mediante el cual una molécula más pequeña (ascorbato) penetra en el núcleo, quelatos de aluminio, se difunde a las regiones con el quelante más grande (Feralex-G), y la renuncia a aluminio quelante. Ellos sugieren además que los quelantes con los grupos cetona hidroxí cis-(tales como Feralex-G) son particularmente útiles como quelantes en aluminio nuclear enlazado. Los quelantes incluyen fluoruro relativamente ineficaz, la hidroxíurea, la dihidroxíacetona, maltol, citrato, EDTA, y salicilato.

Flora et al.²⁴ investigaron la efectividad de ácido cítrico (CA) y el ácido N-(2-hidroxietil) etilendiaminotriacético (HEDTA), solo o en combinación, sobre la carga de aluminio en los compartimentos de sangre y cerebro de ratas Wistar. Ellos encontraron que CA y HEDTA redujo la carga de aluminio en la sangre, solo y en combinación, pero no tienen un efecto sinérgico en estos compartimentos.

2.7 ECOTOXICOLOGÍA.

La Ecotoxicología, como una de las ramas de la toxicología, comenzó a desarrollarse en la década de los 70 del pasado siglo, y ha evolucionado vertiginosamente debido a la necesidad de conocer y, en consecuencia, contrarrestar los efectos e incidencia que sobre el medio ambiente ha ejercido (ejerce) la actividad económica y el progreso humano. A lo anterior hay que agregar los peligros que encierran los fenómenos naturales, que se hacen más intensos y frecuentes, así como los conflictos bélicos con sus nuevas tecnologías y armas de destrucción masiva considerándose, ambos, generadores de potenciales riesgos biológicos y químicos para el ecosistema y el hombre como el componente más importante a salvaguardar. La Ecotoxicología como ciencia basa su fundamento en la valoración de las



especies indicadoras al interactuar con los diferentes compartimentos del ecosistema; siendo estos organismos (o restos de los mismos) los que ayudan a descifrar cualquier fenómeno o acontecimiento actual (o pasado) relacionado con el estudio de un ambiente. Las especies tienen requerimientos físicos, químicos, de estructura del hábitat y de relaciones con otras especies. A cada especie o población le corresponden determinados límites de estas condiciones ambientales entre las cuales los organismos pueden sobrevivir (límites máximos), crecer (intermedios) y reproducirse (límites más estrechos). En general, cuánto más estenoica sea la especie en cuestión, es decir, cuánto más estrechos sean sus límites de tolerancia, mayor será su utilidad como indicador ecológico. Las especies bioindicadoras deben ser, en general, abundantes, muy sensibles al medio de vida, fáciles y rápidas de identificar, bien estudiadas en su ecología y ciclo biológico, y con poca movilidad.

A principios de siglo se propuso la utilización de listas de organismos como indicadores de características del agua en relación con la mayor o menor cantidad de materia orgánica. La idea de usar como indicadores a las especies se generalizó, aplicándose a la vegetación terrestre y al plancton marino. La utilización de organismos vivos como indicadores de contaminación es una técnica bien reconocida. La composición de una comunidad de organismos refleja la integración de las características del ambiente sobre cierto tiempo, y por eso revela factores que operan de vez en cuando y pueden no registrarse en uno o varios análisis repetidos. La presencia de ciertas especies es una indicación relativamente fidedigna de que durante su ciclo de vida la polución no excedió un umbral.

Los indicadores de contaminación por desechos industriales generalmente son resistentes a la falta total o parcial de oxígeno, la baja intensidad de luz, etc. Los monitoreos biológicos son muy útiles, ya que, por ej., la acumulación de metales pesados en organismos acuáticos puede ser 10 millones de veces mayor a la del ambiente donde viven. El uso de organismos indicadores de contaminación requiere conocer las tolerancias ecológicas y los requerimientos de las especies, así como sus adaptaciones para resistir contaminantes agudos



y crónicos. Las investigaciones sobre organismos indicadores de polución comprenden el estudio autoecológico, en el laboratorio, para establecer los límites de tolerancia de una especie a una sustancia o a una mezcla de ellas mediante *ensayos de toxicidad*; y el sinecológico, que se basa en la observación y análisis de las características ambientales de los sitios en los cuales se detectan con más frecuencia poblaciones de organismos de cierta especie. Algas, bacterias, protozoos, macroinvertebrados y peces son los más usados como indicadores de contaminación acuática. La mayoría de los estudios estiman características estructurales a diferentes niveles de organización, como cambios en la estructura celular, o en la diversidad de especies, pero, más recientemente, se han incluido características funcionales, como reproducción y respiración. Los resultados del estudio de las especies indicadoras de niveles de calidad de agua son más inmediatos, pero requieren un profundo conocimiento para identificar los organismos y sólo son adecuados para las condiciones ecológicas y características regionales; mientras que los resultados numéricos de los estudios de estructura de comunidades, si bien requieren su interpretación ecológica, demandando más tiempo, son independientes de las características geográficas regionales y tienen aplicabilidad aún con informaciones sistemáticas y ecológicas deficientes. En las evaluaciones de riesgo ecológico se ha propuesto el uso de indicadores de conformidad, de diagnóstico, y factores tempranos de daño.^{10,50}

2.8 ENSAYOS DE TOXICIDAD.

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

Estos ensayos, básicamente, consisten en la exposición de grupos de organismos, a determinadas concentraciones del tóxico por un tiempo determinado. Los organismos deben estar en buenas condiciones de salud, previamente aclimatados a las condiciones del ensayo, y se mantienen en



condiciones ambientales constantes. Además se dispone de grupos de control (que no se exponen al tóxico). Luego se miden y registran los efectos biológicos observados en cada uno de los grupos control y tratados y, posteriormente, se efectúa un análisis estadístico de los datos obtenidos.

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

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

Generalmente, no es suficiente para proteger la biota registrar en un ecosistema dado las concentraciones de las sustancias químicas; los programas para monitorear tales sustancias suelen ser muy caros, y aquellas de alta toxicidad generalmente deben detectarse en concentraciones muy bajas, usando equipo costoso y personal muy entrenado; y en un solo ambiente puede haber cientos de contaminantes con efectos muchas veces no aditivos. Por lo tanto, se necesitan los ensayos biológicos que son relativamente simples, rápidos y económicos, y pueden brindar información adicional sobre el riesgo potencial, incluyendo efectos tóxicos como generación de cáncer, malformaciones, desórdenes de conducta, efectos acumulativos, antagonismos y sinergismos.



Los ensayos pueden ser de laboratorio (con un número reducido de especies, y en condiciones estandarizadas que reproducen sólo en forma muy parcial las condiciones naturales en el ambiente), o de campo (con “encierros” sometidos a las condiciones del medio).

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

Los organismos empleados para los ensayos deben tener alta sensibilidad a los tóxicos, ya que al establecer las concentraciones seguras para ellos se espera proteger a todo el ecosistema, pero hay que tener en cuenta que distintas especies tienen diferente sensibilidad a distintas sustancias químicas. Más de 150 especies desde bacterias hasta mamíferos se usaron como organismos para test, pero sólo unas 40 tuvieron cierta aprobación oficial.

De todos modos, ninguna especie aislada podría representar adecuadamente un ecosistema entero en sensibilidad toxicológica, por lo que se recomienda una serie de ensayos incluyendo, por ej: algas, dáfnidos, peces y plantas. Se utilizan métodos integrados (secuencial, para evaluar la toxicidad de sustancias químicas puras, y simultáneo, para deshechos que contienen varias sustancias diferentes). Los ensayos deberían complementarse con monitoreos biológicos y el uso de indicadores ecológicos. ^{10, 50,57-60,63}

2.9 DEFINICIONES

2.9.1 Aguas residuales: son 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.

2.9.2 Efluente: líquido proveniente de un proceso de tratamiento, proceso productivo o de una actividad.



2.9.3 Depuración: es la remoción de sustancias contaminantes de las aguas residuales para disminuir su impacto ambiental.

2.9.4 Lagunas de Oxigenación: son lagunas que tienen como objetivo sanear el efluente para ser volcado a los cuerpos receptores sin contaminar. Por lo general, están constituidos por tres lagunas: la primera anaeróbica, la segunda facultativa y la tercera aeróbica. Estos sistemas si no son correctamente mantenidos, transcurrido cierto tiempo de funcionamiento, comienzan a colapsar provocando sobrenadantes en superficie y emanaciones de olores desagradables. Esto a su vez, provoca el vuelco posterior a cursos de agua sin cumplir con los parámetros estipulados en las normativas vigentes.

2.9.5 Métodos De Prueba: para determinar los valores y concentraciones de los parámetros determinados en la Norma Oficial Ecuatoriana, se deberán aplicar los métodos establecidos en el manual “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, en su más reciente edición. Además deberán considerarse las Normas del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN): Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:98. Agua.

2.9.6 Límites de descarga al sistema de alcantarillado público: son parámetros establecidos por las normas Tulas para las sustancias que se encuentran en las aguas de descarga para Aluminio (Al), que es motivo de esta investigación y corresponde a: 5,0 mg/L.

2.9.7 Caudalímetro: es un instrumental de medida para la medición de caudal o gasto volumétrico de un fluido o para la medición del gasto másico. Estos aparatos suelen colocarse en línea con la tubería que transporta el fluido. También suelen llamarse medidores de caudal, medidores de flujo o flujómetros.

2.9.8 Peachímetro: instrumento utilizado en los laboratorios químicos y bioquímicos para medir el pH de las disoluciones. Consiste en un minivoltímetro con la escala graduada en unidades de pH, que mide la diferencia de potencial existente entre dos electrodos, uno de ellos de referencia.



2.9.9 La toxicidad: es la capacidad inherente de un agente químico de producir un efecto nocivo sobre los organismos vivos, siendo la resultante de la concentración y del tiempo de exposición, modificado por variables como la temperatura, formas químicas y disponibilidad (APHA, 1989).

2.9.10 Toxicidad aguda: efecto letal u otro efecto producido en un tiempo relativamente corto, por lo general dentro de los cuatro días para peces o macrovertebrados y periodos más cortos (2 días) para organismos de menor tamaño (APHA, 1989).

2.9.11 Toxicidad crónica: efectos a largo plazo que pueden estar relacionados con cambios en apetito, crecimiento, metabolismo, y aun mutaciones o muerte (APHA, 1989).

2.9.12 Ensayo de toxicidad: determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantal) o el grado de efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra. Cumplimiento: de acuerdo con reglamentaciones gubernamentales o requerimientos para el otorgamiento de un permiso.

2.9.13 Control positivo: evaluación de la respuesta tóxica con una sustancia de referencia, utilizada para controlar la sensibilidad de los organismos en el momento en el cual se evalúa el material problema.

2.9.14 ICP: ICP-MS (Espectrometría de masas con fuente de plasma de Acoplamiento Inductivo) es una técnica de análisis inorgánico que es capaz de determinar y cuantificar la mayoría de los elementos de la tabla periódica en un rango dinámico lineal de 8 órdenes de magnitud (ng/L – mg/L). Consiste en un equipo dotado de un monocromador posterior a la muestra y una serie de detectores dedicados a cada elemento en diferentes posiciones del plano focal. Su principal característica es que posee unos límites de detección para la mayoría de los elementos de unas pocas ppb – ppt que la hace ideal para el análisis de



elementos traza. La muestra líquida es vaporizada e ionizada gracias a un plasma de Argón. Los iones una vez formados pasan al espectrómetro de masas donde son separados mediante un analizador y detectados. Tiene gran variedad de aplicaciones en las siguientes áreas: biología, física de materiales, medioambiente, geoquímica.

2.9.15 Bioensayos: 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.

2.9.16 Bioensayo acuático: Es el ensayo por el cual se usan las respuestas de organismos acuáticos, para detectar o medir la presencia o efectos de una o más sustancias, elementos, compuestos, desechos o factores ambientales solos o en combinación.

2.9.17 CL₅₀: Concentración letal media, concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima letal para el 50% de los organismos de ensayo. La CL₅₀ y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadístico.

2.9.18 LOEC: Concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC, por sus siglas en inglés).

2.9.19 NOEC: Concentración a la cual no se observa efecto (NOEC, por sus siglas en inglés).



CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Organización del trabajo

Para evaluar la toxicidad del aluminio presente en el sistema de alcantarillado de aguas residuales de la planta de tratamiento de Ucubamba de la ciudad de Cuenca, se desarrolló una metodología basada en la rigurosidad científica, la réplica de resultados, el uso de parámetros físico-químicos de las aguas residuales y el uso de protocolos para la determinación de toxicidad por aluminio en biomodelos sensibles.

La metodología usada para este estudio comprende las siguientes etapas:

1. Selección de sitios estratégicos en el sistema de alcantarillado de aguas residuales para toma de muestras.
2. Toma de muestras en los sitios seleccionados.
3. Determinación de parámetros físico químicos en los laboratorios de ETAPA
4. Selección de los organismos de prueba, para la determinación de toxicidad por aluminio.
5. Determinación de la toxicidad por aluminio, en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil
6. Procesamiento y análisis de la información.
7. Presentación de resultados y elaboración del documento final.

3.2 Selección de sitios estratégicos en el sistema de alcantarillado de aguas residuales para toma de muestras

Para seleccionar sitios estratégicos en el sistema de alcantarillado para la toma de muestras de aguas residuales, se realizaron inspecciones de los interceptores de control, con la colaboración del personal del Departamento de

Alcantarillados de ETAPA y se establecieron los sitios más adecuados, siendo los siguientes:

1. Interceptor al inicio del parque industrial: donde llegan aguas residuales que se considera que no contienen aluminio como contaminante, pues las fábricas que utilizan este elemento se encuentran aguas abajo, teniendo en cuenta esta consideración se tomó este sitio como punto de referencia para diferenciar los cambios en las concentraciones de aluminio a lo largo del sistema de alcantarillado.
2. Interceptor al final del parque industrial: donde se pueden recoger aguas residuales, en las que se espera encontrar concentraciones de aluminio



Figura 1 Interceptores del sistema de alcantarillado.

1. En la PTAR de Ucubamba, donde finalmente desembocan las aguas del sistema de alcantarillado.



Figura 2 PTAR: Lugar de llegada del sistema de alcantarillado



3.3 Toma de muestras en los sitios seleccionados y preparación de muestra compuesta de 24 horas.

Se realizaron varias reuniones con los directivos de ETAPA, con el fin de coordinar tanto las fechas, el personal de apoyo como el préstamo de algunos materiales y equipos requeridos para el muestreo (peachímetro, caudalímetro, carpas de campaña); una vez que se concretaron las fechas y el personal de apoyo se llevó a cabo el trabajo de campo, (muestreo).

Para la toma de muestras en los sitios seleccionados y posterior preparación de las muestras compuestas de 24 horas se ha utilizado la técnica sugerida por la Dra. Torres (Supervisor Del Laboratorio De Saneamiento De Etapa) en su libro: "Recolección Y Preservación De Muestras De Agua". Debido a que esta técnica, considera los requerimientos necesarios para el desarrollo de la presente investigación. (Anexo 1)

Para llevar a cabo este procedimiento, en primer lugar se elaboró la siguiente lista de los materiales y equipos necesarios para aplicar la técnica:

- pH metro. (Anexo 2)
- Caudalímetro
- Termómetro
- probeta
- tiras reactivas para medición de pH
- 225 frascos recolectores de plástico con capacidad de 1 litro
- 9 frascos recolectores de plástico con capacidad de 5 litros
- guantes desechables
- mascarillas desechables
- linternas
- cámara de fotos.

- carpas de campaña.
- marcadores, hojas de papel, esferos.

Los sitios estratégicos seleccionados para el muestreo simultáneo son: Inicio del parque industrial, fin del parque industrial y llegada a la PTAR; Se procedió a las tomas de muestras en tres semanas y diferentes días en aguas residuales del sistema de alcantarillado así como la preparación de la mezcla para obtener muestras compuestas de 24 horas. La toma de muestras puntuales se realizaron con un intervalo de 1 hora entre cada toma. Al terminar las tres semanas, se realizaron tres réplicas para cada sitio.¹

Para cada réplica y para cada sitio personal de ETAPA instaló una carpa de campaña. Antes de proceder con el trabajo de campo se dispusieron: hoja de control, linternas, termómetro, peachímetro, tiras reactivas y 25 frascos plásticos de 1 litro de capacidad y un frasco plástico de 5 litros, los primeros se numeraron con un marcador permanente del 1 al 24 para evitar confusiones al momento de realizar los cálculos de las alícuotas, tanto el frasco sin numerar como el frasco de 5 litros sirvieron para la mezcla de muestra compuesta.



Figura 3 Materiales y Equipo para muestreo

¹ Durante el muestreo se han considerado días de lluvia y días secos, lo que permite tener un mejor criterio de análisis.

Al principio y al final del parque industrial se encuentra un ingreso al sistema de alcantarillado, mediante interceptores de control donde se puede recoger la muestra, para este procedimiento, se contó con la colaboración de personal que trabaja en ETAPA, quienes además de tener la experiencia para ingresar a la alcantarilla también cuentan con la indumentaria adecuada, considerando las normas de bioseguridad: guantes, mascarilla, ropa adecuada, botas, linterna.



Figura 4 Ingreso de personal de ETAPA al interceptor del sistema de alcantarillado para toma de muestras.

Cada hora se tomó una muestra en el frasco de 1 litro correspondiente (numerado previamente del 1 al 24), antes de cerrarlo se procedió a tomar la temperatura y el pH con el uso de un peachímetro y/o papel indicador de pH y un termómetro, los datos se anotaron en un cuadro control establecido con anterioridad, además se anotó el caudal calculado con un caudalímetro. En la PTAR se procede de igual manera pero aquí se tomaron las muestras directamente desde el canal de llegada de agua.



Figura 5 Toma de datos de cada muestra y anotación en la tabla control.

Tabla 1 Control de datos utilizado para cada muestreo.

Nº MUESTRA	Hora de toma	pH	Temperatura º C	CAUDAL m ³ /s

El cuadro control se completa añadiendo un ítem que corresponda a las alícuotas que se deben tomar para obtener la muestra compuesta de 24 horas, tanto para el frasco de 1 litro, como para el frasco de 5 litros.

Nº MUESTRA	hora de toma	pH	Temperatura º C	CAUDAL m ³ /s	Alícuota para 1 litro	Alícuota para 5 litros

Tabla 1.1 Control de datos utilizado para cada muestreo y las alícuotas a considerar para obtener muestra compuesta/24h**Figura 6 Frascos con las muestras recolectadas cada hora.**

Pasadas las 24 horas se realizaron los cálculos para determinar el valor de las alícuotas a tomarse de cada frasco de 1 litro, para preparar la mezcla que se necesita para obtener la muestra compuesta de 24 horas, para lo cual se realizó la sumatoria de los caudales y con una regla de tres, se procedió a obtener el volumen de la alícuota a tomar de cada frasco, este procedimiento se realizó de manera simultánea para preparar el frasco de 1 litro y el frasco de



5 litros, con el uso de una probeta se realizó la medida para el paso de un frasco a otro.

El siguiente cuadro control, representa un ejemplo del trabajo realizado, correspondiendo a la tercera réplica tomada en la PTAR de Ucubamba:

Nº MUESTRA	hora de toma	pH	Temperatura	CAUDAL m ³ /s	Alícuota para 1 litro	Alícuota para 5 litros
1	12 H 00	7	20,8	0,522	46,5	232,7
2	13 H 00	7	20,8	0,522	46,5	232,7
3	14 H 00	7	19	0,489	43,6	218,0
4	15 H 00	7	18	0,46	41,0	205,1
5	16 H 00	7	18	0,444	39,6	197,9
6	17 H 00	7	20	0,495	44,1	220,7
7	18 H 00	7	20	0,497	44,3	221,6
8	19 H 00	7	19	0,488	43,5	217,5
9	20 H 00	7	19	0,487	43,4	217,1
10	21 H 00	8	19	0,479	42,7	213,5
11	22 H 00	7	19	0,472	42,1	210,4
12	23 H 00	7	18	0,463	41,3	206,4
13	24 H 00	8	18	0,446	39,8	198,8
14	1H00	7	17	0,427	38,1	190,4
15	2H00	7	16	0,416	37,1	185,4
16	3H00	7	16	0,414	36,9	184,6
17	4H00	7	16	0,416	37,1	185,4
18	5H00	9	16	0,421	37,5	187,7
19	6H00	7	17	0,427	38,1	190,4
20	7H00	7	18	0,447	39,9	199,3
21	8H00	7	18	0,486	43,3	216,7
22	9H00	7	20	0,507	45,2	226,0
23	10H00	7	21	0,513	45,7	228,7
24	11H00	7	19	0,478	42,6	213,1

11,216

TABLA 2 Cuadro control de cálculo de alícuotas para muestras compuestas/ 24 horas para 1 litro y 5 litros con datos: tercera réplica tomada en la PTAR Ucubamba.

Para el cálculo de las alícuotas se ha realizado la sumatoria de caudales medidos: $11,216 \text{ m}^3/\text{s}$

Mediante una regla de tres se calcula cada alícuota, tanto para la muestra compuesta de 1 litro, como para la muestra compuesta de 5 litros:

$\begin{array}{l} 1000 \text{ mL } 11,216 \\ X \quad \quad 0,522 \\ X = 46,5 \text{ mL} \end{array}$	$\begin{array}{l} 5000 \text{ mL } \quad 11,216 \\ X \quad \quad 0,522 \\ X = 232,7 \text{ mL} \end{array}$
--	---

Es decir que de la muestra N° 1 se deberá tomar 46,5 mL, para la muestra compuesta de 1 litro y 232,7 mL para la muestra compuesta de 5 litros.

Se repite el mismo cálculo para cada una de las muestras tomadas y se juntan en un recipiente de plástico de 1 litro o de 5 litros correspondientemente.

Se utilizaron las herramientas de Excel para realizar estos cálculos.



Figura 7 Preparación de muestras compuestas.

3.4 Determinación de parámetros físico – químicos en los laboratorios de ETAPA

La muestra compuesta/24h fue llevada inmediatamente a los laboratorios de ETAPA, donde se realizó la caracterización físico química de las aguas contaminadas determinando el pH y la concentración de aluminio presente en la muestra, ⁷⁷ usando métodos validados por el propio laboratorio y que tienen



como base el Standar Methods For the Examination of Water and Wastewater Edición 22. (Anexo)

Parámetro	Método
- pH	SM 4500 H B
- ALUMINIO	SM/3120/ICP
- CONDUCTIVIDAD	SM 2510 B

SM: STANDARD METHODS, Edición 22

Tabla 3 Métodos utilizados por el Laboratorio de Saneamiento de ETAPA para determinación de parámetros físico – químicos en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.

3.5 Selección de los organismos de prueba, para la determinación de toxicidad por aluminio.

Para obtener los mejores resultados de toxicidad, utilizando bioensayos es necesario escoger los organismos más adecuados. Razón por la cual los organismos que fueron seleccionados han sido ampliamente utilizados en investigaciones similares, encontrándose resultados representativos de las condiciones de los ambientes evaluados. Para determinar la posible toxicidad de las aguas del sistema de alcantarillado de la PTAR de Ucubamba, se realizaron ensayos ecotoxicológicos en biomodelos experimentales (*Daphnia magna*, *Poecillia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*), según ruta crítica determinada para el contaminante.^{57-60,63}

Las razones por las cuales se seleccionaron estos biomodelos se detallan a continuación:

3.5.1 Daphnia magna: los microcrustáceos *Daphnias pp*, constituyen parte importante del zooplancton acuático, en la transferencia de energía en los niveles de la cadena trófica, además son organismos altamente sensibles a agentes tóxicos tales como el aluminio. Para el presente estudio se eligió la

especie *Daphnia magna*, pues está adaptada al ambiente de estudio, por lo que los resultados obtenidos presentaron mayor precisión.



Figura 8 *Daphnia magna*.

3.5.2 *Poecilia reticulata* (Guppy) Los peces son considerados como vías de transporte de metales pesados, pues son importantes alimentos para el ser humano, (Vargas. 1994), considerando este detalle, y que los peces de la especie *Poecilia reticulata*, cuyo nombre común es *Guppy*, ha sido ampliamente utilizado como organismo de prueba para toxicidad en aguas, se ha elegido este organismo como biomodelo de la presente investigación.



Figura 9 *Poecilia reticulata* (Guppy)

3.5.3 *Lactuca sativa* (Lechuga), *Phaseolus vulgaris* (frijol negro) y *Zea mays* (maíz). A pesar de que *Lactuca sativa* (Lechuga), *Phaseolus vulgaris* (frijol negro) y *Zea mays* (maíz), no son organismos acuáticos, han sido considerados importantes para el desarrollo de las pruebas de toxicidad, por un lado se puede relacionar con los efectos tóxicos que sufre la población vegetal en contacto con las aguas contaminadas y por otro lado han sido ampliamente utilizadas en la determinación de toxicidad en aguas de desecho, estas razones y el hecho de que es importante que todo estudio toxicológico debe utilizar por

lo menos cinco biomodelos para validar los resultados, se tuvieron en cuenta en el momento de elegir estas semillas.

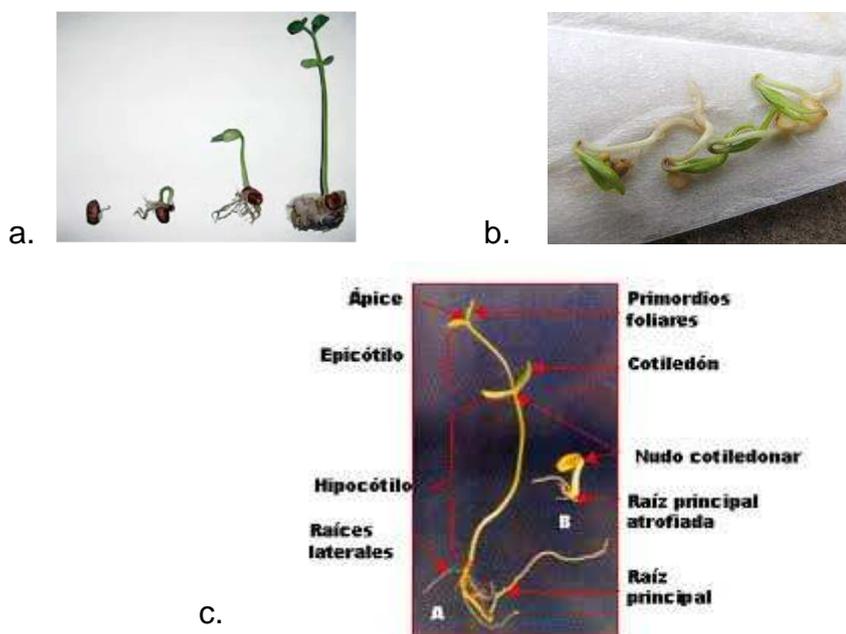


Figura 10 Germinación semillas: a. *Lactuca sativa* (Lechuga), b. *Phaseolus vulgaris* (frijol negro) y c. *Zea mays* (maíz).

3.6 Determinación de la toxicidad por aluminio en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil

Las muestras compuestas/24h, fueron enviadas inmediatamente al Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, debidamente etiquetadas y colocadas en cajas de refrigeración con geles congelantes que permitieron mantener las muestras en condiciones adecuadas.

En la tabla siguiente se presentan las técnicas de referencias que fueron utilizadas por el Laboratorio para la determinación de toxicidad en los organismos elegidos y los parámetros que fueron considerados para los análisis. (Anexo 4)



Bioensayo	Referencia
1. <i>Daphnia magna</i> - % de inmovilización	OECD 202. 1984
2. <i>Poecilia reticulata (Guppy)</i> - % de mortalidad	OECD 203. 1992
3. <i>Lactuca sativa (Lechuga)</i> OPPTS850.4100 (1996) - % índice de germinación - elongación radical	EPA
4. <i>Phaseolus vulgaris (frijol negro)</i> 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.	EPA OPPTS
5. <i>Zea mays (maíz)</i> . (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,	EPA OPPTS 850.4230

Tabla 4 Ensayos de toxicidad seleccionados para la determinación de toxicidad de Aluminio en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.



3.7 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.

3.7.1 REGISTRO DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA A TRAVÉS DE LAS PRUEBAS DE TOXICIDAD

Con los resultados de las pruebas realizadas en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, para el registro de la información correspondiente a cada prueba se diseñaron formatos de las Tablas que se utilizaron para el registro de resultados de las Pruebas Toxicológicas con cada uno de los organismos utilizados: *Daphnia Magna*, *Poecillia reticulata*, *Lactuca sativa*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris* (Anexo 5) Una vez llenados los formatos, la información contenida en éstos se llevó a una página de Excel para luego procesarlo en el paquete estadístico SPSS 20.

3.7.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar el nivel de toxicidad en las muestras tomadas en cada una de las réplicas de los interceptores del inicio y fin del parque industrial y de la llegada a la PTAR, se realizó primero la prueba de ANOVA, luego se realizó POST – ANOVA y dependiendo del porcentaje de letalidad de los organismos se determinan los índices de toxicidad.: NOEC y LOEC y si los resultados presentan una letalidad superior al 50%, se calcula la CL_{50} , también se determinaron las diferencias de medias entre los parámetros de crecimientos de las semillas de *Lactuca sativa* *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*(Tabla 4) finalmente se procedió a determinar los valores de las unidades tóxicas(UT).

3.7.2.1 Prueba ANOVA

Para determinar si existen efectos que tengan valores estadísticamente significativos se procedió a realizar la prueba ANOVA, considerando un nivel de significancia del 0,05, (σ) lo que representa el 95% de confiabilidad. Los efectos tóxicos considerados fueron mortalidad para las pruebas de toxicidad en *Daphnia magna*, y *Poecillia reticulata*, de inhibición en el crecimiento de *Lactuca sativa*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*.



Se propuso como hipótesis nula: $H_0 : \mu_{C1} = \mu_{C2} = \mu_{C3} = \mu_{C4} = \mu_{C5} = \mu_{Ccontrol}$

C= concentración de la muestra (expresada en %)

Y como hipótesis alterna: $H_1: \mu_{Ci} \neq \mu_{Cj}$

Como regla de decisión se consideró:

- Sí $\alpha \geq$ nivel de significancia (Sig.) asociado a la prueba, entonces no se rechaza H_0 . es decir 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
- Sí $\alpha <$ nivel de significancia (Sig.) asociado a la prueba, entonces se rechaza H_0 y se acepta H_1 , es decir que existe una diferencia significativa entre el promedio de organismos vivos de las diferentes concentraciones y el grupo control.

Para el realizar el análisis de los resultados de los biomodelos utilizados, se realizó la prueba ANOVA de un factor; para lo cual se organizó la información en tablas de Excel, para luego procesarlo en el estadístico SPSS 20, considerando las siguientes variables:

Vivos: Parámetro que corresponde al número de organismos vivos de *Daphnia magna*, y *Poecillia reticulata* y germinación de semillas en el caso de *Lactuca sativa*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*.

Concentración: Parámetro que corresponde a las diluciones realizadas para cada muestra, expresada en porcentaje.

Réplicas: Parámetro que corresponde al número de veces que se realiza la prueba para cada concentración. Se considera el mismo número de organismos para cada réplica.



Bioensayo N° de réplicas	concentraciones por concentración	N° de organismos por réplica N° total observados por concentración
1. <i>Daphnia magna</i> 4	0 (control)	5/20
	100	
	80	
	40	
	20	
	10	
	8	
	5	
	2	
	0,5	
2. <i>Poecilia reticulata</i> (Guppy)	4	10/40
	0 (control)	
	100	
3. <i>Lactuca sativa</i> (Lechuga)	3	10/30
	0 (control)	
	100	
	10	
	5	
	2	
4. <i>Phaseolus vulgaris</i> (frijol negro)	3	10/30
	0 (control)	
	100	
	10	
	5	
	2	
5. <i>Zea mays</i> (maiz).	3	10/30
	0 (control)	
	100	
	10	
	5	
	2	
		1

TABLA 5 Detalle de los parámetros que se consideraron para determinación estadística de los resultados de las pruebas de toxicidad.

En los casos en los que se aceptó la hipótesis nula en la prueba ANOVA, se concluyó que no hubo evidencia de toxicidad para la muestra analizada. Para aquellos casos en que se rechazó la hipótesis nula, fue necesario realizar una prueba POST-ANOVA. Con esta prueba se identifican los grupos en los cuales se presentan las diferencias significativas; esto es necesario, ya que la prueba ANOVA plantea únicamente que al menos un grupo es diferente de los demás, pero no identifica de qué grupos se trata. La prueba realizada fue la de Dunnett, la cual compara la concentración de cada réplica (concentración) con un grupo control o blanco, (0%).

Para responder a las interrogantes planteadas se consideran las siguientes hipótesis válidas para todos los casos estudiados:

- Hipótesis nula: El promedio de organismos vivos o número de semillas germinadas en cada réplica en comparación con el grupo control es



igual al promedio de organismos vivos o semillas germinadas en el grupo control.

- Hipótesis alterna: El promedio de organismos vivos o número de semillas germinadas en cada réplica en comparación con el grupo control es menor al promedio de organismos vivos en el grupo control.

3.7.2.2 Análisis PROBIT

Para las muestras en las que se encontró letalidad superior al 50% se calculó, tanto el NOEC, el LOEC, como la concentración letal 50 – CL₅₀, realizando un análisis Probit.

En este análisis se evalúa la mortalidad de *Daphnia magna*, y *Poecillia reticulata* o la no germinación de *Lactuca sativa*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*, parámetros considerados como respuesta de los organismos de prueba, en relación a las concentraciones de las muestras tomadas en los interceptores del sistema de alcantarillado y a la llegada de la PTAR.

Para el realizar estos análisis se organizó la información en tablas de Excel, para luego procesarlo en el estadístico SPSS 20, considerando las siguientes variables:

Muertos: Parámetro que corresponde al número de organismos no vivos de *Daphnia magna*, y *Poecillia reticulata* y de semillas que no germinan en el caso de *Lactuca sativa*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*.

Concentración: Parámetro que corresponde a las diluciones realizadas para cada muestra, expresada en porcentaje.

Réplicas: Parámetro que corresponde al número de veces que se realiza la prueba para cada concentración. Se considera el mismo número de organismos para cada réplica.



Con el análisis Probit, se obtiene un estimado de la concentración a la cual se presenta un porcentaje de letalidad determinado (0%-99%) y el correspondiente intervalo de confianza del 95%.

A partir de la información obtenida en el análisis Probit se construyó la curva dosis-respuesta para cada una de las muestras analizadas y sus réplicas.

Con base en esta curva se encontró la concentración letal 50 (CL₅₀). (Anexo 6)

3.7.3 DIFERENCIAS DE MEDIAS PARA LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE LAS SEMILLAS DE *Lactuca Sativa*, *Phaseolus Vulgaris* y *Zea Mays*

Las diferencias de medias para los parámetros de crecimiento para semillas de *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, permiten estimar las diferencias que se presentan entre las diferentes diluciones realizadas a la muestra con el control utilizado, con lo cual se pudo estimar las alteraciones en el crecimiento de las semillas, para lo cual con la ayuda de Microsoft Excel 2010, se procedió a establecer la media, los rangos máximo y mínimo y la desviación estándar. (Anexo 6)

Semillas	Parámetros de crecimiento
1. <i>Lactuca sativa</i> (Lechuga)	elongación radical
2. <i>Phaseolus vulgaris</i> (frijol negro)	altura de planta, largo de raíz,
3. <i>Zea mays</i> (maíz).	altura de planta, largo de raíz,

Tabla 6 Parámetros de Crecimiento de las Semillas *Lactuca Sativa*, *Phaseolus Vulgaris* y *Zea Mays*.



3.7.4 ESTIMACIÓN DE LAS UNIDADES DE TOXICIDAD

Con base en los indicadores determinados mediante las diferentes pruebas estadísticas, para cada vertimiento se construyeron tablas que permitieron comparar los valores del NOEC, el LOEC y la CL_{50} hallados para cada organismo de prueba en cada réplica y organismo estudiado. A partir de esta información se analizó la sensibilidad de los biomodelos utilizados ante la concentración de aluminio, presenten en el sistema de alcantarillado de la PTAR.

Para los casos en los que fue posible determinar el valor de la CL_{50} se realizó el cálculo de las Unidades de Toxicidad – UT (Ecuación 3.1) y la Tasa de Emisión Tóxica – TER (Ecuación 3.2). A partir de éstas se establecieron el grado de toxicidad del sistema de alcantarillado estudiado, así como los lugares que presentaron los valores más altos de UT en relación a la concentración de aluminio.

Las Unidades de Toxicidad – UT y la Tasa de Emisión Tóxica – TER se calculan por medio de las siguientes expresiones:

$$UTa = 100/CL_{50} \quad (3.1)$$

$$TER = UT \times Q \quad (3.2)$$

Dónde:

Q = Caudal del vertimiento (m^3/d)

UT = Unidades de Toxicidad medidas en el vertimiento.



CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

A partir de las pruebas físico – químicas realizadas en las muestras de aguas residuales y sus réplicas tomadas tanto en los interceptores del sistema de alcantarillado como a la llegada en la PTAR, se procedió a determinar cuantitativamente la toxicidad del aluminio, en base al efecto letal. En las réplicas en las que se encontró efectos letales inferiores al 50% se estimaron la concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC, por sus siglas en inglés) y la concentración a la cual no se observa efecto (NOEC, por sus siglas en inglés). En los casos en los que se encontró letalidad superior al 50% se calculó también la Concentración Letal media CL_{50} .

4.1 PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS

Los parámetros Físico – Químicos que se han considerado para el presente estudio, son el pH por la importancia que tiene en la especiación del aluminio que varía y eleva su toxicidad en valores de pH ácidos³², la temperatura por la importancia que tiene en la dilución de la concentración de aluminio presente y la conductividad.



PRIMER MUESTREO (muestra compuesta de 24 horas)			
Análisis	Comienzo Parque Industrial	Final Parque Industrial	Llegada PTAR
pH	7,34	7,28	7,29
Aluminio	1349,7 µg/L	1817 µg/L	30 338 µg/L*
Conductividad	615 uS/cm	496 uS/cm	393 uS/cm
SEGUNDO MUESTREO (muestra compuesta de 24 horas)			
Análisis	Comienzo Parque Industrial	Final Parque Industrial	Llegada PTAR
pH	7,12	7,90	7, 11
Aluminio	812,8 µg/L	23210 µg/L*	1540 µg/L
Conductividad	845 uS/cm	828 uS/cm	544 uS/cm
TERCER MUESTREO (muestra compuesta de 24 horas)			
Análisis	Comienzo Parque Industrial	Final Parque Industrial	Llegada PTAR
pH	7,14	7,59	6,93
Aluminio	1171,5 µg/L	8740,6 µg/L*	4706,9 µg/L
Conductividad	707 uS/cm	772 uS/cm	438 uS/cm

*Estos valores superan los límites establecidos por la Norma Ecuatoriana.

Tabla 7 Datos analíticos, realizada en las muestras de agua del sistema de Alcantarillado. (Laboratorio ETAPA)

De acuerdo a estos datos, se encontró que los valores de pH, no representan un factor preponderante de la toxicidad por Aluminio.

En cuanto a la concentración de aluminio, los datos se comparan con el límite máximo permisible de descarga al sistema de alcantarillado público determinado por la Norma Ecuatoriana que indica un valor de 5000 µg/L. (Anexo 8)

En el interceptor del inicio del Parque Industrial los valores que se encontraron son menores al valor máximo permitido, tal como se suponía al elegir este

lugar. En el interceptor al final del Parque Industrial y a la llegada de la PTAR, los datos obtenidos son muy variables.

En las tablas siguientes se presenta la comparación de la concentración de Al en los diferentes lugares de muestreo, con los límites permisibles de acuerdo a la normativa ecuatoriana.

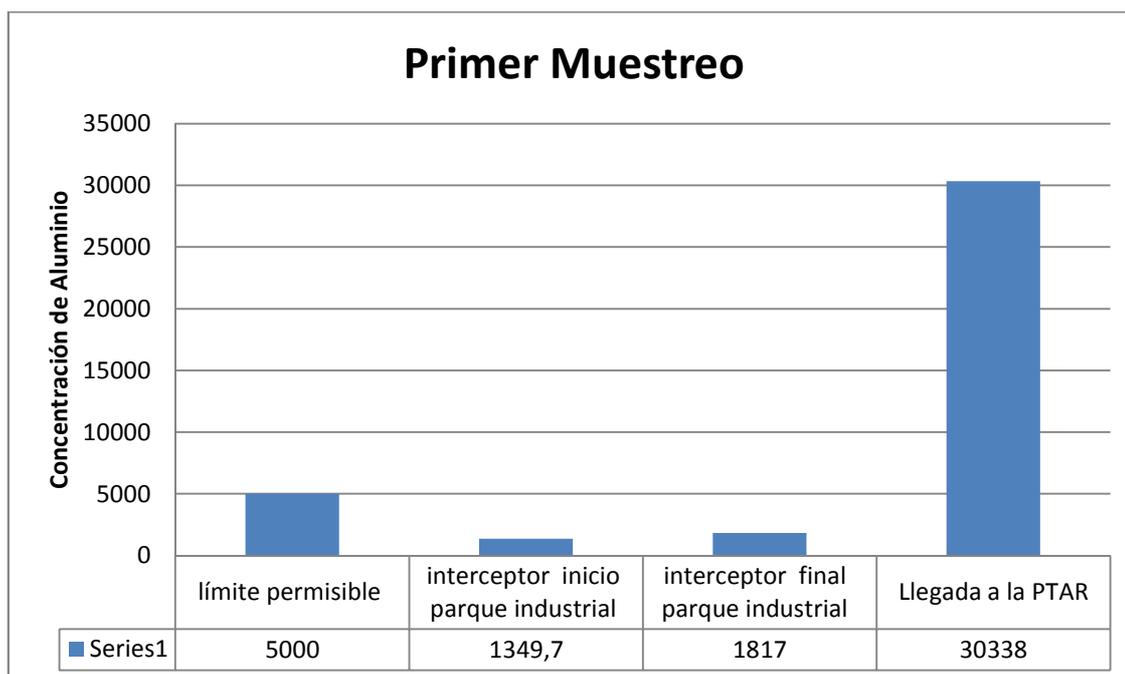


Figura 11 Comparación de la concentración de aluminio en el sistema de alcantarillado. PRIMER MUESTREO

En la primera réplica los valores que se encuentran en el interceptor al final del parque Industrial están muy por debajo de los límites permisibles, a pesar de lo cual en la llegada a la PTAR los valores son muy elevados, (los más altos encontrados en el estudio), lo que indica que en el transcurso del sistema de alcantarillado los vertimientos de otras industrias fuera del perímetro del parque industrial eliminan concentraciones elevadas de aluminio, pero esta situación es motivo de otra investigación, propuesta que será presentada en las recomendaciones.

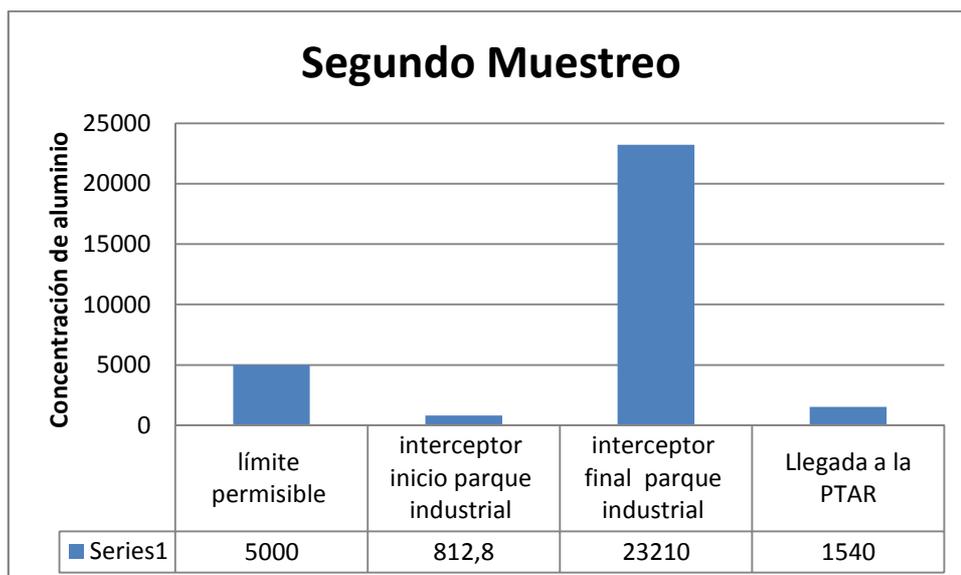


Figura 12 Comparación de la concentración de aluminio en el sistema de alcantarillado. SEGUNDO MUESTREO

En la segunda réplica se encuentran valores superiores a los límites permisibles en el interceptor del final del parque Industrial, pero a la llegada del PTAR los valores se encuentran muy por debajo de estos límites, lo que indica la importancia que tiene el factor de dilución a causa de la lluvia o la eliminación de vertimientos de las industrias sin concentración de aluminio, esto puede deberse al hecho de que la eliminación de los efluentes es variable y depende del sistema de eliminación que cada industria tiene, este hecho también es motivo de otro estudio.

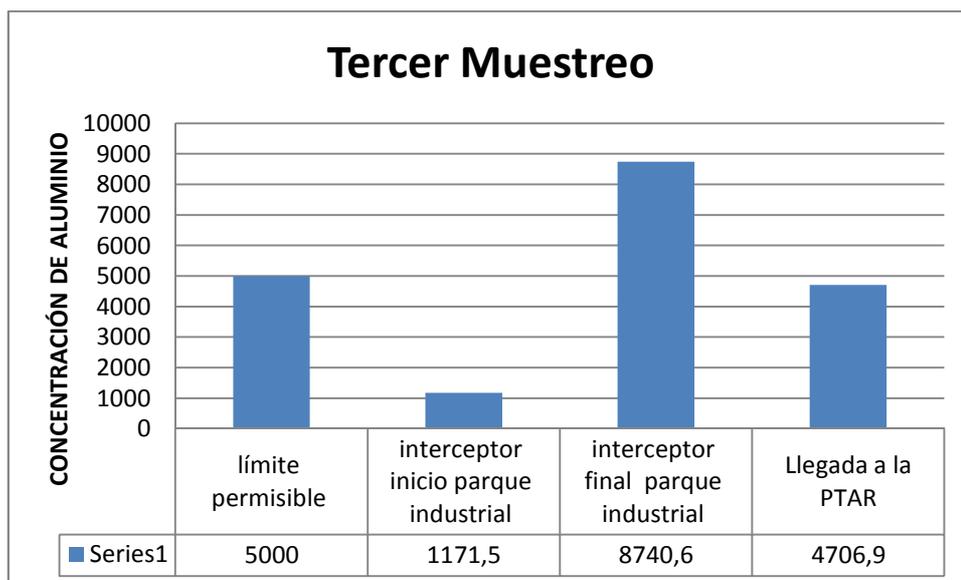


Figura 13 Comparación de la concentración de aluminio en el sistema de alcantarillado. TERCER MUESTREO

Finalmente en la tercera réplica ocurre una situación similar a lo que ocurre en el segundo muestreo, aunque la diferencia entre uno y otro lugar, no es tan elevada.

4.2 DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD

Las pruebas de toxicidad que se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil (Anexo 4), realizadas en los biomodelos *Daphnia magna*, *Poecillia reticulata*, *Lactuca sativa* *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, en base a la concentración de aluminio Permitieron cuantificar los siguientes parámetros:

Indicadores de toxicidad, que se representaron en base a LOEC, NOEC, CL₅₀ y de incidencia toxicológica, representada en unidades de toxicidad (UT).

4.2.1 INDICADORES DE TOXICIDAD

En las tablas 10, 11, 12, 13, y 14 se presentan los indicadores estimados en los tres muestreos realizados en los interceptores del inicio y final del parque industrial y de la llegada a la PTAR UCUBAMBA.



TABLA 8 INDICADORES DE TOXICIDAD EMPLEANDO COMO ORGANISMO DE PRUEBA *Daphnia Magna*

Lugar	Muestreo 1				Muestreo 2				Muestreo 3					
	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %		
Inicio PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
Fin PI		0,035	80	100	***		0,001	80	100	***	0,001	80	100	***
PTAR		0,000	0,5	2	7,15		0,000	2	5	11,45	0,000	2	5	13,03

NOTA 1: ** No se pudo estimar debido a que no hubo inmovilización de los organismos en ninguna de las concentraciones utilizadas.

NOTA 2: *** No se pudo estimar debido a que el LOEC tiene valores muy elevados.

PI = Parque Industrial

TABLA 9 INDICADORES DE TOXICIDAD EMPLEANDO COMO ORGANISMO DE PRUEBA *Poecilia Reticulata*

Lugar	Muestreo 1				Muestreo 2				Muestreo 3				
	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	
Inicio PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Fin PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
PTAR	0,022	80	100	***0,022	80	100	***0,022	80	100	***			

NOTA 1: ** No se pudo estimar debido a que no hubo mortalidad en ninguna de las concentraciones utilizadas.

NOTA 2: *** No se pudo estimar debido a que el LOEC tiene valores muy elevados.

PI = Parque Industrial

TABLA 10 INDICADORES DE TOXICIDAD EMPLEANDO COMO ORGANISMO DE PRUEBA *Lactuca Sativa*

Lugar	Muestreo 1				Muestreo 2				Muestreo 3				
	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig.)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	
Antes PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Fin PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
PTAR		0,000	1	2	75,60*	0,000	1	2	86,24*	0,000	1	2	85,85*

NOTA 1: * LOS LÍMITES SUPERIORES SON MUY ELEVADOS SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN.

NOTA 2: ** No se pudo estimar debido a que no hubo inhibición en la germinación de las semillas en ninguna de las concentraciones utilizadas.

PI = Parque Industrial



TABLA 11 INDICADORES DE TOXICIDAD EMPLEANDO COMO ORGANISMO DE PRUEBA *Phaseolus Vulgaris*

Lugar	Muestreo 1				Muestreo 2				Muestreo 3				
	P (Sig)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	P (Sig)	NOEC %	LOEC %	CL50 %	
Antes PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Fin PI		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
PTAR		0,001	5	10	***	0,000	2	5	***	0,000	5	10	***

NOTA 1: ** No se pudo estimar debido a que no hubo inhibición en la germinación de las semillas en ninguna de las concentraciones utilizadas.

NOTA 2: *** No se pudo estimar debido a que el LOEC tiene valores muy elevados.

PI = Parque Industrial

TABLA 12 INDICADORES DE TOXICIDAD EMPLEANDO COMO ORGANISMO DE PRUEBA *Zea Mays*

Lugar	Muestreo 1				Muestreo 2				Muestreo 3				
	P (Sig)	NOEC %	LOEC %	CL50 (Sig) %	P (Sig)	NOEC %	LOEC %	CL50 (Sig) %	P (Sig)	NOEC %	LOEC %	CL50 (Sig) %	
Antes PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Fin PI	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
PTAR	0,001	5	10	***	0,001	5	10	***	0,001	5	10	***	

NOTA 1: ** No se pudo estimar debido a que no hubo inhibición en la germinación de las semillas en ninguna de las concentraciones utilizadas.

NOTA 2: *** No se pudo estimar debido a que el LOEC tiene valores muy elevados.

PI = Parque Industrial

A partir de los resultados obtenidos por el estadístico ANOVA, (Tablas 10, 11, 12, 13 y 14) en los casos en los que se encontraron diferencias significativas entre el control y las diferentes concentraciones evaluadas en los tres muestreos se pudieron determinar los indicadores de toxicidad NOEC LOEC y CL₅₀.

En el interceptor del inicio del Parque Industrial no se pudieron estimar los indicadores de toxicidad debido a que no hubo inmovilización de los organismos en ninguna de las concentraciones utilizadas, en ninguno de los tres muestreos realizados.

En el interceptor del final del parque industrial se presentaron diferencias significativas entre el control y las diferentes concentraciones evaluadas en los



tres muestreos, únicamente para el biomodelo *Daphnia Magna*, sin embargo el efecto tóxico (NOEC) se establece en la dilución que corresponde al 80% y se comienza a evidenciar letalidad (LOEC) al 100% de la concentración, por lo cual no se puede establecer la concentración letal media CL_{50} mientras que para *Poecillia reticulata*, *Lactuca sativa* *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, no se pudieron estimar los indicadores de toxicidad debido a que no hubo efecto tóxico sobre los organismos en ninguna de las concentraciones utilizadas.

En la llegada a la PTAR UCUBAMBA se presentaron diferencias significativas entre el control y las diferentes concentraciones evaluadas en los tres muestreos, para todos los biomodelos. Para *Daphnia Magna* los valores que corresponden al NOEC, al LOEC y a la CL_{50} se establecen a muy bajas diluciones, en cada muestreo, por lo cual se demuestra que este organismo se presenta alta sensibilidad al efecto tóxico por aluminio. Para *Poecillia reticulata*, en cada una de las réplicas los valores de NOEC corresponden al 80% de la dilución y el efecto tóxicos (LOEC), aparece recién al 100% de la concentración, por lo cual se evidencia que este organismo es ligeramente sensible a la toxicidad por aluminio. Para semillas de *Lactuca sativa*, el rango entre NOEC Y LOEC es muy estrecho, y la CL_{50} se presenta en un porcentaje superior al 75%, lo que implica que la sensibilidad de este biomodelo es elevada en comparación con las semillas de *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* donde a pesar de que los valores de NOEC y LOEC se presentan en el rango del 5% y 10 % respectivamente, no se puede estimar la concentración letal media, pues los valores se elevan a concentraciones superiores al 100%.

Concluyéndose que el organismo más sensible es la *Daphnia Magnay* el menos sensible es la *Poecillia reticulata*.

4.2.2 DIFERENCIAS DE MEDIAS PARA LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE LAS SEMILLAS DE *Lactuca Sativa*, *Phaseolus Vulgaris* y *Zea Mays*

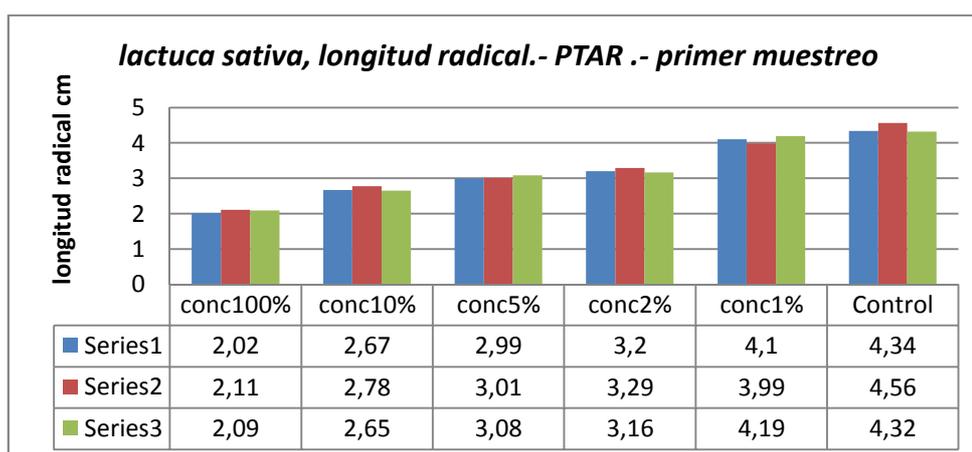
La diferencia de medias para los parámetros de crecimiento de las semillas de *Lactuca Sativa*, *Phaseolus Vulgaris* y *Zea Mays*, se realizó en los resultados obtenidos para la llegada a la PTAR, pues en los interceptores del inicio y del final del parque industrial no hubo efecto con la concentración pura. En las



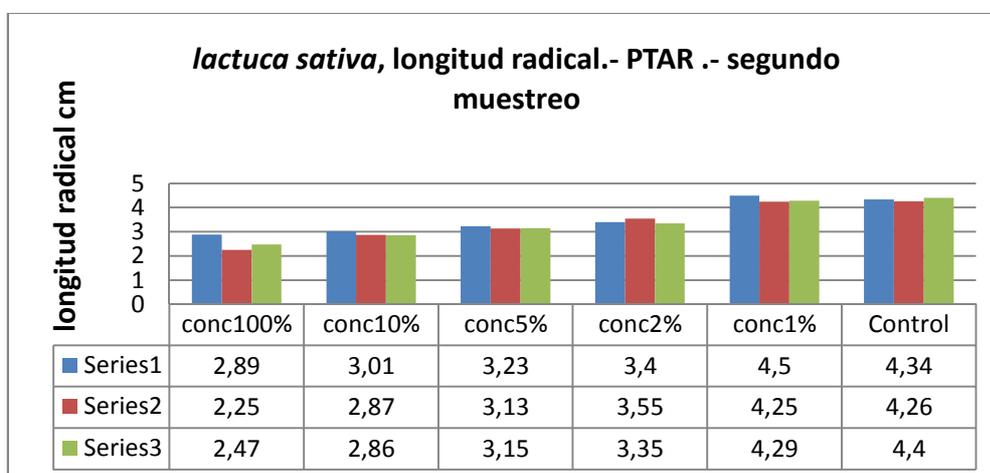
figuras 14, 15 y 16 se presentan los resultados obtenidos en el primer muestreo, para cada uno de los biomodelos. Al tener resultados similares en el segundo y tercer muestreo los gráficos son análogos, por lo cual se presentan a continuación únicamente los que corresponden a *lactuca sativa*, para cada muestreo, mientras que para *phaseolus vulgaris* y *zea mays* únicamente se presentan los gráficos que corresponden al primer muestreo, pues es suficiente para tener un criterio acerca de la toxicidad del aluminio.

Figura 14. Diferencia de medias para longitud radical en *Lactuca Sativa* a la Llegada a la PTAR.-

a. PRIMER MUESTREO

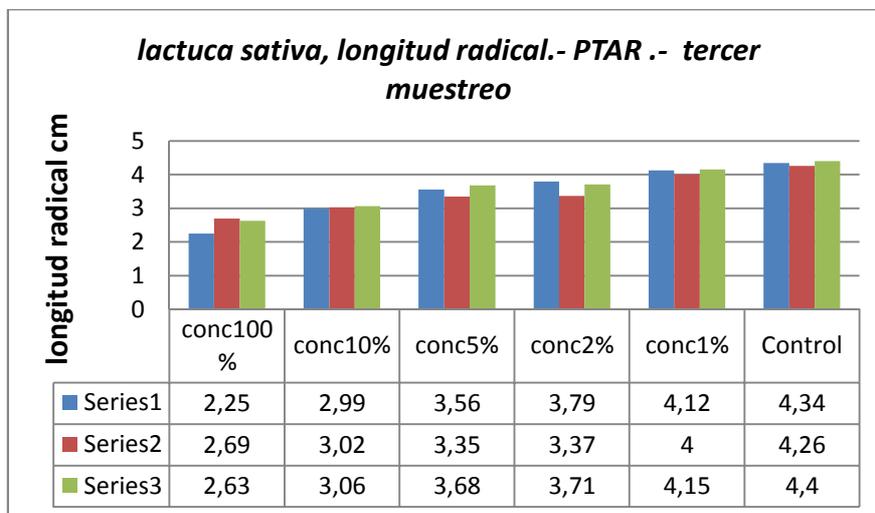


b. SEGUNDO MUESTREO



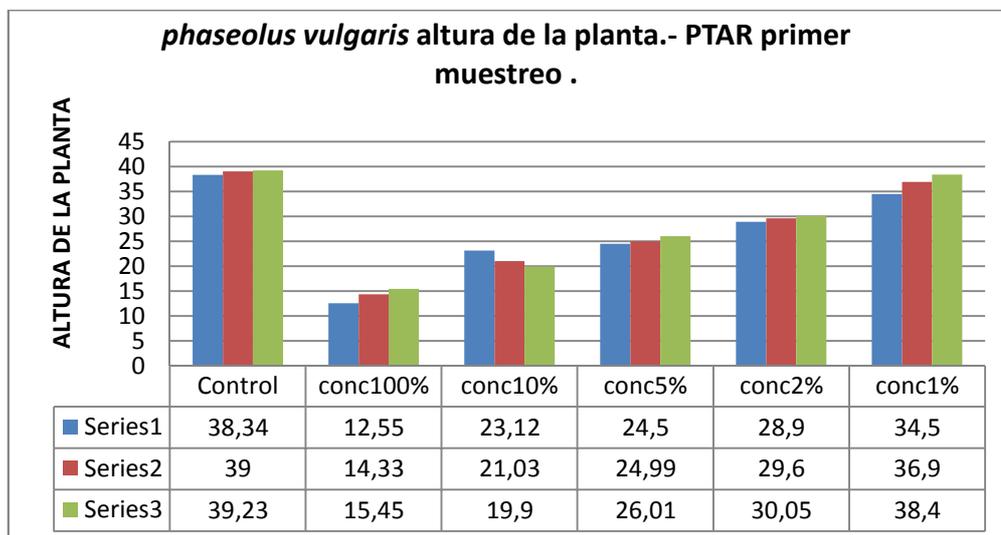


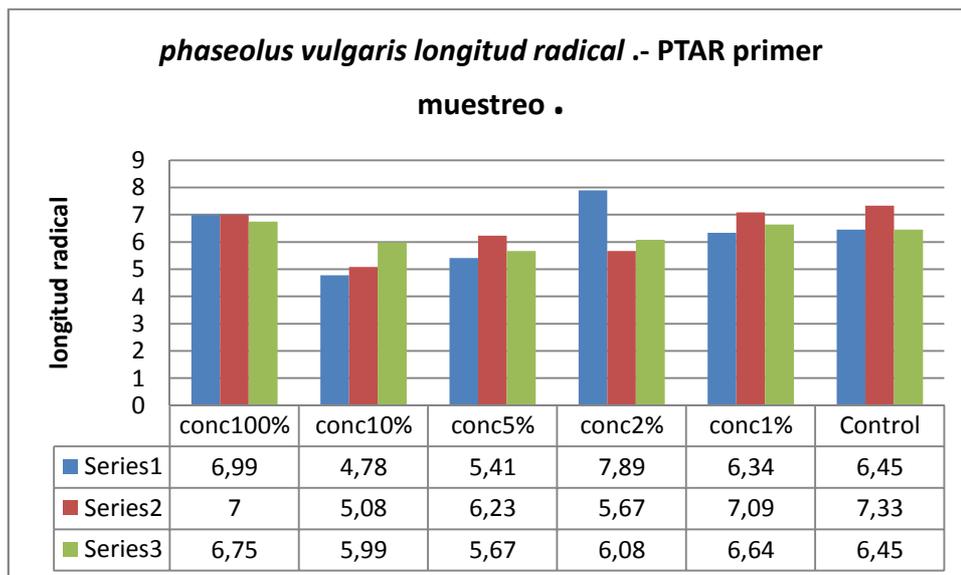
c. TERCER MUESTREO



En cada réplica se evidenció que la longitud radical de las semillas de *lactuca sativa*, disminuye con la presencia de Al. Lo que ratifica su efecto tóxico.

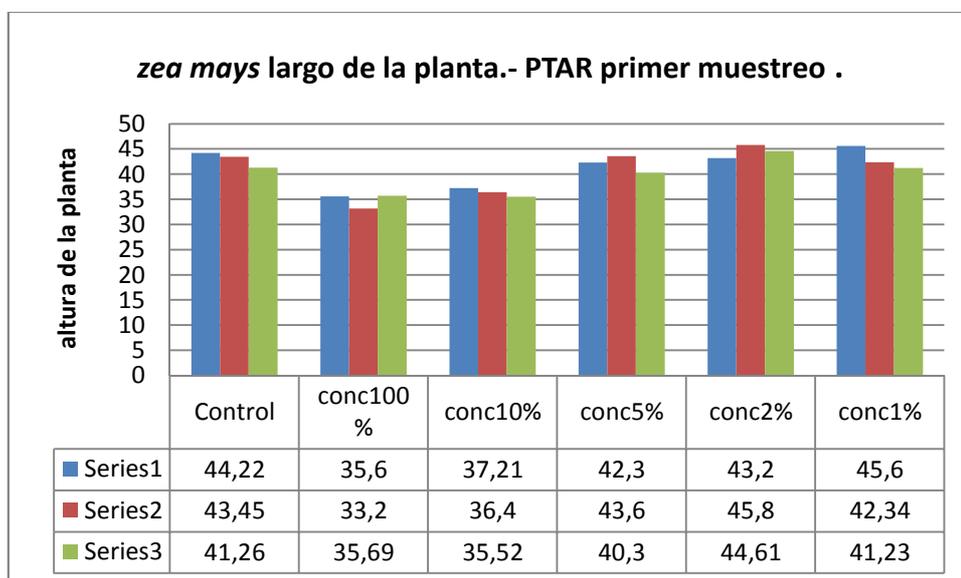
Figura 15. Diferencia de medias para altura de la planta y longitud radical en *Phaseolus Vulgaris* a la Llegada a la PTAR.-PRIMER MUESTREO

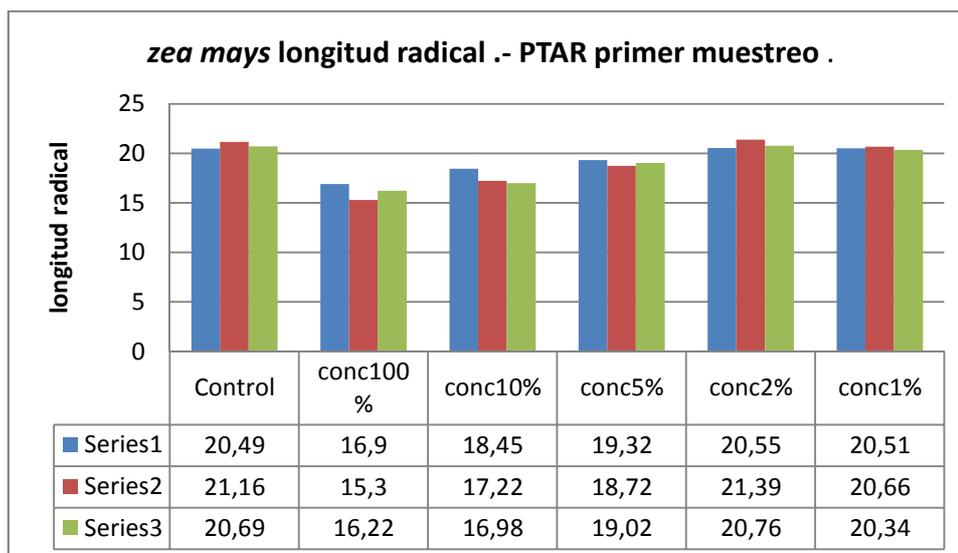




En cada réplica se evidenció que la longitud radical de las semillas de *lactuca sativa*, disminuye con la presencia de AI. Lo que ratifica su efecto tóxico.

Figura 16. Diferencia de medias para largo de la planta y longitud radical en *Zea Mays* a la Llegada a la PTAR.- PRIMER MUESTREO





Para *Zea mays* no se presenta mayor diferencia entre el control y la altura de la planta o la longitud radical en ninguna de las concentraciones, con lo que se concluye que este biomodelo tiene una baja sensibilidad a la acción del aluminio.

4.2.3 DETERMINACIÓN DE LAS UNIDADES DE TOXICIDAD

Con los indicadores de toxicidad presentados en las tablas anteriores se procedió a realizar la determinación de las unidades de Toxicidad (UT) que permiten hacer un enfoque integral de los resultados; para lo cual se aplicó la siguiente fórmula:

$$UTa = 100/CL50$$

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 13 Nivel de Incidencia Toxicológico basado en Unidades de Toxicidad



Considerando la tabla anterior y luego de realizar las operaciones correspondientes utilizando la fórmula se determinan los siguientes niveles de incidencia Toxicológica para los biomodelos utilizados:

BIOMODELOS	LUGAR	Nivel de Incidencia	Unidades Tóxicas
<i>DAPHNIA MAGNA</i>	PTAR	Muy tóxico	13,98
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>POECILIA RETICULATA</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>LACTUCA SATIVA</i>	PTAR	Levemente tóxico	1,3
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>PHASEOLUS VULGARIS</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>ZEA MAYS</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**

NOTA: ** No se pudo estimar debido a que no fue posible el cálculo de la CL 50

Tabla 14 Nivel de Incidencia Toxicológico basado en Unidades de Toxicidad PRIMER MUESTREO



BIOMODELOS	LUGAR	Nivel de Incidencia	Unidades Tóxicas
<i>DAPHNIA MAGNA</i>	PTAR	Muy tóxico	8,73
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>POECILIA RETICULATA</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>LACTUCA SATIVA</i>	PTAR	Levemente tóxico	1,15
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>PHASEOLUS VULGARIS</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>ZEA MAYS</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**

NOTA: ** No se pudo estimar debido a que no fue posible el cálculo de la CL 50

Tabla 15 Nivel de Incidencia Toxicológico basado en Unidades de Toxicidad SEGUNDO MUESTREO

BIOMODELOS	LUGAR	Nivel de Incidencia	Unidades Tóxicas
<i>DAPHNIA MAGNA</i>	PTAR	Muy tóxico	7,67
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>POECILIA RETICULATA</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>LACTUCA SATIVA</i>	PTAR	Levemente tóxico	1,16
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>PHASEOLUS VULGARIS</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**
<i>ZEA MAYS</i>	PTAR	**	**
	INICIO PI	**	**
	FIN PI	**	**

NOTA: ** No se pudo estimar debido a que no fue posible el cálculo de la CL 50

Tabla 16 Nivel de Incidencia Toxicológico basado en Unidades de Toxicidad TERCER MUESTREO



En los interceptores del inicio y final del parque industrial no existe evidencia de toxicidad para ninguno de los biomodelos analizados, pero a la llegada de la PTAR UCUBAMBA, se presentan niveles de incidencia de toxicidad en los organismos más sensibles a la toxicidad por aluminio, así para *daphnia magna* el nivel de incidencia es muy tóxico y para *lactuca sativa*, el nivel de incidencia es ligeramente tóxico, mientras que para *poecilia reticulata*, *phaseolus vulgaris* y *zea mays*, no hay incidencia toxicológica.



CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La información que se presenta en el estado del arte sobre el tema abordado en el trabajo es escasa debido a que los investigadores han enfatizado el análisis de metales pesados en los lodos de sedimento de las plantas de tratamiento de aguas residuales, por lo que se considera un tema novedoso.

Teniendo en cuenta que para la evaluación de toxicidad por metales pesados es muy importante la utilización de varios biomodelos^{10, 50,57-60,63} pues ninguna especie aislada podría representar por sí sola la sensibilidad toxicológica de un ecosistema, (PTAR UCUBAMBA), se eligieron: *daphnia magna*, *poecilia reticulata*, *lactuca sativa*, *phaseolus vulgaris* y *zea mays*^{57-60,63} y en base a la Norma Ecuatoriana que determina que los límites permisibles de aluminio en aguas residuales es 5000 µg/L.

En los análisis físico- químicos se ha determinado que la concentración de aluminio que llega a la PTAR UCUBAMBA, puede llegar a ser muy superior a los límites establecidos, como ocurre en el primer muestreo realizado, a pesar de que en el segundo y tercer muestreos no ocurra lo mismo; esto se debe a la llegada al sistema de alcantarillado de los efluentes de industrias que utilizan aluminio para sus procesos, lo que se demuestra con los valores de la concentración de aluminio en el interceptor ubicado al inicio del parque industrial, donde los valores están por debajo de los parámetros establecidos, mientras que en el interceptor al final del parque industrial se nota ya un incremento en la concentración de aluminio, que sin embargo no produce niveles de incidencia toxicológica, lo que sí ocurre a la llegada de la PTAR UCUBAMBA, pues después del último interceptor mencionado existen otras industrias que eliminan aluminio en sus efluentes. Es importante considerar también la época de lluvias, que produce dilución e inclusive los sistemas de eliminación de efluentes desde las industrias, lo que produce concentración.



Los biomodelos más sensibles resultaron ser *daphnia magna*, y *lactuca sativa*. La *daphnia magna* al constituir parte importante del zooplancton acuático, es un organismo que permite determinar el grado de afectación negativa que sufre el sistema en estudio a causa de los niveles elevados de aluminio. Finalmente aunque la *lactuca sativa* no es un organismo acuático sin embargo las semillas de este organismo, han sido ampliamente utilizadas en la determinación de toxicidad por aluminio en aguas de desecho, lo que ha permitido reforzar este estudio.



CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES:

En el presente estudio se evalúa el nivel de toxicidad en el sistema de alcantarillado de la PTAR UCUBAMBA, de la ciudad de Cuenca. Para el análisis se eligieron tres sitios estratégicos: interceptor del sistema de alcantarillado al inicio del Parque Industrial, interceptor al final del sistema de alcantarillado del final del Parque Industrial y a la llegada de la PTAR UCUBAMBA. Se llevaron a cabo 3 muestreos en cada uno de estos lugares.

Se realizan determinaciones en las muestras como: pH, concentración de aluminio y conductividad en los laboratorios de ETAPA, las pruebas de toxicidad se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, con los datos se determinaron los indicadores NOEC, LOEC, CL₅₀, Unidades de Toxicidad (UT) y el nivel de incidencia toxicológica.

Los biomodelos elegidos para los bioensayos para las pruebas de toxicidad fueron: microcrustáceos *Daphnia magna*, el pez *Poecilia reticulata* (Guppy) y las semillas de *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*.

Las conclusiones más destacadas del estudio son las siguientes:

- La concentración de aluminio a lo largo del sistema de alcantarillado para aguas residuales hasta llegar a la PTAR UCUBAMBA, va aumentando de acuerdo a los vertimientos de las industrias que utilizan este elemento en sus procedimientos.
- Las muestras tomadas a la llegada a la PTAR, se clasifica como muy tóxico para *Daphnia magna* y como levemente tóxico para *Lactuca sativa*, mientras que para los otros biomodelos los valores de letalidad son inferiores al 50%, por lo que no hay clasificación de toxicidad.
- En cuanto a los parámetros de crecimiento de las semillas de *lactuca sativa* con respecto al control, a la llegada de la PTAR UCUBAMBA se



encuentra que la longitud radicular de la planta disminuye considerablemente (50% aproximadamente) con los valores correspondientes a la máxima concentración de aluminio presente, e inclusive a la dilución del 1% todavía se manifiesta fitotoxicidad, constituyéndose este organismo como el más sensible de las tres semillas utilizadas.

- Para las semillas de *Phaseolus vulgaris* a la llegada de la PTAR UCUBAMBA, se presenta en todas las diluciones una considerable disminución del crecimiento de la altura de la planta, con respecto al control, mientras que el crecimiento de longitud radical es muy cercano al control.
- Para las semillas de *Zea mays*, a la llegada de la PTAR UCUBAMBA prácticamente no se presentan diferencias importantes en el crecimiento del largo de la planta y longitud radical, entre el control y réplicas consideradas para cada dilución, entonces, *Zea mays*, es poco sensible a las concentraciones elevadas de aluminio.
- En las muestras tomadas en los interceptores del inicio y del final del Parque Industrial no fue posible la determinación de los parámetros de crecimiento para *lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, pues no hubo manifestación de toxicidad ni a la máxima concentración de aluminio.
- A lo largo del sistema de alcantarillado los vertimientos de las industrias que utilizan aluminio como componente importante de sus procesos, van acumulando la concentración de este elemento, de tal forma que al llegar a la PTAR UCUBAMBA, se presenta una elevada concentración del mismo, que se traduce en toxicidad, lo cual puede afectar al sistema de oxigenación que se lleva a cabo en estas instalaciones, de ahí la gran importancia que tiene este estudio.
- Si bien es cierto que se lleva un control diario de la concentración de aluminio que llega a la PTAR, este es el primer estudio toxicológico que



se realiza con esta información, lo que es importante para evaluar el proceso y considerar realizar estos estudios en los efluentes de fábricas que utilizan aluminio, para mejorar la depuración y evitar daños que a la larga pueden ser irreparables.

RECOMENDACIONES

- Continuar con este estudio, considerando otros interceptores del sistema de alcantarillado, que permitan conocer el o los lugares en los cuales la concentración de aluminio va aumentando.
- Realizar pruebas de toxicidad por aluminio en los lodos que se van generando a lo largo del sistema de alcantarillado y que finalmente precipitan en la PTAR UCUBAMBA, para que se pueda evaluar mejor el sistema.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Becaria A, Campbell A, Bondy SC. (2002) Aluminum as a toxicant. *Toxicol Ind Health* ;18:309–320.
2. Berthon G. (2002) Al speciation in relation to Al bioavailability, metabolism and toxicity. *Coord Chem Rev* 228:319–341.
3. Bharathi NM, Shamasundar TS, Sathyanarayana Rao M, Dhanunjaya Naidu R, Ravid KS, J Rao. (2006) A new insight on Al-maltolate-treated aged rabbit as Alzheimer's animal model. *Brain Res Rev* ;52:275–292.
4. Bharathi NM, Vasudevaraju P, Govindaraju M, Palanisamy AP, Sambamurti K, Rao KS. (2008) Molecular toxicity of aluminium in relation to neurodegeneration. *Indian J Med Res*;128:545–556.
5. Bjertness E, Candy JM, Torvik A, Ince P, McArthur F, Taylor GA, et al (1996) Content of brain aluminum is not elevated in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*;10:171–174.
6. Blanusa M, Varnai VM, Piasek M, Kostial K. (2005) Chelators as antidotes of metal toxicity: Therapeutic and experimental aspects. *Curr Med Chem*;12:2771–2794.
7. Bogdanović M, Bulat P. (2008) Biliary function in workers occupationally exposed to aluminium dust and fumes. *Arh Hig Rada Toksikol*;59:135–139.
8. Bondy S, Guo-Ross S, Pien J. (1998) Mechanisms underlying the Al-induced potentiation of the pro-oxidant properties of transition metals. *Neurotoxicology*;19:65–71.
9. Buchman AL, Moukarzel A. (2000) Metabolic bone disease associated with total parenteral nutrition. *Clin Nutr* ;19:217–231.
10. Buikenia AL, Niederlehner BR. (1982). Biological monitoring. Part IV. Toxicity testing. *Water Res. Vol.16: 239 - 262* .
11. Cannata JB, Gómez Alonso C, Fernández Menéndez MJ, Fernández Soto I, McGregor S, Menéndez-Fraga P, et al. (1991) Iron uptake in



- aluminium overload: In vivo and in vitro studies. *Nephrol Dial Transplant*;6:637–642.
12. Cusack BJ. (2004) Pharmacokinetics in older persons. *Am J Geriatr Pharmacother*;2:274–302.
 13. Darbre PD. (2006) Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*;20:121–143.
 14. De Broe ME, D'Haese PC, Couttenye MM, Van Landeghem GF, Lamberts LV. (1993) New insights and strategies in the diagnosis and treatment of aluminium overload in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*;8(Suppl 1):47–50.
 15. Domingo JL. (2006) Aluminum and other metals in Alzheimer's disease: A review of potential therapy with chelating agents. *J Alzheimers Dis*;10:331–341.
 16. Donnelly SM, Ali MA, Churchill DN. (1990) Bioavailability of iron in hemodialysis patients treated with erythropoietin: evidence for the inhibitory role of aluminum. *Am J Kidney Dis*;16:447–451.
 17. Ecelbarger CA, MacNeil GG, Greger JL. (1994) Aluminum retention by aged rats fed aluminum and treated with desferrioxamine. *Toxicol Lett*;73:249–257.
 18. Exley C, Burgess E, Day JP, Jeffery EH, Melethil S, et al (1996). Aluminum toxicokinetics. *J Toxicol Environ Health*;48:569–584.
 19. Fatemi SJ, Kadir FH, Moore GR. (1991) Aluminium transport in blood serum. Binding of aluminium by human transferrin in the presence of human albumin and citrate. *Biochem J*;280(Pt 2):527–532.
 20. Felsenfield AJ, Rodriguez M, Coleman M, Ross D, Llach F. (1989) Desferrioxamine therapy in hemodialysis patients with aluminum-associated bone disease. *Kidney Int*;35:1371–1378.
 21. Ferretti G, Marchionni C, Bacchetti T, Galeazzi T, Dousset N. (2003) Effect of aluminium on lipid peroxidation of human high density lipoproteins. *Free Radic Res*;37:515–521.



22. Flarend R, Bin T, Elmore D, Hem SL. (2003) A preliminary study of the dermal absorption of Al from antiperspirants using Al-26. *Food Chem Toxicol*;39:163–168.
23. Flaten TP. (2002) Aluminium in tea—concentrations, speciation and bioavailability. *Coord Chem Rev*;228:385–395.
24. Flora SJ, Mehta A, Satsangi K, Kannan GM, Gupta M. (2003) Aluminum-induced oxidative stress in rat brain: response to combined administration of citric acid and HEDTA. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*;134:319–328.
25. Gikas PD, Mansfield L, Mokbel K. (2004) Do underarm cosmetics cause breast cancer? *Int J Fertil Womens Med*;49:212–214.
26. Guillard O, Fauconneau B, Olichon D, Dedieu G, Deloncle R. (2004) Hyperaluminemia in a woman using an aluminium-containing antiperspirant for 4 years. *Am J Med*;117:956–959.
27. Hellström HO, Michaëlsson K, Mallmin H, Mjöberg B. (2008) The aluminium content of bone, and mortality risk. *Age Ageing*;37:217–220.
28. Hellström HO, Mjöberg B, Mallmin H, Michaëlsson K. (2005) The aluminum content of bone increases with age, but is not higher in hip fracture cases with and without dementia compared to controls. *Osteoporos Int* ;16:1982–1988.
29. Hirota K, Hirota T. (2006) Nutrition-related bone disease. *Nippon Rinsho*;64:1707–1711.
30. Hurrell RF, Reddy M, Cook JD. (1999) Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br J Nutr* ;81:289–295.
31. Ishiwata, H. Aluminum (1998) levels in food-simulating solvents and various foods cooked in aluminum pans. *J Agric Food Chem* ;36:599–601.
32. Jeffery EH, Abreo K, Burgess E, Cannata J, Greger JL. (1996) Systemic aluminum toxicity: Effects on bone, hematopoietic tissue, and kidney. *J Toxicol Environ Health*;48:649–665.



33. Jouhanneau P, Raisbeck GM, Yiou F, Lacour B, Banide H, Drüeke TB. (1997) Gastrointestinal absorption, tissue retention, and urinary excretion of dietary aluminum in rats determined by using ²⁶Al. *Clin Chem*;43(6 Pt 1):1023–1028.
34. Kaehny WD, Alfrey AC, Holman RE, Shorr WJ. (1977) Aluminum transfer during hemodialysis. *Kidney Int*;12:361–365.
35. Kaneko N, Yasui H, Takada J, Suzuki K, Sakurai H. Orally (2004) administered aluminum-maltolate complex enhances oxidative stress in the organs of mice. *J Inorg Biochem* ;98:2022–2031.
36. Kausz AT, Antonsen JE, Hercz G, Pei Y, Weiss NS, Emerson S, et al. (1999) Screening plasma aluminum levels in relation to aluminum bone disease among asymptomatic dialysis patients. *Am J Kidney Dis* ;34:688–693.
37. Kawahara M, Kato M, Kuroda, K.(2001) Effects of Al on the neurotoxicity of primary cultured neurons and on the aggregation of beta-amyloid protein. *Brain Res Bull* ;55:211–217.
38. Krewski D, Yokel RA, Nieboer E, Borchelt D, Cohen J, Harry J, et al. (2007) Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*;10(Suppl 1):1–269.
39. Kruck TP, Cui JG, Percy ME, Lukiw WJ. (2004) Molecular shuttle chelation: The use of ascorbate, desferrioxamine and Feralex-G in combination to remove nuclear bound aluminum. *Cell Mol Neurobiol*;24:443–459.
40. Kutlubay R, Oğuz EO, Güven C, Can B, Sinik Z, Tuncay OL.(2007) Histological and ultrastructural evidence for protective effects on aluminium-induced kidney damage by intraperitoneal administration of alpha-tocopherol. *Int J Toxicol*;26:95–101.
41. Levallois P. (1997) Alzheimer's disease and aluminum. *Neurology*;48:1141–1142.



42. Mahieu S, Contini Mdel C, González M, Millen N.(2009) Melatonin reduces oxidative damage induced by aluminium in rat kidney. *Toxicol Lett*;190:9–15.
43. Mahieu S, Millen N, González M, Contini Mdel C, Elías MM. (2005) Alterations of the renal function and oxidative stress in renal tissue from rats chronically treated with aluminium during the initial phase of hepatic regeneration. *J Inorg Biochem*;99:1858–1864.
44. Marouani N, Chahed A, Hédhili A, Hamdaoui MH. (2007) Both aluminum and polyphenols in green tea decoction (*Camellia sinensis*) affect iron status and hematological parameters in rats. *Eur J Nutr* ;46:453–459.
45. McDermott JR, Smith AI, Iqbal K, Wisniewski H M. (1979) Brain aluminum in aging and Alzheimer's disease. *Neurology*;29:809–814.
46. McDermott JR, Smith AI, Iqbal K, Wisniewski HM. (1977) Aluminum and Alzheimer's disease. *Lancet*;2:710–711.
47. McGrath KG. (2003) An earlier age of breast cancer diagnosis related to more frequent use of antiperspirants/deodorants and underarm shaving. *Eur J Cancer Prev*;12:479–485.
48. McLachlan DR, Bergeron C, Smith JE, Boomer D, Rifat SL. (1996) Risk for neuropathologically confirmed Alzheimer's disease and residual aluminum in municipal drinking water employing weighted residential histories. *Neurology*;46:401–405.
49. Miu AC, Benga O. (2006)Aluminum and Alzheimer's disease: A new look. *J Alzheimers Dis*;10:179–201.
50. Moriarty F. (1999). *Ecotoxicology. The study of pollutants in ecosystems*. Academic Press. p. 80-110.
51. Moshtaghie AA, Ani M, Bazrafshan MR.(1992) Comparative binding study of aluminum and chromium to human transferrin. Effect of iron. *Biol Trace Elem Res*;32:39–46.
52. Mühlberg W, Platt D.(1999) Age-dependent changes of the kidneys: Pharmacological implications. *Gerontology*;45:243–253.



53. Namer M, Luporsi E, Gligorov J, Lokiec F, Spielmann M.(2008) The use of deodorants/antiperspirants does not constitute a risk factor for breast cancer. *Bull Cancer*;95:871–880.
54. Nelson M, Poulter J. (2004) Impact of tea drinking on iron status in the UK: A review. *J Hum Nutr Diet*;17:43–54.
55. Nesse A, Garbossa G, Pérez G, Vittori D, Pregi N.(2003) Aluminio ¿culpable o inocente? *Revista Química Viva* ;2(1). Disponible en www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar. Consultado el 15 de septiembre 2012.
56. Nomura K, Noguchi Y, Yoshikawa T, Fukuzawa K, Makino T, Tsuburaya A, et al.(1993)A. Long-term total parenteral nutrition and osteoporosis: Report of a case. *Surg Today*;23:1027–1031.
57. OECD 202. (1981). *Daphnia sp. Acute Immobilisation*. (adopted as *Daphnia sp.14-day Reproduction Test including an Acute Immobilisation*. Updated 13 April 2004.
58. OECD 203. (1981). *Fish, Acute Toxicity Test*. Updated 17 July 1992.
59. OECD 208. (1984). *Terrestrial Plants, Growth Test*.
60. OECD 227. (2006). *Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test*.
61. Ohyashiki T, Karino T, Suzuki S, Matsui K. (1996) Effect of aluminum ion on Fe(2+)-induced lipid peroxidation in phospholipid liposomes under acidic conditions. *J Biochem*;120:895–900.
62. Olivieri NF, Brittenham GM.(1997) Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood*;89:739–761.
63. 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.
64. Perl DP, Moalem S. (2006) Aluminum and Alzheimer's disease, a personal perspective after 25 years. *J Alzheimers Dis*;9(3 Suppl):291–300.



65. Quinlan GJ, Halliwell B, Moorhouse CP, Gutteridge JM. (1988) Action of lead(II) and aluminium (III) ions on iron-stimulated lipid peroxidation in liposomes, erythrocytes and rat liver microsomal fractions. *Biochim Biophys Acta*;962:196–200.
66. Ricchelli F, Drago D, Filippi B, Tognon G, Zatta P. (2005) Aluminium-triggered structural modifications and aggregation of beta-amyloids. *Cell Mol Life Sci*;62:1724–1733.
67. Rodella LF, Ricci F, Borsani E, Stacchiotti A, Foglio E, Favero G, et al. (2008) Aluminium exposure induces Alzheimer's disease-like histopathological alterations in mouse brain. *Histol Histopathol*;23:433–439.
68. Rondeau V, Jacqmin-Gadda H, Commenges D, Helmer C, Dartigues JF. (2009) Aluminum and silica in drinking water and the risk of Alzheimer's disease or cognitive decline: Findings from 15-year follow-up of the PAQUID cohort. *Am J Epidemiol*;169:489–496.
69. Sahin G, Varol I, Temizer A, Benli K, Demirdamar R, Duru S. (1994) Determination of aluminum levels in the kidney, liver, and brain of mice treated with aluminum hydroxide. *Biol Trace Elem Res*;41:129–135.
70. Street R, Drabek O, Szakova J, Mladkova, L. (2007) Total content and speciation of aluminium in tea leaves and tea infusions. *Food Chem*;104:1662–1669.
71. Takashima A. (2007) Does Al Contribute to Alzheimer Disease Directly, Indirectly, or At All? *J Alzheimers Dis*;11:431–432.
72. Thomas WC, Meyer JL. (1984) Aluminum-Induced Osteomalacia: An Explanation. *Am J Nephrol*;4:201–203.
73. Turner MW, Ardila M, Hutchinson T, Prichard S, Barré PE, Beauvais J, Kaye M. (1988) Sporadic aluminum osteomalacia: Identification of patients at risk. *Am J Kidney Dis*;11:51–56.
74. Verstraeten SV, Aimo L, Oteiza PI. (2008) Aluminium and lead: Molecular mechanisms of brain toxicity. *Arch Toxicol*;82:789–802.



75. Walton J. (2006) Al in hippocampal neurons from humans with Alzheimer's disease. *NeuroToxicology*;27:385–394.
76. Walton JR. (2009) Functional impairment in aged rats chronically exposed to human range dietary aluminum equivalents. *Neurotoxicology*;30:182–193.
77. WATER ENVIRONMENT FEDERATION. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22nd Edition 1496 p. American Public Health Association.
78. Wikipedia. Aluminio. Disponible en: wikipediaaluminio.com. Consultado el 15 de septiembre 2012.
79. Yokel RA, Florence RL. (2008) Aluminum bioavailability from tea infusion. *Food Chem Toxicol*;46:3659–3663.
80. Yokel RA, Hicks CL, Florence RL. (2008) Aluminum bioavailability from basic sodium aluminum phosphate, an approved food additive emulsifying agent, incorporated in cheese. *Food Chem Toxicol*;46:2261–2266.
81. Yokel RA, McNamara PJ. (2001) Aluminium toxicokinetics: An updated minireview. *Pharmacol Toxicol*.;88:159–167.
82. Yokel RA. (2002) Aluminum chelation principles and recent advances. *Coord Chem Rev*;228:97–113.
83. Zijp IM, Korver O, Tijburg LB. (2000) Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. *Crit Rev Food Sci Nutr* ;40:371–398.



ANEXOS

ANEXO 1 TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS COMPUESTAS:

En la mayoría de los casos, el término "muestra compuesta" se refiere a una combinación de muestras puntuales tomadas en el mismo sitio durante diferentes tiempos. La mayor parte de las muestras compuestas en el tiempo se emplean para observar concentraciones promedio, usadas para calcular las respectivas cargas o la eficiencia de una planta de tratamiento de aguas residuales. Este tipo de muestras se usan también para la caracterización de los efluentes generados en los procesos industriales. El uso de muestras compuestas representa un ahorro sustancial en costo y esfuerzo del laboratorio comparativamente con el análisis por separado de un gran número de muestras y su consecuente cálculo de promedios. Para estos propósitos, se considera estándar para la mayoría de determinaciones una muestra compuesta que representa un período de 24 h. Sin embargo, dependiendo de las circunstancias puede ser preferible una muestra compuesta que represente un cambio, o un menor lapso de tiempo, o un ciclo completo de una operación periódica. Para evaluar los efectos de descargas y operaciones variables o irregulares, se deben tomar muestras compuestas que representen el periodo durante el cual ocurren tales descargas. No se debe emplear muestras compuestas para la determinación de componentes o características sujetas a cambios significativos e inevitables considera que el término "muestra compuesta" se refiere a una combinación de muestras puntuales tomadas en el mismo sitio durante diferentes tiempos que pueden servir para observar concentraciones promedio, usadas para calcular las respectivas cargas o la eficiencia de una planta de tratamiento de aguas residuales, como es el caso del presente estudio entre otras aplicaciones que se proponen. Además considera el hecho de que el uso de muestras compuestas representa un ahorro sustancial en costo y esfuerzo del laboratorio comparativamente con el análisis por separado de un gran número de muestras y su consecuente cálculo de promedios.



Los pasos que se deben seguir son los siguientes:

- De acuerdo a los parámetros que se requiera analizar, se determinará previamente la cantidad de muestra final requerida para llevar al laboratorio.
- Se determina el tiempo total del muestreo y los períodos de tiempo en los que se recolectará cada muestra.
- Se toman volúmenes fijos de muestra en cada período de tiempo, en frascos individuales.
- Se mide el caudal, simultáneamente con cada toma.
- Una vez recolectadas todas las muestras se procede a mezclar las alícuotas correspondientes a cada una de ellas de acuerdo a su caudal, para obtener la muestra final.

Composición de la muestra proporcional al caudal

Se procede de la siguiente forma:

- De acuerdo a los parámetros que se requiera analizar, se determinará previamente la cantidad de muestra final requerida para llevar al laboratorio.
- Se determina el tiempo total del muestreo y los períodos de tiempo en los que se recolectará cada muestra.
- Se toman volúmenes fijos de muestra en cada período de tiempo, en frascos individuales.
- Se mide el caudal, simultáneamente con cada toma.
- Una vez recolectadas todas las muestras se procede a mezclar las alícuotas correspondientes a cada una de ellas de acuerdo a su caudal, para obtenerla muestra final.
- Luego se realizará la sumatoria de los caudales medidos, y se calcula el volumen de cada alícuota.



ANEXO 2 TÉCNICA DE 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 3: DESCRIPCIÓN DEL ICP Y SU TÉCNICA DE APLICACIÓN

a. El aparato: El ICP consta de un generador de radiofrecuencia (RF) capaz de generar al menos 1.1 kW de potencia, la antorcha, la bobina de tesla, carga bobina, impedancia de red, nebulizador, compartimiento de aerosol y drenaje. Reguladores de flujo de alta calidad son necesarios para ambos, el nebulizador de soporte de 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 del fabricante del equipo.

b. Espectrómetro: puede ser el espectrómetro con técnica simultánea (policromador) o secuencial (monocromador) con ruta de aire, gas inerte, purgada, o vacío de óptica. Se requiere 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.

c. Reactivos y estándares: Utilice los reactivos de ultra alta pureza grado o equivalente. Ácidos redestilados son aceptables, seque todas las sales a 105 ° C durante 1 h y almacenarlos en un desecador antes del pesaje. Use agua desionizada, preparada haciendo pasar agua a través de al menos dos etapas de desionización con intercambio de cationes/aniones utilizar agua desionizada para la preparación de los estándares de calibración, reactivos y para la dilución. Los reactivos necesarios son: Ácido clorhídrico, HCl, conc y 1++ 1. Ácido nítrico, HNO₃, Conc. Ácido nítrico, HNO₃, 1++ 1: Añadir 500 mL conc HNO₃ a 400 mL de agua y diluir a 1 L.



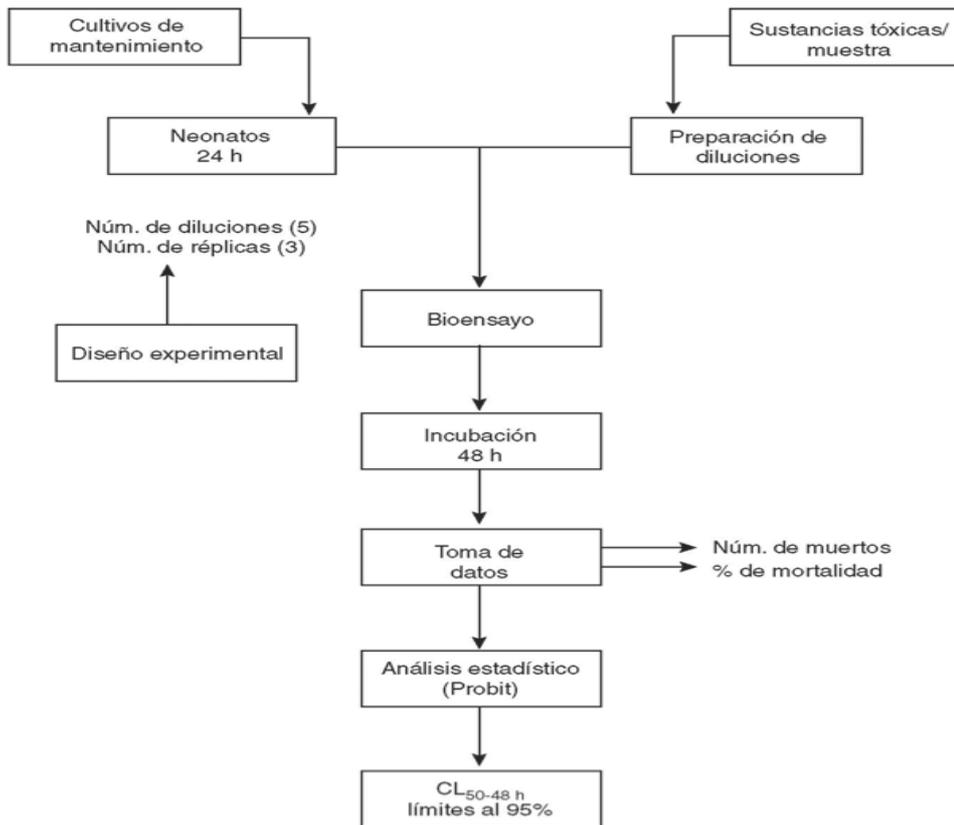
ANEXO 4: PROTOCOLOS DE ENSAYO DE TOXICIDAD CON BIOMODELOS

A. PROTOCOLO DE ENSAYO DE TOXICIDAD CON DAPHNIA MAGNA

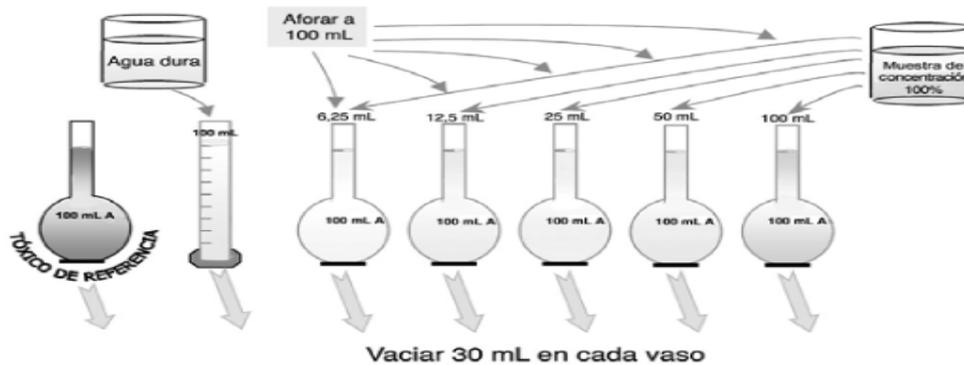
Para el desarrollo de pruebas de toxicidad aguda con *D. magna* se emplean neonatos (< 24 h nacidos) expuestos a diferentes concentraciones de una muestra o de un agente tóxico durante un periodo de 48h. Como resultado de dicha exposición es posible determinar la concentración de la muestra o compuesto 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 CaCO₃), 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



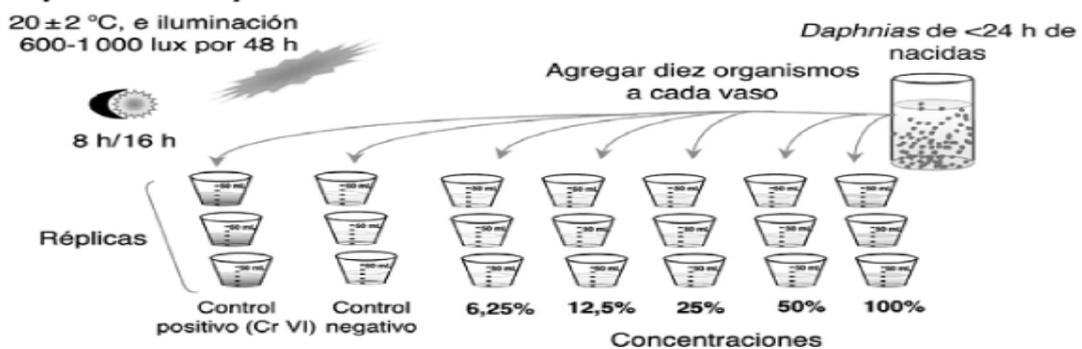
cinco diluciones, por lo que es necesario preparar un mínimo de 100 mL por dilución. Este volumen será suficiente para el llenado de las tres réplicas (25 mL en cada uno) de cada concentración. Como recipientes se pueden emplear vasos de polietileno desechables (figura 4.2.5) de 30 mL, o vasos de precipitado 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 CL_{50} . 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 cardiaco. 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 cardiaco. 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*.



1 Preparación de diluciones

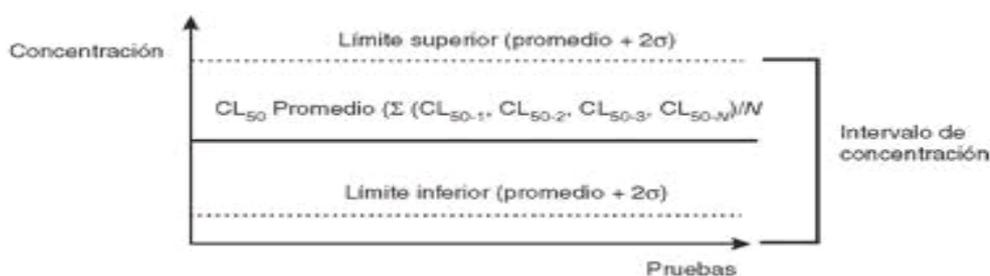


2 Preparación de prueba



Expresión de los resultados

Cálculo de la CL_{50} : Para el cálculo de la CL_{50} . y sus respectivos límites de confianza al 95% se utiliza el método Probit, yasea manualmente o con ayuda de paquetes estadísticos que tengan este procedimiento. El método de análisis Probit permite estimar la CE_{50} o CL_{50} . 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 efecto estudiado en la mitad de la población. Una de las restricciones del método es que para el cálculo de la CE_{50} o CL_{50} . 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 CE_{50} o CL_{50} . 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 CL_{50} . 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 CL_{50} , los valores de mortalidad obtenidos deberán encontrarse cercanos al 50%. Se puede considerar aceptable el encontrar mortalidades entre el 33 y 57 por ciento.

B. PROTOCOLO 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 la 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 básico 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 determina 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 (EC_{50}).

Materiales y procedimiento general

Conductímetro

pHmetro

Oxigenómetro

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 μg /ml.

Ejecución del ensayo

Cloque 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 (EC₅₀): 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 EC₅₀ corresponderá a la concentración de la muestra en le eje X.



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

Promedio crecimiento control negativo

C. 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 organica = 12 %
2. pH: debe estar entre 5 y 7.5
3. Contenido de C: menor de 20 %
4. Particulas 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 gm.
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.

D. 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 5 Tablas de registro de los resultados obtenidos en el laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil

A. Tabla Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Daphnia Magna* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.

PRIMER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA

Concentración Nº	%	Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R´)				total	Medidas Físico-Químicas		
		R 1	R2	R 3	R 4		%	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	5	5	5	5	20	100	6	7,4
5	10	4	4	4	3	15	75	6	7,4
6	8	3	3	3	3	12	60	6	7,4
7	5	2	2	1	1	6	30	6	7,4
8	2	1	1	1	0	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	

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL

Concentración Nº	%	Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R´)				total	Medidas Físico-Químicas		
		R 1	R2	R 3	R 4		%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL

Concentración Nº	%	Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R´)				total	Medidas Físico-Químicas		
		R 1	R2	R 3	R 4		%	OD	pH
1	100	0	1	1	1	3	15	6	7,4
2	80	0	0	1	0	1	5	6	7,4
3	40	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo	0	0	0	0	0	0	6	7,4	

Nota: Cada réplica corresponde a 5 individuos observados. R* = Réplica



B. Tabla Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Daphnia Magna* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. SEGUNDO MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R*)				Medidas Físico-Químicas			
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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	3	3	13	65	6	7,4
5	10	3	2	3	4	12	60	6	7,4
6	8	3	2	2	3	10	50	6	7,4
7	5	2	2	3	2	9	45	6	7,4
8	2	1	0	1	0	2	10	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	

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R*)				Medidas Físico-Químicas			
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R*)				Medidas Físico-Químicas			
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH
1	100	2	1	2	1	6	30	6	7,4
2	80	0	1	0	1	2	10	6	7,4
3	40	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4

Nota: Cada réplica corresponde a 5 individuos observados. R* = Réplica



C. Tabla Registro de Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Daphnia Magna* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. TERCER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])				Medidas Físico-Químicas			
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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	3	4	2	12	60	6	7,4
5	10	1	3	3	3	10	50	6	7,4
6	8	2	2	3	2	9	45	6	7,4
7	5	2	2	2	2	8	40	6	7,4
8	2	1	0	0	0	1	5	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

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])				Medidas Físico-Químicas			
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	6	7,4	

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])				Medidas Físico-Químicas			
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH
1	100	3	1	1	1	6	30	6	7,4
2	80	0	0	0	1	1	5	6	7,4
3	40	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	0	6	7,4

Nota: Cada réplica corresponde a 5 individuos observados. R^{*} = Réplica



D. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Poecilia Reticulata* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. PRIMER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA									
Concentración		Nº Observado de Muertes por cada Réplica (R [*])					Medidas Físico-Químicas		
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH
1	100	1	0	2	1	4	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
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])					Medidas Físico-Químicas		
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])					Medidas Físico-Químicas		
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH
1	100	0	0	0	0	0	0	6	7,4
Control negativo		0	0	0	0	0	6	7,4	

Nota: Cada réplica corresponde a 10 individuos observados. R* = Réplica



E. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Poecilia Reticulata* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. SEGUNDO MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA										
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R*)				Medidas Físico-Químicas				
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH	
1	100	1	1	1	1	4	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		
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL										
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R*)				Medidas Físico-Químicas				
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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		
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL										
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R*)				Medidas Físico-Químicas				
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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		

Nota: Cada réplica corresponde a 10 individuos observados. R* = Réplica



F. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Poecilia Reticulata* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. TERCER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])					Medidas Físico-Químicas		
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales total	%	OD	pH
1	100	1	2	1	1	5	12,5	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	
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])					Medidas Físico-Químicas		
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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	
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL									
Concentración		Nº Observado de Inmovilizados por cada Réplica (R [*])					Medidas Físico-Químicas		
Nº	%	R 1	R2	R 3	R 4	Finales 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	

Nota: Cada réplica corresponde a 10 individuos observados. R* = Réplica



**G.Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Lactuca Sativa* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.
PRIMER MUESTREO**

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA				
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*	
Nº	%			
1	100	2,07	56,26	
2	10	2,7	45,73	
3	5	3,02	24,8	
4	2	3,21	12,23	
5	1	4,09	4,8	
Control		4,4		2,2

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL				
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*	
Nº	%			
1	100	4,32	1,5	
Control		4,32	0,47	

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL				
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*	
Nº	%			
1	100	4,29	0,93	
Control		4,32	0,47	

Nota: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



H. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Lactuca Sativa* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. SEGUNDO MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA			
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
Nº	%		
1	100	2,54	54,95
2	10	2,91	45,64
3	5	3,17	24,13
4	2	3,43	7,59
5	1	4,35	3
Control		4,33	3,21

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL			
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
Nº	%		
1	100	4,74	2,5
Control		4,50	0,17

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL			
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
Nº	%		
1	100	4,70	1,34
Control		4,50	0,17

Nota: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



**I. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Lactuca Sativa* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.
TERCER MUESTREO**

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA			
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
Nº	%		
1	100	2,52	55,01
2	10	3,02	45,26
3	5	3,53	25,09
4	2	3,62	7,71
5	1	4,09	3,91
Control		4,33	2,06
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL			
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
Nº	%		
1	100	4,33	1,44
Control		4,84	0,26
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL			
Concentración		Longitud Radical cm promedio de tres réplicas*	Índice de Semillas no Germinadas % promedio de tres réplicas*
Nº	%		
2	100	4,58	1,74
Control		4,84	0,26

Nota: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



J. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Phaseolus Vulgaris* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. PRIMER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA												
Promedio de tres réplicas*												
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
		cm	%	cm	ggg	g	%	%				
Nº	%											
1	100	5,28	23,33	14,11	1,96	0,22	0,29	0,01	8,25	6,82	0,52	2,96
2	10	5,77	23,33	21,35	2,43	0,21	0,21	0,02	8,11	13,06	4,75	4,32
3	5	6,55	10	25,17	2,99	0,29	0,30	0,02	9,52	12,15	3,25	3,94
4	2	6,69	3,33	29,52	2,86	0,24	0,30	0,02	9,95	12,44	3,83	3,28
5	1	6,74	0	36,6	3,08	0,27	0,25	0,02	11,20	10,19	9,23	4,90
Control		6,91	0	38,85	2,97	0,35	0,27	0,018	10,91	15,42	9,51	5,1
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL												
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
		cm	%	cm	ggg	g	%	%				
Nº	%											
1	100	6,10	0	39,54	2,16	0,47	0,26	0,14	9,38	6,82	9,03	4,76
Control		6,51	0	38,87	2,36	0,51	0,28	0,13	10,27	14,35	9,50	5,13
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL												
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
		cm	%	cm	ggg	g	%	%				
Nº	%											
1	100	4,56	0	36,17	1,93	0,34	0,19	0,12	9,38	6,82	7,53	4,46
Control		6,51	0	38,87	2,36	0,51	0,28	0,13	10,27	13,99	9,50	5,13

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.
 PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.
 MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



K. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Phaseolus Vulgaris* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA. SEGUNDO MUESTREO

SEGUNDO MUESTREO PTAR

Promedio de tres réplicas*

Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
		cm	%	cm	ggg	g	%	%				
Nº	%											
6	100	4,88	30	14,02	1,80	0,19	0,19	0,01	8,16	6,86	0,47	3,08
7	10	5,16	13,33	21,29	2,46	0,21	0,29	0,02	8,49	12,52	4,50	4,32
8	5	6,39	10	24,63	3,25	0,38	0,32	0,03	9,52	12,78	1,58	4,09
9	2	6,57	3,33	30,63	3,01	0,29	0,30	0,03	10,12	12,96	1,92	3,22
10	1	7,45	0	37,88	3,29	0,31	0,32	0,03	12,05	12,59	8,07	4,97
Control		7,30	0	37,79	3,22	0,35	0,33	0,02	11,15	14,87	9,25	5,43

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.

PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.

MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL

Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
		cm	%	cm	ggg	g	%	%				
Nº	%											
2	100	6,19	0	39,29	2,16	0,40	0,25	0,13	9,2	14,12	6,42	4,80
Control		7,23	0	40,63	2,65	0,52	0,33	0,17	10,22	15,37	8,83	5,44

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL

Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
		cm	%	cm	ggg	g	%	%				
Nº	%											
2	100	4,44	0	35,13	1,93	0,23	0,19	0,12	8,27	13,41	4,23	4,79
Control		7,23	0	40,63	2,65	0,52	0,33	0,17	10,22	15,37	8,83	5,44

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.

PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.

MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



L. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con *Phaseolus Vulgaris* en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.

TERCER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA												
Promedio de tres réplicas*												
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%				
1	100	8,42	30	14,66	0,94	0,07	0,30	0,12	8,58	6,56	0,18	1,95
2	10	6,10	16,66	18,31	1,40	0,10	0,22	0,13	8,50	11,02	2,78	4,20
3	5	6,68	6,66	16,18	1,46	0,11	0,39	0,15	8,93	8,68	0,23	4,87
4	2	8,56	0	12,91	0,77	0,06	0,22	0,12	9,26	7,05	0,23	2,26
5	1	5,97	0	14,89	1,48	0,14	0,26	0,12	10,47	8,02	6,57	4,20
Control		6,22	0	36,57	2,20	0,34	0,24	0,08	10,12	4,62	9,39	5,21
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL												
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%				
3	100	6,10	0	39,54	2,16	0,47	0,26	0,14	9,38	14,12	9,03	4,76
Control		6,51	0	39,87	2,36	0,51	0,28	0,13	10,27	15,37	9,76	5,13
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL												
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR	#N	#H
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%				
3	100	4,56	0	36,17	1,93	0,34	0,19	0,12	9,04	13,41	7,53	4,46
Control		6,51	0	39,87	2,36	0,51	0,28	0,13	10,27	15,37	9,76	5,44

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.
 PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.
 MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



M.Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con Zea Mays en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.

PRIMER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA

Promedio de tres réplicas*

Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	16,14	26,66	34,83	20,9	1,73	10,67	2,25	8,58	6,41
2	10	17,55	13,33	36,38	23,05	2,12	12,60	2,72	8,50	7,29
3	5	19,02	6,66	42,07	25,76	2,06	16,69	3,35	8,93	8,35
4	2	20,9	0	44,54	29	2,14	24,37	4,13	9,26	9,73
5	0	14,89	0	43,06	32,29	2,12	30,67	6,46	8,02	9,03
Control		20,78	0	42,98	31,53	2,09	30,27	6,52	10,12	9,54

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL

Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	21,39	0	41,82	30,21	2,14	15,54	3,2	7,06	19,10
Control		22,55	0	43,48	31,24	2,30	15,41	3,38	7,45	20,78

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL

Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	20,29	0	42,73	29,41	2,12	14,41	4,3	6,98	18,9
Control		22,55	0	43,48	31,24	2,30	15,41	3,38	7,45	20,78

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.
 PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.
 MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



N. Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con Zea Mays en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.

SEGUNDO MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA										
Promedio de tres réplicas*										
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	10,26	23,33	34,75	17,85	1,68	13,03	2,11	9,66	15,55
2	10	12,27	23,33	41,33	23,40	1,80	13,27	2,63	7,72	16,02
3	5	19,67	6,66	42,80	26,15	2,24	17,11	3,54	7,76	16,09
4	2	20,86	0	44,80	28,46	2,12	19,96	4,13	7,55	17,46
5	0	20,24	0	44,19	30,74	2,27	24,37	5,06	9,73	20,78
Control		20,28	0	46,50	32,84	2,61	30,57	6,45	8,03	21,66

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL										
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	21,92	0	42,05	30,36	2,19	15,03	3,21	7,22	19,03
Control		23,15	0	44,28	31,57	2,44	15,3	3,74	7,89	19,48

INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL										
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	20,97	0	43,93	30,83	2,29	14,86	4,40	7,42	19,40
Control		23,15	0	44,28	31,57	2,44	15,3	3,74	7,89	19,48

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.
 PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.
 MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas



O.Tabla Registro De Resultados de las Pruebas Toxicológicas con Zea Mays en el Sistema de Alcantarillado de PTAR UCUBAMBA.

TERCER MUESTREO

LLEGADA A PTAR UCUBAMBA										
Promedio de tres réplicas*										
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	10,63	26,66	35,49	18,96	1,89	13,37	2,11	9,88	15,53
2	10	22	23,33	45,33	24,75	1,86	11,11	2,06	7,27	18,09
3	5	22,92	6,66	43,07	34,84	2,21	12	2,04	7,63	11,42
4	2	15,33	0	37,72	19,42	2,19	13,09	3,20	9,43	18,85
5	0	20,25	0	42,82	30,87	2,19	15,46	4,05	7,33	21,40
Control		20,29	0	48,97	32,62	2,32	14,18	3,09	7,73	21,40
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL INICIO PARQUE INDUSTRIAL										
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	22,42	0	43,37	30,36	2,11	14,55	3,16	7,39	19,28
Control		23,37	0	45,50	31,41	2,39	15,1	3,67	7,49	20
INTERCEPTOR DEL SISTEMA DE ALCANTARILLADO AL FINAL PARQUE INDUSTRIAL										
Concentración		LR	Germ	AltP	PHP	PSP	PHR	PSR	MSP	MSR
Nº	%	cm	%	cm	ggg	g	%	%		
1	100	21,08	0	44,05	30,36	2,11	14,74	4,14	7,14	19,33
Control		23,37	0	45,50	31,41	2,39	15,1	3,67	7,49	20

Germ = % semillas no germinadas. AltP= Altura de la planta. LR=Largo de la raíz.
 PHP = Peso húmedo planta. PSP = Peso seco planta. PHR = Peso húmedo raíz. PSR = Peso seco raíz.
 MSP = % Materia Seca planta. MSR = % Materia Seca Raíz. #N =Número de nódulos. #H = Número de hojas.

Nota 1: Cada réplica corresponde a 10 Semillas. *Promedio de 30 semillas

ANEXO 6 Diferencias de medias para los parámetros de crecimiento de las semillas de *Lactuca Sativa*, *Phaseolus Vulgaris* y *Zea Mays*

DIFERENCIA DE MEDIAS PARA *Lactuca Sativa* Llegada a la PTAR

a. PRIMER MUESTREO

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
lactuca sativa long. radical conc100%	3	2,02	2,11	2,0733	,04726
lactuca sativa long. radical conc10%	3	2,65	2,78	2,7000	,07000
lactuca sativa long. radical conc5%	3	2,99	3,08	3,0267	,04726
lactuca sativa long. radical conc2%	3	3,16	3,29	3,2167	,06658
lactuca sativa long. radical conc1%	3	3,99	4,19	4,0933	,10017
Valid N (listwise)	3				

b. SEGUNDO MUESTREO

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
lactuca sativa long. radical conccontrol	3	4,26	4,40	4,3333	,07024
lactuca sativa long. radical conc100%	3	2,25	2,89	2,5367	,32517
lactuca sativa long. radical conc10%	3	2,86	3,01	2,9133	,08386
lactuca sativa long. radical conc 5%	3	3,13	3,23	3,1700	,05292
lactuca sativa long. radical conc2%	3	3,35	3,55	3,4333	,10408
lactuca sativa long. radical conc1%	3	4,25	4,50	4,3467	,13429
Valid N (listwise)	3				



c. TERCER MUESTREO

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
lactuca sativa long. radical conccontrol	3	4,26	4,40	4,3333	,07024
lactuca sativa long. radical conc100%	3	2,25	2,69	2,5233	,23861
lactuca sativa long. radical conc10%	3	2,99	3,06	3,0233	,03512
lactuca sativa long. radical conc 5%	3	3,35	3,68	3,5300	,16703
lactuca sativa long. radical conc2%	3	3,37	3,79	3,6233	,22301
lactuca sativa long. radical conc1 %	3	4,00	4,15	4,0900	,07937
Valid N (listwise)	3				

Diferencia de medias para largo de la planta y longitud radical en *Phaseolus Vulgaris* a la Llegada a la PTAR .-

PRIMER MUESTREO.- largo de la planta

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
phaseolus vulgaris largo plantaconcontrol	3	38,34	39,23	38,8567	,46199
phaseolus vulgaris largo plantaconc100%	3	12,55	15,45	14,1100	1,46246
phaseolus vulgaris largo planta conc10%	3	19,90	23,12	21,3500	1,63368
phaseolus vulgaris largo plantaconc 5%	3	24,50	26,01	25,1667	,77035
phaseolus vulgaris largo plantaconc2%	3	28,90	30,05	29,5167	,57951
phaseolus vulgaris largo plantaconc1 %	3	34,50	38,40	36,6000	1,96723
Valid N (listwise)	3				

Longitud radical

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
phaseolus vulgaris long radicalconcontrol	3	6,75	7,00	6,9133	,14154
phaseolus vulgaris long radicalconc100%	3	4,78	5,99	5,2833	,63011
phaseolus vulgaris long radical conc10%	3	5,41	6,23	5,7700	,41905
phaseolus vulgaris long radicalconc 5%	3	5,67	7,89	6,5467	1,18128
phaseolus vulgaris long radicalconc2%	3	6,34	7,09	6,6900	,37749
phaseolus vulgaris long radicalconc1%	3	6,45	7,33	6,7433	,50807
Valid N (listwise)	3				

Diferencia de medias para largo de la planta y longitud radical en *Zea Mays* la Llegada a la PTAR .-PRIMER MUESTREO

largo de la planta

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
zea mays altura de la planta concontrol	3	41,26	44,22	42,9767	1,53572
zea mays altura de la planta conc100%	3	33,20	35,69	34,8300	1,41234
zea mays altura de la planta conc10%	3	35,52	37,21	36,3767	,84524
zea mays altura de la planta conc 5%	3	40,30	43,60	42,0667	1,66233
zea mays altura de la planta conc2%	3	43,20	45,80	44,5367	1,30155
zea mays altura de la planta conc1%	3	41,23	45,60	43,0567	2,27144
Valid N (listwise)	3				



Longitud radical

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
zea mays longitud radical conccontrol	3	20,49	21,16	20,7800	,34395
zea mays longitud radical conc100%	3	15,30	16,90	16,1400	,80299
zea mays longitud radical conc10%	3	16,98	18,45	17,5500	,78861
zea mays longitud radical conc 5%	3	18,72	19,32	19,0200	,30000
zea mays longitud radical conc2%	3	20,55	21,39	20,9000	,43715
zea mays longitud radical conc1 %	3	20,34	20,66	20,5033	,16010
Valid N (listwise)	3				

ANEXO 7 Pruebas estadísticas utilizando el programa estadístico SPSS. 20 para determinar si existe efecto tóxico en base a las concentraciones de aluminio sobre los biomodelos utilizados.

**Determinación de CL50 –
NOEC Y LOEC.**

DAPHNIA MAGNA PTAR PRIMER MUESTREO

ANOVA <i>daphnia magna</i> PTAR PRIMER MUESTREO					
organismos no inhibidos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	167,100	9	18,567	222,800	,000
Within Groups	2,500	30	,083		
Total	169,600	39			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *daphnia magna*.

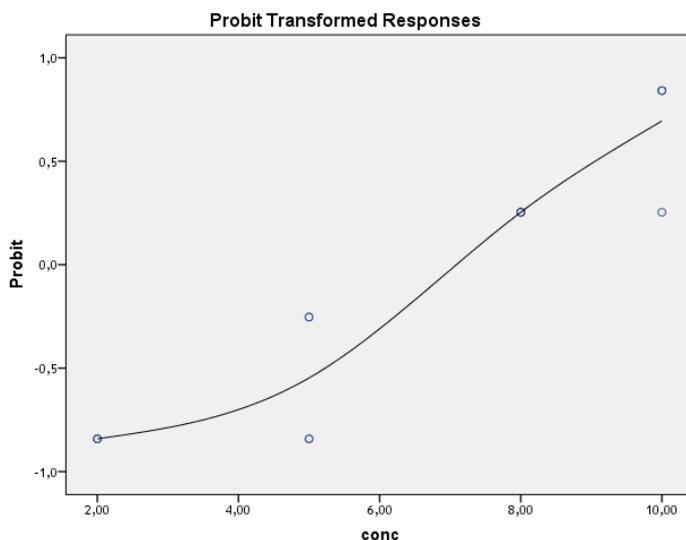
Multiple Comparisons <i>daphnia magna</i> PTAR PRIMER MUESTREO				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
,50	,00	,000	,204	,900
2,00	,00	-,750	,204	,003
5,00	,00	-1,500	,204	,000
8,00	,00	-3,000	,204	,000
10,00	,00	-3,750	,204	,000
20,00	,00	-5,000	,204	,000
40,00	,00	-5,000	,204	,000
80,00	,00	-5,000	,204	,000
100,00	,00	-5,000	,204	,000



LOEC = 2 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 0,5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

Confidence Limits <i>daphnia magna</i> PTAR PRIMER MUESTREO					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for conc		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
		,010	-1,346	-4,892	,622
		,020	-,350	-3,476	1,414
		,030	,282	-2,583	1,921
		,040	,757	-1,915	2,306
		,050	1,144	-1,374	2,622
		,060	1,473	-,915	2,893
		,070	1,761	-,515	3,132
		,080	2,020	-,159	3,348
		,090	2,255	,164	3,546
		,100	2,471	,460	3,730
		,150	3,366	1,665	4,509
		,200	4,078	2,594	5,157
		,250	4,689	3,363	5,741
		,300	5,237	4,027	6,293
		,350	5,745	4,615	6,831
		,400	6,227	5,147	7,367
		,450	6,694	5,639	7,909
		,500	7,153	6,101	8,464
		,550	7,612	6,545	9,037
		,600	8,078	6,980	9,636
		,650	8,560	7,415	10,270
		,700	9,068	7,861	10,950
		,750	9,617	8,330	11,696
		,800	10,227	8,842	12,537
		,850	10,939	9,428	13,528
		,900	11,834	10,153	14,787
		,910	12,051	10,327	15,093
		,920	12,286	10,515	15,426
		,930	12,544	10,721	15,792
		,940	12,832	10,951	16,202
		,950	13,162	11,212	16,670
		,960	13,548	11,517	17,222
		,970	14,023	11,891	17,901
		,980	14,655	12,387	18,805
		,990	15,651	13,165	20,234

CL 50 = 7,153 % (6,101 – 8,464)



**DAPHNIA MAGNA PTAR SEGUNDO MUESTREO**

ANOVA <i>daphnia magna</i> PTAR SEGUNDO MUESTREO					
organismos no inhibidos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	143,600	9	15,956	87,030	,000
Within Groups	5,500	30	,183		
Total	149,100	39			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *daphnia magna*.

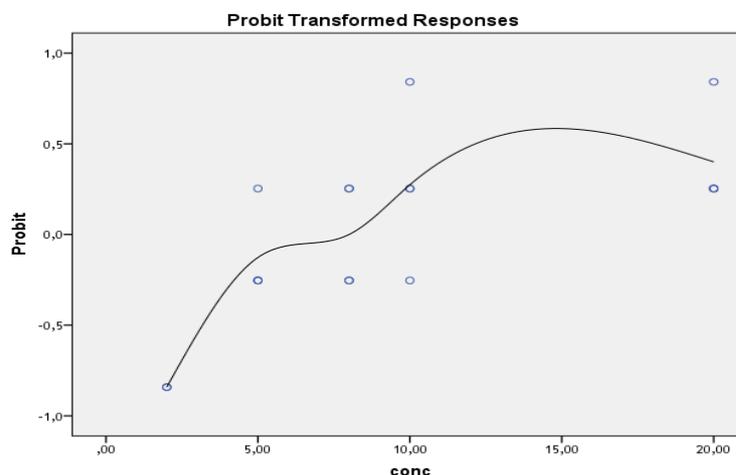
Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
,50	,00	,000	,303	,900
2,00	,00	-,500	,303	,243
5,00	,00	-2,250	,303	,000
8,00	,00	-2,500	,303	,000
10,00	,00	-3,000	,303	,000
20,00	,00	-3,250	,303	,000
40,00	,00	-5,000	,303	,000
80,00	,00	-5,000	,303	,000
100,00	,00	-5,000	,303	,000

LOEC = 5 % CONCENTRACION DE ALUMINIO NOEC= 2% CONCENTRACION DE ALUMINIO

Confidence Limits					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for conc		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	2	,010	-10,310	-19,826	-5,386
		,020	-7,760	-16,044	-3,418
		,030	-6,142	-13,655	-2,159
		,040	-4,925	-11,865	-1,205
		,050	-3,935	-10,415	-,423
		,060	-3,093	-9,185	,248
		,070	-2,354	-8,111	,840
		,080	-1,693	-7,154	1,374
		,090	-1,091	-6,287	1,864
		,100	-,537	-5,493	2,318
		,150	1,756	-2,255	4,250
		,200	3,578	,234	5,870
		,250	5,141	2,277	7,352
		,300	6,545	4,012	8,782
		,350	7,846	5,519	10,209
		,400	9,080	6,854	11,658
		,450	10,275	8,063	13,142
		,500	11,450	9,186	14,669
		,550	12,625	10,256	16,250
		,600	13,820	11,302	17,897
,650	15,054	12,349	19,633		
,700	16,355	13,426	21,490		
,750	17,759	14,565	23,517		
,800	19,322	15,813	25,794		
,850	21,144	17,248	28,467		
,900	23,437	19,033	31,852		
,910	23,991	19,462	32,673		
,920	24,592	19,927	33,565		
,930	25,254	20,436	34,546		
,940	25,993	21,005	35,644		
,950	26,835	21,651	36,897		
,960	27,825	22,409	38,371		
,970	29,042	23,339	40,186		
,980	30,660	24,573	42,600		
,990	33,210	26,511	46,412		



CL 50 = 11,450 % (9, 186 - 14,669)



DAPHNIA MAGNA PTAR TERCER MUESTREO

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	147,500	9	16,389	75,641	,000
Within Groups	6,500	30	,217		
Total	154,000	39			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *daphnia magna*.

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: vivos						
Dunnnett t (<control)						
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Upper Bound	
,50	,00	,000	,329	,900	,84	
2,00	,00	-,250	,329	,637	,59	
5,00	,00	-2,000	,329	,000	-1,16	
8,00	,00	-2,250	,329	,000	-1,41	
10,00	,00	-2,500	,329	,000	-1,66	
20,00	,00	-3,000	,329	,000	-2,16	
40,00	,00	-5,000	,329	,000	-4,16	
80,00	,00	-5,000	,329	,000	-4,16	
100,00	,00	-5,000	,329	,000	-4,16	

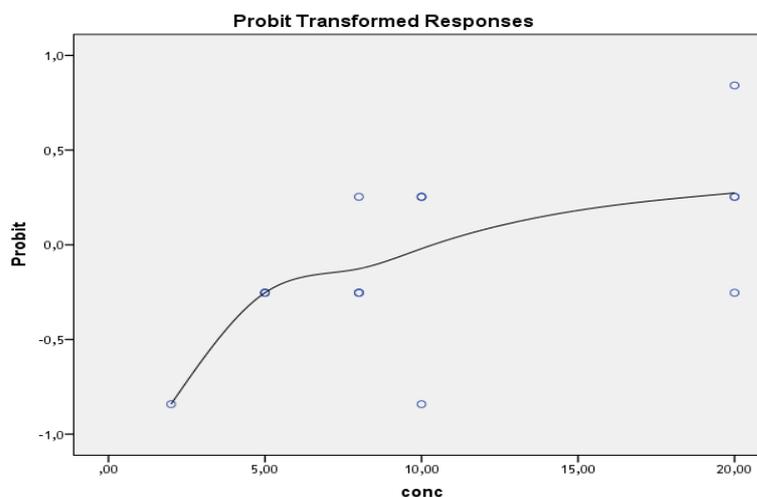
LOEC = 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NOEC= 2% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO



Confidence Limits					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for conc		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	3	,010	-9,510	-18,913	-4,608
		,020	-6,869	-15,010	-2,559
		,030	-5,193	-12,547	-1,246
		,040	-3,932	-10,702	-,250
		,050	-2,907	-9,209	,568
		,060	-2,034	-7,944	1,270
		,070	-1,269	-6,841	1,891
		,080	-,584	-5,858	2,452
		,090	,039	-4,970	2,968
		,100	,613	-4,156	3,447
		,150	2,988	-,854	5,496
		,200	4,875	1,663	7,233
		,250	6,495	3,710	8,835
		,300	7,949	5,433	10,389
		,350	9,296	6,922	11,937
		,400	10,575	8,243	13,497
		,450	11,812	9,446	15,082
		,500	13,030	10,571	16,701
		,550	14,247	11,651	18,364
		,600	15,484	12,713	20,090
,650	16,763	13,782	21,902		
,700	18,111	14,886	23,835		
,750	19,565	16,058	25,940		
,800	21,184	17,344	28,303		
,850	23,072	18,826	31,074		
,900	25,447	20,672	34,580		
,910	26,020	21,115	35,430		
,920	26,643	21,596	36,353		
,930	27,329	22,124	37,370		
,940	28,094	22,712	38,506		
,950	28,967	23,381	39,803		
,960	29,992	24,166	41,329		
,970	31,253	25,130	43,206		
,980	32,928	26,407	45,705		
,990	35,570	28,415	49,648		

CL 50 13,03 % (10,57 – 16,70)





DAPHNIA MAGNA INICIO DE PARQUE INDUSTRIAL PRIMERO – SEGUNDO Y TERCER MUESTREO

No hay efecto tóxico ni siquiera a la concentración al 100 %

DAPHNIA MAGNA FIN DE PARQUE INDUSTRIAL PRIMER MUESTREO

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,500	3	,500	4,000	,035
Within Groups	1,500	12	,125		
Total	3,000	15			

Sig = 0,035 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *daphnia magna*.

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: vivos					
Dunnnett t (<control)					
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
					Upper Bound
40,00	,00	,000	,250	,750	,57
80,00	,00	-,250	,250	,335	,32
100,00	,00	-,750	,250	,014	-,18

LOEC = 100 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 80% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO se puede determinar la CL50 debido a que el LOEC es al 100%

DAPHNIA MAGNA FIN DE PARQUE INDUSTRIAL SEGUNDO MUESTREO

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,000	3	2,000	12,000	,001
Within Groups	2,000	12	,167		
Total	8,000	15			

Sig = 0,001 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *daphnia magna*.

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: vivos					
Dunnnett t (<control)					
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
					Upper Bound
40,00	,00	,000	,289	,750	,66
80,00	,00	-,500	,289	,124	,16
100,00	,00	-1,500	,289	,000	-,84

LOEC = 100 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 80% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO se puede determinar la CL50 debido a que el LOEC es al 100%

DAPHNIA MAGNA FIN DE PARQUE INDUSTRIAL TERCER MUESTREO

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,000	3	2,000	12,000	,001
Within Groups	2,000	12	,167		
Total	8,000	15			

Sig = 0,001 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *daphnia magna*.



Multiple Comparisons					
Dependent Variable: vivos Dunnnett t (<control)					
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Upper Bound
40,00	,00	,000	,289	,750	,66
80,00	,00	-,500	,289	,124	,16
100,00	,00	-1,500	,289	,000	-,84

LOEC = 100 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 80% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO se puede determinar la CL50 debido a que el LOEC es al 100%

POECILIA RETICULATA PTAR PRIMER MUESTREO

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,667	2	1,333	6,000	,022
Within Groups	2,000	9	,222		
Total	4,667	11			

Sig = 0,022 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *POECILIA RETICULATA*.

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: vivos Dunnnett t (<control)					
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Upper Bound
80	0	,000	,333	,667	,73
100	0	-1,000	,333	,014	-,27

LOEC = 100 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 80% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO se puede determinar la CL50 debido a que el LOEC es al 100%

POECILIA RETICULATA PTAR SEGUNDO MUESTREO

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,667	2	1,333	6,000	,022
Within Groups	2,000	9	,222		
Total	4,667	11			

Sig = 0,022 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *POECILIA RETICULATA*.

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: vivos Dunnnett t (<control)					
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Upper Bound
80	0	,000	,333	,667	,73
100	0	-1,000	,333	,014	-,27

LOEC = 100 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 80% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO se puede determinar la CL50 debido a que el LOEC es al 100%

**POECILIA RETICULATA PTAR TERCER MUESTREO**

ANOVA					
Vivos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,667	2	1,333	6,000	,022
Within Groups	2,000	9	,222		
Total	4,667	11			

Sig = 0,022 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *POECILIA RETICULATA*.

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: vivos					
Dunnnett t (<control)					
(I) % concentración	(J) % concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
					Upper Bound
80	0	,000	,333	,667	,73
100	0	-1,000	,333	,014	-,27

LOEC = 100 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO **NOEC= 80% CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO**
NO se puede determinar la CL50 debido a que el LOEC es al 100%

POECILIA RETICULATA INICIO Y FIN DE PARQUE INDUSTRIAL PRIMERO – SEGUNDO Y TERCER MUESTREO

No hay efecto tóxico ni siquiera a la concentración al 100 %

LACTUCA SATIVA PTAR PRIMER MUESTREO

ANOVA					
organismos no inhibidos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	90,278	5	18,056	108,333	,000
Within Groups	2,000	12	,167		
Total	92,278	17			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la *LACTUCA SATIVA*

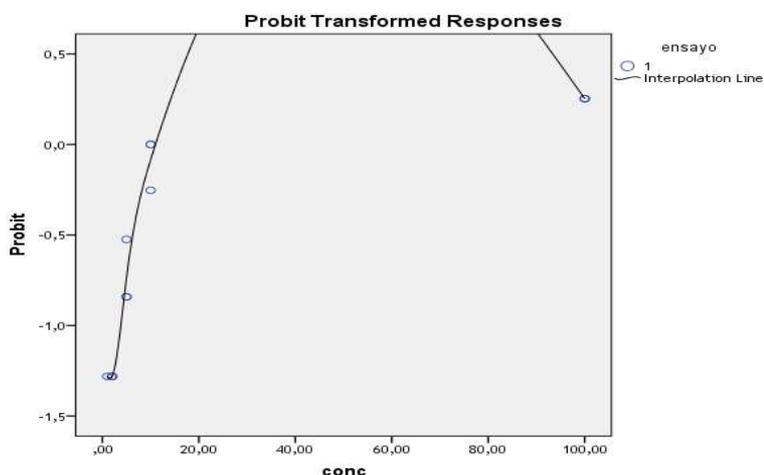
Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	-,333	,333	,426
2,00	,00	-1,000	,333	,021
5,00	,00	-2,333	,333	,000
10,00	,00	-4,667	,333	,000
100,00	,00	-6,000	,333	,000

LOEC = 2 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO **NOEC= 1 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO**



Confidence Limits					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for conc		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	1	,010	-91,914	-241,962	-46,405
		,020	-72,286	-198,513	-33,082
		,030	-59,832	-171,100	-24,476
		,040	-50,463	-150,593	-17,887
		,050	-42,843	-134,013	-12,427
		,060	-36,356	-119,992	-7,688
		,070	-30,669	-107,787	-3,444
		,080	-25,577	-96,946	,443
		,090	-20,946	-87,175	4,067
		,100	-16,683	-78,272	7,494
		,150	,967	-42,804	23,074
		,200	14,995	-17,372	38,214
		,250	27,029	1,241	54,407
		,300	37,837	15,048	71,858
		,350	47,851	25,776	90,095
		,400	57,354	34,669	108,686
		,450	66,548	42,487	127,459
		,500	75,597	49,684	146,433
		,550	84,645	56,548	165,740
		,600	93,839	63,285	185,594
,650	103,342	70,070	206,293		
,700	113,357	77,080	228,249		
,750	124,164	84,525	252,061		
,800	136,199	92,710	278,683		
,850	150,226	102,148	309,816		
,900	167,876	113,910	349,102		
,910	172,139	116,737	358,605		
,920	176,770	119,802	368,934		
,930	181,863	123,167	380,297		
,940	187,550	126,919	392,995		
,950	194,036	131,190	407,484		
,960	201,657	136,198	424,516		
,970	211,025	142,344	445,466		
,980	223,479	150,495	473,334		
,990	243,108	163,311	517,290		

CL 50 75,597 % (49,68 – 146,43) PERO SE DEBEN CONSIDERAR LOS LIMITES SUPERIORES.



**LACTUCA SATIVA PTAR SEGUNDO MUESTREO**

ANOVA					
organismos no inhibidos					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81,111	5	16,222	97,333	,000
Within Groups	2,000	12	,167		
Total	83,111	17			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la **LACTUCA SATIVA**

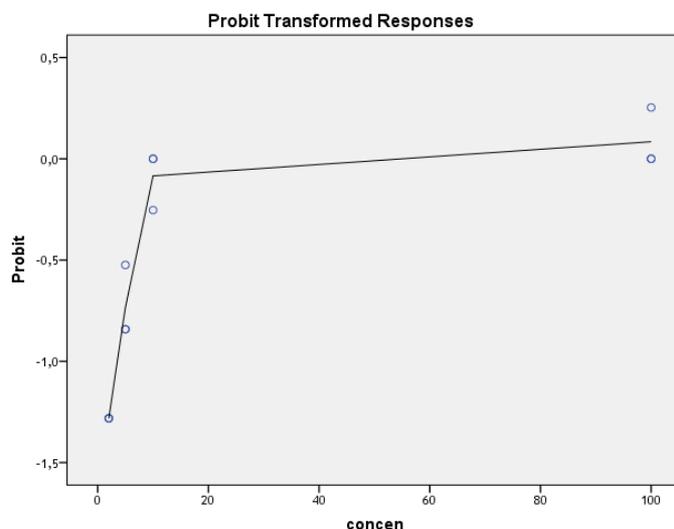
Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,333	,833
2,00	,00	-1,000	,333	,021
5,00	,00	-2,333	,333	,000
10,00	,00	-4,667	,333	,000
100,00	,00	-5,333	,333	,000

LOEC = 2 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 1 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

Confidence Limits					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for concen		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	2	,010	-100,728	-342,980	-46,544
		,020	-78,820	-280,756	-32,459
		,030	-64,919	-241,470	-23,330
		,040	-54,463	-212,066	-16,314
		,050	-45,957	-188,280	-10,474
		,060	-38,718	-168,160	-5,379
		,070	-32,370	-150,641	-,788
		,080	-26,686	-135,082	3,449
		,090	-21,517	-121,061	7,433
		,100	-16,759	-108,294	11,238
		,150	2,941	-57,732	29,291
		,200	18,597	-22,646	48,739
		,250	32,030	1,122	71,755
		,300	44,092	17,192	97,700
		,350	55,270	28,937	124,888
		,400	65,876	38,406	152,361
		,450	76,138	46,643	179,867
		,500	86,237	54,198	207,488
		,550	96,337	61,395	235,467
		,600	106,599	68,460	264,145
,650	117,205	75,576	293,972		
,700	128,383	82,930	325,550		
,750	140,445	90,744	359,751		
,800	153,877	99,336	397,943		
,850	169,534	109,246	442,567		
,900	189,234	121,599	498,830		
,910	193,992	124,568	512,433		
,920	199,161	127,787	527,218		
,930	204,845	131,322	543,480		
,940	211,192	135,262	561,649		
,950	218,432	139,749	582,378		
,960	226,938	145,010	606,742		
,970	237,394	151,466	636,707		
,980	251,294	160,029	676,559		
,990	273,203	173,493	739,404		



CL 50 86,237 % (54,198 – 207,488) PERO SE DEBEN CONSIDERAR LOS LÍMITES SUPERIORES.



LACTUCA SATIVA PTAR TERCER MUESTREO

ANOVA					
organismos no inhibidos					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81,611	5	16,322	97,933	,000
Within Groups	2,000	12	,167		
Total	83,611	17			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,333	,833
2,00	,00	-1,000	,333	,021
5,00	,00	-2,667	,333	,000
10,00	,00	-4,667	,333	,000
100,00	,00	-5,333	,333	,000

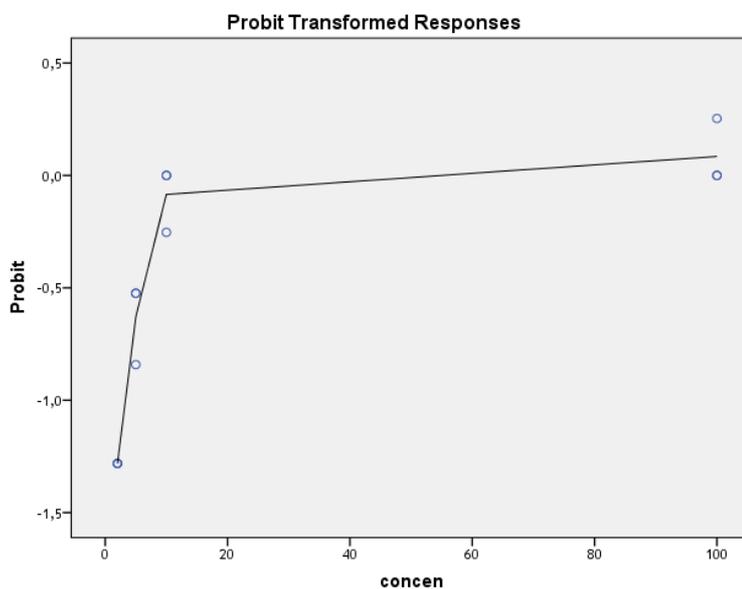
LOEC = 2 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 1 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

Confidence Limits					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for concen		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	3	,010	-105,407	-374,542	-48,810
		,020	-82,995	-307,622	-34,577
		,030	-68,776	-265,350	-25,361
		,040	-58,079	-233,694	-18,284
		,050	-49,378	-208,072	-12,399
		,060	-41,972	-186,384	-7,271
		,070	-35,479	-167,488	-2,654
		,080	-29,665	-150,689	1,601



	,090	-24,377	-135,538	5,597
	,100	-19,510	-121,726	9,409
	,150	,643	-66,797	27,451
	,200	16,659	-28,344	46,994
	,250	30,399	-2,282	70,686
	,300	42,739	15,017	98,069
	,350	54,173	27,367	127,123
	,400	65,023	37,164	156,614
	,450	75,521	45,610	186,181
	,500	85,852	53,316	215,883
	,550	96,183	60,637	245,972
	,600	106,681	67,810	276,810
	,650	117,531	75,029	308,880
	,700	128,965	82,484	342,828
	,750	141,305	90,402	379,592
	,800	155,045	99,107	420,643
	,850	171,062	109,144	468,601
	,900	191,214	121,654	529,061
	,910	196,081	124,661	543,680
	,920	201,369	127,922	559,566
	,930	207,183	131,501	577,040
	,940	213,677	135,492	596,562
	,950	221,083	140,035	618,836
	,960	229,783	145,363	645,014
	,970	240,480	151,901	677,209
	,980	254,700	160,573	720,025
	,990	277,111	174,207	787,544

CL 50 85,852 % (53,316 – 215,883) PERO SE DEBEN CONSIDERAR LOS LÍMITES SUPERIORES.





LACTUCA SATIVA INICIO Y FIN DE PARQUE INDUSTRIAL PRIMERO – SEGUNDO Y TERCER MUESTREO

No hay efecto tóxico ni siquiera a la concentración al 100 %

PHASEOLUS VULGARIS PTAR PRIMER MUESTREO

ANOVA					
organismos VIVOS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13,778	5	2,756	8,267	,001
Within Groups	4,000	12	,333		
Total	17,778	17			

Sig = 0,001 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

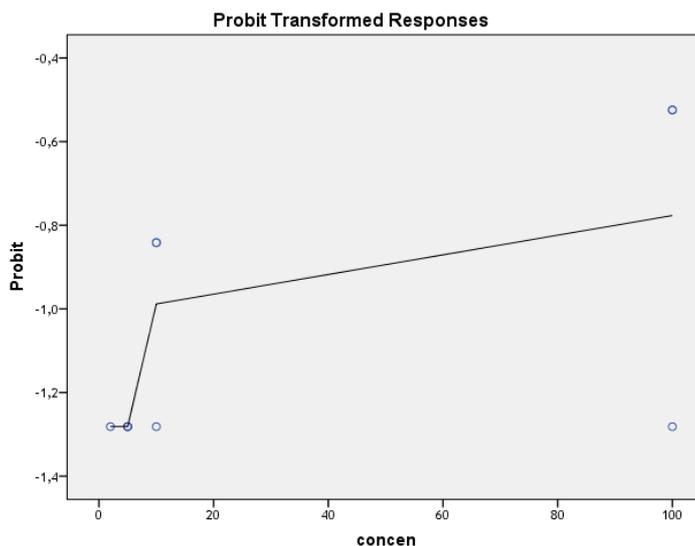
Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos VIVOS				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,471	,833
2,00	,00	-,333	,471	,557
5,00	,00	-1,000	,471	,094
10,00	,00	-1,667	,471	,008
100,00	,00	-2,333	,471	,001

LOEC = 10 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

Confidence Limits					
	ensayo	Probability	95% Confidence Limits for concen		
			Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	1	,010	-76,621	-294,031	-27,297
		,020	-47,322	-210,231	-7,698
		,030	-28,734	-157,876	5,551
		,040	-14,750	-119,312	16,338
		,050	-3,375	-88,862	26,031
		,060	6,306	-64,015	35,353
		,070	14,795	-43,481	44,778
		,080	22,396	-26,509	54,630
		,090	29,308	-12,562	65,079
		,100	35,671	-1,155	76,128
		,150	62,016	33,001	134,949
		,200	82,954	51,550	190,294
		,250	100,917	65,127	240,111
		,300	117,048	76,445	285,724
		,350	131,996	86,511	328,412
		,400	146,180	95,823	369,160
		,450	159,903	104,679	408,736
		,500	173,409	113,289	447,791
		,550	186,915	121,820	486,924
		,600	200,638	130,426	526,750
,650	214,822	139,271	567,965		
,700	229,770	148,547	611,443		
,750	245,901	158,517	658,404		
,800	263,864	169,580	710,735		
,850	284,802	182,434	771,776		
,900	311,147	198,559	848,626		
,910	317,510	202,447	867,195		
,920	324,422	206,669	887,369		
,930	332,023	211,308	909,555		



	,940	340,512	216,485	934,336
	,950	350,194	222,387	962,603
	,960	361,568	229,316	995,817
	,970	375,552	237,827	1036,657
	,980	394,141	249,133	1090,955
	,990	423,439	266,933	1176,554



NO HAY CL50 PORQUE LOS VALORES SON MUY ELEVADOS, SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN ESTIMADA.

PHASEOLUS VULGARIS PTAR SEGUNDO MUESTREO

ANOVA					
organismos VIVOS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19,611	5	3,922	35,300	,000
Within Groups	1,333	12	,111		
Total	20,944	17			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos No inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,272	,833
2,00	,00	-,333	,272	,333
5,00	,00	-1,000	,272	,006
10,00	,00	-1,333	,272	,001
100,00	,00	-3,000	,272	,000

LOEC = 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NOEC= 2 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO



IGUAL QUE PARA EL PRIMER Y TERCER MUESTREO NO HAY CL50 PORQUE LOS VALORES SON MUY ELEVADOS, SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN ESTIMADA.

PHASEOLUS VULGARIS PTAR TERCER MUESTREO

ANOVA					
organismos VIVOS					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22,444	5	4,489	16,160	,000
Within Groups	3,333	12	,278		
Total	25,778	17			

Sig = 0,000 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos VIVOS				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,430	,833
2,00	,00	,000	,430	,833
5,00	,00	-,667	,430	,221
10,00	,00	-1,667	,430	,004
100,00	,00	-3,000	,430	,000

LOEC = 10 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

IGUAL QUE PARA EL PRIMER Y SEGUNDO MUESTREO NO HAY CL50 PORQUE LOS VALORES SON MUY ELEVADOS, SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN ESTIMADA.

PHASEOLUS VULGARIS INICIO Y FIN DE PARQUE INDUSTRIAL PRIMERO – SEGUNDO Y TERCER MUESTREO No hay efecto tóxico ni siquiera a la concentración al 100 %
ZEA MAYS PTAR PRIMER MUESTREO

ANOVA					
organismos VIVOS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13,778	5	2,756	8,267	,001
Within Groups	4,000	12	,333		
Total	17,778	17			

Sig = 0,001 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos VIVOS				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,471	,833
2,00	,00	-,333	,471	,557
5,00	,00	-1,000	,471	,094
10,00	,00	-1,667	,471	,008
100,00	,00	-2,333	,471	,001

LOEC = 10 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO



NO HAY CL50 PORQUE LOS VALORES SON MUY ELEVADOS, SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN ESTIMADA.

ZEA MAYS PTAR SEGUNDO MUESTREO

ANOVA					
organismos VIVOS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20,500	5	4,100	8,200	,001
Within Groups	6,000	12	,500		
Total	26,500	17			

Sig = 0,001 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,577	,833
2,00	,00	,000	,577	,833
5,00	,00	-,333	,577	,615
10,00	,00	-2,333	,577	,003
100,00	,00	-2,333	,577	,003

LOEC = 10 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO HAY CL50 PORQUE LOS VALORES SON MUY ELEVADOS, SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN ESTIMADA.

PTAR TERCER MUESTREO

ANOVA					
organismos VIVOS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22,944	5	4,589	9,178	,001
Within Groups	6,000	12	,500		
Total	28,944	17			

Sig = 0,001 al menos una de las concentraciones de aluminio tuvo efecto tóxico sobre la LACTUCA SATIVA

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: organismos no inhibidos				
Dunnnett t (<control)				
(I) % concentración Al	(J) % concentración Al	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
1,00	,00	,000	,577	,833
2,00	,00	,000	,577	,833
5,00	,00	-,667	,577	,361
10,00	,00	-2,333	,577	,003
100,00	,00	-2,667	,577	,001

LOEC = 10 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO NOEC= 5 % CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO

NO HAY CL50 PORQUE LOS VALORES SON MUY ELEVADOS, SUPERAN EL 100% DE LA CONCENTRACIÓN ESTIMADA.



ANEXO 8 TABLA Límites de descarga al sistema de alcantarillado público determinado por la Norma Ecuatoriana (Tulas)

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	100
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Acidos o bases que puedan causar contaminación, sustancias explosivas o inflamables.		mg/l	Cero
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Carbonatos	CO ₃	mg/l	0,1



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

ETAPA: Empresa Pública de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento de Cuenca.

M1 = Muestra tomada en un punto referencial en el interceptor del sistema de alcantarillados ubicado en el inicio del parque industrial de la ciudad de Cuenca.

M2 = Muestra tomada en el interceptor del sistema de alcantarillados ubicado en el final del parque industrial de la ciudad de Cuenca.

M3 = Muestra tomada a la llegada de la PTAR de Ucubamba.

PTAR = Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales

CL₅₀ = Concentración Letal media

LOEC = Concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC, por sus siglas en inglés).

NOEC = Concentración a la cual no se observa efecto (NOEC, por sus siglas en inglés).