

**EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE LA INFLUENCIA DE LOS DETERGENTES
PROVENIENTES DEL EFLUENTE DEL RAP DE LA UPB, SOBRE EL
CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Spirodella sp.***

**JUAN MANUEL GUARGUATI AZA
FRANK RAMIREZ MUÑOZ**

Trabajo de grado para optar el título de Ingeniero Sanitario y Ambiental

**Claudia Santoyo
Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERIAS Y ADMINISTRACION
INGENIERIA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2008**

**EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE LA INFLUENCIA DE LOS DETERGENTES
PROVENIENTES DEL EFLUENTE DEL RAP DE LA UPB, SOBRE EL
CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Spirodella sp*,**

**JUAN MANUEL GUARGUATI AZA
FRANK RAMIREZ MUÑOZ**

**Claudia Santoyo
Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERIAS Y ADMINISTRACION
INGENIERIA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2008**

Nota de aceptación:

Firma del Presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

AGRADECIMIENTOS

Queremos manifestar nuestro agradecimiento a nuestra directora de tesis, Dra. Claudia Santoyo, Bióloga y Docente de la Universidad Pontificia Bolivariana, por su colaboración prestada durante la realización de los Bioensayos de Toxicidad realizados, además por su impecable desempeño durante la elaboración del libro final, brindándonos el apoyo y la motivación necesaria para sacar adelante el proyecto.

También, al estadístico Gustavo Calderón Cárdenas, docente de la Universidad Pontificia Bolivariana, por contribuir en la orientación, en el manejo de datos y cálculos estadísticos realizados.

Asimismo, queremos extender nuestro agradecimiento a la facultad de ingeniería ambiental y a la Universidad Pontificia Bolivariana, por el apoyo económico brindado; utilizado para los análisis de laboratorio realizados para esta investigación.

Por último, nos permitimos dar un especial agradecimiento a todos nuestros queridos familiares, amigos y colegas, que estuvieron con nosotros en los momentos de tristezas y alegrías.

*El presente trabajo va dedicado a
nuestros padres, por creer, confiar y
brindar el apoyo incondicional que
necesitamos, durante la realización y
la culminación de nuestro proyecto de
investigación.*

*Juan Manuel Guarquati
Frank Ramírez Muñoz*

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
1. OBJETIVOS	3
1.1. OBJETIVO GENERAL	3
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
2. MARCO TEORICO	4
2.1 CARACTERIZACION DEL AGUA RESIDUAL	5
2.1.1. Muestras de sondeo (puntuales).	6
2.1.2. Muestras compuestas	6
2.1.3 Muestras integradas	6
2.2 CARACTERISTICAS FÍSICAS	8
2.3 CARACTERISTICAS QUIMICAS	8
2.3.1 Grasas y Aceites	9
2.3.2 pH	10
2.3.3 Oxigeno disuelto	10
2.3.4 Demanda bioquímica de oxigeno (DBO).	10
2.3.5 Demanda química de Oxigeno (DQO).	11
2.3.6 Nitrógeno total	11
2.3.7 Fósforo	12
2.3.8 Ortofosfato	12
2.3.9 Polifosfatos	12
2.4 CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS	14
2.4.1 Bacterias	14
2.4.2 Protozoos	14
2.5 CARACTERISTICAS ORGANOLÉPTICAS	15
2.5.1 Olor	15
2.5.2 Color	15

2.6 TIPOS DE TRATAMIENTO	16
2.6.1. Niveles de tratamiento	17
2.7 TRATAMIENTO ACUÁTICO CON MACROFITAS (PLANTAS ACUÁTICAS)	20
2.7.1 Sistemas de tratamiento con lentejas de agua	20
2.7.2. Remoción de nutrientes con <i>Spirodella sp</i>	23
2.7.3. Remoción de bacterias y patógenos con <i>Spirodella sp</i>	25
2.7.4 Operación y mantenimiento de lagunas con <i>Spirodella sp</i>.	25
2.8 DETERGENTES BIODEGRADABLES	28
2.8.1 Contaminación por Detergentes	30
2.8.2 Degradación biológica de los detergentes	32
2.9 PRUEBAS DE TOXICIDAD O BIOENSAYOS	32
2.9.1 Tipos de pruebas o bioensayos	33
2.9.2 Métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad	35
2.9.3 Diseño y Ejecución de los Ensayos de Toxicidad - Fuentes de Variación	36
2.9.4 Diseño Experimental	37
2.9.5 Establecimiento de una relación dosis-respuesta	38
2.9.6 Establecimiento de una relación dosis-respuesta de tipo mortalidad	39
2.9.7 Método PROBIT	39
3.1 ETAPA 1	44
3.1.1 Toma de muestra del agua residual	44
3.2 ETAPA 2	46
3.2.1 Pruebas de toxicidad preliminar	46
3.2.1.2 Diseño experimental	48
3.2.2 Montaje del bioensayo final, para determinar la concentración Efectiva (CE₅₀)	50
3.3 ETAPA 3	52
4. DATOS Y ANALISIS	53
4.1 REALIZACIÓN DEL CULTIVO MADRE	53

4.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD PRELIMINAR	55
4.3 PRUEBA DE TOXICIDAD EXPERIMENTAL	58
4.4 PRUEBA DE TOXICIDAD FINAL	61
4.4.3 Determinación del CI50	63
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	72

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Preservativos y periodos máximos de almacenamiento. Para diferentes parámetros fisicoquímicos del agua residual	7
Tabla 2 se resumen los tratamientos más comúnmente utilizados.	16
Tabla 3. Componentes de la lenteja de agua	22
Tabla 4. Características del contenido del agua	24
TABLA 13.CÁLCULO DE LA CL₅₀ POR EL MÉTODO PROBIT	64
TABLA 14.CÁLCULO DE LA CL₅₀ POR EL MÉTODO PROBIT.	66

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Tratamiento primario y tratamiento secundario en una EDAR	18
Figura 2. Esquema de un humedal con lenteja de agua	21
Figura 3. Lenteja de agua	21
Figura 4. Relación dosis-respuesta	35
Figura 5. Flujo grama de la metodología	43
Figura 6. Cultivo madre principal	44
Figura 7. Toma de la muestra	45
Figura 8. Montaje con agua residual	47
Figura 9. Montaje con agua de cultivo	47
Figura 10. Montaje de control	48
Figura 11. Montaje bioensayos agua residual	49
Figura 12. Montaje bioensayos agua de cultivo	49
Figura 13. Montaje de control	50
Figura 14. Montaje del bioensayo final con agua residual	51
Figura 15. Montaje del bioensayo final con agua de cultivo	51
Figura 16. Montaje del cultivo madre inicial	53
Figura 17. Cultivo madre principal	54
Figura 18. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo preliminar con agua residual en diferentes concentraciones del toxico.	56
Figura 19. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo preliminar con agua de cultivo en diferentes concentraciones del toxico.	57
Figura 22. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo experimental con agua residual en diferentes concentraciones del toxico.	59
Figura 23. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo experimental con agua de cultivo en diferentes concentraciones del toxico.	60

Figura 26. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo final con agua residual en diferentes concentraciones del toxico.	62
Figura 27. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo final con agua de cultivo en diferentes concentraciones del toxico.	63
Figura 28. Grafica para la determinación del CL₅₀ en el bioensayo final con agua residual.	65
Figura 29. Grafica para la determinación del cl₅₀ en el bioensayo final con agua de cultivo.	66

LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Informe del Diario Oficial de la Unión Europea	73
Anexo B Reportes de resultados del laboratorio de aguas, de los parámetros analizados en cada uno de los bioensayos	96
Anexo C. Registro fotográfico de los montajes de los bioensayos.	99
Anexo D. Resultados de los bioensayos de toxicidad.	102
Anexo E Cálculos de los intervalos de confianza para el CE50	132

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE LA INFLUENCIA DE LOS DETERGENTES PROVENIENTES DEL EFLUENTE DEL RAP DE LA UPB, SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Spirodella sp.*

AUTOR(ES): Juan Manuel Guarguati aza
Frank Ramírez Muñoz

FACULTAD: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): Claudia Santoyo

RESUMEN

La contaminación de las aguas a nivel mundial ha incrementado si se compara con años anteriores, provocados por el vertimiento en ríos, lagos, y océanos, de materiales químicos, físicos o biológicos, que degradan la calidad de agua y afectan organismos que viven en ella. Dentro de los compuestos químicos se encuentran los detergentes, que son ampliamente utilizados en la industria y hogar, causantes de la contaminación de las aguas por su lenta biodegradación de algunos de sus compuestos, como son los alquilbencenosulfonatos de cadena ramificada que se encuentran en los blanqueadores, perfumes y agentes espumantes. Además, ocasionan reducción en la concentración de oxígeno del agua y acumulación de fosfatos. Por lo tanto el presente estudio tiene por objetivo determinar el grado de efecto, crónico o subletal de un detergente doméstico biodegradable provenientes del lavado de la Universidad Pontificia Bolivariana, en el desarrollo y crecimiento de la planta del género *Spirodella sp.*, utilizada como tratamiento de aguas residuales. La forma de determinar el grado de afectación, es mediante el desarrollo de bioensayos de toxicidad en condiciones controladas, utilizando agua residual del efluente del Reactor Flujo a Pistón de la UPB y con agua de cultivo como control, sometiendo el organismo vegetal indicador a diferentes concentraciones del detergente utilizado en las labores de lavado de la Universidad. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente aplicando el método Probit lo que permitió determinar la CE50. La CE50 en agua residual fue de 50.11 mg/L y en agua de cultivo fue de 158.48 mg/L, lo que indica que las concentraciones del detergente presentes en las aguas residuales de la universidad no

afectan directamente la planta. El posible tóxico causante del buen crecimiento y desarrollo de la ***Spirodella sp***, es el nitrógeno, debido a las altas concentraciones determinadas en el agua residual.

PALABRAS *Spirodella*, lenteja de agua, nitrógeno total, método
CLAVES: probit.

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: TOXICOLOGICAL EVALUATION OF THE INFLUENCE OF DETERGENTS FROM THE EFFLUENTS FROM THE UPB OF THE RAP ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT *Spirodella sp.*

AUTOR(ES): Juan Manuel Guarguati aza
Frank Ramírez Muñoz

FACULTAD: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): Claudia Santoyo

RESUMEN

The pollution of waters worldwide has increased when compared with previous years, caused by the dumping into rivers, lakes, and oceans, chemical, biological or physical, that degrade water quality and affect organisms that live in it. Within the chemical compounds are detergents, which are widely used in industry and homes, causing water pollution by their slow biodegradation of some of their compounds, such as alkylbenzenesulfonates branched-chain that are in laundries, perfumes and blowing agents. In addition, they are causing reduction in the concentration of oxygen in the water and accumulation of phosphates. Therefore the present study aims to determine the degree of effect, chronic or sublethal of a domestic biodegradable detergent from the washing of the Universidad Pontificia Bolivariana, in the development and growth of the plant of the genus *Spirodella sp.*, used as water treatment waste. The way to determine the degree of affectation, is by developing toxicity bioassays under controlled conditions, using wastewater effluent to flow Reactor Pistons of the UPB and water cultivation as a control, subjecting the body to different concentrations of the detergent used in washing working of the University plant. The data were statistically analyzed using the method Probit to determine which allowed the EC50. The EC50 in wastewater was 50.11 mg / L and water cultivation was 158.48 mg / L, indicating that concentrations of detergent present in wastewater from the university does not directly affect the plant. The possible toxic cause of good growth and development of *Spirodella sp.* is nitrogen, due to high

concentrations in certain waste water.

PALABRAS *Spirodella*, lentils, water, nitrogen total, method
CLAVES: probit.

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

INTRODUCCION

Los problemas de deterioro ambiental que cada país tiene varían de acuerdo con su nivel de desarrollo, su estructura económica y las leyes de protección ambiental que cumpla. Son diversas las razones por las cuales el hombre utiliza inadecuadamente los recursos naturales, provocando daños irreversibles en el medio ambiente.

Con o sin desarrollo económico, el rápido crecimiento de la población mundial hace más difícil el control del deterioro ambiental y contribuye a aumentarlo.

En caso particular la contaminación de las aguas a nivel mundial ha incrementado si se compara con años anteriores, provocados por el vertimiento en ríos, lagos, y océanos, de materiales químicos, físicos o biológicos, que degradan la calidad de agua y afectan organismos que viven en ella. Se puede tratar de una simple adición de sólidos disueltos o suspendidos o de la liberación a las aguas de tóxicos persistentes como los pesticidas, los metales pesados y los compuestos químicos no biodegradables y bioacumulativos.

Dentro de los compuestos químicos se encuentran los detergentes, que son ampliamente utilizados en la industria y hogar, causantes de la contaminación de las aguas por su lenta biodegradación de algunos de sus compuestos, como son los alquilbencenosulfonatos de cadena ramificada que se encuentran en los blanqueadores, abrillantadores ópticos, perfumes, bactericidas y agentes espumantes. Además, ocasionan reducción en la concentración de oxígeno del agua y acumulación de fosfatos.

Por lo tanto es necesario implementar tratamientos avanzados que alcancen un porcentaje de remoción de estos compuestos y permitan la reutilización del agua.

El tratamiento de las aguas residuales es una necesidad de la sociedad moderna debido al peligro ambiental que se presenta actualmente. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo los métodos convencionales para el tratamiento de las aguas residuales son impracticables, debido a sus altos costos de operación y mantenimiento, motivo por el cual es necesario buscar métodos económicamente factibles.

Se han planteado, desarrollado y evaluado una gran variedad de tecnologías en el tratamiento del agua para la eliminación de algunos compuestos presentes en ella; una alternativa de tratamiento de bajo costo es la utilización de plantas acuáticas, que consiste en la remoción de sustancias biodegradables, no biodegradables, nutrientes, sustancias tóxicas y microorganismos patógenos, en donde la planta actúa como filtro biológico.

Los efectos de los tóxicos presentes en el agua sobre las comunidades acuáticas son determinados mediante bioensayos de toxicidad letal y, subletales a condiciones controladas de laboratorio, utilizando organismos modelo, que tengan características tales como el ser de amplia distribución y susceptibles a los tóxicos. Algunos de los efectos que provocan los tóxicos en los organismos acuáticos son la muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos y fisiológicos.

Por lo tanto el presente estudio tiene por objetivo determinar el grado de efecto, crónico o subletal de un detergente doméstico biodegradable provenientes del lavado de la Universidad Pontificia Bolivariana, en el desarrollo y crecimiento de la planta del género ***Spirodella sp***, utilizada como tratamiento de aguas residuales.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar mediante el desarrollo de un bioensayo, el efecto tóxico de los detergentes provenientes del lavado de la Universidad Pontificia Bolivariana, en el desarrollo y crecimiento de la planta del género ***Spirodella sp***, utilizada como tratamiento de aguas residuales.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar un cultivo madre del material vegetal a utilizar en el montaje y desarrollo de los ensayos.
- Determinar el intervalo de concentración inicial de las aguas residuales de lavado para el montaje del ensayo definitivo, desarrollando una prueba de toxicidad preliminar.
- Determinar la concentración efectiva (CE_{50}) de la sustancia problema, mediante el montaje de bioensayos finales.
- Analizar los resultados obtenidos mediante la aplicación de técnicas estadísticas.

2. MARCO TEORICO

El agua es el compuesto químico más abundante del planeta e importante para la supervivencia de los seres vivos debido a que es el compuesto de mayor abundancia en los individuos e importante para el desarrollo de los procesos metabólicos.

En la actualidad el agua que procede de fuentes superficiales (ríos, lagos y quebradas), es objeto día a día de una severa contaminación, producto de las actividades diarias del hombre, incidiendo negativamente en la calidad del agua.

Esta contaminación ha adquirido importancia debido al aumento de la población y al incremento de los agentes contaminantes que el propio hombre ha creado.

Las fuentes de contaminación son resultados indirectos de las actividades domésticas, industriales o agrícolas, ocasionando en los cuerpos de agua la desaparición de la vegetación natural, disminución de la cantidad de oxígeno, ocasionando la muerte de los peces y demás animales acuáticos.

Por lo tanto, hoy las aguas se encuentran contaminadas, si el hombre no modifica su comportamiento y continúa ocasionando deterioros irreversibles en él, sencillamente estará provocando la desaparición de la vida en la tierra y por consiguiente la desaparición de la humanidad.

La mayoría de los vertidos de aguas residuales que se hacen en el mundo no son tratados. Simplemente se descargan en el río, mar o lago más cercano y se deja que los sistemas naturales, con mayor o menor eficacia y riesgo, degraden los desechos de forma natural. En los países desarrollados una proporción, cada vez

mayor, de los vertidos es tratada antes de que lleguen a los ríos o mares en EDAR (estaciones depuradoras de aguas residuales).¹

El objetivo de estos tratamientos es, en general, reducir la carga de contaminantes del vertido y convertirlo en inocuo para el medio ambiente. Para cumplir estos fines se usan distintos tipos de tratamiento dependiendo de los contaminantes que arrastre el agua y de otros factores más generales, como localización de la planta depuradora, clima, ecosistemas afectados, etc.

En la actualidad, se llevan a cabo monitoreos ambientales que se basan en técnicas de diagnóstico, con el propósito de realizar la caracterización correspondiente del agua residual.

2.1 CARACTERIZACION DEL AGUA RESIDUAL

La determinación de las diferentes propiedades físico-químicas y biológicas del agua residual permite inferir posibles tipos de tratamiento aplicables in situ. La caracterización se realiza mediante toma de muestras cuyo objetivo es la obtención de una porción del material, cuyo volumen sea lo suficientemente pequeño como para que se pueda transportar con facilidad; y que además contenga la concentración relativa de todos los compuestos del agua.

Con base en lo mencionado se define el tipo de muestra (puntual, integral y compuesta), la forma de colección (muestreo automático o manual), el equipo de muestreo (bombas, recipientes, preservantes, etcétera) y los procedimientos especiales a seguir, según el tipo de análisis que se pretenda realizar.

Dentro de los diferentes tipos de muestras se encuentran:

¹ ACOT, PASCAL. Historia de la ecología. Madrid: Taurus Ediciones S.A., 1990

2.1.1. Muestras de sondeo (puntuales). Son muestras simples recogidas en un lugar y momento determinado; solo pueden representar la composición de la fuente en ese momento y lugar.

2.1.2. Muestras compuestas. Se refiere a una mezcla de muestras sencillas recogidas en el mismo punto en distintos momentos. Se utilizan para calcular la carga o la eficiencia de una planta de tratamiento de aguas residuales. Las muestras compuestas representan un ahorro sustancial de trabajo y gastos de laboratorio. Con este objeto, se considera como un estándar para la mayoría de los análisis de una muestra compuesta que represente un periodo de 24 horas.²

2.1.3 Muestras integradas. Este tipo de muestra es aquella mezcla de muestras individuales recogidas en distintos puntos al mismo tiempo o con la menor separación temporal que sea posible. Se utilizan generalmente en ríos o corrientes cuya composición varía según la anchura y la profundidad.

Existen dos métodos para la toma de muestras, toma manual y toma automática; En la toma de muestra manual no se utiliza equipo alguno pero puede resultar demasiado costoso en tiempo y dinero para programas de toma rutinaria a gran escala. En la toma de muestras automática se pueden eliminar los errores humanos debidos a la manipulación de la muestra. En este método se utilizan aparatos automáticos especializados, que proporcionan la facilidad de hacer tomas con mayor frecuencia.³

Un factor importante dentro del muestreo que permite garantizar la integridad física, química y biológica de la muestras es su preservación. Las técnicas de

² STÁNDAR METHODS for examination of water and wastewater, 20th Ed .1998, APHA AWWA. P1-36, 1-37

³ Ibid. , p 1 - 40

preservación retardan lo cambios químicos y biológicos que pueden transcurrir entre la toma de la muestra y el análisis de las mismas.

Los métodos de preservación generalmente limitan al control de pH, adición de compuestos químicos, refrigeración y congelación. En la **tabla 1** se presentan los preservativos y periodos máximos de almacenamiento para diferentes parámetros fisicoquímicos del agua residual.

Tabla 1. Preservativos y periodos máximos de almacenamiento. Para diferentes parámetros fisicoquímicos del agua residual

PARÁMETRO	PRESERVATIVO	PERIODO MÁXIMO DE ALMACENAMIENTO
Acidez-alcalinidad	Refrigeración a 4°C	24 h
Color	Refrigeración a 4°C	24 h
DBO	Refrigeración a 4°C	6 h
DQO	2 ml de H ₂ SO ₄ /l	7 d
Fosforo	40 mg HgCL ₂ /l	7 d
Nitritos	40 mg HgCL ₂ /l	2 d
Nitratos	40 mg HgCL ₂ /l	7 d
Nitrógeno amoniacal	40 mg HgCL ₂ /l a 4°C	7 d
Nitrógeno Kendal	40 mg HgCL ₂ /l	inestable
OD	Determinar in situ	ninguno
Sólidos	ninguno	ninguno
Sulfatos	Refrigeración a 4°C	7 d
Sulfuros	2 ml de acetato de zinc/l	7 d
turbiedad	ninguno	7 d
PH	Determinar in situ	7 d

Fuente: G., SANCHEZ, J. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físico-químicos Tercera edición. Cartagena, 1993

Algunas de las características que se tienen en cuenta para determinar la calidad del agua son:

2.2 CARACTERISTICAS FÍSICAS

Las características físicas más importantes del agua residual son:

- Color
- Olor y sabor
- Temperatura
- Materiales en suspensión
- Radiactividad
- Espumas
- Conductividad
- Sólidos disueltos
- Sólidos suspendidos
- Sólidos volátiles
- Sólidos totales
- Sólidos sedimentables⁴

2.3 CARACTERISTICAS QUIMICAS

Los constituyentes químicos de las aguas residuales son aquellas que debidas a la presencia de compuestos químicos y que alteran la composición de la misma, se encuentran clasificados en orgánicos e inorgánicos, las cuales son las características más relevantes para el estudio de las aguas contaminadas. Se encuentran clasificadas de la siguiente manera:

- pH
- Oxígeno disuelto OD

⁴ ROMERO ROJAS Jairo, Tratamiento de Aguas Residuales. Teoría y Principios de Diseño. Bogotá: Escuela Colombiana de Ingeniería, segunda edición. 2002. p 18

- Materia orgánica biodegradable: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)
- Materiales oxidables: Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- Nitrógeno total
- Fósforo total
- Aniones:
 - cloruros
 - nitratos
 - nitritos
 - fosfatos
 - sulfuros
 - cianuros
 - fluoruros
- Cationes:
 - sodio
 - calcio y magnesio
 - amonio
 - metales pesados
- Compuestos orgánicos

2.3.1 Grasas y Aceites. Se consideran grasas y aceites los compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno que flotan en el agua residual, recubren la superficie con las cuales entran en contacto, causan iridiscencia y problemas de mantenimiento, e interfieren con la actividad biológica pues son difíciles de biodegradar.

Los aceites y grasas de origen animal y vegetal son comúnmente biodegradables y aun en forma emulsificada, pueden tratarse en plantas de tratamiento biológico.

Aquellos de origen mineral pueden ser no biodegradables y requieren pretratamiento para ser removidos antes del tratamiento biológico.⁵

2.3.2 pH. Es una medida de la concentración de iones hidrogeno en el agua. Valores de pH inferiores a 7 indican carácter ácido y superiores carácter básico. La escala completa de pH va de 0 – 14.

El pH es importante para determinar la tratabilidad biológica del agua debido a que los organismos presentan una tolerancia muy pequeña ante los cambios de pH.⁶

2.3.3 Oxígeno disuelto. Es un gas de baja solubilidad en el agua, requerido para la vida acuática aerobia.

La solubilidad del oxígeno atmosférico en agua dulce oscila entre 7 mg/l a 35 °C y 14.6 mg/l a 0 °C para presión de 1 atmósfera. La baja disponibilidad de oxígeno limita la capacidad de autodepuración de los cuerpos de agua. El contenido general de OD en aguas residuales urbanas es de 1.0 a 3.0 mg/l⁷ y su concentración de saturación es función de la temperatura de la presión atmosférica y de la salinidad del agua.

2.3.4 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Representa la cantidad de oxígeno necesario que requieren los microorganismos para estabilizar biológicamente la materia orgánica contenida en una muestra de agua incubada durante 5 días a 20 °C y su valor numérico es expresado en mg/l O₂.⁸

La DBO₅ es el parámetro más usado para medir la calidad de aguas residuales y superficiales para determinar la cantidad de oxígeno requerido para estabilizar

⁵ ROMERO Rojas. OP. cit., p. 59

⁶ Crites & Tchobanoglous. Op. Cit. 2.001. p. 23

⁷ Monografías de la secretaria de estado para las políticas del agua y medio ambiente. Op. Cit., p. 23

⁸ Ibid., p. 21

biológicamente la materia orgánica del agua, para diseñar unidades de tratamiento biológico, para evaluar la eficiencia de los procesos de tratamiento, para fijar las cargas orgánicas permisibles en fuentes receptoras y determinar el tipo de concentración presente en el agua residual según la carga.

2.3.5 Demanda química de Oxígeno (DQO). Esta medida estima el oxígeno necesario para oxidar químicamente con un agente químico fuerte, generalmente dicromato de potasio, la materia orgánica contenida en el agua residual, por lo general en un medio ácido y alta temperatura.⁹

El valor de la DQO suele ser mayor que el de la DBO, debido a que la oxidación de materia orgánica por medios químicos es más completa que la que se lleva a cabo por vía biológica.¹⁰

Para aguas residuales no tratadas la relación entre DBO_5 y DQO es la siguiente $DBO_5/DQO = 0.5$ es decir, la DQO es aproximadamente el doble de la DBO_5 .¹¹

Las ventajas de la DQO en relación con la DBO_5 son la rapidez del ensayo (dos horas en lugar de cinco días) y la mayor fiabilidad y reproducibilidad de la técnica de medida.¹²

2.3.6 Nitrógeno total. Este se encuentra conformado por el amoniacal más el nitrógeno orgánico. En aguas residuales domésticas la concentración de el puede ser 30 a 100 mg/l y la de nitrógeno amoniacal de 5 a 20 mg/l.¹³ El exceso de Nitrógeno en las plantas ocasionan la debilidad en sus tejidos, por lo tanto son

⁹ ROMERO, Op. Cit., p. 54

¹⁰ Metcalf y Eddy. Op. cit., p.93

¹¹ Monografías de la secretaria de estado para las políticas del agua y medio ambiente. Op. Cit., p. 22.

¹² Romero J. 2000

¹³ Ibid., p. 62.

más propensas a las plagas y enfermedades. También son más sensibles a las plagas; y además se disminuye la absorción de nutrientes.¹⁴

2.3.7 Fósforo. Es esencial para el crecimiento de algas y otros organismos biológicos. Debido a que en aguas superficiales tienen lugar nocivas proliferaciones incontroladas de algas, actualmente existe mucho interés en limitar la cantidad de compuestos de fósforo que alcanzan las aguas superficiales por medio de vertidos de aguas residuales domésticas, industriales, y a través de escorrentías naturales. Las formas más frecuentes en las que se encuentra el fósforo en soluciones acuosas incluyen el ortofosfato, el polifosfato y los fosfatos orgánicos.

2.3.8 Ortofosfato. Los ortofosfatos son aptos para el metabolismo biológico sin que sea necesaria una ruptura posterior, es decir resultan directamente utilizables por los microorganismos.¹⁵

2.3.9 Polifosfatos. Se incluyen aquellas moléculas con dos o más átomos de fósforo, átomos de oxígeno y en algunos casos átomos de hidrógeno combinados en moléculas complejas. Estos sufren hidrólisis en soluciones acuosas y se convierten en ortofosfatos, sin embargo el proceso de hidrólisis es con frecuencia bastante lento.¹⁶

En aguas residuales domésticas el contenido de fósforo oscila entre 6 y 20 mg/l, aunque este rango puede variar, pero sin embargo puede encontrarse contenidos de fósforo entre 4 y 12 mg/l para aguas residuales del mismo tipo.¹⁷

¹⁴ Caicedo j. r. 1, n. p. van der steen2, o. arce3 and h. j. gijzen2*m. effect of total ammonia nitrogen concentration and ph on growth rates of duckweed (spirodela polyrrhiza)

¹⁵ Depuración por lagunaje de aguas residuales. Monografías de la secretaria de estado para las políticas del agua y medio ambiente. Op. Cit., p. 24. Ferreiro, D. (1991.)

¹⁶ CRITES et al. Op. Cit., p. 52

¹⁷ Romero J. 2000

En la **tabla 2** se muestran las concentraciones permisibles para los contaminantes físico – químicos en un agua residual.

Tabla 2. Concentración permisible para contaminantes físico – químicos de un agua residual

Contaminantes	Concentración		
	Unidad	Intervalo	Valor usual
Sólidos totales	mg/L	350-1200	700
Sólidos disueltos totales	mg/L	280-850	500
Fijos	mg/L	145-525	300
Volátiles	mg/L	105-325	200
Sólidos suspendidos totales	mg/L	100-350	210
Fijos	mg/L	20-75	55
Volátiles	mg/L	80-275	160
Sólidos sedimentables	mL/L	5-20	10
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	mg/L	110-400	210
Carbono orgánico total (COT)	mg/L	80-290	160
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	250-1000	500
Nitrógeno total	mg/L	20-85	35
Orgánico	mg/L	8-35	13
Amoniaco libre	mg/L	12-50	22
Nitritos	mg/L	0-0	0
Nitratos	mg/L	0-0	0
Fósforo total	mg/L	4-15	7
Orgánico	mg/L	1-5	2
Inorgánico	mg/L	3-10	5
Cloruros	mg/L	30-100	50
Sulfatos	mg/L	20-50	30
Grasas y aceites	mg/L	50-150	90
Compuestos orgánicos volátiles	mg/L	<100 a >400	100-400
Coliformes totales	No./100mL	10^6 - 10^9	10^7 - 10^8
Coliformes fecales	No./100mL	10^3 - 10^7	10^4 - 10^5

Fuente: ROMERO ROJAS Jairo, Tratamiento de Aguas Residuales. Teoría y Principios de Diseño. Bogotá: Escuela Colombiana de Ingeniería, segunda edición. 2002.

2.4 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

Las características biológicas de las aguas residuales son de fundamental importancia en el control de enfermedades causadas por organismos patógenos de origen humano y por el papel activo y fundamental de las bacterias y otros microorganismos dentro de la descomposición y estabilización de la materia orgánica, bien sea en el medio natural o en plantas de tratamiento de aguas residuales.¹⁸

2.4.1 Bacterias. Son los organismos vivos más pequeños, sus actividades son esenciales para la supervivencia de otras especies. Las bacterias son importantes para el medio ambiente, ya que tienen la capacidad de transformar una gran variedad de contaminantes inorgánicos y orgánicos en minerales inocuos que pueden ser reciclados al medio ambiente.

Las bacterias disponen de la capacidad de oxidar a muchos productos orgánicos sintetizados industrialmente, lo mismo que a los producidos naturalmente por medio de proceso biológicos normales, por lo que, a tal propósito, se utilizan bacterias en plantas de tratamiento de aguas residuales.

2.4.2 Protozoos. Son ingredientes corrientes en sistemas ecológicos complejos como los de muchos sistemas de tratamiento de aguas residuales aerobios y algunos anaerobios. Se alimentan bacterias y otros pequeños organismos de materia orgánica. En sistemas de tratamiento biológicos, los protozoos actúan limpiando corrientes de efluentes ayudando a eliminar las partículas finas de materia. Los protozoos pueden servir también como indicadores de la presencia de materias tóxicas a las que muchos de ellos son particularmente sensibles.¹⁹

¹⁸ CRITES & TCHOBANOGLOUS. OP. cit . 2001., p. 74

¹⁹ RITTMANN Bruce, McCARTY Perry. Biotecnología del Medio Ambiente. Principios y aplicaciones .Madrid: Mc Graw Hill. Primera Edición. 2001. p. 7, 29.

2.5 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Las características organolépticas se distinguen por que son detectadas a través de los sentidos y entre ellas se encuentran el olor y el color.

2.5.1 Olor. El olor de un agua residual fresca es en general inofensivo, pero una gran variedad de compuestos malolientes son liberados cuando se produce la degradación biológica, bajo condiciones anaerobias de las aguas residuales. El principal compuesto de olor indeseable es el Sulfuro de Hidrógeno.²⁰

2.5.2 Color. El color en aguas residuales es causado por sólidos suspendidos, material coloidal y sustancias en solución.²¹

El color causado por sólidos suspendidos se llama color aparente, mientras que el color causado por sustancias disueltas y coloidales se denomina color verdadero.

Entre los diversos contaminantes de las aguas se encuentran los detergentes domésticos, sean éstos biodegradables o no. Los detergentes biodegradables se caracterizan por presentar una cadena carbonada no ramificada, con lo que facilitan la biodegradación por los microorganismos y disminuyen el efecto tóxico, en la biota acuática. A pesar de esto, es importante el tiempo de inicio del proceso de biodegradación, pues si éste es lo suficientemente largo causaría efectos subletales.

²⁰ CRITES & TCHOBANOGLOUS. OP. cit ., p. 44.

²¹ Ibid., p. 42.

2.6 TIPOS DE TRATAMIENTO

Existen diferentes tipos de tratamiento de las aguas residuales para lograr retirar contaminantes. Se pueden usar desde sencillos procesos físicos como la sedimentación, en la que se deja que los contaminantes se depositen en el fondo por gravedad, hasta complicados procesos químicos, biológicos o térmicos. En la **tabla 3** se resumen los tratamientos más comúnmente utilizados.

Tabla 3. Tipos de tratamiento para las aguas residuales.

FÍSICOS	QUÍMICOS	BIOLÓGICOS
• Sedimentación. • Flotación.- Natural o provocada con aire. • Filtración.- Con arena, carbón, cerámicas, etc. • Evaporación. • Adsorción.- Con carbón activo, zeolitas, etc. • Desorción (Stripping). Se transfiere el contaminante al aire (ej. amoníaco). • Extracción.- Con líquido disolvente que no se mezcla con el agua.	• Coagulación-floculación.- Agregación de pequeñas partículas usando coagulantes y floculantes (sales de hierro, aluminio, polielectrolitos, etc.) • Precipitación química.- Eliminación de metales pesados haciéndolos insolubles con la adición de lechada de cal, hidróxido sódico u otros que suben el pH. • Oxidación-reducción.- Con oxidantes como el peróxido de hidrógeno, ozono, cloro, permanganato potásico o reductor como el sulfito sódico. • Reducción electrolítica.- Provocando la deposición en el electrodo del contaminante. Se usa para recuperar elementos valiosos. • Intercambio iónico.- Con resinas que intercambian iones. Se usa para quitar dureza al agua. • Osmosis inversa.- Haciendo pasar al agua a través de membranas semipermeables que retienen los contaminantes disueltos.	• Lodos activos.- Se añade agua con microorganismos a las aguas residuales en condiciones aerobias (burbujeo de aire o agitación de las aguas). • Filtros bacterianos.- Los microorganismos están fijos en un soporte sobre el que fluyen las aguas a depurar. Se introduce oxígeno suficiente para asegurar que el proceso es aerobio. • Biodiscos.- Intermedio entre los dos anteriores. Grandes discos dentro de una mezcla de agua residual con microorganismos facilitan la fijación y el trabajo de los microorganismos. • Lagunas aireadas.- Se realiza el proceso biológico en lagunas de grandes extensiones. • Degradación anaerobia.- Procesos con microorganismos que no necesitan oxígeno para su metabolismo.

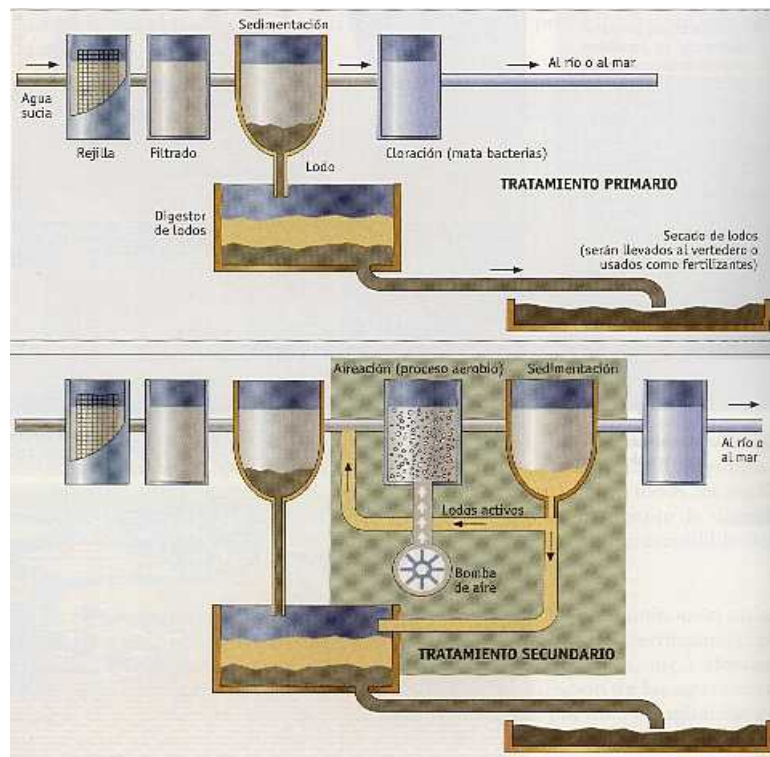
Fuente: ROMERO ROJAS Jairo, Tratamiento de Aguas Residuales. Teoría y Principios de Diseño. Bogotá: Escuela Colombiana de Ingeniería, segunda edición. 2002.

2.6.1. Niveles de tratamiento. Las aguas residuales se pueden someter a diferentes niveles de tratamiento, dependiendo del grado de purificación que se quiera. Es tradicional hablar de tratamiento primario, secundario, etc, aunque muchas veces la separación entre ellos no es totalmente clara. Así se pueden distinguir:

- **Pretratamiento:** Es un proceso en el que usando rejillas y Cribas se separan restos voluminosos como palos, telas, plásticos, etc.
- **Tratamiento primario:** Hace sedimentar los materiales suspendidos usando tratamientos físicos o físico-químicos. En algunos casos dejando, simplemente, las aguas residuales un tiempo en grandes tanques o, en el caso de los tratamientos primarios mejorados, añadiendo al agua contenida en estos grandes tanques, sustancias químicas que hacen más rápida y eficaz la sedimentación. También se incluyen en estos tratamientos la neutralización del pH y la eliminación de contaminantes volátiles como el amoníaco (desorción). Las operaciones que incluye son el desaceitado y desengrase, la sedimentación primaria, la filtración, neutralización y la desorción (stripping).
- **Tratamiento secundario:** Elimina las partículas coloidales y similares. Puede incluir procesos biológicos y químicos. El proceso secundario más habitual es un proceso biológico en el que se facilita que bacterias aerobias digieran la materia orgánica que llevan las aguas. Este proceso se suele hacer llevando el efluente que sale del tratamiento primario a tanques en los que se mezcla con agua cargada de lodos activos (microorganismos). Estos tanques tienen sistemas de burbujeo o agitación que garantizan condiciones aerobias para el crecimiento de los microorganismos. Posteriormente se conduce este líquido a tanques cilíndricos, con sección en forma de tronco de cono, en los que se realiza la decantación de los lodos. Separados los lodos, el agua que sale contiene muchas menos impurezas, como se muestra en el esquema de la **figura 1**.

- **Tratamientos más avanzados:** Consisten en procesos físicos y químicos especiales con los que se consigue limpiar las aguas de contaminantes concretos: fósforo, nitrógeno, minerales, metales pesados, virus, compuestos orgánicos, etc. Es un tipo de tratamiento más caro que los anteriores y se usa en casos más especiales: para purificar desechos de algunas industrias, especialmente en los países más desarrollados, o en las zonas con escasez de agua que necesitan purificarla para volverla a usar como potable, en las zonas declaradas sensibles (con peligro de eutrofización) en las que los vertidos deben ser bajos en nitrógeno y fósforo, etc.²²

Figura 1. Tratamiento primario y tratamiento secundario en una EDAR



Fuente: ACOT, PASCAL. Historia de la ecología. Madrid: Taurus Ediciones S.A., 1990

²² ACOT, PASCAL. Historia de la ecología. Madrid: Taurus Ediciones S.A., 1990.

- **Tratamiento biológico.** La mayor parte de los componentes orgánicos de las aguas residuales sirven como sustrato que proporcionan energía para el crecimiento microbiano. Este es el principio que se utiliza en el tratamiento biológico de los residuos, en donde ciertos microorganismos principalmente bacterias transforman el sustrato en orgánico en dióxido de carbono, agua y células nuevas en presencia o ausencia de oxígeno disuelto.²³

Clases de procesos biológicos:

- **Proceso aerobio:** Son realizados por microorganismos vivos, cuyo metabolismo tiene lugar en presencia de oxígeno disuelto. Los productos finales son principalmente CO_2 y H_2O , con desprendimiento de energía en parte empleada en la formación de nuevos microorganismos.²⁴
- **Procesos anaerobios:** En este los microorganismos transforman la materia orgánica en productos intermedios parcialmente estabilizados que incluyen ácidos orgánicos y alcoholes y finalmente en metano y dióxido de carbono gaseoso.
- **Procesos anoxicos:** Son los que se desarrollan en un ambiente bioquímico en el cual no existe oxígeno molecular, pero existe oxígeno en forma combinada como nitratos y nitritos.²⁵
- **Procesos facultativos:** se caracterizan por poseer una zona aerobia, próxima a la superficie y una zona anaerobia en el fondo. La extensión relativa de estas dos zonas varía en función de la carga contaminante aplicada y de la eficacia de los mecanismos de adición de oxígeno al medio.²⁶

²³ HENRY, et al. Op. Cit., p. 445

²⁴ [http://www.biologia.edu.ar/tesis/forcillo/depuraci%C3%B3n_de_aguas_residuales-htm#tratamiento%20biologicos%20.Republica de Argentina](http://www.biologia.edu.ar/tesis/forcillo/depuraci%C3%B3n_de_aguas_residuales-htm#tratamiento%20biologicos%20.Republica%20de%20Argentina). 1.998- 2.005

²⁵ RAS2000

²⁶ Depuración por lagunaje de aguas residuales Monografías de la secretaria de estado para las políticas del agua y medio ambiente. Op. Cit., p. 35. Ferreiro, D. (1991.)

2.7 TRATAMIENTO ACUÁTICO CON MACROFITAS (PLANTAS ACUÁTICAS)

Las macrofitas se constituyen de diferentes tamaños su vegetación acuática. Comprende las macrofitas, pteridofitas (musgos, helechos) adaptadas a la vida acuática y las angiospermas. Teniendo en cuenta la morfología y fisiología, las macrofitas pueden clasificarse según la forma de fijación en:

1. Macrofitas fijas al sustrato:

- Macrofitas emergentes: en suelos anegados permanentes o temporalmente, en general son plantas con órganos reproductores aéreos.
- Macrofitas de hojas flotantes: principalmente angiospermas, sobre suelos anegados. Los órganos reproductores son flotantes o aéreos.
- Macrofitas sumergidas: comprenden algunos helechos, numerosos musgos y carofitas y muchas angiospermas. Se encuentran en toda la zona fótica (llega la luz), aunque las angiospermas vasculares solo viven hasta 10 cm. de profundidad aproximadamente, sus órganos son aéreos, flotantes o sumergidos.²⁷

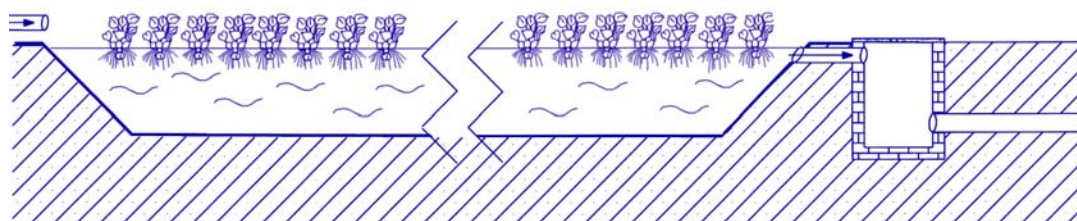
2. Macrofitas flotantes libres presentan formas muy diversas desde plantas de gran tamaño con roseta de hojas aéreas y/o flotantes y con raíces sumergidas bien desarrolladas a pequeñas plantas que flotan en la superficie, con muy pocas raíces o ninguna.

2.7.1 Sistemas de tratamiento con lentejas de agua. Los sistemas con lenteja de agua (*Spirodella sp.*) se diseñaron principalmente para mejorar el efluente de lagunas facultativas, tienen como objeto reducir en forma económica la concentración de contaminantes que de otra manera requieren tratamiento

²⁷ <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Plantacuat.htm.2.002>.

secundario o terciario²⁸. La **figura 2** muestra un esquema de un sistema de tratamiento con lenteja de agua.

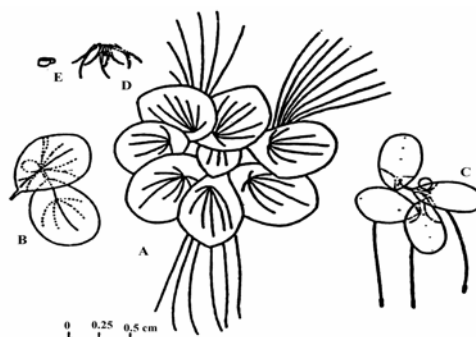
Figura 2. Esquema de un humedal con lenteja de agua



Fuente: FERNÁNDEZ GONZÁLEZ JESÚS. Manual de fitodepuración. Filtros de macrofitas en flotación. Madrid. 2006. p. 83.

Las lentejas de agua son unas diminutas plantas vasculares que flotan libremente en el agua dulce, generalmente de menos de 10 mm de longitud de raíz y con hojas que tienen de 1 a 3 mm de ancho que crecen formando una capa sobre el agua²⁹, como se muestra en la **figura 3**.

Figura 3. Lenteja de agua



Fuente: FERNÁNDEZ GONZÁLEZ JESÚS. Manual de fitodepuración. Filtros de macrofitas en flotación. Madrid. 2006. p. 79.

²⁸ CRITES et al. Op. cit., p. 621.

²⁹ Ibid., p. 622.

Se multiplican mediante reproducción vegetativa y se caracterizan por un rápido crecimiento, debido a que tienen la capacidad de duplicar su biomasa en dos o tres días y tienen un poder nutricional alto.

Pueden remover metales pesados del agua residual y cosecharse mediante desnatadores continuos de correo como los usados para remoción de aceite.

Además son mas tolerantes a los cambios de temperatura y en especial al frío en comparación con los jacintos de agua que necesitan temperaturas de más de 7 °C para mantener el crecimiento.

Cada fronda tiene dos regiones meristemicas que o bien producen nuevas frondas. Los altos índices de crecimiento relativos reflexionan sobre un potencial bueno para la respuesta nutritiva. La respuesta de sustancias nutritivas del agua es muy eficiente porque la planta entera es usada por esta razón, mientras que otras plantas más altas sólo usan el sistema de raíz. La absorción de sustancias nutritivas y agua es hecha principalmente por la epidermis inferior de las frondas.

El contenido de proteína de la lenteja de agua, es uno de los más altos dentro del reino de las plantas, con un contenido de proteína del 40 %. El alto contenido de aminoácidos, enzimas, vitaminas y bajo contenido de fibras hace la lenteja de agua una planta de buenas características. A continuación se muestra los componentes de la lenteja de agua en la **tabla 4**.

Tabla 4. Componentes de la lenteja de agua

COMPONENTE	% COMPUESTO EN PESO SECO
Proteínas	6.8 - 45.0
Lípidos	1.8 - 9.2
Fibras ordinárias	5.7 - 16.2
Hidratos de carbono	14.1 - 43.6
ceniza	12.0 - 27.6

Fuente: CAICEDO J. R. 1, N. P. VAN DER STEEN², O. ARCE³ and H. J. GIJZEN²*M. Wat. Res. Vol. 34, No. 15, 2000.

La lenteja de agua cultivada sobre aguas negras domésticas libres de metales pesados y otros compuestos, puede ser usada en la producción de compost de alta calidad, generación de biogás, y como fertilizador agrícola.

La lenteja de agua crece en condiciones diferentes ambientales y son muy resistentes a una amplia gama de temperatura, pH, concentraciones nutritivas, así como sequías, parásitos y enfermedades. En comparación con el Jacinto de agua es más tolerante a temperaturas bajas y más fáciles para cosechar.³⁰

2.7.2. Remoción de nutrientes con *Spirodella sp.* La remoción de nutrientes a través del sistema con lenteja de agua es posible, debido a que estos sistemas presentan alta eficiencia en remoción de DBO, sólidos totales; metales y organismos patógenos.³¹

La actividad biológica presente en los tratamientos con lenteja de agua es similar a la que se lleva a cabo en las lagunas facultativas, debido a que la planta cubre por completo la superficie , limitando el crecimiento de algas y reduciendo de este modo el ingreso de oxígeno a la columna de agua.³²

En relación con la calidad del agua, la familia de la ***Spirodella sp.*** es encontrada en aguas frescas y salobres, además es capaz de crecer en una amplia gama de concentraciones nutritivas. En general, la lenteja de agua no crece sobre aguas con bajo contenido de nutrientes, si no que ellas tienen altas exigencias nutritivas y son resistentes en aguas con alta salinidad.

³⁰ CAICEDO J. R. 1, N. P. VAN DER STIJD., p. 623. EEN2, O. ARCE3 and H. J. GIJZEN2*M. Wat. Res. Vol. 34, No. 15, pp. 3829±3835, 2000

³¹ CRITES et al. Op. cit., p. 623.

³² Ibid., p. 623.

A continuación se presenta en la **tabla 5**, las concentraciones que se deben manejar para mantener la lenteja de agua en condiciones óptimas para su buen desarrollo.

Tabla 5. Parámetros óptimos del agua para el cultivo de la lenteja de agua

PARAMETROS DEL AGUA	RANGO ABSOLUTO
pH	3.5 - 10.4
Conductividad	10 - 10900
Ca	0.1 - 365
Mg	0.1 - 230
Na	1.3 - >1000
K	0.5 - 100
NT	0.003 - 43
PT	0.000 - 56
HCO ₃ ⁻	8 - 500
Cl	0.1 - 4650
S	0.03 - 350

Fuente: CAICEDO J. R. 1, N. P. VAN DER STEEN², O. ARCE³ and H. J. GIJZEN²*M. Wat. Res. Vol. 34, No. 15, 2000.

Por lo general los macronutrientes (nitrógeno y fósforo), presentes en el agua residual son aprovechados por las plantas, las cuales los asimilan para sus procesos metabólicos; lo que explica en parte la utilidad de las mismas como sistema depurador. La forma de nitrógeno aprovechado por las plantas son el nitrógeno amoniacal.

El grado óptimo y límites superiores para la ***Spirodella sp*** es de 3-7-10. El pH determinará la forma predominante de N y S en el equilibrio químico de NH₄ + NH₃ y la H₂S-s-, que son los productos comunes del proceso anaerobio.

El fósforo se puede remover de dos formas; la primera a través de microorganismos presentes en el agua residual capaces de almacenar en sus células, cantidades de fósforo en exceso en forma de Polifosfatos y la segunda

bajo condiciones anaerobias en presencia de productos de fermentación simple (ácidos grasos volátiles), estas bacterias los asimilan en forma de productos de almacenamiento dentro de las células con la liberación de fósforo.³³

2.7.3. Remoción de bacterias y patógenos con *Spirodella sp.* La remoción de las bacterias y otros organismos patógenos se lleva a cabo por muerte natural, sedimentación, adsorción y exposición a la luz ultravioleta; mecanismos similares que se dan en las lagunas de estabilización.³⁴

Las características del sistema radicular en flotación proporciona el ambiente ideal para la vida de los bacteriófagos (microorganismos especializados en la depredación de patógenos). Igualmente el Nitrógeno y el Fósforo son el alimento natural de estas plantas que debido a su gran demanda de nutrientes serán capaces de reducir ampliamente estos otros parámetros, junto a los iones metálicos.

2.7.4 Operación y mantenimiento de lagunas con *Spirodella sp.* Todo sistema de tratamiento de aguas residuales debe estar diseñado de tal manera que cuando se opere adecuadamente produzca en forma continua el caudal y calidad de efluente requerido.

El mantenimiento de las lagunas de estabilización se centra en dos aspectos fundamentales:

- Cuidado de la obra civil: limpieza de la unidad de pretratamiento, medidores de caudal, caminos, jardinería, retirada del fango acumulado, entre otros.

³³ CAICEDO J. R 1, N. P. VAN DER STEEN2, O. ARCE3 and H. J. GIJZEN2*M. Wat. Res. Vol. 34, No. 15, pp. 3829±3835, 2000

³⁴ CRITES et al. Op. Cit., p. 623.

- Detección de problemas de funcionamiento y adopción de medidas correctivas.³⁵

Esto implica que existen dos tipos de mantenimiento: mantenimiento preventivo y mantenimiento correctivo; estos dos deben realizarse en coordinación y cooperación completa con el personal de operación del sistema para que no se suspenda el tratamiento y que no haya descarga consecuente de un efluente objetable por la autoridad ambiental.³⁶

Para los sistemas que se utilizan lenteja de agua existen dos aspectos básicos para la operación y el mantenimiento que corresponden a la cosecha de la vegetación y el manejo de los lodos producidos en tratamiento.

Los problemas de generación de vectores en los sistemas con ***Spirodella sp***, son poco probables debido a que las plántulas recubren y sellan por completo la superficie de la laguna y evita que mosquitos, zancudos y otros depositen sus huevos en el agua.³⁷

La comparación de diversas operaciones y procesos utilizados en el tratamiento de agua residual aparecen en la **tabla 6**.

³⁵ Depuración por lagunaje de aguas residuales Monografías de la secretaria de estado para las políticas del agua y el medio ambiente. Op. Cit. P. 109. Ferreiro, D. (1991.)

³⁶ ROMERO. Op. Cit., p. 185.

³⁷ Crites et al., 2.000.

Tabla 6. Clasificación de las tecnologías de tratamiento avanzado.

ELIMINACIÓN DE CONSTITUYENTES POR MEDIO DE OPERACIONES Y PROCESOS DE TRATAMIENTO AVANZADOS		
Principal función de eliminación	Descripción de la operación o del proceso	Tipo del agua residual tratada ^a
Eliminación de sólidos en suspensión	Filtración Microtamices	ETP, ETS ETS
Oxidación de amoníaco	Nitrificación Biológica	ETP, ETB, ETS
Eliminación de Nitrógeno	Nitrificación/desnitrificación biológica	ETP, ETS
Eliminación de Nitratos	Desnitrificación Biológica en etapas separadas	ETS + Nitrificación
Eliminación Biológica de Fósforo	Eliminación de fósforo en la línea principal Eliminación de fósforo en la línea auxiliar	ARC, ETP FAR
Eliminación biológica conjunta de nitrógeno y fósforo	Nitrificación/desnitrificación biológica y eliminación de fósforo	ARC, ETP
Eliminación física o química de nitrógeno	Arrastre por aire Cloración Intercambio iónico	ETS ETS + filtración ETS + filtración
Eliminación de fósforo por adición de reactivos químicos	Precipitación química con sales metálicas Precipitación química con cal	ARC, ETP, ETB, ETS ARC, ETP, ETS
Eliminación de compuestos tóxicos y materia orgánica refractaria	Adsorción sobre carbono Fangos activados- carbón activado en polvo Oxidación química	ETS +filtración ETP ETS +filtración
Eliminación de sólidos inorgánicos disueltos	Precipitación química Intercambio iónico Ultrafiltración Osmosis Inversa Electrodialisis	ARC, ETP, ETB, ETS ETS +filtración ETS +filtración ETS +filtración ETS +filtración ETS +filtración + adsorción sobre carbono
Compuestos orgánicos volátiles	Volatilización y arrastre de gas	ARC, ETP

ETP = efluente de tratamiento primario.
ETB = efluente de tratamiento Biológico (sin decantación).
ETS = efluente de tratamiento secundario (con decantación).
ARC = agua residual cruda (no tratada).
FAR = fango activado recirculado

Fuente: METCALF & EDDY. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización..

Vol. 2. Tercera Edición .Pag 757

Como ya se había mencionado, el detergente es otro tipo de contaminante del agua, por lo tanto en nuestro trabajo es fundamental mencionarlo debido a que es nuestro toxico contaminante.

2.8 DETERGENTES BIODEGRADABLES

El detergente biodegradable es un producto químico que posee la capacidad de descomponerse en el agua y contiene un compuesto denominado anhídrido carbónico, que disuelve las partículas de suciedad manteniéndolas en suspensión para posteriormente ser eliminadas en el enjuague.

Para la elaboración de un detergente biodegradable, se debe utilizar ingredientes que sean biodegradables, en donde utilizan como ingredientes fundamentales el ácido dodecil bencen Sulfónico y el Éter Lauril Sulfato de Sodio, en mayor porcentaje de concentración y el otro porcentaje se complementa utilizando otros ingredientes que cumplen la biodegradabilidad.

Los ingredientes que puede tener un detergente se encuentran en el informe del Diario Oficial de la Unión Europea (ver **anexo A**), donde viene explicado el grado de toxicidad y su degradación lo que nos permite saber si el detergente es biodegradable.

Para entender cómo actúan los detergentes hay que conocer los componentes que determinan la efectividad del lavado:

- Agentes Tensoactivos: De los agentes tensoactivos depende la acción limpiadora y desengrasadora de un detergente.

- Fosfatos: Se encargan de retener las sales de calcio y magnesio de aguas duras (como en gran parte de nuestro país), ablandándolas y facilitando la limpieza. Los fosfatos son inofensivos para la salud de las personas, animales y plantas, sin embargo, su uso ha sido cuestionado en algunos países, esto a causa del efecto contaminante en el agua de ríos y lagos, provocando el crecimiento de algas que impiden el normal desarrollo de la vida acuática.
- Carbonato de sodio o sulfato de sodio: Ambos actúan como neutralizador de la suciedad, sobre todo la del tipo ácido (sudor, frutas y vinagre entre otros). El Carbonato de sodio actúa también como ablandador de aguas aunque con menor efectividad que los fosfatos.
- Agentes anticorrosivos: En concentraciones bajas disminuyen la acción corrosiva de otros componentes del detergente, sobre las partes metálicas de las máquinas de lavar, como el caso del silicato de sodio. En concentraciones elevadas, los silicatos combinados con el carbonato de sodio, facilitan el proceso de lavado.
- Desmanchadores: Entre ellos está el perborato de sodio (ataque químico por acción del oxígeno) y las enzimas (ataque bioquímico). Estas últimas destruyen las proteínas de manchas tales como las de huevo, sangre, entre otros.
- Agentes que impiden el depósito de la suciedad en los tejidos: El más utilizado es la carboximetilcelulosa sódica, aunque los fosfatos también actúan en este sentido.
- Blanqueadores ópticos: Hacen el blanco más vivo, depositando sobre la tela partículas que transforman la luz visible, lo que da brillo y un leve tono azulado.

- Perfumes y Suavizantes: Elaborados sobre la base de silicona.³⁸

Un detergente que presenta estas características es el detergente líquido industrial multiusos, utilizado en la Universidad Pontificia Bolivariana; es un producto biodegradable, no obstruye cañerías ni desagües, ni produce contaminaciones, por su alta concentración produce abundante espuma para la limpieza profunda de toda clase de superficies. Este producto es obtenido a partir de la combinación de tensoactivo aniónico (ingrediente activo), glicerina, aroma, ingredientes inertes. De esta forma permite que sus propiedades desengrasantes sean adecuadas para ser usadas en recintos residenciales e industriales.

2.8.1 Contaminación por Detergentes. La mayoría de los detergentes son contaminantes persistentes debido a que no son descompuestos fácilmente por la acción bacteriana.

Dentro de los principales problemas que ocasionan la utilización de los detergentes son los siguientes:

- Espuma: En las plantas de tratamiento de agua provoca problemas de operación, afecta la sedimentación primaria ya que engloba partículas haciendo que la sedimentación sea más lenta.
- Toxicidad en la vida acuática: No es posible dar un valor límite de toxicidad debido a que la sensibilidad de cada organismo varía con relación a la especie, tamaño, tipo de detergente y otros factores físicos del medio ambiente.
- Eutroficación: constituye un proceso natural de envejecimiento, en el que el lago sobrealimentado acumula grandes cantidades de material vegetal en

³⁸ Universidad de Santiago de Chile Facultad de Química y Biología. Seminario de detergentes biodegradables. Octubre 7 del 2002.

descomposición en su fondo. Esto tiende a llenar el lago y hacerlo menos profundo, más tibio y con gran acumulación de nutrientes. Si hay un excesivo crecimiento de las plantas acuáticas, éstas tienden a cubrir la superficie del cuerpo de agua, impidiendo el libre intercambio de oxígeno y bióxido de carbono; al morir estas plantas, se descomponen en el lago consumiendo el oxígeno presente en éste, al cabo de un tiempo ya no hay oxígeno disponible y la descomposición tiene que hacerse de forma anaerobia.

- Entre otros efectos secundarios producidos por los detergentes es que afectan procesos de tratamiento de las aguas residuales, por ejemplo: cambios en la demanda bioquímica de oxígeno y en los sólidos suspendidos, efectos corrosivos en algunas partes mecánicas de las plantas, interferencias en el proceso de cloración y en la determinación de oxígeno disuelto.

Cuando se ha desechado un detergente fosfatado, los fosfatos son arrastrados por el drenaje; la mayor parte de las plantas de tratamiento de aguas no están diseñadas para eliminar fosfatos, por tanto, éstos pasan al agua a través del efluente.

Los fosfatos actúan como nutriente para las algas y plantas acuáticas, provocando la degradación de las aguas naturales.

En los lagos, al aumentar la cantidad de flora acuática, se dificulta o impide el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono. Se acumula, pues, gran cantidad de material vegetal en descomposición en el fondo, da lugar a hacer menos profundo el lago, aumentando así su temperatura y cantidad de nutrientes.

Debido a que la descomposición se da en ausencia de oxígeno, se obtienen productos secundarios como metano, amoníaco y sulfuro de hidrógeno que dan mal olor al agua. Los peces también requieren oxígeno disuelto para sobrevivir y,

como se ha consumido, mueren. A largo plazo el lago se convierte en un pantano y más a largo plazo, en un prado o en un bosque. Este proceso natural se ve acelerado por la presencia de fosfatos.

2.8.2 Degradación biológica de los detergentes. El comportamiento bioquímico de los detergentes varia ampliamente dependiendo de su estructura química. Los detergentes sintéticos con uniones amida o éter, se hidrolizan fácilmente; los ácidos grasos producidos sirven como fuente de alimento bacteriano; los otros productos de la hidrólisis pueden servir o no para este mismo fin, todo depende de su estructura química. Los detergentes de tipo L.A.S (Lineal alkyl sulfatos), se degradan fácilmente en condiciones aeróbicas y su uso ha ayudado a aliviar la mayor parte de los serios problemas que presenta la formación de espumas de los detergentes, sin embargo los LAS son resistentes a la degradación en condiciones anaeróbicas.³⁹

2.9 PRUEBAS DE TOXICIDAD O BIOENSAYOS

Una prueba de toxicidad o bioensayo típica involucra un agente o estímulo (por ejemplo, un pesticida, un metal pesado o una muestra ambiental con contaminantes químicos), el cual se aplica a un organismo o grupo de organismos (por ejemplo, un cultivo bacterial o de un alga, animales, o plantas) al que se denomina genéricamente sujeto, sobre el que se evalúa una cierta respuesta preseleccionada. La magnitud del estímulo o dosis puede medirse como un peso, un volumen o una concentración.

La respuesta del sujeto se valora mediante la cuantificación final de alguna características (peso del cuerpo, peso del hígado, ritmo cardiaco, etcétera), el cambio de ella (aumento en el peso corporal, disminución en la presión

³⁹ SAWYER Clair, McCARTY Perry, PARKIN Gene. Química para Ingeniería Ambiental. Madrid: Mc Graw Hill. Cuarta edición., p. 273-277.

sanguínea) o por la ocurrencia o no de un determinado fenómeno (muerte, inhibición del crecimiento, una contracción muscular, etcétera).

Partiendo de la base de que la magnitud o la frecuencia de la respuesta dependerán de la dosis aplicada, las pruebas de toxicidad suelen diseñarse utilizando distintas dosis. La información obtenida de este tipo de ensayos permite la cuantificación de la relación entre las dos variables (dosis y respuesta), caracterizando toxicológica o ecotoxicológicamente al compuesto. Normalmente, las pruebas de toxicidad se diseñan para comparar o estimar la potencia de un agente con relación a una preparación estándar o control.

Es importante destacar que la respuesta a una dosis en particular se verá afectada en mayor o menor medida por factores no controlados durante el experimento.⁴⁰

2.9.1 Tipos de pruebas o bioensayos. Desde el punto de vista estadístico, el tipo de variable generada por la respuesta influencia en gran medida el tipo de análisis a aplicar sobre los datos. En este sentido, se pueden encontrar variables cualitativas (muerto-vivo, ausente-presente), cuantitativas discretas (núm. de muertos, % de muertos) y cuantitativas continuas (reducción del crecimiento en longitud o peso).

En el caso de las variables cualitativas, debido a sus características, es muy difícil establecer relaciones cuantitativas con la dosis y, en general, se diseñan los experimentos de manera tal para evaluar respuestas cuantitativas. Por ejemplo, al utilizar como punto final en la lectura la muerte de un organismo, se puede diseñar la experiencia de forma tal que cada replicado contenga al menos cinco

⁴⁰ Gabriela Castillo Morales. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas estandarización, intercalibración, resultados. México-2004.

organismos e interpretar las respuestas individuales como resultados de un ensayo de Bernoulli asignando a muerto el valor 1 (éxito) y a vivo el valor 0 (fracaso), permitiendo de esta manera que el replicado con los cinco organismos pueda considerarse con el resultado de un experimento binomial y la respuesta en cuestión se expresa como la proporción de organismos muertos, que es una variable cuantitativa discreta.

Para el análisis de las relaciones cuantitativas entre la dosis y la respuesta, es necesario recurrir a modelos matemáticos que describan dicha relación. En general, los modelos matemáticos se pueden clasificar en:

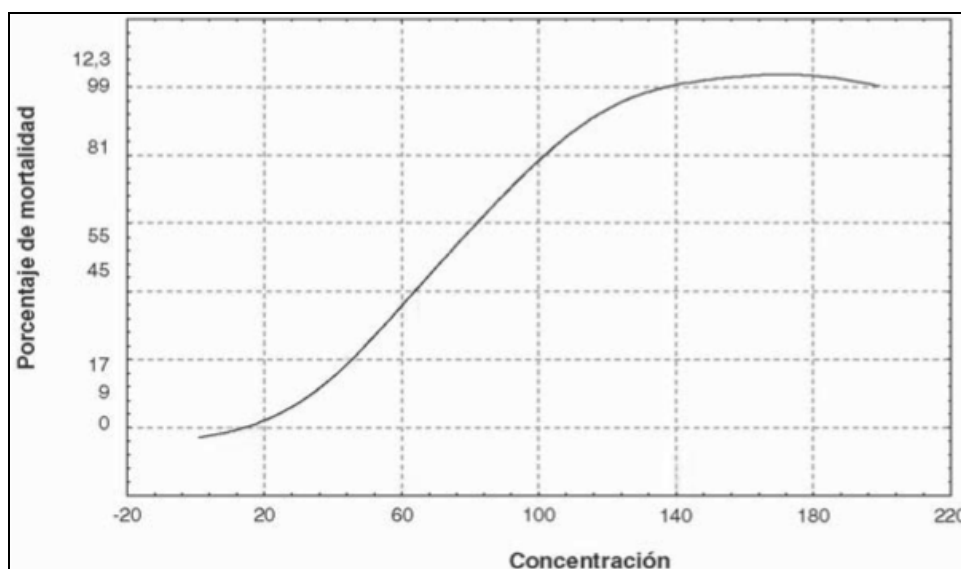
- Mecanístico: es un modelo que intenta describir un proceso basándose en postulados acerca de la mecánica de dicho proceso.
- Empírico o descriptivo: es un modelo que intenta describir cuantitativamente los patrones de las observaciones sin basarse en los procesos subyacentes o mecánica del proceso.
- Determinístico o no estocástico: es un modelo en el que dado un dato en particular, la predicción que se obtiene del modelo es siempre el mismo valor.
- Probabilístico o estocástico: es un modelo en el que dado un dato en particular, la predicción que se obtiene del modelo es un valor variable.

En el caso particular de las pruebas de toxicidad, los más utilizados son los de tipo empírico o descriptivo de forma rectilínea, a los cuales se llega muchas veces luego de haber transformado una o las dos variables estudiadas. La utilización de transformaciones no sólo altera la forma de la relación estudiada, sino que

también modifica el comportamiento de las variables con respecto a los supuestos del método estadístico a ser aplicado.⁴¹

2.9.2 Métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad. Uno de los aspectos importantes en toxicología y ecotoxicología es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo y el consecuente efecto nocivo que le produce. Esta relación, conocida como la relación dosis-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente. Los gráficos bivariantes de estas relaciones muestran en general patrones no rectilíneos de tipo sigmoide. Como se muestra en la **figura 4**.

Figura 4. Relación dosis-respuesta



Fuente: Díaz Báez María Consuelo, Bulus Rossini Gustavo Daniel, Pica Granados Yolanda. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación. p. 11-16.

⁴¹ http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html

Existen muchas formas de determinar la toxicidad, y aunque los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador comúnmente más utilizado es la muerte del organismo de prueba. La mayoría de las pruebas de toxicidad suministran una estimación de la dosis (o concentración en el alimento, aire o agua) que produce una respuesta tóxica a un nivel del 50%. Por ejemplo, la dosis letal media es la dosis o concentración que mata al 50% de la población (CL50). Otro indicador que ha ganado gran popularidad es la dosis o concentración más alta a la cual no se observa ningún efecto (NOEC).

2.9.3 Diseño y Ejecución de los Ensayos de Toxicidad - Fuentes de Variación. Para el análisis estadístico se debe especificar la respuesta (punto final), ya sea en términos de una frecuencia de conteos, una tasa de mortalidad, una tasa de inhibición, etcétera.

Es importante también identificar las fuentes de variabilidad, las cuales pueden presentarse dentro de los ensayos y entre los ensayos. La variación dentro de los ensayos contribuye a la precisión de la estimación y puede ser causada por problemas como: errores en diluciones, imprecisiones en el pesado, errores al medir volúmenes, errores en el conteo, variación biológica (genética, fisiológica), etcétera. La variación entre ensayos tiene que ver con la reproducibilidad de los mismos y puede ser causada por factores como: las propiedades físicas y químicas de los agentes, almacenamiento y preparación, cambios en las condiciones de cultivo de los organismos, cambios históricos en el protocolo, cambios en el personal del laboratorio o cambios genéticos en el material biológico usado. La variabilidad dentro y entre ensayos contribuye a la variabilidad entre laboratorios y debe analizarse en forma separada.

Otro aspecto a tener en cuenta es el patrón de los errores, que puede ser aleatorio o sistemático. El primero corresponde a variaciones que ocurren siguiendo un

patrón en el que el sentido y la magnitud del error son igual de probables en ambas direcciones, y el segundo corresponde a una deriva sistemática (en un sentido) de los valores de la respuesta (punto final). En general, no existe ninguna garantía de protección contra los errores sistemáticos o sesgos, sin embargo, es posible reducirlos o reconocerlos, especialmente cuando se elaboran las mismas pruebas en diferentes laboratorios. Esto permite la evaluación de la variabilidad entre laboratorios y mejora la representatividad del resultado.⁴²

2.9.4 Diseño Experimental. Las condiciones o requisitos formales de experimentación tienen que ver con la reproducibilidad o replicabilidad. En este sentido, las propiedades físicas y químicas de los compuestos químicos que se utilizan deben ser muy bien conocidas y controladas, por lo que la preparación y almacenamiento de los compuestos y solventes constituyen un elemento técnico importante, además de los asociados con la producción de los organismos de prueba. Igualmente, el uso de réplicas es básico cuando se lleva a cabo la evaluación estadística de medidas.

En pruebas de toxicidad deben tenerse en cuenta algunos factores que pueden ser una fuente potencial de confusión. Entre ellos se pueden mencionar: número de células al momento de la inoculación o tamaño inicial de los organismos en pruebas de crecimiento, número de repeticiones, número de tratamientos/grupos de dosis o concentraciones, intervalo de las dosis y la selección de controles. Montgomery (1991) recomienda trabajar con un mínimo de tres niveles de dosis y dos cultivos separados en cada grupo de dosis.

El principio básico en el diseño estadístico es la aleatorización, por ello los esfuerzos y el tiempo dedicados a cumplir con este principio producirán resultados

⁴² http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html

más confiables y reproducibles, ya que el concepto de muestra aleatoria es un requisito indispensable para la validez de cualquier prueba estadística.

En las pruebas de toxicidad en general se utilizan dos diseños básicos:

1. Establecimiento de una relación dosis-respuesta.
2. Pruebas para evaluar la diferencia entre organismos tratados o expuestos a distintas dosis contra un control negativo (dosis 0).

En lo que respecta al método de análisis de los resultados obtenidos, se puede hacer una primera y gran división entre métodos paramétricos y no paramétricos. Los métodos paramétricos involucran suposiciones y/o estimaciones acerca de los parámetros de las distribuciones probabilísticas de la variable, utilizadas en la prueba estadística en cuestión, mientras que los no paramétricos no hacen este tipo de suposición.

Aunque la selección del tipo de método estadístico se puede hacer al finalizar el experimento, es aconsejable considerarlo desde la fase de planeación o diseño, ya que la selección de la metodología estadística tendrá un cierto impacto en la determinación óptima de los grupos de dosis y el número de repeticiones por dosis.

2.9.5 Establecimiento de una relación dosis-respuesta. Como resultado del análisis de los datos de un diseño para estimar una relación dosis-respuesta, lo que se pretende obtener son las estimaciones de los parámetros del modelo seleccionado para relacionar las variables y, a continuación, utilizar el modelo con las estimaciones de los parámetros encontrados para determinar los valores de la variable concentración de tóxico que causan un grado de efecto, en particular sobre los organismos expuestos. Entre estas concentraciones, la más utilizada es

la que se conoce como concentración letal, efectiva o inhibitoria 50 (CL50/CE50/CI50), que es la concentración que produce la respuesta esperada sobre el 50% de los organismos expuestos.⁴³

2.9.6 Establecimiento de una relación dosis-respuesta de tipo mortalidad. La selección del método a utilizar para estimar los valores de CL50/CE50/CI50 de este tipo de pruebas de toxicidad aguda con múltiples concentraciones dependerá de la forma de la distribución de tolerancias y que tan bien las concentraciones o dosis seleccionadas la caracterizan (por ejemplo, el número de mortalidades parciales).⁴⁴

En general, los cuatro métodos para la estimación de CL50/CE50/CI50 son:

1. Método Probit (paramétrico).
2. Método de Litchfield-Wilcoxon (gráfico).
3. Método de Sperman-Karber (no paramétrico).
4. Método gráfico.

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

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

⁴³ http://www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html

⁴⁴ Díaz Báez María Consuelo, Bulus Rossini Gustavo Daniel, Pica Granados Yolanda. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación. p. 11-16.

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

La representación gráfica de p vs. d , o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal. Una forma de abordar este problema es transformando d a una escala logarítmica ($X = \log_{10} (d)$), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea normal; de esta manera la distribución de p vs. X será de tipo normal.

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

$$y = a + bx$$

Donde:

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

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

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

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

$$X^5 = \text{Log } 10 \text{ CL}_{50}, \text{ entonces } \text{CL}_{50} = 10^{X^5}$$

El procedimiento Probit permite encontrar estimadores m -verosímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos cuantales, analizando porcentajes de efecto vs. Dosis dentro del marco de la regresión. Estas pruebas son importantes, porque

si los datos no se ajustan a la línea recta generada, es necesario llevar a cabo un análisis Probit ponderado o aplicar métodos no paramétricos o gráficos para poder determinar la $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$.⁴⁵

⁴⁵ Gabriela Castillo Morales. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas estandarización, intercalibración, resultados. México-2004

3. METODOLOGÍA

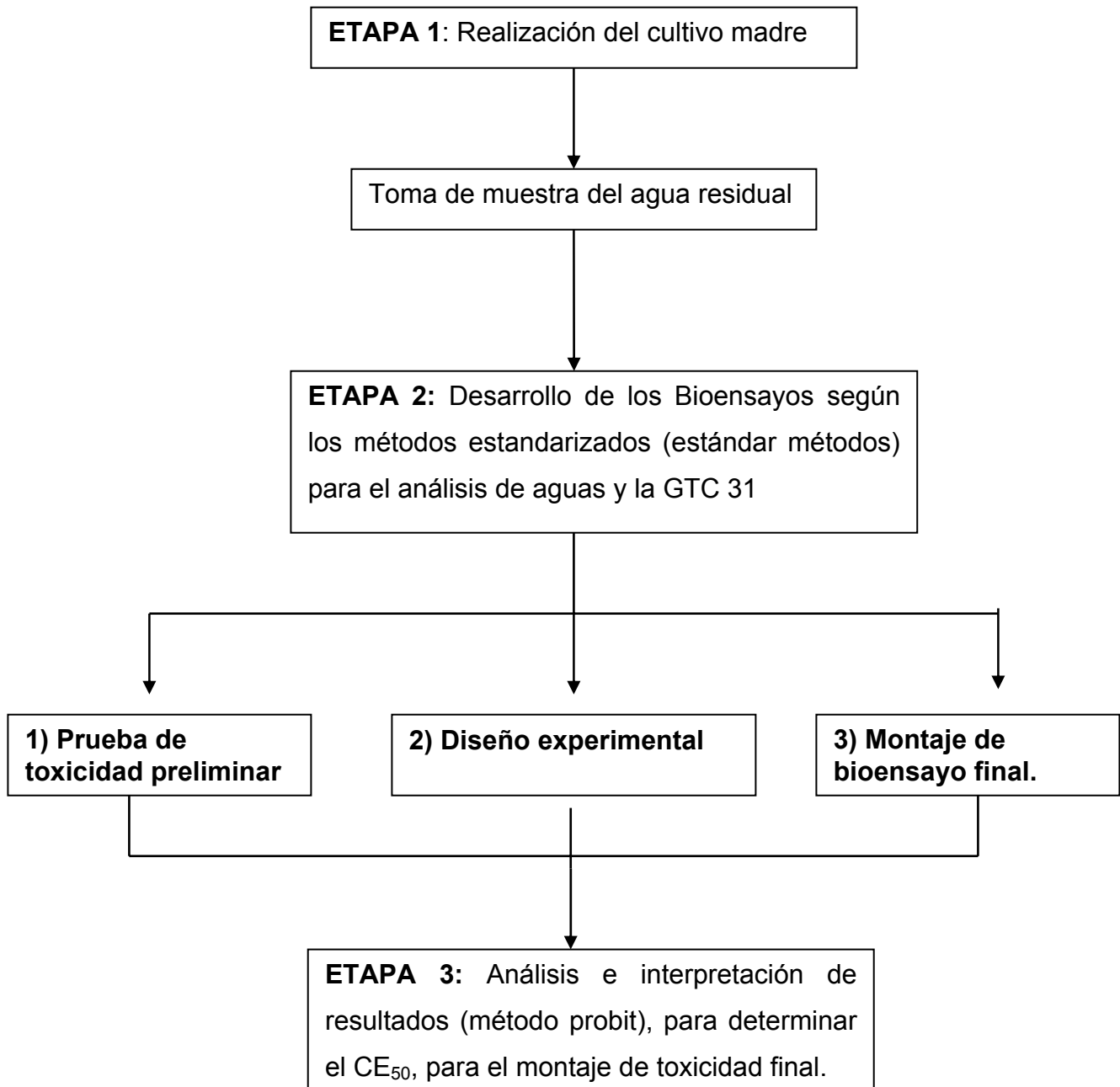
Los bioensayos de toxicidad fueron montados en el laboratorio de microbiología, ubicada en las instalaciones de la Universidad Pontificia Bolivariana y se desarrollaron teniendo como base la metodología propuesta por la guía técnica colombiana GTC 31, guía para la realización de ensayos de toxicidad (bioensayos) en organismos acuáticos y Stándar Methods for examination of wáter and wastewater, 20th ed .1998, parte 8000, métodos de prueba de toxicidad para organismos acuáticos.

Se utilizó como organismo indicador la especie vegetal ***Spirodella sp***, conocida con el nombre de lenteja de agua, con el fin de determinar el efecto de los detergentes presentes en el agua residual de la universidad, en el desarrollo y crecimiento de dicha planta.

La plántula de la ***Spirodella sp***, se obtuvo en el sector de la mesa de los santos, en una granja integral que se encuentra ubicada sobre la vía que conduce hacia el salto del duende, la planta se encontraba en un pozo artificial con agua natural de quebrada.

La metodología se desarrolló en tres etapas, las cuales se resumen en la **Figura 5.**

Figura 5. Flujo grama de la metodología



El procedimiento que se desarrollo fue el siguiente:

3.1 ETAPA 1: Realización del cultivo madre.

El montaje se realizó en un acuario de vidrio, utilizando agua natural de quebrada como medio de cultivo, bajo las siguientes condiciones establecidas por la literatura (Gamarra, 2000) y presentadas a continuación:

- Altura de la columna de agua: 8 cm.
- Condiciones de laboratorio: Fotoperiodo de 8 horas luz y 16 horas de oscuridad.
- Temperatura promedio de 25°C.
- Tiempo para el cosechamiento de las plántulas: 36 horas.
- Cambio del agua de cultivo cada 8 días.

La **Figura 6** muestra el montaje del cultivo madre que se estableció.

Figura 6. Cultivo madre principal



Fuente: Autor

3.1.1 Toma de muestra del agua residual. La toma de muestras se realizó manualmente, en el intervalo de hora más critico que hay en la universidad en cuanto a vertimientos de aguas de lavado. La muestra se tomó en el canal de

entrada al sistema terciario de la planta de tratamiento de aguas residuales, de la Universidad Pontificia Bolivariana, como se muestra en la **figura 7**, siendo utilizada esta muestra para el montaje de los bioensayos correspondientes.

Figura 7. Toma de la muestra



Fuente: Autor

Los análisis físico – químicos se realizaron en el Laboratorio de Aguas Residuales de la UPB, según la metodología establecida por los Standard Methods. La **Tabla 7** muestra los parámetros analizados y el método aplicado para cada parámetro.

Tabla 7. Parámetros analizados y método aplicado.

PARÁMETRO	MÉTODO
Detergentes	Standard Methods 5540-C
DBO	Standard Methods 5210b
DQO	Standard Methods 5220b
Sólidos Totales	Standard Methods 2540 d
Nitrógeno Total	Standard Methods 4500 – n _{org} b. método macro kjeldahl

Fósforo Total	Standard Methods 4500 – p e método del ácido ascórbico
pH	Standard Methods 4500H+B

Fuente: laboratorio de análisis de aguas de la Universidad Pontificia Bolivariana

3.2 ETAPA 2: Desarrollo de los Bioensayos según los métodos estandarizados para el análisis de aguas (Estándar Métodos. 1998), parte 8000, métodos de prueba de toxicidad para organismos acuáticos.

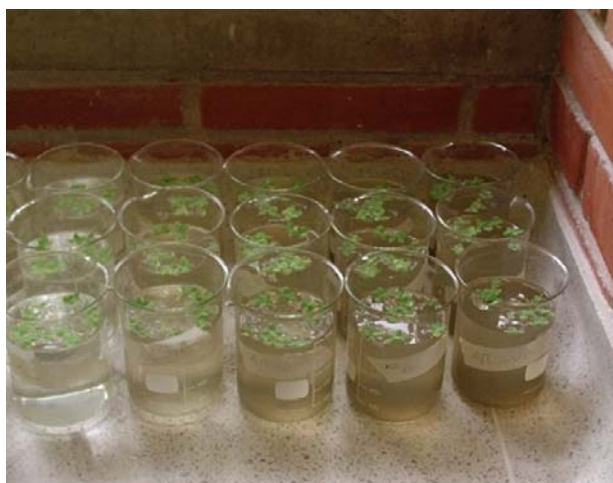
Se desarrollaron pruebas de toxicidad a corto plazo, que permitieron encontrar el intervalo de concentración que afecta el organismo indicador. Por lo tanto con esta prueba se determinó la Concentración Efectiva (CE_{50}), que corresponde a la concentración del tóxico que produjo una respuesta específica en el 50 por 100 de la población vegetal, en un tiempo de 96 horas.

3.2.1 Pruebas de toxicidad preliminar. Se realizaron montajes estáticos por triplicado en vasos precipitados de 600 ml con agua residual y agua de cultivo, con detergente utilizado por la universidad para la limpieza de las instalaciones y 15 plantas de lenteja de agua en cada recipiente, en concentraciones logarítmicas de 100%, 75%, 50%, 25%, y 1%; como se muestra en las **figuras 8 y 9**.

Se utilizó un valor de concentración de detergente del 15.5 mg/lit como concentración del 100%, debido a que en la universidad nunca se han manejado concentraciones de detergentes que sobrepasen dicha concentración utilizada para el montaje de toxicidad preliminar, según los registros históricos que se encuentran en el laboratorio de análisis de aguas de la Universidad Pontificia Bolivariana.

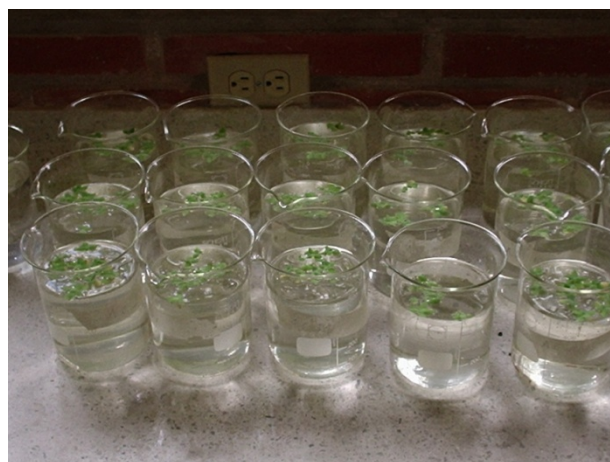
Además se monto en un vaso precipitado de 600 ml con 15 plantas de lenteja de agua en agua de cultivo, sin ningún tipo de contaminante, siendo este el control del montaje, como se muestra en la **figura 10**.

Figura 8. Pruebas de toxicidad preliminar. Montaje con agua residual



Fuente: Autor

Figura 9. Pruebas de toxicidad preliminar. Montaje con agua de cultivo



Fuente: Autor

Figura 10. Pruebas de toxicidad preliminar. Montaje de control

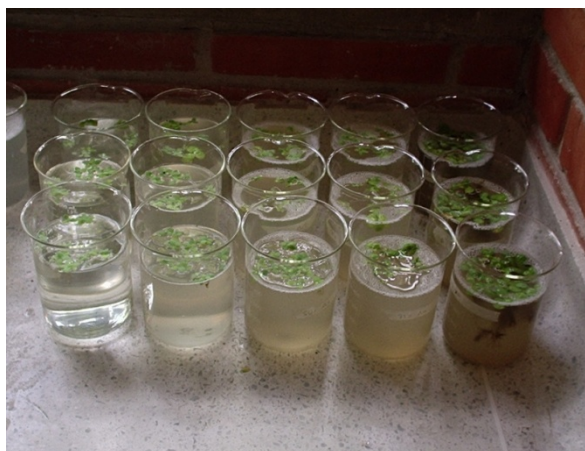


Fuente: Autor

Durante el bioensayo se evaluó la afectación de la planta, teniendo en cuenta el cambio de coloración de la fronda y marchitamiento de las mismas.

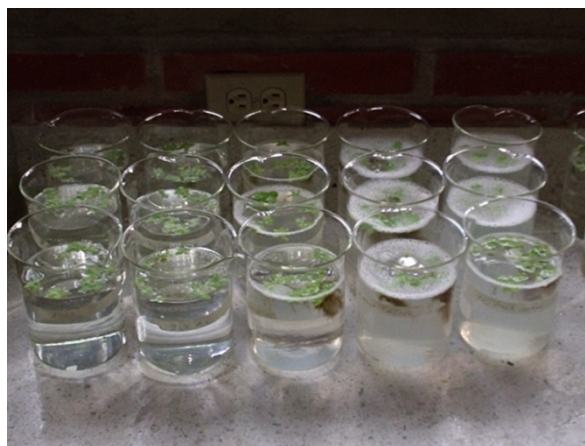
3.2.1.2 Diseño experimental. Se desarrolló la misma metodología planteada para las pruebas de toxicidad preliminar, con su respectivo control, pero con la diferencia, que se manejo la concentración de 15.5 mg/ lt, como concentración del 1%, debido a que en esta concentración en agua de cultivo, se observó afectación en las plantas. El montaje correspondiente se muestra en la **figura 11, 12 y 13.**

Figura 11. Montaje bioensayos agua residual



Fuente: Autor

Figura 12. Montaje bioensayos agua de cultivo



Fuente: Autor

Figura 13. Montaje de control



Fuente: Autor

También se evaluó en los bioensayos preliminares y experimentales, los cambios del material vegetal expuestos a las diferentes concentraciones de agua residual y agua de cultivo, con detergente en intervalos de tiempo de 0, 24, 48, 72 y 96 horas.

Los parámetros tenidos en cuenta para evaluar la afectación de la *Spirodella sp* fueron: Cambio de coloración de la fronda y marchitamiento de las mismas.

Con base en las observaciones realizadas, se seleccionó el rango de concentración del agua residual que se utilizó en el bioensayo final.

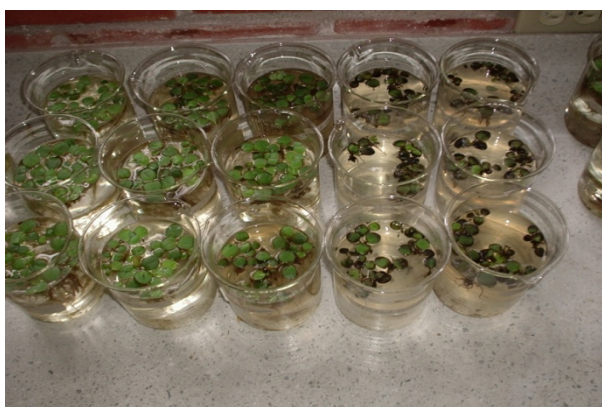
3.2.2 Montaje del bioensayo final, para determinar la Concentración Efectiva (CE₅₀). Se realizó el mismo montaje, mencionado en la prueba de toxicidad preliminar y diseño experimental, tomando como valor referente del 100%, una concentración de 387.5 mg /lt. como concentración del 100%. El montaje correspondiente se muestra en las **figuras 14 y 15.**

Figura 14. Montaje del bioensayo final con agua residual



Fuente: Autor

Figura 15. Montaje del bioensayo final con agua de cultivo



Fuente: Autor

El registro fotográfico de cada uno de los bioensayos se ilustra en el **Anexo C**.

3.3 ETAPA 3. Análisis e interpretación de resultados

En esta etapa se aplicó como técnica estadística el método probit, para determinar el CE_{50} , para el montaje de toxicidad final.

4. DATOS Y ANÁLISIS

Los datos obtenidos, durante la realización del cultivo de la planta *Spirodella sp* en condiciones de laboratorio y los bioensayos de toxicidad en diferentes concentraciones de detergente, con agua residual y agua de cultivo, se presentan a continuación.

4.1 REALIZACIÓN DEL CULTIVO MADRE

En esta etapa se realizó el cultivo madre inicial con agua residual, del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UPB, como se muestra en **figura 16** y en las condiciones establecidas por la literatura, como fueron la altura de la lámina de agua, las condiciones de luz y temperatura.

Figura 16. Montaje del cultivo madre inicial



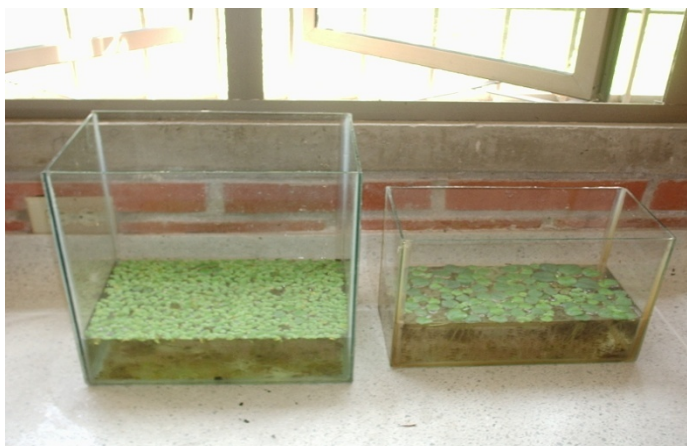
Fuente: Autor

Al realizar el cultivo madre inicial de la planta del género ***Spirodella sp.***, se presentó la afectación total de las plantas, en un intervalo de 36 horas.

Fue necesario hacer el cultivo madre principal en condiciones mas favorables para la planta, donde ellas lograran tener un buen desarrollo y crecimiento.

Con base en lo anterior se realizó el cultivo madre con agua natural de quebrada, siguiendo las mismas condiciones establecidas en la metodología (Etapa 1, numeral 3.1). Como se muestra en la **figura 17**.

Figura 17. Cultivo madre principal



Fuente: Autor

Durante las siguientes 36 horas se observó que la planta se adaptó, presentando aumento en su crecimiento y reproducción.

4.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD PRELIMINAR

Los resultados de los análisis de laboratorio del agua residual utilizada para este bioensayo se encuentran en el **Anexo B**.

La concentración del detergente fue de 8.6 mg/lt, por lo tanto fue necesario incrementar la concentración a un valor de 15.5 mg/lt, debido a que en concentraciones de detergente históricas que se han tenido en la universidad, han estado cercanos a este valor pero nunca se ha encontrado por encima de éste, información que se encuentra en el laboratorio de análisis de aguas de la Universidad Pontificia Bolivariana.

Además se observa que la concentración del nitrógeno en el agua, es un valor muy alto, en comparación con los rangos establecidos por la literatura (ver **tabla 4**), en donde el rango ideal para el cultivo de la lenteja de agua, se encuentra entre 0.0043 – 43 mg/lt, siendo este posiblemente el factor incidente directo en el desarrollo y crecimiento adecuado de la planta *Spirodella sp*, debido a que el exceso de Nitrógeno en las plantas ocasionan la debilidad en sus tejidos, por lo tanto son más propensas a las plagas y enfermedades; además se disminuye la absorción de nutrientes; según la literatura.

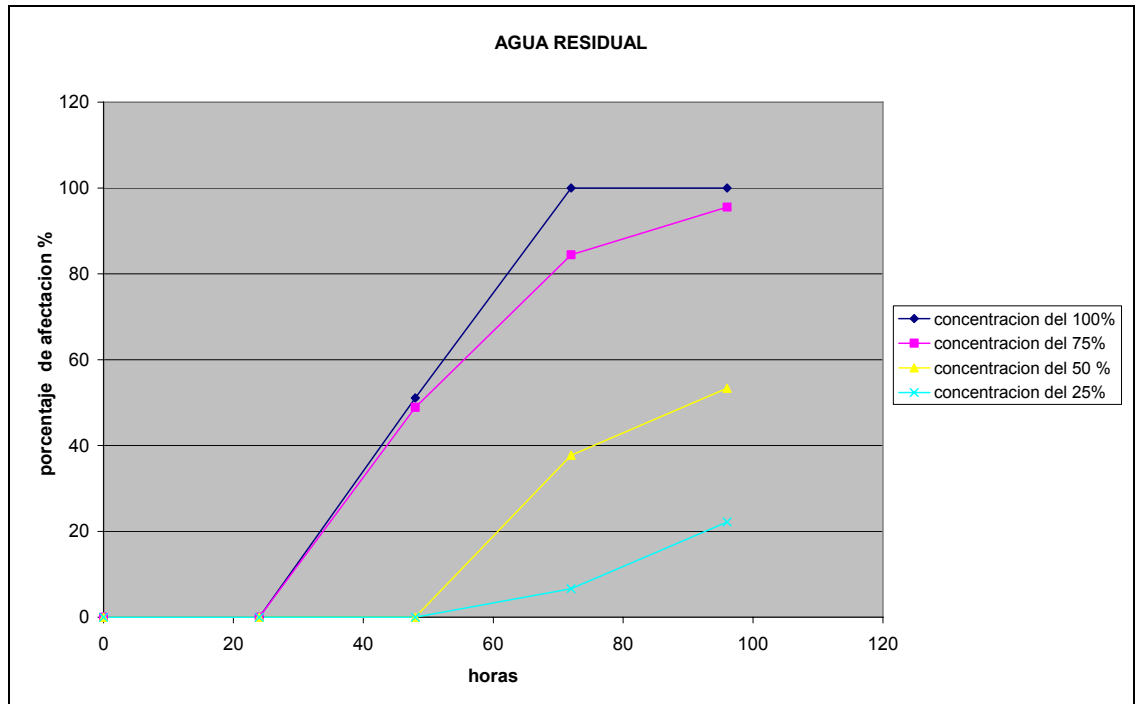
Los intervalos de concentración de los otros parámetros, se encuentran dentro de los intervalos permisibles. Ver **tabla 2**.

El propósito de los montajes de toxicidad preliminar, es establecer el intervalo de concentración inicial de detergente, que se implementará en el montaje de toxicidad experimental.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los montajes de toxicidad realizados, en graficas de tendencia de afectación explicados de la siguiente

manera: montaje de toxicidad con agua residual (**figura 18**), y montaje de toxicidad con agua de cultivo (**figura 19**).

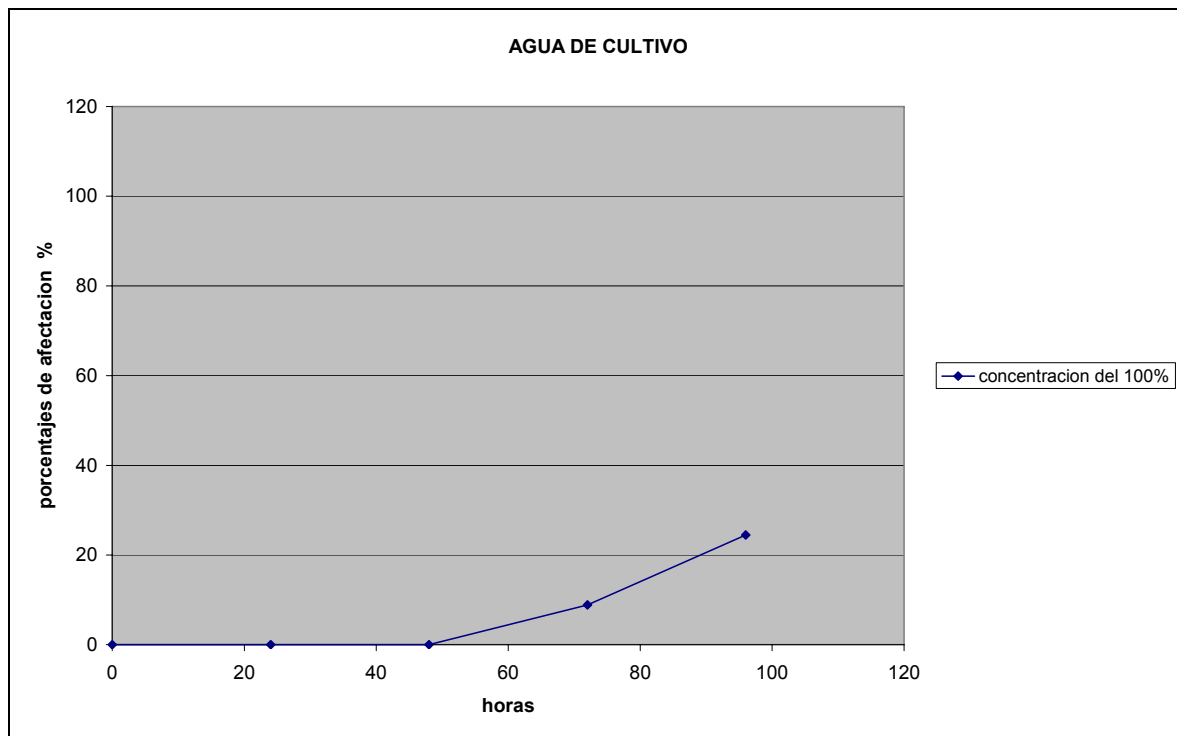
Figura 18. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo preliminar con agua residual en diferentes concentraciones del toxico.



Fuente: Autor.

De la **figura 18**, se interpreta que las plantas expuestas en concentración del 100%, presentaron afectación del 100%; mientras que en las concentraciones del 75%, 50%, 25% y 1%, ocurrió afectación del 95.55%, 53.33%, 22.22% y 0% en las plantas. Los datos correspondientes se encuentran registrados en el **Anexo D**.

Figura 19. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo preliminar con agua de cultivo en diferentes concentraciones del toxico.



Fuente: Autor.

De la **figura 19**, se interpreta que las plantas expuestas en concentración del 100%, presentaron afectación el 24.44% de las plantas. Por otra parte las plantas expuestas en concentraciones del 75%, 50%, 25%, y 1%, no presentaron ningún cambio evidente. Los registros correspondientes para este montaje se evidencian en el **Anexo D**.

4.3 PRUEBA DE TOXICIDAD EXPERIMENTAL

Los análisis de laboratorio del agua residual utilizada para este bioensayo se encuentran en el **Anexo B**.

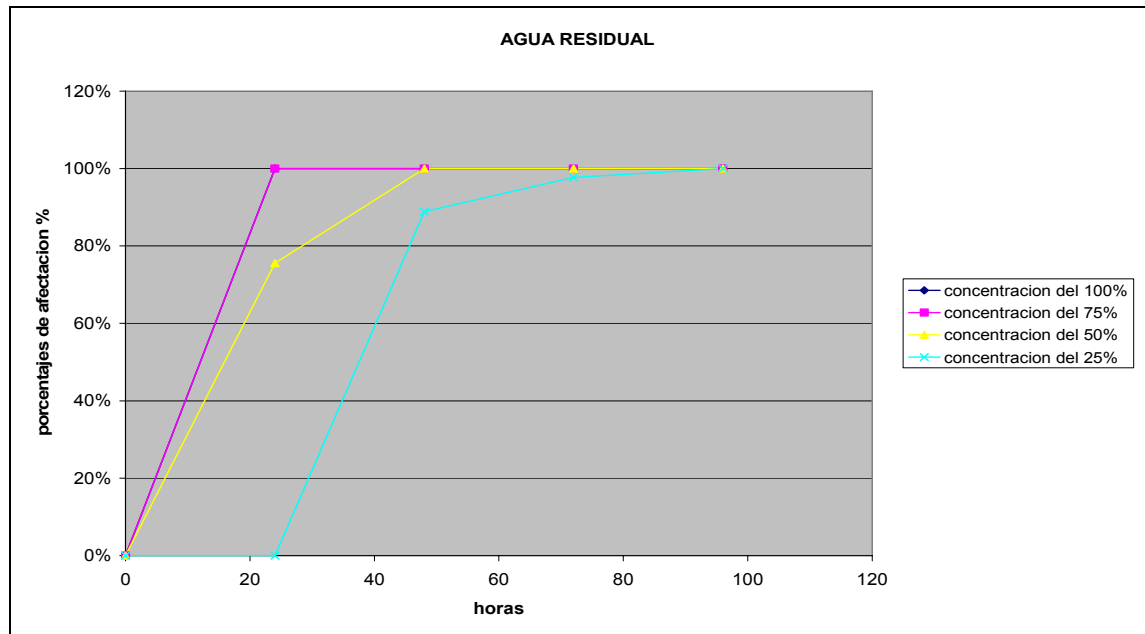
En los análisis de laboratorio del agua residual, se observa que la concentración del nitrógeno fue de 178.2 mg/lt en esta agua, es un valor muy alto, en comparación con los rangos establecidos por la literatura (ver **tabla 4**), en donde el rango ideal para el cultivo de la lenteja de agua, se encuentra entre 0.0043 – 43 mg/lt y los otros parámetros se encuentran en los intervalos de concentración permisibles. Ver **tabla 2**.

A partir de los resultados obtenidos en el montaje preliminar, se utilizó la concentración del 100% equivalente a 15.5 mg/lt de detergente, como concentración mínima para el montaje de los bioensayos de toxicidad experimental, debido a que no se presentó afectación del 50% en las plantas y se utilizó como concentración máxima de 1550 mg/lt de detergente.

El propósito de este montaje, es determinar el intervalo de concentración definitivo, que se utilizara en la realización de los montajes de toxicidad finales. A continuación se presentan las graficas de afectación correspondientes a los bioensayos de toxicidad experimental, según los registros de datos (ver **Anexo D**).

Las graficas se presentan de la siguiente manera: grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo experimental con agua residual (**figura 20**) y grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo experimental con agua de cultivo (**figura 21**).

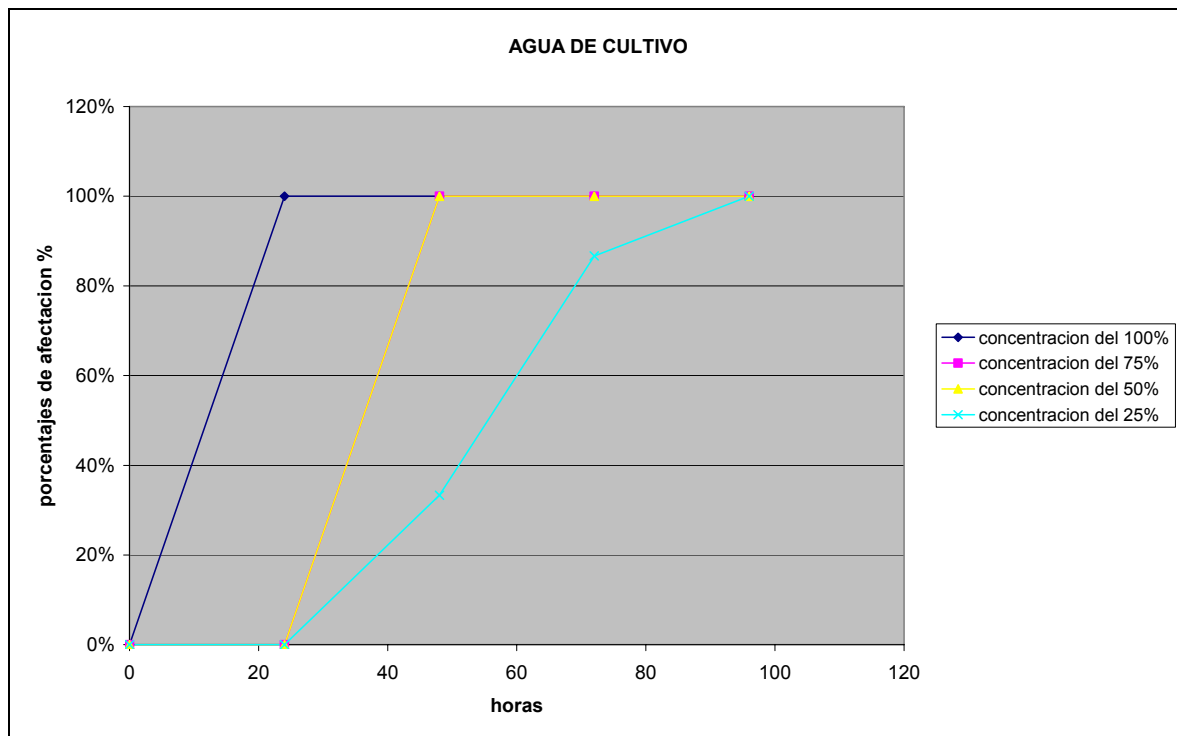
Figura 20. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo experimental con agua residual en diferentes concentraciones del toxico.



Fuente: Autor

En la **figura 20**, Se observa que las plantas expuestas en concentraciones del 100%, 75%, 50%, 25%, presentaron afectación del 100%, mientras que las plantas en concentración del 1%, no presentaron ninguna afectación. Los datos correspondientes se encuentran registrados en el **Anexo D**.

Figura 21. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo experimental con agua de cultivo en diferentes concentraciones del toxico.



Fuente: Autor

En la **figura 21**, se interpreta que en las concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25%, las plantas presentaron afectación del 100%, mientras que en la concentración del 1%, no se presentó ningún tipo de afectación.

La afectación que se presentó en las plantas en este bioensayo, fue lenta, en comparación con el montaje en agua residual, debido a que solo se encontraban en agua de cultivo y detergente; mientras que en el montaje con agua residual las plantas estaban en concentraciones muy altas de nitrógeno, y con presencia de detergentes. Los registros correspondientes se muestran en el **Anexo D**.

4.4 PRUEBA DE TOXICIDAD FINAL

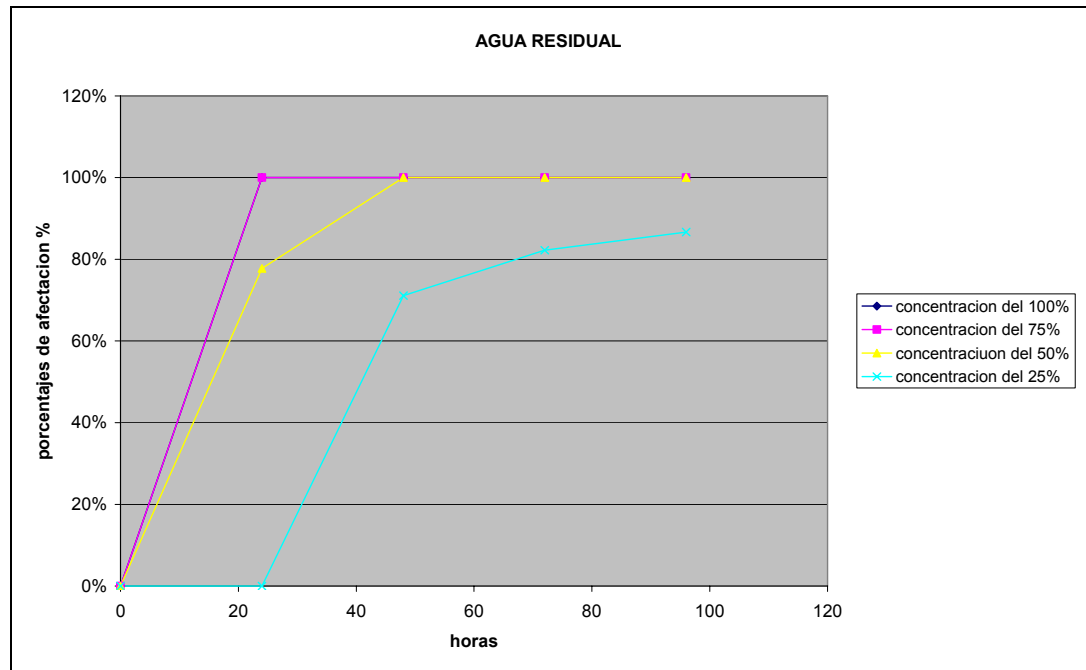
Los análisis de laboratorio del agua residual utilizada para este bioensayo se encuentran en el **Anexo B**.

En los análisis de laboratorio del agua residual, se observa que la concentración del nitrógeno fue de 132.8 mg/lit en esta agua, sigue siendo este un valor muy alto, en comparación con los rangos establecidos por la literatura (ver **tabla 4**), en donde el rango ideal para el cultivo de la lenteja de agua, se establece entre 0.0043 – 43 mg/lit, siendo este un factor de incidencia directa en el desarrollo y crecimiento adecuado de la planta *Spirodella sp*, y los otros parámetros se encuentran en los intervalos de concentración permisibles. Ver **tabla 2**.

A partir de los resultados obtenidos en el montaje experimental, se utilizó la concentración del 25% equivalente a 387.5 mg/lit de detergente, como concentración máxima para el montaje de los bioensayos de toxicidad experimental, debido a que por debajo de esta concentración no se presentó afectación del 50% de las plantas.

A continuación se presenta las graficas de afectación correspondientes, para los bioensayos de toxicidad final. Los registros de los datos tomados en el bioensayo se encuentran en el **Anexo D**; por lo tanto las graficas se presentan de la siguiente manera: Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo final con agua residual (**figura 22**) y Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo final con agua de cultivo (**figura 23**).

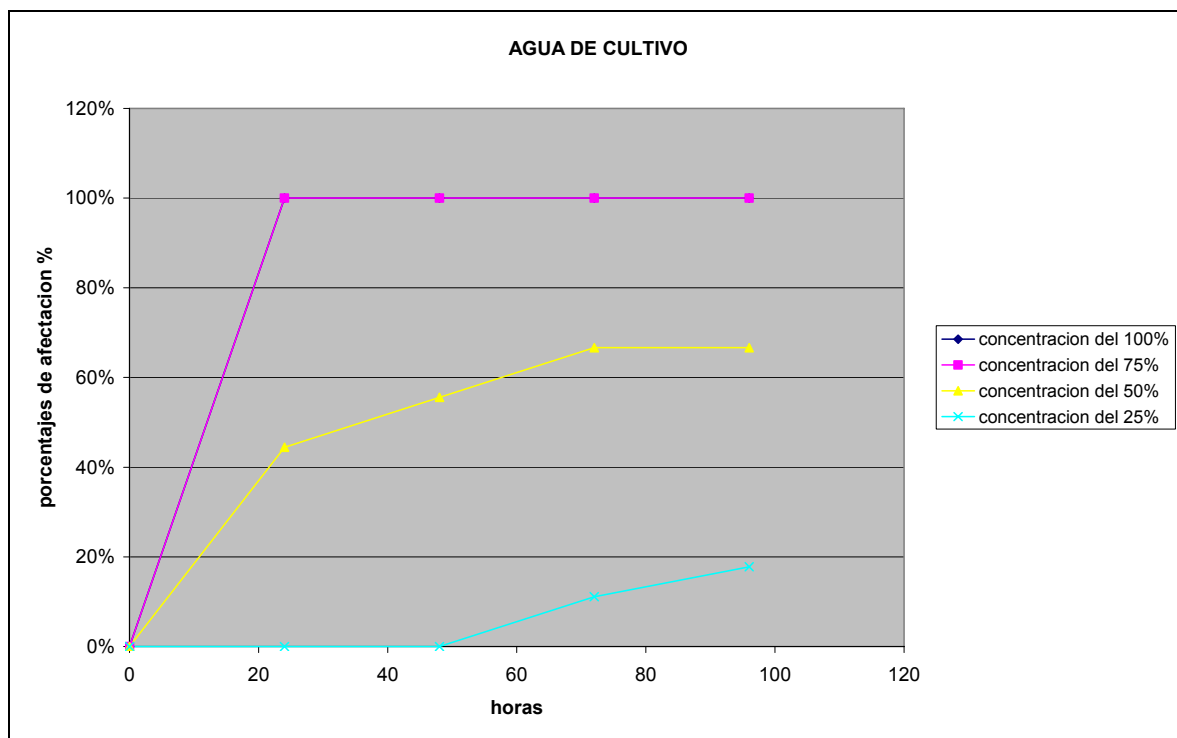
Figura 22. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo final con agua residual en diferentes concentraciones del toxico.



Fuente: Autor

En la **figura 22**, se observa que las plantas encontradas en concentraciones del 100%, 75% y 50%, presentaron afectacion del 100%; mientras que en las concentraciones del 25% y 1%, ocurrió afectación del 86.7%%, y 0% en las plantas. Los datos correspondientes se encuentran registrados en el **Anexo D**.

Figura 23. Grafica de los resultados obtenidos en el bioensayo final con agua de cultivo en diferentes concentraciones del toxico.



Fuente: Autor

En la **figura 23**, se interpreta que las plantas expuestas en concentraciones del 100% y 75%, presentaron afectación en un 100%; mientras que en las concentraciones del 50%, 25% y 1%, ocurrió afectación en un 66.66%, 17.77% y 0% en las plantas. Los datos correspondientes se encuentran registrados en el **Anexo D**.

4.4.1 Determinación del CE₅₀. El método estadístico implementado para la determinación del CE₅₀ en los montajes de agua residual y agua de cultivo, fue el método probit. A continuación se presentan los datos para la determinación del CE₅₀ (ver **tablas 8 y 9**) con sus correspondientes graficas, y sus respectivos intervalos de confianza del 95% para cada uno de los montajes; explicados de la siguiente manera: grafica del CE₅₀, para el montaje de toxicidad con agua residual

(figura 24), y grafica del CE_{50} , para el montaje de toxicidad con agua de cultivo (figura 25), que consiste de la siguiente manera.

Bioensayo de toxicidad final en agua residual. Con los resultados obtenidos en el bioensayo de toxicidad preliminar en agua residual con la *Spirodella sp*, se construye la **tabla 9**, con los siguientes datos:

- Concentración de la sustancia ensayada (en %).
- Logaritmo en base 10 de las concentraciones (x).
- Número de organismos en cada concentración (N).
- Número de organismos muertos en cada concentración (r).
- Porcentaje de mortalidad para cada concentración (P).
- Probit empírico (PE), donde se halla de la tabla 17.
- Probit esperado o calculado (Y), mediante la siguiente fórmula:

$$Y = 5 + (X - M) / S$$

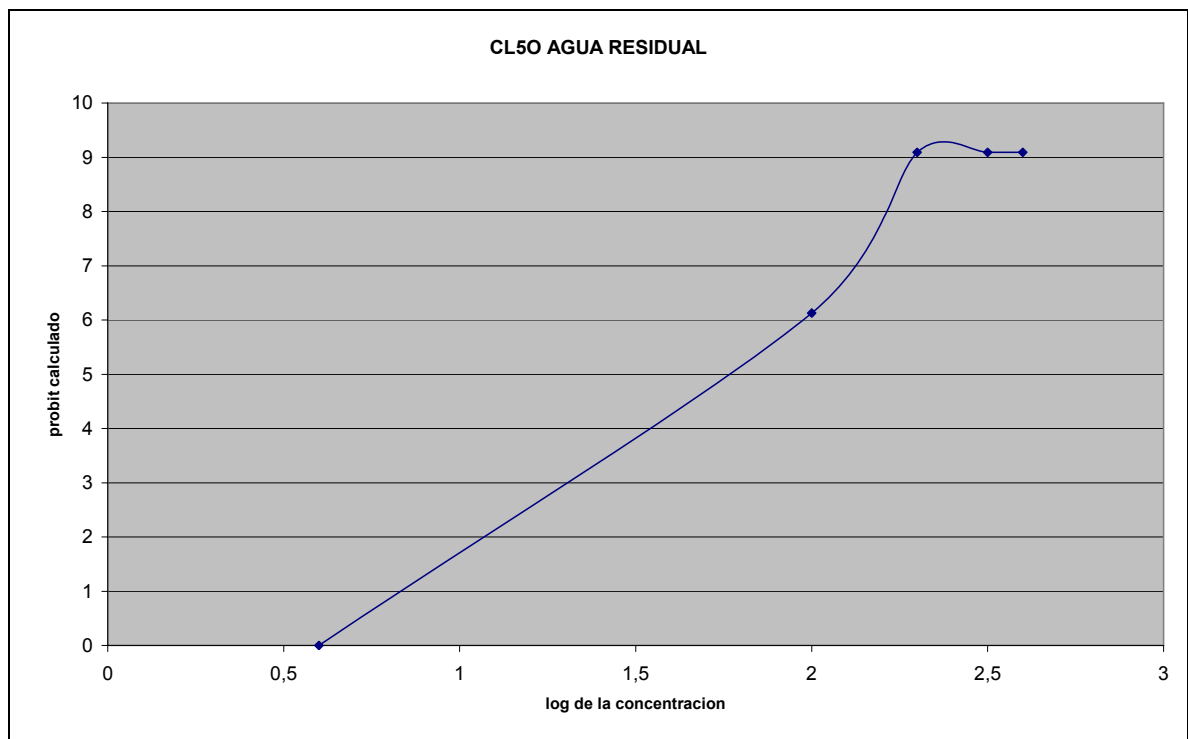
Tabla 8. Cálculo de la CE_{50} por el método Probit

TABLA 11.CÁLCULO DE LA CE_{50} POR EL MÉTODO PROBIT.						
Concentración del agente tóxico (%)	Log ₁₀ de la concentración (X)	Núm. de organismos (N)	Núm. de muertos (r)	Porcentaje de mortalidad (P)	Probit empírico (PE)	Probit calculado (Y)
387.5	2.6	45	45	100	9.09	9.09
290.6	2.5	45	45	100	9.09	8.64
193.7	2.3	45	45	100	9.09	7.73
96.8	2	45	39	86.7	6.13	6.36
3.87	0,6	45	0	0	0	0

Fuente: Autor

A partir de estos datos se elabora la gráfica correspondiente, para la determinación del probit.

Figura 24. Grafica para la determinación del CE_{50} en el bioensayo final con agua residual.



Fuente: Autor

De la **figura 24**, se determina el valor de m , trazando una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la grafica elaborada; dando el valor de $m = 1.7$ y el antilogaritmo de este valor corresponde al $CE_{50} = 50.11$ miligramos por litro. Mediante estos valores determinados, se realizan los cálculos correspondientes de los intervalos de confianza del 95% (ver **Anexo E**); que corresponden a $25.88 < 50.11 < 74.34$ mg/lt..

Según los resultados obtenidos de la **figura 24**, los intervalos de confianza establecidos indican que las plantas en este rango presentan afectación del 50%, con una confiabilidad del 95%, establecida por el método probit. Así mismo se interpreta que por encima del intervalo de **74.34 mg/lt**, se presenta una afectación mayor al 50% de las plantas.

- **BIOENSAYO DE TOXICIDAD FINAL EN AGUA DE CULTIVO**

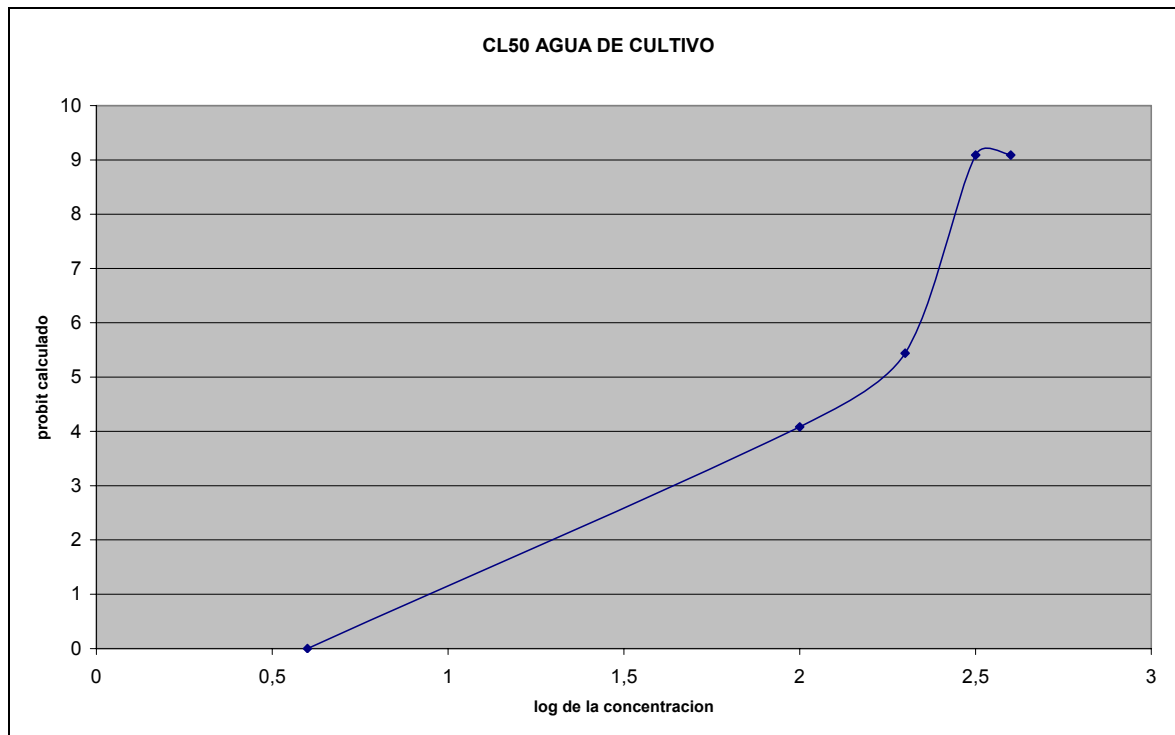
Tabla 9. Cálculos de la CE_{50} por el método probit

TABLA 12. CÁLCULO DE LA CE_{50} POR EL MÉTODO PROBIT.						
Concentración del agente tóxico (%)	$\log_{10}$ de la concentración (X)	Núm. de organismos (N)	Núm. de muertos (r)	Porcentaje de mortalidad (P)	Probit empírico (PE)	Probit calculado (Y)
387.5	2.6	45	45	100	9.09	6.82
290.6	2.5	45	45	100	9.09	6.36
193.7	2.3	45	30	66.7	5.44	5.45
96.8	2	45	8	17.8	4.08	4.09
3.87	0.6	45	0	0	0	-2.3

Fuente: Autor

A partir de estos datos se elabora la gráfica correspondiente, para la determinación del probit.

Figura 25. Gráfica para la determinación del CE_{50} en el bioensayo final con agua de cultivo.



Fuente: Autor

En la **figura 25**, se determina el valor de m , de la misma manera como se determino en el montaje con agua residual, trazando una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la grafica elaborada; dando el valor de $m = 2.2$, y el antilogaritmo de este valor corresponde al $CE_{50} = 158.48$ miligramos por litro, y los intervalos de confianza para este montaje corresponden entre $149 < 158.48 < 167.96 \text{ mg/lit.}$

Los cálculos correspondientes para la determinación de los intervalos de confianza del CE_{50} , se muestran en el **Anexo E**.

Según los resultados obtenidos de la **figura 25**, los intervalos de confianza establecidos indican que las plantas en este rango presentan afectación del 50%, con una confiabilidad del 95%, establecida por el método probit. Así mismo se interpreta que por encima del intervalo de **167.96 mg/lit**, se presenta una afectación mayor al 50% de las plantas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se logro adaptar el cultivo madre de la planta *Spirodella sp*, con agua natural de la quebrada menzuli, en las condiciones presentes en el laboratorio de microbiología de la Universidad Pontificia Bolivariana, para ser utilizada en los diferentes bioensayos de toxicidad.

Utilizando el método probit, se determinó la concentración efectiva de detergente (CE_{50}) y sus intervalos de confianza del 95%; en los bioensayos de toxicidad final en agua residual y en agua de cultivo, dando como CE_{50} para el montaje en agua residual un valor de **50.11 mg/L** y los intervalos de confianza del 95% estuvieron entre **25.88 < 50.11 < 74.34 mg/Lt**; y para el montaje en agua de cultivo el CE_{50} se obtuvo un valor de **158.48 mg/L** y los intervalos de confianza del 95% estuvieron entre **149 < 158.48 < 167.96 mg/Lt**.

La concentración efectiva obtenida para el montaje de toxicidad final en agua de cultivo, se observa que el CE_{50} y sus intervalos de confianza del 95%, es muy amplio, debido a que es una dilución de agua natural de quebrada con detergente. Por lo tanto, para que la planta tenga afectación, se necesitan concentraciones de detergente superiores a 149 mg/Lt.

También se determinó que la concentración efectiva obtenida en el montaje de toxicidad final en agua residual, se observa que el CE_{50} y sus intervalos de confianza del 95%, es muy pequeño, por consiguiente la planta presenta afectación en concentraciones superiores a 25.88 mg/Lt, lo que significa que el detergente no es el factor que causa afectación en el crecimiento y desarrollo adecuado de la planta, si no que es otra sustancia que se encuentra en el agua residual de la universidad.

Las concentraciones efectivas obtenidas para cada uno de los montajes de toxicidad final, indican que las concentraciones de detergente que se encuentran en el agua residual de la universidad, no están afectando a la planta por lo que son concentraciones que oscilan entre 6 – 8 mg/lit.

En la Universidad Pontificia Bolivariana se están manejando concentraciones de nitrógeno muy altas, en comparación con las concentraciones mencionadas en la literatura, por lo tanto el nitrógeno es el toxico que afecta a la planta ***Spirodella sp***, en el desarrollo y crecimiento adecuado, debido a que las plantas acuáticas se ven afectadas en un cuerpo de agua con concentraciones de nitrógeno muy altas, provocando alteraciones fisiológicas y la muerte.

Se recomienda realizar bioensayos de toxicidad, para determinar la concentración efectiva del nitrógeno, en el agua residual de la universidad.

Como también cultivar y acondicionar la planta ***Spirodella sp*** en condiciones favorables para su buen desarrollo y crecimiento, en donde la planta realice las remociones respectivas de nitrógeno y fósforo en un agua residual.

BIBLIOGRAFIA

CAICEDO, J. R. Plantas acuáticas de la familia lemnácea para el postratamiento de efluentes anaeróbicos efectos del NH_4^+N en la producción de biomasa. Universidad del Valle, Facultad de Ingeniería. 1.996.

CANO A., COLLADO R. La lenteja de agua como sistema blando de depuración de aguas residuales de bajo costo. Criterios de diseño, funcionamiento y rendimiento. En: tecnología del agua. N° 174. España. Marzo, 1.998. p. 18-25.

CASTILLO MORALES Gabriela. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas; estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad Santiago de Chile. México. 2004

CRITES Ron, TCHOBANOGIOUS George. Sistemas de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados. Tomo 2. Santafé de Bogotá. Mc Graw Hill. 2.000. p. 529-534, 621-637.

DÍAZ BÁEZ María Consuelo, BULUS ROSSINI Gustavo Daniel y PICA GRANADOS Yolanda, Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación. p. 11-16.

GARZON Guillermo. Química general con manual de laboratorio. 2ª ed. México. Mc Graw Hill. 1.995. p. 126-210.

GUIA TECNICA COLOMBIANA GTC 31, gestión ambiental. Agua. Guía para la realización de ensayos de toxicidad (bioensayos) en organismos acuáticos. Icontec 2007.

METCALF φ EDDY, Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización. 2 edición. Madrid, Mc Graw Hill, 1.998. p 729-731.

MORENO Mª; LUQUE J. MONOGRAFIA DE LAS SECRETARIA DE ESTADO PARA LA POLITICA DEL AGUA Y MEDIO AMBIENTE. Depuración por lagunaje de aguas residuales, manual de operadores. Madrid. 1.991. Madrid. P. 15-36, 65-80.

OROZCO, A et al. Tratamiento biológico de las aguas residuales. Acodal. P. 105-107, 116-117.

QUINTERO Claudia. Guía para la toma de muestras. Laboratorio de análisis químico de aguas residuales, Universidad Pontificia Bolivariana. Bucaramanga. 2.005.

QUINTERO O. et. Al. Evaluación de un modelo piloto, integrado para el postratamiento del efluente del RAP, utilizando *Spirodella sp.* 2.003.

RAMIREZ, M. Evaluación del Arranque y Operación del Reactor Anaerobio a Flujo Pistón (RAP). Universidad Pontificia Bolivariana; Escuela de Ingeniería Civil. Bucaramanga, 1.999.

ROMERO ROJAS J. A. Acuiquímica. Edit. Escuela Colombiana de Ingeniería. 1.996.

SAWYER Clair, Mc CARTY Perry, PARKIN Gene. Química para Ingeniería Ambiental. Madrid: Mc Graw Hill. Cuarta edición., p. 273-277.

ACOT, PASCAL. Historia de la ecología. Madrid: Taurus Ediciones S.A., 1990

STÁNDAR METHODS for examination of water and wastewater, 20th Ed .1998, APHA AWWA. P1-36, 1-37

SKILLICORN Paul, SPIRA William y JOURNEY William. Un Nuevo sistema de cultivo acuático para países en vías de desarrollo. Paris, Francia. 1.993.

VALDERRAMA, L. Las plantas acuáticas: una alternativa para el tratamiento de las Aguas Residuales Domesticas en la planta de Rio Frio. Bucaramanga 1.997.

VEJARANO C. Revista contaminación ambiental. 11-20-89: universidad distrital – Colombia.

ANEXOS

Anexo A. Informe del Diario Oficial de la Unión Europea

DECISIÓN DE LA COMISIÓN de 23 de marzo de 2005

Por la que se establecen los criterios ecológicos para la concesión de la etiqueta Ecológica comunitaria a los productos de limpieza de uso general y a los productos de limpieza de cocinas y baños.

[notificada con el número C(2005) 1028]
(Texto pertinente a efectos del EEE)
(2005/344/CE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Visto el Reglamento (CE) no 1980/2000 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de julio de 2000, relativo a un sistema comunitario revisado de concesión de etiqueta ecológica (1), y, en particular, su artículo 6, apartado 1, párrafo segundo, Previa consulta al Comité de etiqueta ecológica de la Unión Europea,

Considerando lo siguiente:

(1) De conformidad con el Reglamento (CE) no 1980/2000, la etiqueta ecológica puede concederse a todo producto con características que lo capaciten para contribuir de forma significativa a la realización de mejoras en aspectos ecológicos clave.

(2) El Reglamento (CE) no 1980/2000 dispone que deben establecerse criterios específicos para la etiqueta ecológica por categorías de productos, basándose en los criterios elaborados por el Comité de etiqueta ecológica de la Unión Europea.

(3) También se establece en dicho Reglamento que la revisión de los criterios correspondientes a la etiqueta ecológica, así como de los requisitos de evaluación y verificación de tales criterios, se efectuará a su debido tiempo, antes de que expire el período de validez de los criterios especificados para cada categoría de productos.

(4) Procede revisar los criterios ecológicos definidos en la Decisión 2001/523/CE de la Comisión, de 27 de junio de 2001, por la que se establecen los criterios ecológicos para la concesión de la etiqueta ecológica comunitaria a los productos de limpieza de uso general y a los productos de

limpieza de cocinas y baños (2), de manera que se tenga en cuenta la evolución científica y del mercado.

(5) Además, para especificar que los productos detergentes para la limpieza cotidiana de cristales deben considerarse productos de limpieza de uso general, en lugar de productos de limpieza para usos más específicos, es necesario modificar la definición de la categoría de productos establecida en dicha Decisión.

(6) Por consiguiente, para mayor claridad, debe sustituirse la Decisión 2001/523/CE.

(7) Los criterios ecológicos revisados deben ser válidos durante un período de cuatro años.

(8) Conviene autorizar un período de transición de un máximo de 12 meses a los solicitantes cuyos productos hayan obtenido la etiqueta ecológica antes de la fecha de notificación de la presente Decisión o que la hayan solicitado antes de esa fecha, a fin de que dispongan de tiempo suficiente para adaptar sus productos de forma que cumplan los criterios y requisitos revisados.

(9) Las medidas previstas en la presente Decisión se ajustan al dictamen del Comité creado por el artículo 17 del Reglamento (CE) no 1980/2000.

HA ADOPTADO LA PRESENTE DECISIÓN:

Artículo 1

La categoría de productos «productos de limpieza de uso general y productos de limpieza de cocinas y baños» incluirá las subcategorías siguientes:

a) productos de limpieza de uso general que incluyen los productos detergentes para la limpieza cotidiana de suelos, paredes, techos, cristales y otras superficies fijas, y que se disuelven o diluyen en agua antes de su utilización. Los productos de limpieza de uso general tienen que tener un contenido de agua ≤ 90 % (en peso); b) los productos de limpieza de cristales que incluyen los productos de limpieza de usos más específicos para la limpieza cotidiana de cristales, y que se diluyen en agua antes de su utilización o se utilizan sin dilución. Todos los productos de limpieza de cristales tienen que tener un contenido de agua ≤ 95 % (en peso); c) los productos de limpieza de cocinas y baños que incluyen productos detergentes para la limpieza cotidiana (incluido el restregado) de la suciedad y los depósitos de instalaciones sanitarias tales como lavaderos, cuartos de baño, duchas, sanitarios y cocinas. Todos los productos de limpieza de cocinas y baños tienen que tener un contenido de agua ≤ 90 % (en peso).

La subcategoría especificada en el apartado 1, letra c), no incluirá lo siguiente:

- a) los productos utilizados automáticamente al descargar la cisterna del inodoro, como los dosificadores de pastilla;
- b) los productos que se colocan en la cisterna;
- c) los productos de limpieza que se limitan a eliminar el carbonato de calcio (incrustado);
- d) los desinfectantes.

La categoría de productos no incluirá los productos de limpieza para usos más específicos, como los limpiahornos, decapantes de suelos, productos abrillantadores, desatascadores, etc.

Esta categoría de productos incluirá tanto los productos de uso privado como profesional.

Artículo 2

Para que los productos de limpieza de uso general y los productos de limpieza de cocinas y baños puedan obtener la etiqueta ecológica comunitaria, de conformidad con el Reglamento (CE) no 1980/2000, los productos de limpieza deberán pertenecer a la categoría de productos «productos de limpieza de uso general y productos de limpieza de cocinas y baños», y cumplir los criterios ecológicos del anexo de la presente Decisión.

Artículo 3

Los criterios ecológicos de la categoría de productos «productos de limpieza de uso general y productos de limpieza de cocinas y baños», así como los requisitos de evaluación y verificación, serán válidos hasta el 31 de diciembre de 2008.

Artículo 4

A efectos administrativos, el código asignado a la categoría de productos «productos de limpieza de uso general y productos de limpieza de cocinas y baños» será el número 020

Artículo 5

Queda derogada la Decisión 2001/523/CE.

Artículo 6

Las etiquetas ecológicas concedidas antes de la fecha de notificación de la presente Decisión referentes a los productos de la categoría de productos «productos de limpieza de uso general y productos de limpieza de cocinas y baños» podrán seguir utilizándose hasta el 31 de marzo de 2006.

Cuando se hayan presentado solicitudes antes de la fecha de notificación de la presente Decisión para la obtención de la etiqueta ecológica respecto a los productos de la categoría de productos «productos de limpieza de uso general y productos de limpieza de cocinas y baños», estos podrán obtener dicha etiqueta con arreglo a las condiciones establecidas en la Decisión 2001/523/CE. En tales casos, la etiqueta ecológica podrá utilizarse hasta el 31 de marzo de 2006.

Artículo 7

Los destinatarios de la presente Decisión serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 23 de marzo de 2005.

Por la Comisión

Stavros DIMAS

Miembro de la Comisión

ANEXO

MARCO

Para obtener la etiqueta ecológica, el producto de limpieza de uso general o el producto de limpieza de cocinas y baños (denominado en lo sucesivo «el producto») tiene que pertenecer a la categoría de productos definida en el artículo 1 y cumplir los criterios del presente anexo.

Finalidad de los criterios

Estos criterios tienen por objeto:

- reducir el impacto medioambiental limitando la cantidad de ingredientes nocivos, disminuyendo la cantidad de detergentes utilizados y reduciendo los residuos de envases,
- reducir o prevenir los riesgos para el medio ambiente o la salud humana relacionados con la utilización de sustancias peligrosas,
 - difundir información que permita a los consumidores utilizar el producto de forma eficaz y reducir al mínimo el impacto ambiental.
-

Los criterios se fijan en niveles que favorecen la concesión de la etiqueta a los productos de limpieza de uso general y a los productos de limpieza de cocinas y baños con escaso impacto ambiental.

Requisitos de evaluación y verificación

Los requisitos específicos de evaluación y verificación se indican dentro de cada criterio.

Si procede, podrán utilizarse métodos de prueba distintos de los indicados para cada criterio, siempre que el organismo competente que evalúe la solicitud acepte su equivalencia.

Siempre que sea posible, las pruebas debe realizarlas un laboratorio que cumpla los requisitos generales de la norma EN ISO 17025 o equivalente.

Cuando no se mencione prueba alguna o cuando se indique que se usan con fines de control o verificación, el organismo competente deberá basar su apreciación, según los casos, en las declaraciones y la documentación presentadas por el solicitante o en verificaciones independientes.

Cuando sea necesario, los organismos competentes podrán exigir documentación acreditativa y efectuar verificaciones independientes.

En caso de que los solicitantes deban presentar declaraciones, documentación, informes de pruebas u otros justificantes que demuestren el cumplimiento de los criterios, se entenderá que dichos documentos podrán ser presentados por el solicitante o, en su caso, su proveedor o proveedores.

Cuando se haga referencia a los ingredientes, éstos incluirán las sustancias y los preparados.

En el apéndice I se presenta la base de datos revisada de ingredientes de detergentes (lista DID), versión de 30 de junio de 2004, que contiene los ingredientes más usados en las fórmulas de los detergentes. La parte A de la lista DID se utilizará para extraer los datos para calcular el VCDtox y para evaluar la biodegradabilidad de los agentes tensoactivos.

Si procede, el solicitante podrá utilizar revisiones posteriores de la base de datos de los ingredientes de detergentes a medida que estén disponibles.

Respecto a los ingredientes que no figuren en la parte A de la lista DID, el solicitante deberá aplicar, bajo su responsabilidad, el procedimiento descrito en la parte B del apéndice I.

En lo que se refiere a los ingredientes que no figuran en la lista DID, el solicitante podrá seguir el procedimiento descrito en el apéndice II para presentar la documentación necesaria sobre la degradabilidad anaeróbica.

Se recomienda a los organismos competentes que tengan en cuenta la aplicación de sistemas de gestión medioambiental reconocidos, tales como EMAS o la norma ISO 14001, al evaluar las solicitudes y verificar el cumplimiento de los criterios del presente anexo (Nota: la aplicación de dichos sistemas de gestión no tiene carácter obligatorio).

UNIDAD FUNCIONAL

En lo que respecta a los productos de limpieza de uso general, la unidad funcional (utilizada en los criterios que se recogen a continuación) es la dosis en gramos de producto recomendada por el fabricante por 1 litro de agua de lavado.

En lo que respecta a los productos de limpieza de cristales y a los productos de limpieza de cocinas y baños, no se ha definido ninguna unidad funcional (los criterios aplicables que se recogen a continuación se calculan en relación a 100 g de producto).

CRITERIOS ECOLÓGICOS

1. Toxicidad para los organismos acuáticos

El volumen crítico de dilución-toxicidad (VCDtox) se calcula para cada ingrediente (i) según la ecuación siguiente:

$$\text{VCDtox (ingrediente i)} = (\text{peso} * \text{DF (i)} / \text{TF crónica (i)}) * 1000$$

—

Donde el peso (i) es el peso del ingrediente (en gramos) por unidad funcional (para los productos de limpieza de uso general) o por 100 g de producto (para los productos de limpieza de cocinas y baños). DF (i) es el factor de degradación y TF crónica (i) es el factor de toxicidad del ingrediente (en miligramos por litro).

Los valores de DF y TF crónica serán los indicados en la parte A de la lista DID (apéndice I). Si el ingrediente en cuestión no está incluido en la parte A de la lista DID, el solicitante estimará los valores según el método descrito en la parte B de la lista DID (apéndice 1). Los VCDtox de los diversos ingredientes se suman para obtener el VCDtox del producto.

En lo que respecta a los productos de limpieza de uso general, el VCDtox del producto no debe superar los 20 000 l/ unidad funcional.

En lo que respecta a los productos de limpieza de cocinas y baños, el VCDtox del producto no debe superar los 100 000 l/100 g de producto.

En lo que respecta a los productos de limpieza de cristales, el VCDtox del producto no debe superar los 5 000 l/100 g de producto.

Evaluación y verificación: deberá facilitarse al organismo competente la fórmula exacta del producto, junto con el cálculo detallado del VCDtox que demuestre el cumplimiento de ese criterio.

2. Biodegradabilidad de los agentes tensoactivos

a) Biodegradabilidad fácil (aeróbica)

Todos los agentes tensoactivos utilizados en el producto deben ser fácilmente biodegradables.

Evaluación y verificación. La fórmula exacta del producto y la descripción de la función de cada ingrediente deben facilitarse al organismo competente. La parte A de la lista DID (apéndice I) indica si un agente tensoactivo concreto es biodegradable en condiciones aeróbicas o no (los que tienen la indicación «R» en la columna sobre biodegradabilidad aeróbica son fácilmente biodegradables). Por lo que respecta a los agentes tensoactivos que no figuran en la parte A de la lista DID, deberá facilitarse la información pertinente procedente de documentación científica u otras fuentes, o los resultados de pruebas adecuadas que demuestren que dichos agentes son biodegradables aeróbicamente. Las pruebas de biodegradabilidad fácil serán las indicadas en el Reglamento (CE) no 648/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004, sobre detergentes (1). Los tensoactivos se considerarán fácilmente biodegradables si el nivel de biodegradabilidad (mineralización) medido según una de las cinco pruebas siguientes es, al menos, el 60 % en un plazo de 28 días: ensayo de espacio de cabeza CO₂ (OCDE 310), ensayo Sturm modificado [evolución de dióxido de carbono (CO₂)] (OCDE 301B; método de la Directiva 67/548/CEE del Consejo (2) anexo V. C.4-C), (botella cerrada) (OCDE 301D; método de la Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-E), (respirometría manométrica) (OCDE 301F; método de la Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-D), o método MITI (I) (OCDE 301C; Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-F), o las pruebas ISO equivalentes. Dependiendo de las características físicas del tensoactivo, se podrá utilizar uno de los métodos enumerados a continuación para confirmar la biodegradabilidad fácil, si el nivel de biodegradabilidad es, como mínimo, un 70 % en un plazo de 28 días: método de la Directiva 67/ 548/CEE, anexo V.C.4-A [desaparición del carbono orgánico disuelto COD (OCDE 301A); Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-A] o detección modificada de la OCDE (desaparición del COD) (OCDE 301E; Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-B), o las pruebas ISO equivalentes. Deberá justificarse adecuadamente la aplicabilidad de los métodos de prueba a la medición del carbono orgánico disuelto ya que podrían dar resultados sobre la eliminación y no sobre la biodegradabilidad. No se utilizará la adaptación previa en las pruebas de biodegradabilidad fácil aeróbica. No se aplicará el principio de los 10 días.

b) Biodegradabilidad anaeróbica

Todos los agentes tensoactivos utilizados en la composición de los productos deben ser biodegradables en condiciones anaeróbicas.

Evaluación y verificación: deberá facilitarse al organismo competente la fórmula exacta del producto y la descripción de la función de cada ingrediente. La parte A de la lista DID (apéndice I) indica si un agente tensoactivo determinado es biodegradable en condiciones anaeróbicas o no (los que tienen la indicación «Y» en la columna sobre biodegradabilidad anaeróbica son biodegradables en condiciones anaeróbicas). Por lo que respecta a los agentes tensoactivos que no figuran en la parte A de la lista DID, deberá facilitarse la información pertinente procedente de documentación científica u otras fuentes o los resultados de pruebas adecuadas que demuestren que dichos agentes son degradables anaeróbicamente. En cuanto a la degradabilidad en condiciones anaeróbicas, las pruebas de referencia son la OCDE 311, la ISO 11734, la ECETOC no 28 (junio de 1988) o un método equivalente de prueba, con el requisito de, como mínimo, el 60 % de degradabilidad total en condiciones anaeróbicas. Se podrán utilizar también métodos de prueba que simulen las condiciones del medio anaeróbico pertinente para demostrar que se ha alcanzado la degradabilidad total del 60 % en condiciones anaeróbicas (véase el apéndice II).

3. Sustancias o preparados peligrosos o tóxicos

a) Los ingredientes siguientes no podrán incluirse en el producto, ni en su fórmula ni como parte de un preparado incluido en su fórmula:

- alquil fenol etoxilatos (APEO) y sus derivados,
- EDTA (etileno-diamino-tetra-acetato) y sus sales,
- NTA (nitrito-tri-acetato),
- Nitroalmizcles y almizcles policíclicos, como por ejemplo:

Almizcle de xileno: 5-terc-butil-2,4,6-trinitro-m-xileno,

Almizcle de abelmosco: 4-terc-butil-3-metoxi-2,6-dinitrotolueno,

Mosqueno: 1,1,3,3,5-pentametil-4,6-dinitroindano,

Almizcle de tibetina: 1-terc-butil-3,4,5-trimetil-2,6-dinitrobenceno,

Almizcle de cetona: 4'-terc-butil-2',6'-dimetilo-3',5'-dinitroacetafenona,

HHCB (1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametilciclopenta(g)-2-benzopirano),

AHTN (6-acetil-1,1,2,4,4,7-hexametiltetralino).

Evaluación y verificación: el solicitante debe presentar una declaración acompañada de las correspondientes declaraciones de los fabricantes de ingredientes en la que confirme que no se han incluido en el producto las sustancias enumeradas.

b) No deberán utilizarse sales de amonio cuaternario que no sean fácilmente biodegradables, ni en su fórmula ni como parte de un preparado incluido en su fórmula:

Evaluación y verificación: el solicitante presentará documentación que demuestre la biodegradabilidad de cualquier sal de amonio cuaternario utilizada.

c) No debe incluirse en el producto ningún ingrediente (sustancia o preparado) clasificado con cualquiera de las frases de riesgo siguientes o sus combinaciones, con arreglo a la Directiva 67/548/CEE y sus modificaciones o la Directiva 1999/45/CE del Parlamento Europeo y del Consejo (3) y sus modificaciones:

R31 (en contacto con ácidos libera gases tóxicos),
R40 (posibles efectos cancerígenos),
R45 (puede causar cáncer),
R46 (puede causar alteraciones genéticas hereditarias),
R49 (puede causar cáncer por inhalación),
R68 (posibilidad de efectos irreversibles),
R50-53 (muy tóxico para los organismos acuáticos y puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático),
R51-53 (tóxico para los organismos acuáticos y puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático),
R59 (peligroso para la capa de ozono),
R60 (puede perjudicar la fertilidad),
R61 (riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto),
R62 (posible riesgo de perjudicar la fertilidad),
R63 (posible riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto),
R64 (puede resultar nocivo para el lactante).

Los biocidas son objeto de requisitos específicos, tanto si forman parte de la fórmula como de cualquier preparado incluido en ésta (véanse los criterios sobre biocidas que figuran a continuación).

Los requisitos anteriores se aplicarán a cada ingrediente (sustancia o preparado) que supere el 0,01 % en peso del producto final, así como a cada ingrediente de cualquier preparado utilizado en la fórmula que supere el 0,01 % en peso del producto final.

Evaluación y verificación: deben facilitarse copias de las fichas de datos de seguridad de los materiales en relación con todos los ingredientes, ya sean éstos sustancias o preparados. El solicitante presentará una declaración de los ingredientes preparada por el fabricante que demuestre el cumplimiento de este criterio.

4. Biocidas

a) El producto sólo podrá incluir biocidas para fines de conservación y en la dosis adecuada para este propósito.

Este principio no se refiere a los agentes tensoactivos, que pueden tener también propiedades biocidas.

Evaluación y verificación: se presentarán copias de las fichas de datos de seguridad de los materiales de cada conservante añadido, así como información sobre su concentración exacta en el producto final. El fabricante o suministrador de los conservantes presentará información sobre la dosis necesaria para conservar el producto.

b) Se prohíbe anunciar o dar a entender en el envase o por cualquier otro medio que el producto tiene una acción antimicrobiana.

Evaluación y verificación: deberán facilitarse al organismo competente los textos y la presentación de cada tipo de envase y/o un ejemplo de cada tipo distinto de envase.

Están autorizados los biocidas, tanto los que formen parte de la fórmula como de cualquier preparado incluido en ella, que se utilicen para conservar el producto y estén clasificados con las frases de riesgo R50-53 o R51-53, con arreglo a la Directiva 67/548/CEE y sus modificaciones o la Directiva 1999/45/CE, pero sólo si no son potencialmente bioacumulativos. En este contexto, se considera que un biocida es potencialmente bioacumulativo cuando el log Pow (coeficiente de partición octanol/agua) es $\geq 3,0$ (salvo si el factor de bioconcentración FBC determinado experimentalmente es ≤ 100).

La concentración de biocidas en el producto final no debe superar la concentración máxima autorizada establecida en la Directiva 76/768/CEE del Consejo, de 27 de julio de 1976, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de productos cosméticos (4), y en sus modificaciones.

Evaluación y verificación: deberán presentarse copias de las fichas de datos de seguridad de todos los biocidas, junto con documentación sobre la concentración de estos en el producto final.

5. Tintes o colorantes

Todos los tintes o colorantes utilizados en el producto deben estar permitidos por la Directiva 76/768/CEE y sus modificaciones, o por la Directiva 94/36/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de junio de 1994, relativa a los colorantes utilizados en los productos alimenticios (5), y sus modificaciones o bien

caracterizarse por propiedades medioambientales que no impliquen su clasificación con las frases de riesgo R50-53 o R51-53, con arreglo a la Directiva 67/548/CEE y sus modificaciones.

Evaluación y verificación: deberá facilitarse al organismo competente una declaración de conformidad con este criterio, junto con una lista completa de todos los tintes o colorantes utilizados.

6. Fragancia

a) El producto no deberá contener perfumes con nitroalmizcles o almizcles policíclicos (tal como se especifica en el criterio 3a).

b) Cualquier ingrediente añadido al producto como fragancia deberá haber sido fabricado o tratado según el código de buenas prácticas de la Asociación Internacional de Perfumería.

Evaluación y verificación: debe presentarse al organismo competente una declaración de conformidad con cada aspecto de este criterio.

7. Sustancias sensibilizantes

El producto no debe estar clasificado con las frases de riesgo R42 (posibilidad de sensibilización por inhalación) o

R43 (posibilidad de sensibilización en contacto con la piel), con arreglo a la Directiva 1999/45/CE y sus modificaciones.

La concentración de cualquier sustancia o ingrediente clasificado con las frases de riesgo R42 (posibilidad de sensibilización por inhalación) o R43 (posibilidad de sensibilización en contacto con la piel), con arreglo a la Directiva 67/548/CE y sus modificaciones o la Directiva 1999/45/CE y sus modificaciones, no debe superar el 0,1 % en peso del producto final.

Evaluación y verificación: se presentarán al organismo competente las concentraciones exactas de todos los ingredientes clasificados como R42 y/o R43, junto con copias de las fichas de datos de seguridad de los materiales.

8. Compuestos orgánicos volátiles

El producto no debe contener más del 10 % (en peso) de compuestos orgánicos volátiles con un punto de ebullición inferior a los 150 °C.

Evaluación y verificación: el solicitante deberá facilitar copias de las fichas de datos de seguridad de los materiales de cada disolvente orgánico, junto con el cálculo detallado del total de compuestos orgánicos volátiles con un punto de ebullición inferior a los 150 °C.

9. Fósforo

La cantidad total de fósforo elemental en el producto debe calcularse por unidad funcional (en el caso de los productos de limpieza de uso general) o por 100 g de producto (en el caso de los productos de limpieza de cocinas y baños), teniendo en cuenta todos los ingredientes que contienen fósforo (por ejemplo, fosfatos y fosfonatos).

En lo que respecta a los productos de limpieza de uso general, el contenido total de fósforo (P) no debe superar los 0,02 g/unidad funcional.

En lo que respecta a los productos de limpieza de cocinas y baños, el contenido total de fósforo (P) no debe superar los 1,0 g/100 g de producto. Los ingredientes utilizados en los productos de limpieza de cristales no deben contener fósforo.

Evaluación y verificación: debe facilitarse al organismo competente la fórmula exacta del producto junto con el cálculo detallado que demuestre el cumplimiento de este criterio.

10. Requisitos en materia de envase

a) No deben utilizarse vaporizadores con propelentes.

b) Los plásticos que se utilicen para el contenedor principal deberán estar marcados con arreglo a la Directiva 94/62/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 1994, relativa a los envases y residuos de envases (6), o de conformidad con las partes 1 y 2 de la norma DIN 6120 en relación con la parte 1 de la norma DIN 7728.

c) Cuando el envase primario esté fabricado con material reciclado, las indicaciones al respecto deben ser conformes a la norma ISO 14021 «Etiquetas ecológicas y declaraciones — Autodeclaraciones medioambientales (etiquetado ecológico tipo II)».

d) Las diferentes partes del envase primario deben ser fácilmente separables en partes de material único.

Evaluación y verificación: deberán facilitarse al organismo competente los datos sobre el envase y/o una muestra del mismo, si procede, junto con una declaración de conformidad con todos los aspectos de este criterio.

APTITUD PARA EL USO

11. Aptitud para el uso

El producto deberá ser apto para el uso y satisfacer las necesidades de los consumidores.

La potencia de limpieza debe ser equivalente o mejor que la de un producto de referencia genérico o líder del mercado (véase el apéndice III), aprobado por un organismo competente, y mejor que la del agua pura.

Respecto a los productos de limpieza de uso general y los productos de limpieza de cocinas, sólo debe documentarse el efecto desengrasante. Por lo que se refiere a los productos de limpieza de baños y a los limpiacristales, debe demostrarse su efecto desengrasante y desincrustante.

Evaluación y verificación: las propiedades del producto deben probarse mediante:

- una prueba de laboratorio adecuada y justificable, o
- una prueba de consumidores adecuada y justificable.

Ambas pruebas deben realizarse y presentarse de acuerdo con los parámetros especificados en el marco descrito en el apéndice III.

INFORMACIÓN AL CONSUMIDOR

12. Modo de empleo

a) Instrucciones de dosificación

En lo que respecta a los productos de limpieza de uso general, el envase debe incluir una recomendación sobre la dosificación exacta en tamaño razonable y de forma visible. Se recomienda el uso de un pictograma (por ejemplo, un balde de 5 litros y una serie de tapones con los mililitros), pero es facultativo.

En el caso de los productos de limpieza concentrados para cocinas y baños, debe indicarse claramente en el envase que sólo se requiere una pequeña cantidad de producto en comparación con los productos normales (es decir, diluidos).

En el envase figurará el texto siguiente (u otro texto equivalente):

«Una dosificación adecuada permite ahorrar y reducir el impacto ambiental».

b) Consejos de seguridad

En el producto (ya sea en forma de texto o mediante un pictograma equivalente) deben figurar los consejos (o textos equivalentes) de seguridad siguientes:

«Manténgase fuera del alcance de los niños»

«No mezcle productos de limpieza diferentes»

«Evite inhalar el producto vaporizado» (sólo en el caso de productos presentados en forma de vaporizador).

c) Información y etiquetado de ingredientes

Se aplicará el Reglamento (CE) no 648/2004.

d) Información sobre la etiqueta ecológica

En el envase debe figurar el texto siguiente (u otro texto equivalente):

«Para más información, visite la dirección de la etiqueta ecológica UE de Internet: <http://europa.eu.int/ecolabel>».

Evaluación y verificación: debe presentarse al organismo competente una muestra del envase del producto, incluida la etiqueta, con una declaración de que cumple todos los aspectos de este criterio.

13. Información que figura en la etiqueta ecológica

En el recuadro 2 de la etiqueta ecológica deberá aparecer el texto siguiente:

- incidencia reducida sobre la vida acuática,
- uso reducido de sustancias peligrosas,
- modo de empleo claro.

14. Formación profesional

En lo que respecta a los detergentes utilizados por los profesionales, el productor, su distribuidor o una tercera parte deberá proponer una formación o material de formación para el personal de limpieza. Esta formación o este material de formación incluirá instrucciones fase por fase sobre la dilución, utilización y eliminación correctas del producto y sobre la utilización del material correspondiente.

Evaluación y verificación: deberá presentarse al organismo competente una muestra del material de formación que incluya las instrucciones fase por fase sobre la dilución, utilización y eliminación correctas del producto y sobre la utilización del material correspondiente, así como una descripción de los cursos de formación.

LISTA DID

Para los ingredientes que están incluidos en la parte A de la lista DID, los valores de toxicidad y degradabilidad de la lista deben utilizarse para la evaluación del cumplimiento de los criterios ecológicos.

En cuanto a los ingredientes que no están incluidos en la parte A de la lista DID, se utilizará el procedimiento descrito en la parte B para establecer los valores de toxicidad y degradabilidad.

Base de datos de ingredientes de detergentes

Versión de 30 de junio de 2004

Parte A. Lista de ingredientes

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda			Toxicidad crónica			Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)	TF (aguda)	NOEC (*)	SF (crónica) (*)	TF (crónica)	DF	Aeróbica	Anaeróbica
	Tensioactivos aniónicos									
1	Alquilbencenosulfonatos de cadena lineal 11,5-11,8 (LAS)	4,1	1 000	0,0041	0,69	10	0,069	0,05	R	N
2	Sales alquil (C 10-13) trietanolamínicas de LAS	4,2	1 000	0,0042	3,4	100	0,034	0,05	R	O
3	Alquil (C 14/17) sulfonato	6,7	5 000	0,00134	0,44	10	0,044	0,05	R	N
4	Alquil (C 8/10) sulfato	132	5 000	0,0264			0,0264	0,05	R	Y
5	Alquil (C 12/14) sulfato (AS)	2,8	1 000	0,0028	2	100	0,02	0,05	R	Y
6	Alquil (C 12/18) sulfato (AS) (#)			0,0149			0,027	0,05	R	Y
7	Sulfato de alcoholes grasos C 16/18 (FAS)	27	1 000	0,027	1,7	50	0,034	0,05	R	Y
8	A (C 12/15), 1-3 EO sulfato	4,6	1 000	0,0046	0,1	10	0,01	0,05	R	Y
9	A 3-4 (C 16/18), EO sulfato	0,57	10 000	0,000057			0,000057	0,05	R	Y
10	Dialquilsulfosuccinato	15,7	1 000	0,0157			0,0157	0,5	I	N
11	Metiléster de sulfatoácido graso C 12/14	9	10 000	0,0009	0,23	50	0,0046	0,05	R	N
12	Metiléster de sulfatoácido graso C 16/18	0,51	5 000	0,000102	0,2	50	0,004	0,05	R	N

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (°)	SF (crónica) (°)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
13	Sulfonato de α -olefina C 14/16	3,3	10 000	0,00033			0,00033	0,05	R	N
14	Sulfonato de α -olefina C 14/18	0,5	5 000	0,0001			0,0001	0,05	R	N
15	Jabones C > 12-22	22	1 000	0,022	10	100	0,1	0,05	R	Y
16	Lauroil-sarcosinato	56	10 000	0,0056			0,0056	0,05	R	Y
17	Ácidos carboximetilados (C 9/11) 2-10 EO, o sus sales sódicas	100	10 000	0,01			0,01	0,05	R	O
18	Ácidos carboximetilados (C 12/18) 2-10 EO, o sus sales sódicas	8,8	1 000	0,0088	5	100	0,05	0,05	R	O
19	Ésteres alquil-fosfato C 12/18	38	1 000	0,038			0,038	0,05	R	N
Tensioactivos no iónicos										
20	A (C8), 1-5 EO	7,8	1 000	0,0078			0,0078	0,05	R	Y
21	A (C 9/11), > 3-6 EO predominantemente lineal	5,6	1 000	0,0056			0,0056	0,05	R	Y
22	A (C 9/11), > 6-10 EO predominantemente lineal	5	1 000	0,005			0,005	0,05	R	Y
23	A (C 9/11), 5-11 EO multi-ramificado	1	1 000	0,001			0,001	0,05	R	O
24	A (C10), 5-11 EO multi-ramificado (trímero de oxopropenol)	1	1 000	0,001			0,001	0,05	R	Y
25	A (C 12/15), > 2-6 EO predominantemente lineal	0,43	1 000	0,00043	0,18	50	0,0036	0,05	R	Y
26	A (C 12/14), 5-8 EO 1 t-BuO (extremo)	0,23	1 000	0,00023	0,18	100	0,0018	0,05	R	O
27	A (C 12/15), 3-12 EO multi-ramificado	1	1 000	0,001	3,2	100	0,032	0,05	R	O
28	A (C 12/15) (valor medio C < 14), > 6-9 EO	0,63	1 000	0,00063	0,24	10	0,024	0,05	R	Y
29	A (C 12/15) (valor medio C > 14), > 6-9 EO	0,4	1 000	0,0004	0,17	10	0,017	0,05	R	Y
30	A (C 12/15), > 9-12 EO	1,1	1 000	0,0011			0,017	0,05	R	Y
31	A (C 12/15), > 12-20 EO	0,7	1 000	0,0007			0,0007	0,05	R	O
32	A (C 12/15), > 20-30 EO	13	1 000	0,013	10	100	0,1	0,05	R	O

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (%)	SF (crónica) (%)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
33	A (C 12/15), > 30 EO	130	1 000	0,13			0,13	0,5	I	O
34	A (C 12/18), 0-3 EO	0,3	1 000	0,0003			0,0003	0,05	R	Y
35	A (C 12/18), 5-10 EO	1	1 000	0,001	0,35	100	0,0035	0,05	R	O
36	A (C 12/18), > 10-20 EO	1	1 000	0,001			0,0035	0,05	R	O
37	A (C 16/18), 2-8 EO	3,2	1 000	0,0032	0,4	100	0,004	0,05	R	Y
38	A (C 16/18), > 9-18 EO	0,72	1 000	0,00072	0,32	10	0,032	0,05	R	Y
39	A (C 16/18), 20-30 EO	4,1	1 000	0,0041			0,0041	0,05	R	Y
40	A (C 16/18), > 30 EO	30	1 000	0,03			0,03	0,5	I	Y
41	A (C 12-15), 2-6 EO 2-6 PO	0,78	1 000	0,00078	0,36	100	0,0036	0,05	R	O
42	A (C 10-16), 0-3 PO 6-7 EO	3,2	5 000	0,00064	1	100	0,01	0,05	R	O
43	Cocoato de glicerina (1-5 EO)	16	1 000	0,016	6,3	100	0,063	0,05	R	Y
44	Cocoato de glicerina (6-17 EO)	100	1 000	0,1			0,1	0,05	R	Y
45	Glucosamida C 12/14	13	1 000	0,013	4,3	50	0,086	0,05	R	Y
46	Glucosamida C 16/18	1	1 000	0,001	0,33	50	0,0066	0,05	R	Y
47	Alquil (C 8/10) poliglucósido	28	1 000	0,028	5,7	100	0,057	0,05	R	Y
48	Alquil (C 8/12) poliglucósido, ramificado	480	1 000	0,48	100	100	1	0,05	R	N
49	Alquil (C 8/16 o C12-14) poliglucósido	5,3	1 000	0,0053	1	10	0,1	0,05	R	Y
50	Monoetanolamida de ácidos grasos de coco	9,5	1 000	0,0095	1	100	0,01	0,05	R	Y
51	Monoetanolamida de ácidos grasos de coco 4-5 EO	17	10 000	0,0017			0,0017	0,05	R	Y

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (*)	SF (crónica) (*)		DT	Aeróbica	Anaeróbica
52	Dictanolamida de ácidos grasos de coco	2	1 000	0,002	0,3	100	0,003	0,05	R	O
53	PEG-4 amida de colza	7	5 000	0,0014			0,0014	0,05	R	Y
Tensioactivos anfóteros										
60	Alquil (C 12-15) dimetilbetaína	1,7	1 000	0,0017	0,1	100	0,001	0,05	R	O
61	Alquil (C 12-18) amido-propilbetaína	1,8	1 000	0,0018	0,09	100	0,0009	0,05	R	Y
62	Óxido de alquil-amina C 12/18	0,3	1 000	0,0003			0,0003	0,05	R	Y
Tensioactivos catiónicos										
70	Sales de alquil-trimetil-amonio	0,1	1 000	0,0001	0,046	100	0,00046	0,5	I	O
71	Sales de alquil-ésteres de amonio	2,9	1 000	0,0029	1	10	0,1	0,05	R	Y
Conservantes										
80	1,2-bencisotiazol-3-ona	0,15	1 000	0,00015			0,00015	0,5	I	N
81	Alcohol bencílico	360	1 000	0,36			0,36	0,05	R	Y
82	5-bromo-5-nitro-1,3-dioxano	0,4	5 000	0,00008			0,00008	1	P	O
83	2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol	0,78	1 000	0,00078	0,2	100	0,002	0,5	I	O
84	Cloroacetamida	55,6	10 000	0,00556			0,00556	1	O	O
85	Diazolinidil-urea	35	5 000	0,007			0,007	1	P	O
86	Formaldehído	2	1 000	0,002			0,002	0,05	R	O
87	Glutaraldehído	0,31	1 000	0,00031			0,00031	0,05	R	O
88	Guanidina, hexametileno, homopolímero	0,18	1 000	0,00018	0,024	100	0,00024	1	P	O
89	CMI + MIT en mezcla 3:1 (§)	0,0067	1 000	0,0000067	0,0057	50	0,000114	0,5	I	O
90	2-metil-2H-isotiazol-3-ona (MIT)	0,06	1 000	0,00006			0,00006	0,5	I	O

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (°)	SF (crónica) (°)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
91	Metildibromoglutaronitrilo	0,15	1 000	0,00015			0,00015	0,05	R	O
92	Ácido e-ftaloimidoperoxihexanoico	0,59	5 000	0,000118			0,000118	1	P	O
93	Metil-, etil- y propilparabeno	15,4	5 000	0,00308			0,00308	0,05	R	N
94	o-fenilfenol	0,92	1 000	0,00092			0,00092	0,05	R	O
95	Benzoato de sodio	128	1 000	0,128			0,128	0,05	R	Y
96	Hidroximetil-glicinato de sodio	36,5	5 000	0,0073			0,0073	1	O	O
97	Nitrito de sodio	87	10 000	0,0087			0,0087	1	NA	NA
98	Triclosano	0,0014	1 000	0,0000014			0,0000014	0,5	I	O
	Otros ingredientes									
110	Silicio	250	1 000	0,25			0,25	1	P	N
111	Parafina	1 000	10 000	0,1			0,1	1	P	O
112	Glicerol	4 400	5 000	0,88			0,88	0,05	R	Y
113	Fosfatos (como tripolifosfato sódico (TPFS))	1 000	1 000	1			1	0,15	NA	NA
114	Zeolita (sustancia inorgánica insoluble)	1 000	1 000	1	175	50	3,5	1	NA	NA
115	Citrato y ácido cítrico	825	1 000	0,825	80	50	1,6	0,05	R	Y
116	Policarboxilatos	200	1 000	0,2	106	10	10,6	1	P	N
117	Nitrilotriacetato (NTA)	494	1 000	0,494	64	50	1,28	0,5	I	O
118	EDTA	121	1 000	0,121	22	50	0,44	0,5	I	N
119	Fosfonatos	650	1 000	0,65	25	50	0,5	1	P	N
120	EDDS	320	1 000	0,32	32	50	0,64	0,05	R	N
121	Arcilla (sustancia inorgánica insoluble)	1 000	1 000	1			1	1	NA	NA
122	Carbonatos	250	1 000	0,25			0,25	0,15	NA	NA

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (*)	SF (crónica) (*)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
123	Ácidos grasos C ≥ 14	3,7	5 000	0,00074			0,00074	0,05	R	Y
124	Silicatos	250	1 000	0,25			0,25	1	NA	NA
125	Ácido poliaspártico, sal de Na	410	1 000	0,41			0,41	0,05	R	N
126	Perboratos (como boro)	14	1 000	0,014			0,014	1	NA	NA
127	Percarbonato (véase carbonato)	250	1 000	0,25			0,25	0,15	NA	NA
128	Tetraacetililenodiamina (TAED)	250	1 000	0,25	500	100	5	0,05	R	O
129	Alcoholes C 1 - C 4	1 000	1 000	1			1	0,05	R	Y
130	Mono-, di- y trietanol-amina	90	1 000	0,09	0,78	100	0,0078	0,05	R	Y
131	Polivinilpirrolidona (PVP)	1 000	1 000	1			1	0,5	I	N
132	Carboximetilcelulosa (CMC)	250	5 000	0,05			0,05	0,5	I	N
133	Sulfato de magnesio y de sodio	1 000	1 000	1	100	100	1	1	NA	NA
134	Cloruro de calcio y de sodio	1 000	1 000	1	100	100	1	1	NA	NA
135	Urea	1 000	5 000	0,2			0,2	1	NA	NA
136	Dióxido de silicio, cuarzo (sustancia inorgánica insoluble)	1 000	1 000	1			1	1	NA	NA
137	Polietilenglicol, PM > 4000	1 000	10 000	0,1			0,1	1	P	N
138	Polietilenglicol, PM < 4000	1 000	10 000	0,1			0,1	1	P	O
139	Sulfonatos de cumeno, xileno y tolueno	66	10 000	0,0066			0,0066	0,5	I	N
140	Na-/Mg-/KOH	30	1 000	0,03			0,03	0,05	NA	NA
141	Enzimas/proteínas	25	5 000	0,005			0,005	0,05	R	Y
142	Perfumes, si no se especifican de otra manera (**)	2	1 000	0,002			0,002	0,5	I	N
143	Tintes, si no se especifican de otra manera (**)	10	1 000	0,01			0,01	1	P	N
144	Almidón y fécula	100	1 000	0,1			0,1	0,05	R	Y

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (°)	SF (crónica) (°)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
145	Poliéster aniónico	655	1 000	0,655			0,655	1	P	N
146	PVNO/PVPI	530	1 000	0,53			0,53	1	P	N
147	Italocianina-sulfonato de Zn	0,2	1 000	0,0002	0,16	100	0,0016	1	P	N
148	Iminodisuccinato	81	1 000	0,081	17	100	0,17	0,05	R	N
149	FWA 1	11	1 000	0,011	10	100	0,1	1	P	N
150	FWA 5	10	1 000	0,01	1	10	0,1	1	P	N
151	1-decanol	2,3	5 000	0,00046			0,00046	0,05	R	O
152	Laurato de metilo	1 360	10 000	0,136			0,136	0,05	R	O
153	Ácido fórmico (sal de Ca)	100	1 000	0,1			0,1	0,05	R	Y
154	Ácido adípico	31	1 000	0,031			0,031	0,05	R	O
155	Ácido maleico	106	1 000	0,106			0,106	0,05	R	Y
156	Ácido málico	106	1 000	0,106			0,106	0,05	R	O
157	Ácido tartárico	200	10 000	0,02			0,02	0,05	R	O
158	Ácido fosfórico	138	1 000	0,138			0,138	0,15	NA	NA
159	Ácido oxálico	128	5 000	0,0256			0,0256	0,05	R	O
160	Ácido acético	30	1 000	0,03			0,03	0,05	R	Y
161	Ácido láctico	130	1 000	0,13			0,13	0,05	R	Y
162	Ácido sulfámico	75	1 000	0,075			0,075	1	NA	NA
163	Ácido salicílico	46	1 000	0,046			0,046	0,15	R	O
164	Ácido glicólico	141	5 000	0,0282			0,0282	0,05	R	O
165	Ácido glutárico	208	5 000	0,0416			0,0416	0,05	R	O
166	Ácido malónico	95	5 000	0,019			0,019	0,05	R	O
167	Etilenglicol	6 500	1 000	6,5			6,5	0,05	R	Y

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LCS0/EC50	SF (aguda)		NOEC (°)	SF (crónica) (°)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
168	Éter monobutílico de etilenglicol	747	5 000	0,1494			0,1494	0,05	R	O
169	Dietilenglicol	4 400	10 000	0,44			0,44	0,15	I	Y
170	Éter monometílico de dietilenglicol	500	1 000	0,5			0,5	0,5	I	O
171	Éter monoetilico de dietilenglicol	3 940	5 000	0,788			0,788	0,05	R	O
172	Éter monobutílico de dietilenglicol	1 254	1 000	1,254			1,254	0,05	R	O
173	Éter dimetilico de dietilenglicol	2 000	10 000	0,2			0,2	0,5	I	O
174	Propilenglicol	32 000	1 000	32			32	0,15	R	Y
175	Éter monometílico de propilenglicol	12 700	5 000	2,54			2,54	0,05	R	O
176	Éter monobutílico de propilenglicol	748	5 000	0,1496			0,1496	0,05	R	O
177	Dipropilenglicol	1 625	10 000	0,1625			0,1625	0,05	R	O
178	Éter monometílico de dipropilenglicol	1 919	5 000	0,3838			0,3838	0,05	R	O
179	Éter monobutílico de dipropilenglicol	841	5 000	0,1682			0,1682	0,05	R	O
180	Éter dimetilico de dipropilenglicol	1 000	5 000	0,2			0,2	0,5	I	O
181	Trietilenglicol	4 400	1 000	4,4			4,4	0,5	I	O
182	Tall oil (resina de leñas celulósicas)	1,8	1 000	0,0018			0,0018	0,5	I	O
183	Etilén-bis-estearamidas	140	5 000	0,028			0,028	0,5	I	O
184	Gluconato sódico	10 000	10 000	1			1	0,05	R	O
185	Diestearato de glicol	100	5 000	0,02			0,02	0,5	I	O
186	Hidroxietil-celulosa	209	5 000	0,0418			0,0418	1	P	O
187	Hidroxipropil-metil-celulosa	188	5 000	0,0376			0,0376	1	P	O
188	1-metil-2-pirrolidona	500	1 000	0,5			0,5	0,05	R	O
189	Goma xantana	490	1 000	0,49			0,49	0,05	R	O
190	Mono-isobutirato de trimetil-pentanodiol	18	1 000	0,018	3,3	100	0,033	0,05	R	O
191	Benzotriazol	29	1 000	0,029			0,029	1	P	O

nº DID	Nombre del ingrediente	Toxicidad aguda		TF (aguda)	Toxicidad crónica		TF (crónica)	Degradación		
		LC50/EC50	SF (aguda)		NOEC (*)	SF (crónica) (*)		DF	Aeróbica	Anaeróbica
192	Sal de piperidina-propanotricarboxilato	100	1 000	0,1	120	100	1,2	0,5	I	O
193	Dietilaminopropilo-DAS	120	1 000	0,12	120	100	1,2	1	P	O
194	Metilbenzamida-DAS	120	1 000	0,12	120	100	1,2	0,5	I	O
195	Tetrakis-fenol-propionato de pentacritritol	38	1 000	0,038			0,038	1	P	O
196	Polímeros de bloque	100	5 000	0,02			0,02	1	P	N
197	Benzoato de denatonio	13	5 000	0,0026			0,0026	1	O	O
198	Succinato	374	10 000	0,0374			0,0374	0,05	R	O
199	Ácido poliaspártico	528	1 000	0,528			0,528	0,05	R	N

Sustancias inorgánicas insolubles Ingrediente inorgánico con escasa o nula capacidad de disolución en agua.

(*) Si no se han encontrado datos sobre toxicidad crónica aceptables, estas columnas se dejan vacías. En ese caso el TF (toxicidad crónica) se considera igual al TF (toxicidad aguda).

(**) Por regla general, los solicitantes de licencias tienen que utilizar los datos de la lista. Los perfumes y tintes son excepciones. Si el solicitante de la licencia presenta datos de toxicidad, estos se utilizarán para calcular el TF y determinar la degradabilidad. Si no los presenta, se utilizarán los valores de la lista.

(#) Debido a la falta de datos de toxicidad el TF se ha calculado como media de los valores de alquil (C 12/14) sulfato (AS) y alquil (C 16/18) sulfato (AS).

(§) 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona en mezcla 3:1.

Índice de abreviaturas

SF (toxicidad aguda) = Factor de seguridad para toxicidad aguda.

TF (toxicidad aguda) = Factor de toxicidad basado en la toxicidad aguda para organismos acuáticos.

SF (toxicidad crónica) = Factor de seguridad para toxicidad crónica.

TF (toxicidad crónica) = Factor de toxicidad basado en la toxicidad crónica para organismos acuáticos.

DF = Factor de degradación.

Degradación aeróbica:

R = Biodegradable fácilmente según las orientaciones de la OCDE

I = Biodegradable intrínsecamente según las orientaciones de la OCDE

P = Persistente. El ingrediente ha fallado la prueba de biodegradabilidad intrínseca

O = El ingrediente no se ha probado

NA = No procede

Degradación anaeróbica:

Y = Biodegradable en condiciones anaeróbicas.

N = No biodegradable en condiciones anaeróbicas.

O = El ingrediente no se ha probado.

NA = No procede.

Anexo B. Reportes de resultados del laboratorio de aguas, de los parámetros analizados en cada uno de los bioensayos.



ACREDITADO ISO 17025 RESOLUCION 0184 DE 2005

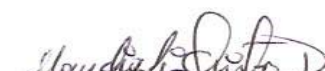
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO DE AGUAS RESIDUALES
REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO F-5.10-01

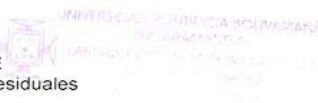
DESCRIPCION DE LA MUESTRA

CLIENTE: PROYECTO DE INVESTIGACION
CODIGO: 308
FUENTE: PTAR UPB
FECHA DE INGRESO: 22-08-07
FECHA DE REPORTE: 24-09-07

ANALISIS	UNIDADES	VALOR			METODO
		308	Incertidumbre	Limite máximo Decreto 1594/84	
DQO	mg O ₂ / L	706.6	0.95	-----	5220-B
DBO	mg O ₂ / L	416.4	3.5	-----	5210-B
Sólidos suspendidos	mg Sólidos susp / L	324.0	5	-----	2540-D
Nitrogeno Total	mg/L Ntotal	235.2	-----	-----	4500-Ntotal
Fosforo	mg/L Ptotal	7.86	-----	-----	4500-E-P
Detergentes	mg/L LAS	8.6	-----	-----	5540-C

DQO: Demanda Química de Oxígeno DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno


CLAUDIA SOFIA QUINTERO DUQUE
 Coordinadora Laboratorio de Aguas Residuales



“Los resultados reportados corresponden unicamente a las muestras analizadas”
 “El contenido del reporte no se puede reproducir parcialmente solo en forma total previa autorización del Laboratorio de Aguas Residuales”.

SEDE MEDELLÍN Campus de Laureles Circular 1ª N° 70-01 / Teléfono: (057) (4) 4159015 / Fax (057) (4) 2502080 / Apartado aéreo 56006 / E-mail: comrelp@upb.edu.co
 SECCIONAL BUCARAMANGA Autopista Piedecuesta Km. 7 / Teléfono: (057) (7) 6796220 / Fax (057) (7) 6796221 / E-mail: info@upbbga.edu.co
 SECCIONAL MONTERIA Km. 8 Via Cereté, Antiguo Colegio de la Presentación / Teléfono: (057) (4) 7860146 / Fax: (057) (4) 7860912 / E-mail: crelimter@upbmonteria.edu.co
 SECCIONAL PALMIRA Seminario Cristo Sacerdote, Km. 1- Via Tienda Nueva / Teléfono: (057) (2) 2702545 / Fax: (057) (2) 2723121 / E-mail: upbpalmira@upb.edu.co
 www.upb.edu.co / Colombia - Suramérica

LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO DE AGUAS RESIDUALES
REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO F-5.10-01

DESCRIPCION DE LA MUESTRA

CLIENTE: PROYECTO DE INVESTIGACION
CODIGO: 401
FUENTE: PTAR UPB
FECHA DE INGRESO: 17-10-07
FECHA DE REPORTE: 29-10-07

ANALISIS	UNIDADES	VALOR			METODO
		401	Incertidumbre	Límite máximo Decreto 1594/84	
DQO	mg O ₂ / L	652.5	0.95	----	5220-B
DBO	mg O ₂ / L	288.6	3.5	----	5210-B
PH y Temperatura	Unidades de pH/°C	7.43/ 23.3	----	5.0-9.0	4500H+B
Sólidos suspendidos	mg Sólidos susp / L	106.4	5	----	2540-D
Sólidos sedimentables	ml Sólidos sed/ L	ND	---	----	2540-F
Nitrogeno Total	mg/L Ntotal	178.2	----	----	4500-Ntotal
Fosforo	mg/L Ptotal	3.42	----	----	4500-E-P
Detergentes	mg/L LAS	6.82	----	----	5540-C

DQO: Demanda Química de Oxígeno DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno


CLAUDIA SOFÍA QUINTERO DUQUE
Coordinadora Laboratorio de Aguas Residuales

"Los resultados reportados corresponden únicamente a las muestras analizadas"
"El contenido del reporte no se puede reproducir parcialmente solo en forma total previa autorización del Laboratorio de Aguas Residuales".

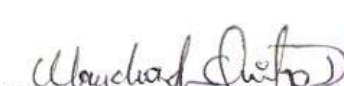
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO DE AGUAS RESIDUALES
 REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO F-5.10-01

DESCRIPCION DE LA MUESTRA

CLIENTE: PROYECTO DE INVESTIGACION
 CODIGO: 468
 FUENTE: PTAR UPB
 FECHA DE INGRESO: 19-11-07
 FECHA DE REPORTE: 29-11-07

ANALISIS	UNIDADES	VALOR			METODO
		468	Incertidumbre	Limite máximo Decreto 1594/84	
DQO	mg O ₂ / L	783.4	0.95	----	5220-B
DBO	mg O ₂ / L	320.4	3.5	----	5210-B
PH y Temperatura	Unidades de pH/°C	7.22/ 22.5	----	5.0-9.0	4500H+B
Sólidos suspendidos	mg Sólidos susp / L	92.2	5	----	2540-D
Sólidos sedimentables	ml Sólidos sed/ L	ND	----	----	2540-F
Nitrogeno Total	mg/L Ntotal	132.8	----	----	4500-Ntotal
Fosforo	mg/L Ptotal	2.44	----	----	4500-E-P
Detergentes	mg/L LAS	7.32	----	----	5540-C

DQO: Demanda Química de Oxígeno DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno


 CLAUDIA SOFIA QUINTERO DUQUE
 Coordinadora Laboratorio de Aguas Residuales

"Los resultados reportados corresponden unicamente a las muestras analizadas"

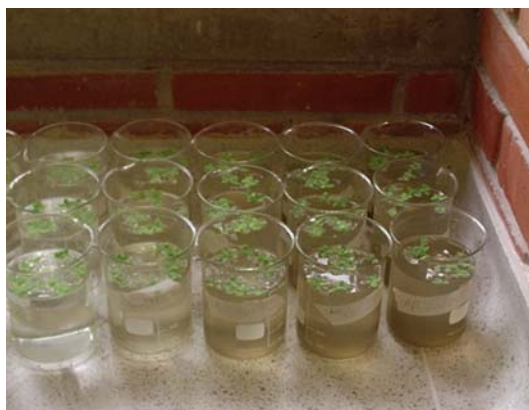
"El contenido del reporte no se puede reproducir parcialmente solo en forma total previa autorización del Laboratorio de Aguas Residuales".

Anexo C. Registro fotográfico de los montajes de los bioensayos.

BIOENSAYO PRELIMINAR

0 HORAS

FIGURA 26. Montaje con agua residual



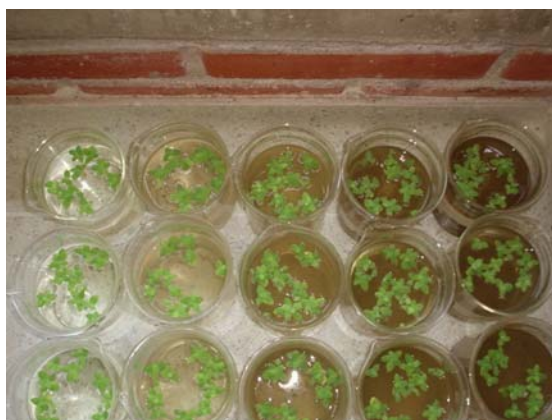
Fuente: Autor

FIGURA 27. Montaje con agua de cultivo



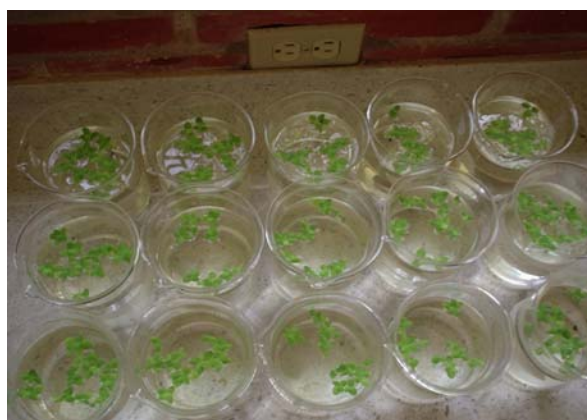
96 HORAS

FIGURA 28. Montaje con agua residual



Fuente: Autor

FIGURA 29. Montaje con agua de cultivo



BIOENSAYO EXPERIMENTAL

0 HORAS

FIGURA 30. Montaje con agua residual



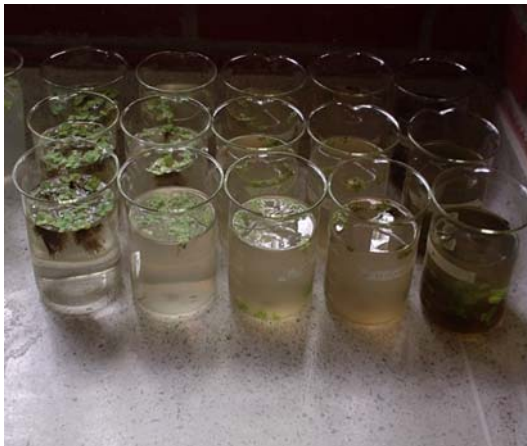
Fuente: Autor

FIGURA 31. Montaje con agua de cultivo



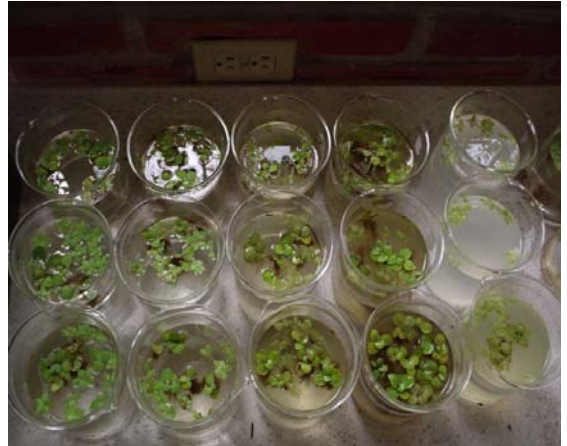
96 HORAS

FIGURA 32. Montaje con agua residual



Fuente: Autor

FIGURA 33. Montaje con agua de cultivo



BIOENSAYO FINAL

0 HORAS

FIGURA 34. Montaje con agua residual

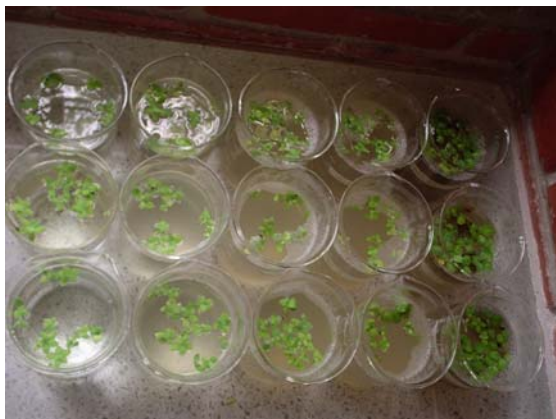
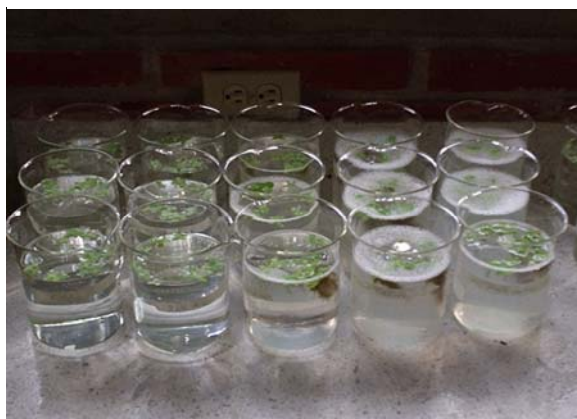


FIGURA 35. Montaje con agua de cultivo



Fuente: Autor

96 HORAS

FIGURA 36. Montaje con agua residual



FIGURA 37. Montaje con agua de cultivo



Fuente: Autor

Anexo D. Resultados de los bioensayos de toxicidad

BIOENSAYO PRELIMINAR 1

BIOENSAYO CON 100% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=15.5 mg/L

TABLA 13. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 100%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 01	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	23 plantas presentaron marchitamiento en algunas de sus hojas.	23	51.11 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 75% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=11.6 mg/L

TABLA 14. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 75%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 02	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	22 plantas presentaron marchitamiento en algunas de sus hojas.	23	48.88 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	38 plantas presentaron marchitamiento en algunas de sus hojas.	38	84.44 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	43 plantas presentaron marchitamiento en algunas de sus hojas.	43	95.55 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 50% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=7.75 mg/L

TABLA 15. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 50%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 03	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	17 plantas presentaron marchitamiento en algunas de sus hojas.	17	37.77 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	24 plantas presentaron marchitamiento en algunas de sus hojas.	24	53.33 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 25% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=3.8 mg/L

TABLA 16. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 25%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 04	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	3 plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	3	6.66 %
96 horas	10 plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	10	22.22 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 1% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=0.15 mg/L

TABLA 17. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 1%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 05	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO CON 100% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=15.5 mg/L

TABLA 18. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 100%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 06	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	4 plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	4	8.88%
96 horas	11 plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	11	24.44 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 75% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=11.6 mg/L

TABLA 19. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 75%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 07	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO CON 50% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=7.75 mg/L

TABLA 20. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 50%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 08	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO CON 25% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=3.8 mg/L

TABLA 21. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 25%.

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 09	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 1% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=0.15 mg/L

TABLA 22. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO PRELIMINAR CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 1%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 10	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO EXPERIMENTAL.

BIOENSAYO CON 100% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=1550 mg/L

Bioensayo con 100% agua residual

TABLA 23. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 100%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 11	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas y se sumergieron.	45	100 %
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 75% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=1162.5 mg/L

TABLA 24. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 75%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 12	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	16 de las plantas habían cambiado su coloración.	29 plantas presentaron marchitamiento y se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
48 horas	De las 16 plantas solo quedaban 8 plantas con el cambio decoloración.	37 plantas presentaron marchitamiento y se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 50% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=775 mg/L

TABLA 25. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 50%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 13	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	12 de las plantas habían cambiado su coloración.	22 plantas presentaron marchitamiento y se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	34	75.55%
48 horas	16 de las plantas habían cambiado de coloración.	29 plantas presentaron marchitamiento y se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 25% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=387.5 mg/L

TABLA 26. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 25%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 14	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	40 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	40	88.88 %
72 horas	2 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	42 plantas presentaron marchitamiento.	44	97.7 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 1% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=15 .5mg/L

TABLA 27. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 1%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 15	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO CON 100% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=1550 mg/L

TABLA 28. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 100%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON SPIRODELLA SP.			N° DE REGISTRO: 16	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	45 de las plantas tuvieron cambio de coloración, era de tono blancuzca.	No hubo marchitamiento.	45	100%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100%
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 75% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=1162.5 mg/L

TABLA 29. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 75%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 17	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100%
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 50% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=775 mg/L

TABLA 30. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 50%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 18	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100%
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento y la gran mayoría se sumergieron en el fondo del vaso precipitado.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 25% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=387.5 mg/L

TABLA 31. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 25%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 19	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	15 de las plantas tuvieron cambio de coloración, era de tono blancuzca.	No hubo marchitamiento.	15	33.33%
72 horas	14 de las plantas tuvieron cambio de coloración, era de tono blancuzca.	25 plantas presentaron marchitamiento.	39	86.66 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 1% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=15.5 mg/L

TABLA 32. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO EXPERIMENTAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 1%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 20	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO FINAL

BIOENSAYO CON 100% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=387.5 mg/L

TABLA 33. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 100%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 21	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 75% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=290.6 mg/L

TABLA 34. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 75%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 22	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 50% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=193.7 mg/L

TABLA 35. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 50%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 23	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	35 de las plantas estaban cambiando su coloración.	No había ningún tipo de marchitamiento.	35	77.77%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 25% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=96.8 mg/L

TABLA 36. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 25%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 24	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	15 de las plantas estaban cambiando su coloración.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
48 horas	10 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	22 plantas presentaron marchitamiento.	32	71.11%
72 horas	2 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	35 plantas presentaron marchitamiento.	37	82.22%
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	39 plantas presentaron marchitamiento.	39	86.66%
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 1% AGUA RESIDUAL

Concentración de detergente=3.87 mg/L

TABLA 37. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA RESIDUAL EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 1%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 25	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

BIOENSAYO CON 100% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=387.5 mg/L

TABLA 38. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 100%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 26	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	La totalidad de las plantas están marchitas.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 75% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=290.6 mg/L

TABLA 39. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 75%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 27	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	10 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	35 plantas presentaron marchitamiento.	45	100%
48 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
72 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100%
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	45 plantas presentaron marchitamiento.	45	100 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 50% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=193.7 mg/L

TABLA 40. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 50%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 28	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	20 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	20	44.44%
48 horas	25 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento	25	55.55%
72 horas	10 de las plantas tuvieron cambio de coloración	20 plantas presentaron marchitamiento.	30	66.66%
96 horas	La coloración se vio afectada en las plantas marchitas.	30 plantas presentaron marchitamiento.	30	66.66%
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 25% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=96.8 mg/L

TABLA 41. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 25%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 29	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observo ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
72 horas	5 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	5	11.11%
96 horas	8 de las plantas tuvieron cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	8	17.77%
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

BIOENSAYO CON 1% AGUA DE CULTIVO

Concentración de detergente=3.87 mg/L

TABLA 42. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL BIOENSAYO FINAL CON AGUA DE CULTIVO EN CONCENTRACIONES DE TOXICO DEL 1%.

NOMBRE DEL REGISTRO: REGISTRO DE DATOS DE LOS BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON <i>SPIRODELLA SP.</i>			N° DE REGISTRO: 30	
LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA			ESTUDIANTES: JUAN MANUEL GUARGUATI FRANK RAMIREZ MUÑOZ	
INTERVALO DE TIEMPO	COLORACIÓN	MARCHITAMIENTO	NUMERO DE PLANTAS AFECTADAS	PORCENTAJE DE PLANTAS AFECTADAS
0 horas	Las plantas tenían una coloración totalmente verde.	No había ningún tipo de marchitamiento.	0	0%
24 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
48 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
72 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0%
96 horas	No se observó ningún cambio de coloración.	No hubo marchitamiento.	0	0 %
REVISADO POR: Claudia Santoyo, Lic. en Biología. Esp. Microbiología Ambiental				

Nota: No hubo porcentaje de plantas afectadas

Anexo E. Cálculos de los intervalos de confianza para la dosis efectiva 50.

DETERMINACIÓN DEL CE₅₀

- Para el bioensayo de toxicidad final en agua residual

El método estadístico implementado fue el método probit, que consiste de la siguiente manera. Para el cálculo de la CE₅₀ o CL₅₀ por este método es necesario contar, por lo menos, con dos porcentajes intermedios del efecto esperado (valores entre 0 y 100%).

Con los resultados obtenidos en el bioensayo de toxicidad preliminar en agua residual con la *Spirodella sp*, se construye la **tabla 41**, con los siguientes datos:

- Concentración de la sustancia ensayada (en %).
- Logaritmo en base 10 de las concentraciones (x).
- Número de organismos en cada concentración (N).
- Número de organismos muertos en cada concentración (r).
- Porcentaje de mortalidad para cada concentración (P).
- Probit empírico (PE), donde se halla de la tabla 17.
- Probit esperado o calculado (Y), mediante la siguiente fórmula:

$$Y = 5 + (X - M) / S$$

- Pendiente de la recta (S)
- Logaritmo en base 10 de las concentraciones (x).
- Valor del eje x , donde se corta la recta trazada con la grafica (M).

TABLA 43. CÁLCULO DE LA CE ₅₀ POR EL MÉTODO PROBIT.						
Concentración del agente tóxico (%)	Log ₁₀ de la concentración (X)	Núm. de organismos (N)	Núm. de muertos (r)	Porcentaje de mortalidad (P)	Probit empírico (PE)	Probit calculado (Y)
387.5	2.6	45	45	100	9.09	9.09
290.6	2.5	45	45	100	9.09	8.64
193.7	2.3	45	45	100	9.09	7.73
96.8	2	45	39	86.7	6.13	6.36
3.87	0,6	45	0	0	0	0

Fuente: Autor

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

Fuente: Autor

A partir de estos datos se elabora la gráfica correspondiente, para la determinación del probit calculado para cada una de las concentraciones;

colocando en el eje x el logaritmo de las concentraciones y en el eje Y el Probit empírico, como se muestra en la **figura 20**, y se ajusta la recta a través de estos puntos. En el gráfico se traza una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la línea trazada; el valor correspondiente en el eje x se denomina ***m*** y el antilogaritmo de este valor corresponderá a la CE₅₀ o CL₅₀. En este montaje el valor de ***m* = 1.7**, por tanto, **CE₅₀ = 50.11**.

Después de elaborar la grafica de dosis efectiva 50, con la recta trazada se calcula la pendiente, tomando el porcentaje donde se halló el mayor y el menor efecto, así como los probits correspondientes a estos valores. Se realiza de la siguiente manera:

$$\begin{array}{ll} x_m = 0.6 & P_e = 0 \\ X_M = 2.6 & P_E = 9.09 \end{array}$$

Si:

$$S = (X_M - x_m) / (P_E - P_e)$$

Siendo:

$$\begin{array}{ll} X_M & = \text{mayor concentración.} \\ x_m & = \text{menor concentración.} \\ P_E & = \text{Probit empírico correspondiente a la mayor concentración.} \\ P_e & = \text{Probit empírico correspondiente a la menor concentración.} \end{array}$$

Entonces:

$$S = (2.6 - 0.6) / (9.09 - 0) = 0.22$$

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

$$Y = 5 + (x - m) / S$$

La prueba de hipótesis utilizada para establecer la asociación entre la concentración de la sustancia tóxica y la respuesta en unidades probit es la prueba de CHI-cuadrado (X^2). Los datos para el cálculo de este valor se colocan en **tabla 43**, de la siguiente manera:

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

TABLA 45. DETERMINACIÓN DEL CHI-CUADRADO(X^2).								
Concentración de la sustancia tóxica (%)	Log ₁₀ de la Concentración(X)	Probit calculado (Y)	Porcentaje de efecto esperado (P')	Núm.de organismos (N)	Núm. de muertos (r)	Mortalidad esperada (NP')	Desviación (r-NP')	Contribuc.al X^2 $(r-NP')^2 / NP'(1-P')$
387.5	2.6	9.09	1	45	45	45	0	0
290.6	2.5	8.64	1	45	45	45	0	0
193.7	2.3	7.73	1	45	45	45	0	0
96.8	2	6.36	0.87	45	39	39.15	-0.15	0.0044
3.87	0.6	0	0	45	0	0	0	0
								0.0044

Fuente: Autor

La mortalidad esperada (NP') se calcula multiplicando el número de organismos en cada prueba (N) por el porcentaje de efecto esperado (P').

El cálculo de la desviación de la mortalidad se obtiene hallando la diferencia entre la mortalidad observada y la esperada.

La contribución al Chi cuadrado de cada uno de los valores se calcula:

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

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

$$n = K - 2$$

Donde K es el número de concentraciones utilizadas; por lo tanto:

$$n = 5 - 2 = 3$$

TABLA 46. VALORES DE χ^2	
Grados de libertad(n)	χ^2
1	3,34
2	5,99
3	7,82
4	9,49
5	11,4
6	12,6
7	14,4
8	15,5
9	16,9
10	18,8

Fuente: Autor

Entonces el valor de χ^2 :

$$7.82 > 0.03$$

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

Cálculo del intervalo de confianza

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

$$EE \log_{10} CE_{50} = (S^2 (1 / SNP + (m - x)^2 / SNPx - x^2))^{0.5}$$

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

- Logaritmo decimal de las concentraciones (x).
- Número de organismos por concentración (N).
- Probit esperado o calculado (Y).
- Factor p .
- Productos Np , Npx y Npx^2 , obtenidos de los datos de la misma tabla.
- Sumatoria de los productos correspondientes a los valores SNp , $SNpx$ y $S Npx^2$

TABLA 47. FACTOR (P) PARA EL PROBIT CALCULADO (Y).										
Y	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
1	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,005	0,006	0,008	0,011
2	0,015	0,019	0,025	0,031	0,040	0,069	0,062	0,076	0,092	0,110
3	0,131	0,154	0,180	0,208	0,238	0,264	0,302	0,336	0,370	0,406
4	0,439	0,471	0,503	0,532	0,558	0,583	0,601	0,616	0,627	0,634
5	0,637	0,634	0,627	0,616	0,601	0,589	0,558	0,532	0,503	0,471
6	0,439	0,405	0,370	0,336	0,302	0,269	0,238	0,208	0,180	0,154

7	0,131	0,110	0,092	0,076	0,062	0,059	0,050	0,031	0,025	0,019
8	0,015	0,011	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001

Fuente: Autor

TABLA 48. CÁLCULO DEL ERROR ESTÁNDAR DEL LOG ₁₀ CE ₅₀ .						
Log ₁₀ de la concentración (x)	Núm. de organismos (N)	Probit calculado (Y)	Factor (p)	Producto (Np)	Producto (Npx)	Producto (Npx ²)
2.6	45	9.09	0	0	0	0
2.5	45	8.64	0.002	0.09	0.225	0.56
2.3	45	7.73	0.031	1.395	3.21	7.38
2	45	6.36	0.302	13.59	27.18	54.36
0.6	45	0	0	0	0	0
			Σ	15.07	30.61	62.3

Fuente: Autor

- Factor p debe ser obtenido en la tabla entrando el valor de Probit calculado.
- Producto Np resultante de la multiplicación de los valores de número de organismos por el factor p y su respectiva sumatoria.
- Producto Npx resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de las concentraciones con su respectiva sumatoria.
- Producto Npx^2 resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de la concentración con su respectiva sumatoria.

Entonces:

$$S = 0.22$$

$$x = \sum NPx / \sum NP = 30.61 / 15.07 = 2.03$$

$$m = 1.7$$

$$\sum NP = 15.07 \quad \sum NPx = 30.61 \quad \sum NPx^2 = 62.3$$

$$\sum NPx - x^2 = \sum NPx^2 - ((\sum NPx)^2 / \sum NP) =$$

$$= 62.3 - ((30.61)^2 / 15.07) = 0.12$$

Así, el EE de CE₅₀ será:

$$EE\ CE_{50} = \text{Log}_e 10 * EE\ \text{Log}_{10}\ CE_{50} * 10^m$$

Donde:

$$\text{Log}_e 10 = 2.3026$$

$$EE\ \text{Log}_{10}\ CE_{50} = 0.21$$

$$10^m = 50.11$$

Entonces:

$$EE\ CE_{50} = 2.3026 * 50.11 * 0.21 = 24.23$$

Como la:

$$CE_{50} = 50.11$$

$$\text{Intervalo de confianza al 95\%} = m \pm EE\ CE_{50}$$

$$= 50.11 + 24.23 = 74.34$$

$$= 50.11 - 24.23 = 25.88$$

Por tanto, la CE₅₀ con los respectivos límites será:

$$\mathbf{25.88 < 50.11 < 74.34}$$

El cálculo de los intervalos de confianza del 95%, para el montaje de toxicidad final en agua de cultivo; se realiza de la misma manera como se efectuó para el montaje de toxicidad final en agua residual, descrito anteriormente.

A continuación se presentan los datos y los intervalos de confianza del 95%, para cada uno de los montajes realizados:

4.3.2 Para el bioensayo de toxicidad final en agua de cultivo

Entonces:

$$S = 0.22$$

$$x = \sum NPx / \sum NP = 160.45 / 71.18 = 2.25$$

$$m = 2.2$$

$$\sum NP = 78.47 \quad \sum NPx = 181.83 \quad \sum NPx^2 = 425.27$$

$$\sum NPx - x^2 = \sum NPx^2 - ((\sum NPx)^2 / \sum NP) =$$

$$= 425.27 - ((181.83)^2 / 78.47) = 3.93$$

Así, el EE de CE_{50} será:

$$EE\ CE_{50} = \text{Log}_e 10 * EE\ \text{Log}_{10}\ CE_{50} * 10^m$$

Donde:

$$\text{Log}_e 10 = 2.3026$$

$$EE\ \text{Log}_{10}\ CE_{50} = 0.026$$

$$10^m = 158.48$$

Entonces:

$$EE\ CE_{50} = 2.3026 * 0.026 * 158.48 = 9.48$$

Como la:

$$CE_{50} = 158.48$$

$$\text{Intervalo de confianza al 95\%} = m \pm EE\ CE_{50}$$

$$= 158.48 + 9.48 = 167.96$$

$$= 158.48 - 9.48 = 149$$

Por lo tanto, la CE_{50} con los respectivos límites será:

$$149 < 158.48 < 167.96$$