

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“ANÁLISIS DE RIESGO ECOTOXICOLÓGICO DE AGUAS
RESIDUALES PORCINAS DE LA UNALM A LA ENTRADA
Y SALIDA DE UN REACTOR UASB”**

Presentada por:

PIERINNA MARCELA RATTO MENÉNDEZ

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Lima – Perú

2021

**La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“ANÁLISIS DE RIESGO ECOTOXICOLÓGICO DE AGUAS
RESIDUALES PORCINAS DE LA UNALM A LA ENTRADA
Y SALIDA DE UN REACTOR UASB”**

Presentada por:

PIERINNA MARCELA RATTO MENÉNDEZ

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Mg. Sc. Juan Carlos Palma
PRESIDENTE

Mg. Sc. Armando Javier Aramayo Bazzetti
MIEMBRO

Mg. Cs. Paola Aurelia Jorge Montalvo
MIEMBRO

Ph. D. Lisveth Vilma Flores del Pino
ASESORA

Dra. Rosemary Vela Cardich
CO-ASESORA

DEDICATORIA

A mi queridísima abuelita Felicia, por apoyarme en todo y alentarme a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por el soporte que me siempre me han brindado a lo largo de mi vida, en especial abuelita Felicia, quien me enseñó a seguir adelante, sin importar los obstáculos que se presenten en el camino.

Al Departamento Académico de Química, no solo por facilitarme el acceso a los laboratorios, sobre todo el Laboratorio de Tesis que prácticamente se volvió mi segunda casa, sino también porque me hicieron sentir un miembro más de ellos.

Al Departamento Académico de Ingeniería Ambiental, por darme la autorización de trabajar con el sistema piloto de tratamiento y por brindarme los equipos necesarios para las tomas de muestras.

Al Mg. Sc. Juan Carlos Palma y al Mg. Sc. Armando Aramayo Bazzetti por sus valiosos aportes en esta tesis como miembros del jurado.

A la Dra. Rosemary Vela Cardich por su contribución en esta investigación como co-asesora

Al Ph. D. Javier Quino Favero, por su apoyo en el desarrollo del bioensayo con *Vibrio fischeri* y por permitirme usar las instalaciones, equipos y materiales de la Universidad de Lima para esa fase de la tesis.

A mis amigas Rosario y Fátima, por hacer mis días en el laboratorio más divertidos, sobre todo cuando renegábamos cada vez que algo no nos salía bien.

Finalmente, como lo mejor siempre se deja para el final, quiero agradecer especialmente a dos personas. Primero, a la Mg. Cs. Paola Jorge Montalvo, quien no solo cumplió con su rol como parte del jurado, sino que se convirtió en una de las personas que más estimo y en quien puedo confiar (no por nada es mi “tíis”). Y ahora, a la mejor asesora que cualquier tesista pudiera tener, la Ph. D. Lisveth Flores del Pino, quien no se limitó a darme observaciones en esta tesis, sino que también me dio grandes lecciones de vida, así que profe, seguramente ya lo sabrá, pero igual quiero que todo aquel que lea esto sepa que, para mí, usted es mi segunda madre.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|------|
| RESUMEN | viii |
| ABSTRACT | ix |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Aguas residuales porcinas | 3 |
| 2.2. Reactor UASB | 3 |
| 2.3. Tratamiento de las aguas residuales de la Unidad Experimental de Cerdos | 7 |
| 2.4. Conceptos ecotoxicológicos | 9 |
| 2.4.1. Exposición aguda | 9 |
| 2.4.2. Exposición crónica | 9 |
| 2.4.3. Concentración Efectiva (CE _x) | 9 |
| 2.4.4. Concentración de Efecto Adverso No Observado (NOAEC) | 9 |
| 2.4.5. Hormesis | 10 |
| 2.4.6. Unidades Tóxicas (UT) | 10 |
| 2.4.7. Índice de Efecto Tóxico Potencial (IETP) | 11 |
| 2.4.8. Cociente de Riesgo (CR) | 13 |
| 2.5. Bioensayos | 13 |
| 2.5.1. <i>Daphnia magna</i> | 14 |
| 2.5.2. <i>Lactuca sativa</i> | 14 |
| 2.5.3. <i>Vibrio fischeri</i> | 15 |
| 2.6. Análisis de riesgo ecotoxicológico | 15 |
| 2.6.1. Formulación del problema | 16 |
| 2.6.2. Fase de análisis | 16 |
| 2.6.3. Caracterización del riesgo | 16 |

| | |
|---|----|
| III. METODOLOGÍA | 17 |
| 3.1. Muestreo | 17 |
| 3.1.1. Área de estudio..... | 17 |
| 3.1.2. Medición de caudales..... | 18 |
| 3.1.3. Tipo y frecuencia de muestreo | 18 |
| 3.1.4. Parámetros fisicoquímicos | 18 |
| 3.2. Diseño experimental | 19 |
| 3.2.1. Factor | 19 |
| 3.2.2. Tratamiento | 19 |
| 3.2.3. Unidad experimental | 19 |
| 3.2.4. Variable respuesta | 19 |
| 3.3. Bioensayos..... | 20 |
| 3.3.1. Prueba aguda con <i>Daphnia magna</i> | 20 |
| 3.3.2. Prueba aguda con <i>Lactuca sativa</i> | 22 |
| 3.3.3. Prueba aguda con <i>Vibrio fischeri</i> | 24 |
| 3.3.4. Prueba crónica con <i>Daphnia magna</i> | 25 |
| 3.4. Caracterización de riesgos | 26 |
| 3.4.1. Unidades Tóxicas (UT)..... | 26 |
| 3.4.2. Índice de Efecto Tóxico Potencial (IETP) | 27 |
| 3.4.3. Cociente de Riesgo (CR)..... | 27 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 29 |
| 4.1. Condiciones del reactor UASB..... | 29 |
| 4.2. Bioensayos..... | 30 |
| 4.2.1. Prueba aguda con <i>Daphnia magna</i> | 30 |
| 4.2.2. Prueba aguda con <i>Lactuca sativa</i> | 34 |
| 4.2.3. Prueba aguda con <i>Vibrio fischeri</i> | 41 |
| 4.2.4. Prueba crónica con <i>Daphnia magna</i> | 45 |
| 4.3. Unidades Tóxicas | 53 |
| 4.4. Índice de Efecto Tóxico Potencial..... | 55 |

| | |
|-------------------------------|----|
| 4.5. Cociente de Riesgo | 56 |
| V. CONCLUSIONES | 59 |
| VI. RECOMENDACIONES | 60 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA | 61 |
| VIII. ANEXOS | 68 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Ventajas y desventajas de los sistemas de tratamiento en la eficiencia de remoción y economía | 5 |
| Tabla 2: Ventajas y desventajas de los sistemas de tratamiento en la resistencia a variaciones del influente, simplicidad, factores externos y menor riesgo ambiental | 6 |
| Tabla 3: Parámetros medidos de las aguas residuales porcinas tratadas y sin tratar por el reactor UASB | 8 |
| Tabla 4: Nivel de toxicidad en relación a las Unidades Tóxicas | 11 |
| Tabla 5: Clasificación de la toxicidad según su valor IETP | 12 |
| Tabla 6: Niveles de interés a comparar con los RQ dependiendo del tipo de especie evaluada y el nivel de exposición..... | 13 |
| Tabla 7: Clasificación de toxicidad relativa aguda sobre <i>D. magna</i> a las 48 horas de iniciada la prueba..... | 14 |
| Tabla 8: Parámetros in situ tomados en cuenta | 18 |
| Tabla 9: Volúmenes medidos en litros de acuerdo al tiempo transcurrido en minutos del influente y efluente | 29 |
| Tabla 10: Caudales en mL/min por repetición, promedios y desviación estándar de la entrada y salida del reactor UASB | 29 |
| Tabla 11: Porcentaje de mortalidad de <i>D. magna</i> por concentración y repetición para el influente a las 24 y 48 horas de exposición..... | 30 |
| Tabla 12: Porcentaje de mortalidad de <i>D. magna</i> por concentración y repetición para el efluente a las 24 y 48 horas de exposición | 31 |
| Tabla 13: Concentración letal media de las muestras sobre <i>D. magna</i> a las 24 y 48 horas | 33 |
| Tabla 14: Porcentajes de inhibición de la germinación sobre la <i>L. sativa</i> por repetición para el influente y el efluente | 34 |
| Tabla 15: Concentración efectiva 25; 50 y 75 de la germinación de la <i>L. sativa</i> | 36 |

| | |
|--|----|
| Tabla 16: Porcentaje inhibición del crecimiento sobre el hipocótilo de <i>L. sativa</i> por cada repetición respecto al influente y efluente..... | 37 |
| Tabla 17: Porcentaje de inhibición del crecimiento sobre la raíz de <i>L. sativa</i> por cada repetición respecto al influente y efluente | 38 |
| Tabla 18: Concentración efectiva de la inhibición del crecimiento del hipocótilo de la <i>L. sativa</i> | 40 |
| Tabla 19: Concentración efectiva de la inhibición del crecimiento de la raíz de la <i>L. sativa</i> | 40 |
| Tabla 20: Inhibición de bioluminiscencia, en porcentaje, por cada repetición, en relación al tipo de muestra | 42 |
| Tabla 21: Concentración efectiva de la inhibición de la bioluminiscencia del <i>V. fischeri</i> | 44 |
| Tabla 22: Porcentaje de mortalidad en <i>D. magna</i> por repetición al someterse a diluciones del influente | 45 |
| Tabla 23: Porcentaje de mortalidad en <i>D. magna</i> por repetición al someterse a diluciones del efluente..... | 46 |
| Tabla 24: Concentración letal media del influente y efluente sobre la <i>D. magna</i> por día | 49 |
| Tabla 25: Concentraciones no efectivas (NEC) Del influente y efluente por día | 51 |
| Tabla 26: Unidades tóxicas de cada individuo al ser sometidos al influente en relación a la característica evaluada..... | 53 |
| Tabla 27: Unidades tóxicas de cada individuo al ser sometidos al efluente en relación a la característica evaluada..... | 54 |
| Tabla 28: Caudales de ingreso y salida al reactor UASB expresados como mL/min y m ³ /h..... | 55 |
| Tabla 29: Efecto ecotóxico potencial del influente y el efluente, además de los valores requeridos para su cálculo | 55 |
| Tabla 30: Cocientes de riesgo del influente según la característica evaluada, además de los valores usados para su cálculo..... | 57 |
| Tabla 31: Cocientes de riesgo del efluente según la característica evaluada, además de los valores usados para su cálculo..... | 57 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Diagrama de un reactor UASB | 4 |
| Figura 2: Presencia de hormesis en una curva dosis-respuesta | 10 |
| Figura 3: Recorrido del agua residual porcina a través de la PTAR piloto y puntos de muestreo | 17 |
| Figura 4: Estanque con el medio adecuado para la <i>D. magna</i> | 21 |
| Figura 5: Acondicionamiento de <i>D. magna</i> | 21 |
| Figura 6: Almacenamiento de las placas petri con las semillas de <i>L. sativa</i> | 23 |
| Figura 7: Germinación de <i>L. sativa</i> después de 120 horas de exposición a las diluciones | 23 |
| Figura 8: Lectura de bioluminiscencia del <i>Vibrio fischeri</i> en el luminómetro | 24 |
| Figura 9: Mortalidad de la <i>D. magna</i> en porcentaje respecto a la concentración del influyente y efluente, después de 24 y 48 horas | 32 |
| Figura 10: Inhibición de la germinación de la <i>L. sativa</i> respecto a la concentración del influyente y efluente | 35 |
| Figura 11: Porcentaje de inhibición del crecimiento del hipocótilo y la raíz en relación a las concentraciones del influyente y el efluente..... | 39 |
| Figura 12: Curva concentración - respuesta del <i>V. fischeri</i> en relación al tipo de muestra analizada..... | 43 |
| Figura 13: Curvas concentración - respuesta de mortalidad de <i>D. magna</i> por día de estudio para el influyente y efluente | 48 |
| Figura 14: Variación de la concentración letal media por muestra respecto a los días transcurridos de la prueba crónica..... | 50 |
| Figura 15: Proporción de neonatos obtenidos por dáfido respecto al tiempo transcurrido por dilución del efluente | 52 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1: MAPA DE UBICACIÓN DEL LUGAR DE ESTUDIO | 69 |
| Anexo 2: PARÁMETROS in-situ | 70 |
| Anexo 3: RESULTADOS DE BIOENSAYOS (SIN PROCESAR)..... | 73 |
| Anexo 4: PRUEBAS ESTADÍSTICAS | 87 |

RESUMEN

La finalidad de este trabajo de investigación fue analizar el riesgo ecotoxicológico de las aguas residuales tratadas por un reactor UASB de la granja de cerdos de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Para lograr este objetivo, se evaluaron los efectos ecotoxicológicos agudos de estos efluentes mediante bioensayos con *Daphnia magna*, *Lactuca sativa* y *Vibrio fischeri*, así como los efectos crónicos en *D. magna*. A partir de los resultados obtenidos en los bioensayos, se logró caracterizar el riesgo de las muestras por medio del cálculo de tres coeficientes. El primer coeficiente hallado fue la unidad tóxica (UT), encontrándose valores desde 3,60 hasta cifras superiores a 149,25 para el influente, mientras que el rango del efluente fue de 3,60 a 107,53. El segundo coeficiente fue el índice de efecto tóxico potencial (IETP) de cada muestra, obteniéndose 0,26 en el influente y 0,22 en el efluente. El cociente de riesgo (CR) fue la última variable calculada, siendo los valores correspondientes al influente cifras desde 4,45 hasta superiores a 149,25, mientras que el rango para el efluente fue de 4,27 a 107,53. A partir de lo obtenido se concluyó que el uso de un reactor UASB en el tratamiento de aguas residuales porcinas reduce el riesgo ecotoxicológico, pero el efluente todavía representa un leve riesgo para los ecosistemas pues, si bien existe diferencias entre las UT, IETP y CR a la entrada y salida del reactor UASB, el sistema no es suficiente para evitar que las muestras dejen de ser muy tóxicas respecto a sus UT y de alto riesgo en relación a sus CR; sin embargo, al evaluar el IETP, se obtuvo una carga tóxica despreciable debido al bajo caudal de entrada y salida del reactor.

Palabras claves: Reactor UASB, bioensayos, riesgo, UT, IETP, CR

ABSTRACT

The purpose of this research work was to analyze the ecotoxicological risk of wastewater treated by a UASB reactor at the pig farm of the National Agrarian University La Molina. To achieve this objective, there were evaluated the acute ecotoxicological effects of these effluents through bioassays with *Daphnia magna*, *Lactuca sativa* and *Vibrio fischeri*, as well as the chronic effects in *D. magna*. From the results obtained in the bioassays, it was possible to characterize the risk of the samples by means of the calculation of three coefficients. The first coefficient found was the toxic unit (TU), being found values from 3,60 to figures higher than 149,25 for the influent, while the range of the effluent was from 3,60 to 107,53. The second coefficient was the potential ecotoxic effect probe (PEEP) of each sample, obtaining 0,26 in the influent and 0,22 in the effluent. The risk quotient (RQ) was the last variable calculated, with the values corresponding to the influent ranging from 4,45 to over 149,25, while the range for the effluent was 4,27 to 107,53. From what was obtained, it was concluded that the use of a UASB reactor in the treatment of pig waste water reduces the ecotoxicological risk, but the effluent still represents a slight risk to the ecosystems because, although there are differences between TU, PEEP and RQ at the entrance and exit of the UASB reactor, the system is not sufficient to prevent the samples from being no longer very toxic with respect to their TU and of high risk with respect to their CR; however, when evaluating the IETP, a negligible toxic load was obtained due to the low flow rate in and out of the reactor.

Keywords: UASB reactor, bioassays, risk, TU, PEEP, RQ

I. INTRODUCCIÓN

En Perú se desarrollan diversas actividades económicas, dentro de las cuales está incluido el sector ganadero, el cual representa el 40 por ciento del valor bruto de la producción agropecuaria (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], 2017). Respecto a la crianza de porcinos, el MINAGRI (2017) estima que existen más de 3 millones de cerdos en todo el país, de los cuales un 30 por ciento se encuentran distribuidos en criaderos tecnificados, mientras que el resto son criados en granjas de producción semi-intensivas y de traspatio.

Al igual que cualquier industria, la crianza de porcinos ocasiona problemas ambientales. De acuerdo con Méndez et al. (2009), la carga orgánica de un solo cerdo equivale a la de las aguas residuales que generan, aproximadamente, siete personas, considerando un aporte de 200 L/hab/día y una DQO igual a 500 mg/L. Entre los impactos generados por la emisión de aguas residuales porcinas se encuentra la contaminación por amonio y sulfatos que pueden generar la proliferación de algas y la eutrofización de cuerpos de agua, además de provocar la presencia de patógenos (Pacheco et al., 1997, citados por Méndez et al., 2009).

Ante esta problemática, surgen diversos tipos de tratamiento para las aguas residuales, entre los cuales está el reactor UASB. Para el caso de la Unidad Experimental de Cerdos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Tapia (2015) logró implementar un reactor UASB a escala piloto que trate esta clase de residuos líquidos, mientras que Pacco (2016) halló las condiciones óptimas bajo las cuales este reactor ha estado funcionando. A partir de estas dos investigaciones se han ido desarrollando estudios sobre el diseño y puesta en marcha de tratamientos posteriores con la finalidad de reducir los contaminantes sobrantes como el amonio a concentraciones inferiores a los indicados por los Valores Máximos Admisibles; no obstante, ¿cómo se puede determinar si realmente el tratamiento con el reactor UASB piloto reduce o no en gran medida el daño potencial de las aguas residuales porcinas sobre los ecosistemas?

Ante esta incógnita, lo más adecuado es realizar un análisis de riesgo ecotoxicológico. De acuerdo con Ramírez et al., 2008, citados por Angulo (2015), este tipo de análisis abarca tanto la parte física y química de un ecosistema, como la parte biológica, pues se logra

identificar la biodisponibilidad de los contaminantes y sus efectos sobre los individuos involucrados con el entorno afectado por dichas sustancias. Los efectos que se evalúan incluyen características fácilmente reconocibles como mortalidad, reproducción, etc., así como efectos menos notorios como alteraciones en el código genético, entre otros.

Por lo expuesto, la presente investigación tuvo como finalidad analizar el riesgo ecotoxicológico de las aguas residuales porcinas de la Universidad Nacional Agraria La Molina a la entrada y salida de un reactor UASB, para lo cual se evaluaron los efectos ecotoxicológicos agudos de estas aguas mediante bioensayos con *Daphnia magna*, *Lactuca sativa* y *Vibrio fischeri*, así como los efectos ecotoxicológicos crónicos a través de bioensayos con *Daphnia magna* y se caracterizó el riesgo de las aguas al ingreso y salida de este reactor.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aguas residuales porcinas

Cada tipo de industria genera efluentes cuya composición varía según las actividades propias del rubro. En el caso de las aguas residuales provenientes de las granjas porcinas, al tratarse de reproducción y crianza de cerdos, los parámetros principales a tomar en cuenta son nitrógeno, fósforo, potasio y patógenos, mientras que en menor proporción se encuentran los sulfuros, cloruros, metales y sustancias farmacéuticas. Por otro lado, las granjas también pueden realizar actividades de beneficio, por lo que las características resaltantes de las aguas residuales incluyen DBO5, DQO, sólidos suspendidos totales, aceites y grasas, nitrógeno Kjendalh, fósforo total y bacterias coliformes (Water Environment Federation [WEF], 2008).

2.2. Reactor UASB

El reactor UASB (del inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket), de acuerdo con Seghezze et al. (1998), es una tecnología ampliamente usada en zonas tropicales por diversos motivos como su alta eficiencia en la remoción de contaminantes orgánicos, bajo requerimiento de espacio (especialmente al poder reemplazar los procesos de un tratamiento aerobio convencional), bajo consumo de energía y, según Rittman y Baskin, 1985, citados por Seghezze et al. (1998), el costo se reduce drásticamente a comparación de otras tecnologías, pues no se necesita oxigenar el agua residual, además de que la producción de lodos es entre tres a 20 veces menor.

La estructura básica de un reactor UASB, como se muestra en la Figura 1, incluye deflectores y un sistema de separación trifásico, los cuales tienen la finalidad de facilitar la recolección de biogás generado y reducir el arrastre del lecho lodoso (Chong et al., 2012).

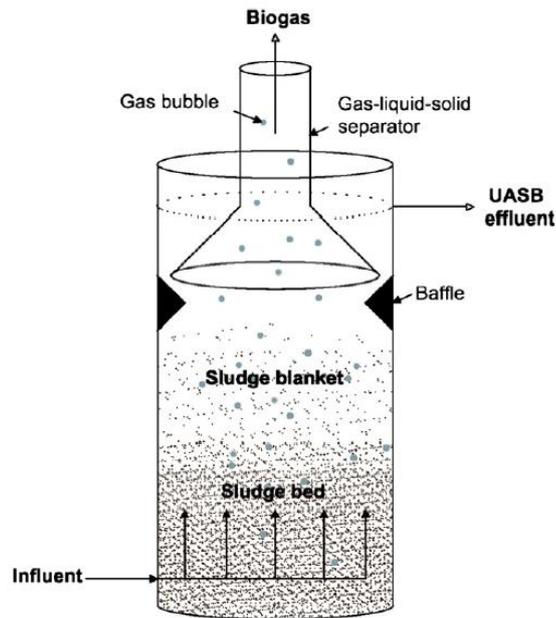


Figura 1: Diagrama de un reactor UASB
FUENTE: Chong et al. (2012)

Respecto al funcionamiento del reactor, el tratamiento ocurre en el manto lodoso. Dentro de este manto se encuentran microorganismos, los cuales se encargan de degradar los compuestos orgánicos, obteniéndose como productos principales metano y dióxido de carbono (Chong et al., 2012). El agua residual ingresa por la parte inferior del reactor a un caudal determinado, ocasionando una turbulencia natural que causa el contacto entre los conglomerados del lodo y el agua (Heertjes y van der Meer, 1978, citados por Seghezze et al., 1998). A un caudal de ingreso adecuado, las partículas finas del lodo son arrastradas hacia la salida del reactor, mientras que las gruesas son retenidas en el sistema (Hulshoff Pol et al., 2004, citados por Chong et al., 2012).

En relación a otros sistemas de tratamiento, Von Sperling (1996) recopiló las ventajas y desventajas de diferentes sistemas, los cuales incluyen lagunas, lodos activados, sistemas anaerobios (categoría en el que está incluido el reactor UASB), filtros percoladores y disposición en suelo. Esta información es presentada en las Tabla 1 y Tabla 2 según el tipo de tratamiento y la característica evaluada, donde “+” equivale a la característica menos favorable, “++++” la más favorable y un “/” entre estos símbolos significa que es variable según el proceso, el equipo, variación o diseño.

Tabla 1: Ventajas y desventajas de los sistemas de tratamiento en la eficiencia de remoción y economía

| Tratamiento | Eficiencia de remoción | | | Economía | | | |
|-------------------------------------|------------------------|---------|---------|----------------|---------|--------|-----------|
| | BOD | N y P | Colif. | Requerimientos | | Costos | |
| | | | | Espacio | Energía | Const. | Op. y Ma. |
| Laguna facultativa | +++ | ++ | ++/++++ | + | +++++ | +++ | +++++ |
| Laguna anaerobia-facultativa | +++ | ++ | ++/++++ | ++ | +++++ | ++++ | +++++ |
| Laguna facultativa aereada | +++ | ++ | ++/++++ | ++ | +++ | +++ | ++++ |
| Lodos activados convencional | ++++ | ++/++++ | ++ | +++ | ++ | + | ++ |
| Reactor Batch | ++++ | ++/++++ | ++ | +++ | +/++ | + | + |
| Filtro de percolación de poca carga | ++++ | ++/++++ | ++ | +++ | ++++ | + | +++ |
| Filtro de percolación de alta carga | ++++ | ++/+++ | ++ | ++++ | +++ | ++ | +++ |
| Reactor UASB | +++ | + | ++ | +++++ | +++++ | ++++ | +++++ |
| Tanque séptico con filtro anaerobio | +++ | + | ++ | +++++ | +++++ | ++++ | +++++ |
| Filtración rápida | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +++++ | ++++ | +++++ |
| Filtración subsuperficial | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +++++ | ++++ | +++++ |

FUENTE: Adaptado de Von Sperling (1996)

Tabla 2: Ventajas y desventajas de los sistemas de tratamiento en la resistencia a variaciones del influente, simplicidad, factores externos y menor riesgo ambiental

| Tratamiento | Resistencia a variaciones del influente | | | Simplicidad | Factores externos | | Menos riesgos de problemas ambientales | | | |
|-------------------------------------|---|---------|---------|-------------|-------------------|-------|--|-------|----------|----------|
| | Caudal | Calidad | Tóxicos | | Clima | Suelo | Olores | Ruido | Aerosol. | Insectos |
| Laguna facultativa | ++++ | ++++ | +++ | +++++ | ++ | +++ | +++ | +++++ | +++++ | + |
| Laguna anaerobia-facultativa | ++++ | ++++ | +++ | +++++ | ++ | +++ | + | +++++ | +++++ | + |
| Laguna facultativa aereada | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | +++ | +++ | ++++ | + | + | +++ |
| Lodos activados convencional | +++ | +++ | ++ | ++++ | +++ | +++++ | ++++ | + | + /+++++ | ++++ |
| Reactor Batch | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | +++++ | +++++ | +++ | + | + /+++++ | ++++ |
| Filtro de percolación de poca carga | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | +++++ | ++++ | ++++ | ++++ | + |
| Filtro de percolación de alta carga | ++++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ |
| Reactor UASB | ++ | ++ | ++ | ++++ | ++ | +++++ | ++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| Tanque séptico con filtro anaerobio | +++ | +++ | ++ | ++++ | ++ | +++++ | ++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| Filtración rápida | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | + | + | +++++ | +++++ | + |
| Filtración subsuperficial | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++++ | + | ++++ | +++++ | +++++ | ++++ |

FUENTE: Adaptado de Von Sperling (1996)

2.3. Tratamiento de las aguas residuales de la Unidad Experimental de Cerdos

La Unidad Experimental de Cerdos, perteneciente a la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), posee diversas secciones en las que se distribuyen los porcinos, los cuales son: Reproducción, maternidad, crianza, investigación, engorde, embarque, almacén, administración y aulas. Las aguas residuales generadas en la granja consisten solamente de las cinco primeras zonas indicadas, lo que conlleva a que estas contengan una alta carga orgánica, además de otros contaminantes mencionados en el párrafo anterior.

La granja genera alrededor de 12 m³/día de aguas residuales porcinas, las que son acumuladas de manera temporal en una poza antes de su vertimiento a un canal (Pacco, 2016). De este volumen total, cada semana se conduce un aproximado de 5 m³ hacia un sistema piloto de tratamiento, el cual se construyó gracias al Proyecto de Investigación Aplicada N° 224-FINCYT-IA-2013 “Modelo de tratamiento de aguas residuales para instalaciones de crianza intensiva de cerdos con fines de reúso del efluente tratado y producción de biogás” (Tapia, 2015).

El sistema piloto consiste en un tanque de sedimentación con una capacidad de 2,5 m³, cuya recarga se realizaba entre una y tres veces por semana, dependiendo de la cantidad de lodos que contuviese el agua residual; un tanque de alimentación de 1,1 m³ con un filtro metálico de 2 mm para evitar el ingreso de pelos, pajas y otros sólidos que no hayan sido eliminados en el tanque de sedimentación; y un reactor UASB de 1 m³ y 4 m de altura, el cual era alimentado de forma ininterrumpida por el tanque de alimentación por medio de una bomba peristáltica. Posteriormente, por medio de otros proyectos de investigación se implementaron una celda francesa, un humedal horizontal y uno vertical.

La tesis de Tapia (2015) fue la que dio inicio a la construcción y puesta en marcha del reactor UASB a escala piloto; sin embargo, fue Pacco (2016) quien determinó las condiciones bajo las cuales el reactor funciona de manera óptima, dentro de las cuales se considera un caudal de entrada de 231 mL/min y un tiempo de retención hidráulica de 3 días. Estas condiciones se han mantenido desde el desarrollo de su investigación hasta el del presente estudio. Pacco (2016) también realizó una caracterización de los principales parámetros fisicoquímicos a tomar en cuenta, los cuales se muestran a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3: Parámetros medidos de las aguas residuales porcinas tratadas y sin tratar por el reactor UASB

| Parámetros | Unidades | Influente | Efluente |
|-------------------------------|-------------------------|------------------|-----------------|
| pH | - | 7,1 | 7,5 |
| Temperatura | °C | 22,9 | 23,1 |
| Alcalinidad | mg CaCO ₃ /L | 2638 | 5043 |
| Aceites y grasas | mg/L | 31,1 | 4,8 |
| Amonio | mg/L | 939,847 | 1020,846 |
| DBO | mg/L | 4123 | 672 |
| DQO | mg/L | 7330 | 1822 |
| Huevos de helminto | NMP/100ml | 5 | <1 |
| NKT | mg/L | 940 | 1021 |
| Coliformes fecales | NMP/100ml | 1400000 | 540000 |
| Solidos totales | mg/L | 7206 | 5840 |
| Sólidos totales en suspensión | mg/L | 835 | 378 |
| Sólidos volátiles | mg/L | 3620 | 2321 |
| Sulfuros | mg/L | 36,559 | 53,215 |
| Sulfato | mg/L | 139,5 | 8,7 |
| Arsénico total | mg/L | 0,016 | 0,014 |
| Bario total | mg/L | 0,475 | 0,436 |
| Cadmio total | mg/L | 0,0004 | 0,0003 |
| Calcio total | mg/L | 303,142 | 303,766 |
| Cerio total | mg/L | 0,00065 | 0,00051 |
| Cobalto total | mg/L | 0,00278 | 0,0019 |
| Cobre total | mg/L | 0,321 | 0,204 |
| Cromo total | mg/L | 0,006 | 0,005 |
| Fósforo total | mg/L | 66,9 | 43,2 |
| Hierro total | mg/L | 1,671 | 1,101 |
| Magnesio total | mg/L | 133,141 | 116,399 |
| Manganeso total | mg/L | 0,4256 | 0,3265 |
| Molibdeno total | mg/L | 0,01572 | 0,01066 |
| Níquel total | mg/L | 0,0901 | 0,0784 |

Continuación...

| | | | |
|---------------|------|--------|--------|
| Plomo total | mg/L | 0,0086 | 0,0073 |
| Potasio total | mg/L | 484,5 | 493,4 |
| Selenio total | mg/L | 0,012 | 0,01 |
| Silicio total | mg/L | 15,13 | 14,48 |
| Zinc total | mg/L | 4,1462 | 2,6699 |

FUENTE: Adaptado de Pacco (2016)

2.4. Conceptos ecotoxicológicos

2.4.1. Exposición aguda

La definición que brinda la United States Environmental Protection Agency [USEPA] (2011) señala que los efectos agudos son aquellas consecuencias adversas en cualquier organismo vivo al cual se le haya sometido a la exposición de un estímulo por un periodo de minutos a horas (generalmente hasta 96 horas). Los efectos agudos suelen ser mortalidad, pero también puede incluir consecuencias sobre la salud.

2.4.2. Exposición crónica

La USEPA (2011) lo define como la aparición progresiva de un efecto adverso sobre cualquier organismo vivo, el cual ha sido sometido a un estímulo por un tiempo prolongado, pudiendo ser desde la décima parte del tiempo de vida del individuo, hasta un periodo mayor.

2.4.3. Concentración Efectiva (CE_x)

De acuerdo con la OECD, 2006, citada por Forfait-Dubuc et al. (2012), es la concentración bajo la cual se observa la variación del x% de la característica de interés (por ejemplo, germinación, bioluminiscencia, etc.) que es evaluada durante un determinado tiempo. Cuando se toma en cuenta la mortalidad, se denomina concentración letal (CL_x).

2.4.4. Concentración de Efecto Adverso No Observado (NOAEC)

Según Hoffman et al. (2002), la concentración de efecto no observado (NOEC por sus siglas en inglés) es definida como el efecto positivo o negativo causado por la mayor concentración que no se diferencia significativamente del grupo control. La concentración de efecto adverso no observado (NOAEC por sus siglas en inglés) solo hace referencia al efecto negativo.

2.4.5. Hormesis

De acuerdo con Calabrese y Baldwin, 2002, citados por Chapman (2002) y por Agathokleous (2018), la hormesis se define como la respuesta bifásica que se observa en un grupo de individuos que fueron sometidos a determinada sustancia. Estos mismos autores señalan que la hormesis afecta a todos los individuos independientemente de su nivel de resistencia ya que, al presentarse una irrupción inicial de la homeostasis debido a uno o varios xenobióticos, el organismo intenta compensar biológicamente el rompimiento del equilibrio.

Gráficamente, la hormesis puede expresarse en la curva dosis-respuesta de cada especie, tal como puede observarse en la Figura 2.

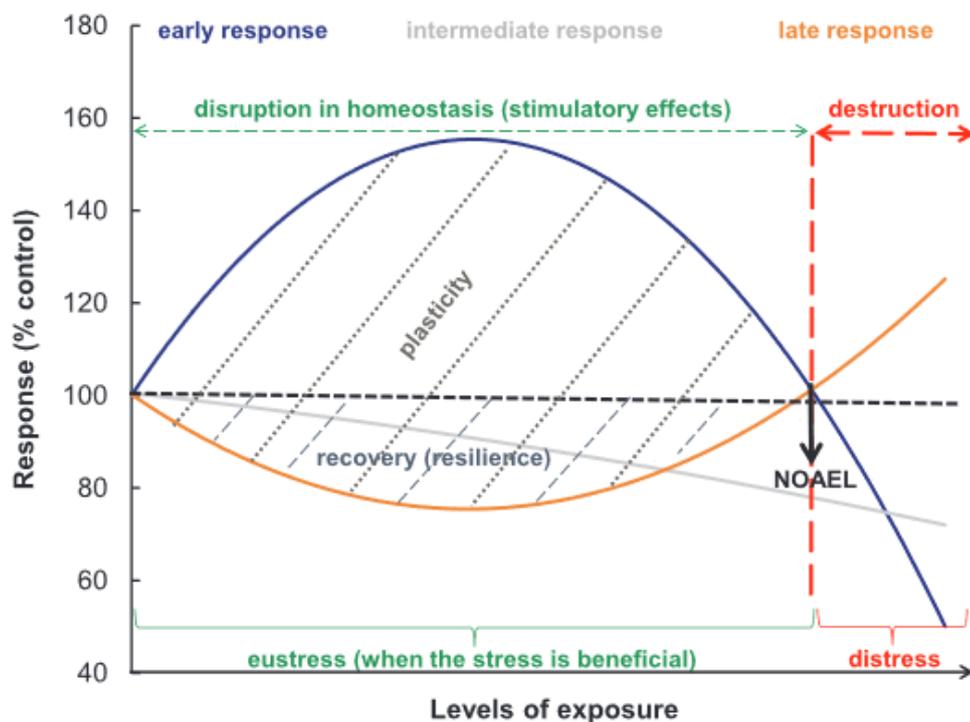


Figura 2: Presencia de hormesis en una curva dosis-respuesta
FUENTE: Agathokleous (2018)

Para poder considerar un efecto observado como hormesis, la respuesta del individuo ante el estímulo debe encontrarse entre un 30 – 60 por ciento por encima de la respuesta del grupo control (Chapman, 2002).

2.4.6. Unidades Tóxicas (UT)

Son las unidades utilizadas para cuantificar la toxicidad de un efluente a partir de las CE_{50} si se trata de exposición aguda o NOAEC si es crónica (USEPA, 2000). Las UT son útiles

para comparar los efectos tóxicos de diversos compuestos químicos tanto de manera individual como de forma grupal (Von der Ohe y Zwart, 2013).

En 1998, Zagatto et al., citados por Angulo (2015), propusieron una clasificación de la toxicidad en base al valor de Unidades Tóxicas, mencionadas en la Tabla 4, partiendo desde uno (considerado como no tóxico) hasta valores por encima de cuatro (establecido como muy tóxico).

Tabla 4: Nivel de toxicidad en relación a las Unidades Tóxicas

| Nivel de Toxicidad | Unidades Tóxicas |
|----------------------|------------------|
| No tóxico | 1 |
| Levemente tóxico | 1 – 1,3 |
| Moderadamente tóxico | 1,3 – 2 |
| Tóxico | 2 – 4 |
| Muy tóxico | > 4 |

FUENTE: Zagatto et al., 1988, citados por Angulo (2015)

Por mencionar algunos ejemplos de UT, a continuación, se mencionan algunos estudios relacionados a este coeficiente:

- Villamar et al. (2014) realizaron bioensayos agudos en *D. magna* y *Raphanus sativus* para poder determinar la toxicidad causada por el agua residual porcina a la salida de un reactor UASB y caracterizaron el riesgo mediante el cálculo de las UT.
- Chen et al. (2014) compararon las UT de lodos de origen porcino que pasaron por una digestión anaerobia y luego por un post-tratamiento con un biorreactor de membrana. Las UT se evaluaron respecto al *V. fischeri* y peces zebra.
- Dias et al. (2019) evaluaron las UT de aguas residuales textiles y domésticas sobre *D. magna*, al pasar estos residuos líquidos por un proceso de fitoremediación con *Lemna minor*.

2.4.7. Índice de Efecto Tóxico Potencial (IETP)

El IETP es un índice que utiliza las UT de individuos sometidos a diversos niveles de exposición (aguda, crónica, entre otros) y/o entre especies diferentes, con la finalidad de obtener el efecto tóxico potencial de diversos efluentes y, de esta forma, realizar una comparación entre estos (Costan et al., 1993).

Según Blaise y Férard (2005), el IETP es la mejor opción para la toma de decisiones debido a que se puede evaluar qué efluente merece una atención prioritaria con el fin de reducir los efectos tóxicos de las aguas residuales sobre un mismo cuerpo de agua receptor. Otro factor que aumenta la preferencia del uso de este índice sobre otros consiste en la capacidad de este en integrar la toxicidad en varias especies y el caudal de salida del efluente en un único valor (Blaise y Férard, 2005).

Si bien los valores del IETP pueden variar desde cero hasta por encima de 10, Escobar, 2008, citado por Huamán (2016), propuso una clasificación de la toxicidad de efluentes según su IETP, la cual se indica en la Tabla 5.

Tabla 5: Clasificación de la toxicidad según su valor IETP

| Clasificación de la carga tóxica | Valor IETP |
|---|-------------------|
| Carga tóxica Despreciable | < 1,99 |
| Carga tóxica Reducida | 2 – 2,99 |
| Carga tóxica Moderada | 3 – 3,99 |
| Carga tóxica Considerable | 4 – 4,99 |
| Carga tóxica Elevada | > 5 |

FUENTE: Escobar, 2008, citado por Huamán (2016)

Existen estudios sobre la caracterización de riesgo ecotoxicológico de efluentes mediante el uso del IETP, con el objetivo de realizar comparaciones entre muestras. Algunos de estas investigaciones se encuentran en los siguientes párrafos.

- Manusadžianas et al. (2003) utilizaron *Selenastrum capricornutum*, *V. fischeri*, *Nitellopsis obtusa* y *Escherichia coli* para calcular el IETP de tres vertederos de semi-coque y esquisto bituminoso en Estonia, ocho efluentes de aguas residuales y 10 efluentes industriales -textileras, curtiembres, producción de carnes, extracción de metales raros, entre otros- de Estonia y Lituania.
- Costan et al. (1993) desarrollaron bioensayos con *Photobacterium phosphoreum*, *S. capricornutum*, *Cerodaphnia dubia* y *E. coli* a fin de calcular el IETP de 37 efluentes representativos de ocho tipos de industrias: Pulpa y papel, minería, refinamiento de petróleo, producción química orgánica, chapado de metal, producción química inorgánica, metalurgia y producción textil.

2.4.8. Cociente de Riesgo (CR)

De acuerdo con Thomaidi et al. (2017), el CR es útil para determinar la potencial amenaza de cualquier tipo de contaminante en el ambiente. La USEPA (2017b) señala algunos niveles de interés (LOC por las siglas en inglés) que deben ser comparados con los RQ para determinar el riesgo. A continuación se presentan algunos LOC.

Tabla 6: Niveles de interés a comparar con los RQ dependiendo del tipo de especie evaluada y el nivel de exposición

| Especie | Presunción de riesgo | LOC |
|--------------------|--|------------|
| | Alto riesgo – nivel agudo | 0,5 |
| Animales | Uso restringido – nivel agudo | 0,1 |
| acuáticos | Riesgo para especies en peligro de extinción – nivel agudo | 0,05 |
| | Riesgo crónico | 1,0 |
| Plantas terrestres | Alto riesgo – nivel agudo | 1,0 |
| y semiacuáticas | Riesgo para especies en peligro de extinción – nivel agudo | 1,0 |

FUENTE: USEPA (2017b)

Para mencionar algunos casos donde se utilice el cociente de riesgo, se presentan algunas investigaciones a continuación:

- Chen et al. (2019) determinaron el cociente de riesgo ocasionado por hormonas y biocidas residuales hallados en aguas residuales porcinas antes y después de ingresar a un humedal integrado.
- Zhang et al. (2017) evaluaron el riesgo ecotoxicológico con el CR ocasionado por antibióticos encontrados en 12 principales plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas en Dalian, China. El tratamiento secundario de estos sistemas incluían lodos activados, reactor oxigenado de filtración biológica, sistema de tratamiento anóxico/óxico, tecnología de lodos activados cíclicos y sistemas anaerobio-aerobio-óxico.

2.5. Bioensayos

Se definen como experimentos realizados con componentes biológicamente activos, a partir de los cuales se pueden graficar las curvas de dosis-respuesta para diferentes especies y/o compuestos (Ritz y Streibig, 2005).

2.5.1. *Daphnia magna*

La *Daphnia magna* pertenece a la familia *Daphnidae*, dentro del orden *Diplostraca* en la clase *Branchiopoda*. Son individuos de diminuto tamaño (normalmente entre 2 y 5mm) que habitan en aguas dulces o en aguas que no sobrepasen los 8 ppt de salinidad. La *D. magna* vive entre 40 a 56 días en promedio, dependiendo de las condiciones de su entorno, mientras que su ciclo de reproducción empieza aproximadamente a los seis a 10 días de existencia (Elenbaas, 2013).

Desde la década de los 40's, esta especie ha sido utilizada para medir el efecto tóxico de contaminantes presentes en un medio acuático (Anderson, 1994, citado por Lazorchak et al., 2009). Su uso como bioensayo no se debe solamente a su alta sensibilidad ante los contaminantes (metales pesados, pesticidas y medicamentos), sino también su corta vida, su facilidad de utilización y su importancia en la cadena trófica (Chen et al., 2018).

La USEPA (2016a) señala la metodología a seguir para determinar la toxicidad sobre la *D. magna* a nivel agudo, siendo la característica evaluada la mortalidad causada 48 horas después de iniciada la prueba. Lobo et al., 2006, citados por Düpont y Lobo (2012) y Mohr y Lobo (2013) publicaron una clasificación sobre la toxicidad relativa a nivel agudo sobre la *D. magna* en el tiempo de prueba establecido, indicado en la Tabla 7.

Tabla 7: Clasificación de toxicidad relativa aguda sobre *D. magna* a las 48 horas de iniciada la prueba

| Percentil | CE ₅₀ 48h | Toxicidad |
|-----------|----------------------|-----------------------|
| 25° | <25% | Extremadamente tóxica |
| 50° | 25-50% | Altamente tóxica |
| 75° | 50-75% | Medianamente tóxica |
| | >75% | Poco tóxica |

FUENTE: Lobo et al., 2006, citados por Düpont y Lobo (2012) y Mohr y Lobo (2013)

En el caso de querer evaluar la exposición crónica, la USEPA (2016b) indica que las características a evaluar son la mortalidad y la reproducción, este último expresado como neonatos por *D. magna* hembra.

2.5.2. *Lactuca sativa*

Esta especie, perteneciente a la familia *Asteraceae*, posee una raíz delgada y un tallo recto provisto de ramificaciones en la parte superior de este. Sus hojas crecen de forma espiralada,

de manera que estas, en su conjunto, adquieren una distribución similar al de una rosa (Křístková et al., 2008).

De acuerdo con la ATSM, 2003, y Wang, 1992, citados por Hillis et al. (2011), los bioensayos con *Lactuca sativa* son pruebas estandarizadas debido al grado de sensibilidad y una gran frecuencia en su uso para la evaluación de tóxicos. Entre los beneficios que conlleva el uso de esta especie en test ecotoxicológicos, se puede mencionar la facilidad con la que se realiza la prueba, su aplicación tanto *in situ* como *in vitro*, no se requiere muchos instrumentos, el costo de mantenimiento es mínimo, entre otros (Priac et al., 2017).

Los efectos agudos que mayormente se evalúan incluyen el índice de germinación y el crecimiento del hipocótilo y la raíz (Sobrero y Ronco, 2004), aunque también puede utilizarse la masa de ambas partes de la planta (USEPA, 2012).

2.5.3. *Vibrio fischeri*

Es una bacteria bioluminiscente que está incluida dentro de la familia *Vibrionaceae*. Puesto que es un organismo halofílico, puede ser encontrado en zonas costeras y océanos, además de hallarse adheridos sobre peces y calamares al hacer simbiosis. El crecimiento óptimo de las cepas se obtiene a una temperatura de 30°C, mientras que a 37°C dejan de aumentar (Farmer III y Hickman-Brenner, 2006).

Según Abbas et al. (2018), las pruebas con *V. fischeri* son preferibles ante otros tipos de bioensayos por su facilidad de aplicación, confiabilidad, reproducibilidad, alta sensibilidad, costo razonable y velocidad de análisis. Además, puede evaluarse matrices sólidas sin necesidad de alguna extracción previa. Los bioensayos se llevan a cabo a través de la medición de la bioluminiscencia emitida por esta bacteria (Kóvats et al., 2019).

2.6. Análisis de riesgo ecotoxicológico

Emmanuel et al. (2005) definen al análisis de riesgo ecotoxicológico como un subconjunto perteneciente al análisis de riesgos ecológico, siendo incluso considerados como iguales. El análisis consiste en la evaluación de la tendencia de uno o más contaminantes a generar toxicidad en un ecosistema.

La caracterización de efectos y la de exposición son los principales elementos del análisis de riesgo, pues permiten desarrollar las tres fases del proceso USEPA (1998), las cuales se especifican a continuación.

2.6.1. Formulación del problema

Es el inicio del análisis de riesgos, etapa en la cual se generan suposiciones respecto a la posible causa de un efecto ecológico ocurrido o que pueda ocurrir a partir de contaminantes de actividades humanas (Emmanuel et al., 2005).

2.6.2. Fase de análisis

En esta fase se determina la exposición y el efecto de los contaminantes, además de la relación entre estos y los ecosistemas (Emmanuel et al., 2005).

2.6.3. Caracterización del riesgo

Fase final del análisis de riesgos que puede desarrollarse desde un enfoque determinístico o uno probabilístico. La diferencia radica en que el primero utiliza un Cociente de Riesgo, el cual se calcula a partir de la concentración ambiental estimada del contaminante y la toxicidad (CL_{50} , CE_{25} , NOAEC, etc.) de cada individuo sometido al contaminante de interés. Por otro lado, el enfoque probabilístico realiza la caracterización a partir de factores de incertidumbre que puedan influir en el riesgo (USEPA, 2017a).

III. METODOLOGÍA

3.1. Muestreo

Como descripción general, toda la fase de muestreo se realizó tomando como referencia la NTP 214.060:2016 (Instituto Nacional de Calidad [INACAL], 2016).

3.1.1. Área de estudio

La zona de investigación fue la planta piloto de tratamiento de aguas residuales porcinas, la cual trata los residuos líquidos provenientes de la Unidad Experimental de Cerdos, perteneciente a la Facultad de Zootecnia – Universidad Nacional Agraria La Molina (ver el Anexo 1). En la Figura 3 se puede visualizar los procesos unitarios que se utilizan en el tratamiento de las aguas residuales porcinas y la ubicación de los puntos a partir de los cuales se recolectaron las muestras.

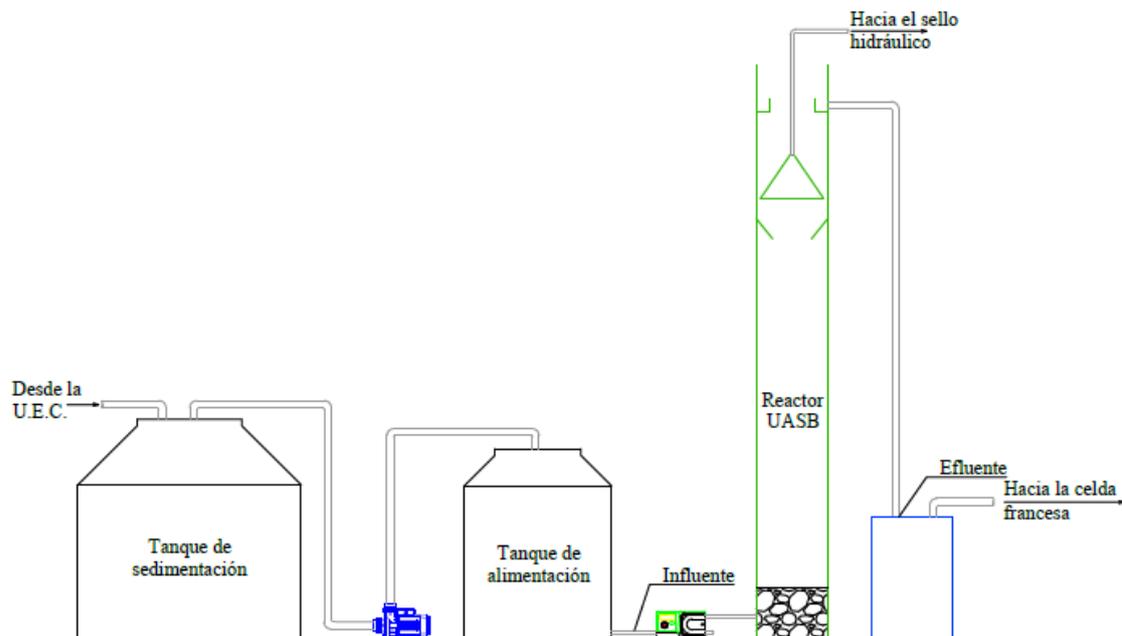


Figura 3: Recorrido del agua residual porcina a través de la PTAR piloto y puntos de muestreo

El primer punto elegido fue a la salida del tanque de alimentación y el segundo se ubicó en el tanque de recolección del agua procesada por el reactor UASB.

3.1.2. Medición de caudales

La determinación de caudales de ambos puntos se realizó mediante el Método Volumétrico indicado en la NTP 216.060:2016 (INACAL, 2016). Se recolectó el agua en un barril de 15 litros durante una hora y se midió con en uso de una probeta de litro. Esta acción se repitió tres veces por cada punto con el objetivo de determinar el caudal promedio. La fórmula para calcular los caudales se presenta a continuación.

$$Q = \frac{V}{T}$$

Donde:

- Q: Caudal en m³/h
- V: Volumen en m³
- T: Tiempo en horas

3.1.3. Tipo y frecuencia de muestreo

Las muestras fueron del tipo puntual, siendo recolectadas a las 9:00 am los días que se iniciaba un bioensayo y, en el caso de la prueba crónica con *D. magna*, la frecuencia fue de manera interdiaria.

3.1.4. Parámetros fisicoquímicos

Se midieron parámetros *in situ* cuando recolectaban las muestras, siguiendo los métodos estandarizados de la American Public Health Association [APHA] (1999). Estos parámetros se señalan a continuación (ver Tabla 8).

Tabla 8: Parámetros *in situ* tomados en cuenta

| Parámetro | Metodología |
|------------------|--|
| pH | Standard methods N° 4500 H ⁺ B – APHA |
| Temperatura | Standard methods N° 2550 B – APHA |
| Conductividad | Standard methods N° 2510 – APHA |
| Turbidez | Standard methods N° 2130 B – APHA |

Respecto a los parámetros exigidos por los VMA, se decidió no realizar su caracterización debido a que actualmente se cuentan con estudios realizados sobre el agua residual de la granja de cerdos, tanto a la entrada como a la salida del reactor UASB (algunos indicados en el capítulo 2).

3.2. Diseño experimental

En todos los bioensayos, el tipo de diseño experimental utilizado fue el Diseño Completamente al Azar (D. C. A.) tanto como para el influente como el efluente.

3.2.1. Factor

Para todas las pruebas se tuvo como variable independiente las diluciones del influente y efluente (por separado), expresadas en porcentaje.

3.2.2. Tratamiento

Los tratamientos elegidos varían en relación al bioensayo elegido, previa prueba de rango.

- *D. magna* (aguda): 0; 1,5; 3; 4,5; 6; 7,5; 9; 10,5 y 12 por ciento.
- *L. sativa*: 0; 1; 3; 6,25; 12,5; 25; 50 y 100 por ciento.
- *V. fischeri*: 0; 0,01; 0,1; 1; 10 y 100 por ciento.
- *D. magna* (crónica): 0; 1,5; 3; 4,5; 6 y 7,5 por ciento.

3.2.3. Unidad experimental

Del mismo modo que el caso de los tratamientos, las unidades experimentales varían respecto al bioensayo.

- *D. magna* (aguda): Tubo de ensayo con 10 *D. magna*.
- *L. sativa*: Placa Petri con 20 semillas de *L. sativa*.
- *V. fischeri*: Tubo de ensayo con *V. fischeri*
- *D. magna* (crónica): Tubo de ensayo con cinco *D. magna*.

3.2.4. Variable respuesta

Las características evaluadas dependieron de la prueba desarrollada.

- *D. magna* (aguda): Porcentaje de mortalidad.
- *L. sativa*: Se contaron con tres variables: Inhibición de la germinación, del crecimiento de hipocótilo y del crecimiento de raíz (expresados en porcentaje).
- *V. fischeri*: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia.
- *D. magna* (crónica): Porcentaje de mortalidad y relación de reproducción.

3.3. Bioensayos

Esta fase se llevó a cabo en el Laboratorio de Tesis del Departamento Académico de Química utilizando muestras del influente y efluente recolectadas el mismo día de inicio de las pruebas con el fin de evitar la degradación de los contaminantes del agua. Respecto a las pruebas estadísticas. La metodología seguida en cada experimento se describe en los siguientes ítems.

3.3.1. Prueba aguda con *Daphnia magna*

a. Materiales

- Cepa de *D. magna*
- Balde de 5 litros
- Agua de estanque
- Luces LED blancas
- Temporizador
- Colador
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas
- Propipetas
- Papel filtro
- Bomba de succión
- Matraz kitazato
- Embudos

b. Métodos

El desarrollo de esta prueba se realizó en base al protocolo OCSPP 850.1010 de la USEPA (2016a). Para ello, los dáfidos, adquiridos en el Acuario Neptuno de San Borja, fueron aclimatados por 14 días en su medio control, el cual consistió en agua del estanque ubicado frente al Auditorio Principal de la UNALM (ver Figura 4).



Figura 4: Estanque con el medio adecuado para la *D. magna*

Para el mantenimiento de los individuos, se cambiaba el medio control tres veces por semana, previa filtración de agua. Como se puede observar en la Figura 5, el tiempo de iluminación en el medio control fue controlado mediante un temporizador, la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo constante durante la duración de la prueba gracias a una bomba de oxigenación y la temperatura del agua presentó una baja variación debido a la ubicación del recipiente en un lugar sin exposición directa de la luz natural y con una adecuada ventilación.



Figura 5: Acondicionamiento de *D. magna*

Luego del tiempo de acondicionamiento, se preparó las diluciones de las muestras (previa filtración) cuyas concentraciones fueron de 0 (control negativo); 1,5; 3; 4,5; 6; 7,5; 9; 10,5 y 12 por ciento tanto para el influente como el efluente. A partir de estas soluciones, se colocaron 15 ml de cada una en tubos de ensayo y se hicieron cuatro repeticiones por cada dilución.

Inmediatamente después de que los tubos de ensayo estuviesen listos con sus respectivas diluciones, los individuos pasaron por un colador de orificios de 1 mm de diámetro con el objetivo de separar los neonatos de los adultos. De este grupo de neonatos, se colocaron 10 individuos en cada tubo, teniendo el mayor cuidado para no diluir las concentraciones.

Finalmente, las gradillas con los tubos de ensayo se colocaron en el mismo ambiente en el que se encontraba el medio control (como en la Figura 5). Al cabo de 24 y 48 horas, se contabilizaron los dáfidos muertos. Para determinar la CL_{50} , los resultados fueron procesados con el software “R” por medio del paquete estadístico “drc” (función no lineal tipo log-logística LL.2), creado por Stribig y Ritz (2010).

3.3.2. Prueba aguda con *Lactuca sativa*

a. Materiales

- Semillas de *L. sativa*
- Solución hidropónica
- Papel filtro Whatman N° 3
- Placas petri
- Bolsas de plástico
- Regla
- Pipetas
- Propipetas
- Pinzas

b. Métodos

Sobrero y Ronco (2004) indican el procedimiento para determinar la toxicidad en *Lactuca sativa*, el cual fue usado en esta investigación. El tipo de semilla utilizado fue de lechuga romana, pues esta especie germina en cualquier época del año, mientras que el agua del grupo control consistió en una solución hidropónica. Tanto las semillas como la solución

fueron adquiridas en el Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la UNALM.

Las diluciones preparadas para este test fueron de 0 (control negativo); 1; 3; 6,25; 12,5; 25; 50 y 100 por ciento de ambas muestras. Posteriormente, se procedió a humedecer los filtros de las placas petri con 3 ml de su respectiva dilución, teniendo tres repeticiones por cada concentración. Inmediatamente después, se colocaron 20 semillas en cada placa, distribuyéndolas uniformemente. Las placas fueron envueltas en bolsas de plástico con el fin de evitar la evaporización del agua y se almacenaron en oscuridad (ver Figura 6).



Figura 6: Almacenamiento de las placas petri con las semillas de *L. sativa*

Al cabo de 120 horas (cinco días) de iniciado el experimento, se contabilizaron las semillas germinadas (ver Figura 7) y se midieron las raíces e hipocótilos. Los resultados fueron procesados con el software “R” y su paquete estadístico “drc” (Stribig y Ritz, 2010), utilizando específicamente la función no lineal tipo log-logística LL.2 para la determinación de las CE_{25} , CE_{50} y CE_{75} de la inhibición de germinación y la inhibición del crecimiento de la raíz y del hipocótilo.



Figura 7: Germinación de *L. sativa* después de 120 horas de exposición a las diluciones

3.3.3. Prueba aguda con *Vibrio fischeri*

a. Materiales

- BioTox Evo Kit
- Tubos de ensayo PS 12x75
- Gradillas
- Agitador magnético
- Magneto
- Luminómetro
- Micropipetas
- Tips
- Filtros Embudo

b. Métodos

La guía empleada en esta prueba fue la ISO 11348-3:2007 de la International Organization for Standardization [ISO] (2007). Por ello, se adquirió el BioTox™ 1243-500 WaterTox™ Evolution Kit de la empresa canadiense Environmental Bio-detection Products inc. (ebpi).

El control negativo consistió en una solución de cloruro de sodio al dos por ciento, a partir del cual se prepararon diversas concentraciones (0; 0,01; 0,1; 1; 10 y 100 por ciento) en tubos de ensayo tipo PS, teniendo tres repeticiones por dilución. La reconstitución de la bacteria y la lectura de su bioluminiscencia (ver Figura 8) se realizaron en la Universidad de Lima.



Figura 8: Lectura de bioluminiscencia del *Vibrio fischeri* en el luminómetro

La bioluminiscencia se midió en RLU (del inglés Relative Light Units) en el momento en el que el *V. fischeri* entró en contacto con la dilución correspondiente, al igual que 30 minutos después. Debido a que la disminución de la característica evaluada disminuye de forma natural a través del tiempo, se aplica la fórmula de corrección que se muestra a continuación.

$$\%INH = 100 - 100 * \frac{IT_t}{KF * IT_0}$$

$$KF = \frac{IC_t}{IC_f}$$

Donde:

- %INH: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia
- IT_t : Intensidad de luminiscencia, en RLU, después de un tiempo “t” de exposición
- IT_0 : Intensidad de luminiscencia, en RLU, al inicio del test
- KF: Coeficiente de corrección
- IC_t : Intensidad del control negativo, en RLU, en el tiempo “t”
- IC_0 : Intensidad del control negativo, en RLU, al inicio del test

Los resultados, del mismo modo que con los bioensayos mencionados con anterioridad, fueron procesados con el paquete estadístico “drc” de Stribig y Ritz (2010) para el software “R”, usando la función no lineal del tipo LL.2 para el cálculo de la CE_{50} .

3.3.4. Prueba crónica con *Daphnia magna*

a. Materiales

- Cepa de *D. magna*
- Balde de 5 litros
- Agua de estanque
- Luces LED blancas
- Temporizador
- Colador
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas

- Propipetas
- Papel filtro
- Bomba de succión
- Matraz kitazato
- Embudos

b. Métodos

Esta prueba se desarrolló en base al protocolo OCSPP 850.1300 de la USEPA (2016b). El procedimiento es el mismo que el de la prueba aguda; sin embargo, la diferencia radica en la duración del bioensayo, el cual es de 21 días; por ello, de manera interdiaria, se realizaba el cambio de agua de cada tubo de ensayo con diluciones provenientes de muestras extraídas el mismo día de la renovación.

Las diluciones preparadas en esta prueba fueron de 1,5; 3; 4,5; 6 y 7,5 por ciento, además de incluir el control negativo. También debe mencionarse que se usaron cinco individuos por tubo de ensayo, con la finalidad de facilitar la renovación del agua. Al usar menos dáfidos, también se modificó el volumen de agua usado, el cual cambió de 15 a 10 ml.

Cada día que se cambiaba el agua, se cuantificaba la cantidad de sobrevivientes para determinar sus NEC y CL₅₀ con el mismo procesamiento estadístico que en la prueba aguda. Por otro lado, se tomó en cuenta el día en que se inició la reproducción y, a partir de ese momento, se llevó la cuenta de los nacimientos por individuo por día.

3.4. Caracterización de riesgos

Con los resultados obtenidos a partir de los bioensayos, se calcularon tres tipos de coeficientes para cada muestra.

3.4.1. Unidades Tóxicas (UT)

El cálculo de las UT se desarrolló a partir de la fórmula brindada por Sprague, 1970, citado por Ginebreda et al. (2014), indicado líneas más abajo.

$$UT_i = \frac{c_i}{CE50_i}$$

Donde:

- UT_i : Unidades tóxicas del compuesto “i”
- c_i : Concentración del compuesto “i”
- $CE50_i$: Concentración efectiva media del compuesto “i”

3.4.2. Índice de Efecto Tóxico Potencial (IETP)

Para determinar la IETP, se utilizó la fórmula de Costan et al. (1993), la cual se muestra a continuación.

$$P = \log_{10} \left[1 + n \left(\frac{\sum_{i=1}^N UT_i}{N} \right) Q \right]$$

Donde:

- P: Valor numérico del IETP
- n: Cantidad de bioensayos que responden ante el tóxico
- N: Total de bioensayos realizados
- UT_i : Unidades tóxicas del “i-ésimo” bioensayo
- Q: Caudal del efluente en m^3/h

3.4.3. Cociente de Riesgo (CR)

La USEPA (2017) indica que existen dos diferentes enfoques para la caracterización del riesgo: El enfoque determinístico y el probabilístico. Este proyecto usó el primer enfoque mencionado, por lo que se usó la ecuación que se presenta a continuación.

$$CR = \frac{CAE}{Toxicidad}$$

Donde CR es el Cociente de Riesgo y CAE es la Concentración Ambiental Estimada. El valor de la toxicidad a usar varía según el individuo y el tipo de exposición evaluado como se muestran en las siguientes ecuaciones.

$$CR - Agudo_{Daphnia} = \frac{CAE}{CL_{50}}$$

$$CR - Crónico_{Daphnia} = \frac{CAE}{NOAEC}$$

$$CR_{Lactuca} = \frac{CAE}{CE_{25}}$$

Al no estar definido la toxicidad a usar con el *Vibrio fischeri*, se tomó en cuenta su CE₅₀. En el caso de la prueba crónica con *D. magna*, para esta investigación, el valor del NOAEC fue reemplazado por la NEC. Los motivos serán explicados en el siguiente capítulo.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Condiciones del reactor UASB

Pacco (2016) señaló que el reactor UASB que trata las aguas residuales de la granja de cerdos de la UNALM debe funcionar a un caudal de ingreso de 231 mL/min, por lo que desde que se realizó su investigación, el reactor ha estado funcionando con esas condiciones. Sin embargo, a pesar de que la bomba peristáltica indicaba el caudal señalado, era necesario medir el caudal real, pues siempre existe la posibilidad de una descalibración. La Tabla 9 contiene información sobre los volúmenes (en litros) y el tiempo transcurrido (en minutos) medidos en cada repetición a la entrada y salida del reactor UASB.

Tabla 9: Volúmenes medidos en litros de acuerdo al tiempo transcurrido en minutos del influente y efluente

| Muestra | R1 | | R2 | | R3 | |
|-----------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
| | Volumen | Tiempo | Volumen | Tiempo | Volumen | Tiempo |
| Influente | 13,67 | 60,207 | 13,70 | 60,550 | 13,68 | 60,365 |
| Efluente | 13,47 | 60,22 | 13,60 | 60,585 | 13,42 | 60,232 |

A partir de la información anterior, se logró calcular los caudales del influente y efluente. Estos valores, expresados como mL/min, pueden ser encontrados en la Tabla 10, donde se indican los caudales por repetición, promedios y desviaciones estándar. Adicionalmente, esta información fue usada para el cálculo del IETP (indicado secciones más adelante).

Tabla 10: Caudales en mL/min por repetición, promedios y desviación estándar de la entrada y salida del reactor UASB

| Muestra | R1 | R2 | R3 | Promedio | Desv. Est. |
|-----------|--------|--------|--------|----------|------------|
| Influente | 227,10 | 226,19 | 226,64 | 226,64 | 0,46 |
| Efluente | 223,69 | 224,48 | 222,81 | 223,66 | 0,84 |

La capacidad volumétrica del reactor UASB es de 1 m³, por lo que, en base al caudal de ingreso del agua residual, se pudo calcular el tiempo de retención hidráulica, siendo este de

3,07 días, mientras que, respecto a la velocidad ascensional, se obtuvo un valor de 0,052 m/h.

4.2. Bioensayos

4.2.1. Prueba aguda con *Daphnia magna*

A partir de una prueba de rango, se determinó usar con concentraciones de 1,5; 3,0; 4,5; 6,0; 7,5; 9,0; 10,5; y 12,0% de ambas muestras. La Tabla 11 y Tabla 12 señala los individuos inmovilizados en cada tubo de ensayo, teniendo en cuenta una cantidad de diez *D. magna* por tubo y cuatro repeticiones por concentración.

Tabla 11: Porcentaje de mortalidad de *D. magna* por concentración y repetición para el influente a las 24 y 48 horas de exposición

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 | Media | Desv. Est. |
|----------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|
| 24 horas | 0,00% | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,50 | 5,00 |
| | 1,50% | 20,00 | 50,00 | 100,00 | 80,00 | 62,50 | 35,00 |
| | 3,00% | 10,00 | 30,00 | 60,00 | 60,00 | 40,00 | 24,49 |
| | 4,50% | 10,00 | 50,00 | 40,00 | 90,00 | 47,50 | 33,04 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 80,00 | 95,00 | 10,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 9,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 10,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 12,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| 48 horas | 0,00% | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 5,00 | 5,77 |
| | 1,50% | 40,00 | 50,00 | 100,00 | 80,00 | 67,50 | 27,54 |
| | 3,00% | 20,00 | 30,00 | 60,00 | 60,00 | 42,50 | 20,62 |
| | 4,50% | 10,00 | 50,00 | 40,00 | 90,00 | 47,50 | 33,04 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 80,00 | 95,00 | 10,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 9,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 10,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 12,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

Tabla 12: Porcentaje de mortalidad de *D. magna* por concentración y repetición para el efluente a las 24 y 48 horas de exposición

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 | Media | Desv. Est. |
|----------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|
| 24 horas | 0,00% | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,50 | 5,00 |
| | 1,50% | 0,00 | 30,00 | 10,00 | 0,00 | 10,00 | 14,14 |
| | 3,00% | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 2,50 | 5,00 |
| | 4,50% | 20,00 | 20,00 | 80,00 | 0,00 | 30,00 | 34,64 |
| | 6,00% | 40,00 | 10,00 | 40,00 | 90,00 | 45,00 | 33,17 |
| | 7,50% | 70,00 | 80,00 | 100,00 | 100,00 | 87,50 | 15,00 |
| | 9,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 10,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 12,00% | 100,00 | 100,0 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| 48 horas | 0,00% | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 5,00 | 5,77 |
| | 1,50% | 0,00 | 40,00 | 10,00 | 0,00 | 12,50 | 18,93 |
| | 3,00% | 10,00 | 0,00 | 10,00 | 10,00 | 7,50 | 5,00 |
| | 4,50% | 20,00 | 20,00 | 80,00 | 0,00 | 30,00 | 34,64 |
| | 6,00% | 50,00 | 30,00 | 50,00 | 90,00 | 55,00 | 25,17 |
| | 7,50% | 70,00 | 80,00 | 100,00 | 100,00 | 87,50 | 15,00 |
| | 9,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 10,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 12,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

A partir de los datos anteriores, se puede observar que los promedios de la proporción de inmovilización en la concentración de 1,50 por ciento de las dos muestras no siguen la tendencia del resto, por lo que, al momento de procesar la información, no se incluyeron dentro de los cálculos de la concentración letal media.

La Figura 9 muestra el porcentaje de mortalidad de la *D. magna* en relación con el porcentaje de influente o de efluente presente en el medio al cual fueron sometidos los individuos. El gráfico también incluye los promedios y desviaciones estándar de cada dilución. Para una mejor visualización, se graficaron los resultados por separado de acuerdo con el tiempo transcurrido desde el inicio de la prueba.

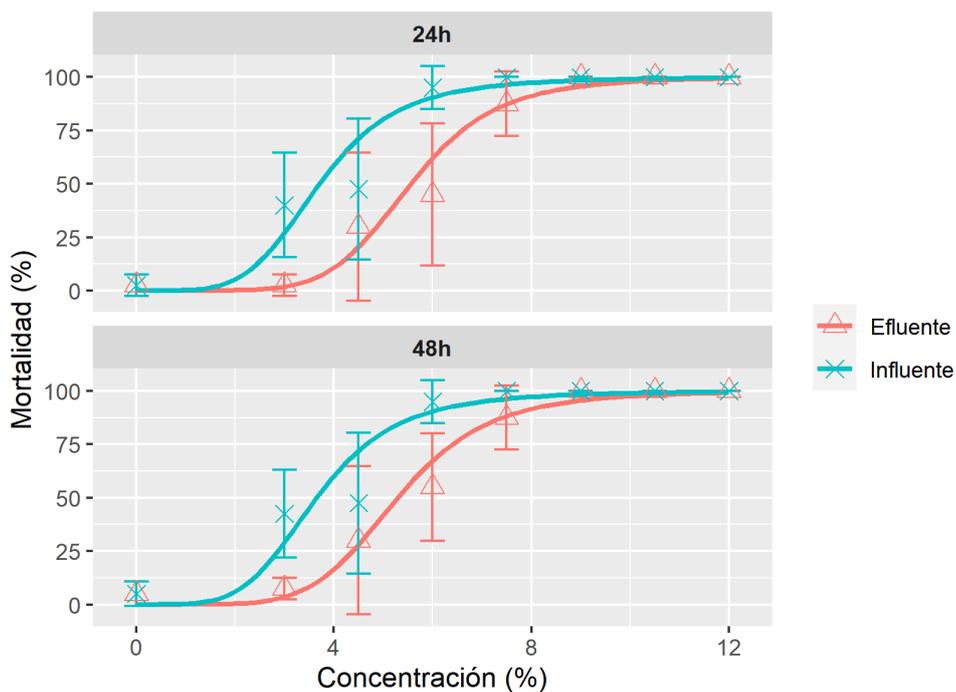


Figura 9: Mortalidad de la *D. magna* en porcentaje respecto a la concentración del influente y efluente, después de 24 y 48 horas

Se puede apreciar una diferencia en la toxicidad entre el influente y el efluente, siendo el primero el que produce efectos tóxicos mayores a la *D. magna* que el agua residual a la salida del reactor; sin embargo, no se observa una variación notoria en la toxicidad a las 24 y 48 horas. La variación entre las curvas del influente y efluente puede deberse a la reducción de la DBO, DQO, sólidos y aceites y grasas; no obstante, compuestos como el nitrógeno amoniacal, sulfuros, sulfatos, entre otros que no logran ser disminuidos eficientemente por el reactor UASB ocasionan que el efecto tóxico no sea reducido drásticamente.

Respecto a los resultados de las 24 y 48 horas, la USEPA (2016a) señala que el efecto agudo es considerado al finalizar las 48 horas, mas se puede llevar el conteo de individuos después de 24 horas de iniciada la prueba como una medida de control del bioensayo, pues, de no existir efecto adverso dentro de este primer periodo de tiempo, la prueba se anulaba y se tendría que hacer un reajuste en el rango de las diluciones.

El protocolo usado indica que, para una correcta evaluación de la ecotoxicidad sobre la *D. magna*, se debe determinar la concentración letal media de cada muestra. La Tabla 13 contiene los valores de CL_{50} , error estándar y los límites de confiabilidad (inferior y superior) respecto al tipo de muestra y al momento de contabilización, todo expresado en porcentaje.

Tabla 13: Concentración letal media de las muestras sobre *D. magna* a las 24 y 48 horas

| Muestra | Tiempo | CL ₅₀ (%) | Error estándar | LI (%) | LS (%) |
|------------|----------|----------------------|----------------|--------|--------|
| Influyente | 24 horas | 3,71 | 0,59 | 2,55 | 4,87 |
| | 48 horas | 3,65 | 0,60 | 2,47 | 4,84 |
| Efluente | 24 horas | 5,56 | 0,58 | 4,42 | 6,70 |
| | 48 horas | 5,30 | 0,60 | 4,12 | 6,47 |

Se determinó que la CL₅₀, a las 24 horas, es de 3,71 por ciento para el influente y 5,56 por ciento para el efluente, mientras que, a las 48 horas, los valores fueron de 3,65 y 5,30 por ciento para ambas muestras respectivamente, lo cual implica que, siguiendo la clasificación propuesta por Lobo et al., 2006, citados por Düpont y Lobo (2012) y Mohr y Lobo (2013), tanto el influente como el efluente estarían categorizados como extremadamente tóxicos. Si se compara la toxicidad de las muestras, se puede apreciar una reducción de un 33,27 por ciento con el tratamiento del reactor UASB al término del primer día, mientras que después del segundo día existe una disminución del 31,13 por ciento.

Villamar et al. (2012) realizaron una investigación sobre la toxicidad de aguas residuales porcinas en *D. magna*, obteniendo una CL₅₀ de 3,39 por ciento y determinando como principales causantes de la mortalidad de los individuos al amonio y al ión cloro. Del mismo modo, Villamar et al. (2014) utilizaron la misma metodología usada por Villamar et al. (2012) y trabajaron con el mismo tipo de muestra, considerando en esa ocasión, adicionalmente, el efluente que sale de un reactor UASB a escala de laboratorio, siendo las CL₅₀ 6,9 por ciento para el influente y 5,3 para el efluente, notándose un incremento en la toxicidad con el reactor UASB, concluyendo que el nitrógeno amoniacal era el principal responsable de la mortalidad.

Los estudios de Villamar et al. (2012) y Villamar et al. (2014) muestran resultados muy similares a los de esta investigación; sin embargo, cabe señalar que las granjas con las que trabajaron utilizaban agua potable en sus actividades diarias, por lo que pudieron medir la concentración de cloro en el agua (1230 ppm a la entrada y 815,4 ppm a la salida del reactor UASB). Por otro lado, la granja de la UNALM usa agua subterránea sin tratamiento, por lo que no existe presencia de este ión; sin embargo, sí se observa grandes concentraciones de potasio, calcio y magnesio, los cuales podrían causar una toxicidad similar a la originada por el cloro.

4.2.2. Prueba aguda con *Lactuca sativa*

La fase experimental con *L. sativa* se desarrolló en base a la metodología descrita en el capítulo anterior, resaltando que la prueba se realizó por triplicado. Una de las características tomada en cuenta fue el porcentaje de inhibición en la germinación de la *L. sativa* en relación a la dilución de cada una de las muestras. Estos resultados se encuentran en la Tabla 14, la cual también incluye el promedio de inhibición por dilución, así como su desviación estándar.

Tabla 14: Porcentajes de inhibición de la germinación sobre la *L. sativa* por repetición para el influente y el efluente

| Muestra | Concentración | R1 | R2 | R3 | Media | Desv. Est. |
|-----------|---------------|--------|--------|--------|--------|------------|
| Influente | 0,00% | 5,00 | 10,00 | 0,00 | 5,00 | 5,00 |
| | 1,00% | 15,00 | 10,00 | 0,00 | 8,33 | 7,64 |
| | 3,00% | 15,00 | 5,00 | 10,00 | 10,00 | 5,00 |
| | 6,25% | 10,00 | 25,00 | 15,00 | 16,67 | 7,64 |
| | 12,50% | 20,00 | 10,00 | 10,00 | 13,33 | 5,77 |
| | 25,00% | 45,00 | 20,00 | 40,00 | 35,00 | 13,23 |
| | 50,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 100,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Efluente | 0,00% | 5,00 | 10,00 | 0,00 | 5,00 | 5,00 |
| | 1,00% | 5,00 | 25,00 | 5,00 | 11,67 | 11,55 |
| | 3,00% | 10,00 | 15,00 | 5,00 | 10,00 | 5,00 |
| | 6,25% | 20,00 | 30,00 | 10,00 | 20,00 | 10,00 |
| | 12,50% | 5,00 | 15,00 | 5,00 | 8,33 | 5,77 |
| | 25,00% | 30,00 | 25,00 | 45,00 | 33,33 | 10,41 |
| | 50,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 100,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

En la tabla anterior se puede apreciar la inhibición en la germinación sobre el cinco por ciento de las semillas del grupo control, lo que se explica por la variabilidad en el nivel de resistencia de cada individuo por más que pertenezcan a una misma especie. La Tabla 14 también muestra que tanto el influente como el efluente impiden la germinación de la *L. sativa* a partir de diluciones superiores o iguales a 50 por ciento.

Los resultados de la Tabla 14 fueron procesados estadísticamente con la finalidad de poder conseguir la curva concentración-respuesta para ambas muestras, la cual se encuentra graficada en la Figura 10 presentada a continuación.

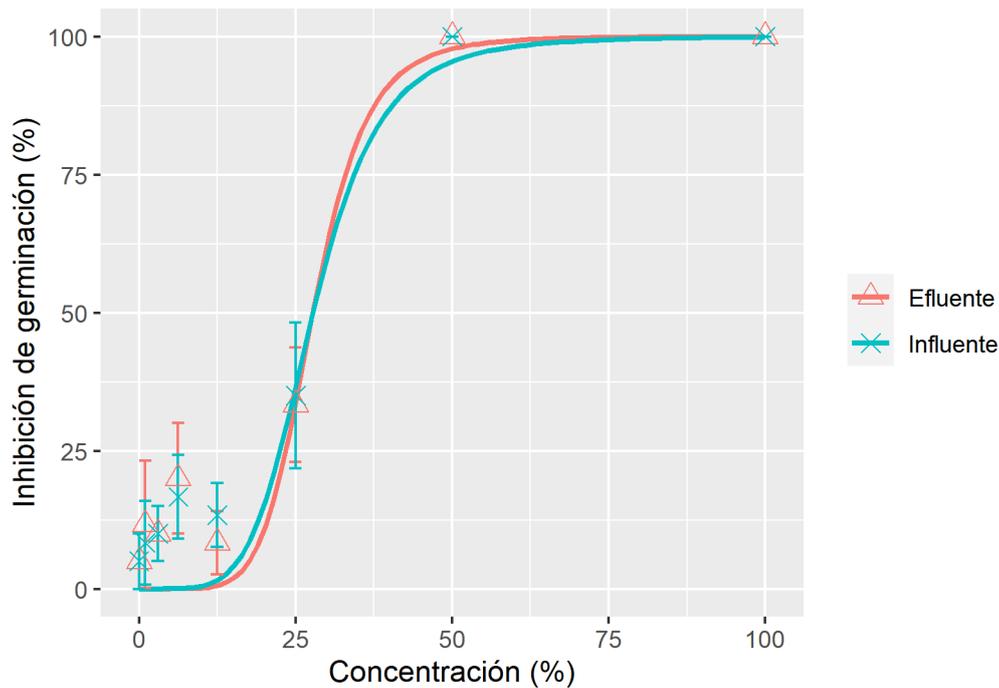


Figura 10: Inhibición de la germinación de la *L. sativa* respecto a la concentración del influente y efluente

En la figura se observa que las respuestas de germinación ante el sometimiento de cada muestra son muy semejantes y la ligera diferencia se puede apreciar en la pendiente, la cual es mayor para el efluente. Esto implica que, ante una pequeña variación en la dilución del efluente, será mayor la cantidad de semillas no germinadas en comparación a las sometidas al influente. Además de lo mencionado, se puede notar que el influente empieza a causar un daño en la semilla con la muestra un poco más diluida que con el efluente.

Respecto a la germinación de las diluciones menores a 25 por ciento, la Figura 10 también muestra una tendencia de aumento en la inhibición, sin mantener uniformidad. Esto podría deberse a que al inicio de la prueba no se realizó la selección de las semillas de acuerdo a su tamaño, por lo que se presentó ese número de individuos no germinados.

Para una evaluación más precisa, se realizó el cálculo de las CE_{25} , CE_{50} y CE_{75} del influente y efluente respecto a la inhibición en la germinación de la *L. sativa* después de un tiempo de 120 horas, valores que están presentes en la Tabla 15, la cual también incluye el error estándar de cada concentración efectiva, así como su rango de confiabilidad.

Tabla 15: Concentración efectiva 25; 50 y 75 de la germinación de la *L. sativa*

| Muestra | x | CE _x (%) | Error estándar | LI (%) | LS (%) |
|-----------|----|---------------------|----------------|--------|--------|
| Influente | 25 | 22,49 | 2,25 | 17,95 | 27,02 |
| | 50 | 27,78 | 1,58 | 24,60 | 30,95 |
| | 75 | 34,32 | 4,69 | 24,86 | 43,78 |
| Efluente | 25 | 23,41 | 1,77 | 19,84 | 26,97 |
| | 50 | 27,76 | 2,13 | 23,46 | 32,05 |
| | 75 | 32,91 | 6,26 | 20,29 | 45,53 |

Del mismo modo que en el caso de la *D. magna*, para la parte estadística se recomienda realizar la prueba del “Probit”; no obstante, al igual que el bioensayo anterior, los datos obtenidos no cumplían con la normalidad de errores ni con la homogeneidad de varianzas, por esta razón, los resultados obtenidos por medio del “Probit” no poseen el soporte estadístico necesario para garantizar su confiabilidad.

Como se aprecia en la Tabla 15, la CE₅₀ del influente es 27,78 por ciento, siendo muy similar al obtenido del efluente, el cual es 27,76 por ciento. Tavares et al. (2018) realizaron una investigación sobre la fitotoxicidad de lodos de una PTAR y de los residuos tratados por vermicompostaje (ambos casos menos tóxicos que las muestras de esta investigación), por lo que determinaron que el principal causante de la inhibición en la germinación de la lechuga es la elevada concentración de materia orgánica, pues, según estos autores, daña la capa protectora de la semilla (conocida como tegumento), ocasionando que otros contaminantes presentes en la matriz tengan contacto directo con el embrión, impidiendo así que la planta logre germinar.

Por otro lado, Tam y Tiquia (1994) evaluaron la toxicidad de residuos porcinos sobre semillas de diferentes especies (incluyendo la *L. sativa*) y concluyeron que, si bien la matriz evaluada es compleja por la gran variedad de compuestos presentes, el principal contaminante que inhibe la germinación es el cobre ya que este, junto con el zinc, se encuentra en mayor concentración en este tipo de residuos que en los originados de otros tipos de animales.

En este estudio, con diluciones iguales o superiores al 50 por ciento, ninguna semilla logra germinar, por lo que se podría asumir (en base a otras investigaciones) que el responsable es

la elevada concentración de materia orgánica en ambas muestras; sin embargo, con diluciones de 25 por ciento o inferiores, la materia orgánica ya no es el principal causante de la toxicidad, sino lo es el cobre.

Además de contabilizar las semillas germinadas, el desarrollo del bioensayo también consideró el crecimiento del hipocótilo y de la raíz, luego de 120 horas de iniciada la prueba. La Tabla 16 contiene los porcentajes de inhibición del crecimiento del hipocótilo, mientras que la Tabla 17 indica los porcentajes de inhibición del crecimiento de la raíz. En ambos casos se toma en cuenta el promedio de los porcentajes por cada dilución, así como cada desviación estándar.

Tabla 16: Porcentaje inhibición del crecimiento sobre el hipocótilo de *L. sativa* por cada repetición respecto al influente y efluente

| Muestra | Concentración | R1 | R2 | R3 | Media | Desv. Est. |
|----------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|-------------------|
| Influente | 0,00% | 1,39 | -4,65 | 3,27 | 0,00 | 4,14 |
| | 1,00% | 4,46 | 12,88 | 10,65 | 9,33 | 4,36 |
| | 3,00% | 19,14 | 15,06 | 1,85 | 12,01 | 9,04 |
| | 6,25% | -8,33 | 23,97 | 13,45 | 9,70 | 16,47 |
| | 12,50% | 69,77 | 56,16 | 62,38 | 62,77 | 6,81 |
| | 25,00% | 85,19 | 80,27 | 81,33 | 82,26 | 2,59 |
| | 50,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 100,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Efluente | 0,00% | 1,39 | -4,65 | 3,27 | 0,00 | 4,14 |
| | 1,00% | 10,23 | -1,15 | 13,18 | 7,42 | 7,57 |
| | 3,00% | -6,07 | 8,36 | -2,09 | 0,06 | 7,45 |
| | 6,25% | 16,31 | 3,99 | 19,10 | 13,14 | 8,04 |
| | 12,50% | 45,87 | 57,17 | 54,45 | 52,50 | 5,90 |
| | 25,00% | 88,00 | 85,40 | 85,65 | 86,35 | 1,43 |
| | 50,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 100,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

Tabla 17: Porcentaje de inhibición del crecimiento sobre la raíz de *L. sativa* por cada repetición respecto al influente y efluente

| Muestra | Concentración | R1 | R2 | R3 | Media | Desv. Est. |
|-----------|---------------|--------|--------|--------|--------|------------|
| Influente | 0,00% | -0,77 | 1,42 | -0,65 | 0,00 | 1,23 |
| | 1,00% | -10,98 | 4,54 | -1,35 | -2,60 | 7,83 |
| | 3,00% | 8,41 | 4,76 | -2,87 | 3,44 | 5,75 |
| | 6,25% | -17,67 | 12,56 | 5,11 | 0,00 | 15,75 |
| | 12,50% | 78,08 | 59,87 | 71,95 | 69,96 | 9,27 |
| | 25,00% | 94,90 | 89,48 | 94,74 | 93,04 | 3,08 |
| | 50,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 100,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Efluente | 0,00% | -0,77 | 1,42 | -0,65 | 0,00 | 1,23 |
| | 1,00% | 6,24 | -3,80 | 10,67 | 4,37 | 7,41 |
| | 3,00% | -16,11 | 4,70 | -8,53 | -6,65 | 10,53 |
| | 6,25% | 11,89 | -3,20 | 2,59 | 3,76 | 7,61 |
| | 12,50% | 49,80 | 54,21 | 61,61 | 55,20 | 5,97 |
| | 25,00% | 87,98 | 95,79 | 94,26 | 92,68 | 4,14 |
| | 50,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 100,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

A diferencia de las pruebas anteriores donde se evaluaron la mortalidad de la *D. magna* y la inhibición de la germinación de la *L. sativa*, los porcentajes de inhibición del crecimiento del hipocótilo y de la raíz muestran resultados negativos. Esto se debe a que existe la posibilidad que el crecimiento con cualquier dilución sea mayor al del grupo control (potencial hormesis), en cambio, en el caso de la mortalidad o de la germinación, las únicas opciones son que el individuo viva o no, lo que implica que no aparecerá más individuos que los se utilizaron inicialmente.

En los cálculos para los porcentajes mostrados en las Tabla 16 y Tabla 17 solo se tomaron en cuenta las mediciones de las semillas germinadas, es decir, no se consideraron las semillas no germinadas como cero; no obstante, en el caso de las diluciones de 50 y 100 por ciento, se asumió un crecimiento de cero milímetros debido a que no germinó ninguna semilla a esas concentraciones.

La Figura 11 grafica las curvas concentración-respuesta respecto a la inhibición del crecimiento del hipocótilo y la raíz, teniendo en cuenta el tipo de muestra con el que se trabajó.

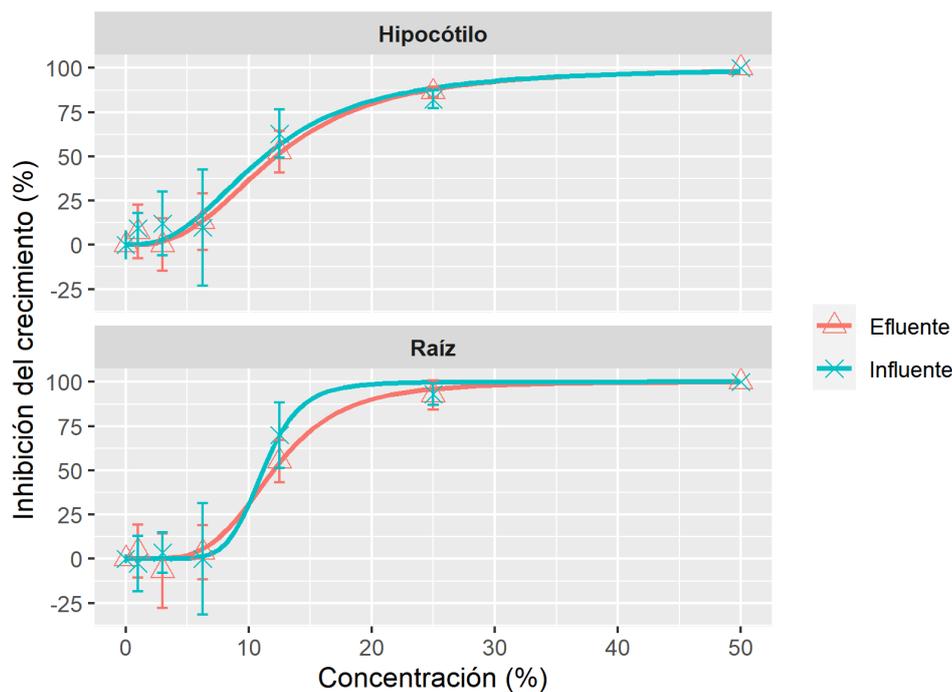


Figura 11: Porcentaje de inhibición del crecimiento del hipocótilo y la raíz en relación a las concentraciones del influente y el efluente

La figura anterior contiene, en primer lugar, la evolución del hipocótilo de la *L. sativa* en relación a la concentración de cada muestra. Se puede observar que la tendencia de la inhibición del crecimiento del hipocótilo es muy similar en ambas muestras; sin embargo, la respuesta de los individuos sometidos al influente se presenta a concentraciones ligeramente menores que en el caso del efluente.

Respecto a la inhibición del crecimiento de la raíz de la *L. sativa*, existe una variación en la pendiente de las curvas concentración-respuesta, siendo más pronunciada la del influente. Esto significa que, ante una misma variación en la concentración de cada muestra, el tamaño de la raíz variará en mayor proporción con el agua residual sin tratar respecto a la tratada por el reactor UASB.

Adicionalmente, en la Figura 11 se puede apreciar un ligero efecto positivo en el crecimiento de ambas partes de la lechuga (expresado como inhibición negativa), lo cual podría ser interpretado como hormesis; no obstante, para considerarlo como tal, es necesario que la media de al menos una dilución sea superior al 30 por ciento del grupo control (Chapman, 2002). En este caso, a causa de que la inhibición del grupo control es considerada como 0 por ciento, la hormesis debería expresarse con un porcentaje inferior a -30 por ciento, cifra que no se muestra en la figura anterior.

Al igual que en el caso de la germinación, se calcularon las CE_{25} , CE_{50} y CE_{75} correspondientes al influente y el efluente, obteniéndose los valores evaluados en el hipocótilo y la raíz en las Tabla 18 y Tabla 19 respectivamente, además de incluirse sus errores estándar y sus límites de confiabilidad (inferior y superior).

Tabla 18: Concentración efectiva de la inhibición del crecimiento del hipocótilo de la *L. sativa*

| Muestra | x | CE_x (%) | Error estándar | LI (%) | LS (%) |
|----------------|----------|---------------------------|-----------------------|---------------|---------------|
| Influente | 25 | 7,39 | 0,72 | 5,89 | 8,89 |
| | 50 | 11,27 | 0,74 | 9,74 | 12,81 |
| | 75 | 17,21 | 1,84 | 13,39 | 21,02 |
| Efluente | 25 | 8,21 | 0,44 | 7,30 | 9,13 |
| | 50 | 12,20 | 0,47 | 11,23 | 13,17 |
| | 75 | 18,13 | 0,99 | 16,08 | 20,18 |

Tabla 19: Concentración efectiva de la inhibición del crecimiento de la raíz de la *L. sativa*

| Muestra | x | CE_x (%) | Error estándar | LI (%) | LS (%) |
|----------------|----------|---------------------------|-----------------------|---------------|---------------|
| Influente | 25 | 9,64 | 1,53 | 6,47 | 12,80 |
| | 50 | 11,17 | 0,78 | 9,55 | 12,79 |
| | 75 | 12,95 | 0,48 | 11,96 | 13,93 |
| Efluente | 25 | 9,33 | 0,51 | 8,28 | 10,38 |
| | 50 | 12,02 | 0,38 | 11,24 | 12,80 |
| | 75 | 15,48 | 0,83 | 13,75 | 17,21 |

En base a la información de la Tabla 18, la concentración efectiva media respecto al perjuicio sobre el crecimiento del hipocótilo ocurre a un 11,27 por ciento para el caso del influente, mientras que resulta un valor de 12,20 por ciento para el efluente. En otras palabras, la eficiencia del reactor UASB para reducir la toxicidad sobre el crecimiento del hipocótilo solamente es de 7,62 por ciento.

Por otra parte, los resultados obtenidos sobre la CE_{50} respecto a la inhibición del crecimiento de la raíz, indicados en la Tabla 19, fueron similares a los obtenidos en la Tabla 18,

presentando valores de 11,17 por ciento para el influente y 12,02 en el efluente. Con esta información se pudo determinar que la eficiencia del reactor UASB para la reducción de la toxicidad sobre el crecimiento de la raíz es de 7,07 por ciento.

Diversos estudios han investigado la toxicidad de diversos efluentes sobre la lechuga. Por ejemplo, Gerber et al. (2017) evaluaron el efecto negativo causado por las aguas residuales de un matadero de cerdos, tanto a la entrada como a la salida de un sistema de tratamiento, obteniendo como resultado un crecimiento del 46,8 por ciento de la raíz con el agua sin tratar (al 100 por ciento) a lo cual se le atribuyó como principal causante de la toxicidad al nitrógeno orgánico. Los resultados del influente de esta investigación difieren enormemente con los de Gerber et al. (2017), pues a partir de una dilución del 50 por ciento del influente, el crecimiento de la raíz es cero por ciento. Esta diferencia radica en la concentración de contaminantes en cada muestra ya que, por ejemplo, Gerber et al. (2017) indican que la concentración de NTK en el influente fue de 96,9 mgN/L, mientras que Pacco (2016) señala que el influente de la granja de cerdos de la UNALM fue de 940 mg/L.

Keller et al. (2005) investigaron la toxicidad ocasionada por las aguas residuales domésticas tratadas de tres formas: Tratamiento secundario, tratamiento terciario irradiado con UV y tratamiento con un reactor UASB. Respecto al reactor UASB, los autores observaron una notable disminución en el peso de las lechugas, por lo que señalaron como principal responsable al nitrógeno, pues el reactor UASB no es eficiente en la remoción de este contaminante.

Adicionalmente, Keller et al. (2005) también señalaron una influencia indirecta de la cantidad de materia orgánica y patógenos especialmente sobre la toxicidad en la raíz, pues, según ellos, la materia orgánica provee una gran superficie para el crecimiento bacteriano, ocasionando que los patógenos se concentren en la zona de la raíz y, de este modo, infrinjan cierto perjuicio sobre la planta.

4.2.3. Prueba aguda con *Vibrio fischeri*

El ensayo de toxicidad con *V. fischeri* se realizó por triplicado, considerando diluciones de 0,01; 0,1; 1, 10 y 100 por ciento para el influente y el efluente. La Tabla 20 contiene la inhibición de la bioluminiscencia, expresada como porcentaje, por repetición y dilución, además de incluir el promedio por concentración y su desviación estándar.

Tabla 20: Inhibición de bioluminiscencia, en porcentaje, por cada repetición, en relación al tipo de muestra

| Muestra | Concentración | R1 | R2 | R3 | Media | Desv. Est. |
|-----------|---------------|-------|-------|-------|-------|------------|
| Influente | 0,00% | -1,22 | -1,00 | 2,18 | 0,00 | 1,90 |
| | 0.01% | 6,29 | 4,25 | 3,66 | 4,73 | 1,38 |
| | 0.10% | 9,37 | 8,46 | 4,93 | 7,59 | 2,34 |
| | 1.00% | 7,77 | 4,16 | 6,11 | 6,01 | 1,80 |
| | 10.00% | 48,78 | 47,35 | 48,08 | 48,07 | 0,71 |
| | 100,00% | 90,73 | 92,18 | 91,66 | 91,52 | 0,74 |
| Efluente | 0,00% | -1,22 | -1,00 | 2,18 | 0,00 | 1,90 |
| | 0.01% | 1,32 | -0,10 | 0,06 | 0,43 | 0,78 |
| | 0.10% | -0,53 | 1,54 | 1,45 | 0,82 | 1,17 |
| | 1.00% | -1,88 | -1,32 | -0,98 | -1,39 | 0,45 |
| | 10.00% | 50,59 | 48,81 | 56,24 | 51,88 | 3,88 |
| | 100,00% | 99,93 | 99,96 | 99,94 | 99,94 | 0,02 |

Tal como ocurrió con el crecimiento del hipocótilo y la raíz de la *L. sativa*, la Tabla 20 también presenta resultados de valores negativos, pues es posible que la sustancia aplicada incentive la emisión de luz del *V. fischeri*, superando incluso el valor obtenido del grupo control. El promedio de inhibición del efluente al uno por ciento fue el único valor negativo registrado, mas no puede ser considerado como un efecto de hormesis ya que no se encuentra en el rango mínimo establecido.

Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente siguiendo el modelo “Probit”, previas pruebas de normalidad de errores y homogeneidad de varianzas. A partir de ahí, se obtuvo la Figura 12, la cual presenta la variación de la inhibición de la bioluminiscencia del *V. fischeri* respecto al cambio en la concentración del influente y del efluente.

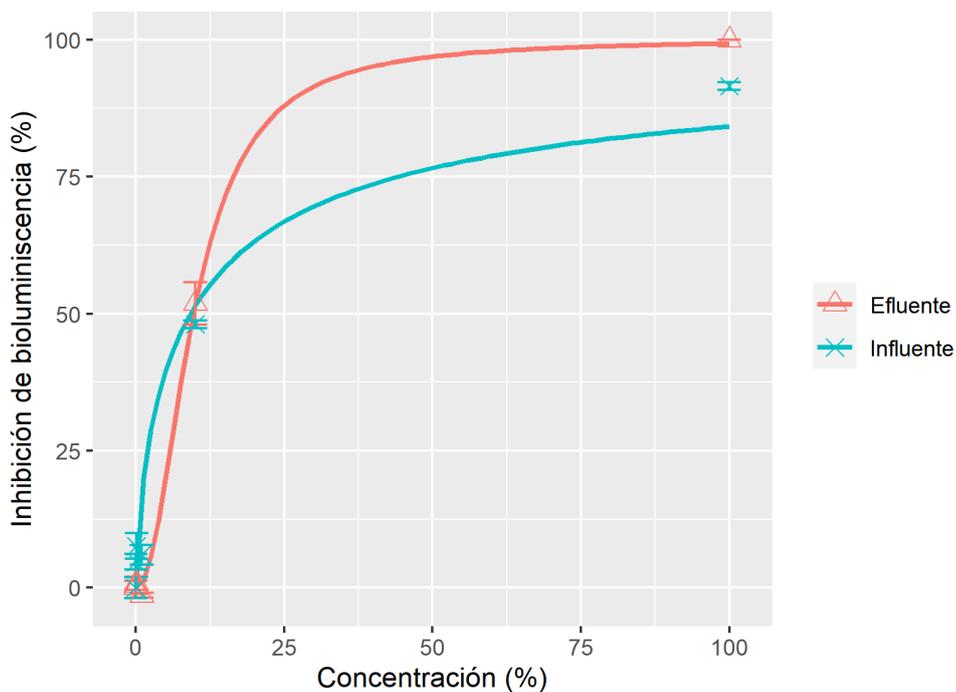


Figura 12: Curva concentración - respuesta del *V. fischeri* en relación al tipo de muestra analizada

En el gráfico se observa que, en el caso del influente, la curva concentración – respuesta no posee la forma sigmoideal común de este tipo de gráficos. Esto se debe a que el rango de diluciones elegidas ha sido demasiado amplio, es decir, la reducción entre dilución de 1:10 no ha sido la adecuada.

El protocolo de la ISO (2007) establece que se debe realizar una corrección del color de las muestras, ya que esta característica puede interferir con la lectura de bioluminiscencia del equipo expresado como un valor inferior al real. Durante el desarrollo del presente estudio, no se tomó en cuenta la corrección del color de las muestras, por lo que puede ser que la inhibición de la bioluminiscencia respecto al agua residual (sin diluir) a la entrada y salida del reactor UASB sea menor a la registrada.

Evaluando el daño ejercido por el 100 por ciento del influente, se puede apreciar que este no ocasiona un perjuicio total en la bioluminiscencia del *V. fischeri*. Por el contrario, el agua tratada sí causa un daño completo; no obstante, como se describió en el párrafo anterior, es posible que la toxicidad sea inferior a la obtenida.

Adicionalmente a la Figura 12, se determinó la concentración efectiva media respecto a la inhibición de la bioluminiscencia en relación a cada muestra, así como su error estándar y sus límites de confiabilidad, los cuales están señalados en la Tabla 21.

Tabla 21: Concentración efectiva de la inhibición de la bioluminiscencia del *V. fischeri*

| Muestra | CE ₅₀ (%) | Error estándar | LI (%) | LS (%) |
|------------|----------------------|----------------|--------|--------|
| Influyente | 9,21 | 10,17 | -10,73 | 29,14 |
| Efluente | 9,71 | 5,18 | -0,45 | 19,86 |

En relación a las CE₅₀, los resultados obtenidos fueron similares, presentando valores de 9,21 y 9,71 por ciento para el influente y el efluente respectivamente, lo cual significa que el aporte del reactor UASB en la reducción de la toxicidad sobre el *V. fischeri* solo es de un 5,15 por ciento. Es necesario incidir en que el límite de confiabilidad, especialmente en el influente, es amplio. Esto se debe a la proporción de reducción en las diluciones con las que se trabajó.

Entre las investigaciones realizadas sobre la toxicidad de *V. fischeri* se puede encontrar el estudio de la International Atomic Energy Agency [IAEA] (2008) que cita los resultados de Microbics Corporation, 1994, los cuales mostraban una CE₅₀ de 12,17 por ciento para efluentes de un matadero de cerdos. Chelme-Ayala et al. (2011) pasaron estiércol líquido de cerdo por los procesos de coagulación/floculación con el fin de analizar la toxicidad del sobrenadante sobre el *V. fischeri*. Estos autores determinaron que la CE₈₀ fue de aproximadamente 17 por ciento, considerando a su vez que con el 100 por ciento del sobrenadante se obtuvo una inhibición del 94 por ciento de la bioluminiscencia. Cabe mencionar que las concentraciones de DBO, DQO, nitrógeno amoniacal, entre otros, fueron superiores a los presentados en las investigaciones de Pacco (2016).

Rodríguez-Loaiza et al. (2016) evaluaron la toxicidad de aguas residuales de empresas procesadoras de carne, teniendo en cuenta dos influentes por separado; el primero proveniente del lavado de maquinarias, envases, etc. y el segundo del agua usada durante todo el proceso de manipulación de carne para la obtención del producto final. Rodríguez-Loaiza et al. (2016) calcularon las CE₅₀ para ambos tipos de muestra, obteniendo los valores de 18,1 y 5,9 por ciento en el orden respectivo. Los autores atribuyeron los resultados al amonio, pues al tratar estas aguas residuales con un reactor Batch, el amonio se redujo en un 70,5 y 60,9 por ciento, respectivamente, y las CE₅₀ a la salida de este reactor fueron superiores al 82 por ciento.

Finalmente, Chen et al. (2014) realizaron un estudio acerca de la toxicidad de lodos de origen porcino, los cuales fueron digeridos de forma anaerobia previamente. La caracterización

fisicoquímica antes de la digestión fue similar a los presentados por Pacco (2016) y la CE_{50} hallada fue de 6,81 por ciento. Como se mencionó párrafos atrás, el nitrógeno es el responsable principal de la inhibición de la bioluminiscencia ya que no es removido por los sistemas anaeróbicos como es el caso del reactor UASB.

4.2.4. Prueba crónica con *Daphnia magna*

Este bioensayo se realizó en base a los resultados obtenidos en la prueba aguda, por lo que el rango escogido solo contó con cinco diluciones sin contar al grupo control. Las Tabla 22 y Tabla 23 presentadas a continuación contienen información sobre el porcentaje de mortalidad por repetición y dilución respecto al influente y efluente, respectivamente, además de los promedios por concentración y sus desviaciones estándar.

Tabla 22: Porcentaje de mortalidad en *D. magna* por repetición al someterse a diluciones del influente

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 | Media | Desv. Est. |
|---------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|-------------------|
| Día 2 | 0,00% | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | 1,50% | 20,00 | 60,00 | 80,00 | 60,00 | 55,00 | 25,17 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 100,00 | 100,00 | 80,00 | 100,00 | 95,00 | 10,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Día 4 | 0,00% | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | 1,50% | 40,00 | 60,00 | 80,00 | 60,00 | 60,00 | 16,33 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 100,00 | 100,00 | 80,00 | 100,00 | 95,00 | 10,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

Si bien el bioensayo tuvo una duración de 21 días como indica el protocolo, la Tabla 22 solo cuenta con información del día dos y cuatro, puesto que a partir del sexto día se observó que ni siquiera los individuos sometidos a la más baja concentración lograron sobrevivir al agua residual porcina sin tratar. El bioensayo siguió su desarrollo debido a que los dáfidos sometidos al efluente sí sobrevivieron durante los 21 días.

| Continuación... | | | | | | | |
|-----------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| Día 13 | 0,00% | 20,00 | 0,00 | 40,00 | 20,00 | 20,00 | 16,33 |
| | 1,50% | 80,00 | 60,00 | 20,00 | 40,00 | 50,00 | 25,82 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 80,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 95,00 | 10,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Día 15 | 0,00% | 20,00 | 0,00 | 40,00 | 20,00 | 20,00 | 16,33 |
| | 1,50% | 80,00 | 60,00 | 80,00 | 80,00 | 75,00 | 10,00 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 80,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 95,00 | 10,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Día 17 | 0,00% | 20,00 | 0,00 | 40,00 | 20,00 | 20,00 | 16,33 |
| | 1,50% | 80,00 | 100,00 | 80,00 | 80,00 | 85,00 | 10,00 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Día 19 | 0,00% | 20,00 | 0,00 | 40,00 | 20,00 | 20,00 | 16,33 |
| | 1,50% | 80,00 | 100,00 | 80,00 | 80,00 | 85,00 | 10,00 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| Día 21 | 0,00% | 20,00 | 0,00 | 40,00 | 20,00 | 20,00 | 16,33 |
| | 1,50% | 80,00 | 100,00 | 100,00 | 80,00 | 90,00 | 11,55 |
| | 3,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 4,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 6,00% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |
| | 7,50% | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 0,00 |

En la Tabla 23 se puede percibir un aumento en la mortalidad por cada dilución conforme pasaron los días. El primer día de contabilización de los individuos, se observó que solamente con la dilución del 7,50 por ciento del efluente la mortalidad fue de 100 por ciento; en cambio, el último día se detectó que a una concentración igual o mayor a tres por ciento de la muestra no hubo ningún sobreviviente.

Del día 11 al día 15, la mortalidad a una concentración de 4,50 por ciento fue mayor a la de 3 por ciento. Esto se debe a que cada individuo posee un diferente grado de resistencia, por lo que es posible que los individuos más fuertes hayan estado presentes en la primera repetición de la dilución de 4,50 por ciento.

Como se realizó con la prueba aguda, los resultados fueron procesados estadísticamente y se utilizó el modelo “Probit”, a partir del cual se obtuvo la Figura 13 presentada a continuación que incluye los gráficos concentración-respuesta por cada día de prueba según el tipo de muestra, así como los promedios y desviaciones estándar de cada dilución.

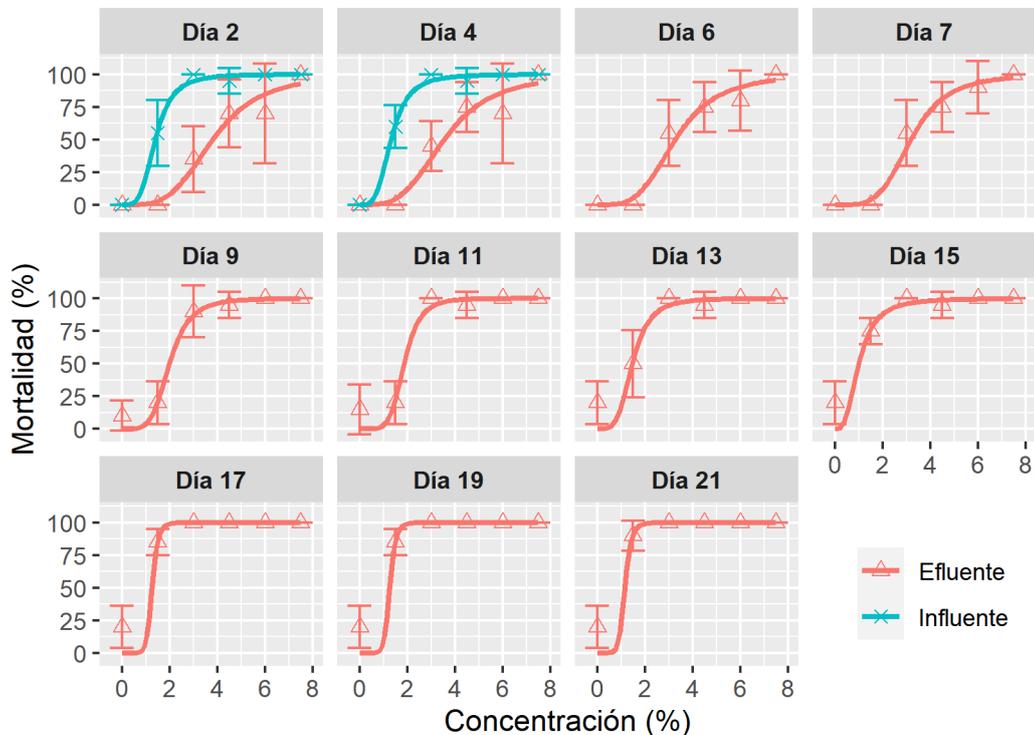


Figura 13: Curvas concentración - respuesta de mortalidad de *D. magna* por día de estudio para el influente y efluente

Se puede inferir qué muestra es más tóxica que el resto tan solo con ver la posición de la curva, es decir, mientras el gráfico se ubique más hacia el lado izquierdo, el daño generado por la muestra es mayor. Para este caso, se puede apreciar que en los días 2 y 4 el influente es más tóxico que el efluente.

Desde el día 6 en adelante no hay una gráfica sobre el influente porque, como se mencionó antes, ningún dafnido sobrevivió a las diluciones. Respecto al efluente, se observa que la toxicidad se incrementa con el pasar de los días puesto que su curva concentración – respuesta se va desplazando hacia la izquierda.

Al igual que con la prueba aguda, se calculó la CL_{50} del influente y el efluente por cada día transcurrido. Estos valores se encuentran en la Tabla 24, la cual también incluye el error estándar y sus límites de confiabilidad.

Tabla 24: Concentración letal media del influente y efluente sobre la *D. magna* por día

| Muestra | Tiempo | CL ₅₀ (%) | Error Estándar | LI (%) | LS (%) |
|-----------|--------|----------------------|----------------|--------|--------|
| Influente | Día 2 | 1,39 | 0,40 | 0,62 | 2,18 |
| | Día 4 | 1,32 | 0,44 | 0,46 | 2,17 |
| Efluente | Día 2 | 3,80 | 0,64 | 2,54 | 5,06 |
| | Día 4 | 3,54 | 0,65 | 2,28 | 4,81 |
| | Día 6 | 3,27 | 0,60 | 2,08 | 4,45 |
| | Día 7 | 3,18 | 0,55 | 2,11 | 4,26 |
| | Día 9 | 1,99 | 0,39 | 1,23 | 2,76 |
| | Día 11 | 1,87 | 0,34 | 1,21 | 2,53 |
| | Día 13 | 1,47 | 0,37 | 0,75 | 2,19 |
| | Día 15 | 1,00 | 0,64 | -0,26 | 2,26 |
| | Día 17 | 1,36 | 3,27 | -5,04 | 7,76 |
| | Día 19 | 1,36 | 3,36 | -5,24 | 7,95 |
| | Día 21 | 1,19 | 1,02 | -0,82 | 3,19 |

Al realizar el análisis por día, se puede apreciar que la CL₅₀ obtenida en el día 2 para el influente y el efluente fue de 1,39 y 3,80 por ciento respectivamente, así que la eficiencia del reactor UASB sería 63,42 por ciento. Si se compara con los resultados de la prueba aguda, se observa que son valores mayores que los de la prueba crónica. Esto se debe a que las características del efluente guardan relación con el influente, y este, a su vez, varía en relación a factores internos de la granja de cerdos como cantidad de porcinos, proporción de cerdos según su etapa de vida, modo de limpieza, consumo de agua, entre otros.

Respecto al cuarto día, las CL₅₀ para el influente y el efluente fueron de 1,32 y 3,54 por ciento, en ese mismo orden, lo cual indica que la eficiencia de reducción de toxicidad del reactor UASB para el día 4 fue de 62,71 por ciento, parecido al resultado del día dos.

A partir del sexto día, solamente se obtuvo resultados respecto al efluente, notándose una disminución progresiva en la CL₅₀. La tendencia de aumento de la toxicidad puede ser visualizada en la Figura 14, junto a las CL₅₀ calculadas.

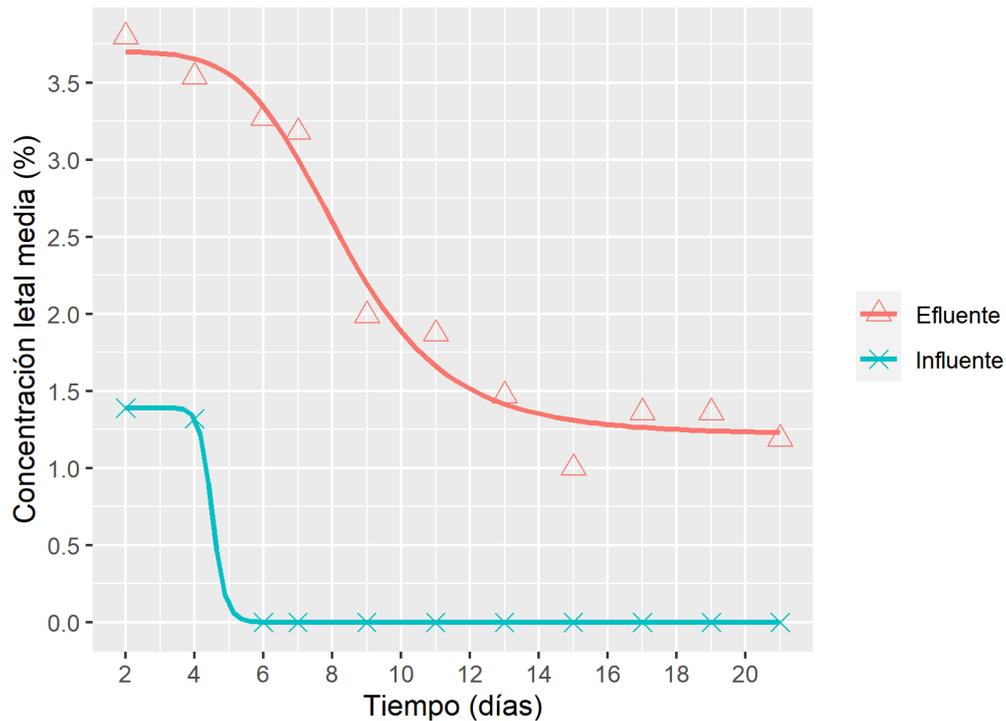


Figura 14: Variación de la concentración letal media por muestra respecto a los días transcurridos de la prueba crónica

De la Figura 14 se desprende que, al evaluar el influente, la CL_{50} se mantiene constante hasta el día 3. A partir del cuarto día inicia la disminución brusca de la CL_{50} y, a partir del día 6, se mantiene en cero ya que no queda ningún individuo vivo.

Referente al efluente, se observa que hasta el cuarto día la CL_{50} no varía drásticamente. Del día 5 al 14 el aumento de la toxicidad es mayor y, a partir del día 15, se mantiene casi constante. Cabe señalar que aproximadamente desde el día 13 la toxicidad del efluente es semejante a la toxicidad inicial del influente.

Hasta el momento no se ha encontrado estudios relacionados a la toxicidad crónica de aguas residuales porcinas sobre la *D. magna*, por lo que solamente se pueden hacer asunciones en base a investigaciones de efectos agudos. La toxicidad observada con las aguas residuales antes y después de pasar por un reactor UASB es alterada principalmente por el nitrógeno amoniacal, pues este compuesto no es removido eficientemente del agua; no obstante, la reducción de la concentración de los demás compuestos también influyen en la disminución de la mortalidad de la *D. magna*.

Adicionalmente a las concentraciones letales medias calculadas, también se realizó el cálculo de la NOAEC, pues este valor es requerido para el análisis de riesgo por medio del cociente de riesgo (USEPA, 2017). La Tabla 25 presentada a continuación contiene las

concentraciones no efectivas para el influente y el efluente por día, además de su error estándar.

Tabla 25: Concentraciones no efectivas (NEC) Del influente y efluente por día

| Muestra | Tiempo | NEC (%) | Error Estándar |
|----------------|---------------|----------------|-----------------------|
| Influente | Día 2 | 0,81 | 0,81 |
| | Día 4 | 0,67 | 1,00 |
| Efluente | Día 2 | 2,08 | 1,11 |
| | Día 4 | 1,60 | 1,71 |
| | Día 6 | 1,50 | 0,03 |
| | Día 7 | 1,74 | 1,45 |
| | Día 9 | 1,31 | 0,26 |
| | Día 11 | 1,35 | 0,20 |
| | Día 13 | 0,93 | 0,67 |
| | Día 15 | -0,25 | 0,33 |
| | Día 17 | 1,13 | 3,07 |
| | Día 19 | 1,13 | 3,07 |
| Día 21 | 0,98 | 3,38 | |

En este caso, el paquete estadístico “drc” de Stribig y Ritz (2010) para el software “R” incluye el modelo NEC, el cual es presentado como una alternativa que facilita el cálculo de la NOAEC. Stribig y Ritz (2010) indican que el NEC es un modelo con un umbral inferior al del NOAEC, en el cual la respuesta de los individuos se considera como una constante similar al grupo control.

Para los cálculos del cociente de riesgo, mencionado más adelante, se utilizó el NEC más bajo. Respecto al efluente, el mínimo valor fue de -0,25; sin embargo, para el análisis de riesgo se debe considerar solamente los valores positivos, por lo que en este caso sería 0,93. El NEC negativo, así como los obtenidos en los días 17 – 21, se explica debido a que la menor dilución es la única que presenta una respuesta diferente al 100 por ciento, por lo que se podría corregir repitiendo la prueba con un rango de dilución más amplio, a través de la inclusión de diluciones menores a 1,5 por ciento.

Aparte de la mortalidad, también se puede evaluar el daño sobre la reproducción de la *D. magna*. La Figura 15 incluye la proporción de neonatos por dáfido inicial respecto a los días transcurridos, clasificados de acuerdo a la dilución del efluente.

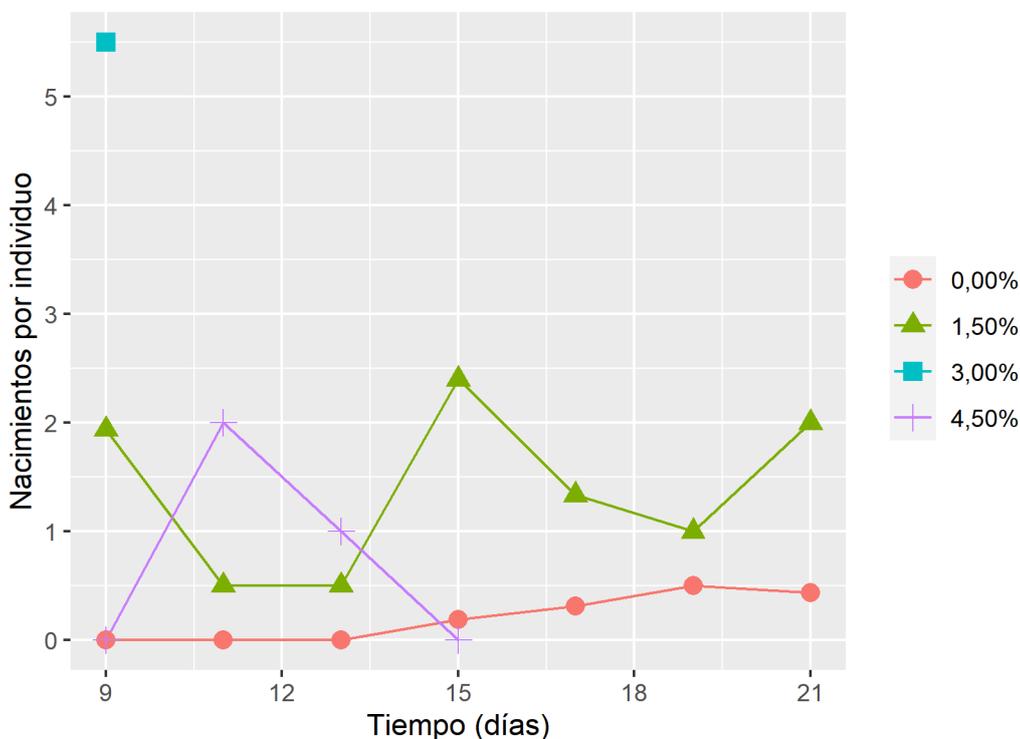


Figura 15: Proporción de neonatos obtenidos por dáfido respecto al tiempo transcurrido por dilución del efluente

De acuerdo con Elenbaas (2013), el ciclo de reproducción de la *D. magna* empieza entre el sexto y décimo día de nacido. Es por esa razón por la cual en la Figura 15 no se incluyó información sobre el influente, pues los individuos sometidos a esta muestra solo llegaron a vivir cuatro días.

En relación a la Figura 15, se observan tres situaciones. En primer lugar, se logra visualizar que el grupo control se empieza a reproducir a partir del día 15, lo que indica que el medio control usado no ha sido el óptimo. El agua de estanque utilizado para estos bioensayos proviene del agua de riego de la universidad, el cual se caracteriza por contener altas concentraciones de sales, por lo que se podría inferir que posiblemente sea estos compuestos los que hayan afectado a la reproducción.

En segundo lugar, se observa que, a concentraciones de 3 y 4,5 por ciento, la reproducción inició al noveno día, seis días antes que el grupo control, cumpliendo de esta manera con las características de la *D. magna* mencionadas por Elenbaas (2013). Existen compuestos que

no son considerados al momento de realizar un monitoreo debido a que se encuentran en bajas concentraciones y porque no hay una metodología establecida para determinarlas; no obstante, pueden ejercer cierta influencia en la toxicidad de las especies. Por ejemplo, Wollenberger et al. (2000) encontraron que a bajas concentraciones, algunos antibióticos pueden influir en la reproducción de la *D. magna*, ocasionando que generen más descendientes que los individuos sometidos al grupo control.

Finalmente, con el tres por ciento del efluente, se logró la máxima proporción de reproducción; sin embargo, solo se ha registrado el dato del noveno día ya que hasta ese momento los individuos sometidos a esa dilución sobrevivieron.

4.3. Unidades Tóxicas

Las unidades tóxicas (UT) son uno de los coeficientes considerados dentro de un análisis de riesgo ecotoxicológico. Las Tabla 26 y Tabla 27 contienen las UT correspondientes al influente y efluente respectivamente, clasificados de acuerdo con la característica evaluada, además de los valores requeridos, en porcentaje, para el cálculo de las UT.

Tabla 26: Unidades tóxicas de cada individuo al ser sometidos al influente en relación a la característica evaluada

| Individuo | Característica | Concentración | CE ₅₀ | UT |
|------------------------------|-----------------------------|---------------|------------------|----------|
| <i>D. magna</i> agudo | Mortalidad | 100 | 3,65 | 27,40 |
| | Germinación | 100 | 27,78 | 3,60 |
| <i>L. sativa</i> | Crecimiento – hipocótilo | 100 | 11,27 | 8,87 |
| | Crecimiento – raíz | 100 | 11,17 | 8,95 |
| <i>V. fischeri</i> | Bioluminiscencia | 100 | 9,21 | 10,86 |
| <i>D. magna</i> crónico * | Mortalidad | 100 | < 0,37 | > 149,25 |

Tabla 27: Unidades tóxicas de cada individuo al ser sometidos al efluente en relación a la característica evaluada

| Individuo | Característica | Concentración | CE ₅₀ | UT |
|------------------------------|-----------------------------|---------------|------------------|--------|
| <i>D. magna</i> agudo | Mortalidad | 100 | 5,30 | 18,87 |
| | Germinación | 100 | 27,76 | 3,60 |
| <i>L. sativa</i> | Crecimiento – hipocótilo | 100 | 12,20 | 8,20 |
| | Crecimiento – raíz | 100 | 12,02 | 8,32 |
| <i>V. fischeri</i> | Bioluminiscencia | 100 | 9,71 | 10,30 |
| <i>D. magna</i> crónico * | Mortalidad | 100 | 0,93 | 107,53 |

Basados en los niveles de toxicidad según las UT de Zagatto et al., 1988, citados por Angulo (2015), las dos muestras estarían clasificadas como muy tóxicas respecto a cada individuo y su característica, a excepción de la toxicidad sobre la germinación de la *Lactuca sativa*, pues las UT de ambas muestras fue de 3,60, por lo que en este caso entraría en la clasificación de muestras tóxicas.

A pesar de que las UT de la *D. magna* fue mayor que las obtenidas con el resto de los individuos (a nivel agudo), se observa que el tratamiento con el reactor UASB reduce la toxicidad de manera más eficiente en esta especie que en las demás, obteniéndose una eficiencia del 45,20 por ciento. Si bien todos los organismos son afectados por el exceso de nitrógeno propio de ambas muestras, los dáfidos son más sensibles a los tóxicos debido a que no cuentan con una capa protectora como en el caso de las semillas, ni son individuos capaces de tolerar la salinidad como en el caso del *V. fischeri*.

Finalmente, en relación a las UT de la *D. magna*, no se puede realizar una comparación entre el influente y el efluente al evaluar el efecto crónico debido a que se utilizó la NEC correspondiente al día 21 para el cálculo de las UT; sin embargo, la prueba con el influente no duró el tiempo necesario para obtener ese dato. Es por esta razón que la UT del influente figura como un valor mayor a 149,25.

4.4. Índice de Efecto Tóxico Potencial

Para el cálculo del efecto tóxico potencial, se requirieron el caudal con el que el agua residual ingresaba al reactor UASB y el caudal de salida. Esta información se encuentra en la Tabla 28, con cifras en mL/min y m³/h.

Tabla 28: Caudales de ingreso y salida al reactor UASB expresados como mL/min y m³/h

| Muestra | Caudal (mL/min) | Caudal(m ³ /h) |
|-----------|-----------------|---------------------------|
| Influente | 226.64 | 0.014 |
| Efluente | 223.66 | 0.013 |

El tratamiento de las aguas residuales se logra por medio de la actividad microbiana. Los microorganismos que habitan el manto de lodo del reactor UASB no eliminan la DQO, DBO y otros, sino que los transforman en metano, SO₂, etc., los cuales pueden ser reaprovechados para su uso como biogás. Es por esta razón que existe una diferencia de caudales entre influente y efluente, siendo menor el caudal de la salida que el de la entrada.

Los valores que fueron usados para el cálculo del IETP se encuentran en la Tabla 29, donde “n” es la cantidad de bioensayos a tomados en cuenta; toxicidad promedio es el promedio de las UT; carga tóxica como toxicidad promedio por la cantidad de bioensayos que respondieron al tóxico y el porcentaje en relación a la carga tóxica.

Tabla 29: Efecto ecotóxico potencial del influente y el efluente, además de los valores requeridos para su cálculo

| Muestra | n | Toxicidad promedio | Caudal (m ³ /h) | Carga tóxica | IETP | Porcentaje |
|-----------|---|--------------------|----------------------------|--------------|------|------------|
| Influente | 5 | 11,94 | 0,014 | 59,68 | 0,26 | 54,77 |
| Efluente | 5 | 9,91 | 0,013 | 49,29 | 0,22 | 45,23 |

Cabe mencionar que no se consideraron los resultados obtenidos en la prueba crónica con *Daphnia magna* debido a que no se logró determinar la CL₅₀ (y, por lo tanto, tampoco las UT) del influente en el día 21. En los cálculos del IETP del efluente tampoco se consideró el resultado obtenido en la prueba crónica, pues la UT es elevada a comparación de las demás pruebas, lo que conllevaría a un aumento drástico en la carga tóxica y, por lo tanto, un aumento drástico en el IETP del efluente, ocasionando que el efluente sea aparentemente más tóxico que el influente.

El efecto tóxico potencial del influente fue de 0,26, mientras que de efluente fue de 0,22. Puesto que el IETP es útil para la comparación de toxicidad entre muestras, se demuestra que el reactor UASB sí logra reducir la ecotoxicidad del agua residual porcina, pues su eficiencia equivale a un 18,18 por ciento. En base a los monitoreos de Pacco (2016), además de los artículos mencionados respecto a los resultados de los bioensayos, se puede determinar que es el nitrógeno el responsable de la toxicidad de ambas muestras; no obstante, la diferencia existente entre los IETP del influente y el efluente se debe principalmente a la reducción de la DQO y DBO.

En relación a la clasificación de la carga tóxica propuesta por Escobar, 2008, citado por Huamán (2016), tanto el influente como el efluente encajan en la categoría de carga tóxica despreciable. Huamán (2016) determinó la toxicidad de efluentes de una laguna de estabilización mediante el uso del IETP, por lo que en sus resultados obtuvo unidades tóxicas menores a los de esta investigación; no obstante, los IETP encontrados en su estudio fueron valores entre 4,50 y 4,62, muy superiores a los de este estudio. La explicación de esta diferencia en los IETP se encuentra al momento de integrar los caudales a los cálculos de estos índices, pues los caudales registrados en el trabajo de Huamán (2016) fueron superiores a 900 m³/h, mientras que los caudales que maneja el reactor UASB piloto es de 0,013 m³/h. Esto demuestra que, a pesar de que las muestras como tal sean perjudiciales para diversas especies, la cantidad generada de aguas residuales de la granja de cerdos tratadas y sin tratar no sería suficiente para causar un daño significativo en un cuerpo de agua, pues se tendría que verter al menos 1,65 m³/h del influente o 2,01 m³/h del efluente para que ambos se consideren por lo menos cargas tóxicas reducidas.

4.5. Cociente de Riesgo

El último coeficiente considerado dentro del análisis de riesgos fue el cociente de riesgo (CR). La Tabla 30 contiene los CR correspondientes al influente y la

Tabla 31, la del efluente. Ambas tablas también indican las concentraciones en el ambiente estimadas (CAE) y la toxicidad usada para cada característica evaluada.

Tabla 30: Cocientes de riesgo del influente según la característica evaluada, además de los valores usados para su cálculo

| Bioensayo | Característica | CAE | Toxicidad | CR |
|------------------------------|-----------------------------|-----|-----------|----------|
| <i>D. magna</i> – agudo | Mortalidad | 100 | 3,65 | 27,40 |
| | Germinación | 100 | 22,49 | 4,45 |
| <i>L. sativa</i> | Crecimiento – hipocótilo | 100 | 7,39 | 13,53 |
| | Crecimiento – raíz | 100 | 9,64 | 10,37 |
| <i>V. fischeri</i> | Bioluminiscencia | 100 | 9,21 | 10,86 |
| <i>D. magna</i> - crónico | Mortalidad | 100 | < 0,67 | > 149,25 |

Tabla 31: Cocientes de riesgo del efluente según la característica evaluada, además de los valores usados para su cálculo

| Bioensayo | Característica | CAE | Toxicidad | CR |
|------------------------------|-----------------------------|-----|-----------|--------|
| <i>D. magna</i> – agudo | Mortalidad | 100 | 5,30 | 18,87 |
| | Germinación | 100 | 23,41 | 4,27 |
| <i>L. sativa</i> | Crecimiento – hipocótilo | 100 | 8,21 | 12,18 |
| | Crecimiento – raíz | 100 | 9,33 | 10,72 |
| <i>V. fischeri</i> | Bioluminiscencia | 100 | 9,71 | 10,30 |
| <i>D. magna</i> - crónica | Mortalidad | 100 | 0,93 | 107,53 |

Al evaluar el CR de ambas muestras, se observa que la especie más afectada fue la *Daphnia magna*. Según la USEPA (2017), si el CR de los animales acuáticos a nivel agudo excede a 0,5, se considera que la sustancia evaluada es de alto riesgo, mientras que se considera riesgo crónico si el valor del CR supera a 1,0. A partir de los resultados de las Tabla 30 y

Tabla 31, se puede apreciar una disminución del riesgo con el tratamiento con el reactor UASB; no obstante, no ha sido suficiente para dejar de ser muestras de alto riesgo y de riesgo crónico.

Respecto a la *Lactuca sativa*, la USEPA (2017) señala que el CR no debe sobrepasar el valor de 1,0. Debido a esto, se considera que el influente y el efluente son de alto riesgo, afectando, en primer lugar, el crecimiento del hipocótilo, luego el crecimiento de la raíz y, posteriormente, a la germinación. A partir de los resultados también se puede determinar que la eficiencia del reactor UASB para reducir la toxicidad del influente es menor a comparación que en el caso de los dáfidos, incluso notándose, por el contrario, un leve aumento del riesgo con este reactor.

Para finalizar, la USEPA (2017) no establece un valor para la determinación del riesgo en *Vibrio fischeri*; sin embargo, si se compara los resultados obtenidos con el máximo valor establecido, se observa que, de igual forma, entraría en la categoría de alto riesgo. Al igual que en el caso de la lechuga, el reactor UASB no reduce eficientemente el riesgo del agua residual porcina.

V. CONCLUSIONES

- El uso de un reactor UASB en el tratamiento de aguas residuales porcinas reduce el riesgo ecotoxicológico, pero el efluente todavía representa un leve riesgo para los ecosistemas.
- La especie más afectada por el influente y el efluente fue la *D. magna*, principalmente por el exceso de nitrógeno y la presencia de sales, mientras que en el caso de la *L. sativa* y el *V. fischeri* se observaron diferencias no significativas con el tratamiento.
- En relación a la mortalidad de la *D. magna*, los individuos logran sobrevivir los 21 días de prueba bajo las diluciones del efluente, mientras que solo viven 4 días al ser sometidas a las diluciones del influente, por lo que sí hay una mejoría con el tratamiento del reactor UASB. Por otro lado, respecto a la reproducción, con un 3 por ciento del efluente, esta característica es mejorada.
- Si bien existe diferencias entre las UT, IETP y CR a la entrada y salida del reactor UASB, el sistema no es suficiente para evitar que las muestras dejen de ser muy tóxicas respecto a sus UT y de alto riesgo en relación a sus CR; sin embargo, al evaluar el IETP, se obtuvo una carga tóxica despreciable debido al bajo caudal de entrada y salida del reactor.

VI. RECOMENDACIONES

- El sistema de tratamiento piloto ya cuenta con un sistema posterior al reactor UASB, por lo que se recomienda analizar el riesgo ecotoxicológico en esos tratamientos.
- Caracterizar los efluentes a partir de la misma muestra recolectada a utilizar en los bioensayos con la finalidad de determinar la correlación de los contaminantes con la ecotoxicidad.
- Desarrollar los bioensayos agudos al menos una vez al mes, durante todo un año, con el objetivo de llevar un mayor control en la variabilidad de los parámetros físicoquímicos.
- Para el caso de las pruebas crónicas, debe tenerse en cuenta los resultados obtenidos de las pruebas agudas. A partir de esos resultados, los bioensayos crónicos deberán llevarse a cabo en los meses donde se obtuvieron la máxima y la mínima ecotoxicidad.
- Utilizar agua reconstituida recomendada por la USEPA en lugar de agua de estanque para el desarrollo de los ensayos con *Daphnia magna*.
- Determinar la concentración de antibióticos y metabolitos en el agua residual tratada y sin tratar, además de analizar su influencia en la ecotoxicidad.
- En pruebas crónicas, ampliar el rango de diluciones a usar, considerando concentraciones iguales e inferiores a las utilizadas en las pruebas agudas, pues las CE₅₀ tienden a disminuir con el paso de los días.
- Utilizar diluciones traslúcidas en las pruebas con *Vibrio fischeri*, con el fin de evitar errores en la lectura de bioluminiscencia.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, M., Adil, M., Ehtisham-ul-Haque, S., Munir, B., Yameen, M., Ghaffar, A., . . . Iqbal, M. (2018). *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assesment: A review. *Science of the Total Environment*, 626, 1295-1309. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.01.066
- Agathokleous, E. (2018). Environmental hormesis, a fundamental non-monotonic biologicalphenomenon with implications in ecotoxicology and environmental safety. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 1042-1053. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.12.003
- Ahn, J.-H., Do, T. H., Kim, S. D., & Hwang, S. (2006). The effect of calcium on the anaerobic digestion treating swine wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 30, 33-38. doi:10.1016/j.bej.2006.01.014
- American Public Health Association. (1999). *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*.
- Angulo Reyes, R. (marzo de 2015). Estudio Diagnóstico de la Ecotoxicidad de Afluentes del Río Guadalquivir, en el área comprendida entre Las Tipas y El Angosto de San Luis, Provincia Cercado - Tarija. *Acta Nova*, 7(1), 28-46.
- Bagarinao, T. (1992). Sulfide as an environmental factor and toxicant: tolerance and adaptations in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 24, 21-62. doi:doi.org/10.1016/0166-445X(92)90015-F
- Blaise, C., & Féraud, J.-F. (2005). Effluent assessment with the PEEP (Potential Ecotoxic Effects Probe) index. En C. Blaise, & J.-F. Féraud, *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations* (págs. 69-87). Springer, Dordrecht. doi:doi.org/10.1007/1-4020-3553-5_2
- Chapman, P. M. (2002). Ecological risk assessment (ERA) and hormesis. *The Science of the Total Environment*, 288, 131-140. doi:10.1016/S0048-9697(01)01120-

- Chelme-Ayala, P., El-Din, M. G., Smith, R., Code, K. R., & Leonard, J. (2011). Advanced treatment of liquid swine manure using physico-chemical treatment. *Journal of Hazardous Materials*, *186*, 1632-1638. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.12.047
- Chen, J., Liu, Y.-S., Deng, W.-J., & Ying, G.-G. (2019). Removal of steroid hormones and biocides from rural wastewater by an integrated constructed wetland. *Science of the Total Environment*, *660*, 358-365. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.01.049
- Chen, K.-F., Huang, S.-Y., Chung, Y.-T., Wang, K.-S., & Wang, C.-K. (2018). Detoxification of nicotine solution using Fe⁰-based processes: Toxicity evaluation by *Daphnia magna* neonate and embryo assays. *Chemical Engineering Journal*, *331*, 636-643. doi:10.1016/j.cej.2017.09.029
- Chen, W., Cai, Q., Zhao, Y., Zheng, G., & Liang, Y. (2014). Toxicity Evaluation of Pig Slurry Using Luminiscent Bacteria and Zebrafish. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *11*, 6856-6870. doi:10.3390/ijerph110706856
- Chong, S., Sen, T. K., Kayaalp, A., & Ang, H. M. (2012). The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment - A State-of-the-art review. *Water Research*, *46*, 3434-3470. doi:10.1016/j.watres.2012.03.066
- Constable, M., Charlton, M., Jensen, F., McDonald, K., Craig, G., & Taylor, K. W. (2003). An ecological risk assessment of ammonia in aquatic environment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, *9*(2), 527-548. doi:10.1080/713609921
- Costan, G., Bermingham, N., & Blaise, C. (1993). Potential Ecotoxic Effects Probe (PEEP): a Novel Index to Assess and Compare the Toxic Potential of Industrial Effluents. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, *8*, 115-140. doi:10.1002/tox.2530080202
- Dantas de Lucena, R., & Barros da Silva, K. K. (2016). Concentrações de nitrogênio em plantas de alface (*Lactuca sativa* linnaeus) cultivadas em sistemas hidropônicos. *VII Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Campina Grande/PB - 21 a 24/11/2016*. Campina Grande, Brasil.
- Dias de Alkimin, G., Paisio, C., Agostini, E., & Nunes, B. (2019). Phytoremediation processes of domestic and textile effluents: evaluation of the efficacy and toxicological effects in *Lemna minor* and *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 4423-4441. doi:10.1007/s11356-019-07098-3

- Dos Santos Laitano, K., & Matias, W. G. (2006). Testes de Toxicidade com *Daphnia magna*: Uma Ferramenta para Avaliação de um Reator Experimental UASB. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 1(1), 43-47. doi:10.5132/jbse.2006.01.009
- Düpont, A., & Lobo, E. A. (2012). Evaluation of the efficiency of the sewage treatment plant from the University of Santa Cruz do Sul (UNISC), RS, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 24(2), 119-126. doi:http://dx.doi.org/10.1590/S2179-975X2012005000031
- Elenbaas, M. (2013). *Daphnia magna*. Recuperado el 26 de Marzo de 2020, de Animal Diversity Web: http://animaldiversity.org/accounts/Daphnia_magna/
- Emmanuel, E., Perrodin, Y., Keck, G., Blanchard, J. M., & Vermande, P. (2005). Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. *Journal of Hazardous Materials, A117*, 1-11. doi:10.1016/j.jhazmat.2004.08.032
- Farmer III, J. J., & Hickman-Brenner, F. W. (2006). The genera *Vibrio* and *Photobacterium*. *The Prokaryotes*, 6, 508-563. doi:10.1007/0-387-30746-x_18
- Forfait-Dubuc, C., Charles, S., Billoir, E., & Delignette-Muller, M. L. (2012). Survival data analyses in ecotoxicology: critical effect concentrations, methods and models. What should we use? *Ecotoxicology*, 21, 1072-1083. doi:10.1007/s10646-012-0860-0
- Gerber, M. D., Lucia, T., Correa, L., Pereira Neto, J. E., & Correa, É. K. (2017). Phytotoxicity of effluents from swine slaughterhouses using lettuce and cucumber seeds as bioindicators. *Science of the Total Environment*, 592, 86-90. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.03.075
- Ginebreda, A., Kuzmanovic, M., Guasch, H., López de Alda, M., López-Doval, J. C., Muñoz, I., . . . Barceló, D. (2014). Assessment of multi-chemical pollution in aquatic ecosystems using toxic units: Compound prioritization, mixture characterization and relationships with biological descriptors. *Science of the Total Environment*, 468-469, 715-723. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.08.086
- Hillis, D. G., Fletcher, J., Solomon, K. R., & Sibley, P. K. (2011). Effects of ten antibiotics on seed germination and root elongation in three plant species. *Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 220-232. doi:10.1007/s00244-010-9624-0
- Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Allen Burton, G., & Cairns, J. (2002). *Handbook of ecotoxicology* (Segunda ed.). Lewis publishers.
- Huamán, G. A. (2016). Toxicidad del efluente de la laguna de estabilización El Espinar mediante bioensayos con *Daphnia pulex* y *Lactuca sativa* L.

- Instituto Nacional de Calidad. (Diciembre de 2016). Protocolo de muestreo de aguas residuales no domésticas que se descargan en la red de alcantarillado. *AGUAS RESIDUALES*, 1-41.
- International Atomic Energy Agency. (2008). *Radiation Treatment of Polluted Water and Wastewater*. Viena, Austria.
- International Organization for Standardization. (1 de Diciembre de 2007). Part 3: Method using freeze-dried bacteria. *Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminiscent bacteria test)*, 2.
- Keller, R., Perim, K., Semionato, S., Zandonade, E., Cassini, S., & Gonçalves, R. F. (2005). Hydroponic cultivation of lettuce (*Lactuca sativa*) using effluents from primary, secondary and tertiary + UV treatments. *Water Science and Technology: Water Supply*, 5(1), 95-100. doi:10.2166/ws.2005.0012
- Kóvats, N., Eck-Varanka, B., Békéssy, Z., Diósi, D., Hubai, K., & Korponai, J. (2019). Assessment of the Ecotoxicity of Nanoplastics. *Hungarian Journal of Industry and Chemistry*, 7(2), 71-75. doi:10.33927/hjic-2019-22
- Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., & Novotná, A. (2008). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science (HORTSCI)*, 35, 113-129. doi:10.17221/4/2008-HORTSCI
- Lazorchak, J. M., Smith, M. E., & Haring, H. J. (2009). Development and validation of a *Daphnia magna* four-day survival and growth test method. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(5), 1028-1034. doi:10.1897/08-296.1
- Manusadzianas, L., Balkelyte, L., Sadauskas, K., Blinova, I., Pöllumaa, L., & Kahru, A. (2003). Ecotoxicological study of Lithuanian and Estonian wastewaters: selection of biotests, and correspondence between toxicity and chemical-based indices. *Aquatic Toxicology*, 63, 27-41. doi:10.1016/S0166-445X(02)00132-7
- Méndez, R., Castillo, E., Vázquez, E., Briceño, O., Coronado, V., Pat, R., & Garrido, P. (2009). Estimación del potencial contaminante de las granjas porcinas y avícolas del estados de Yucatán. *Ingeniería*, 13, 13-21.
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2017). *Diagnóstico de crinzas priorizadas para el Plan Ganadero 2017 - 2021*. Lima.
- Mohr, G., & Lobo, E. A. (2013). Avaliação da eficiência de um sistema de tratamento da água em pequena propriedade rural, utilizando bioensaios. *Jovens Pesquisadores*, 3(1), 12-22. doi:http://dx.doi.org/10.17058/rjp.v3i1.3752

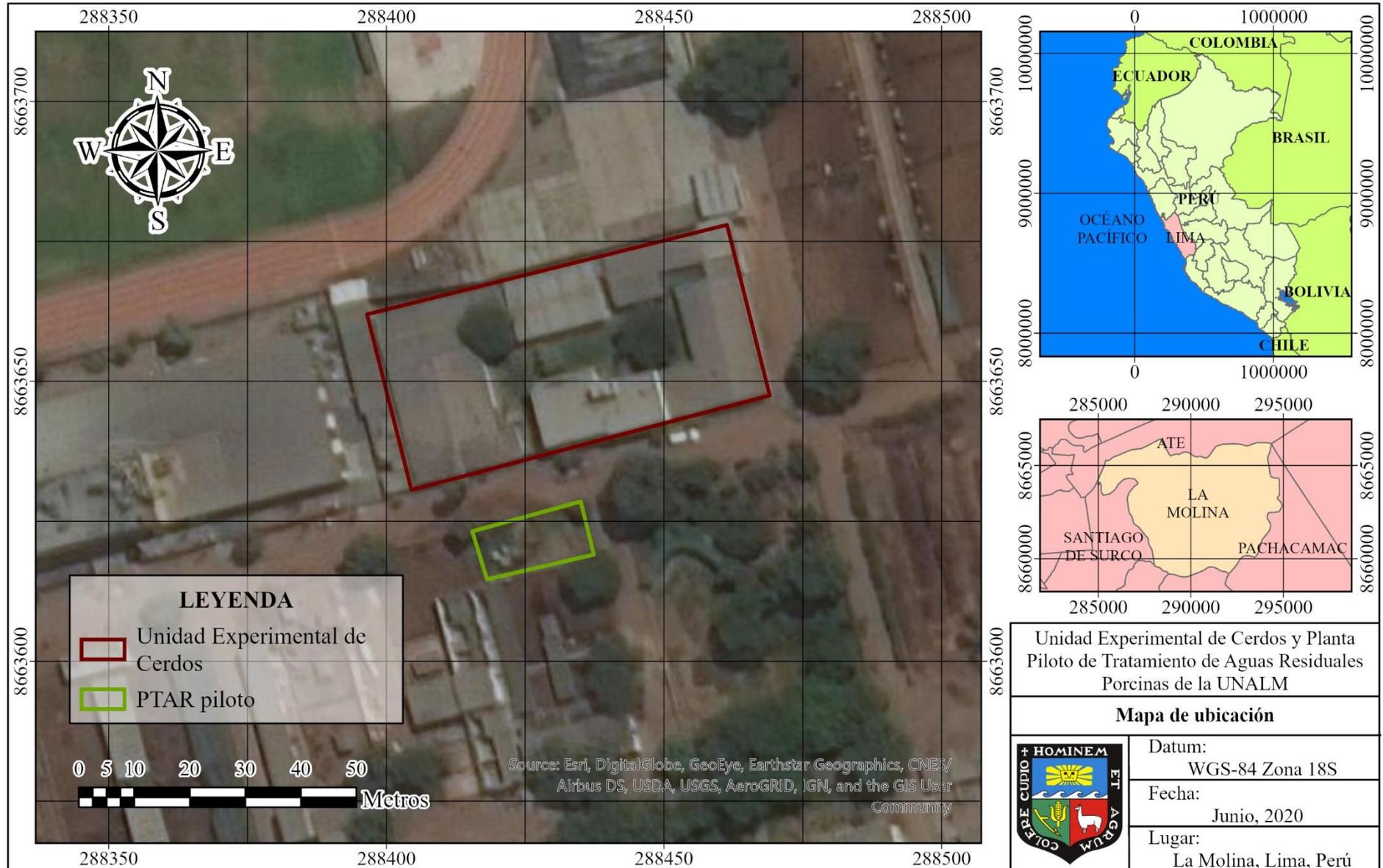
- Pacco Loyola, A. L. (2016). Propuesta de parámetros de diseño de un reactor UASB para el tratamiento de aguas residuales de crianza intensiva de cerdos (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú.
- Priac, A., Badot, P.-M., & Crini, G. (2017). Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. *Comptes Rendus Biologies*, 340, 188-194. doi:10.1016/j.crvi.2017.01.002
- Ramires, M. F., Souza, E. L., Fontanive, D. E., Bianchetto, R., Krynski, Á. M., Cezimbra, J. G., & Antonioli, Z. I. (2019). Ecotoxicology of pig slaughterhouse waste using *Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., and *Oryza sativa* L. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 43, 1-13. doi:10.1590/18069657rbc20180119
- Ritz, C., & Streibig, J. C. (Enero de 2005). Bioassay Analysis using R. *Journal of Statistical Software*, 12(5), 1-22. doi:10.18637/jss.v012.i05
- Rodríguez-Loaiza, D. C., Ramírez-Henao, O., & Peñuela-Mesa, G. A. (2016). Assessment of toxicity in industrial wastewater treated by biological processes using luminiscent bacteria. *Actualidades Biológicas*, 38(105), 211-216. doi:10.17533/udea.acbi.v38n105a08
- Seghezze, L., Zeeman, G., Lier, J. B., Hamelers, H. V., & Lettinga, G. (1998). A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology*, 65, 175-190. doi:10.1016/S0960-8524(98)00046-7
- Sobrero, M. C., & Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). En G. Castillo, *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones* (Primera ed., págs. 71-80).
- Stribig, J. C., & Ritz, C. (Diciembre de 2010). Bioassay Analysis Using R. *Journal of statistical software*, 12, 1-17. doi:10.18637/jss.v012.i05
- Tam, N. F., & Tiquia, S. (1994). Assessing toxicity of spent pig litter using a seed germination technique. *Resources, Conservation and Recycling*, 11, 261-274. doi:10.1016/0921-3449(94)90094-9
- Tapia Benavente, S. P. (2015). Puesta en Marcha de un Reactor UASB a escala Piloto para el Tratamiento de Aguas Residuales de la Crianza Intensiva de Cerdo (tesis de pregrado).
- Tavares, R. G., Da Motta Sobrinho, M. A., De Arruda, V. C., Correia, M. M., Pereira, L., & De Queiroz, A. P. (2018). Possibility of phytotoxicity of sewage treatment stations in the germination of lettuce seed (*Lactuca sativa*). *Revista Geama*, 4(2), 1-4.

- Thomaidi, V. S., Matsoukas, C., & Stasinakis, A. S. (2017). Risk assessment of triclosan released from sewage treatment plants in European rivers using a combination of risk quotient methodology and Monte Carlo simulation. *Science of the Total Environment*, 487-494. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.06.113
- United States Environmental Protection Agency. (1998). *Guidelines for Ecological Risk Assessment*. Washington DC.
- United States Environmental Protection Agency. (30 de Junio de 2000). *Glossary*. Recuperado el 02 de Abril de 2020, de Understanding and Accounting for Method Variability in WET Applications Under NPDES Program: <https://www3.epa.gov/npdes/pubs/f-glossy.pdf>
- United States Environmental Protection Agency. (31 de Agosto de 2011). *Integrated Risk Information System (IRIS) Glossary*. Recuperado el 29 de Marzo de 2020, de https://iaspub.epa.gov/sor_internet/registry/termreg/searchandretrieve/glossariesandkeywordlists/search.do?details=&vocabName=IRIS%20Glossary
- United States Environmental Protection Agency. (Enero de 2012). OCSPP 850.4100: Seedling Emergence and Seedling Growth. *Ecological Effects Test Guidelines*, 1-32.
- United States Environmental Protection Agency. (Octubre de 2016a). OCSPP 850.1010: Aquatic Invertebrate Acute Toxicity Test, Freshwater Daphnids. *Ecological Effects Test Guidelines*, 1-17.
- United States Environmental Protection Agency. (Octubre de 2016b). OCSPP 850.1300: Daphnid Chronic Toxicity Test. *Ecological Effects Test Guidelines*, 1-24.
- United States Environmental Protection Agency. (27 de Diciembre de 2017a). *Technical overview of ecological risk assessment: Risk characterization*. Obtenido de <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/technical-overview-ecological-risk-assessment-risk#Probabilistic>
- United States Environmental Protection Agency. (27 de Diciembre de 2017b). *Technical Overview of Ecological Risk Assessment: Risk Characterization*. Recuperado el 3 de Abril de 2020, de <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/technical-overview-ecological-risk-assessment-risk#Deterministic>
- Villamar, C. A., Cañuta, T., Belmonte, M., & Vidal, G. (2012). Characterization of Swine Wastewater by Toxicity Identification Evaluation Methodology (TIE). *Water, Air & Soil Pollution*, 223, 363-369. doi:10.1007/s11270-011-0864-z
- Villamar, C. A., Silva, J., Bay-Schmith, E., & Vidal, G. (2014). Toxicity identification evaluation of anaerobically treated swine slurry: A comparison between Daphnia

- magna and *Raphanus sativus*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49(11), 880-888. doi:10.1080/03601234.2014.938560
- Von der Ohe, P. C., & Zwart, D. d. (2013). Toxic Units (TU) Indicators. (J. -F. Féraud, & C. Blaise, Edits.) *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology*, 1161-1170. doi:10.1007/978-94-007-5704-2
- Von Sperling, M. (1996). Comparison among the most frequently used systems for wastewater treatment in developing countries. *Water, Science and Technology*, 33(3), 59-72. doi:10.1016/0273-1223(96)00301-0
- Water Environment Federation. (2008). *Industrial Wastewater Management, Treatment and Disposal* (Tercera ed.). Virginia: McGraw-Hill.
- Wollenberger, L., Halling-Sorensen, B., & Kusk, K. O. (2000). Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40, 723-730. doi:10.1016/S0045-6535(99)00443-9
- World Health Organization. (2006). *WHO guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater* (Vol. II: Wastewater use in agriculture). Ginebra.
- Zhang, X., Zhao, H., Du, J., Qu, Y., Shen, C., Tan, F., . . . Quan, X. (2017). Ocurrance, removal, and risk assessment of antibiotics in 12 wastewater treatment plants from Dalian, China. *Environ Sci Pollut Res*, 24, 16478-16487. doi:10.1007/s11356-017-9296-7

VIII. ANEXOS

Anexo 1: MAPA DE UBICACIÓN DEL LUGAR DE ESTUDIO



Anexo 2: PARÁMETROS *in-situ*

2.1 – Parámetros para *D. magna* (agudo)

Los parámetros *in-situ* se midieron en un solo día para las dos muestras y se presentan a continuación.

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 20 °C | 20 °C |
| pH | 7,41 | 7,74 |
| Turbiedad | 1744 NTU | 840 NTU |
| Conductividad | 12,82 mS/cm | 12,58 mS/cm |

2.2 – Parámetros para *L. sativa* (agudo)

Los parámetros *in-situ* se midieron en un solo día para las dos muestras y se presentan a continuación.

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 18,2°C | 18,8°C |
| pH | 7,35 | 7,74 |
| Turbiedad | 1000 NTU | 836 NTU |
| Conductividad | 12,12 mS/cm | 10,73 mS/cm |

2.3 – Parámetros para *V. fischeri* (agudo)

Los parámetros *in-situ* se midieron en un solo día para las dos muestras y se presentan a continuación.

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 18,1°C | 18,3°C |
| pH | 7,35 | 7,81 |
| Turbiedad | 1598 NTU | 874 NTU |
| Conductividad | 12.45 mS/cm | 12,03 mS/cm |

2.4 – Parámetro para *D. magna* (crónico)

Para este bioensayo, los parámetros se midieron de forma interdiaria (los días en los que se recolectaba la muestra para el cambio de agua), siendo el día 0 el primero en el que se inocularon a los individuos de interés.

2.4.1. Día 0

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 20,7°C | 21°C |
| pH | 7,66 | 8,27 |
| Turbiedad | 5000 NTU | 1000 NTU |
| Conductividad | 12,01 mS/cm | 11,89 mS/cm |

2.4.2. Día 2

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 20,4°C | 20,3°C |
| pH | 7,36 | 7,47 |
| Turbiedad | 5000 NTU | 888 NTU |
| Conductividad | 11,94 mS/cm | 12,33 mS/cm |

2.4.3. Día 4

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 20,5°C | 20,6°C |
| pH | 7,68 | 7,81 |
| Turbiedad | 2330 NTU | 1000 NTU |
| Conductividad | 11,60 mS/cm | 12,17 mS/cm |

2.4.4. Día 7

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 22,3°C | 22,0°C |
| pH | 7,35 | 7,91 |
| Turbiedad | 2000 NTU | 1000 NTU |
| Conductividad | 12,68 mS/cm | 12,3 mS/cm |

2.4.5. Día 9

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 21,7°C | 21,8°C |
| pH | 7,53 | 7,97 |
| Turbiedad | 3160 NTU | 1672 NTU |
| Conductividad | 12,48 mS/cm | 12,1 mS/cm |

2.4.6. Día 11

| Parámetro | Influente | Efluente |
|------------------|------------------|-----------------|
| Temperatura | 20,7°C | 21,2°C |
| pH | 7,60 | 8,00 |
| Turbiedad | 4150 NTU | 2070 NTU |
| Conductividad | 12,41 mS/cm | 12,0 mS/cm |

Anexo 3: RESULTADOS DE BIOENSAYOS (SIN PROCESAR)

3.1 – Bioensayo agudo con *Daphnia magna*

3.1.1. Mortalidad – Influyente

Número de individuos sobrevivientes al influente, por concentración y repetición, a las 24 y 48 horas de iniciada la prueba.

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------|---------------|----|----|----|----|
| 24 horas | 0,00% | 9 | 10 | 10 | 10 |
| | 1,50% | 8 | 5 | 0 | 2 |
| | 3,00% | 9 | 7 | 4 | 4 |
| | 4,50% | 9 | 5 | 6 | 1 |
| | 6,00% | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 7,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 9,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 12,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 horas | 0,00% | 9 | 10 | 10 | 9 |
| | 1,50% | 6 | 5 | 0 | 2 |
| | 3,00% | 8 | 7 | 4 | 4 |
| | 4,50% | 9 | 5 | 6 | 1 |
| | 6,00% | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 7,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 9,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 12,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |

3.1.2. Mortalidad – Efluente

Número de individuos sobrevivientes al efluente, por concentración y repetición, a las 24 y 48 horas de iniciada la prueba.

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|---------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 24 horas | 0,00% | 9 | 10 | 10 | 10 |
| | 1,50% | 10 | 7 | 9 | 10 |
| | 3,00% | 10 | 10 | 10 | 9 |
| | 4,50% | 8 | 8 | 2 | 10 |
| | 6,00% | 6 | 9 | 6 | 1 |
| | 7,50% | 3 | 2 | 0 | 0 |
| | 9,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 12,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 horas | 0,00% | 9 | 10 | 10 | 9 |
| | 1,50% | 10 | 6 | 9 | 10 |
| | 3,00% | 9 | 10 | 9 | 9 |
| | 4,50% | 8 | 8 | 2 | 10 |
| | 6,00% | 5 | 7 | 5 | 1 |
| | 7,50% | 3 | 2 | 0 | 0 |
| | 9,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 12,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |

3.2 – Bioensayo agudo con *Lactuca sativa*

3.2.1. Germinación – Influyente

Cantidad de semillas que germinaron después de 120 horas, al ser sometidas a diferentes diluciones del influente.

| Concentración | R1 | R2 | R3 |
|---------------|----|----|----|
| 0,00% | 19 | 18 | 20 |
| 1,00% | 17 | 18 | 20 |
| 3,00% | 17 | 19 | 18 |
| 6,25% | 18 | 15 | 17 |
| 12,50% | 16 | 18 | 18 |
| 25,00% | 11 | 16 | 12 |
| 50,00% | 0 | 0 | 0 |
| 100,00% | 0 | 0 | 0 |

3.2.2. Germinación – Efluente

Cantidad de semillas que germinaron después de 120 horas, al ser sometidas a diferentes diluciones del efluente.

| Concentración | R1 | R2 | R3 |
|---------------|----|----|----|
| 0,00% | 19 | 18 | 20 |
| 1,00% | 19 | 15 | 19 |
| 3,00% | 18 | 17 | 19 |
| 6,25% | 16 | 14 | 18 |
| 12,50% | 19 | 17 | 19 |
| 25,00% | 14 | 15 | 11 |
| 50,00% | 0 | 0 | 0 |
| 100,00% | 0 | 0 | 0 |

3.2.3. Crecimiento – Influyente

Crecimiento de cada parte de la *L. sativa* medida en milímetros, después de 120 horas sometidas al influente.

a. Hipocótilo

| Semilla | Control | | | 1% | | | 3% | | | 6.25% | | | 12.5% | | | 25% | | |
|---------|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|----|----|-------|----|----|-----|----|----|
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 1 | 21 | 24 | 23 | 15 | 21 | 17 | 21 | 20 | 17 | 21 | 20 | 20 | 7 | 13 | 14 | 4 | 4 | 6 |
| 2 | 24 | 24 | 22 | 22 | 12 | 17 | 17 | 20 | 22 | 24 | 18 | 18 | 5 | 17 | 7 | 3 | 4 | 4 |
| 3 | 24 | 24 | 20 | 24 | 20 | 14 | 19 | 22 | 17 | 19 | 20 | 20 | 8 | 15 | 6 | 4 | 4 | 4 |
| 4 | 23 | 21 | 20 | 21 | 22 | 20 | 17 | 20 | 20 | 27 | 23 | 14 | 5 | 13 | 9 | 2 | 4 | 4 |
| 5 | 23 | 25 | 23 | 23 | 20 | 23 | 19 | 15 | 5 | 21 | 19 | 21 | 5 | 15 | 5 | 4 | 4 | 3 |
| 6 | 23 | 26 | 24 | 17 | 23 | 18 | 23 | 20 | 25 | 26 | 23 | 22 | 5 | 10 | 10 | 3 | 4 | 4 |
| 7 | 22 | 26 | 23 | 20 | 25 | 19 | 19 | 19 | 25 | 19 | 22 | 14 | 6 | 9 | 8 | 4 | 5 | 4 |
| 8 | 22 | 24 | 18 | 25 | 23 | 20 | 10 | 11 | 25 | 17 | 20 | 15 | 5 | 5 | 7 | 1 | 4 | 3 |
| 9 | 22 | 25 | 22 | 26 | 13 | 23 | 20 | 20 | 18 | 22 | 18 | 5 | 9 | 7 | 4 | 2 | 4 | 4 |
| 10 | 24 | 24 | 28 | 24 | 15 | 22 | 20 | 19 | 18 | 10 | 12 | 22 | 8 | 5 | 13 | 2 | 5 | 3 |
| 11 | 13 | 23 | 28 | 21 | 20 | 19 | 20 | 21 | 20 | 20 | 17 | 10 | 6 | 8 | 6 | 3 | 4 | 3 |
| 12 | 2 | 24 | 24 | 20 | 22 | 20 | 15 | 20 | 20 | 23 | 4 | 22 | 5 | 9 | 6 | | 3 | 2 |
| 13 | 20 | 17 | 26 | 8 | 14 | 16 | 19 | 21 | 19 | 22 | 3 | 27 | 5 | 6 | 6 | | 5 | |
| 14 | 21 | 17 | 17 | 20 | 7 | 16 | 16 | 23 | 19 | 22 | 4 | 17 | 5 | 1 | 6 | | 4 | |
| 15 | 23 | 7 | 17 | 16 | 20 | 6 | 8 | 9 | 22 | 22 | 1 | 17 | 4 | 8 | 7 | | 2 | |
| 16 | 24 | 10 | 22 | 4 | 19 | 21 | 4 | 20 | 20 | 29 | | 12 | 7 | 7 | 6 | | 2 | |
| 17 | 10 | 4 | 2 | 13 | 9 | 19 | 3 | 14 | 21 | 19 | | 13 | | 6 | 10 | | | |
| 18 | 26 | 25 | 15 | | 3 | 16 | | 1 | 14 | 20 | | | | 1 | 3 | | | |
| 19 | 1 | | 2 | | | 23 | | 2 | | | | | | | | | | |
| 20 | | | 4 | | | 2 | | | | | | | | | | | | |

Nota: Los espacios en blanco representan a las semillas no germinadas, por lo que no se tomaron en cuenta en el procesamiento de datos.

b. Raíz

| Semilla | Control | | | 1% | | | 3% | | | 6.25% | | | 12.5% | | | 25% | | |
|---------|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|----|----|-------|----|----|-----|----|----|
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 1 | 18 | 15 | 14 | 9 | 15 | 15 | 16 | 20 | 11 | 16 | 18 | 17 | 6 | 12 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 18 | 13 | 16 | 18 | 6 | 18 | 14 | 15 | 13 | 17 | 13 | 14 | 4 | 12 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| 3 | 16 | 14 | 14 | 18 | 15 | 11 | 11 | 16 | 12 | 16 | 17 | 16 | 2 | 9 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 4 | 20 | 16 | 14 | 19 | 16 | 14 | 17 | 13 | 13 | 23 | 16 | 14 | 3 | 9 | 9 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 15 | 15 | 16 | 14 | 14 | 17 | 14 | 15 | 11 | 15 | 18 | 14 | 2 | 5 | 2 | 0 | 3 | 3 |
| 6 | 8 | 19 | 19 | 13 | 19 | 17 | 16 | 16 | 19 | 15 | 20 | 16 | 1 | 10 | 10 | 1 | 0 | 0 |
| 7 | 14 | 19 | 13 | 18 | 19 | 13 | 11 | 20 | 16 | 15 | 17 | 18 | 1 | 3 | 2 | 1 | 4 | 1 |
| 8 | 14 | 14 | 15 | 22 | 13 | 20 | 13 | 13 | 19 | 16 | 14 | 10 | 5 | 3 | 2 | 1 | 3 | 1 |
| 9 | 19 | 14 | 15 | 17 | 13 | 16 | 16 | 15 | 12 | 20 | 17 | 4 | 4 | 3 | 5 | 1 | 0 | 1 |
| 10 | 19 | 16 | 15 | 16 | 15 | 15 | 14 | 15 | 11 | 10 | 15 | 18 | 2 | 4 | 9 | 1 | 4 | 0 |
| 11 | 13 | 16 | 19 | 21 | 20 | 14 | 18 | 18 | 16 | 17 | 8 | 7 | 0 | 5 | 2 | 1 | 3 | 1 |
| 12 | 2 | 16 | 12 | 14 | 15 | 15 | 18 | 15 | 20 | 17 | 6 | 15 | 5 | 7 | 3 | | 0 | 2 |
| 13 | 18 | 12 | 17 | 19 | 10 | 16 | 15 | 13 | 16 | 18 | 2 | 19 | 4 | 4 | 4 | | 3 | |
| 14 | 18 | 14 | 18 | 14 | 8 | 18 | 13 | 15 | 14 | 18 | 4 | 11 | 4 | 2 | 3 | | 0 | |
| 15 | 15 | 14 | 11 | 14 | 15 | 7 | 11 | 9 | 15 | 19 | 2 | 16 | 2 | 3 | 1 | | 1 | |
| 16 | 16 | 8 | 14 | 8 | 14 | 15 | 2 | 15 | 17 | 21 | | 7 | 5 | 8 | 1 | | 1 | |
| 17 | 10 | 3 | 19 | 15 | 15 | 14 | 3 | 9 | 18 | 16 | | 14 | | 2 | 6 | | | |
| 18 | 19 | 15 | 22 | | 3 | 18 | | 3 | 11 | 13 | | | | 2 | 2 | | | |
| 19 | 1 | | 2 | | | 13 | | 3 | | | | | | | | | | |
| 20 | | | 2 | | | 3 | | | | | | | | | | | | |

Nota: Los espacios en blanco representan a las semillas no germinadas, por lo que no se tomaron en cuenta en el procesamiento de datos, mientras que los ceros indican que hubo germinación, pero la raíz no se desarrolló.

3.2.4. Crecimiento – Efluente

Crecimiento de cada parte de la *L. sativa* medida en milímetros, después de 120 horas sometidas al efluente.

a. Hipocótilo

| Semilla | Control | | | 1% | | | 3% | | | 6.25% | | | 12.5% | | | 25% | | |
|---------|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|----|----|-------|----|----|-----|----|----|
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 1 | 21 | 24 | 23 | 23 | 24 | 22 | 24 | 26 | 23 | 23 | 23 | 20 | 18 | 7 | 17 | 2 | 4 | 3 |
| 2 | 24 | 24 | 22 | 13 | 27 | 23 | 25 | 24 | 21 | 22 | 23 | 23 | 19 | 16 | 19 | 3 | 2 | 1 |
| 3 | 24 | 24 | 20 | 24 | 26 | 22 | 22 | 21 | 22 | 23 | 21 | 24 | 16 | 14 | 7 | 2 | 3 | 2 |
| 4 | 23 | 21 | 20 | 19 | 21 | 17 | 20 | 13 | 22 | 19 | 25 | 22 | 20 | 9 | 15 | 2 | 4 | 3 |
| 5 | 23 | 25 | 23 | 23 | 23 | 17 | 22 | 24 | 24 | 21 | 24 | 23 | 14 | 10 | 14 | 1 | 2 | 2 |
| 6 | 23 | 26 | 24 | 21 | 21 | 25 | 24 | 20 | 21 | 16 | 23 | 26 | 14 | 10 | 15 | 2 | 3 | 4 |
| 7 | 22 | 26 | 23 | 25 | 19 | 19 | 23 | 20 | 14 | 15 | 25 | 23 | 9 | 9 | 13 | 2 | 2 | 2 |
| 8 | 22 | 24 | 18 | 20 | 23 | 22 | 23 | 13 | 23 | 22 | 19 | 19 | 6 | 10 | 10 | 3 | 2 | 4 |
| 9 | 22 | 25 | 22 | 24 | 21 | 14 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 | 20 | 10 | 8 | 7 | 2 | 2 | 3 |
| 10 | 24 | 24 | 28 | 20 | 25 | 20 | 19 | 22 | 20 | 23 | 18 | 20 | 8 | 8 | 6 | 2 | 4 | 3 |
| 11 | 13 | 23 | 28 | 23 | 24 | 16 | 23 | 20 | 22 | 20 | 17 | 19 | 15 | 6 | 7 | 3 | 3 | 4 |
| 12 | 2 | 24 | 24 | 20 | 19 | 21 | 24 | 22 | 13 | 7 | 20 | 20 | 5 | 8 | 7 | 4 | 4 | |
| 13 | 20 | 17 | 26 | 24 | 22 | 19 | 25 | 21 | 23 | 23 | 1 | 15 | 8 | 8 | 6 | 1 | 2 | |
| 14 | 21 | 17 | 17 | 12 | 1 | 15 | 20 | 20 | 16 | 4 | 3 | 3 | 4 | 7 | 1 | 4 | 4 | |
| 15 | 23 | 7 | 17 | 7 | 2 | 19 | 23 | 13 | 22 | 2 | | 4 | 4 | 8 | 6 | | 2 | |
| 16 | 24 | 10 | 22 | 8 | | 22 | 21 | 2 | 20 | 1 | | 1 | 10 | 3 | 6 | | | |
| 17 | 10 | 4 | 2 | 21 | | 8 | 9 | 3 | 25 | | | 1 | 8 | 2 | 4 | | | |
| 18 | 26 | 25 | 15 | 6 | | 1 | 5 | | 23 | | | 3 | 6 | | 4 | | | |
| 19 | 1 | | 2 | 2 | | 2 | | | 5 | | | | 8 | | 6 | | | |
| 20 | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | |

b. Raíz

| Semilla | Control | | | 1% | | | 3% | | | 6.25% | | | 12.5% | | | 25% | | |
|---------|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|----|----|-------|----|----|-----|----|----|
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 1 | 18 | 15 | 14 | 18 | 18 | 17 | 20 | 17 | 19 | 18 | 18 | 14 | 12 | 8 | 12 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 18 | 13 | 16 | 13 | 20 | 18 | 17 | 20 | 16 | 14 | 15 | 18 | 13 | 12 | 13 | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 16 | 14 | 14 | 14 | 16 | 15 | 19 | 12 | 16 | 15 | 16 | 17 | 7 | 10 | 4 | 4 | 0 | 1 |
| 4 | 20 | 16 | 14 | 16 | 17 | 9 | 18 | 7 | 16 | 16 | 19 | 17 | 9 | 5 | 10 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 15 | 15 | 16 | 19 | 19 | 12 | 18 | 17 | 23 | 18 | 14 | 20 | 9 | 10 | 5 | 1 | 0 | 1 |
| 6 | 8 | 19 | 19 | 19 | 12 | 17 | 20 | 17 | 14 | 16 | 17 | 22 | 12 | 3 | 12 | 1 | 1 | 0 |
| 7 | 14 | 19 | 13 | 14 | 20 | 16 | 15 | 16 | 12 | 9 | 18 | 18 | 10 | 9 | 10 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 14 | 14 | 15 | 16 | 19 | 14 | 21 | 6 | 17 | 16 | 21 | 22 | 4 | 9 | 3 | 4 | 1 | 1 |
| 9 | 19 | 14 | 15 | 19 | 15 | 10 | 20 | 19 | 15 | 15 | 18 | 20 | 6 | 9 | 4 | 3 | 1 | 2 |
| 10 | 19 | 16 | 15 | 19 | 15 | 15 | 18 | 13 | 16 | 17 | 16 | 13 | 3 | 5 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| 11 | 13 | 16 | 19 | 14 | 17 | 10 | 18 | 20 | 15 | 17 | 12 | 16 | 9 | 2 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| 12 | 2 | 16 | 12 | 15 | 15 | 9 | 14 | 19 | 15 | 11 | 17 | 17 | 5 | 4 | 3 | 3 | 0 | |
| 13 | 18 | 12 | 17 | 16 | 15 | 17 | 16 | 18 | 20 | 13 | 3 | 13 | 7 | 4 | 4 | 1 | 1 | |
| 14 | 18 | 14 | 18 | 14 | 2 | 10 | 14 | 15 | 7 | 3 | 2 | 10 | 4 | 5 | 4 | 1 | 0 | |
| 15 | 15 | 14 | 11 | 10 | 2 | 21 | 17 | 13 | 20 | 1 | | 6 | 7 | 9 | 2 | | 0 | |
| 16 | 16 | 8 | 14 | 2 | | 16 | 17 | 1 | 15 | 2 | | 2 | 7 | 4 | 2 | | | |
| 17 | 10 | 3 | 19 | 9 | | 9 | 13 | 1 | 19 | | | 4 | 4 | 3 | 1 | | | |
| 18 | 19 | 15 | 22 | 5 | | 5 | 3 | | 14 | | | 1 | 4 | | 4 | | | |
| 19 | 1 | | 2 | 2 | | 2 | | | 5 | | | | 4 | | 4 | | | |
| 20 | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |

Nota: Los espacios en blanco representan a las semillas no germinadas, por lo que no se tomaron en cuenta en el procesamiento de datos, mientras que los ceros indican que hubo germinación, pero la raíz no se desarrolló.

3.3 – Bioensayo agudo con *Vibrio fischeri*

3.3.1. Bioluminiscencia – Influyente

Bioluminiscencia del *V. fischeri*, expresado en NTU, al ser sometido al influente, tanto al inicio del test como a los 30 minutos siguientes.

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 |
|--------|---------------|---------|---------|---------|
| 0 min | 0% | 8756932 | 8649813 | 8864847 |
| | 0,01% | 7251772 | 7005318 | 7088711 |
| | 0,10% | 7019110 | 6873539 | 7047035 |
| | 1% | 7270871 | 6935549 | 7004599 |
| | 10% | 9306067 | 9214664 | 9217796 |
| | 100% | 9219709 | 9083304 | 9226634 |
| 30 min | 0% | 4259773 | 4198790 | 4167685 |
| | 0,01% | 3266139 | 3223742 | 3282289 |
| | 0,10% | 3057199 | 3024053 | 3219760 |
| | 1% | 3222982 | 3194467 | 3160807 |
| | 10% | 2290875 | 2331546 | 2300017 |
| | 100% | 410765 | 341304 | 369791 |

3.3.2. Bioluminiscencia – Efluente

Bioluminiscencia del *V. fischeri*, expresado en NTU, al ser sometido al efluente, tanto al inicio del test como a los 30 minutos siguientes.

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 |
|--------|---------------|---------|---------|---------|
| 0 min | 0% | 8756932 | 8649813 | 8864847 |
| | 0,01% | 8998939 | 9032603 | 9012045 |
| | 0,10% | 8852844 | 8815277 | 9036714 |
| | 1% | 8850569 | 8885950 | 9011041 |
| | 10% | 8780761 | 8763288 | 8985538 |
| | 100% | 8719278 | 8742694 | 8958904 |
| 30 min | 0% | 4259773 | 4198790 | 4167685 |
| | 0,01% | 4267730 | 4345236 | 4328634 |
| | 0,10% | 4277323 | 4171550 | 4279973 |
| | 1% | 4333581 | 4326935 | 4373372 |
| | 10% | 2085046 | 2155843 | 1889810 |
| | 100% | 3068 | 1595 | 2650 |

3.4 – Bioensayo crónico con *Daphnia magna*

3.4.1. Mortalidad – Influyente

Cantidad de individuos muertos por las diluciones del influente, según el día de conteo.

| Tiempo | Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|--------|---------------|----|----|----|----|
| Día 2 | 0,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1,50% | 1 | 3 | 4 | 3 |
| | 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 4,50% | 5 | 5 | 4 | 5 |
| | 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Día 4 | 0,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1,50% | 2 | 3 | 4 | 3 |
| | 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 4,50% | 5 | 5 | 4 | 5 |
| | 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

3.4.2. Mortalidad – Efluente

Cantidad de muertos por las diluciones del efluente por día.

a. Día 2

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|---------------|----|----|----|----|
| 0,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3,00% | 2 | 0 | 3 | 2 |
| 4,50% | 4 | 2 | 3 | 5 |
| 6,00% | 5 | 3 | 1 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

b. Día 4

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|---------------|----|----|----|----|
| 0,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3,00% | 3 | 1 | 3 | 2 |
| 4,50% | 4 | 3 | 3 | 5 |
| 6,00% | 5 | 3 | 1 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

c. Día 6

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3,00% | 3 | 1 | 4 | 3 |
| 4,50% | 4 | 3 | 3 | 5 |
| 6,00% | 5 | 3 | 3 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

d. Día 7

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1,50% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3,00% | 3 | 1 | 4 | 3 |
| 4,50% | 4 | 3 | 3 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 3 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

e. Día 9

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 1,50% | 0 | 2 | 1 | 1 |
| 3,00% | 5 | 3 | 5 | 5 |
| 4,50% | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

f. Día 11

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 1,50% | 0 | 2 | 1 | 1 |
| 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 4,50% | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

g. Día 13

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 2 | 1 |
| 1,50% | 4 | 3 | 1 | 2 |
| 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 4,50% | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

h. Día 15

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 2 | 1 |
| 1,50% | 4 | 3 | 4 | 4 |
| 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 4,50% | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

i. Día 17

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 2 | 1 |
| 1,50% | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 4,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

j. Día 19

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 2 | 1 |
| 1,50% | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 4,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

k. Día 21

| Concentración | R1 | R2 | R3 | R4 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0,00% | 1 | 0 | 2 | 1 |
| 1,50% | 4 | 5 | 5 | 4 |
| 3,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 4,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 6,00% | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7,50% | 5 | 5 | 5 | 5 |

3.4.3. Reproducción – Efluente

Cantidad de neonatos por dilución del efluente, en relación al día de lectura.

a. Día 9

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 18 | 0 |
| 1,50% | 16 | 31 |
| 3,00% | 2 | 11 |
| 4,50% | 1 | 0 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

b. Día 11

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 17 | 0 |
| 1,50% | 16 | 8 |
| 3,00% | 0 | 0 |
| 4,50% | 1 | 2 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

c. Día 13

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 16 | 0 |
| 1,50% | 10 | 5 |
| 3,00% | 0 | 0 |
| 4,50% | 1 | 1 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

d. Día 15

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 16 | 3 |
| 1,50% | 5 | 12 |
| 3,00% | 0 | 0 |
| 4,50% | 1 | 0 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

e. Día 17

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 16 | 5 |
| 1,50% | 3 | 4 |
| 3,00% | 0 | 0 |
| 4,50% | 0 | 0 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

f. Día 19

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 16 | 8 |
| 1,50% | 3 | 3 |
| 3,00% | 0 | 0 |
| 4,50% | 0 | 0 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

g. Día 21

| Concentración | Vivos | Nacidos |
|----------------------|--------------|----------------|
| 0,00% | 16 | 7 |
| 1,50% | 2 | 4 |
| 3,00% | 0 | 0 |
| 4,50% | 0 | 0 |
| 6,00% | 0 | 0 |
| 7,50% | 0 | 0 |

Anexo 4: PRUEBAS ESTADÍSTICAS

4.1 – Bioensayo agudo (24h) con *Daphnia magna* - Influyente

4.1.1. Mortalidad – Influyente

a. 24 horas

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: inf24\$Muertos
D = 0.35133, p-value = 4.637e-11

Bartlett test of homogeneity of variances

data: inf24\$Muertos and inf24\$Concentración
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: inf24\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|----------------------|----|--------|---------|---------|---------------|
| inf24\$Concentración | 1 | 331.72 | 331.72 | 78.261 | 7.326e-10 *** |
| Residuals | 30 | 127.16 | 4.24 | | |

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 26 | 4.6484 | 1 |

b. 48 horas

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: inf48\$Muertos
D = 0.3524, p-value = 3.93e-11

Bartlett test of homogeneity of variances

data: inf48\$Muertos and inf48\$Concentración
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: inf48\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|----------------------|----|--------|---------|---------|--------------|
| inf48\$Concentración | 1 | 314.54 | 314.538 | 79.32 | 6.32e-10 *** |
| Residuals | 30 | 118.96 | 3.965 | | |

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 26 | 4.5076 | 1 |

4.1.2. Mortalidad – Efluente

a. 24 horas

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: efl24\$Muertos
D = 0.26346, p-value = 5.174e-06

Bartlett test of homogeneity of variances

data: efl24\$Muertos and efl24\$Concentración
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: efl24\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | |
|----------------------|----|--------|---------|---------|-----------|-----|
| efl24\$Concentración | 1 | 472.04 | 472.04 | 103.99 | 2.895e-11 | *** |
| Residuals | 30 | 136.18 | 4.54 | | | |

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 26 | 5.6392 | 1 |

b. 48 horas

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: efl48\$Muertos
D = 0.26171, p-value = 6.278e-06

Bartlett test of homogeneity of variances

data: efl48\$Muertos and efl48\$Concentración
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: efl48\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | |
|----------------------|----|--------|---------|---------|-----------|-----|
| efl48\$Concentración | 1 | 439.92 | 439.92 | 115.81 | 8.056e-12 | *** |
| Residuals | 30 | 113.95 | 3.80 | | | |

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 26 | 4.2748 | 1 |

4.2 – Bioensayo agudo con *Lactuca sativa*

4.2.1. Inhibición de germinación – Influyente

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: gi\$Germ
D = 0.28412, p-value = 2.472e-05

Bartlett test of homogeneity of variances

data: gi\$Germ and gi\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: gi\$Germ

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|---------|---------|---------|---------------|
| gi\$Conc | 1 | 1165.97 | 1166 | 106 | 7.084e-10 *** |
| Residuals | 22 | 241.99 | 11 | | |

Lack-of-fit test

| | Model | Df | RSS | Df | F value | p value |
|-----------|-------|----|---------|----|---------|---------|
| ANOVA | | 16 | 0.07500 | | | |
| DRC model | | 22 | 0.26476 | 6 | 6.7472 | 0.0010 |

4.2.2. Inhibición de germinación – Efluente

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: ge\$Germ
D = 0.2697, p-value = 8.854e-05

Bartlett test of homogeneity of variances

data: ge\$Germ and ge\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: ge\$Germ

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|---------|---------|---------|---------------|
| ge\$Conc | 1 | 1145.47 | 1145.47 | 96.004 | 1.747e-09 *** |
| Residuals | 22 | 262.49 | 11.93 | | |

Lack-of-fit test

| | Model | Df | RSS | Df | F value | p value |
|-----------|-------|----|---------|----|---------|---------|
| ANOVA | | 16 | 0.08500 | | | |
| DRC model | | 22 | 0.30279 | 6 | 6.8326 | 0.0010 |

4.2.3. Inhibición de crecimiento – Influyente

a. Hipocótilo

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: ih\$Porc
D = 0.20748, p-value = 0.008906

Bartlett test of homogeneity of variances

data: ih\$Porc and ih\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: ih\$Porc

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| ih\$Conc | 1 | 26596 | 26595.5 | 40.772 | 2.002e-06 *** |
| Residuals | 22 | 14350 | 652.3 | | |

Lack-of-fit test

| | Model | Df | RSS | Df | F value | p value |
|-----------|-------|----|----------|----|---------|---------|
| ANOVA | | 16 | 0.088467 | | | |
| DRC model | | 22 | 0.182107 | 6 | 2.8226 | 0.0454 |

b. Raíz

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: ir\$Porc
D = 0.25573, p-value = 0.000283

Bartlett test of homogeneity of variances

data: ir\$Porc and ir\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: ir\$Porc

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| ir\$Conc | 1 | 30172 | 30172.4 | 30.487 | 1.505e-05 *** |
| Residuals | 22 | 21773 | 989.7 | | |

Lack-of-fit test

| | Model | Df | RSS | Df | F value | p value |
|-----------|-------|----|----------|----|---------|---------|
| ANOVA | | 16 | 0.087909 | | | |
| DRC model | | 22 | 0.107502 | 6 | 0.5943 | 0.7306 |

4.2.3. Inhibición de crecimiento – Efluente

a. Hipocótilo

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: eh\$Porc
D = 0.22412, p-value = 0.002994

Bartlett test of homogeneity of variances

data: eh\$Porc and eh\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: eh\$Porc

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| eh\$Conc | 1 | 28906 | 28906.0 | 44.1 | 1.121e-06 *** |
| Residuals | 22 | 14420 | 655.5 | | |

Lack-of-fit test

| | Model | Df | RSS | Df | F value | p value |
|-----------|-------|----|----------|----|---------|---------|
| ANOVA | | 16 | 0.046275 | | | |
| DRC model | | 22 | 0.065707 | 6 | 1.1198 | 0.3943 |

b. Raíz

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: er\$Porc
D = 0.2524, p-value = 0.0003692

Bartlett test of homogeneity of variances

data: er\$Porc and er\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 7, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: er\$Porc

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| er\$Conc | 1 | 31260 | 31260.0 | 36.84 | 4.145e-06 *** |
| Residuals | 22 | 18668 | 848.5 | | |

Lack-of-fit test

| | Model | Df | RSS | Df | F value | p value |
|-----------|-------|----|----------|----|---------|---------|
| ANOVA | | 16 | 0.055634 | | | |
| DRC model | | 22 | 0.080138 | 6 | 1.1746 | 0.3675 |

4.3 – Bioensayo agudo con *Vibrio fischeri*

4.3.1. Bioluminiscencia – Influyente

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: i\$Biolum
D = 0.35614, p-value = 1.487e-06

Bartlett test of homogeneity of variances

data: i\$Biolum and i\$Conc
Bartlett's K-squared = 3.518, df = 5, p-value = 0.6207

Analysis of Variance Table

Response: i\$Biolum

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| i\$Conc | 1 | 16821 | 16821 | 85.386 | 8.149e-08 *** |
| Residuals | 16 | 3152 | 197 | | |

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 13 | 1.1372 | 1 |

4.3.2. Bioluminiscencia – Efluente

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e\$Biolum
D = 0.38708, p-value = 7.956e-08

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e\$Biolum and e\$Conc
Bartlett's K-squared = 22.245, df = 5, p-value = 0.0004703

Analysis of Variance Table

Response: e\$Biolum

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|---------|---------|---------|---------------|
| e\$Conc | 1 | 22131.8 | 22131.8 | 79.441 | 1.328e-07 *** |
| Residuals | 16 | 4457.5 | 278.6 | | |

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 13 | 339.75 | 0 |

4.4 – Bioensayo crónico con *Daphnia magna*

4.4.1. Mortalidad – Influyente

a. Día 2

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: i2\$Muertos
D = 0.36302, p-value = 5.755e-09

Bartlett test of homogeneity of variances

data: i2\$Muertos and i2\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: i2\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| i2\$Conc | 1 | 56.7 | 56.700 | 39.226 | 2.649e-06 *** |
| Residuals | 22 | 31.8 | 1.445 | | |

b. Día 4

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: i4\$Muertos
D = 0.36145, p-value = 6.95e-09

Bartlett test of homogeneity of variances

data: i4\$Muertos and i4\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: i4\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------------|
| i4\$Conc | 1 | 54.032 | 54.032 | 39.721 | 2.42e-06 *** |
| Residuals | 22 | 29.926 | 1.360 | | |

c. Ajuste del modelo

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|----|-------------|---------|
| DRC model | 36 | 8.002 | 1 |

4.4.2. Mortalidad – Efluente

a. Día 2

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e2\$Muertos
D = 0.23331, p-value = 0.001567

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e2\$Muertos and e2\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e2\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e2\$Conc | 1 | 79.289 | 79.289 | 67.956 | 3.575e-08 *** |
| Residuals | 22 | 25.669 | 1.167 | | |

b. Día 4

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e4\$Muertos
D = 0.20795, p-value = 0.008647

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e4\$Muertos and e4\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e4\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e4\$Conc | 1 | 78.229 | 78.229 | 72.91 | 1.968e-08 *** |
| Residuals | 22 | 23.605 | 1.073 | | |

c. Día 6

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e6\$Muertos
D = 0.22356, p-value = 0.00311

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e6\$Muertos and e6\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e6\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------------|
| e6\$Conc | 1 | 82.514 | 82.514 | 93.965 | 2.12e-09 *** |
| Residuals | 22 | 19.319 | 0.878 | | |

d. Día 7

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e7\$Muertos
D = 0.22481, p-value = 0.002854

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e7\$Muertos and e7\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e7\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e7\$Conc | 1 | 89.157 | 89.157 | 107.91 | 6.011e-10 *** |
| Residuals | 22 | 18.176 | 0.826 | | |

e. Día 9

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e9\$Muertos
D = 0.35814, p-value = 1.033e-08

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e9\$Muertos and e9\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e9\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e9\$Conc | 1 | 69.004 | 69.004 | 56.319 | 1.677e-07 *** |
| Residuals | 22 | 26.955 | 1.225 | | |

f. Día 11

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e11\$Muertos
D = 0.38347, p-value = 4.494e-10

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e11\$Muertos and e11\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e11\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e11\$Conc | 1 | 62.229 | 62.229 | 43.317 | 1.281e-06 *** |
| Residuals | 22 | 31.605 | 1.437 | | |

g. Día 13

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e13\$Muertos
D = 0.37069, p-value = 2.251e-09

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e13\$Muertos and e13\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e13\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e13\$Conc | 1 | 42.432 | 42.432 | 38.586 | 2.982e-06 *** |
| Residuals | 22 | 24.193 | 1.100 | | |

h. Día 15

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e15\$Muertos
D = 0.35047, p-value = 2.545e-08

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e15\$Muertos and e15\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e15\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e15\$Conc | 1 | 31.557 | 31.5571 | 31.166 | 1.302e-05 *** |
| Residuals | 22 | 22.276 | 1.0126 | | |

i. Día 17

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e17\$Muertos
D = 0.40571, p-value = 2.349e-11

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e17\$Muertos and e17\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e17\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e17\$Conc | 1 | 28.289 | 28.2893 | 24.246 | 6.334e-05 *** |
| Residuals | 22 | 25.669 | 1.1668 | | |

j. Día 19

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e19\$Muertos
D = 0.40571, p-value = 2.349e-11

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e19\$Muertos and e19\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e19\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------------|
| e19\$Conc | 1 | 28.289 | 28.2893 | 24.246 | 6.334e-05 *** |
| Residuals | 22 | 25.669 | 1.1668 | | |

k. Día 21

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: e21\$Muertos
D = 0.43695, p-value = 2.717e-13

Bartlett test of homogeneity of variances

data: e21\$Muertos and e21\$Conc
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

Analysis of Variance Table

Response: e21\$Muertos

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | |
|-----------|----|--------|---------|---------|-----------|-----|
| e21\$Conc | 1 | 26.414 | 26.4143 | 20.691 | 0.0001579 | *** |
| Residuals | 22 | 28.086 | 1.2766 | | | |

I. Ajuste del modelo

Goodness-of-fit test

| | Df | Chisq value | p value |
|-----------|-----|-------------|---------|
| DRC model | 190 | 39.371 | |