

**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LA REACCIÓN GLOBAL DE
PEROXIDACIÓN CATALÍTICA EN FASE HÚMEDA (PCFH) EN MATERIA
ORGÁNICA NATURAL SOBRE EL BIOINDICADOR *Daphnia magna***

**MARCELA YAQUELINE BOTINA JOSA
NIEVES ALEJANDRA CAICEDO DELGADO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2019**

**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LA REACCIÓN GLOBAL DE
PEROXIDACIÓN CATALÍTICA EN FASE HÚMEDA (PCFH) EN MATERIA
ORGÁNICA NATURAL SOBRE EL BIOINDICADOR *Daphnia magna***

**MARCELA YAQUELINE BOTINA JOSA
NIEVES ALEJANDRA CAICEDO DELGADO**

**Trabajo de grado en la modalidad de investigación, presentado como
requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Producción Acuícola**

**Director:
CAMILO LENIN GUERRERO ROMERO
Ingeniero en Producción Acuícola**

**Codirectora:
DOLLY REVELO ROMO
Bióloga, MSc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2019**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1º del acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN:

CAMILO LENIN GUERRERO ROMERO
Director

DOLLY REVELO ROMO
Codirectora

GLORIA LUCÍA CÁRDENAS CALVACHI
Jurado delegado

IVÁN SÁNCHEZ ORTIZ
Jurado

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por darme miles de motivos para luchar cada día por mis sueños, por haberme dado la vida y por la fortaleza que me brinda todos los días.

Este largo y arduo trabajo se lo quiero dedicar a las personas más importantes de mi vida, las cuales me dan motivación para continuar superándome, estas personas se roban mi corazón diariamente, primero que todo a mis amados padres: Tania Delgado y Luis Caicedo a ellos les agradezco por su buen ejemplo, por su valentía y por todo el apoyo que me han brindado en toda mi vida, por ellos y gracias a ellos soy quien soy hoy en día, una persona que lucha por lo que quiere, una persona responsable, respetuosa y valiente, gracias papitos los AMO con toda mi alma.

También a mis otros motores de vida, que a pesar de que me hacen enojar así mismo me han dado miles de alegrías y me han hecho sentir el amor que una madre puede llegar a sentir por un hijo, a mis hermanos Sara y Sebastián.

Alejandra

“La educación, como la luz del sol, puede y debe llegar a todos”.

José Pedro Varela

DEDICATORIA

Este nuevo logro se lo dedico a mi madre Teresa por haberme apoyado incondicionalmente en todo momento, por sus consejos, valores por la motivación constante para culminar esta etapa de mi vida, a mi Padre Miguel por su comprensión y buena educación, a mis hermanos por su apoyo durante todo el transcurso de esta carrera, por compartir los triunfos y momentos difíciles. A todos ellos infinitas gracias.

Marcela.

AGRADECIMIENTOS

IVÁN ANDRÉS SÁNCHEZ ORTIZ	Ingeniero Civil Docente tiempo completo PhD, Ingeniería Civil
GLORIA LUCÍA CÁRDENAS CALVACHI	Ingeniera Química M.sc., Ingeniera Ambiental Docente hora cátedra Universidad de Nariño.
LUIS ALEJANDRO GALEANO	Químico Magister PhD, en Ciencias Químicas Director del grupo de investigación GIMFC
ARSENIO HIDALGO TROYA	Licenciado en Matemáticas y Física Economista Asesor estadístico
LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA	Zootecnista. Esp. Secretario académico de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.
PIEDAD MEJÍA SANTACRUZ	Secretaria del Departamento de Recursos Hidrobiológicos de la Universidad de Nariño.
ÓSCAR MEJÍA SANTACRUZ	Economista. Auxiliar. Biblioteca General Luis Santander.

Al Grupo de Investigación en Materiales Funcionales y Catálisis (GIMFC) de la Universidad de Nariño, por su apoyo en la financiación de este trabajo de grado.

A Camilo Guerrero, Ingeniero en Producción Acuícola, por su apoyo incondicional desde el inicio de nuestra carrera, por brindarnos su sabiduría sin egoísmos, por toda la gran labor que cumple diariamente.

A Dolly Revelo, Bióloga MSc., por su acompañamiento en todo este proceso y por su buen trabajo de asesoría y contribución al desarrollo de esta investigación.

A Ana María García, Química, por su colaboración en el desarrollo de los ensayos catalíticos, por su dedicación y empeño por contribuir al desarrollo de esta investigación.

A nuestros compañeros y amigos: Natalia Calpa, Humberto Jaramillo, Edwin Ramos, Sol de María Bravo, Jhonatan Anganoy y David Narváez, por brindarnos su amistad incondicional y acompañamiento en este largo proceso.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	20
DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	23
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	27
1. OBJETIVOS	28
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	28
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
2. MARCO TEÓRICO	29
2.1 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA (POAs)	29
2.1.1 Peroxidación catalítica en fase húmeda (PCFH).	30
2.1.4 Materia Orgánica Natural (MON).	31
2.2 TOXICOLOGÍA	32
2.2.1 Toxicidad.....	33
2.2.2 Eco-toxicología.	33
2.2.3 Prueba de toxicidad.	34
2.3 BIOINDICADORES	36
2.3.1 <i>Daphnia magna</i>	36
2.3.2 Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).....	37
3. DISEÑO METODOLÓGICO	38
3.1 LOCALIZACIÓN.....	39
3.2 MATERIAL BIOLÓGICO.....	39
3.3 MATERIAL QUÍMICO	39
3.4 PLAN DE MANEJO	39
3.4.1 Instalaciones, equipos y materiales.	39
3.4.3 Metodología de muestreo de aguas para los ensayos catalíticos.	40
3.4.4 Desarrollo ensayos catalíticos.	41
3.4.5 Toma de muestras de los ensayos catalíticos para los ensayos de toxicidad.	44
3.4.6 Preparación de alimento para <i>D. magna</i>	45
3.4.7 Mantenimiento de cultivo de <i>D. magna</i>	46
3.4.8 Ensayos de viabilidad con $K_2Cr_2O_7$	46
3.4.9 Ensayos de toxicidad a partir de un patrón sintético de MON sobre <i>D. magna</i>	46
3.4.10 Ensayo de toxicidad empleando <i>D. magna</i>	46

3.4.11 Ensayos de toxicidad empleando <i>D. magna</i> para el ajuste de agente oxidante H_2O_2 y agente reductor Na_2SO_3	46
3.4.12 Medición de COT en las muestras con MON.....	47
3.4.13 Monitoreo de parámetros físico-químicos en los ensayos de toxicidad.	47
3.5 MONTAJE EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
3.6 VARIABLES A EVALUAR	48
4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	50
4.1 COMPROBACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE <i>D. magna</i> EMPLEANDO COMO TOXÍCO DE REFERENCIA $K_2Cr_2O_7$	50
4.2 ENSAYOS DE TOXICIDAD DE MON A PARTIR DE UN PATRÓN SINTÉTICO SOBRE <i>D. magna</i>	50
4.3 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS EN Na_2SO_3 y H_2O_2 SOBRE <i>D. magna</i>	53
4.4 DEGRADACIÓN DE COT, CONCENTRACION DE H_2O_2 REMANENTE Y DECOLORACIÓN POR MEDIO DE LA TECNOLOGÍA PCFH EN LOS DIFERENTES TIEMPOS DE REACCIÓN.	56
4.5 CE_{50} RESPECTO AL TIEMPO DE REACCIÓN DE LA PCFH SOBRE <i>D. magna</i> ..	58
4.6 INMOVILIZACIÓN DE <i>D. magna</i> EN LAS MUESTRAS DE AGUA OBTENIDAS A DIFERENTES TIEMPOS DE REACCIÓN DE LA PCFH.....	60
4.7 CORRELACIÓN DE pH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA SOBRE LA INMOVILIZACIÓN DE <i>D. magna</i>	63
4.7.1 Resultados de pH en las diferentes muestras de agua.	63
4.7.2 Correlación del efecto de pH sobre la inmovilización de <i>D. magna</i>	65
4.7.3 Resultados de conductividad eléctrica en las muestras de agua de los ensayos toxicológicos con <i>D. magna</i>	67
4.7.3 Correlación del efecto de la conductividad eléctrica, sobre la inmovilización de <i>D. magna</i>	21
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
5.1 CONCLUSIONES	68
5.2 RECOMENDACIONES	70
BIBLIOGRAFÍA	71

TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Muestras procesadas en los ensayos de toxicidad.....	45
Tabla 2. Carta control para <i>D. magna</i>	50
Tabla 3. CL ₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON (Ensayo 1).	51
Tabla 4. CL ₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON (Ensayo 2).	51
Tabla 5. CL ₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON (Ensayo 3).	52
Tabla 6. CL ₅₀ de Na ₂ SO ₃ (blanco) sobre <i>D. magna</i>	53
Tabla 7. CL ₅₀ de H ₂ O ₂ (blanco) sobre <i>D. magna</i>	54
Tabla 8. CL ₅₀ en la combinación de diferentes concentraciones de H ₂ O ₂ y Na ₂ SO ₃ sobre <i>D. magna</i>	54
Tabla 9. Valores de COT y concentración de color presentes en las muestras de agua en los diferentes tiempos de reacción.....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 10. Valores de H ₂ O ₂ remanente presentes en las muestras de agua en los diferentes tiempos de reacción.....	20
Tabla 11. Tiempo de reacción de la PCFH al cual se inmoviliza el 50% de la población de <i>D. magna</i> CE ₅₀ -48 h.....	59
Tabla 12. Porcentaje de inmovilización de <i>D. magna</i> en muestras de agua obtenidas a diferentes tiempos de aplicación de la tecnología PCFH.	61
Tabla 13. Resultados pH al inicio y al final de los ensayos toxicológicos.	20
Tabla 14. Valores de correlación entre pH e inmovilización.	66
Tabla 15. Resultados de conductividad eléctrica al inicio y al final de los ensayos toxicológicos.	20
Tabla 16. Correlación entre conductividad eléctrica e inmovilización.	22

FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Montaje experimental para llevar a cabo la degradación catalítica de MON mediante la PCFH. a) Representación esquemática. b) Fotografía de un ensayo catalítico.	43
Figura 2. Porcentaje de inmovilización de <i>D. magna</i> vs tiempo de aplicación de la tecnología PCFH en las diferentes muestras de agua tratadas.	62

ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Cultivo de mantenimiento de alimento algal.	77
Anexo B. Conteo de algas en cámara de Neubauer.	81
Anexo C. Cultivo controlado de <i>Daphnia magna</i>	86
Anexo D. Determinación de toxicidad por medio de <i>D. magna</i>	90
Anexo E. Resultados del modelo Probit para la CL ₅₀ en dicromato de potasio.	93
Anexo F. Resultados del modelo Probit para la CL ₅₀ de MON.	104
Anexo G. Resultados del modelo Probit para la CL ₅₀ en Na ₂ SO ₃	107
Anexo H. Resultados del modelo Probit para la CL ₅₀ en H ₂ O ₂	108
Anexo I. Resultados del modelo Probit para la CE ₅₀ respecto al tiempo de reacción de la PCFH en las diferentes muestras de agua.	109
Anexo J. Resultados del modelo Probit para la CE ₅₀ respecto a la COT de la PCFH en las diferentes muestras de agua.	118
Anexo K. Coeficiente de correlación de Spearman con respecto al pH en las diferentes muestras de agua.	119
Anexo L. Coeficiente de correlación de Spearman con respecto a la conductividad eléctrica en las diferentes muestras de agua.	131
Anexo M. Resultados parámetros fisicoquímicos determinados para cada punto de muestreo.	140

GLOSARIO

BIOENSAYO: ensayo en el cual el poder o potencia de una sustancia es medido a través de la respuesta de organismos vivos o sistemas vivientes.

BIOINDICADOR: organismo vivo que se utiliza para determinar y evaluar el índice de contaminación de un lugar, especialmente de la atmósfera o del agua.

CATALIZADOR: sustancia química, simple o compuesta, que modifica la velocidad de una reacción química, interviniendo en ella pero sin llegar a formar parte de los productos resultantes de la misma.

CLORACIÓN: tratamiento de desinfección de aguas mediante el empleo de cloro o compuestos clorados, para hacerlas potables o para mejorar sus condiciones higiénicas.

CONCENTRACIÓN MEDIA EFECTIVA (CE₅₀): es la concentración del tóxico que puede causar efectos adversos negativos apreciables en el 50% de la población de prueba.

CONCENTRACIÓN MEDIA LETAL (CL₅₀): es la concentración de una sustancia que podría causar la muerte del 50% de la población de prueba.

CONTAMINANTE: sustancia ajena a un sistema natural en cierta concentración, que se presenta generalmente por causa de actividad antrópica directa o indirecta, provocando un cambio adverso.

ECOTOXICOLOGÍA: se ocupa de estudiar los efectos tóxicos de sustancias químicas y agentes físicos en particular atención en poblaciones y comunidades de organismos vivos dentro de ecosistemas definidos.

ENSAYO DE TOXICIDAD: bioensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota.

INMOVILIDAD O INMOVILIZACIÓN: incapacidad de los organismos para nadar (o también rotar o hacer movimientos circulares), durante los 15 s siguientes a la aplicación de una agitación ligera de las soluciones de ensayo y de control, incluso si pueden aún mover sus antenas.

MATERIA ORGÁNICA NATURAL: compuestos orgánicos que provienen de los restos de organismos que alguna vez estuvieron vivos, tales como plantas, animales y sus productos de residuo en el ambiente natural.

PEROXIDACIÓN CATALÍTICA EN FASE HÚMEDA: tratamiento que puede llevar a la mineralización completa de los contaminantes hasta CO_2 o H_2O , o generar una degradación parcial de los compuestos no biodegradables en intermediarios menos biorrefractarios.

REACTOR: es una unidad procesadora diseñada para que en su interior se lleve a cabo una o varias reacciones químicas.

REACCIÓN FENTON: es un proceso de oxidación avanzada en el cual se producen radicales altamente reactivos, como por ejemplo, hidroxilo ($\text{OH}\cdot$).

TOXICOLOGÍA: ciencia que se encarga del estudio y los efectos de productos tóxicos o venenosos sobre un organismo.

TOXICIDAD AGUDA: consiste en detectar efectos adversos que ocurren sobre organismos de ensayo, en una prueba durante un periodo de exposición relativamente corto.

TOXICIDAD CRÓNICA: consiste en detectar efectos adversos que ocurren a largo plazo como resultado de dosis repetidas con una sustancia química, sobre la mayor parte de vida de un organismo, afectando su metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia.

RESUMEN DEL PROYECTO

En la actualidad uno de los principales desafíos es desarrollar nuevas tecnologías como los Procesos de Oxidación Avanzada (POAs), que contribuyan al tratamiento de aguas para consumo humano, eliminando contaminantes recalcitrantes. La aplicación de dichas tecnologías requiere verificar que no presenten un grado de toxicidad, por lo tanto se evaluó la concentración efectiva 50 (CE₅₀) en la tecnología de la Peroxidación Catalítica en Fase Húmeda (PCFH) en la degradación de materia orgánica natural (MON) sobre *Daphnia magna* a 48 horas de exposición.

La aplicación de la PCFH y los ensayos de toxicidad se llevaron a cabo en los Laboratorios de catálisis del Grupo de Investigación de Materiales Funcionales y Catálisis (GIMFC) (proyecto Agua Potable – SGR: Sistema General de Regalías, componente Química) y de Sanidad Acuícola del Programa de Ingeniería en Producción Acuícola (IPA) (componente Microbiología) respectivamente, de la Universidad de Nariño. Desde el proyecto Agua Potable - SGR se evaluó, a través de la tecnología PCFH, la degradación catalítica de MON, presente en ocho (8) muestras de agua cruda de los siguientes puntos: Orejuela, Charandú, Chaguaipe y efluente post-fisicoquímico de la planta de tratamiento pertenecientes al Municipio de Ipiales, planta de tratamiento del Municipio de Túquerres, planta de tratamiento del Municipio de Pasto y Pueblo Nuevo, Bajo Jagua (Municipio Tumaco) y un ensayo catalítico desarrollado bajo condiciones óptimas de reacción a partir de un patrón sintético de MON, aplicando un ensayo catalítico por cada muestra. Cada ensayo contó con un tiempo de reacción de 240 minutos, obteniendo muestras en los siguientes lapsos de tiempo 0, 30, 75, 120, 165, 210 y 240 minutos, tomando de cada uno 60 mL, con los cuales se efectuaron ensayos de toxicidad. Estos ensayos se llevaron a cabo en los laboratorios de Sanidad Acuícola del Programa de IPA, empleando 2880 neonatos de *D. magna* con edades inferiores a 24 horas de nacidos expuestos por 48 horas, observando inmovilidad de los individuos como indicador de toxicidad; simultáneamente, se realizaron controles de pH y conductividad eléctrica. Con los datos obtenidos, se realizó un análisis estadístico utilizando el modelo Probit con el fin de establecer la CE₅₀ en cada tiempo de reacción para cada uno de los ensayos catalíticos. Para las variables de calidad de agua se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman con el fin de verificar la influencia de estos parámetros sobre la inmovilidad de *D. magna*.

Los resultados de los ensayos de toxicidad observados para las muestras de agua de las veredas Orejuela y Charandú, presentaron 100% de inmovilidad inicialmente, reduciendo su valor hasta 67,5 y 52,5% de inmovilidad respectivamente al final de los ensayos de toxicidad, permitiendo establecer que el remanente del agente reductor sulfito de sodio (Na₂SO₃), pudo ser el causante de la inmovilidad de los individuos de *D. magna*, por ello se realizó un ensayo de toxicidad para determinar la concentración letal (CL₅₀) del Na₂SO₃, encontrando un valor de 34,76 mg/L que permitió replantear la concentración de este agente empleado para la desactivación del agente oxidante peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

en las muestras provenientes de los ensayos catalíticos, por lo tanto, desde el proyecto Agua Potable - SGR se determinó emplear para los demás ensayos catalíticos una relación estequiométrica que estableciera una concentración de Na_2SO_3 mínima, de modo que no afecte la inmovilidad de los individuos; posterior a este ajuste, se realizaron los demás ensayos catalíticos para continuar con los ensayos de toxicidad. Los resultados de las demás muestras presentaron porcentajes de inmovilidad con intervalos de 97,5 y 100% al inicio (T_1) y con una concentración de carbono orgánico total (COT) que varió de 4,65 – 1,54 mg/L, pero a medida que transcurrió el tiempo de reacción, se evidenció una reducción significativa en la inmovilidad llegando a valores de 0, 2,5 y 5% en el tiempo final (T_7) y con intervalos de COT de 3,60 – 1,26 mg/L. Por su parte el ensayo a condiciones óptimas de reacción (patrón sintético de MON) presentó un porcentaje de inmovilidad final (T_7) del 85%, esto debido a la alta concentración de COT presente en la muestra (7,68 mg/L).

Con respecto a la variable pH, presentó una baja correlación de Spearman (0,38 – -0,001) indicando que la inmovilización de los individuos no fue afectada por este parámetro. Por el contrario, la conductividad eléctrica presentó una alta relación (0,96 – 0,69) indicando que dicho parámetro que se asocia con la inmovilidad de los individuos de *D. magna*, esto se puede explicar porque en las muestras de agua existe presencia de COT y sólidos disueltos, que inciden sobre la conductividad eléctrica.

Con el estudio de toxicidad llevado a cabo en esta investigación sobre las aguas tratadas con la PCFH, se logró comprobar que los subproductos formados durante el tiempo de reacción, no representan mayor toxicidad que el compuesto inicial, en este caso la MON presente en las fuentes de agua, comprobando que la toxicidad disminuye con el tratamiento, por lo tanto, desde este punto de vista con la tecnología PCFH se realiza una degradación de MON en las aguas para consumo humano y se recomienda considerar su implementación como técnica alternativa para el tratamiento de agua potable.

ABSTRACT

One of the main concerns currently is the developing of new technologies such as advanced oxidation processes (AOPs), which contribute to the treatment of water for human consumption by removing recalcitrant contaminants. The application of these new technologies requires verifying that they do not present a degree of toxicity, therefore, the effective concentration 50 (EC_{50}) in the technology of the Catalytic Wet Peroxide Oxidation (CWPO) the degradation of natural organic matter has been evaluated. (NOM) on *Daphnia magna* in 48 hours of exposure. The CWPO and toxicity tests they were conducted in the laboratories of catalysis research group Functional Materials and Catalysis (RGFMC) (Químico component or) and Program Engineering in aquaculture production (EAP) (Microbiological component) respectively, belonging by the University of Nariño.

From the Chemical component of the SGR Project - Potable Water, was evaluated through the CWPO technology the catalytic degradation of NOM, present in eight (8) samples of raw water from the following points: Orejuela, Charandú, Chaguaípe and effluent, post-physicochemical of the treatment plant, belonging to the Municipality of Ipiales, treatment plant of the Municipality of Túquerres, treatment plant of the Municipality of Pasto and the trails: Pueblo Nuevo, Bajo Jagua of the Municipality of Tumaco and a catalytic test developed under conditions Optimal reaction from a synthetic pattern of NOM, applying a catalytic test for each sample, each test had a reaction time of 240 minutes, obtaining samples in the following time periods 0, 30, 75, 120, 165, 210 and 240 minutes, taking 60 ml each, from the Microbiological component assays were performed toxicity. These tests were carried out in the Engineering in Aquaculture production laboratories of the EAP Program, using 2880 *D. magna* neonates with less than 24 hours ages after birth exposed for 48 hours, observing immobility of the individuals; Simultaneously, pH and electrical conductivity follow-ups were carried out. With the data obtained, a statistical analysis was performed using the Probit model in order to establish the EC_{50} at each reaction time for each of the catalytic tests. For the water quality variables, the Spearman correlation coefficient was applied in order to verify the influence of these parameters on the immobility of *D. magna*.

The results of the toxicity tests observed for the water samples of the trails Orejuela and Charandú, showed 100% immobility initially (T_1), reducing its value to 67.5 and 52.5 % of immobility respectively during the final time (T_7), allowing to establish that the remnant of the reducing agent sodium sulfite (Na_2SO_3), It could be the cause of immobility of individuals of *D. magna*, thus a test for toxicity determining lethal concentration (LC_{50}) of Na_2SO_3 was performed and found 34.76 mg/L that allowed to rethink the concentration of this agent used for deactivation of the oxidizing agent hydrogen peroxide (H_2O_2) in the samples coming from the catalytic tests, therefore, from the Chemical component it was determined to be used for the other catalytic tests a stoichiometric ratio that establishes

a minimum Na_2SO_3 concentration so that it does not affect the immobility of the individuals; after this adjustment, the other catalytic tests were carried out to continue with the toxicity tests, the results of the other samples showed percentages of immobility with intervals of 97.5 and 100% at the beginning (T_1) and anorganic carbon concentration total (TOC) at intervals of 4.65 - 1.54 mg/L, but as the reaction time elapsed, a significant reduction in immobility was evidenced, reaching values of 0, 2.5 and 5% at the final time (T_7) and with TOC intervals of 3.60 - 1.26 mg/L. Meanwhile the assay to optimum reaction conditions (synthetic pattern NOM) presented a final immobility percent (T_7) 85%, due to the high Concentration in TOC present in the sample 7.68 mg/L.

The pH variable, presented a low correlation of Spearman (-0.72 – 0.05) and showed the immobilization of individuals was not affected by this parameter. Conversely, the electrical conductivity presented a high correlation (0.96 – 0.02) this parameter affected the individuals immobility of *D. magna*, this situation can be explained because in the water samples there is presence of TOC and dissolved solids, which affect the electrical conductivity.

With the toxicity study carried out in this investigation on the waters treated with CWPO, it was possible to verify that the by-products formed during the reaction time do not represent greater toxicity than the initial compound, in this case the NOM present in the sources of water, verifying that the toxicity decreases with the treatment, therefore, from this point of view with the CWPO technology there can be a degradation of NOM in the waters for human consumption and its implementation should be considered as an alternative technique for the treatment of drinking water.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del siglo pasado, el continuo crecimiento de la población junto con la industrialización constante ha llevado a la degradación de varios ecosistemas fundamentales para la vida humana, en el caso de los océanos y los ríos, una degradación tan rápida se ha atribuido principalmente a la descarga de grandes volúmenes de aguas residuales municipales e industriales que se han eliminado de forma inapropiada¹. La UNESCO asegura que los contaminantes son la causa más importante de la pérdida de calidad del agua en todo el mundo; más del 80% de las aguas residuales en los países en vías de desarrollo se descarga sin tratamiento, contaminando ríos, lagos y zonas costeras². Esto ha llevado a nuevos desafíos en el tratamiento de aguas, exigiendo implementación de nuevos métodos, eficientes y económicos.

En la actualidad una de las principales preocupaciones es el desarrollo de nuevos procesos que contribuyan a la descontaminación del agua y al tratamiento de diferentes tipos de contaminantes; a pesar de que para agua potable se utiliza la cloración como tratamiento de descontaminación y este método ha sido un proceso de tratamiento indispensable desde principios del siglo XX, debido a que ha reducido la incidencia de enfermedades transmitidas por el agua, como el cólera, la fiebre tifoidea y la disentería amebiana. A principios de la década de 1970 se encontró que la cloración genera Subproductos de Desinfección (SPDs) que se relacionaron con problemas de salud crónicos³.

En busca de una solución a este inconveniente se investigan nuevas alternativas a este método en las que se destacan los Procesos De Oxidación Avanzada (POAs), estos son una buena opción a las técnicas utilizadas para el tratamiento de aguas contaminadas, con particular relevancia en la eliminación de contaminantes orgánicos tóxicos poco biodegradables⁴. Dentro de estos procesos, se encuentra la Peroxidación Catalítica en Fase Húmeda (PCFH), dichos tratamientos pueden llevar a la mineralización completa de los contaminantes hasta dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), o generar una degradación parcial de los compuestos no

¹ GALEANO, Luis Alejandro. Peroxidación catalítica de contaminantes orgánicos en medio acuoso utilizando una bentonita modificada con Al y Fe, Cu o Mn. Tesis de doctorado en Ciencias Químicas. Salamanca: Universidad de salamanca. Departamento de química inorgánica, 2011. 61 p.

² UNESCO.

³ HU, Jianglin. CHU, Wenhai. SUI, Minghao. XU, Bin. GAO, Naiyun. DING, Shunke. Comparison of drinking water treatment processes combinations for the minimization of subsequent disinfection by-products formation during chlorination and chloramination. *En: Chemical Engineering Journal*. October, 2017. Vol. 335, p. 352-351.

⁴ GALEANO. Óp. Cit., p. 66.

biodegradables en intermediarios menos biorrefractarios⁵. La PCFH es una de las tecnologías con mayor potencial desde el punto de vista técnico-económico en el tratamiento de diversos efluentes contaminantes⁶. El Grupo de Investigación en Materiales Funcionales y Catálisis (GIMFC), optimizó esta tecnología para el tratamiento de aguas de consumo humano como alternativa a la cloración convencional empleada actualmente. Por consiguiente, fue prioritario conocer el efecto tóxico que pudiera tener la reacción global de la PCFH durante el tratamiento de aguas superficiales.

En este contexto los ensayos de toxicidad⁷, son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas; estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos⁸. En las pruebas de toxicidad en la evaluación de efluentes, el microcrustáceo de agua dulce, *D. magna* ha sido ampliamente utilizado como indicador biológico en estudios y control de la calidad del agua⁹. Las también denominadas pulgas de agua son las más utilizadas como organismos de prueba en estudios de toxicidad, por su amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura una uniformidad de respuesta) y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de toxicidad, de carácter universal¹⁰. Los ensayos de toxicidad con *D. magna* permiten determinar la letalidad potencial de sustancias químicas puras, aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas

⁵ AGUILAR, Viviana. Optimización de los parámetros de operación de la peroxidación catalítica en fase húmeda del naranja de metilo e identificación de sus principales subproductos de oxidación. Trabajo de Grado (Química). Pasto: Universidad de Nariño, Facultad de ciencias exactas. 2015. 29 p.

⁶ GALEANO. Op. cit., p 79.

⁷ DÍAZ, María. SOBRERO, María y GRANADOS, Yolanda. Aseguramiento y control de calidad de bioensayos. En: Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas; Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. México: Gabriela Castillo Morales, 2004. p.17. ISBN 968-5536-33-3.

⁸ Ibid., p. 17.

⁹ Fraga, Bruna. y Monteiro, Débora. Sensibilidade de *Daphnia magna* às substâncias de referência K2Cr2O7 e NaCl: uma comparação visando a gestão dos resíduos laboratoriais. Florianópolis, Santa Catarina: 2011. 4 p.

¹⁰ DÍAZ, María. SOBRERO, María y GRANADOS. Op. Cit., p. 52.

superficiales o subterráneas, agua potable y agua de sedimentos, entre otros¹¹. También Chiva, et al.¹², aseguran que este bioindicador ha sido ampliamente utilizado en estudios de POAs.

De acuerdo con lo anterior, en esta investigación se evaluó la toxicidad aguda de la reacción global de la PCFH aplicada a aguas de consumo, sobre *D. magna*. Para ello en el laboratorio de Sanidad Acuícola del Programa de Ingeniería en Producción Acuícola (IPA) de la Universidad de Nariño, se determinó la concentración efectiva (CE₅₀) de muestras tomadas a partir de cada tiempo de reacción de los ensayos catalíticos y se monitorearon los cambios en pH y conductividad eléctrica generados durante la degradación de la Materia Orgánica Natural (MON) con PCFH que afectan al bioindicador. Para tal fin se utilizó la norma ISO 6341 de 2013¹³, la cual establece la metodología para la determinación de CE₅₀, características y condiciones de manejo del cultivo de *D. magna*.

¹¹DÍAZ, María. SOBRERO, María y GRANADOS, Yolanda. Op. cit., p. 52.

¹²CHIVA, Sergio. BERLANGA, José. CUENCA, Raul. CLIMENT, Javier. Procesos de oxidación avanzada en el ciclo integral del agua. Castellón de la Plana: Publicacions de la Universitat Jaume I, 2017. 170 p.

¹³ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. calidad de agua: Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* straus (cladocera crustacea). ensayo de toxicidad aguda. ISO 6341 2012. Madrid España.: AENOR, 2013.

DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El agua es un recurso natural cuya finitud y vulnerabilidad resultan de fundamental importancia, sin ella no podría existir la vida en el planeta, además, tiene un papel vital en el progreso de las comunidades, siendo indispensable que su abastecimiento sea seguro para que una comunidad se establezca permanentemente. Segura¹⁴, afirma que el agua es un componente imprescindible para la vida, contribuye al mantenimiento y funcionamiento de los ecosistemas, a la salud, bienestar y seguridad alimentaria de las sociedades y al avance económico, industrial, social y cultural de un país. En la actualidad la calidad del agua se ha deteriorado siendo el problema más común la eutrofización, resultado de grandes cantidades de nutrientes (principalmente fósforo y nitrógeno), aunado a las necesidades previstas en la producción de alimentos, junto con el aumento de los efluentes de aguas residuales asociados al crecimiento de la población y al vertimiento de las aguas residuales sin tratamiento que deteriora considerablemente los usos benéficos del agua¹⁵. A pesar de las leyes ambientales más estrictas recientemente implementadas en todo el mundo, que han obligado a una caída significativa en la contaminación industrial descargada en los cursos de agua públicos, hay una fracción cada vez mayor de compuestos tóxicos y biorefractarios cuyos tratamientos biológicos o físico-químicos son bastante difíciles¹⁶.

Los métodos de tratamiento del agua para el consumo humano deben prestar especial atención a la desinfección microbiológica segura, de hecho, en los últimos años las leyes de todo el mundo han incluido nuevos y más estrictos parámetros de calidad del agua¹⁷. En Colombia los parámetros de calidad del agua están establecidas en la Resolución 2115 de 2007¹⁸, y en la Norma Técnica Colombiana (NTC) 813; siendo la cloración el método tradicional utilizado; que pese a presentar

¹⁴SEGURA, Luis. Estudio de Antecedentes Sobre la Contaminación Hídrica en Colombia. Trabajo de Grado Administrador Público. Bogotá D.C. Escuela Superior de Administración Pública. Facultad de Pregrado. Programa en Ciencias Políticas y Administrativas. 2007. 10 p.

¹⁵UNESCO

¹⁶GALEANO, Luis Alejandro. GUERRERO, Milena. SANCHEZ, Claudia. GIL, Antonio, Y VICENTE, Miguel. Disinfection By Chemical Oxidation Methods. En: Springer International Publishing AG. 2017. p 39.

¹⁷Ibid., p. 1

¹⁸COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución 2115 (22, Junio, 2007). Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Bogotá: El Ministerio, 2007. 3 p.

muchas ventajas prácticas, como la aplicación simple, alta eficiencia y bajo costo¹⁹, sin embargo, no elimina por completo la materia orgánica presente en las aguas de consumo lo cual puede conducir a la formación de SPDs dañinos²⁰. Así mismo no logra la inactivación total de todos los microorganismos presentes en los suministros de agua reales, como por ejemplo protozoos parásitos como *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* sp., que son algunos de los microorganismos que no pueden ser completamente inactivados por cloración bajo los mismos tiempos de contacto típico de bacterias o eliminación de virus²¹.

Según Francis et al.²², todos los oxidantes químicos, incluyendo cloro, cloraminas, dióxido de cloro u ozono, adicionados al agua para su potabilización generan SPDs como los trihalometanos (THM) a través de precursores orgánicos dentro de la planta de tratamiento y los sistemas de distribución. Así mismo, los ácidos haloacéticos son producidos por los SPDs, estas son sustancias de reconocido peligro para los seres humanos y suponen una amenaza para la salud pública²³. Los estudios epidemiológicos tienen indicio que el consumo de agua potable está relacionado a incidencias de anomalías en el embarazo, cáncer de vejiga, colorrectal y otras enfermedades, también muchos SPDs tienen demostrado potencial mutágeno, carcinogénico y teratogénico en estudios toxicológicos²⁴.

Esto conlleva a la necesidad de implementar tecnologías alternativas como la PCFH, que ha sido denominada como oxidación Fenton heterogénea realizada con catalizadores sólidos²⁵. El GIMFC optimizó esta tecnología, como primera instancia modificó cuatro clases de arcillas con una solución mixta de intercalación Al/Fe – PILCs (Al/Fe-pillared clay), y evaluó su eficiencia en la remoción de naranja de metilo con ensayos catalíticos, encontrando en una sola arcilla (C2-P) una alta eficiencia en la degradación catalítica de naranja de metilo a temperaturas de reacción muy suaves (25,0 +/- 1,0°C) y presión (76 kPa), logrando la eliminación de Carbono Orgánico Total (COT) del 52% y del 70% de la remoción del colorante

¹⁹ Ibid., p. 8

²⁰ Ibid., p. 1

²¹ GALEANO, Luis. Op. cit., p. 39.

²² FRANCIS, Royce. SMALL, Mitchell. VANBRIESEN, Jeanne. Multivariate distributions of disinfection by-products in Chlorinated drinking water. En: Water Research. Mayo, 2009. vol. 43. p. 16.

²³ GALEANO, Alejandro. Op. Cit., p. 105.

²⁴ YANG, Mengting. ZHANG, Xiangru. Current trends in the analysis and identification of emerging disinfection byproducts. En: Trends in Environmental Analytical Chemistry. Marzo, 2016. vol. 10. p. 24–34.

²⁵ Ibid., p. 79

azoico en solo 75 minutos de reacción a baja concentración de catalizador de arcilla (0,05 g/L)²⁶, así mismo mejorando el método de preparación de la solución oligomérica intercalante Al/Fe en medio concentrado, procuró lograr una significativa intensificación del proceso (disminuir el volumen de trabajo por unidad de masa del catalizador preparado)²⁷.

De esta manera con la arcilla y la solución intercalante que mejores resultados obtuvo en la remoción de COT continuo optimizando otros contaminantes como fenol y MON logrando optimizar los ensayos catalíticos y obteniendo su propio catalizado, la PCFH que aplicó el grupo GIMFC a diferencia de la comúnmente utilizada que es aplicada a efluentes de agua residuales fue utilizada sobre efluentes de agua cuyo destino final es el consumo humano, un punto bastante importante en su implementación es la evaluación de la toxicidad global de la reacción y asegurar que al final del proceso catalítico no se estén generando sustancias más tóxicas que las inicialmente presentes en el medio, de este modo cabe resaltar que el uso de estas nuevas tecnologías requiere de la evaluación de los efectos toxicológicos de la reacción global PCFH en la degradación de la MON de manera directa sobre la biota acuática por ser esta la de mayor importancia en el tratamiento de aguas con fines de potabilización.

Con el propósito de predecir el rendimiento real del tratamiento de los POAs en este caso de la PCFH, se vuelve crucial evaluar el proceso mediante su comportamiento ecotoxicológico²⁸. Los ensayos de toxicidad determinan el efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas, evaluando el efecto luego de la exposición a la muestra²⁹. Los ensayos de toxicidad pueden ser de dos tipos: agudos o crónicos³⁰. Ferreira³¹,

²⁶MUÑOZ, Helir-Joseph., BLANCO, Carolina., GIL, Antonio., VICENTE, Miguel-Ángel., GALEANO, Luis Alejandro. Preparation of Al/Fe-Pillared Clays: Effect of the Starting Mineral. En: Materials. Noviembre, 2017. Vol. 10: 1364. p. 15.

²⁷CABRERA, Claudia. Pilarización a escala piloto de arcilla colombiana con un precursor Al/Fe en medio concentrado y su evaluación en la peroxidación catalítica de fenol en solución acuosa. Trabajo de grado (Química). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias exactas y naturales. 2017. 4 p.

²⁸MOLKENTHIN, Merle. OLMEZ-HANCI, Tugba. R. JEKEL, Martin. ARSLAN-ALATON, Idil. Photo-Fenton-like treatment of BPA: Effect of UV light source and water matrix on toxicity and transformation products. En: water research. Junio, 2013. Vol. 47: p. 5052-5064.

²⁹MORA, Ángela. Concentración letal 50 (CL50) del sulfonato de alquilbenceno de cadena lineal (LAS) en larvas de *Rhamdia quelen*. Trabajo de grado (Ingeniera en producción acuícola). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. 2015. 14 p.

³⁰ Ibid., p. 29

asegura que los ensayos de toxicidad aguda hacen disponible información básica para otros estudios más amplios, como los ensayos de toxicidad crónica, que permiten la evaluación del riesgo eco-toxicológico. Por ello en esta investigación se llevó a cabo estudios de toxicidad aguda para observar en primera instancia los efectos de la PCFH de la MON a corto plazo, para después determinar efectos adversos a un tiempo más prolongado.

Para estudios de pruebas de toxicidad, *D. magna* es el modelo animal estándar internacional³², cumple con las características que los estudios requieren, es un organismo de fácil manutención debido a que no se requiere de mucho espacio para tener una gran cantidad de ejemplares, tiene una prolificidad alta, el hecho de que su reproducción sea partenogenética da otra gran ventaja que es contar con organismos idénticos en cada generación, es altamente sensible a cualquier agente ajeno y cambios del ecosistema³³. Por lo cual esta investigación se realizó mediante la implementación de ensayos de toxicidad con organismos como *D. magna*, debido a su aceptabilidad en investigaciones, que permiten ser utilizados como bioindicadores justificados bajo los protocolos de las normas ISO 6341 – 2013.

³¹ FERREIRA, Carla, Seleção de métodos biológicos para a avaliação toxicológica de efluentes industriais, Dissertação (Mestrado em meio ambiente). Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Ciências do meio ambiente. Belo Horizonte 2009. pp 4,5.

³² CHEN, Ting. XU, Yongpeng. ZHU, Shijun. CUI, Fuyi. Combining physico chemical analysis with a *Daphnia magna* bioassay to evaluate a recycling technology for drinking water treatment plant waste residuals. En: Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 122. Septiembre, 2015. p. 368–376.

³³ CALA, L. D. Toxicidad aguda del extracto acuoso de corteza de la planta uña de gato (*uncaria tomentosa*) en la pulga de agua (*Daphnia magna*). Trabajo de grado (médico veterinario zootecnista). Bucaramanga: Universidad cooperativa de Colombia. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 2013. 16 p.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Por lo anteriormente planteado y justificado se formuló la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la CE_{50} aguda de la reacción global de Peroxidación Catalítica en Fase Húmeda (PCFH) en la degradación de materia orgánica, durante la potabilización de agua, sobre el bioindicador *D. magna*?

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la CE_{50} aguda de la reacción global de Peroxidación Catalítica En Fase Húmeda (PCFH) en la degradación de materia orgánica natural, durante la potabilización del agua, sobre el bioindicador *Daphnia magna*.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración efectiva (CE_{50}) de la reacción global de PCFH en materia orgánica natural sobre *D. magna*.
- Establecer la correlación entre pH, conductividad eléctrica y CE_{50} de la reacción global de PCFH sobre *D. magna* en materia orgánica natural.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA (POAs)

Los POAs son buenas alternativas contra las técnicas convencionales generalmente empleadas en el tratamiento de aguas contaminadas, particularmente relevantes para eliminar compuestos orgánicos tóxicos no biodegradables. Los POAs se basan todos en la alta reactividad junto con la baja selectividad de ataque mostrada por los radicales hidroxilo $\text{OH}^\bullet$. Con estas características, los POAs pueden lograr la mineralización total de la mayoría de los contaminantes orgánicos en CO_2 , o al menos la degradación parcial de los sustratos liberando subproductos menos biorefractarios³⁴.

Los POAs destruyen las moléculas orgánicas, incluso los compuestos más estables y difíciles de degradar, incluidos los carcinógenos y mutágenos, mediante la generación de especies altamente reactivas que oxidan la materia orgánica; por lo tanto, los POAs pueden ser de gran interés para la salud pública y se convierten en un campo de estudio prometedor debido a su potencial de degradación casi total de contaminantes orgánicos solubles en aguas y suelos, algunos de ellos en condiciones de temperatura y presión razonablemente suaves³⁵.

Los POAs emplean un catalizador capaz de realizar la oxidación en condiciones de presión y temperatura menos extremas que las que demanda la oxidación húmeda con aire, disminuyendo los tiempos de residencia y permitiendo que el tratamiento de afluentes con cargas diluidas de tóxicos sea económicamente viable³⁶. Los catalizadores homogéneos (comúnmente sales de cobre y hierro) suelen ser un poco más eficaces que los heterogéneos, pero tienen la desventaja de exigir una etapa de separación adicional para eliminar y/o recuperar el catalizador del efluente final evitando, de esta manera, que se constituya en otro contaminante³⁷.

³⁴GALEANO, Luis Alejandro. VICENTE, Miguel Ángel. GIL, Antonio. Catalytic Degradation of Organic Pollutants in Aqueous Streams by Mixed Al/M-Pillared Clays (M = Fe, Cu, Mn). En: Catalysis Reviews: Science and Engineering. Febrero, 2014. vol. 56:3 p. 239-287.

³⁵GALEANO, Luis Alejandro. RAMÍREZ, José Herney. Natural Organic Matter Removal by Heterogeneous Catalytic Wet Peroxide Oxidation (CWPO). En: Springer International Publishing AG. 2017. p. 1-30.

³⁶AGUILAR, Viviana. Op. Cit., p. 29.

³⁷ATWATER, James. AKSE, James. MCKINNIS, Jeffrey. THOMPSON, John. Low temperature aqueous phase catalytic oxidation of phenol. En: Chemosphere. Octubre, 1997. vol. 34. No.1. p. 203-212.

2.1.1 Peroxidación Catalítica En Fase Húmeda (PCFH). La oxidación de Fenton catalizada por materiales sólidos se ha referido, desde hace más de una década, como oxidación catalítica en fase húmeda³⁸. Estos métodos combinan la acción de un agente oxidante (H_2O_2) junto a la de un catalizador y/o una radiación para la generación de $OH^\bullet$ ³⁹. El radical hidroxilo se caracteriza por tener una elevada reactividad y baja selectividad de ataque sobre un amplio espectro de moléculas orgánicas⁴⁰. En este POA particular, el H_2O_2 se activa mediante materiales funcionales que tienen los metales activos, principalmente Fe o Cu, incorporados en su estructura; para ser utilizados con éxito, estos sólidos deben garantizar simultáneamente alta actividad catalítica y estabilidad química contra la lixiviación en el entorno agresivo de la reacción de oxidación⁴¹. Es importante resaltar que el hecho de emplear en la mayoría de los casos H_2O_2 como agente oxidante, dando lugar a la PCFH, presenta la gran ventaja de que su descomposición genera especies inocuas (H_2O y O_2) como subproductos, y que su valor comercial no es muy elevado⁴².

La PCFH puede llevar a la mineralización completa de los contaminantes hasta CO_2 , o generar una degradación parcial de los compuestos no biodegradables en intermediarios menos biorrefractarios⁴³. Los estudios realizados acerca de este POA son muy extensos, donde el proceso PCFH es aplicado satisfactoriamente, empleando diversos sólidos activos para catalizar dicha reacción, entre los que principalmente las arcillas pilarizadas modificadas con el sistema mixto Al/Fe han mostrado un excelente desempeño⁴⁴. Los materiales basados en arcilla tienen una gran ventaja en este tipo de aplicaciones debido a su bajo costo y las arcillas pilarizadas Al/Fe han demostrado alta estabilidad química debido a que las concentraciones de hierro lixiviado en la reacción de PCFH no alcanzan los 0,3 mg/L⁴⁵.

³⁸GALEANO, Luis. Op. cit., p. 79.

³⁹AGUILAR, Viviana. Op. cit., p. 29.

⁴⁰Ibíd., p. 30.

⁴¹GALEANO, Luis Alejandro. VICENTE, Miguel Ángel. GIL, Antonio. Op. cit., p. 28

⁴²GALEANO, Luis Alejandro. BRAVO, Pedro Fernando. LUNA, Cristian Dario. VICENTE, Miguel Angel. GIL, Antonio. Removal of natural organic matter for drinking water production by Al/Fe-PILC-catalyzed wet peroxide oxidation: Effect of the catalyst preparation from concentrated precursors. En: Applied Catalysis B: Environmental. Noviembre, 2012. vol. 111-112, p. 527-535.

⁴³AGUILAR, Viviana. Op. cit., p. 29.

⁴⁴Ibíd., p. 29.

⁴⁵RAMÍREZ, José Herney. GALEANO, Luis Alejandro. PINCHAO, Gustavo. BEDOYA, Rafael Andres. HIDALGO, Arsenio. Optimized CWPO phenol oxidation in CSTR reactor catalyzed by Al/Fe-

El GIMFC optimizó esta tecnología, obteniendo una arcilla con una solución mixta de intercalación Al/Fe – PILCs⁴⁶, así mismo mejoró el método de preparación de la solución oligomérica intercalante Al/Fe en medio concentrado, logrando una significativa intensificación del proceso (disminuir el volumen de trabajo por unidad de masa del catalizador preparado)⁴⁷. De esta manera con la arcilla y la solución intercalante que mejores resultados obtuvieron en la remoción de COT optimizaron la oxidación de otros contaminantes como fenol, naranja de metilo y MON, logrando optimizar los ensayos catalíticos con su propio catalizador, la PCFH desarrollada por el grupo GIMFC, a diferencia de la comúnmente utilizada que es aplicada a efluentes de agua residuales, fue empleada para tratar efluentes de agua cuyo destino final es el consumo humano.

2.1.4 Materia Orgánica Natural (MON). La MON, es un componente clave en ambientes acuáticos, es una matriz compleja de sustancias orgánicas caracterizada por sus cantidades fluctuantes en el agua y propiedades moleculares y químicos variables, lo que lleva a diversos esquemas de interacción con la biogeósfera y el ciclo hidrológico⁴⁸. El origen de la MON, tanto en aguas dulces como saladas, proviene de procesos naturales en el medio ambiente, incluyendo la escorrentía que conduce a una mayor exportación de materia orgánica del sistema terrestre, la descomposición de la materia orgánica del suelo (alóctona) y las reacciones metabólicas de las algas (autóctonas)⁴⁹.

La MON ocasiona muchos problemas durante los procesos de producción de agua de consumo humano, que se pueden resumir en los siguientes aspectos generales: (1) Efecto negativo sobre la calidad del agua debido a que imparte color, olor y sabor al líquido; (2) Incremento en el consumo de coagulantes y desinfectantes, lo que a su vez se ve reflejado en un mayor volumen de lodos y un mayor potencial de formación de SPDs; (3) Promoción de la proliferación de

PILC from concentrated precursors at circumneutral pH. En: Environmental Chemical Engineering. Febrero, 2018. p. 1-49.

⁴⁶MUÑOZ, Helir-Joseph., BLANCO, Carolina., GIL, Antonio., VICENTE, Miguel-Ángel., GALEANO, Luis Alejandro. Op. cit., p. 15.

⁴⁷CABRERA, Claudia. Op. cit., 4 p.

⁴⁸SILLANPAA, Mika. NCIBI, Mohamed. MATILAINEN, Anu. Advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter from drinking water sources: A comprehensive review. En: Journal of Environmental Management. Diciembre, 2018. vol. 208. p. 56-76.

⁴⁹GARCÍA, Ana María. TORRES, Ricardo. GALEANO, Luis Alejandro. VICENTE, Miguel Ángel. GIL, Antonio. Separation and Characterization of NOM Intermediates Along AOP Oxidation. En: Springer International Publishing AG. 2017. p. 1-39.

microorganismos a lo largo de los sistemas de distribución; y (4) Mayores niveles de metales pesados y contaminantes orgánicos complejados⁵⁰.

La MON es una mezcla heterogénea de sustancias con amplios rangos de tamaños moleculares, reactividad y funcionalidades químicas que oscilan desde grandes cadenas alifáticas (principalmente hidroxilados, carbonilo y ácidos carboxílicos) hasta aromáticos altamente coloreados. La MON puede dividirse en sustancias húmicas y no húmicas: las sustancias húmicas, ácidos húmicos y fúlvicos que representan productos de degradación residual, y las no húmicas incluyen ligninas y derivados, taninos, carbohidratos, péptidos y proteínas, aminoácidos, ácidos aromáticos y fenoles, ácidos carboxílicos y compuestos diversos⁵¹.

La MON también consiste en una amplia variedad de compuestos desde alifáticos hasta con fuerte carácter aromático, incoloros o coloreados, iónicos o neutros, y considerablemente heterogéneos en términos de composición química y distribución de masas moleculares; otro factor que contribuye a incrementar la complejidad del tratamiento en estos sistemas es la variabilidad que se observa en la carga de MON en función de factores climáticos y ambientales, de los problemas citados anteriormente, quizá el de mayor preocupación durante los últimos años haya sido el del potencial de formación de los SPDs⁵².

Sillanpaa et al⁵³, afirman que estos factores, junto con las cantidades crecientes de MON en aguas superficiales y subterráneas, hacen que el esfuerzo de eliminar los compuestos orgánicos del abastecimiento de agua potable y de los efluentes de aguas residuales municipales sea una tarea desafiante que requiere el desarrollo de un tratamiento de agua altamente eficiente y versátil.

2.2 TOXICOLOGÍA

La toxicología es el estudio de los venenos o, en una definición más precisa, es la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones, en ese sentido, la toxicología es tributaria, en materia de información, diseños de la investigación y métodos investigativos, en la mayoría de las ciencias biológicas básicas y disciplinas médicas, de la epidemiología y de determinadas esferas de la química y

⁵⁰ GALEANO, Luis. Op. Cit., p. 104

⁵¹ GARCÍA, Ana María. Op. Cit., p. 4

⁵² GALEANO, Luis. Op. Cit., p. 104

⁵³ SILLANPAA, Mika. Op. Cit., p. 1

la física⁵⁴. La toxicología abarca desde estudios de investigación básica sobre el mecanismo de acción de los agentes tóxicos hasta la elaboración e interpretación de pruebas normalizadas para determinar las propiedades tóxicas de los agentes⁵⁵.

La toxicología ha sido utilizada en busca de más conocimiento, sobre el potencial de la contaminación, de varios agentes químicos introducidos en los ecosistemas, mediante vías directas cuando son vertidas en el agua, o por vía indirecta después del consumo de productos de uso cotidiano⁵⁶. La toxicología se encarga de identificar y cuantificar los efectos adversos asociados a la exposición de agentes físicos, elementos o compuestos químicos sobre un tipo de organismo, población o ecosistema; y su objetivo es mejorar la limitación sustancial de los efectos que tiene sobre la salud y la exposición a esos agentes peligrosos en el ambiente⁵⁷.

2.2.1 Toxicidad. Es la capacidad intrínseca que posee un agente químico de producir efectos adversos sobre un organismo, modificando sus funciones vitales, comportamiento reproductivo, crecimiento, desarrollo y morfología de los tejidos⁵⁸.

2.2.2 Eco-toxicología.

Es considerada una subdivisión de la toxicología reconocida mundialmente a partir de los años 60, por el Dr. Rene Truhaut, miembro de la academia de ciencias de Francia, quien fue el creador del termino Eco-toxicología en 1969, para definir el estudio de los efectos adversos de sustancias químicas con el objetivo de proteger especies naturales y poblaciones, los estudios eco-toxicológicos comprenden de manera general: las emisiones y entradas de contaminantes en el ambiente abiótico, su distribución y destino de los diversos ambientes; la entrada y destino de los contaminantes en las cadenas biológicas y sus formas de transferencia como alimento, vía cadena trófica; cualificación y cuantificación de los efectos toxicológicos de los contaminantes al ecosistema con consecuencias en el ser humano⁵⁹.

La eco-toxicología tiene como materia fundamental de estudio a la contaminación del medio ambiente, en especial del aire o del agua, sobre los sistemas bióticos en

⁵⁴SILBERGELD, Ellen. Introducción. Toxicología; Herramientas y enfoques. En: Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Madrid: Jeanne MagerStellman. p.1427. 1998.

⁵⁵Ibíd., p. 1427

⁵⁶BERTOLETTI, E. Toxicología, En: Ensaio biológicos com organismos aquáticos a e sua ação no controle da poluição. Sao Paulo: Companhia de tecnologia de saneamiento ambiental. 1990. p. 50.

⁵⁷JAKUBOWSKI, Marck. Órgano diana y efectos críticos. En: Toxicología; Herramientas y enfoques, 1994. p. 63.

⁵⁸SILBERGELD, Ellen. Op. Cit., 33,3

⁵⁹FERREIRA, Carla. Op. cit., p. 89.

forma de toxicidad, alteración de especies, reducción de una determinada productividad, etc., puesto que no siempre un contaminante se comporta como un tóxico neto, sino que puede suponer solo la creación de un nivel indeseable en un determinado ecosistema⁶⁰. Los objetivos principales de la eco-toxicología son obtener datos para la evaluación de riesgos y manejo ambiental, y mejorar el conocimiento del comportamiento y efectos de los compuestos sobre organismos vivos⁶¹.

2.2.3 Prueba de toxicidad. Según Ronco, et al., citado por Mora⁶², asegura que existen dos tipos de toxicidad: aguda, que consiste en detectar efectos adversos que ocurren sobre organismos de ensayo, en una prueba durante un periodo de exposición corto; la toxicidad crónica, incluye efectos adversos que ocurren a largo plazo como resultado de dosis repetidas con una sustancia química, sobre la mayor parte de vida de un organismo, afectando su metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia.

Con base en lo anterior, las pruebas de toxicidad se pueden clasificar en: 1) Pruebas de toxicidad aguda. 2) Pruebas de toxicidad crónica⁶³.

1) Prueba de toxicidad aguda: Las pruebas de toxicidad aguda se utilizan para estimar la dosis o concentración de un agente tóxico capaz de producir una respuesta específica mensurable en un organismo de prueba o población, en un período de tiempo relativamente corto, generalmente de 24 a 96 h, para este tipo de ensayo de toxicidad el efecto medido es la letalidad o alguna otra manifestación del organismo, como la capacidad natatoria⁶⁴.

El ensayo de toxicidad aguda puede definirse como aquel que evalúa los efectos, en severos y rápidos, sufridos por los organismos expuestos al agente químico, en un periodo corto de tiempo, que generalmente varía entre uno a cuatro días⁶⁵. Este

⁶⁰ Miguel A. Capó Martí. La ecotoxicología, una ciencia de hoy. 2003. 102 p. Medicina Balear- Vol.18, núm. 3.

⁶¹ VARGAS, Alexa. PEREA, Yaro. Determinación de la concentración letal media CL50-48, de bario e hidróxido de sodio, mediante bioensayos de toxicidad en un ecosistema, sobre *Daphnia magna*. Trabajo de grado (ingeniería ambiental). Bogotá D C: Universidad de la Salle. Facultad de ingeniería. 2011. 15 p.

⁶² MORA, Ángela. Op. cit., p. 25.

⁶³ CUBAS, Karina. Correlação entre fator de toxicidade e parâmetros físico-químicos para efluentes domésticos tratados. Trabajo de grado (Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Tecnologia Ambiental). Curitiba. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. 2012. 26 p.

⁶⁴ Ibíd., p. 28.

⁶⁵ FERREIRA Carla. Op. cit. p 12.

tipo de pruebas ofrecen información básica para otros estudios más críticos como las pruebas de toxicidad crónica y la evaluación del riesgo eco-toxicológico⁶⁶, gracias a la facilidad de ejecución, a corto plazo y bajo costo.

2) Prueba de toxicidad crónica: Consiste en un método de prueba utilizado para determinar la concentración de una sustancia que produce un efecto adverso en un organismo de prueba después de un largo período de tiempo⁶⁷. Las pruebas de toxicidad crónica son experimentos, que apuntan al estudio de los efectos no letales en los organismos acuáticos, a partir de su exposición prolongada a concentraciones sub-letales, estos efectos son generalmente evaluados a través de análisis específicos (histológicos, hematológicos, comportamentales, etc.), utilizados para la detección de alteraciones crónicas, tales como: disturbios fisiológicos, deformidades en tejidos somáticos y/o gametos, alteraciones en el crecimiento y reproducción del organismo, entre otras.

Las pruebas de toxicidad deben ser realizadas preferencialmente con las primeras fases del ciclo de vida de los organismos acuáticos, embriones, larvas, alevinos, neonatos; esta preferencia se atribuye al hecho que las fases precoces presentan más sensibilidad a las intoxicaciones en general, que las formas adultas; esto da mayor margen de seguridad para la estimación de concentraciones aceptables del agente tóxico del medio en estudio⁶⁸. Rojas y Ramirez⁶⁹, mencionan las siguientes unidades de medida para expresar los valores de concentración de contaminantes y las dosis recibidas por un organismo, sirviendo como indicadores.

a) Concentración Efectiva CE₅₀. Concentración del tóxico que produce efectos negativos apreciables en el 50% de la población. Algunas afecciones sobre los organismos son: pérdida del equilibrio, frecuencia respiratoria en un tiempo determinado.

b) Concentración Letal Media CL₅₀. Concentración letal 50 es la concentración, obtenida mediante estimación estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte del 50% de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta.

⁶⁶Ibíd., p 12.

⁶⁷Ibíd., p 13.

⁶⁸MORA, Ángela. Op. Cit., p. 24.

⁶⁹ROJAS, Catalina. RAMIREZ, Emilce. Determinación de la Concentración Letal Media (CL₅₀-48h) del herbicida roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con *Daphnia magna*. Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá D.C 2008. p.23

2.3 BIOINDICADORES

La denominación de una especie como indicadora requiere de conocimiento previo respecto a su composición comunitaria bajo condiciones normales, incluyendo el ciclo de vida de las especies, su estacionalidad y sus variaciones naturales, de manera que sea posible comparar las condiciones antes y después de una perturbación ambiental⁷⁰. Los bioindicadores ayudan a detectar alteraciones en los ecosistemas, como pueden ser las generadas debido a su explotación excesiva, la contaminación o el cambio climático, permitiendo establecer las fuentes de afectación y señalar posibles rutas de acción⁷¹. Los organismos bioindicadores son una herramienta muy valiosa para complementar las estimaciones relativas a las condiciones abióticas del medio, puesto que integran la respuesta del compartimento biótico de los ecosistemas de interés ante los diversos tipos y grados de perturbación a los que éstos se encuentran sujetos en los gradientes espacio-temporales⁷².

2.3.1 *Daphnia magna*. La especies del género *Daphnia* se encuentran en ambientes dulceacuícolas, abunda en charcas temporarias de regiones templadas (lagos de toda América y, en Eurasia, Inglaterra y norte de África, hasta China y Manchuria), generalmente no se encuentra en lagos tropicales por la predación que ejerce la ictiofauna⁷³.

Según Chen, et al.⁷⁴, *D. magna* ha sido el animal modelo estándar internacional para estudios de pruebas de toxicidad. La utilización de cladóceros para evaluaciones toxicológicas está ampliamente extendida y se encuentra una amplia gama de metodologías descritas para el trabajo con estas especies, lo que facilita el estudio y hace que la utilización de invertebrados sea más amplia; *D. magna* pertenece a los organismos del zooplancton dulceacuícola, juega un papel de gran

⁷⁰RAZ-GUZMÁN, M, A. Moluscos. p. 265-307. En: Organismos Indicadores de la Calidad del Agua y de la Contaminación (Bioindicadores). De la Lanza EG., Hernández PS y PJJ Carbajal. (Eds). Plaza y Valdés. México. 633 p. 2000.

⁷¹GALLARZA, Silvia. RUBIO, Alfredo. Los organismos bentónicos como bioindicadores de la salud ecológica de los océanos. En: Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental. 1^{era} ed. México. 2014. ISBN 978-607-8429-05-9. 174 p.

⁷² Ibíd., p. 175.

⁷³DÍAZ, María. PICA, Yolanda. RONCO, Alicia. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IMTA, p. 52 – 63. 2004.

⁷⁴CHEN, Ting. XU, Yongpeng. ZHU, Shijun. CUI, Fuyi. Combining physico chemical analysis with a *Daphnia magna* bioassay to evaluate a recycling technology for drinking water treatment plant waste residuals. En: Ecotoxicology and Environmental Safety. Septiembre, 2015. vol. 122. p. 368–376.

importancia, sirve de alimento para peces y otros crustáceos, también influye en el control poblacional de protozoarios heterótrofos flagelados y bacterias, además afecta el desarrollo poblacional de microalgas clorofíceas como *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas* ssp., interactuando incluso con rotíferos como *Polyarthra keratella*, en la actualidad la *D. magna* es uno de los organismos zooplactónicos más usados en estudios de toxicidad de sustancias puras y de descargas industriales⁷⁵.

Para realizar ensayos de toxicidad con *D. magna* la norma ISO 6341 especifica el procedimiento para la determinación de la inhibición de la movilidad de dicho organismo para ensayos de toxicidad aguda de sustancias químicas, aguas y aguas residuales. Es relevante destacar las siguientes recomendaciones que se debe tener en cuenta para el desarrollo de ensayos de toxicidad aguda:

- La mortalidad en el control negativo no deberá exceder el 10%.
- La concentración final de oxígeno disuelto deberá ser mayor de 2 mg/L.
- En caso de emplear un control positivo de concentración cercana a la CE_{50} , los valores de mortalidad obtenidos deberán encontrarse cercanos al 50%.
- Se puede considerar aceptable el encontrar mortalidades entre el 33 y 57%.
- Utilizar individuos de *D. magna* con edades menores a 24 horas de nacidos (neonatos).
- Utilizar mínimo 3 réplicas por concentración a evaluar.
- La cantidad de organismos por cada réplica deberá ser como mínimo 5 individuos.
- La prueba debe durar 48 horas para su aceptación.
- Mantener el ensayo con fotoperiodo 16 horas luz: 8 horas oscuridad.
- No suministrar alimento en el periodo de ensayo.
- Realizar ensayos de toxicidad de viabilidad con dicromato de potasio para aceptar el uso de los individuos de *D. magna*.

2.3.2 Dicromato de potasio ($Kr_2Cr_2O_7$). También llamado bicromato de potasio es un compuesto tóxico, peligroso y posiblemente carcinogénico, así como muchos compuestos de cromo hexavalente. Es muy utilizado como sustancia de referencia en las pruebas de toxicidad para microcrustáceos⁷⁶. El conocimiento generado sobre el uso de los organismos para ensayos de toxicidad está basado en el uso de sustancias o tóxicos de referencia, los cuales son aplicados para validar la sensibilidad relativa de una población de organismos que será utilizada en ensayos de toxicidad, y también estimar la precisión y confiabilidad de los datos producidos

⁷⁵CALA, Daniel. Op. cit. p. 16.

⁷⁶ONISANTE, Luis Felipe. ANDREATTA, Morgana. Avaliação de toxicidade de três substâncias de referência ao microcrustáceo *Daphnia magna*. Trabajo de grado curso de tecnología en procesos ambientales. Curitiba.: Universidad Tecnológica de Parana. 2013. 12 p.

en el laboratorio, en este tipo de ensayos los organismos son expuestos a diversas concentraciones de una sustancia de referencia, siendo la sensibilidad de la población evaluada a través de la comparación con datos pre-existentes de laboratorio y datos disponibles en bibliografía⁷⁷. Investigaciones realizadas por Fraga y Monteiro⁷⁸ y Onisanti y Andreatta⁷⁹, quienes evaluaron el $K_2Cr_2O_7$ sobre individuos de *D. magna* reportaron una $CE_{50} - 48h$ de 0,83 mg/L y una $CE_{50} - 24h$ de 0,82 mg/L de $K_2Cr_2O_7$ como sustancia de referencia respectivamente.

⁷⁷FRAGA, Bruna. MONTEIRO Debora. Op. cit., p. 2.

⁷⁸Ibíd. p. 2.

⁷⁹ONISANTE, Luis Felipe. ANDREATTA, Morgana. Op. cit. p. 10.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 LOCALIZACIÓN

La presente investigación se realizó en los Laboratorios de catálisis del grupo GIMFC y en el Laboratorio de Sanidad Acuícola del Programa de IPA, localizados en la Universidad de Nariño, sede Torobajo, ubicada al noroeste de la ciudad de San Juan de Pasto, Departamento de Nariño, con las siguientes coordenadas, latitud 1°12'52,48" Norte, 77°16'41.22" oeste, altura de 2527 msnm, temperatura promedio de 13,3°C, y humedad relativa de 60 a 88%⁸⁰.

3.2 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron 6360 neonatos, con edad inferior a 24 horas de la especie *D. magna*, cuya cepa fue facilitada por el grupo de Investigación de Eco-toxicología dirigido por la Dra. María Teresa Reguero de la Universidad Nacional de Colombia; para los ensayos de toxicidad fueron cultivados y mantenidos en los laboratorios de Sanidad Acuícola del Programa Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño.

3.3 MATERIAL QUÍMICO

Se utilizó el siguiente material reactivo: para ensayos catalíticos H₂O₂ (pureza, 50%) suministrado por Bio pharchem®, Na₂SO₄ (pureza, 98%), (Panreac), catalizador Al/Fe-PILC, MON sintética (Ácido poliacrílico (Fluka® Analytical), Ácido poligalactorónico (SIGMA® life science), Sulfanato de poliestireno (ALDRICH® solution) y Ácidos húmicos (ALDRICH® chemistry)), para medio de cultivo algal: medio comercial KENT Marine-Pro culture® A y B, para ensayos de toxicidad de viabilidad en *D. magna*: K₂Cr₂O₇ cuya pureza fue de 99% (Panreac).

3.4 PLAN DE MANEJO

3.4.1 Instalaciones, equipos y materiales. En el laboratorio de catálisis del grupo GIMFC se realizaron los ensayos catalíticos con las diferentes muestras de agua para ello se contó con: reactor semi-batch (Soplado de vidrio NOC Ltda) para la reacción entre el catalizador y el H₂O₂, termostato para regular la temperatura (LAUDA ALPHA RA 12), bomba peristáltica (Masterflex® C/L® Series Peristaltic Pumps) para la adición de H₂O₂, agitador de cabezal electrónico (OS20-S LB Pro) para la agitación durante la reacción de la PCFH, pH metro (UB-10 pH/mv meter), equipo analizador de COT (TOC SHIMADZU Total organic carbon analyzer) y

⁸⁰SÁNCHEZ, Daisy. RUIZ, Darling. Evaluación en la remoción de compuestos nitrogenados de un sistema acuapónico Vs un sistema acuícola convencional bajo condiciones de laboratorio Universidad de Nariño – Colombia. Trabajo de grado (Ingeniería en Producción Acuícola). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias, 2016. 34 p.

espectrofotómetro (UV –VIS 2600 SHIMADZU) para medir absorbancia, y en los Laboratorios de Sanidad Acuicola se adecuó una urna elaborada en acrílico, con las siguientes medidas: largo 60 cm, alto 66 cm, profundidad 77 cm, para mantener una temperatura que oscilara entre 20 a 25°C, se cubrió la urna por el exterior con papel plástico color negro y por el interior con icopor y papel aluminio, así mismo para controlar el fotoperiodo de 8 h luz y 16 h oscuridad se adaptó un bombillo Led (5W E27) con una intensidad lumínica de 1000 luxes y un temporizador programador digital (Timer, Reloj 220v 24h EXCELITE®), simulando las condiciones necesarias para la sobrevivencia de *D. magna* y para la realización de los ensayos de toxicidad. Para la realización de las mediciones y el manejo diario del cultivo de *D. magna*, se contó con: balanza analítica Adventurer-OHAUS modelo AX224 con capacidad de 220 g con precisión de 0,0001 g, oxímetro YSI 550A, precisión 0-20 ± 0,3 mg/L ó ± 2%, multiparámetro EC500 (EXTECH®), multiparametros portátil (SensoDirect 150), microscopio (Olympus, CX 22 RFS1), termómetro (BRIXCO) escala (0-50), regulador de fotoperiodo (Timer, Reloj 220v 24h EXCELITE®), lámparas Led de 3000 luxes, mangueras de acuario con diámetro de 4 mm para aireación, piedras difusoras, goteros, pipetas de 1, 5 y 10 mL, beakers de 100, 500, 1000 y 2000 mL, micropipetas de 100, 200 y 1000 µL, tubos de ensayo de borosilicato con capacidad de 12 mL, pipeteadores, cajas Petri de vidrio de 150 mm, tamiz, papel filtro, vinipel y aluminio.

3.4.2 Puntos de muestreo de agua para los ensayos catalíticos. Se realizaron muestreos de aguas reales de los municipios del Departamento de Nariño considerados en el Proyecto Agua Potable - SGR. Se muestrearon las aguas con mayor porcentaje de materia orgánica, correspondientes a los siguientes puntos: veredas la Orejuela, Charandú y Chaguaipe, y planta de tratamiento del Municipio de Ipiales, planta de tratamiento del Municipio de Túquerres, veredas Bajo Jagua y Pueblo Nuevo (Municipio de Tumaco), y planta de tratamiento del Municipio de Pasto.

3.4.3 Metodología de muestreo de aguas para los ensayos catalíticos. Para la recolección de muestras y la toma de parámetros en campo se utilizaron los siguientes materiales, equipos y reactivos: recipientes ámbar de 1 L, 500 mL, 20 mL, recipientes plásticos de 2 L y 20 L, winkler, gotero, frasco lavador, toallas absorbentes, neveras plásticas portátiles, geles, cinta de enmascarar, marcador, bolsas plásticas, tijeras, bitácora de muestreo, multiparámetro portátil (SensoDirect 150), ácido sulfúrico concentrado.

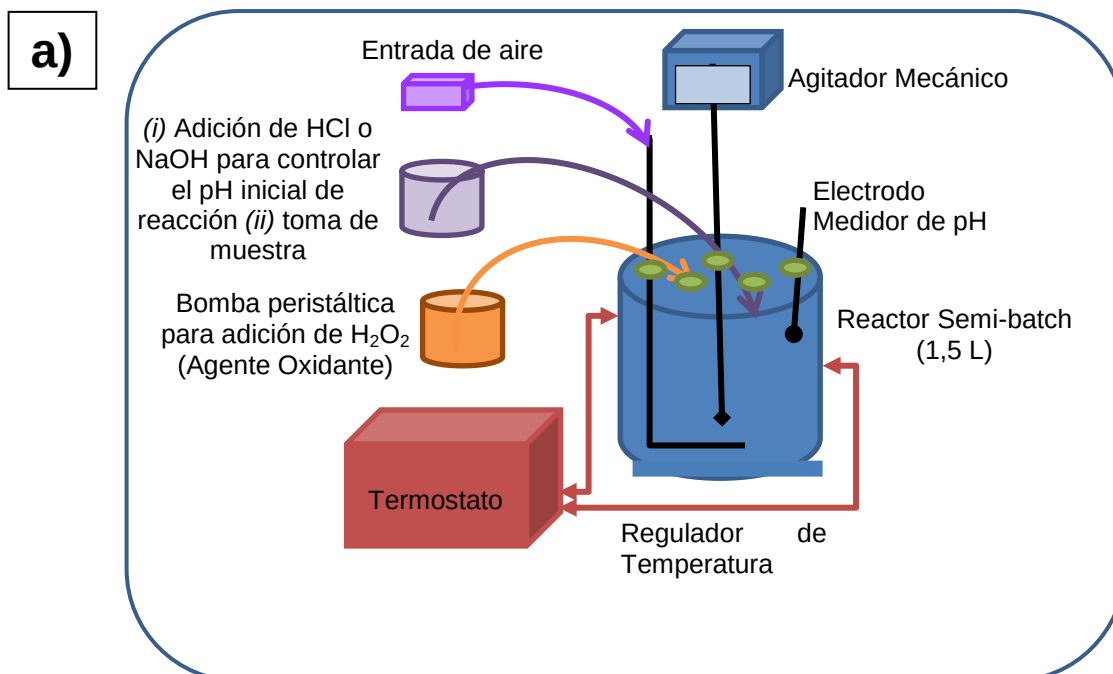
Los recipientes y materiales fueron lavados y purificados previamente con agua destilada tipo 1, posteriormente se trasladaron al sitio de muestreo donde se llevó a cabo la recolección de las muestras, siguiendo el protocolo: “Plan de muestreo para caracterización fisicoquímico y microbiológica de fuentes de abastecimiento”, disponible en el archivo del Proyecto Agua Potable – SGR. A continuación se describe brevemente el procedimiento:

- Los recipientes fueron rotulados con los respectivos códigos que asignaron desde el proyecto Agua Potable - SGR, así mismo se diligencio una bitácora de registro de datos como parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica, oxígeno y temperatura), hora de toma de la muestra, sitio de muestreo y fecha.
- Todos los recipientes, se purgaron con muestra, posteriormente se procedió a llenarlas completamente y se sellaron con tapa tipo rosca.
- A la muestra del recipiente tipo ámbar de 20 mL se le adicionó una gota de ácido sulfúrico concentrado.
- Las muestras fueron transportadas y durante su traslado se conservaron en neveras con geles de hielo.
- Las muestras contenidas en los recipientes tipo ámbar de 1 L se utilizaron para análisis de metales y se remitieron a la ciudad de Bogotá, las muestras contenidas en los recipientes ámbar de 20 mL y 500 mL se utilizaron para fraccionamiento de MON y análisis de COT en laboratorios de catálisis-GIMFC respectivamente, la muestra del recipiente plástico de 2 L se utilizó para el análisis fisicoquímico en los Laboratorios Especializados de Aguas de la Universidad de Nariño, en dichos laboratorios se determinaron los siguientes parámetros: Nitritos, Nitratos, Sulfatos, Cloruros, Color aparente, Dureza, Turbiedad, Fosfatos y Fluoruros; y la muestra del recipiente plástico de 20 L se utilizó para la realización de los ensayos catalíticos.

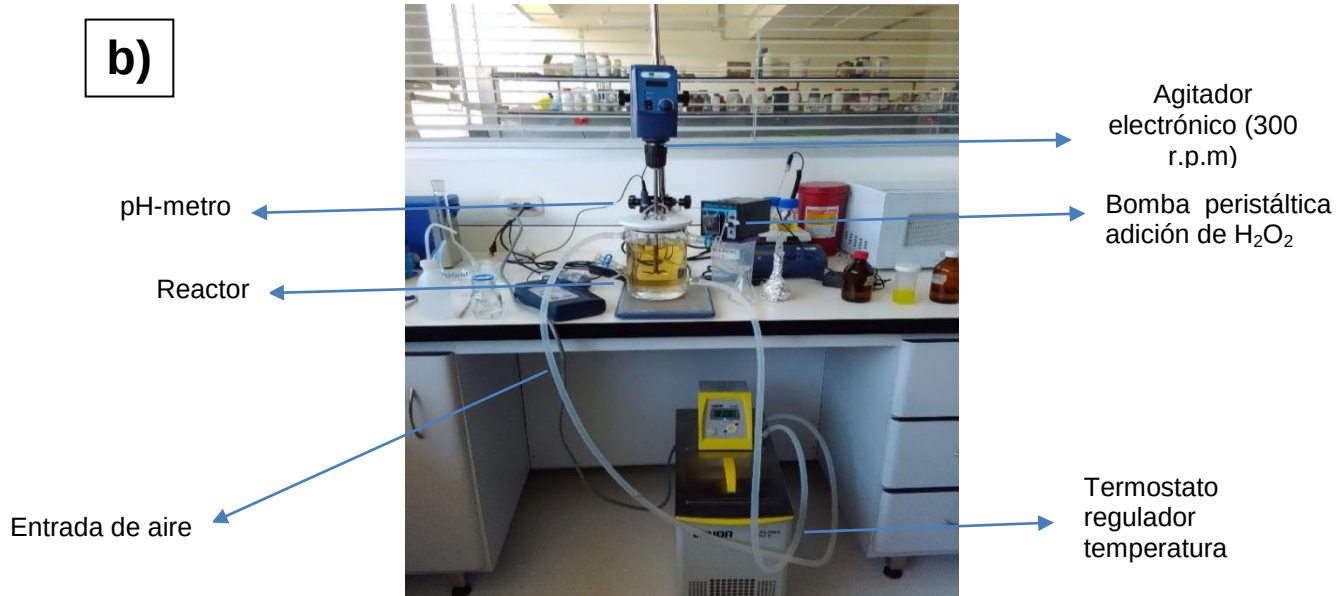
3.4.4 Desarrollo ensayos catalíticos. Partiendo de las condiciones optimizadas de la tecnología PCFH por el proyecto Agua Potable - SGR, se realizaron los ensayos catalíticos o aplicación de la tecnología PCFH optimizada a las respectivas muestras de agua, así mismo se incluyó un ensayo catalítico empleando un patrón sintético de MON, para esto se siguieron los pasos según el protocolo: “ensayo catalítico para la degradación de MON por medio de la tecnología de oxidación avanzada PCFH (código: PLC-9)”, disponible en el grupo GIMFC, que brevemente se explica a continuación:

- Se prepararon 1,5 L de la muestra de agua, filtrándola para eliminar los sólidos más pesados presentes en la muestra.
- Se realizó el montaje experimental del reactor operado a modo semi-batch (Figuras 1a y 1b).

Figura 1. Montaje experimental para llevar a cabo la degradación catalítica de MON mediante la PCFH. a) Representación esquemática. b) Fotografía de un ensayo catalítico.



Fuente: Protocolo ensayo catalítico para la degradación de MON por medio de la tecnología de oxidación avanzada PCFH (código: PLC-9).



Fuente: Protocolo Ensayo catalítico para la degradación de materia orgánica natural por medio de la tecnología de oxidación avanzada PCFH (código: PLC-9).

- Se adecuó el reactor con la muestra de agua junto con la cantidad de catalizador (2,78 g), a temperatura ambiente de 25 °C y presión atmosférica de la ciudad de Pasto (564 mm Hg).
- Se estabilizó el pH con ácido clorhídrico (0.1 M) e hidróxido de sodio (0.1 M) para ajustar el pH inicial y durante toda la reacción a un valor de 7. En el ensayo catalítico no se realizó control de pH, solamente se hizo seguimiento durante la toma de muestra en cada tiempo.
- Se adecuó la bomba peristáltica preparando 250 mL de H₂O₂, se tuvo en cuenta que la cantidad de H₂O₂ varía según el ensayo por ello se reguló la bomba peristáltica para que adicione la cantidad exacta al flujo determinado y se colocó en un recipiente ámbar para que no se degrade en presencia de luz.
- La agitación se estableció para condiciones estándar de la reacción PCFH en 600 r.p.m, el flujo de burbujeo de aire se estableció en 2 L/h con la ayuda de un compresor.
- Se adiciono H₂O₂ a los 45 minutos de reacción y al final del ensayo se detuvo la adición de H₂O₂.
- El tiempo de reacción fue de 240 minutos, durante 7 intervalos de tiempo se tomaron muestras de 60 mL para toxicidad, una muestra inicial (T_i) después una muestra (T₀) a los 30 minutos, luego las muestras fueron tomadas en intervalos de 45 minutos hasta finalizar el ensayo para un total de 7 muestras por cada test catalítico, estas muestras se filtraron mediante un filtro de 0,45 µm (tamaño de poro) con el fin de retirar restos de catalizador.

3.4.5 Toma de muestras de los ensayos catalíticos para los ensayos de toxicidad. Por cada tiempo de reacción de los ensayos catalíticos se filtraron 60 mL de muestra los cuales se distribuyeron en cuatro unidades (replicas) de 10 mL que se dispusieron en tubos de ensayo de borosilicato de capacidad de 12 mL los cuales se utilizaron para los ensayos de toxicidad, así mismo, por cada ensayo catalítico se realizó un control de cuatro replicas con agua de cultivo de *D. magna*, en total se procesaron 288 muestras en los ensayos de toxicidad como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Muestras procesadas en los ensayos de toxicidad.

Punto de muestreo	Código muestra	Nombre del ensayo catalítico	Fecha realización de ensayos de toxicidad	Cantidad de muestras obtenidas durante el ensayo catalítico	Número de réplicas para ensayos de toxicidad
Ensayo a condiciones óptimas de reacción	patrón sintético MON	TOX-MON 0		7	28
La Orejuela	IPI-T-035	TOX-MON 1	01-sep-17	7	28
Charandú	IPI-T-033	TOX-MON 2	07-sep-17	7	28
Chaguaipe	IPI-T-034	TOX-MON 3	05-oct-17	7	28
Pueblo Nuevo	TUM-T-026	TOX-MON 4	30-nov-17	7	28
Bajo Jagua	TUM-T-027	TOX-MON 5	11-dic-17	7	28
Planta de tratamiento Pasto	PAS-T-016	TOX-MON 6	16-dic-17	7	28
Planta de tratamiento Túquerres	TUQ-T-016	TOX-MON 7	18-dic-17	7	28
Planta de tratamiento Ipiales	IPI-T-036	TOX-MON 8	20-dic-17	7	28
Control agua de cultivo	-	-	-	-	36
TOTAL				63	288

3.4.6 Preparación de alimento para *D. magna*. Para la alimentación de *D. magna* se utilizó un cultivo de microalgas de la especie *Chlorella* sp. facilitada por el programa de IPA. La pureza de estos cultivos se verificó mediante la observación al microscopio de una muestra de cada uno, con el fin de determinar la presencia de un solo tipo de alga que corresponda a la especie a suministrar. Los protocolos del cultivo de algas se describen con más detalle en el Anexo A. Las algas fueron cultivadas en reactores de vidrio y de plástico de variados volúmenes con el fin de escalar el cultivo. Para obtener un mejor crecimiento algal se utilizó el medio de cultivo comercial KENT Marine-Pro culture® A y B. Todos los cultivos estuvieron mantenidos mediante un sistema semicontinuo⁸¹, bajo las siguientes condiciones: temperatura que oscilaba entre 20 a 25°C, intensidad lumínica de 1000 a 3000 luxes, aireación constante y tres días de incubación. Para alimentar a *D. magna* se suministró una concentración de 4.5×10^6 algas/mL por cada *D. magna*/día, para ello fue necesario realizar el conteo del número de algas/mL en la cámara de Neubauer, como se describe en el Anexo B.

⁸¹ SIPAÚBA-Tavares L H., ROCHA O. Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. RiMa, São Carlos. 2003.

3.4.7 Mantenimiento de cultivo de *D. magna*. Para el cultivo de *D. magna* se tomaron como referencia los protocolos del Grupo de Investigación de Ecotoxicología de la Universidad Nacional de Colombia y las recomendaciones de la Norma ISO 6341, acoplando a un solo protocolo (Anexo C). El cultivo de *D. magna* se realizó empleando beakers de diferente volumen de trabajo; el medio de cultivo se preparó con agua reconstituida suplementada con el cultivo de algas. El mantenimiento se realizó separando los individuos recién nacidos (neonatos) en medio de cultivo fresco. Para evitar pérdidas en la población, en los cultivos se monitoreo con frecuencia, la densidad poblacional (≤ 1 individuo por 10 mL), dureza total (160 – 210 mg/L) mediante el método volumétrico siguiendo el protocolo: “Determinación de dureza” (DRH-FOA-FR-02), disponible en el laboratorio de aguas del programa IPA y oxígeno ($\geq 2,0$ mg/L); los cultivos se mantuvieron bajo las siguientes condiciones: temperatura 20 a 25°C, pH entre 7 - 9, fotoperiodo 16 horas luz y 8 horas oscuridad, intensidad lumínica de 1000 luxes. La limpieza se realizó diariamente para eliminar rastros de algas alojadas en el fondo, mudas e individuos muertos.

3.4.8 Ensayos de viabilidad con $K_2Cr_2O_7$. Con el fin de verificar la sensibilidad de *D. magna* y que los individuos sean viables para los ensayos de toxicidad según recomendación de la norma ISO 6341 se determinó la CE_{50} – 24 h con $K_2Cr_2O_7$. Estos ensayos se realizaron cada 15 días o cada vez que fuera necesario antes de realizar un ensayo de toxicidad.

3.4.9 Ensayos de toxicidad a partir de un patrón sintético de MON sobre *D. magna*. Previo a los ensayos catalíticos y con el fin de determinar la CE_{50} de MON que afecta a los individuos, el proyecto Agua Potable - SGR preparó soluciones de diferentes concentraciones de MON a partir de un patrón sintético (Ácido poliacrílico, Ácido poligalactorónico, Sulfonato de poliestireno y Ácidos húmicos). Estas concentraciones se prepararon en base al COT representado por cada solución de MON, para ello se realizaron cuatro ensayos evaluando diferentes rangos y dosis, utilizando cuatro réplicas con 10 individuos de 24 horas de nacidos, depositados en 10 mL de solución de MON por cada ensayo de toxicidad.

3.4.10 Ensayo de toxicidad empleando *D. magna*. Para la realización de los ensayos de toxicidad empleando este bioindicador se siguieron las recomendaciones de la norma ISO-6341 acoplando esta norma y otras indicaciones en un solo protocolo como se describe en el Anexo D.

3.4.11 Ensayos de toxicidad empleando *D. magna* para el ajuste de agente oxidante H_2O_2 y agente reductor Na_2SO_3 . Dado que en la aplicación de la tecnología PCFH se utiliza H_2O_2 como agente oxidante para la producción de $OH\cdot$ y posteriormente se adiciona Na_2SO_3 como agente reductor para eliminar el exceso de H_2O_2 en el medio, fue necesario estudiar el efecto toxico de estas sustancias por separado y en combinación teniendo en cuenta que, las muestras de agua de las veredas Orejuela y Charandú arrojaron resultados irregulares, y que, por lo tanto,

fue necesario determinar la CL_{50} con diferentes dosis y combinación de las mismas a fin de que dichas sustancias no ocasionaran interferencia en la determinación de la toxicidad, por ello desde el proyecto Agua Potable - SGR aplicaron el método yodométrico por medio del: “Protocolo para la determinación de H_2O_2 remanente en la reacción PCFH mediante el método yodométrico (Código: PLC 3.1)” disponible en el GIMFC, con el fin de aplicar la cantidad estequiométrica necesaria que no afecte la inmovilidad de *D. magna*. Las dosis estudiadas fueron preparadas teniendo en cuenta las máximas y mínimas cantidades de H_2O_2 adicionadas respecto al nivel de COT presente en las muestras de agua evaluadas y dependiendo de esta cantidad se adiciona en cantidad estequiométrica necesaria el Na_2SO_3 para eliminar el H_2O_2 .

3.4.12 Medición de COT en las muestras con MON. Para todas las muestras compuestas de MON el proyecto Agua Potable - SGR calculó la cantidad de COT presente empleando el equipo de medición de COT (TOC SHIMADZU Total organic carbon analyzer).

3.4.13 Monitoreo de parámetros físico-químicos en los ensayos de toxicidad. Para los ensayos de toxicidad se determinaron pH y conductividad eléctrica al inicio y al final de cada ensayo. Dichos parámetros se determinaron con un multiparámetro (EXTECH® EC500).

3.5 MONTAJE EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la realización de los ensayos de toxicidad, por cada una de las muestras a evaluar se utilizaron 4 réplicas y en cada una, se dispuso de 10 neonatos de menos de 24 horas de nacidos de *D. magna*, los cuales fueron sometidos a 48 horas de exposición en cada muestra de agua tratada con la PCFH con sus respectivos controles, con un fotoperiodo 8 h luz, 16 h oscuridad, al finalizar el tiempo de evaluación se determinó la inmovilidad de cada individuo.

Los datos de inmovilidad obtenidos de los ensayos de toxicidad de las aguas tratadas con la tecnología PCFH (aguas reales y aguas con patrón sintético de MON) y $K_2Cr_2O_7$ sobre *D. magna* se evaluaron con el programa estadístico Probit de Statgraphics para calcular la CE_{50} a las 48 horas de exposición. Los datos de mortalidad obtenidos de los ensayos de toxicidad con los tóxicos MON, H_2O_2 , y Na_2SO_4 se evaluaron con el programa estadístico Probit de Statgraphics para el cálculo de CL_{50} a las 48 horas de exposición.

Para el análisis estadístico de pH y Conductividad eléctrica e inmovilidad de los ensayos catalíticos de las aguas tratadas con la tecnología PCFH (aguas reales y aguas con patrón sintético de MON), se realizó una correlación estadística para establecer si existe o no una variación concomitante (de interdependencia) entre las variables, las cuales fueron aleatorias no controladas, las cuales no siguieron una distribución normal; por lo cual fue necesario medir la intensidad con que se

correlacionaban de manera indirecta con el coeficiente de correlación de Spearman, empleando en paquete estadístico de Statgraphics (centurión XV 16.1.15.)

3.6 VARIABLES A EVALUAR

1) pH y la conductividad eléctrica. se determinaron como covariables debido a que no son controlables ya que son propias de la muestra a tratar, las variables respuesta se mencionan a continuación:

2) CE₅₀. Se contabilizó el número de individuos inmóviles en cada réplica, se organizó en una tabla de Excel los datos recolectados para ser analizados en el programa Probit de Statgraphics. El diseño experimental fue representado por el siguiente modelo matemático:

$$P(X) = \Phi(\beta_0 + \beta X)$$

Dónde:

$P(X)$ = Variable de respuesta

Φ = es la función de distribución acumulada normal estándar.

3) Porcentaje de inmovilidad. Se expresa como la relación entre el número de animales muertos y la población total, por 100. Fue evaluada al terminar cada ensayo de toxicidad con la siguiente fórmula⁸²:

$$\% \text{ inmovilidad} = \frac{\text{Número de animales inmoviles}}{\text{número total de animales}} * 100 \quad (1)$$

⁸² MAIGUAL, Yemall Alexander. Evaluación de la toxicidad aguda del malathion en alevinos de tilapia nilótica *oreochromis niloticus* (linnaeus, 1758) en ausencia y presencia de sedimento y análisis de residuo por cromatografía gaseosa. Trabajo de grado (Ingeniería en Producción Acuicola). Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. San Juan de Pasto. 2007. p 50.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 COMPROBACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE *D. magna* EMPLEANDO COMO TÓXICO DE REFERENCIA $K_2Cr_2O_7$

En la Tabla 2 se presenta la CE_{50} de diferentes ensayos de toxicidad realizados con $K_2Cr_2O_7$ como sustancia de referencia (norma ISO 6341) con el fin de garantizar la viabilidad de los individuos de *D. magna*, en el Anexo E se presenta los resultados de los análisis estadísticos.

Tabla 2. Carta control para *D. magna*.

Número del Bioensayo	CE_{50-24h} $K_2Cr_2O_7$ (mg/L) ^a	Límites de confianza ($P < 0,05$)	
		LCI ^b	LCS ^c
1	0,97	0,85	1,11
2	1,34	1,23	1,48
3	0,67	0,56	0,79
4	0,87	0,77	0,97
5	1,09	0,94	1,27
6	1,36	1,18	1,62
7	1,07	0,94	1,23
8	1,51	1,28	1,92
9	1,26	1,06	1,57
10	0,99	0,84	1,15
PROMEDIO	1,11	0,96	1,31

a: Concentración efectiva de $K_2Cr_2O_7$ a las 24 horas donde se inmoviliza el 50% de los individuos de *D. magna*.

b: LCI: límite de confianza inferior.

c: LCS: límite de confianza superior.

En la Tabla anterior se observa que, en promedio la CE_{50} (1,11 mg/L) se encuentra dentro de los rangos de concentración de $K_2Cr_2O_7$ establecidos por la norma ISO 6341 que van de 0,6 a 2,1 mg/L, este resultado es relevante porque indica que los individuos de *D. magna* a emplearse en esta investigación fueron viables para el desarrollo de los ensayos de toxicidad y brindaron de esta manera un nivel de confianza en los resultados obtenidos en los ensayos.

4.2 ENSAYOS DE TOXICIDAD DEL PATRÓN SINTÉTICO DE MON SOBRE *D. magna*.

Con el fin de determinar la CL_{50} del patrón sintético de MON que afecta a los individuos de *D. magna*, se prepararon diferentes concentraciones de MON con

base en el COT determinado para cada solución. En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos de CL₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON y en el Anexo F se presenta los resultados de los análisis estadísticos.

Tabla 3. CL₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON (Ensayo 1).

Dosis MON mg/L ^a	CL ₅₀ -MON 48h ^b (mg/L)	Límites de confianza (P<0,05)		% Ajustado ^e	pH inicial ^f	pH final ^g
		LCI ^c	LCS ^d			
53	15,6	9,10	24,37	96,71	7,04	6,49
107					6,74	6,19
214					6,55	6,35
322					6,51	6,23
429					6,33	6,19
500					6,26	6,15

^a Dosis utilizada para determinar la concentración letal 50 sobre *D. magna*.

^b Concentración a la cual se muere el 50% de los individuos.

^c LCI: Límite de confianza inferior.

^d LCS: Límite de confianza superior.

^e Indica que porcentaje de la variable dosis afecta a la población.

^f pH tomado al inicio del ensayo toxicológico.

^g pH tomado al final del ensayo toxicológico.

De acuerdo con los resultados observados en la Tabla 3, en el primer ensayo se presentó una CL₅₀ presuntiva de 15,6 mg/L de COT con un porcentaje ajustado de 96,71 y como el P-Valor es <0,05 existe diferencias estadísticamente significativas. Indicando que la dosis de MON es el factor de mayor impacto en la mortalidad de los individuos. Teniendo en cuenta que la CL₅₀ obtenida en este ensayo se encontró por debajo de las dosis evaluadas, se llevó a cabo un segundo ensayo con rangos más estrechos, los resultados se indican en la Tabla 4.

Tabla 4. CL₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON (Ensayo 2).

Dosis MON mg/L ^a	CL ₅₀ -MON 48h ^b (mg/L)	Límites de confianza (P<0,05)		% Ajustado ^e	pH inicial ^f	pH final ^g
		LCI ^c	LCS ^d			
10	7,94	5,59	10,09	81.88	6,47	6,45
20					6,23	6,18
30					6,41	6,36
40					6,19	6,15
50					6,18	6,15

^a Dosis utilizada para determinar la concentración letal 50 sobre *D. magna*.

^b Concentración a la cual muere el 50% de los individuos.

^c LCI: Límite de confianza inferior.

^d LCS: Límite de confianza superior.

^e Indica que porcentaje de la variable dosis afecta a la población.

^f pH tomado al inicio del ensayo toxicológico.

^g pH tomado al final del ensayo toxicológico.

Según los resultados observados en la Tabla 4, se obtuvo una CL₅₀ de 7,94 mg/L de COT con un porcentaje ajustado de 81,88% y como el P-Valor es <0,05 existe diferencias estadísticamente significativas. Lo que demuestra que una mayor concentración de MON en las soluciones afecta en la mortalidad de los individuos. Teniendo en cuenta que la CL₅₀ obtenida en el segundo ensayo se encontró por debajo de las dosis evaluadas, se llevó a cabo un tercer ensayo, cuyos resultados se indican en la Tabla 5.

Tabla 5. CL₅₀ – 48 h para el patrón sintético de MON (Ensayo 3).

Dosis mg/L ^a	CL ₅₀ -MON 48h ^b (mg/L)	Límites de confianza (P<0,05)		% Ajustado ^e	pH inicial ^f	pH final ^g
		LCI ^c	LCS ^d			
3	2,18	1,01	3,10	66,05	6,63	6,58
6					7,19	7,05
9					7,21	7,2
12					6,6	6,57

^a Dosis utilizada para determinar la concentración letal 50 sobre *D. magna*.

^b Concentración a la cual muere el 50% de los individuos.

^c LCI: Límite de confianza inferior.

^d LCS: Límite de confianza superior.

^e Indica que porcentaje de la variable dosis afecta a la población.

^f pH tomado al inicio del ensayo toxicológico.

^g pH tomado al final del ensayo toxicológico.

Para la última prueba (Tabla 5) las concentraciones evaluadas fueron 3, 6, 9 y 12 mg/L de COT, los resultados obtenidos mostraron una CL₅₀ de 2,18 mg/L de COT, con un porcentaje ajustado de 66,05%, como el P-Valor es <0.05 existen diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza del 95,0%, demostrándose que la dosis de MON es el factor de mayor impacto en la mortalidad de los individuos.

El contenido de COT es ampliamente utilizado como un parámetro para representar la concentración de MON en el agua, pero la medida del COT no determina qué compuestos concretos están presentes en el agua⁸³, y cuáles de ellos puedan

⁸³ GARCÍA, Ana María. TORRES, Ricardo. GALEANO, Luis Alejandro. VICENTE, Miguel Ángel. GIL, Antonio. Op. cit., p. 37.

afectar en la salud humana y en los organismos acuáticos. Fuentes⁸⁴, afirma que la materia orgánica no biodegradable puede presentar distintos efectos sobre los animales como son, la acumulación en los tejidos, efectos tóxicos para distintos organismos manifestando su toxicidad de forma aguda y sobretodo crónica: alteraciones en la conducta, en el desarrollo embrionario y en la viabilidad de los individuos. En esta investigación se determinó por el tercer ensayo que una dosis de COT de 2,18 mg/L presenta un efecto tóxico sobre los individuos de *D. magna*, de acuerdo con lo antes mencionado probablemente esta consecuencia se deba a los distintos efectos que puede causar los diferentes componentes del patrón sintético de MON sobre los organismos.

4.3 ENSAYOS TOXICOLÓGICOS EN Na₂SO₃ Y H₂O₂ SOBRE *D. magna*

Con el fin de establecer los rangos de toxicidad de los compuestos Na₂SO₃ y H₂O₂ sobre *D. magna* se realizaron ensayos de toxicidad simultáneos, usando las dosis de cada compuesto según las empleadas por el proyecto Agua Potable - SGR para la mineralización de la MON con H₂O₂, y para la desactivación del H₂O₂ con Na₂SO₃. En las Tablas 6, 7 y 8 se pueden observar los resultados de la CL₅₀ en Na₂SO₃, H₂O₂ y la combinación de Na₂SO₃ + H₂O₂ respectivamente y en el Anexo G se presenta los resultados de los análisis estadísticos.

Tabla 6. CL₅₀ de Na₂SO₃ (blanco) sobre *D. magna*

Límites de confianza P<0,05 ^f				
Dosis Na ₂ SO ₃ (mg/L) ^a	CL ₅₀ -Na ₂ SO ₃ 48h ^b (mg/L)	LCI ^c	LCS ^d	% ajustado ^e
41,59		-		
63,02	34,76		38,31	96,27
84,02				
126,043				

^a Dosis utilizada para determinar la concentración letal 50 sobre *D. magna*.

^b Concentración a la cual se muere el 50% de los individuos.

^c LCI: Límite de confianza inferior.

^d LCS: Límite de confianza superior..

^e Indica que porcentaje de la variable dosis afecta a la población.

^f P<0,05: presenta diferencias estadísticamente significativas.

⁸⁴ FUENTES, Julio. Efecto de los contaminantes químicos en nuestras aguas. En: Épsilon. Junio, 2015. vol. 4: 37-47. p. 43.

Tabla 7. CL₅₀ de H₂O₂ (blanco) sobre *D. magna*.

Límites de confianza P<0,05 ^f				
Dosis H ₂ O ₂ (mg/L) ^a	CL ₅₀ ^b (mg/L)	LCI ^c	LCS ^d	% ajustado ^e
1,6				
5,4	7,3	6,40	8,59	72,44
8,4				

^a Dosis utilizada para determinar la concentración letal 50 sobre *D. magna*.

^b Concentración a la cual se muere el 50% de los individuos.

^c LCI: Límite de confianza inferior.

^d LCS: Límite de confianza superior..

^e Indica que porcentaje de la variable dosis afecta a la población.

^f P<0,05: presenta diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 8. CL₅₀ en la combinación de diferentes concentraciones de H₂O₂ y Na₂SO₃ sobre *D. magna*.

Ensayo	H ₂ O ₂ (mg/L) + Na ₂ SO ₃ (mg/L) ^a	CL ₅₀ ^b
1	5,6 + 41,59	Mortalidad del 100%
	9,7 + 41,59	
	10,3+ 41,59	
2	3,5 + 63,02	
	6,6 + 63,02	
	10,5+ 63,02	

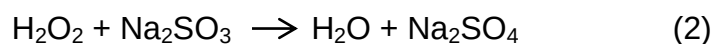
^a Dosis utilizada para determinar la concentración letal 50 sobre *D. magna*.

^b Concentración a la cual se muere el 50% de los individuos.

Los resultados obtenidos en la Tabla 6 indican una CL₅₀ presuntiva de 34,76 mg/L de Na₂SO₃ con un porcentaje ajustado de 96,27% y P valor < 0,05. Esto se explica porque el Na₂SO₃ es un agente reductor fuerte y reacciona violentamente con oxidantes, también reacciona con ácidos fuertes generando productos tóxicos como el óxido de azufre, siendo el Na₂SO₃ nocivo para organismos acuáticos, se utiliza aprovechando sus propiedades reductoras protegiendo tuberías o para eliminar el cloro libre⁸⁵. Por lo tanto, la CL₅₀ presuntiva de Na₂SO₃ determinada en esta investigación (34,76 mg/L) permitió que el proyecto Agua Potable - SGR replanteara la dosis de Na₂SO₃ empleada para desactivar el H₂O₂ remanente dado que inicialmente se adicionaba una dosis más alta (41,59 mg/L Na₂SO₃). Para esto el componente decidió adicionarlo en cantidad estequiométrica, teniendo en cuenta

⁸⁵INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Fichas internacionales de seguridad química: sulfito de sodio. ICSC: 1200. España, 2009. 2p.

la siguiente relación: 1 mg de H₂O₂ requiere para su desactivación 3,7 mg de Na₂SO₃, esta relación se deduce a partir de la siguiente ecuación⁸⁶:



De acuerdo a esta relación se midió la cantidad de H₂O₂ remanente en cada muestra a través del método yodométrico y se adicionó la cantidad de Na₂SO₃ necesaria para desactivarlo del medio con el fin de que la toxicidad sea causada no por el efecto indirecto del Na₂SO₃ sino por los subproductos generados durante el proceso de oxidación. Para futuras investigaciones se requiere realizar un ajuste del rango de concentraciones de Na₂SO₃ con el fin de establecer una CL₅₀ más precisa.

La CL₅₀ determinada para el H₂O₂ fue de 7,3 mg/L (Tabla 7), con un porcentaje ajustado de 72.44% y un P valor < 0,05. Según Bownik y Stepniewska⁸⁷, el H₂O₂ es un compuesto químico simple con una fuerte capacidad oxidante, el mecanismo de la acción tóxica del H₂O₂ se asocia con la inducción de estrés oxidativo ya que es más activo que el oxígeno molecular, igualmente estos autores al evaluar los efectos protectores de la ectoína (ETC) sobre los parámetros conductuales, fisiológicos y bioquímicos de *D. magna* sometidos a H₂O₂, encontraron una CL₅₀-48 horas de 5 mg/L de H₂O₂. Aunque esta CL₅₀ es menor que la encontrada en la presente investigación (7,3 mg/L), se evidencia que los individuos aparentemente presentaron una mayor resistencia al ser sometidos a este tóxico. El H₂O₂ se utiliza principalmente para la desinfección en el tratamiento de agua potable y acuicultura, su uso para el tratamiento de aguas residuales ha aumentado y su aplicación incontrolada puede inducir efectos perjudiciales en animales acuáticos sensibles, como los microcrustáceos⁸⁸. El H₂O₂ es utilizado durante la reacción PCFH para la producción de OH•, y al final de esta queda un remanente de H₂O₂ el cual es desactivado por el Na₂SO₃, por lo tanto es necesario aclarar que el H₂O₂ remanente es eliminado completamente y no será el causante de la inmovilidad de *D magna*.

La Tabla 8 muestra los resultados de los ensayos de toxicidad que se realizaron combinando las diferentes dosis de H₂O₂ y Na₂SO₃ (inicialmente empleadas en el

⁸⁶LIU, Wenjun. ANDREWS, Susan. STEFAN, Mihaela. BOLTONB, James. Optimal methods for quenching H₂O₂ residuals prior to UFC testing. En: Water Research. Octubre, 2003. vol. 37. p. 3697–3703.

⁸⁷BOWNIK, Adam. STEPNIEWSKA, Zofia. Protective effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* subjected to hydrogen peroxide. En: Comparative biochemistry and physiology, part C. Febrero, 2015. vol. 170. p. 38-49.

⁸⁸MEINERTZ, JR. GRESETH, SL. GAIKOWSKI, MP. SCHMIDT, LJ. Chronic toxicity of hydrogen peroxide to *Daphnia magna* in a continuous exposure, flow-through test system. En: Science total environment. 2008. vol. 392. p. 225.

proyecto Agua Potable - SGR), presentándose mortalidad del 100% para todos los tratamientos. Este resultado es consecuente con las dosis de Na_2SO_3 que se encontraron por fuera de la concentración presuntiva (34,76 mg/L) tolerable por *D. magna* (Tabla 7). El resultado permitió determinar que al quedar el H_2O_2 remanente desactivado por el Na_2SO_3 los individuos no presentaron inmovilidad por el agente oxidante si no por la adición en exceso de Na_2SO_3 que fue tóxica para *D. magna*, como se observó para las muestras de agua de Orejuela y Charandú. Sin embargo, para futuras investigaciones se requiere realizar otros ensayos de toxicidad en combinación de H_2O_2 y Na_2SO_3 en cantidad estequiométrica para comprobar la real inactividad del H_2O_2 .

4.4 DEGRADACIÓN DE COT, CONCENTRACION DE H_2O_2 REMANENTE Y DECOLORACIÓN POR MEDIO DE LA TECNOLOGÍA PCFH EN LOS DIFERENTES TIEMPOS DE REACCIÓN.

En la Tabla 9 se puede observar los valores de remoción de COT y la concentración de color y en la Tabla 10 se indica la cantidad de H_2O_2 remanente presentes en cada tiempo de reacción de la tecnología PCFH en las diferentes muestras de agua.

Tabla 9. Valores de COT y concentración de color presentes en las muestras de agua en los diferentes tiempos de reacción.

Tiempo de reacción (min)	Orejuela ^a (IPI-T-0,35)		Charandú ^a (IPI-T-0,33)		Chaguipé ^b (IPI-T-0,34)		Pueblo nuevo ^b (TUM-T-0,26)		Bajo jagua ^b (TUM-T-027)		P.T. Pasto ^b (PAS-T-016)		P.T. Túquerres ^b (TUQ-T-016)		P.T. Ipiales ^b (IPI-T-036)		Ensayo Catalítico con patrón sintético de MON ^b	
	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)	COT ^c (mg/L)	Color ^d (mg/L)
T₁ (0)	1,3	4,65	1,92	5,20	4,65	9,37	2,4	2,46	2,57	3,24	2,56	1,26	1,54	1,65	2,12	1,26	10,2	6,97
T₂ (30)	0,42	4,48	2,68	5,12	4	9,24	2,13	2,25	2,45	2,59	2,44	1,18	1,54	1,14	2,1	1,22	9,92	6,80
T₃ (75)	0,44	4,27	2,05	4,95	4,29	9,84	1,85	2,21	2,37	2,46	2,16	1,14	1,51	1,09	2,01	1,05	9,37	6,71
T₄ (120)	0,45	4,05	2,19	4,87	3,92	9,92	1,77	2,04	2,29	2,42	2,15	1,09	1,35	1,01	2,07	1,01	9,37	5,72
T₅ (165)	0,36	4,31	2,19	4,87	3,85	8,38	2,22	1,91	2,26	2,38	2,14	1,09	1,33	1,01	2,07	1,01	8,4	6,07
T₆ (210)	0,41	3,58	2,24	4,87	3,73	9,71	2,37	1,86	2,26	2,34	2,09	0,92	1,3	1,05	2,03	1,05	8,4	5,90
T₇ (240)	0,43	3,58	1,73	4,82	3,6	9,20	2,24	1,69	2,06	1,91	2,09	0,88	1,26	1,01	1,92	1,05	7,68	5,72

^a Muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH cuando el Na₂SO₃ fue adicionado en la concentración establecida por el proyecto Agua Potable - SGR antes de realizar el ensayo de toxicidad de este compuesto que arrojó una CL₅₀ presuntiva de 34,76 mg/L.

^b Muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH con la adición de concentraciones estequiométrica de Na₂SO₃ para desactivar H₂O₂ remanente (≤ 34,76 mg/L de Na₂SO₃).

^c Concentración de COT por medio de la tecnología PCFH en cada tiempo de reacción.

^d Concentración de color verdadero en cada tiempo de reacción de la tecnología PCFH.

Tabla 10. Valores de H₂O₂ remanente presentes en las muestras de agua en los diferentes tiempos de reacción.

Tiempo de reacción (min)	H ₂ O ₂ Remanente (mg/L)								Ensayo Catalítico con patrón sintético de MON ^b
	Orejuela ^a (IPI-T-0,35)	Charandú ^a (IPI-T-0,33)	Chaguipé ^b (IPI-T-0,34)	Pueblo nuevo ^b (TUM-T-0,26)	Bajo jagua ^b (TUM-T-027)	P.T Pasto ^b (PAS-T-016)	P.T Túquerres ^b (TUQ-T-016)	P.T Ipiales ^b (IPI-T-036)	
T₁ (0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T₂ (30)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T₃ (75)	0,43	0,83	0,03	0,01	0,36	0,73	1,03	1,38	1,34
T₄ (120)	0,15	1,14	0,15	1,14	0,67	0,85	3,27	2,65	0,45
T₅ (165)	0,31	1,32	8,31	3,71	1,28	1,22	3,03	3,35	0,89
T₆ (210)	0,55	0,67	0,77	5,91	1,88	1,96	4,84	5,17	4,28
T₇ (240)	0,78	0,17	1,03	3,53	2,55	1,74	4,78	5,11	3,80

^a Muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH cuando el Na₂SO₃ fue adicionado en la concentración establecida por el proyecto Agua Potable - SGR antes de realizar el ensayo de toxicidad de este compuesto que arrojó una CL₅₀ presuntiva de 34,76 mg/L.

^b Muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH con la adición de concentraciones estequiométrica de Na₂SO₃ para desactivar H₂O₂ remanente (≤ 34,76 mg/L de Na₂SO₃).

^c Degradación de COT por medio de la tecnología PCFH en cada tiempo de reacción.

^d Cantidad de H₂O₂ remanente presente en cada tiempo de reacción de la tecnología PCFH.

^e Concentración de color verdadero en cada tiempo de reacción de la tecnología PCFH.

Los resultados presentados en la Tabla 9 evidencian la eficiencia de remoción COT y decoloración por el proceso de tratamiento de la tecnología PCFH, esto se puede observar porque a medida que avanza el tiempo de reacción, hay una disminución en el valor de COT y el color. Según Tapia, et al.⁸⁹, el color del agua se debe a la presencia de MON como son las sustancias húmicas procedentes de los ácidos húmicos y fúlvicos los cuales representan entre el 50 y 75% del COT contenido en las aguas superficiales y aportan el color a las aguas a tratar. Estos resultados indican que la calidad del agua mejoró en comparación con el agua sin tratar, sin embargo la muestra de agua del ensayo catalítico con patrón sintético de MON presentó un valor mayor de COT (7,68mg/L) al tiempo final (T₇) en comparación con los resultados de las otras muestras de agua, lo que indica que la COT de la MON sintética no se logró degradar hasta bajas concentraciones de MON, además dado que el agua tratada por la tecnología PCFH es para consumo humano este valor supera los límites exigidos por la resolución 2115 de agua potable⁹⁰, donde indica que el valor máximo aceptable de COT debe estar en 5 mg/L para consumo humano, también la concentración de COT presente en la muestra afecta la inmovilidad en *D. magna* teniendo en cuenta que la determinada en esta investigación fue de 2,18 mg/L de COT.

En cuanto a la concentración de H₂O₂ remanente (Tabla 10) presente en cada tiempo de reacción, se infiere que las dosis se encontraron en rangos de 0 – 8,31 mg/L de H₂O₂ remanente en los diferentes tiempos de reacción, es pertinente aclarar que este H₂O₂ remanente es inactivado por el agente reductor (Na₂SO₃) que se adiciona a cada muestra, antes de someterse al ensayo toxicológico. Por lo cual se concluye que los individuos no presentaron inmovilidad por el agente oxidante si no por los probables SPDs generados durante la reacción de la tecnología PCFH.

4.5 CE₅₀ RESPECTO AL TIEMPO DE REACCIÓN Y AL COT DE LA PCFH SOBRE *D. magna*

La CE₅₀ en este estudio se calculó con base en cada tiempo de reacción para establecer a que tiempo se generaba una mayor o menor cantidad de subproductos tóxicos. En la Tabla 11 se observan la CE₅₀-48h y sus límites de confianza estimados para cada uno de los nueve ensayos de toxicidad sobre *D. magna* realizados con muestras de agua reales en los diferentes tiempos de reacción de la PCFH y en el Anexo I se presentan los resultados de los análisis estadísticos.

⁸⁹TAPIA, A. REYES, A. GARCÍA, I. Estudio de la fracción de materia orgánica de mayor remoción en el proceso de coagulación-floculación usando agua superficial. En: Nexa revista científica. Junio, 2013. vol. 24. p. 72-80.

⁹⁰COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Op. cit., p. 3.

Tabla 11. Tiempo de reacción de la PCFH al cual se inmoviliza el 50% de la población de *D. magna* CE₅₀-48 h.

Puntos de muestreo y COT (mg/L) del tiempo inicial (T ₁) de la reacción PCFH	CE ₅₀ -48h (minutos) ^c	Límites de confianza (P<0,05) ^d		CE ₅₀ -48h COT (mg/L) ^g	Límites de confianza (P<0,05) ^d	
		LCI ^e	LCS ^f		LCI ^e	LCS ^f
Orejuela ^a (1,3)	395,15	-	225,381	0,35	0,28	0,37
Charandú ^a (1,92)	531,29	-	254,93	1,57	1,35	1,72
Chaguaípe ^b (4,65)	70,96	43,95	93,94	3,98	3,92	4,03
Pueblo Nuevo ^b (2,4)	96,34	70,1	120,83	1,98	1,73	2,22
Bajo Jagua ^b (2,57)	92,18	70,13	113,28	2,30	2,28	2,31
P.T Pasto ^b (2,56)	69,13	45,53	89,62	2,21	2,19	2,25
P.T Túquerres ^b (1,54)	71,54	50,4	90,43	1,40	1,38	1,42
P.T Ipiales ^b (2,12)	85,81	64,28	105,96	2,04	2,03	2,05
Ensayo catalítico con patrón sintético de MON^b (10,2)	-125,43	-317,98	-51,89	6,31	3,80	7,12

^aMuestras de agua tratadas por la tecnología PCFH cuando el Na₂SO₃ fue adicionado en la concentración establecida por el proyecto Agua Potable - SGR antes de realizar el ensayo de toxicidad de este compuesto que arrojó una CL₅₀ presuntiva de 34,76 mg/L.

^b Muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH con la adición de concentraciones estequiométrica de Na₂SO₃ para desactivar H₂O₂ remanente (≤ 34,76 mg/L de Na₂SO₃).

^c Tiempo al cual se inmoviliza el 50% de los individuos de *D. magna*

^d P<0,05: presenta diferencias estadísticamente significativas.

^e LCI: límite de confianza superior.

^f LCS: límite de confianza inferior.

^g Dosis de COT a la que se inmoviliza el 50% de los individuos de *D. magna*.

En la Tabla 11 se puede observar la CE₅₀ expresada en minutos de reacción de cada una de las muestras. Las muestras de agua provenientes de las veredas Orejuela y Charandú presentaron valores de CE₅₀ por fuera del tiempo total de reacción (395,15 y 531,29 minutos), debido a las altas concentraciones de Na₂SO₃ (41,59 mg/L) empleadas inicialmente por el proyecto Agua Potable - SGR para la desactivación del H₂O₂ remanente, en cuanto a las muestras de agua cruda de las veredas del municipio de Tumaco (Pueblo Nuevo y Bajo Jagua) se puede observar que la CE₅₀ se presentó en un tiempo de reacción mayor (96,34 y 92,18 minutos), respecto a las demás muestras, para las aguas con tratamiento parcial de potabilización (pos-fisicoquímico antes de cloración) de las plantas de tratamiento de Pasto, Túquerres e Ipiales, la CE₅₀ se presentó en los siguientes tiempos de reacción: 69,1, 71,5 y 85,8 minutos respectivamente, una de las posibles razones por la cual en las plantas de tratamiento la inmovilidad se presentó en un tiempo más corto de reacción se debe al tipo de agua, dado que estos efluentes recibieron un tratamiento previo (coagulación, floculación) y que la adición de estos componentes posiblemente generó en la PCFH SPDs en menor tiempo de

reacción; así mismo, la muestra de agua cruda de la vereda Chaguaípe presentó una CE_{50} tiempo de reacción (70,96 minutos), estas muestras se caracterizan porque en su entorno existen cultivos agrícolas y pecuarios donde probablemente se usan agro-químicos, dichas sustancias pueden influir en la presencia de más contaminantes pudiendo ellos mismos ser los que produjeron toxicidad en menor tiempo de reacción. Se puede observar de acuerdo a estos resultados que la tecnología PCFH mejora el tratamiento de aguas reales para consumo humano, debido a que con este POA se comprueba que los subproductos formados por el sistema contaminante, en este caso la MON, no representan mayor toxicidad que el compuesto inicial, debido a que la composición de la COT presente al final de la reacción es menos tóxica que la inicial.

La MON es una preocupación directa en el agua potable porque afecta la calidad del agua aumentando la demanda de desinfectantes y coagulantes, y proporciona material precursor para los SPDs.⁹¹ Según Kommineni, et al.⁹², la presencia de altas concentraciones de MON puede resultar en la formación de subproductos de oxidación que pueden causar que la calidad del agua se deteriore más allá de su estado inicial de contaminación; del mismo modo, la presencia de nitratos y carbonatos así como otras sustancias puede interferir con la destrucción de los contaminantes objetivo y en última instancia, reducir la efectividad de la tecnología de tratamiento. En contraste con lo anteriormente mencionado en un rango de 70,96 a 96,34 minutos del tiempo de reacción se produce una cantidad de probables SPDs que resultaron ser tóxicos y afectaron en un 50% la inmovilidad de los individuos de *D. magna*.

4.6 INMOVILIZACIÓN DE *D. magna* EN LAS MUESTRAS DE AGUA OBTENIDAS A DIFERENTES TIEMPOS DE REACCIÓN DE LA PCFH

En la Tabla 12 se presentan los porcentajes de inmovilización de *D. magna* obtenidos en los ensayos de toxicidad de las muestras de agua tratadas con la tecnología PCFH sobre este bioindicador.

⁹¹BEKBOLET, M. UYGUNER, C. SELCUK, L. RIZZO, L. NIKOLAOU, A. MERIC, S. BELGIORNO, V. Application of oxidative removal of NOM to drinking water and formation of disinfection by-products. En: Desalination. Noviembre, 2005. vol. 176. p.155-156.

⁹²KOMMINENI, S. ZOECKLER, J. STOCKING, A. LIANG, S. FLORES, A. KAVANAUGH, M. Advanced oxidation processes. En: Removal of MTBE with advanced oxidation processes. London: 12 caxton street, IWA publishing, 2004.p.116.

Tabla 12. Porcentaje de inmovilización de *D. magna* en muestras de agua obtenidas a diferentes tiempos de aplicación de la tecnología PCFH.

Tiempo de reacción (min)	INMOBILIZACIÓN (%)								Ensayo Catalítico con patrón sintético de MON
	Orejuela ^a (IPI-T-0,35)	Charandú ^a (IPI-T-0,33)	Chaguaipe ^b (IPI-T-0,34)	Pueblo Nuevo ^b (TUM-T-0,26)	Bajo Jagua ^b (TUM-T-027)	P.T. Pasto ^b (PAS-T-016)	P.T.Tuquerres ^b (TUQ-T-016)	P.T.Ipiales ^b (IPI-T-036)	
T ₁ (0)	100	100	100	97,5	100	97,5	97,5	100	100
T ₂ (30)	100	97,5	77,5	90	92,5	85	90	95	100
T ₃ (75)	100	85	67,5	77,5	85	67,5	72,5	72,5	97,5
T ₄ (120)	60	70	50	57,5	60	55	52,5	60	97,5
T ₅ (165)	55	77,5	37,5	45	30	22,5	22,5	35	92,5
T ₆ (210)	42,5	50	7,5	15	12,5	7,5	5	7,5	87,5
T ₇ (240)	67,5	52,5	5	5	2,5	2,5	0	0	85
CON-TROL	0	0	0	2,5	0	2,5	0	0	0

^aMuestras de agua tratadas por la tecnología PCFH cuando el Na₂SO₃ fue adicionado en la concentración establecida por el proyecto Agua Potable - SGR antes de realizar el ensayo de toxicidad de este compuesto que arroja una CL₅₀ presuntiva de 34,76 mg/L.

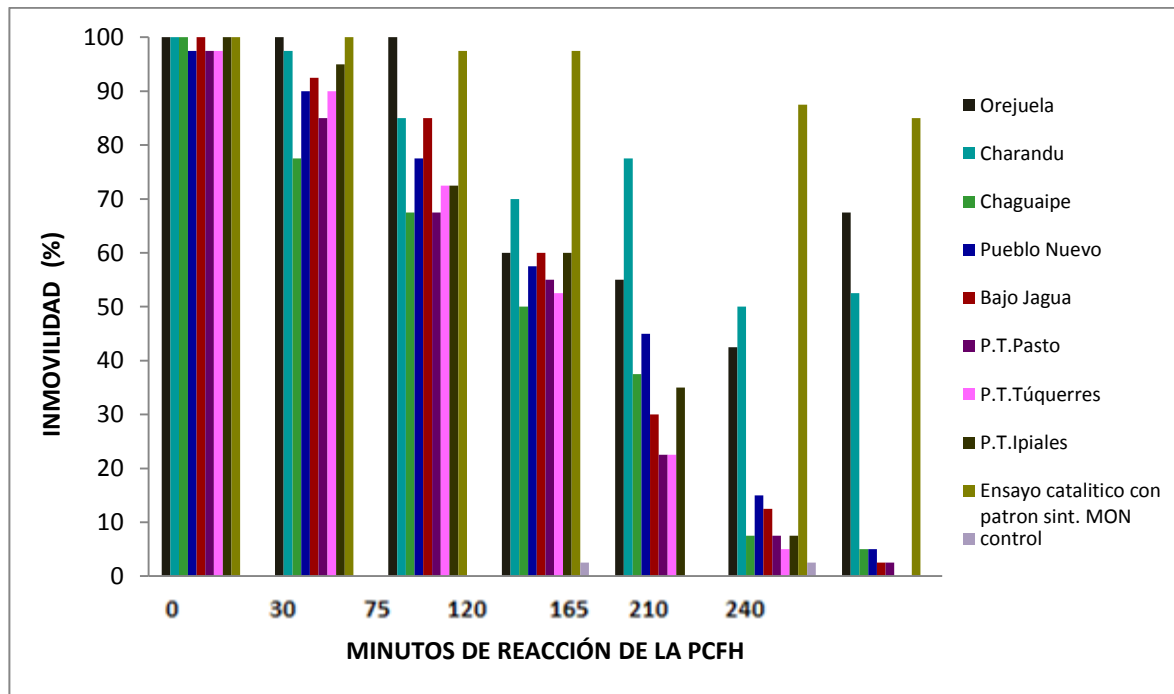
^b Muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH con la adición de concentraciones estequiométrica de Na₂SO₃ para desactivar H₂O₂ remanente ($\leq 34,76$ mg/L de Na₂SO₃).

A partir de la Tabla 12 se puede apreciar que, las muestras de agua de las veredas Orejuela y Charandú presentaron porcentajes de inmovilidad de 67,5% y 52,5% respectivamente en el tiempo final (T₇). Este resultado se podría explicar por las altas concentraciones del agente reductor (41,59 mg/L Na₂SO₃) empleadas inicialmente por el proyecto Agua Potable - SGR, para la desactivación del H₂O₂ remanente, lo cual se demostró en esta investigación que, una cantidad de Na₂SO₃ mayor a la tolerable por *D. magna* (CL₅₀ presuntiva de 34,76 mg/L) genera un incremento en el porcentaje de inmovilidad en el tiempo final de reacción (T₇). Se observó que posterior al ajuste estequiométrico en la adición de Na₂SO₃ durante la reacción de la PCFH, la inmovilización de los individuos de *D. magna* disminuyó significativamente en el tiempo final de reacción (T₇), al comparar con las demás muestras de agua tratadas por esta tecnología (Figura 4). En las muestras de agua de Bajo Jagua, Planta de Tratamiento de Pasto, Chaguaipe y Pueblo Nuevo, se obtuvieron porcentajes entre 2,5 y 5% de inmovilidad de los individuos de *D. magna*, esto debido probablemente a que estas muestras presentaron concentraciones de COT superiores al inicio entre 2,56 y 4,65 mg/L y final de la reacción PCFH, entre 2,06 y 3,6 mg/L, en relación con aquellas muestras (Planta de Tratamiento de Túquerres e Ipiales) que no presentaron porcentajes de inmovilidad (1,54 y 2,12 mg/L de COT al inicio y 1,26 y 1,92 mg/L de COT al final de la reacción de la PCFH). Por otra parte estas muestras poseen al inicio de la reacción PCFH un color aparente y turbiedad por encima del límite permisible por la Resolución 2115 (Anexo M), por cuanto se debe tener en cuenta que estos

parámetros se relacionan con la presencia de MON, evidenciando que al final de la reacción PCFH probablemente se hayan asociado al porcentaje de inmovilidad presentado, teniendo en cuenta que no se alcanzó una remoción de este compuesto suficiente para no afectar la inmovilidad de estos individuos tal como se evidenció en las muestras de las Plantas de Tratamiento de Túquerres e Ipiales. El ensayo catalítico con patrón sintético de MON, mostró un nivel de inmovilidad del 85% (Tabla 12), este alto porcentaje de inmovilización observado en la muestra probablemente puede deberse a la dosis de COT (7,68 mg/L) (Tabla 9) presente en el T₇, la cual fue tóxica para los individuos de *D. magna*.

La Figura 4 presenta los diferentes porcentajes de inmovilización en cada uno de los tiempos de reacción.

Figura 4. Porcentaje de inmovilización de *D. magna* vs tiempo de aplicación de la tecnología PCFH en las diferentes muestras de agua tratadas.



Como se observa en la Figura 4 a medida que aumenta el tiempo de la reacción PCFH se da una disminución de la toxicidad sobre *D. magna*, excepto las muestras de agua de las veredas Orejuela y Charandú las cuales presentaron diferentes niveles de toxicidad a lo largo del tiempo de reacción. Probablemente para las aguas de Orejuela y Charandú fue la alta concentración de Na₂SO₃ usada en las muestras para la desactivación de H₂O₂, lo que explica los resultados obtenidos. Cabe resaltar que para las demás muestras los mayores porcentajes de inmovilidad (97,5 y 100%) se presentaron en el tiempo inicial y tienden a disminuir

a medida que se incrementa el tiempo de reacción lo que implica que todos los probables SPDs generados fueron menos tóxicos que la muestra de agua inicial. Según Bekbolet, et al.⁹³, la MON es una preocupación directa en el agua potable porque afecta la calidad del agua aumentando la demanda de desinfectantes y coagulantes, y proporciona material precursor para los SPDs, que pueden ser tóxicos para *D. magna*.

Autores como Bekbolet, et al.⁹⁴, al evaluar muestras de agua utilizando coagulación, ozonización y fotocátalisis, como sistema de tratamiento obtuvieron como resultado porcentajes de inmovilización de 35, 60 y 40% respectivamente, al final de los ensayos. Otro estudio realizado por Ibarra y Salcedo⁹⁵, al determinar la toxicidad aguda de muestras de agua tratadas por cloración, obtuvieron como resultado porcentajes de inmovilización de 39,3, 39,6 y 43,5%. Al ser comparados estos estudios en los cuales se utilizaron otros POAs con los resultados de esta investigación, la tecnología PCFH demostró ser un proceso satisfactorio para la remoción de toxicidad en aguas tratadas indicando que los productos generados por la oxidación fueron tóxicos durante los primeros tiempos de reacción, pero a medida que transcurría el tiempo la toxicidad fue disminuyendo, obteniendo como resultado al final de los ensayos catalíticos un bajo porcentaje de inmovilidad (0, 2,5 y 5%) de individuos de *D. magna* lo que indica que la calidad del agua mejoró para consumo humano y no cause efectos negativos sobre la salud e impactos ecológicos.

4.7 CORRELACIÓN DE pH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA SOBRE LA INMOVILIZACIÓN DE *D. magna*

4.7.1 Resultados de pH en las diferentes muestras de agua.

En la Tabla 13 se presentan los resultados al inicio y final de los ensayos toxicológicos con *D. magna* en cada una de las muestras de agua.

⁹³ BEKBOLET et al. Op. Cit. p 156.

⁹⁴ BEKBOLET et al. Op. Cit. p 164.

⁹⁵ IBARRA, Yuliana. SALCEDO, Stefany. Evaluación toxicológica ambiental del agua potable, asociada a la presencia de trihalometanos. Trabajo de grado (Ingeniería Ambiental). Universidad Mariana. Facultad de Ingeniería. San Juan de Pasto. 2017. p. 49.

Tabla 13. Resultados pH al inicio y al final de los ensayos de toxicidad.

Tiempo de reacción (minutos)	Orejuela (IPI-T-0,35)		Charandú (IPI-T-0,33)		Chaguipé (IPI-T-0,34)		Pueblo Nuevo (TUM-T-0,26)		Bajo Jagua (TUM-T-027)		P.T. Pasto (PAS-T-016)		P.T. Túquerres (TUQ-T-016)		P.T. Ipiales (IPI-T-036)		Ensayo catalítico con patrón sintético MON	
	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final
Control	8,1	8	7,9	7,9	8,4	8,37	7,87	7,83	7,91	7,9	7,83	7,8	7,79	7,8	8,04	8,01	7,5	7,52
T₁ (0)	7	6,98	7,58	7,58	7	6,98	7,65	7,61	7,39	7,4	7,19	7,17	7,58	7,54	7,89	7,87	7	6,98
T₂ (30)	7,29	7	7,57	7,56	7	7	8,17	8,1	7,36	7,33	7,21	7,18	7,5	7,47	7,9	7,87	7,11	7,1
T₃ (75)	7	7	7,54	7,54	6,8	6,77	8,25	8,21	7,22	7,18	7,11	7,09	7,45	7,4	7,86	7,81	6,41	6,4
T₄ (120)	7,15	6,95	7,48	7,46	6,77	6,73	8,4	8,37	7,1	7,04	7,05	7	7,36	7,32	7,76	7,77	7,33	7,32
T₅ (165)	6,85	7,08	7,4	7,38	6,7	6,68	8,13	8,08	7,1	7	6,97	6,95	7,33	7,2	7,7	7,68	6,96	6,96
T₆ (210)	6,59	6,8	7,27	7,25	6,67	6,65	8,15	8,1	7,07	7,05	6,92	6,89	7,3	7,3	7,6	7,56	6,9	6,91
T₇ (240)	6,73	6,59	7,17	7,17	6,66	6,6	8,16	8,16	7	6,96	6,9	6,88	7,32	7,28	7,65	7,6	6,85	6,84

Los valores de pH medidos en las muestras de agua sometidas a los ensayos toxicológicos (Tabla 13), se encuentran acordes con los rangos de pH de 6,5 a 9 establecidos por la Resolución 2115⁹⁶ para agua potable y de 6 a 9 requeridos para el cultivo y mantenimiento de *D. magna* según la norma ISO 6341⁹⁷.

4.7.2 Correlación del efecto de pH sobre la inmovilización de *D. magna*.

En la Tabla 14 se presentan los resultados de la relación de interdependencia que existe entre el pH y la inmovilización de *D. magna*.

⁹⁶ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Ley 205-206. Op. cit., p. 3.

⁹⁷ ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Op. cit., p. 9

Tabla 14. Valores de correlación entre pH e inmovilización.

Puntos de muestreo	Tipo de agua	Correlación pH – Inmovilización	Tipo de correlación ^a	P- valor ^b
Orejuela	Cruda	-0,001	relación negativa muy baja	>0,05
Charandú	Cruda	0,15	relación positiva baja	>0,05
Chaguaípe	Cruda	0,30	relación positiva baja	>0,05
Pueblo Nuevo	Cruda	0,02	relación positiva muy baja	>0,05
Bajo Jagua	Cruda	0,35	relación positiva baja	<0,05
Planta de tratamiento Pasto	Efluente tratamiento pos- fisicoquímico	0,38	relación positiva baja	<0,05
Planta de tratamiento Túquerres	Efluente tratamiento pos- fisicoquímico	0,33	relación positiva baja	>0,05
Planta de tratamiento Ipiales	Efluente tratamiento pos- fisicoquímico	0,36	relación positiva baja	<0,05
Ensayo catalítico con patrón sintético de MON	Tipo I	-0,26	relación negativa baja	>0,05

^a Los coeficientes de correlación varían de -1 a +1 y miden la intensidad de la relación lineal entre las dos variables. Los valores de máxima correlación son -1 (correlación negativa) y +1 (correlación positiva). El signo de la correlación indica su dirección.

^b P-valor ≤ 0.05 correlación lineal estadísticamente significativa al 5% de nivel de confianza.

P-valor > 0.05 correlación lineal estadísticamente no significativa al 5% de nivel de confianza.

Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar la correlación entre pH e inmovilización (Tabla 14), estableciéndose que para las muestras que no existe una correlación entre las variables (P valor > 0,05), la inmovilidad no se asoció a este parámetro debido a que las variaciones fueron mínimas. Sin embargo, las muestras de agua de la vereda Bajo Jagua y plantas de tratamiento de Pasto e Ipiales, indican una relación positiva baja (P valor <0,05), indicando que probablemente un incremento en el valor de pH se presentará mayor inmovilidad de *D. magna*. Este tipo de asociación probablemente se deba a que este tipo de aguas. La muestra de agua de Bajo Jagua por ser una muestra de agua cruda proveniente de un río donde el tipo de contaminantes presentes pueden incidir en la alteración del pH durante la reacción de la PCFH,

probablemente afectó la inmovilidad de *D. magna* durante los primeros 120 minutos de reacción. Respecto a las plantas de tratamiento de Pasto e Ipiales la asociación se presentó porque, probablemente estas aguas al recibir un tratamiento previo como es la coagulación donde se puede variar el coagulante y la cantidad de este según el tipo de agua, ocasionó que la adición de esta sustancia pudiera interferir en la generación de contaminantes que alteraron el pH durante la reacción de la PCFH y como consecuencia se presentara una mayor inmovilidad durante los primeros 120 minutos de reacción.

4.7.3 Resultados de conductividad eléctrica en las muestras de agua de los ensayos toxicológicos con *D. magna*.

En la Tabla 15 se indican los resultados de conductividad eléctrica al inicio y al final de los ensayos toxicológicos, de las muestras de cada ensayo catalítico.

Tabla 15. Resultados de conductividad eléctrica al inicio y al final de los ensayos de toxicidad.

Tiempo de reacción (minutos)	Orejuela (IPI-T-0,35)		Charandú (IPI-T-0,33)		Chaguipe (IPI-T-0,34)		Pueblo Nuevo (TUM-T-0,26)		Bajo Jagua (TUM-T-027)		P.T. Pasto (PAS-T-016)		P.T. Túquerres (TUQ-T-016)		P.T. Ipiales (IPI-T-036)		Ensayo catalítico con patrón sintético de MON	
	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b	CI ^a	CF ^b
control	7,6	7,43	7,2	6,69	5,11	5	6,2	6,12	6,61	6,6	8,54	8,5	5,98	5,5	5,36	5,3	6,8	6,76
T₁ (0)	49,8	49	70,30	70,1	51,2	50,12	28,3	28	25,12	25	48,31	48,24	35,3	35	55,78	55,76	32,1	31,78
T₂ (30)	40,8	39,9	55,2	55	47,1	47	20,45	20	19,56	19	45,23	44,98	40,1	39,89	43,89	43,8	28,1	28
T₃ (75)	38	37,45	31,8	31,6	39,9	39	17,89	17,54	16,45	16,1	39,47	39	28,11	28	35,54	35,12	23,5	23
T₄ (120)	29,8	29	23,7	22,9	35,7	35	10,79	10,2	10,32	10,3	27	26,85	17,6	17	21,77	21,1	17,3	17,23
T₅ (165)	20,5	20,1	18,2	18	27,8	27,8	6,65	5	6,71	6,5	14,8	14,34	14,89	5	16,45	16	15	14,95
T₆ (210)	15,3	15,3	13,4	13,1	17,5	17,2	3,2	3,11	4,99	4,5	7,85	7,8	5,4	5,4	8,56	8,5	13,2	13
T₇ (240)	7,7	7,34	5,1	5,1	6,2	6	2,47	2,4	2,4	2,4	4,23	4,11	3,35	3,33	4,11	4,1	11,9	11,73

^a Valores de conductividad al inicio de los ensayos de toxicidad.

^b Valores de conductividad al final de los ensayos de toxicidad.

Los resultados obtenidos en la Tabla 15 indican que las muestras de agua utilizadas para ensayos de toxicidad en el tiempo inicial T_1 presentaron una alta cantidad de iones, los valores de conductividad eléctrica se presentaron en rangos de 25 a 70,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$, lo que sugiere un mayor contenido de sólidos disueltos, además indica que el agua se encuentra más mineralizada al inicio de los ensayos. Estos resultados se encontraron por encima de los límites requeridos para la especie según la norma ISO 6341⁹⁸, la conductividad eléctrica del agua de cultivo en *D. magna* debe ser inferior a 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$, no obstante a medida que aumentó el tiempo de reacción la conductividad eléctrica disminuyó considerablemente llegando a valores de 2,4 y 11,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ durante el tiempo final de reacción (T_7) produciendo un efecto positivo en la sobrevivencia de los individuos.

4.7.3 Correlación del efecto de la conductividad eléctrica, sobre la inmovilización de *D. magna*.

En la Tabla 16 se presenta los resultados de la relación que existe entre el efecto que produce la conductividad eléctrica sobre la inmovilización de *D. magna*.

⁹⁸ ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. op. cit., p. 9

Tabla 16. Correlación entre conductividad eléctrica e inmovilización.

Puntos de muestreo	Tipo de agua	Correlación conductividad eléctrica. inmovilización	Tipo de correlación ^a	P- valor ^b
Orejuela	Cruda	0,84	Relación positiva muy alta	<0,05
Charandú	Cruda	0,77	Relación positiva muy alta	<0,05
Chaguaipe	Cruda	0,93	Relación positiva muy alta	<0,05
Pueblo Nuevo	Cruda	0,84	Relación positiva muy alta	<0,05
Bajo Jagua	Cruda	0,89	Relación positiva muy alta	<0,05
Planta de tratamiento Pasto	Efluente tratamiento pos-fisicoquímico	0,92	Relación positiva muy alta	<0,05
Planta de tratamiento Túquerres	Efluente tratamiento pos-fisicoquímico	0,93	Relación positiva muy alta	<0,05
Planta de tratamiento Ipiales	Efluente tratamiento pos-fisicoquímico	0,96	Relación positiva muy alta	<0,05
Ensayo catalítico con patrón sintético de MON	Tipo I	0,69	Relación positiva alta	<0,05

^a Los coeficientes de correlación varían de -1 a +1 y mide la intensidad de la relación lineal entre las dos variables. Los valores de máxima correlación son -1 (correlación negativa) y +1 (correlación positiva). El signo de la correlación indica su dirección.

^b P-valor <= 0.05 correlación lineal estadísticamente significativa al 5% de nivel de confianza.

En la Tabla 16 se observa valores de correlación entre conductividad eléctrica y CE₅₀ indicando según el coeficiente de correlación de Spearman una relación positiva alta, debido a que a medida que la conductividad eléctrica disminuye los casos de inmovilidad de *D. magna* disminuyen, la inhibición de la movilidad se ve asociada por este parámetro puesto que, durante el proceso de los ensayos catalíticos las muestras de agua sin tratar contenían concentraciones de iones tóxicos que probablemente afectaron la inmovilidad de *D. magna*, sin embargo, a medida que transcurrió el tiempo de reacción se generó una mayor cantidad de OH• producidos por la PCFH capaces de oxidar los compuestos contaminantes que

afectaban la inmovilidad de las pulgas y así disminuir el porcentaje de inmovilidad al final de la reacción PCFH.

Para el GIMFC al aplicar la tecnología PCFH es importante lograr la mineralización completa de compuestos tóxicos que son persistentes a la degradación natural, en este caso la MON, y que como producto de todo el proceso se genere CO_2 y H_2O . Kommineni, et. al,⁹⁹ afirman que existen muchos parámetros de calidad del agua que pueden afectar la efectividad de los POAs. Por ejemplo, casi todos los compuestos orgánicos disueltos presentes en la fuente de agua servirán para reducir la eficiencia de eliminación del compuesto objetivo al consumir $\text{OH}^\bullet$. Los nitratos y nitritos adsorben la luz UV y, en consecuencia, concentraciones altas de nitrato ($>1 \text{ mg/L}$) o nitrito alto ($>1 \text{ mg/L}$) limitan la efectividad de las tecnologías, fosfatos y sulfatos están comúnmente presentes en bajas concentraciones en las aguas de origen, pero también estos compuestos tienen el potencial de eliminar $\text{OH}^\bullet$. Para las muestras de agua evaluadas de esta investigación, se evidencio la presencia de dichos compuestos los cuales se encontraron admisibles para cloruros, fosfatos, nitratos, nitritos, sulfatos, fluoruros y dureza total, para el caso de color aparente, solo las plantas con previo tratamiento de potabilización (Pasto, Ipiales y Túquerres) se encuentran en los límites permitidos y admisibles por la Resolución 2115 de agua potable, para el parámetro de turbiedad, las muestras de la planta de tratamiento de Ipiales y la muestra de agua de la vereda Orejuela se encuentran bajo los rangos permisibles, las demás muestras sobrepasan el límite admisible. La presencia de estos compuestos al inicio de la reacción en la aplicación de la tecnología PCFH evidencia que los niveles de los compuestos que pueden llevar a disminuir la presencia de $\text{OH}^\bullet$ no son representativos, sin embargo, contribuyen a la presencia de una mayor conductividad eléctrica al inicio de los ensayos catalíticos (T_1) y por ende se asocian a la inmovilización de *D. magna*.

⁹⁹ KOMMINENI, Op. cit. p.116.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Se estableció que una dosis de Na_2SO_3 de 34,76 mg/L presenta un efecto tóxico sobre *D. magna*. Esto permitió que el proyecto Agua Potable - SGR determinara la concentración de Na_2SO_3 empleada para desactivar el H_2O_2 remanente en concentración estequiométrica. Dosis superiores a lo reportado generan una mayor inmovilidad en *D. magna* lo que se observó en las muestras de agua de las veredas Orejuela y Charandú.

Se determinó que una dosis de H_2O_2 de 7,3 mg/L presenta efectos tóxicos para *D. magna*. Este compuesto es utilizado por el proceso de la PCFH para la producción de $\text{OH}^\bullet$, la presencia de H_2O_2 remanente en el agua tratada con tecnología PCFH en una dosis superior a la reportada en esta investigación causa efectos tóxicos sobre *D. magna*, sin embargo, el H_2O_2 remanente es desactivado por el Na_2SO_3 cuando se añade en cantidad estequiométrica.

Las muestras de agua tratadas por la tecnología PCFH lograron disminuir su toxicidad llegando a porcentajes de inmovilidad del 0% al final de la reacción (T_7), excepto las muestras de agua de Chaguaipe y Pueblo Nuevo, las cuales presentaron valores de inmovilidad del 5% y las aguas de Bajo Jagua y planta de tratamiento de Pasto 2,5%, estos resultados probablemente se deben a que estas presentaron al inicio de la reacción PCFH, color aparente y turbiedad por encima del límite permisible por la Resolución 2115, las cuales se encuentran ligadas a la concentración de MON y por ende al COT. Teniendo en cuenta que no se alcanzó una remoción de este compuesto suficiente para no afectar la inmovilidad de *D. magna*.

La CE_{50} con respecto al tiempo de reacción de aplicación de la PCFH evidencio que en rangos de 69,13 – 96,34 minutos, se inmovilizo el 50% de los individuos de *D. magna* y a medida que aumento el tiempo de reacción se evidencio una disminución en el porcentaje de inmovilidad, por lo cual se determina que los compuestos generados durante la reacción PCFH disminuyeron su toxicidad.

La variable pH, no incidió en la inmovilidad de *D. magna* debido a que presentó una baja correlación de Spearman (0,38 – -0,001), dado que los valores se encontraron dentro de lo establecido para la especie (6 - 9). Excepto para las muestras de la vereda Bajo Jagua y las plantas de tratamiento de Pasto e Ipiales indicando una relación positiva baja, lo cual evidencia que el pH tuvo incidencia en la inmovilidad para *D. magna*.

La conductividad eléctrica presentó una alta correlación positiva para todas las muestras (0,96 – 0,77) indicando que afectó la inmovilidad de los individuos de *D. magna*, puesto que en las muestras de agua existe presencia de MON y sólidos disueltos, que están relacionados con la conductividad eléctrica.

5.2 RECOMENDACIONES

Realizar más ensayos de toxicidad con el agente reductor (Na_2SO_3) con el fin de obtener una dosis contaminante más precisa de este compuesto.

Se recomienda determinar la concentración letal (CL_{50}) para las muestras de aguas reales.

Evaluar pruebas de toxicidad crónica para analizar el efecto que causarían las aguas tratadas con la PCFH en un largo periodo de tiempo.

Caracterizar SDPs que se generan en cada tiempo de reacción para identificar los tóxicos que afectan a *D. magna* y poder realizar una CE_{50} de cada uno.

Realizar ensayos de toxicidad con la combinación de Na_2SO_3 y H_2O_2 en cantidad estequiométrica con el fin de comprobar la real inactividad del H_2O_2 .

BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR, Viviana. Optimización de los parámetros de operación de la peroxidación catalítica en fase húmeda del naranja de metilo e identificación de sus principales subproductos de oxidación. Trabajo de Grado (Química). Pasto: Universidad de Nariño, Facultad de ciencias exactas. 2015.

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. calidad de agua: Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* straus (*cladocera crustacea*). ensayo de toxicidad aguda. ISO 6341 2012. Madrid España.: AENOR, 2013.

ATWATER, James. AKSE, James. MCKINNIS, Jeffrey. THOMPSON, John. Low temperature aqueous phase catalytic oxidation of phenol. En: Chemosphere. Octubre, 1997. vol. 34. No.1. p. 203-212.

BEKBOLET, M. UYGUNER, C. SELCUK, L. RIZZO, L. NIKOLAOU, A. MERIC, S. BELGIORNO, V. Application of oxidative removal of NOM to drinking water and formation of disinfection by-products. En: Desalination. Noviembre, 2005. vol. 176. p.155-156.

BERTOLETTI, E. Toxicología, En: Ensaios biológicos com organismos aquáticos a e sua ação no controle da poluição. Sao Paulo: Companhia de tecnologia de saneamiento ambiental. 1990.

BOWNIK, Adam. STEPNIEWSKA, Zofia. Protective effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* subjected to hydrogen peroxide. En: Comparative biochemistry and physiology, part C. Febrero, 2015. vol. 170. p. 38-49.

CABRERA, Claudia. Pilarización a escala piloto de arcilla colombiana con un precursor Al/Fe en medio concentrado y su evaluación en la peroxidación catalítica de fenol en solución acuosa. Trabajo de grado (Química). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias exactas y naturales. 2017.

CALA, Leonardo Daniel. Toxicidad aguda del extracto acuoso de corteza de la planta uña de gato (*uncaria tomentosa*) en la pulga de agua (*Daphnia magna*). Trabajo de grado (médico veterinario zootecnista). Bucaramanga: Universidad cooperativa de Colombia. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 2013.

CHEN, Ting. XU, Yongpeng. ZHU, Shijun. CUI, Fuyi. Combining physico chemical analysis with a *Daphnia magna* bioassay to evaluate a recycling technology for drinking water treatment plant waste residuals. En: Ecotoxicology and Environmental Safety. Septiembre, 2015. vol. 122. p. 368–376.

CHIVA, Sergio. BERLANGA, José. CUENCA, Raul. CLIMENT, Javier. Procesos de oxidación avanzada en el ciclo integral del agua. Castellón de la Plana: Publicacions de la Universitat Jaume I, 2017.

COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución 2115 (22, Junio, 2007). Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Bogotá: El Ministerio, 2007. p. 1-23.

CUBAS, Karina. Correlação entre fator de toxicidade e parâmetros físico-químicos para efluentes domésticos tratados. Trabajo de grado (Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Tecnologia Ambiental). Curitiba. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. 2012.

DÍAZ, María. PICA, Yolanda. RONCO, Alicia. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IMTA, p. 52 – 63. 2004.

DÍAZ, María. SOBRERO, María y GRANADOS, Yolanda. Aseguramiento y control de calidad de bioensayos. En: Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas; Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. México: Gabriela Castillo Morales, 2004. p.17. ISBN 968-5536-33-3.

Fraga, Bruna. y Monteiro, Débora. Sensibilidade de *Daphnia magna* às substâncias de referência K₂Cr₂O₇ e NaCl: uma comparação visando a gestão dos resíduos laboratoriais. Florianopolis, Santa Catarina: 2011. 4 p.

FRANCIS, Royce. SMALL, Mitchell. VANBRIESEN, Jeanne. Multivariate distributions of disinfection by-products in Chlorinated drinking water. En: Water Research. Mayo, 2009. vol. 43. p. 3453 – 3468.

FERREIRA, Carla, Seleção de métodos biológicos para a avaliação toxicológica de efluentes industriais, Disertação (Mestrado em meio ambiente). Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Ciencias do medio ambiente. Belo Horizonte 2009. pp 4,5.

FUENTES, Julio. Efecto de los contaminantes químicos en nuestras aguas. En: Épsilon. Junio, 2015. vol. 4: p. 37-47.

GALEANO, Luis Alejandro. Peroxidación catalítica de contaminantes orgánicos en medio acuoso utilizando una bentonita modificada con Al y Fe, Cu o Mn. Tesis de

doctorado en Ciencias Químicas. Salamanca: Universidad de salamanca. Departamento de química inorgánica, 2011. 61 p.

GALEANO, Luis Alejandro. RAMÍREZ, José Herney. Natural Organic Matter Removal by Heterogeneous Catalytic Wet Peroxide Oxidation (CWPO). En: Springer International Publishing AG. 2017. p. 1–30.

GALEANO, Luis Alejandro. VICENTE, Miguel Ángel. GIL, Antonio. Catalytic Degradation of Organic Pollutants in Aqueous Streams by Mixed Al/M-Pillared Clays (M = Fe, Cu, Mn). En: Catalysis Reviews: Science and Engineering. Febrero, 2014. vol. 56:3 p. 239-287.

GALEANO, Luis Alejandro. BRAVO, Pedro Fernando. LUNA, Cristian Dario. VICENTE, Miguel Angel. GIL, Antonio. Removal of natural organic matter for drinking water production by Al/Fe-PILC-catalyzed wet peroxide oxidation: Effect of the catalyst preparation from concentrated precursors. En: Applied Catalysis B: Environmental. Noviembre, 2012. vol. 111-112, p. 527-535.

GALEANO, Luis Alejandro. GUERRERO, Milena. SANCHEZ, Claudia. GIL, Antonio, Y VICENTE, Miguel. Disinfection By Chemical Oxidation Methods. En: Springer International Publishing AG. 2017. p. 1-39.

GALLARZA, Silvia. RUBIO, Alfredo. Los organismos bentónicos como bioindicadores de la salud ecológica de los océanos. En: Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental. 1^{era} ed. México. 2014. ISBN 978-607-8429-05-9. 174 p.

GARCÍA, Ana María. TORRES, Ricardo. GALEANO, Luis Alejandro. VICENTE, Miguel Ángel. GIL, Antonio. Separation and Characterization of NOM Intermediates Along AOP Oxidation. En: Springer International Publishing AG. 2017. p. 1-39.

HU, Jianglin. CHU, Wenhai. SUI, Minghao. XU, Bin. GAO, Naiyun. DING, Shunke. Comparison of drinking water treatment processes combinations for the minimization of subsequent disinfection by-products formation during chlorination and chloramination. En: *Chemical Engineering Journal*. October, 2017. Vol. 335, p. 352-351.

IBARRA, Yuliana. SALCEDO, Stefany. Evaluación toxicológica ambiental del agua potable, asociada a la presencia de trihalometanos. Trabajo de grado (Ingeniería Ambiental). Universidad Mariana. Facultad de Ingenieria. San Juan de Pasto. 2017. INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Fichas internacionales de seguridad química: sulfito de sodio. ICSC: 1200. España, 2009

JAKUBOWSKI, Marck. Órgano diana y efectos críticos. En: Toxicología; Herramientas y enfoques, 1994

KOMMINENI Sunil,. ZOECKLER Jeffrey,. STOCKING Andrew., LIANG Sun., FLORES Amparo., KAVANAUGH Michael. Advanced oxidation processes. En: Removal of MTBE with advanced oxidation processes. London: 12 caxton street, IWA publishing, 2004.p.111-208.

LIU, Wenjun. ANDREWS, Susan. STEFAN, Mihaela. BOLTONB, James. Optimal methods for quenching H₂O₂ residuals prior to UFC testing. En: Water Research. Octubre, 2003. vol. 37. p. 3697–3703.

MAIGUAL, Yemall Alexander. Evaluación de la toxicidad aguda del malathion en alevinos de tilapia nilótica *oreochromis niloticus* (linnaeus, 1758) en ausencia y presencia de sedimento y análisis de residuo por cromatografía gaseosa. Trabajo de grado (Ingeniería en Producción Acuícola). Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. San Juan de Pasto. 2007.

MEINERTZ J.R., GRESETH S.L., GAIKOWSKI M.P., SCHMIDT L.J. Chronic toxicity of hydrogen peroxide to *Daphnia magna* in a continuous exposure, flow-through test system. En: Science total environment. 2008. vol. 392.p. 225–232.

MOLKENTHIN, Merle. OLMEZ-HANCI, Tugba. R. JEKEL, Martin. ARSLAN-ALATON, Idil. Photo-Fenton-like treatment of BPA: Effect of UV light source and water matrix on toxicity and transformation products. En: water research. Junio, 2013. Vol. 47: p. 5052-5064.

MORA, Ángela. Concentración letal 50 (CL50) del sulfonato de alquilbenceno de cadena lineal (LAS) en larvas de *Rhamdia quelen*. Trabajo de grado (Ingeniera en producción acuícola). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. 2015.

MUÑOZ, Helir-Joseph., BLANCO, Carolina., GIL, Antonio., VICENTE, Miguel-Ángel., GALEANO, Luis Alejandro. Preparation of Al/Fe-Pillared Clays: Effect of the Starting Mineral. En: Materials. Noviembre, 2017. Vol. 10: 1364. p. 1-16.

ONISANTE, Luis Felipe. ANDREATTA, Morgana. Avaliação de toxicidade de três substâncias de referência ao microcrustáceo *Daphnia magna*. Trabajo de grado curso de tecnología en procesos ambientales. Curitiba.: Universidad Tecnológica de Parana. 2013.

UNESCO

RAMÍREZ, José Herney. GALEANO, Luis Alejandro. PINCHAO, Gustavo. BEDOYA, Rafael Andres. HIDALGO, Arsenio. Optimized CWPO phenol oxidation in CSTR reactor catalyzed by Al/Fe-PILC from concentrated precursors at circumneutral pH. En: Environmental Chemical Engineering. Febrero, 2018. p. 1-49.

RAZ-GUZMÁN, M, A. Moluscos. p. 265-307. En: Organismos Indicadores de la Calidad del Agua y de la Contaminación (Bioindicadores). De la Lanza EG., Hernández PS y PJL Carbajal. (Eds). Plaza y Valdés. México. 633 p. 2000.

ROJAS, Catalina. RAMIREZ, Emilce. Determinación de la Concentración Letal Media (CL50-48h) del herbicida roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con *Daphnia magna*. Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá D.C 2008.

SÁNCHEZ , Daisy. RUIZ, Darling. Evaluación en la remoción de compuestos nitrogenados de un sistema acuapónico Vs un sistema acuícola convencional bajo condiciones de laboratorio Universidad de Nariño – Colombia. Trabajo de grado (Ingeniería en Producción Acuícola). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias, 2016.

SEGURA, Luis. Estudio de Antecedentes Sobre la Contaminación Hídrica en Colombia. Trabajo de Grado Administrador Público. Bogotá D.C. Escuela Superior de Administración Pública. Facultad de Pregrado. Programa en Ciencias Políticas y Administrativas. 2007.

SILLANPAA, Mika. NCIBI, Mohamed. MATILAINEN, Anu. Advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter from drinking water sources: A comprehensive review. En: Journal of Environmental Management. Diciembre, 2018. vol. 208. p. 56-76.

SILBERGELD, Ellen. Introducción. Toxicología; Herramientas y enfoques. En: Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Madrid: Jeanne MagerStellman. p.1427. 1998.

SIPAÚBA-Tavares L H., ROCHA O. Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. RiMa, São Carlos. 2003.

TAPIA, A. REYES, A. GARCÍA, I. Estudio de la fracción de materia orgánica de mayor remoción en el proceso de coagulación-floculación usando agua superficial. En: Nexa revista científica. Junio, 2013. vol. 24. p. 72-80.

VARGAS, Alexa. PEREA, Yaro. Determinación de la concentración letal media CL50-48, de bario e hidróxido de sodio, mediante bioensayos de toxicidad en un ecosistema, sobre *Daphnia magna*. Trabajo de grado (ingeniería ambiental). Bogotá D C: Universidad de la Salle. Facultad de ingeniería. 2011.

YANG, Mengting. ZHANG, Xiangru. Current trends in the analysis and identification of emerging disinfection byproducts. En: Trends in Environmental Analytical Chemistry. Marzo, 2016. vol. 10. p 24–34.

ANEXOS

 pro 	LABORATORIO DE CATÁLISIS-605 GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES FUNCIONALES Y CATÁLISIS GIMFC	COD: PLC-10
	Protocolo cultivo de microalgas	Versión: 1
	Elaborado por: Alejandra Caicedo Delgado y Marcela Botina Revisado por: Dolly Revelo – Componente Microbiología Revisado por: Ana María García – Componente Químico Aprobado por: Fecha: 26 Octubre de 2016	Páginas:

Anexo A. Cultivo de mantenimiento de alimento algal.

INTRODUCCIÓN

Las algas son organismos vivos, con algunas particularidades, son organismos autótrofos que realizan la fotosíntesis oxigénica con niveles de organización y estructuras simples. Están formadas por células de forma individual y de forma grupal, las microalgas deben tener el tamaño adecuado para ser ingeridas, una pared digerible y además, deben tener una composición bioquímica adecuada; otros criterios están relacionados con la fisiología de las microalgas e incluyen la resistencia a la fotoinhibición, la respuesta a las fluctuaciones diurnas, la sensibilidad a concentraciones de oxígeno y el estrés osmótico, ya que es común que en los sistemas de cultivo masivo realizados al exterior, se presenten condiciones limitantes que repercuten en el volumen de producción y por lo tanto en la rentabilidad. Las microalgas constituyen el mejor alimento para cladóceros por su aporte nutricional y fácil manutención en laboratorio.

Las microalgas constituyen el mejor alimento para cladóceros por su aporte nutricional y fácil manutención en laboratorio. En consecuencia para alimentar *Daphnia magna* se empleó la cepa del alga *Chlorella* sp. disponible en los laboratorios de ficología de IPA, con la cual se mantuvo adecuadamente el cultivo de este cladóceros.

OBJETIVOS

- Mantener una producción constante de algas.
- Aumentar la densidad poblacional de algas.

MATERIALES Y EQUIPOS

- Lámparas led con luz blanca (1000 – 3000 luxes)
- Termómetro
- Destilador de agua
- Blower de aireación
- Tubos de ensayo (10, 20 mL)
- Erlenmeyer (250, 500 y 1000 mL)
- Manguera
- Pipetas (1, 5 y 10 mL)
- Micropipetas
- Probetas
- Pipetas
- Mechero
- Microscopio óptico
- Balanza de precisión
- Refrigerador para mantenimiento de reactivos
- Autoclave para esterilización
- Guantes de látex
- Batas de laboratorio
- Alcohol al 70%
- Tapabocas

MONTAJE EXPERIMENTAL

Disponer de un cultivo de la cepa en caja de Petri de vidrio, disponer de tubos de ensayo con capacidad de 10 mL esterilizados, así como de recipientes tipo bombonero con capacidad de 3 L y recipientes de 15 L, pipetas y micropipetas, pipeteadores. Para la toma de parámetros disponer de termómetro y multiparametros. Para la aireación implementar blowers en recipientes mayores o iguales a 3 L de capacidad. Implementar luz constante y permanente con lámparas tipo led (1000 – 3000 luxes).

Organizar el montaje, por cada reactor se debe suministrar macro y micronutrientes disueltos en agua destilada esterilizada. Todo material y sitios de trabajo deben ser esterilizados y/o desinfectados.

El cultivo debe ser semicontinuo, de los reactores se retira la cantidad necesaria para suministrar como alimento al cladócero. Renovar con agua destilada suplementada con macro y micronutrientes.

PROCEDIMIENTO

1. Lavar todo el material a utilizar con agua de llave. Para la remoción de la materia orgánica se debe utilizar churruscos, esponjas etc.
2. Esterilizar los recipientes en autoclave a 121°C, 15 lbs de presión.
3. Bajo condiciones de asepsia, dispensar 10 mL de agua estilada y esterilizada en un tubo de ensayo de capacidad máxima de 20 mL.
4. Suplementar el agua del tubo de ensayo con 1 mL de macronutrientes (KENT Marine-Pro culture ® **A**) y 1 mL de micronutrientes (KENT Marine-Pro culture ® **B**)
5. Inocular con la ayuda de un asa colonias del cultivo del alga, en el medio de cultivo contenido en el tubo de ensayo. Incubar durante 3 días bajo condiciones estáticas a temperatura ambiente y con luz constante generada por lámparas tipo led de 3000 luxes.
6. Preparar 200 mL de agua destilada esterilizada suplementada con 1 mL de KENT Marine-Pro culture ® **A** y 1 mL de KENT Marine-Pro culture ® **B** en recipientes de 250 mL previamente esterilizados.
7. Inocular el cultivo obtenido en el tubo de ensayo en el medio de cultivo preparado en el paso 6. Incubar de 3 a 4 días bajo condiciones estáticas a temperatura ambiente, luz constante generada por lámparas tipo led de 3000 luxes y aireación suministrada por un blower.
8. Preparar 2 L de medio de cultivo suplementando 2 L de agua destilada esterilizada con 2 mL de KENT Marine-Pro culture ® **A** y 2 mL de KENT Marine-Pro culture ® **B** en recipientes de 3L previamente esterilizados.
9. Inocular el cultivo obtenido en el paso 7 en el medio de cultivo preparado en el paso 8. Incubar de 3 a 4 días bajo condiciones estáticas a temperatura ambiente, luz constante generada por lámparas tipo led de 3000 luxes y aireación suministrada por un blower.
10. Preparar 14 L de medio de cultivo suplementando 14 L agua destilada esterilizada con 2 mL de KENT Marine-Pro culture ® **A** y 2 mL de KENT Marine-Pro culture ® **B** en recipiente plástico de 15 L con llave de salida, previamente esterilizado.
11. Inocular el cultivo obtenido en el paso 9 en el medio de cultivo preparado en el paso 10. Incubar de 3 a 4 días bajo condiciones estáticas a temperatura ambiente, luz constante generada por lámparas tipo led de 3000 luxes y aireación suministrada por un blower.
12. Posterior al tiempo de incubación, abrir la llave del recipiente para retirar la cantidad de cultivo de alga necesario para alimentar el cultivo de *Daphnia magna*.

13. Se compensa el volumen retirado agregando agua destilada esterilizada suplementada con macronutrientes (2 mL de KENT Marine-Pro culture ® **A**) y micronutrientes (2 mL de KENT Marine-Pro culture ® **B**).

REFERENCIAS

Sipaúba, L. H., Rocha, O. 2003. Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos. Brasil. 1^{era} Edición: RIMA .122 p.

	LABORATORIO DE CATÁLISIS-605 GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES FUNCIONALES Y CATÁLISIS GIMFC	COD: PLC-10
	Protocolo Mantenimiento de cultivos para <i>Daphnia magna</i>	Versión: 1
	Elaborado por: Alejandra Caicedo Delgado, Marcela Botina J Revisado por: Dolly Revelo – Componente Microbiología Revisado por: Ana María García – Componente Químico Aprobado por: Fecha:	Páginas:

Anexo B. Conteo de algas en cámara de Neubauer.

INTRODUCCIÓN

La cámara de Neubauer o también llamada hematocitómetro es un equipo que se utiliza para realizar recuentos celulares, esta se trata de una gruesa placa de cristal con forma de portaobjetos, de unos 30 x 70 mm y unos 4 mm de grosor, existen dos tipos de cámaras, la una que simplemente posee una cámara simple, donde en la parte central, que es donde se realiza el conteo, está dividida en 3 partes, y en la parte central se encuentra grabada una retícula cuadrangular. También existe la cámara doble, que es la más común, este tipo de cámara tiene 2 zonas de conteo, una superior y otra inferior al eje longitudinal de la cámara (Figura 1), cada cuadrícula completa mide 3 mm x 3 mm de lado y esta subdividida a su vez en 9 cuadrados de 1 mm de lado cada uno, en la Figura 2 se muestra en más detalle las medidas y la cantidad de cuadros que posee una cámara de Neubauer.

Para realizar los conteos en el caso del número de algas depende de la concentración que tenga el cultivo algal, si el cultivo presenta un color verde brillante se observa que este tiene una concentración alta y el conteo se debe realizar en los cinco cuadros rojos como se indica en la Figura 3, en cambio si la concentración es baja cuando el cultivo presenta un color verde claro, el conteo celular se debe realizar en los cuadros azules marcados en la misma figura. Así mismo en la Figura 3 se indica la manera de realizar los conteos en forma de zigzag como se indica en el cuadro que está marcado con la letra **A**.

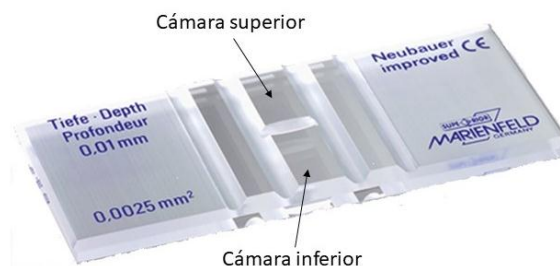


Figura 1. Cámara de Neubauer doble

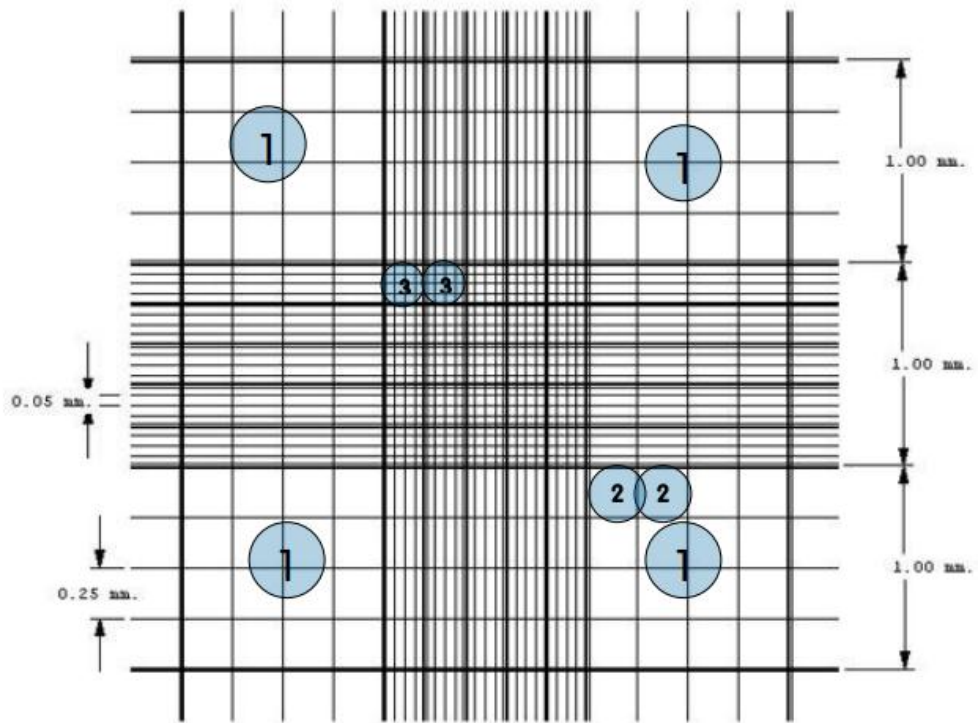


Figura 2. Detalle de la retícula de una cámara de Neubauer

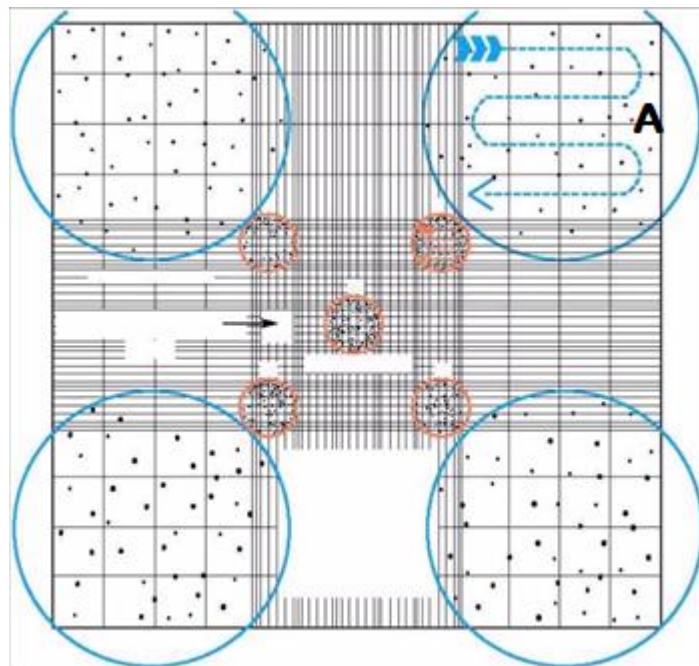


Figura 3. Cuadrante para el conteo de las células algales

OBJETIVOS

- Realizar conteo del número de células/ml presente en el cultivo de algas.

MATERIALES Y EQUIPOS

- Cámara de Neubauer de línea brillante
- Goteros
- Micropipeta
- Microscopio
- Franela o toalla secadora
- Cubreobjetos

MONTAJE EXPERIMENTAL

La cámara de Neubauer debe estar limpia y seca.

La muestra si se encuentra muy concentrada se debe hacer diluciones para un mejor conteo.

Se debe tomar la muestra con un gotero plástico limpio esterilizado para evitar contaminar el cultivo de las algas.

PROCEDIMIENTO

1. Se coloca un cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer, y se coloca en posición horizontal sobre la mesa, en un lugar donde sea cómodo pipetear.
2. Se introduce una punta desechable en el extremo de la micropipeta.
3. Se ajusta la micropipeta para succionar 10 uL del cultivo de algas. Generalmente este ajuste se realiza girando el botón del embolo para seleccionar el volumen deseado.
4. Se introduce la punta de la micropipeta en la muestra.
5. Se pulsa el pistón o embolo superior de la pipeta suavemente hasta que se siente como el pistón llega al final de su recorrido.
6. Se saca la punta de la pipeta de la muestra, y siempre manteniéndola en posición vertical se lleva hasta la cámara de Neubauer.

7. Se coloca la punta de la pipeta en el borde del cubreobjetos, en el extremo de la cámara de Neubauer. Se trata de dejar que el líquido penetre entre la cámara y el cubreobjetos desde el lateral, por capilaridad.
8. Se suelta el pistón suavemente mientras se supervisa que el líquido está entrando correctamente y de forma uniforme en la cámara.
9. En caso de que aparezcan burbujas, el cubreobjetos se haya movido o algo no haya salido bien, repetir la operación.
10. Se coloca la cámara de Neubauer en un microscopio y se realiza el conteo de las células en zigzag en cada cuadrante como se indicó en la figura 3.

REFERENCIAS

Bastidas Oscar. Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting. On line: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>

 	LABORATORIO DE CATÁLISIS-605 GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES FUNCIONALES Y CATÁLISIS GIMFC	COD: PLC-10
	Protocolo Mantenimiento de cultivo para <i>D. magna</i>	Versión: 1
	Elaborado por: Alejandra Caicedo Delgado y Marcela Botina Revisado por: Dolly Revelo – Componente Microbiología Revisado por: Ana María García – Componente Químico Aprobado por: Fecha: 26 Octubre de 2016	Páginas:

Anexo C. Cultivo controlado de *Daphnia magna*.

1.1 INTRODUCCIÓN

Daphnia magna se encuentra en ambientes dulceacuícolas, abunda en charcas temporarias de regiones templadas (lagos de toda América y, en Eurasia, Inglaterra y norte de África, hasta China y Manchuria), generalmente no se encuentra en lagos tropicales por la predación que ejerce la ictiofauna. La disposición del alimento limita o beneficia el crecimiento debido a que las hembras producen nuevos individuos dependiendo de la cantidad de nutrientes existentes en el ambiente. Se considera que los embriones están desarrollados cuando el exoesqueleto se desprende y abandonan la cámara de incubación, en ese momento los juveniles pueden nadar y alimentarse, los individuos que se liberan son todas hembras; aproximadamente entre el sexto y el noveno día de vida estos llegan a la madurez sexual pasando por ocho estadios para generar la primera generación. Cuando las condiciones no son favorables como temperaturas bajas, disminución en el contenido de oxígeno disponible y acúmulo de productos de la excreción por causa de alta densidad poblacional, aparecen machos en la población. Por esto se deben brindar condiciones de vida adecuadas para un buen desarrollo (Cala, 2013). En el proyecto SGR – Agua Potable en el cual se están implementando ensayos de toxicidad de las aguas tratadas por la tecnología PCFH empleando este bioindicador, se ha determinado que para cada ensayo de toxicidad se requiere una alta densidad poblacional de neonatos hembras de 24 horas de edad. Esto exige un mantenimiento constante del cultivo de *D. magna* según el protocolo descrito a continuación.

1.2 OBJETIVOS

- Incrementar la densidad poblacional de *D. magna*.
- Brindar condiciones de hábitat para evitar la producción de machos de *D. magna* en la población.
- Obtener la cantidad requerida de neonatos de 24 horas para ensayos de toxicidad.

1.3 MATERIALES, REACTIVOS y EQUIPOS

- Beakers (100, 500, 1000 y 2000 mL)
- Regulador de luz (Timer EXCELITE®)
- Bombillos y/o lámparas led de intensidad lumínica de 800 – 1000 lux y luz blanca.
- Cámara de incubación
- Termómetro (BRIXCO)
- Etanol 70%
- Goteros plásticos
- Pipetas
- Guantes
- Tapabocas
- Bata de laboratorio
- Agua destilada (Tipo 2)
- Alimento algal
- Reactivos (NaHCO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

1.4 MONTAJE EXPERIMENTAL

Para el cultivo de *D. magna* se emplean beakers de vidrio de 100, 500, 1000 y 2000 mL dependiendo de la cantidad de individuos a mantener. Los cultivos se deben mantener en incubadora con fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad con la ayuda de un regulador de luz (Timer EXCELITE®). A cada reactor se debe suministrar agua reconstituida y alimento algal como se indica a continuación en el procedimiento. Todo material y sitios de trabajo deben ser esterilizados y/o desinfectados.

1.5 PROCEDIMIENTO

1. Preparación de agua reconstituida. Se prepara a partir de la adición de sales inorgánicas como se indica en la Tabla 1. En primer lugar, se prepara 1 L de solución stock de cada sal a la concentración indicada en la Tabla, posteriormente se miden 25 mL de cada solución stock preparada y se adicionan sobre 1 L de agua tipo 2 (también se puede usar agua de clorinada: agua de grifo dejada en reposo previamente por 4 días), el agua a emplear debe presentar una conductividad inferior a 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Tabla 1. Medio de cultivo para *D. magna* (agua reconstituida).

Sal	Concentración de solución stock (g/L) ¹	Cantidad de solución Stock necesaria por cada L de agua tipo 2 (mL) ²

NaHCO ₃	2,59	25
MgSO ₄ .7H ₂ O	4,93	25
KCl	0,23	25
CaCl ₂ .2H ₂ O	11,76	25

¹ Se prepara 1 L de cada solución Stock, ésta solución se puede usar durante 1 semana.

² Se prepara con 1 día de anticipación.

Si se requiere mayor cantidad de agua reconstituida para realizar el cultivo, se deben emplear las cantidades de cada solución stock en la proporción necesaria. Se recomienda realizar el recambio de agua cada 3 días y preparar el agua reconstituida con mínimo 12 de horas de anticipación para asegurar una buena homogenización de las sales y la estabilización del pH de la mezcla.

2. Adecuar una incubadora en el laboratorio preferiblemente en un lugar aislado y lejos de otros microorganismos. A la incubadora se ajusta el regulador automático de control de luz (Timer EXCELITE®) ajustado a las condiciones necesarias de fotoperiodo: 16 horas luz - 8 horas de oscuridad con una intensidad lumínica de 800-1000 luxes y a temperatura óptima de 20 °C $\pm$ 2 °C.
3. Seleccionar los beakers con capacidades de 100, 500, 1000 y/o 2000 mL previamente lavados y desinfectados necesarios dependiendo del número de individuos a cultivar.
4. Adicionar a cada recipiente agua reconstituida (10 mL/pulga) y alimento algal (Preparación alimento algal, ver Apartado 3). Suministrar el alimento algal diariamente en una concentración de 4.5×10^6 algas/mL por cada *D. magna*/día. Esto implica que, si la cantidad de alimento consumido no es la adecuada, lo cual se observa por el cambio de la coloración del medio de cultivo de *D. magna* o por medida de concentración en cámara de Neubauer (ver protocolo conteo cámara de Neubauer), se debe compensar la concentración al realizar el recambio del agua.
5. Con la ayuda de goteros plásticos sembrar individuos de *D. magna* en cada recipiente teniendo en cuenta que la densidad no debe superar 1 individuo por cada 10 mL. Este paso se realiza tanto para iniciar el cultivo como para separar los individuos neonatos (recién nacidos) de sus madres.
6. Cubrir con papel *film* todos los recipientes de cultivo para evitar contaminaciones.
7. Limpieza de recipientes: se hace para recolectar los individuos recién nacidos (neonatos), retirar los caparazones de las *Daphnias* que han mudado, organismos muertos (si los hay) y eliminar residuos de alimento que pueden adherirse a las paredes o fondo de los recipientes. Con la ayuda de un gotero

plástico realizar la limpieza diariamente con el fin de retirar los residuos del fondo del medio (mudas y alimento no consumido), así mismo con ayuda de una tela suave limpiar el recipiente por los alrededores para evitar que el alimento se adhiera a las paredes (en este caso es necesario eliminar la mitad del medio de cultivo para tener el espacio disponible para realizar la limpieza), cada tres días la mitad del agua reconstituida debe ser remplazada por agua fresca y aireada para garantizar que el aire y las sales se encuentren de acuerdo al estándar. De igual manera se puede reemplazar el medio de cultivo y los neonatos a otro recipiente completamente limpio para realizar la limpieza del beaker usado.

8. Una vez los individuos alcanzan su madurez sexual (1 a 2 semanas), empieza el desove, apartar los nuevos individuos de las hembras en nuevo medio de cultivo siguiendo los pasos descritos anteriormente (Aproximadamente se pueden obtener de 10 – 15 individuos por cada *Daphnia* una vez se alcanzan las condiciones óptimas de cultivo).
9. Se hace reinicio de cultivo las veces que sea necesario hasta alcanzar la cantidad de neonatos requerida para ensayos de toxicidad.

1.6 RECOMENDACIONES

- Lavar los recipientes con una esponja sin utilizar jabón o detergente de ningún tipo, retirando de las paredes del recipiente todos los residuos.

REFERENCIAS

Cala, L. D. 2013. Toxicidad aguda del extracto acuoso de corteza de la planta uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en la pulga de agua (*Daphnia magna*). Trabajo de grado (médico veterinario zootecnista). Bucaramanga: Universidad cooperativa de Colombia. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia.

UNE-EN ISO 6341. 2012. Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*). Génova: AENOR, 2013. 30 p.

Protocolo: Mantenimiento de Cultivos de *Daphnia magna*. Laboratorio Ecotoxicología. Universidad Nacional de Colombia.

 	LABORATORIO DE CATÁLISIS-605 GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES FUNCIONALES Y CATÁLISIS GIMFC	COD: PLC-10
	Protocolo Determinación de toxicidad por medio de <i>D. magna</i> Elaborado por: Alejandra Caicedo Delgado y Marcela Botina Revisado por: Dolly Revelo – Componente Microbiología Revisado por: Ana María García – Componente Químico Aprobado por: Fecha: 26 Octubre de 2016	Versión: 2

Anexo D. Determinación de toxicidad por medio de *D. magna*.

INTRODUCCIÓN

Los ensayos de toxicidad se basan en la determinación de efectos letales agudos (inmovilización o mortalidad), observados en un tiempo de exposición que va de 24 a 48 horas, este tipo de ensayos se realizan con especies dulceacuícolas de cladóceros planctónicos, conocidas genéricamente como “pulgas de agua”. Estos animales son componentes habituales del zooplancton, una de las especies más utilizadas en este tipo de ensayos es *Daphnia magna*, su importancia radica en que se reproduce asexualmente, siendo esta modalidad reproductiva una característica importante en la implementación de cultivos controlados en laboratorio. Las pruebas se realizan con los neonatos de estas especies, que son los juveniles con edad de 24 horas de nacidos. La respuesta que se evalúa es la inmovilización según la norma ISO 6341, para los organismos de prueba a 24 y 48 horas de exposición a las soluciones tóxicas ensayadas.

El bioensayo consiste en exponer a los neonatos a diferentes concentraciones de las muestras problema, que pueden ser compuestos químicos puros o en mezclas, productos formulados, diluciones porcentuales de efluentes y muestras de agua de sistemas receptores. Para cada ensayo se debe contar con al menos tres réplicas, cada una de las cuales constará de al menos un mínimo de 5 neonatos. Esta es una prueba relativamente rápida, que en un lapso de 48 horas proporciona información, a partir de la cual es posible determinar la concentración letal media (CL₅₀) y la concentración efectiva (CE₅₀); las observaciones se facilitan por la talla de los neonatos visible a simple vista.

OBJETIVOS

- Determinar la concentración letal media (CL₅₀) de la sustancia tóxica sobre *D. magna*.
- Definir la concentración efectiva (CE₅₀) de la sustancia tóxica sobre *D. magna*.

MATERIALES Y EQUIPOS

- Tubos de ensayos de 10 ml de vidrio de borosilicato esterilizados.
- Pipetas de 5 y 10 mL esterilizadas.
- Cajas Petri.
- Gradillas.
- Goteros plásticos.
- Papel film.
- Oxímetro (YSI 550^a).
- Conductivímetro (EXTECH[®]).
- Termómetro (BRIXCO).
- Multiparámetros (EXTECH[®]).
- Cámara bioclimática (con control de temperatura, iluminación y control de fotoperiodo).

MONTAJE EXPERIMENTAL

Disponer de tubos de ensayo con capacidad de 12 mL esterilizados, organizados en gradillas plásticas. Disponer de cajas de Petri de vidrio (aproximadamente 50 – 60 mm de diámetro), pipetas de 10 mL, pipeteadores y goteros. Para la toma de parámetros disponer de termómetro, multiparámetro y oxímetro (medida de oxígeno disuelto).

Se deben preparar cuatro unidades experimentales por cada muestra (réplicas).

Unidad experimental: Tubo de ensayo con capacidad de 12 mL conteniendo 10 mL de cada muestra contaminante (a la que se va a medir ensayo de toxicidad y blanco: agua de cultivo), en el cual se depositan 10 neonatos de 24 horas de edad de *D. magna*.

Sustancias utilizadas para ensayos toxicológicos:

1. Ensayos de viabilidad con $K_2Cr_2O_7$
2. Ensayos toxicológicos con MON.
3. Ensayos toxicológicos con H_2O_2 .
4. Ensayos toxicológicos con Na_2SO_3 .

PROCEDIMIENTO

1. Se miden 60 mL de cada ensayo o muestra contaminante a evaluar, se emplean 10 mL para cada réplica (cuatro), 10 mL para conservar en caso de que se requiera hacer diluciones y 10 mL para compensación de pérdidas de volumen.

2. Separar 10 neonatos que no sobrepasen las 24 horas de nacidos y depositarlos en una caja de Petri, eliminando el agua de cultivo residual. Por cada réplica se requieren 10 neonatos.
3. Adicionar unas alícuotas de cada muestra a cada caja de Petri (asegurar cuatro cajas de Petri por cada muestra) para humedecer las pulgas y facilitar su transferencia con el gotero al tubo de ensayo donde se realizará la prueba.
4. Con la ayuda de un gotero plástico tomar la muestra de cada caja de Petri con los individuos y adicionarla a cada tubo de ensayo. Asegurar cuatro tubos de ensayo por cada muestra (4 réplicas por muestra).
5. Incubar todas las unidades experimentales a 20°C y expuestas a fotoperiodo con 16 horas luz y 8 horas oscuridad.
6. Después de 48 horas de exposición de los individuos a las muestras, realizar el conteo de animales, para determinar la CL₅₀ realizar el conteo en las cajas de Petri empleadas en el numeral 3 se cuentan detalladamente los organismos vivos y muertos, para determinar la CE₅₀ realizar el conteo en las cajas de Petri empleadas en el numeral 3 se cuentan detalladamente los organismos, vivos e inmóviles aquellos que no son capaces de nadar tras una agitación suave del líquido durante 15 segundos, incluso aunque puedan mover aun sus antenas se consideran inmóviles.
7. Elaborar la base de datos para el análisis estadístico. Con el programa Statgraphics empleando Probit se determina el CL₅₀ y CE₅₀ de cada ensayo. Si se analiza inmovilización de los individuos se calcula CE₅₀ y si se analiza mortalidad de los individuos se calcula CL₅₀.

REFERENCIAS

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Calidad de agua: Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* straus (*cladóceras*, *crustacea*). Madrid: AENOR, 2012. 32 h. (ISO 6341).

ASOCIACIÓN BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Eco-toxicología Acuática - Toxicidad Aguda – Método de ensayo con *Daphnia* ssp (Crustáceo, Cladóceros). Brasil: Tercera Edición, 2009. 22 p. (ABNT NBR 12713).

Anexo E. Resultados del modelo Probit para la CL₅₀ en Dicromato de potasio.

Ensayo 1.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	83,7488	1	0,0000
Residuo	13,745	14	0,4689
Total (corr.)	97,4937	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,566519	-1,12383	-0,235947
0,5	-0,309167	-0,776693	-0,0291133
1,0	-0,184356	-0,608885	0,0717449
2,0	-0,0479816	-0,426125	0,182544
3,0	0,0385434	-0,310599	0,253271
4,0	0,103633	-0,223974	0,306756
5,0	0,156578	-0,153726	0,350477
6,0	0,201642	-0,0941115	0,387868
7,0	0,241155	-0,0419949	0,420807
8,0	0,276534	0,00453125	0,450437
9,0	0,30871	0,0467183	0,477512
10,0	0,338328	0,0854332	0,502552
15,0	0,460955	0,244237	0,607713
20,0	0,558415	0,368174	0,693568
25,0	0,642027	0,472245	0,769478
30,0	0,717113	0,563369	0,839984
35,0	0,786691	0,645359	0,907767
40,0	0,852714	0,720608	0,974639
45,0	0,916593	0,790805	1,04195
50,0	0,979455	0,857293	1,11077
55,0	1,04232	0,92128	1,1821
60,0	1,10619	0,983947	1,25694
65,0	1,17222	1,04654	1,33647
70,0	1,2418	1,11051	1,42228
75,0	1,31688	1,17768	1,51673
80,0	1,40049	1,25073	1,62366
85,0	1,49795	1,33413	1,75006
90,0	1,62058	1,43715	1,911
91,0	1,6502	1,46178	1,95012
92,0	1,68237	1,48846	1,9927
93,0	1,71775	1,5177	2,03962
94,0	1,75727	1,55025	2,09213
95,0	1,80233	1,58724	2,15214
96,0	1,85528	1,63056	2,22279
97,0	1,92037	1,68363	2,30984
98,0	2,00689	1,75389	2,42582
99,0	2,14327	1,86414	2,60914
99,5	2,26808	1,96462	2,77732
99,9	2,52543	2,17092	3,12499

Ensayo 2.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	80,6443	1	0,0000
Residuo	20,8642	14	0,1052
Total (corr.)	101,508	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	0,10682	-0,385357	0,381091
0,5	0,313183	-0,0949774	0,543992
1,0	0,413265	0,0451871	0,62366
2,0	0,52262	0,197599	0,711448
3,0	0,592002	0,293759	0,767687
4,0	0,644195	0,365737	0,810352
5,0	0,68665	0,424008	0,845334
6,0	0,722786	0,473375	0,87534
7,0	0,754471	0,516459	0,901852
8,0	0,78284	0,554854	0,925771
9,0	0,808641	0,589605	0,947692
10,0	0,832391	0,621437	0,968027
15,0	0,930722	0,751262	1,05419
20,0	1,00887	0,851463	1,12565
25,0	1,07592	0,934568	1,18981
30,0	1,13613	1,0064	1,25022
35,0	1,19192	1,07026	1,30892
40,0	1,24486	1,12827	1,3672
45,0	1,29609	1,18201	1,42596
50,0	1,34649	1,23275	1,48595
55,0	1,3969	1,28158	1,54784
60,0	1,44812	1,3295	1,61242
65,0	1,50106	1,37755	1,68067
70,0	1,55686	1,42685	1,75391
75,0	1,61707	1,47884	1,83418
80,0	1,68411	1,53556	1,92472
85,0	1,76226	1,60051	2,03143
90,0	1,86059	1,68093	2,167
91,0	1,88434	1,70018	2,19991
92,0	1,91014	1,72104	2,23573
93,0	1,93851	1,7439	2,27518
94,0	1,9702	1,76935	2,31933
95,0	2,00633	1,79829	2,36976
96,0	2,04879	1,83218	2,42912
97,0	2,10098	1,87371	2,50224
98,0	2,17036	1,9287	2,59964
99,0	2,27972	2,015	2,75354
99,5	2,3798	2,09366	2,89472
99,9	2,58616	2,25513	3,18652

Ensayo 3.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	96,2637	1	0,0000
Residuo	25,7336	14	0,0280
Total (corr.)	121,997	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,700088	-1,22114	-0,389405
0,5	-0,470541	-0,91256	-0,204672
1,0	-0,359216	-0,763334	-0,114651
2,0	-0,237575	-0,600737	-0,015835
3,0	-0,160399	-0,497895	0,0471803
4,0	-0,102342	-0,420737	0,09479
5,0	-0,0551174	-0,35813	0,133672
6,0	-0,0149217	-0,304968	0,166893
7,0	0,020322	-0,258464	0,19613
8,0	0,0518787	-0,216921	0,222405
9,0	0,0805782	-0,179227	0,246388
10,0	0,106996	-0,144611	0,268546
15,0	0,216374	-0,00229494	0,36129
20,0	0,303304	0,109308	0,436505
25,0	0,377882	0,203584	0,502503
30,0	0,444855	0,286725	0,563292
35,0	0,506916	0,362143	0,621247
40,0	0,565806	0,431949	0,677999
45,0	0,622783	0,497585	0,734809
50,0	0,678853	0,560141	0,792752
55,0	0,734923	0,620554	0,852837
60,0	0,791899	0,679741	0,916097
65,0	0,850789	0,738701	0,983695
70,0	0,91285	0,798647	1,05712
75,0	0,979823	0,861194	1,13851
80,0	1,0544	0,928723	1,23125
85,0	1,14133	1,00527	1,34152
90,0	1,25071	1,09919	1,48266
91,0	1,27713	1,12158	1,51705
92,0	1,30583	1,14578	1,55452
93,0	1,33738	1,17227	1,59585
94,0	1,37263	1,20173	1,64213
95,0	1,41282	1,23517	1,69507
96,0	1,46005	1,27428	1,75745
97,0	1,5181	1,32213	1,83437
98,0	1,59528	1,38541	1,93695
99,0	1,71692	1,48454	2,09923
99,5	1,82825	1,57478	2,24824
99,9	2,05779	1,75981	2,55651

Ensayo 4.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	118,656	1	0,0000
Residuo	26,4598	14	0,0226
Total (corr.)	145,115	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,205948	-0,64306	0,0439181
0,5	-0,0266603	-0,395202	0,186308
1,0	0,0602905	-0,275415	0,255784
2,0	0,155298	-0,144981	0,332147
3,0	0,215576	-0,0625456	0,380918
4,0	0,260921	-0,000740277	0,417814
5,0	0,297806	0,0493761	0,447983
6,0	0,329201	0,0919038	0,473791
7,0	0,356728	0,129081	0,496531
8,0	0,381376	0,162269	0,516992
9,0	0,403791	0,192362	0,53569
10,0	0,424425	0,219979	0,552986
15,0	0,509854	0,333275	0,625641
20,0	0,577751	0,421744	0,684959
25,0	0,636	0,49611	0,737382
30,0	0,68831	0,56132	0,786032
35,0	0,736782	0,620102	0,832759
40,0	0,782778	0,674153	0,878825
45,0	0,82728	0,724653	0,92519
50,0	0,871074	0,772516	0,97265
55,0	0,914867	0,818551	1,02194
60,0	0,959369	0,863544	1,07381
65,0	1,00536	0,908336	1,12914
70,0	1,05384	0,953911	1,18907
75,0	1,10615	1,00154	1,2553
80,0	1,1644	1,05308	1,33055
85,0	1,23229	1,11162	1,4198
90,0	1,31772	1,18359	1,53378
91,0	1,33836	1,20075	1,56153
92,0	1,36077	1,21932	1,59175
93,0	1,38542	1,23966	1,62507
94,0	1,41295	1,26227	1,66237
95,0	1,44434	1,28795	1,70503
96,0	1,48123	1,31798	1,75528
97,0	1,52657	1,35474	1,81722
98,0	1,58685	1,40336	1,89981
99,0	1,68186	1,47953	2,03043
99,5	1,76881	1,54888	2,15034
99,9	1,94809	1,69109	2,39838

Ensayo 5.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	54,955	1	0,0000
Residuo	37,2488	14	0,0007
Total (corr.)	92,2038	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,950416	-1,76473	-0,499378
0,5	-0,609925	-1,28501	-0,232558
1,0	-0,444794	-1,05304	-0,102471
2,0	-0,264363	-0,80035	0,04044
3,0	-0,149886	-0,640594	0,13168
4,0	-0,0637692	-0,520799	0,200699
5,0	0,00628008	-0,423655	0,257141
6,0	0,0659031	-0,341222	0,305434
7,0	0,118181	-0,269168	0,348001
8,0	0,164989	-0,204857	0,386319
9,0	0,20756	-0,146558	0,421358
10,0	0,246746	-0,0930758	0,453793
15,0	0,408988	0,125993	0,590445
20,0	0,537932	0,296278	0,702877
25,0	0,648555	0,438314	0,803386
30,0	0,747898	0,561453	0,898061
35,0	0,839954	0,670803	0,990546
40,0	0,927307	0,769634	1,08324
45,0	1,01182	0,860406	1,17777
50,0	1,09499	0,945235	1,27529
55,0	1,17816	1,02608	1,3768
60,0	1,26268	1,10484	1,48335
65,0	1,35003	1,18336	1,59635
70,0	1,44208	1,26368	1,71786
75,0	1,54143	1,34824	1,85111
80,0	1,65205	1,44052	2,00137
85,0	1,78099	1,54628	2,17833
90,0	1,94324	1,67744	2,4029
91,0	1,98242	1,70887	2,45738
92,0	2,02499	1,74294	2,51665
93,0	2,0718	1,78031	2,58191
94,0	2,12408	1,82193	2,65491
95,0	2,1837	1,86929	2,73828
96,0	2,25375	1,92479	2,83637
97,0	2,33987	1,99283	2,95714
98,0	2,45434	2,08302	3,11795
99,0	2,63478	2,22468	3,37189
99,5	2,79991	2,35393	3,60469
99,9	3,1404	2,6196	4,08556

Ensayo 6.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	41,5789	1	0,0000
Residuo	9,95944	14	0,7651
Total (corr.)	51,5383	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,888854	-1,88343	-0,385097
0,5	-0,51419	-1,32307	-0,0998198
1,0	-0,332485	-1,05225	0,0394869
2,0	-0,133944	-0,757473	0,192822
3,0	-0,00797741	-0,571306	0,29097
4,0	0,0867825	-0,431863	0,365406
5,0	0,163862	-0,318925	0,426441
6,0	0,22947	-0,223219	0,478814
7,0	0,286994	-0,139687	0,525119
8,0	0,338501	-0,0652533	0,566938
9,0	0,385344	0,0020991	0,605314
10,0	0,428463	0,0637651	0,64097
15,0	0,606989	0,314564	0,793113
20,0	0,748875	0,506233	0,921691
25,0	0,870601	0,662366	1,0403
30,0	0,979915	0,793899	1,15549
35,0	1,08121	0,907399	1,27062
40,0	1,17733	1,00771	1,38726
45,0	1,27033	1,09872	1,50615
50,0	1,36184	1,18357	1,62786
55,0	1,45336	1,26481	1,75318
60,0	1,54636	1,34458	1,88331
65,0	1,64248	1,42483	2,02001
70,0	1,74377	1,50761	2,16586
75,0	1,85309	1,59541	2,32478
80,0	1,97481	1,69183	2,50311
85,0	2,1167	1,8029	2,71228
90,0	2,29522	1,94124	2,97688
91,0	2,33834	1,97448	3,04097
92,0	2,38519	2,01052	3,11066
93,0	2,43669	2,05007	3,18735
94,0	2,49422	2,09417	3,27309
95,0	2,55983	2,14437	3,37097
96,0	2,6369	2,20324	3,48608
97,0	2,73166	2,27546	3,62773
98,0	2,85763	2,37127	3,81624
99,0	3,05617	2,52188	4,11375
99,5	3,23788	2,65939	4,38636
99,9	3,61254	2,94221	4,94917

Ensayo 7.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	65,7124	1	0,0000
Residuo	38,8983	14	0,0004
Total (corr.)	104,611	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,720516	-1,39643	-0,333218
0,5	-0,42101	-0,983483	-0,095542
1,0	-0,275755	-0,783852	0,0203673
2,0	-0,117043	-0,566437	0,147728
3,0	-0,0163452	-0,429015	0,229055
4,0	0,0594056	-0,325985	0,290581
5,0	0,121023	-0,242447	0,340897
6,0	0,173469	-0,171569	0,383949
7,0	0,219454	-0,10962	0,421895
8,0	0,260629	-0,0543315	0,45605
9,0	0,298075	-0,00421482	0,487279
10,0	0,332544	0,0417609	0,516183
15,0	0,475257	0,230103	0,63786
20,0	0,588681	0,376622	0,737735
25,0	0,685988	0,499079	0,826662
30,0	0,773373	0,605621	0,909948
35,0	0,854348	0,700736	0,990738
40,0	0,931186	0,787278	1,07111
45,0	1,00553	0,867337	1,15255
50,0	1,07869	0,942644	1,23617
55,0	1,15185	1,01478	1,32296
60,0	1,22619	1,08527	1,41396
65,0	1,30302	1,15567	1,51048
70,0	1,384	1,22771	1,61434
75,0	1,47138	1,30354	1,72834
80,0	1,56869	1,38622	1,85705
85,0	1,68212	1,48088	2,00878
90,0	1,82483	1,59815	2,20153
91,0	1,8593	1,62624	2,24832
92,0	1,89674	1,65667	2,29923
93,0	1,93792	1,69005	2,3553
94,0	1,9839	1,72721	2,41803
95,0	2,03635	1,76949	2,48968
96,0	2,09797	1,81901	2,57401
97,0	2,17372	1,87972	2,67786
98,0	2,27442	1,96015	2,81618
99,0	2,43313	2,08646	3,03465
99,5	2,57838	2,20165	3,235
99,9	2,87789	2,43833	3,64894

Ensayo 8.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	29,1117	1	0,0000
Residuo	9,66696	14	0,7861
Total (corr.)	38,7787	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-1,22679	-2,66291	-0,580321
0,5	-0,771029	-1,92412	-0,246077
1,0	-0,549994	-1,56699	-0,0828029
2,0	-0,308479	-1,17821	0,0970275
3,0	-0,155247	-0,932673	0,212258
4,0	-0,0399762	-0,748787	0,299762
5,0	0,0537877	-0,599892	0,371623
6,0	0,133596	-0,473768	0,433396
7,0	0,203571	-0,363749	0,488126
8,0	0,266227	-0,265783	0,537673
9,0	0,323209	-0,177218	0,583267
10,0	0,375661	-0,096223	0,625764
15,0	0,592829	0,23153	0,809304
20,0	0,765427	0,47815	0,969044
25,0	0,9135	0,673776	1,12204
30,0	1,04647	0,83299	1,2759
35,0	1,1697	0,966001	1,43299
40,0	1,28662	1,08106	1,59322
45,0	1,39975	1,18448	1,75614
50,0	1,51107	1,28077	1,92195
55,0	1,6224	1,37321	2,09162
60,0	1,73552	1,46433	2,26683
65,0	1,85245	1,5564	2,45005
70,0	1,97567	1,65173	2,64483
75,0	2,10864	1,75319	2,85644
80,0	2,25672	1,86492	3,09334
85,0	2,42932	1,99394	3,37067
90,0	2,64648	2,15499	3,72092
91,0	2,69894	2,19372	3,80568
92,0	2,75592	2,23574	3,89782
93,0	2,81857	2,28187	3,9992
94,0	2,88855	2,33332	4,1125
95,0	2,96836	2,39191	4,2418
96,0	3,06212	2,46065	4,39382
97,0	3,17739	2,54502	4,58084
98,0	3,33062	2,65697	4,82965

99,0	3,57214	2,83307	5,22218
99,5	3,79317	2,99392	5,58172
99,9	4,24893	3,32491	6,32376

Ensayo 9.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	31,9822	1	0,0000
Residuo	10,9652	14	0,6888
Total (corr.)	42,9474	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-1,53811	-2,98103	-0,856543
0,5	-1,07112	-2,24964	-0,509761
1,0	-0,844643	-1,89581	-0,340705
2,0	-0,597178	-1,51021	-0,154964
3,0	-0,44017	-1,26635	-0,0363341
4,0	-0,322059	-1,08344	0,0534541
5,0	-0,225985	-0,93511	0,126933
6,0	-0,14421	-0,809239	0,189859
7,0	-0,0725102	-0,699226	0,245385
8,0	-0,00831127	-0,601052	0,295431
9,0	0,0500751	-0,512083	0,341262
10,0	0,10382	-0,430496	0,383758
15,0	0,326338	-0,0970044	0,564008
20,0	0,503189	0,160341	0,714968
25,0	0,654911	0,371866	0,853734
30,0	0,791162	0,550743	0,989427
35,0	0,917418	0,704155	1,12751
40,0	1,03722	0,837507	1,27076
45,0	1,15314	0,955893	1,41999
50,0	1,26721	1,06402	1,57522
55,0	1,38128	1,1659	1,73671
60,0	1,49719	1,26481	1,90541
65,0	1,617	1,3636	2,08323
70,0	1,74325	1,46502	2,2733
75,0	1,8795	1,57231	2,48059
80,0	2,03122	1,68991	2,71327
85,0	2,20808	1,82527	2,98622
90,0	2,43059	1,99379	3,33144
91,0	2,48434	2,03427	3,41504
92,0	2,54272	2,07817	3,50594
93,0	2,60692	2,12635	3,60598
94,0	2,67862	2,18007	3,7178
95,0	2,7604	2,24122	3,84544
96,0	2,85647	2,31294	3,99554
97,0	2,97458	2,40094	4,18023
98,0	3,13159	2,51768	4,42599

99,0	3,37906	2,70123	4,81377
99,5	3,60554	2,86884	5,16905
99,9	4,07253	3,21366	5,9024

Ensayo 10.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	57,2518	1	0,0000
Residuo	31,472	14	0,0048
Total (corr.)	88,7238	15	

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	Dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-1,04175	-1,8457	-0,589704
0,5	-0,703421	-1,37376	-0,323328
1,0	-0,539338	-1,1455	-0,193523
2,0	-0,360052	-0,896776	-0,051007
3,0	-0,246302	-0,739468	0,0399146
4,0	-0,160732	-0,621465	0,108645
5,0	-0,0911274	-0,525737	0,16481
6,0	-0,031883	-0,444475	0,212832
7,0	0,0200628	-0,373413	0,255129
8,0	0,0665742	-0,309959	0,293173
9,0	0,108874	-0,252411	0,327933
10,0	0,147812	-0,199589	0,360082
15,0	0,309024	0,0171442	0,49515
20,0	0,43715	0,186257	0,605638
25,0	0,54707	0,328032	0,703734
30,0	0,645782	0,451722	0,795457
35,0	0,737254	0,562335	0,884456
40,0	0,824052	0,662975	0,973229
45,0	0,90803	0,755864	1,0636
50,0	0,990671	0,842865	1,15694
55,0	1,07331	0,925743	1,25441
60,0	1,15729	1,00627	1,35714
65,0	1,24409	1,08628	1,46654
70,0	1,33556	1,16781	1,58463
75,0	1,43427	1,25336	1,71449
80,0	1,54419	1,34643	1,86129
85,0	1,67232	1,45282	2,0345
90,0	1,83353	1,5845	2,25462
91,0	1,87247	1,61603	2,30806
92,0	1,91477	1,65018	2,36621
93,0	1,96128	1,68764	2,43026
94,0	2,01323	1,72935	2,50191
95,0	2,07247	1,77678	2,58375

96,0	2,14207	1,83236	2,68007
97,0	2,22764	1,90047	2,79869
98,0	2,34139	1,99073	2,95666
99,0	2,52068	2,13247	3,20617
99,5	2,68476	2,26174	3,43496
99,9	3,02309	2,52738	3,90763

Anexo F. Resultados del modelo Probit para la CL₅₀ de MON

Ensayo 1.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	206,495	1	0,0000
Residuo	2,88139	26	1,0000
Total (corr.)	209,376	27	

Porcentaje ajustado = 96,7134

Tabla de Predicciones Inversas para dosis

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-13,7662	-22,8048	-7,12026
0,5	-8,86969	-16,8181	-2,55114
1,0	-6,49495	-13,9943	-0,255572
2,0	-3,90019	-10,9786	2,32245
3,0	-2,2539	-9,10628	3,99917
4,0	-1,01546	-7,71997	5,28264
5,0	-0,00809061	-6,60669	6,34103
6,0	0,849342	-5,66943	7,25219
7,0	1,60114	-4,85547	8,05894
8,0	2,27429	-4,13291	8,78753
9,0	2,8865	-3,48087	9,45526
10,0	3,45003	-2,88495	10,0742
15,0	5,78321	-0,460799	12,6798
20,0	7,63756	1,41783	14,7987
25,0	9,22842	2,99743	16,6487
30,0	10,6571	4,39218	18,3337
35,0	11,9809	5,66577	19,9141
40,0	13,2371	6,85858	21,4293
45,0	14,4525	7,99903	22,909
50,0	15,6486	9,10914	24,3773
55,0	16,8446	10,208	25,8569
60,0	18,06	11,3139	27,3711
65,0	19,3162	12,4465	28,9466
70,0	20,6401	13,6294	30,6176
75,0	22,0687	14,8947	32,4321
80,0	23,6596	16,2913	34,465
85,0	25,5139	17,9043	36,8495
90,0	27,8471	19,914	39,8697
91,0	28,4106	20,3964	40,6022
92,0	29,0228	20,9192	41,3991
93,0	29,696	21,4927	42,2768
94,0	30,4478	22,1315	43,2587
95,0	31,3052	22,858	44,3806
96,0	32,3126	23,7089	45,7013
97,0	33,551	24,7514	47,3286
98,0	35,1973	26,1315	49,4975
99,0	37,7921	28,2948	52,9279
99,5	40,1668	30,2635	56,0786
99,9	45,0634	34,2952	62,6028

Ensayo 2.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	139,599	1	0,0000
Residuo	26,007	22	0,2514
Total (corr.)	165,606	23	

Porcentaje ajustado = 81,88

Tabla de Predicciones Inversas para dosis

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-16,8291	-27,0019	-10,9116
0,5	-12,7053	-21,3688	-7,62157
1,0	-10,7053	-18,6445	-6,01829
2,0	-8,52008	-15,6758	-4,25838
3,0	-7,1336	-13,798	-3,13615
4,0	-6,09061	-12,3889	-2,28833
5,0	-5,24221	-11,2455	-1,59599
6,0	-4,52009	-10,2745	-1,00451
7,0	-3,88694	-9,42492	-0,484014
8,0	-3,32002	-8,66591	-0,0163152
9,0	-2,80443	-7,97713	0,410543
10,0	-2,32983	-7,34449	0,804858
15,0	-0,364856	-4,74229	2,45451
20,0	1,19685	-2,69958	3,79104
25,0	2,53664	-0,971796	4,96234
30,0	3,73983	0,554319	6,03969
35,0	4,85475	1,94119	7,06532
40,0	5,91271	3,22739	8,06834
45,0	6,9363	4,43906	9,07154
50,0	7,9436	5,59558	10,0946
55,0	8,9509	6,7133	11,1565
60,0	9,97449	7,80784	12,2769
65,0	11,0325	8,8962	13,4777
70,0	12,1474	9,9937	14,7871
75,0	13,3506	11,1457	16,2442
80,0	14,6904	12,3775	17,9115
85,0	16,2521	13,767	19,9012
90,0	18,217	15,4637	22,4563
91,0	18,6916	15,867	23,0801
92,0	19,2072	16,3027	23,76
93,0	19,7741	16,7792	24,5102
94,0	20,4073	17,3084	25,351
95,0	21,1294	17,9088	26,3131
96,0	21,9778	18,6103	27,4474
97,0	23,0208	19,4677	28,8469
98,0	24,4073	20,6004	30,7142
99,0	26,5926	22,373	33,6702
99,5	28,5925	23,985	36,3858
99,9	32,7163	27,2873	42,0067

Ensayo 3

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	77,2219	1	0,0000
Residuo	33,6236	18	0,0140
Total (corr.)	110,845	19	

Porcentaje ajustado = 66,0576

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-10,2559	-15,7254	-7,11497
0,5	-8,18437	-12,8773	-5,47547
1,0	-7,17972	-11,4982	-4,67809
2,0	-6,08199	-9,99375	-3,80448
3,0	-5,38552	-9,04085	-3,24859
4,0	-4,86159	-8,32505	-2,82938
5,0	-4,43541	-7,74357	-2,48761
6,0	-4,07267	-7,24926	-2,19609
7,0	-3,75461	-6,81638	-1,93996
8,0	-3,46983	-6,42925	-1,71015
9,0	-3,21084	-6,0776	-1,50072
10,0	-2,97243	-5,7543	-1,30755
15,0	-1,98536	-4,42056	-0,502952
20,0	-1,20087	-3,36779	0,143757
25,0	-0,527844	-2,47175	0,705726
30,0	0,0765518	-1,67471	1,21802
35,0	0,636615	-0,944688	1,70129
40,0	1,16806	-0,261923	2,16982
45,0	1,68224	0,386769	2,63503
50,0	2,18824	1,0107	3,10727
55,0	2,69424	1,61698	3,59716
60,0	3,20842	2,21165	4,11639
65,0	3,73987	2,80088	4,67846
70,0	4,29993	3,39272	5,29991
75,0	4,90433	3,99949	6,00247
80,0	5,57735	4,64154	6,81842
85,0	6,36185	5,35517	7,80428
90,0	7,34892	6,21599	9,08179
91,0	7,58732	6,41943	9,39483
92,0	7,84632	6,63888	9,73645
93,0	8,1311	6,87853	10,1137
94,0	8,44915	7,14439	10,5369
95,0	8,8119	7,44561	11,0215
96,0	9,23807	7,79718	11,5932
97,0	9,762	8,22652	12,2989
98,0	10,4585	8,79333	13,2408
99,0	11,5562	9,67984	14,7324
99,5	12,5609	10,4859	16,1028
99,9	14,6324	12,1373	18,939

Anexo G. Resultados del modelo Probit para la CL₅₀ en Na₂SO₃.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	184,757	1	0,0000
Residuo	2,99527	18	1,0000
Total (corr.)	187,752	19	

Porcentaje ajustado = 96,2742

Tabla de Predicciones Inversas para dosis

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	18,3131		30,7373
0,5	21,052		32,0568
1,0	22,3803		32,6989
2,0	23,8318		33,4025
3,0	24,7526		33,8503
4,0	25,4453		34,188
5,0	26,0088		34,4633
6,0	26,4884		34,698
7,0	26,909		34,9043
8,0	27,2855		35,0893
9,0	27,6279		35,2578
10,0	27,9432		35,4133
15,0	29,2482		36,06
20,0	30,2855		36,5786
25,0	31,1754		37,0278
30,0	31,9745		37,4355
35,0	32,715		37,8179
40,0	33,4177		38,186
45,0	34,0975		38,5485
50,0	34,7665		38,9131
55,0	35,4355		39,2881
60,0	36,1154		39,684
65,0	36,8181		40,1158
70,0	37,5586		40,6097
75,0	38,3577		41,2216
80,0	39,2475		42,1182
85,0	40,2848		44,6211
90,0	41,5899		
91,0	41,9051		
92,0	42,2475		
93,0	42,6241		
94,0	43,0446		38,831
95,0	43,5242		40,3556
96,0	44,0877		41,2243
97,0	44,7804		41,9388
98,0	45,7013		42,6632
99,0	47,1527		43,5989
99,5	48,481		44,36
99,9	51,22		45,8125

Anexo H. Resultados del modelo Probit para la CL₅₀ en H₂O₂.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	51,7848	1	0,0000
Residuo	14,1715	14	0,4370
Total (corr.)	65,9563	15	

Porcentaje ajustado = 72,4492

Tabla de Predicciones Inversas para dosis

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	dosis	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-2,7346	-6,94393	-0,537762
0,5	-1,064	-4,49039	0,751496
1,0	-0,253798	-3,30615	1,38244
2,0	0,631475	-2,0188	2,07846
3,0	1,19315	-1,20707	2,5251
4,0	1,61568	-0,59992	2,86458
5,0	1,95937	-0,108831	3,1435
6,0	2,2519	0,306779	3,38329
7,0	2,5084	0,669052	3,59567
8,0	2,73806	0,991456	3,7878
9,0	2,94693	1,28282	3,96439
10,0	3,1392	1,54925	4,12871
15,0	3,93523	2,62918	4,8322
20,0	4,56789	3,45081	5,42798
25,0	5,11065	4,11965	5,97515
30,0	5,59807	4,68586	6,50095
35,0	6,04974	5,17937	7,01936
40,0	6,47832	5,62094	7,53799
45,0	6,89299	6,02619	8,06176
50,0	7,30105	6,40731	8,59487
55,0	7,70912	6,77429	9,14212
60,0	8,12379	7,13578	9,70965
65,0	8,55238	7,49997	10,3057
70,0	9,00404	7,87579	10,9418
75,0	9,49146	8,2743	11,6353
80,0	10,0342	8,71154	12,414
85,0	10,6669	9,21475	13,3282
90,0	11,4629	9,84075	14,4857
91,0	11,6552	9,99103	14,7661
92,0	11,864	10,1539	15,0712
93,0	12,0937	10,3327	15,407
94,0	12,3502	10,5319	15,7824
95,0	12,6427	10,7586	16,2111
96,0	12,9864	11,0244	16,7153
97,0	13,409	11,3504	17,336
98,0	13,9706	11,7825	18,1622
99,0	14,8559	12,4616	19,4665
99,5	15,6661	13,0812	20,662
99,9	17,3367	14,355	23,1311

Anexo I. Resultados del modelo Probit para la CE₅₀ respecto al tiempo de reacción de la PCFH en las diferentes muestras de agua.

Vereda Orejuela

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	2,93701	1	0,0866
Residuo	235,051	30	0,0000
Total (corr.)	237,988	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 1,2341

Porcentaje ajustado = 0,0

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	2609,26		1265,22
0,5	2240,69		1094,14
1,0	2061,93		1011,12
2,0	1866,62		920,366
3,0	1742,7		862,755
4,0	1649,48		819,396
5,0	1573,66		784,111
6,0	1509,12		754,065
7,0	1452,53		727,709
8,0	1401,86		704,101
9,0	1355,78		682,621
10,0	1313,36		662,84
15,0	1137,73		580,83
20,0	998,154		515,472
25,0	878,407		459,203
30,0	770,871		408,429
35,0	671,222		361,055
40,0	576,665		315,626
45,0	485,18		270,891
50,0	395,15		225,381
55,0	305,121		176,268
60,0	213,636		111,721
65,0	119,079		
70,0	19,4302		122,643
75,0	-88,1063		40,4051
80,0	-207,853		-24,0374
85,0	-347,433		-93,1168
90,0	-523,057		-177,246
91,0	-565,475		-197,35
92,0	-611,556		-219,129
93,0	-662,226		-243,017
94,0	-718,815		-269,637
95,0	-783,356		-299,935
96,0	-859,183		-335,464
97,0	-952,402		-379,065
98,0	-1076,32		-436,926

99,0	-1271,63		-527,96
99,5	-1450,39		-611,157
99,9	-1818,96		-782,486

Vereda Charandú

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	1,53173	1	0,2158
Residuo	199,869	30	0,0000
Total (corr.)	201,401	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 0,760539

Porcentaje ajustado = 0,0

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	3599,96		
0,5	3089,14		1248,16
1,0	2841,39		1153,02
2,0	2570,7		1049,02
3,0	2398,95		982,998
4,0	2269,75		933,316
5,0	2164,66		892,888
6,0	2075,21		858,466
7,0	1996,78		828,273
8,0	1926,55		801,229
9,0	1862,68		776,625
10,0	1803,89		753,969
15,0	1560,49		660,058
20,0	1367,03		585,25
25,0	1201,07		520,884
30,0	1052,03		462,854
35,0	913,92		408,777
40,0	782,868		357,025
45,0	656,073		306,243
50,0	531,295		254,939
55,0	406,518		200,485
60,0	279,723		132,562
65,0	148,671		
70,0	10,5618		
75,0	-138,48		39,8929
80,0	-304,444		-35,0646
85,0	-497,897		-114,235
90,0	-741,304		-210,532
91,0	-800,094		-233,546
92,0	-863,961		-258,481
93,0	-934,187		-285,833
94,0	-1012,62		-316,316
95,0	-1102,07		-351,014

96,0	-1207,16		-391,708
97,0	-1336,36		-441,653
98,0	-1508,11		-507,941
99,0	-1778,8		-612,248
99,5	-2026,54		-707,588
99,9	-2537,37		-903,944

Vereda Chaguaípe

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	54,6625	1	0,0000
Residuo	170,57	30	0,0000
Total (corr.)	225,232	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 24,2694

Porcentaje ajustado = 22,4934

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	555,888	454,863	731,598
0,5	475,165	391,068	620,843
1,0	436,016	360,058	567,201
2,0	393,24	326,093	508,67
3,0	366,1	304,483	471,594
4,0	345,684	288,186	443,744
5,0	329,077	274,897	421,123
6,0	314,941	263,559	401,896
7,0	302,548	253,593	385,063
8,0	291,45	244,646	370,013
9,0	281,358	236,488	356,348
10,0	272,068	228,957	343,791
15,0	233,604	197,494	292,081
20,0	203,034	171,995	251,478
25,0	176,808	149,526	217,237
30,0	153,256	128,591	187,245
35,0	131,431	108,21	160,434
40,0	110,722	87,6422	136,222
45,0	90,6856	66,3362	114,203
50,0	70,9679	43,9582	93,9446
55,0	51,2502	20,3432	74,9235
60,0	31,2137	-4,63479	56,5759
65,0	10,5045	-31,1919	38,3527
70,0	-11,3199	-59,7353	19,7045
75,0	-34,8719	-90,9672	0,00928397
80,0	-61,0981	-126,093	-21,5743
85,0	-91,668	-167,341	-46,4289
90,0	-130,132	-219,537	-77,4047
91,0	-139,422	-232,179	-84,8512
92,0	-149,515	-245,925	-92,9285

93,0	-160,612	-261,053	-101,797
94,0	-173,006	-277,962	-111,687
95,0	-187,141	-297,264	-122,95
96,0	-203,748	-319,96	-136,164
97,0	-224,164	-347,886	-152,385
98,0	-251,304	-385,043	-173,913
99,0	-294,08	-443,67	-207,784
99,5	-333,229	-497,374	-238,732
99,9	-413,952	-608,214	-302,441

Vereda Pueblo nuevo

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	51,6948	1	0,0000
Residuo	170,822	30	0,0000
Total (corr.)	222,517	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 23,2319

Porcentaje ajustado = 21,4343

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	606,364	493,606	805,748
0,5	521,463	426,938	688,043
1,0	480,287	394,543	631,02
2,0	435,297	359,078	568,784
3,0	406,752	336,525	529,348
4,0	385,279	319,526	499,715
5,0	367,812	305,672	475,639
6,0	352,945	293,857	455,168
7,0	339,91	283,478	437,239
8,0	328,238	274,166	421,204
9,0	317,623	265,681	406,638
10,0	307,852	257,853	393,246
15,0	267,397	225,227	338,02
20,0	235,245	198,925	294,499
25,0	207,661	175,925	257,597
30,0	182,89	154,719	225,01
35,0	159,936	134,335	195,546
40,0	138,155	114,011	168,57
45,0	117,081	93,0692	143,747
50,0	96,343	70,9428	120,838
55,0	75,6047	47,2412	99,5037
60,0	54,5311	21,7436	79,2372
65,0	32,7499	-5,74378	59,424
70,0	9,79578	-35,5723	39,4048
75,0	-14,9753	-68,4135	18,4526
80,0	-42,559	-105,495	-4,36791

85,0	-74,7113	-149,145	-30,5397
90,0	-115,166	-204,47	-63,0678
91,0	-124,937	-217,879	-70,8783
92,0	-135,552	-232,461	-79,3476
93,0	-147,224	-248,512	-88,6433
94,0	-160,259	-266,456	-99,0071
95,0	-175,126	-286,942	-110,807
96,0	-192,593	-311,034	-124,646
97,0	-214,066	-340,682	-141,63
98,0	-242,611	-380,134	-164,166
99,0	-287,601	-442,39	-199,612
99,5	-328,777	-499,425	-231,995
99,9	-413,678	-617,147	-298,645

Vereda Bajo jagua

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	67,9655	1	0,0000
Residuo	195,601	30	0,0000
Total (corr.)	263,567	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 25,7868

Porcentaje ajustado = 24,2692

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	528,421	441,008	672,314
0,5	455,803	382,442	576,083
1,0	420,584	353,976	529,476
2,0	382,102	322,804	478,619
3,0	357,687	302,975	446,404
4,0	339,32	288,024	422,203
5,0	324,381	275,837	402,544
6,0	311,664	265,441	385,834
7,0	300,515	256,307	371,201
8,0	290,532	248,11	358,118
9,0	281,452	240,638	346,236
10,0	273,095	233,744	335,314
15,0	238,493	204,992	290,308
20,0	210,992	181,788	254,889
25,0	187,398	161,483	224,902
30,0	166,211	142,767	198,455
35,0	146,578	124,822	174,549
40,0	127,947	107,044	152,613
45,0	109,922	88,9465	132,288
50,0	92,1842	70,1383	113,285
55,0	74,4461	50,3262	95,2863

60,0	56,4211	29,2814	77,9085
65,0	37,791	6,76204	60,7151
70,0	18,1576	-17,5904	43,2165
75,0	-3,02988	-44,3702	24,8322
80,0	-26,6232	-74,604	4,77389
85,0	-54,124	-110,208	-18,2439
90,0	-88,7264	-155,359	-46,8521
91,0	-97,0839	-166,306	-53,7203
92,0	-106,163	-178,213	-61,1674
93,0	-116,146	-191,32	-69,3405
94,0	-127,296	-205,976	-78,4518
95,0	-140,012	-222,709	-88,8244
96,0	-154,952	-242,391	-100,989
97,0	-173,319	-266,616	-115,915
98,0	-197,734	-298,857	-135,719
99,0	-236,216	-349,743	-166,862
99,5	-271,434	-396,37	-195,308
99,9	-344,053	-492,628	-253,846

Planta de tratamiento de Pasto

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	68,3481	1	0,0000
Residuo	167,092	30	0,0000
Total (corr.)	235,44	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 29,03

Porcentaje ajustado = 27,331

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	493,491	411,643	628,086
0,5	422,85	354,626	534,522
1,0	388,59	326,903	489,217
2,0	351,156	296,531	439,795
3,0	327,406	277,201	408,498
4,0	309,539	262,619	384,995
5,0	295,006	250,726	365,909
6,0	282,636	240,576	349,691
7,0	271,79	231,652	335,495
8,0	262,079	223,64	322,806
9,0	253,246	216,332	311,288
10,0	245,116	209,585	300,705
15,0	211,456	181,38	257,159
20,0	184,704	158,504	223,01
25,0	161,753	138,348	194,244
30,0	141,143	119,604	169,053
35,0	122,044	101,453	146,494
40,0	103,921	83,3117	126,004
45,0	86,3865	64,7642	107,175
50,0	69,1313	45,5362	89,6219
55,0	51,8762	25,4425	72,9342

60,0	34,3419	4,31078	56,6898
65,0	16,219	-18,0955	40,465
70,0	-2,87984	-42,1537	23,8119
75,0	-23,4905	-68,4748	6,19917
80,0	-46,4414	-98,0858	-13,1123
85,0	-73,1935	-132,872	-35,3516
90,0	-106,854	-176,911	-63,0626
91,0	-114,984	-187,581	-69,723
92,0	-123,816	-199,183	-76,9472
93,0	-133,527	-211,953	-84,8782
94,0	-144,373	-226,228	-93,7223
95,0	-156,743	-242,525	-103,794
96,0	-171,276	-261,69	-115,608
97,0	-189,143	-285,273	-130,109
98,0	-212,893	-316,656	-149,353
99,0	-250,327	-366,179	-179,625
99,5	-284,587	-411,551	-207,281
99,9	-355,229	-505,206	-264,206

Planta de tratamiento de Túquerres.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	79,9667	1	0,0000
Residuo	181,276	30	0,0000
Total (corr.)	261,243	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 30,6101

Porcentaje ajustado = 29,0789

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	457,628	386,502	570,526
0,5	393,358	333,917	487,244
1,0	362,188	308,345	446,923
2,0	328,13	280,326	402,944
3,0	306,522	262,491	375,098
4,0	290,267	249,037	354,189
5,0	277,044	238,062	337,211
6,0	265,79	228,696	322,786
7,0	255,922	220,46	310,161
8,0	247,087	213,066	298,877
9,0	239,051	206,321	288,634
10,0	231,654	200,095	279,224
15,0	201,03	174,068	240,51
20,0	176,691	152,975	210,151
25,0	155,81	134,422	184,561
30,0	137,058	117,227	162,115
35,0	119,682	100,666	141,942
40,0	103,193	84,2344	123,517
45,0	87,2405	67,5686	106,458

50,0	71,5416	50,4075	90,4318
55,0	55,8427	32,5522	75,0996
60,0	39,8899	13,8138	60,1136
65,0	23,4015	-6,04376	45,1146
70,0	6,0252	-27,3708	29,7081
75,0	-12,7265	-50,7176	13,4137
80,0	-33,6075	-77,0005	-4,44592
85,0	-57,9468	-107,897	-25,0028
90,0	-88,5712	-147,037	-50,6031
91,0	-95,9679	-156,522	-56,7543
92,0	-104,003	-166,839	-63,4253
93,0	-112,839	-178,194	-70,7483
94,0	-122,707	-190,889	-78,9133
95,0	-133,961	-205,384	-88,2103
96,0	-147,183	-222,432	-99,1149
97,0	-163,439	-243,412	-112,498
98,0	-185,047	-271,335	-130,255
99,0	-219,105	-315,405	-158,184
99,5	-250,275	-355,786	-183,695
99,9	-314,545	-439,152	-236,198

Planta de tratamiento de Ipiales.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	72,451	1	0,0000
Residuo	200,721	30	0,0000
Total (corr.)	273,172	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 26,5221

Porcentaje ajustado = 25,0578

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	502,45	421,649	633,314
0,5	433,095	365,36	542,328
1,0	399,459	337,996	498,266
2,0	362,706	308,026	450,193
3,0	339,388	288,958	419,745
4,0	321,847	274,579	396,875
5,0	307,578	262,855	378,3
6,0	295,434	252,853	362,513
7,0	284,785	244,063	348,691
8,0	275,25	236,173	336,334
9,0	266,579	228,981	325,113
10,0	258,597	222,343	314,801
15,0	225,55	194,642	272,326
20,0	199,285	172,26	238,935
25,0	176,752	152,645	210,701
30,0	156,516	134,537	185,84
35,0	137,765	117,153	163,406

40,0	119,972	99,9269	142,849
45,0	102,757	82,4159	123,804
50,0	85,8159	64,2815	105,964
55,0	68,8749	45,2701	89,0015
60,0	51,6599	25,1701	72,5456
65,0	33,8668	3,74164	56,1909
70,0	15,1157	-19,3721	39,4869
75,0	-5,11968	-44,7484	21,8936
80,0	-27,6528	-73,3701	2,66655
85,0	-53,9179	-107,057	-19,4206
90,0	-86,9653	-149,763	-46,8901
91,0	-94,9473	-160,116	-53,4867
92,0	-103,619	-171,376	-60,6397
93,0	-113,153	-183,772	-68,4906
94,0	-123,802	-197,631	-77,2431
95,0	-135,946	-213,456	-87,2078
96,0	-150,215	-232,069	-98,8941
97,0	-167,756	-254,977	-113,235
98,0	-191,075	-285,466	-132,262
99,0	-227,827	-333,587	-162,184
99,5	-261,463	-377,681	-189,515
99,9	-330,818	-468,712	-245,76

Ensayo catalítico con patrón sintético de MON.

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	20,2896	1	0,0000
Residuo	200,322	30	0,0000
Total (corr.)	220,612	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 9,19694

Porcentaje ajustado = 7,3838

Tabla de Predicciones Inversas para tiempo

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	tiempo	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-837,957	-1665,91	-541,11
0,5	-719,345	-1440,83	-460,369
1,0	-661,821	-1331,7	-421,182
2,0	-598,967	-1212,49	-378,335
3,0	-559,089	-1136,87	-351,131
4,0	-529,09	-1080,0	-330,654
5,0	-504,688	-1033,75	-313,988
6,0	-483,918	-994,389	-299,796
7,0	-465,707	-959,884	-287,347
8,0	-449,401	-928,994	-276,194
9,0	-434,571	-900,905	-266,047
10,0	-420,92	-875,054	-256,702
15,0	-364,403	-768,075	-217,959
20,0	-319,484	-683,129	-187,089
25,0	-280,948	-610,327	-160,532

30,0	-246,342	-545,028	-136,603
35,0	-214,274	-484,609	-114,34
40,0	-183,844	-427,384	-93,1063
45,0	-154,403	-372,154	-72,4273
50,0	-125,431	-317,983	-51,8961
55,0	-96,4582	-264,072	-31,1067
60,0	-67,0172	-209,684	-9,58457
65,0	-36,5877	-154,14	13,3293
70,0	-4,51963	-96,878	38,75
75,0	30,0868	-37,8839	68,9836
80,0	68,6228	20,908	109,551
85,0	113,541	74,9338	171,341
90,0	170,059	125,907	266,089
91,0	183,71	136,816	290,377
92,0	198,539	148,335	317,094
93,0	214,845	160,699	346,773
94,0	233,056	174,23	380,197
95,0	253,826	189,398	418,58
96,0	278,228	206,959	463,936
97,0	308,227	228,278	519,966
98,0	348,106	256,302	594,762
99,0	410,96	300,021	713,103
99,5	468,484	339,739	821,703
99,9	587,095	421,155	1046,11

Anexo J. Resultados del modelo Probit para la CE₅₀ respecto a la COT de la PCFH en las diferentes muestras de agua.

Vereda Orejuela

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	129,677	1	0,0000
Residuo	108,311	30	0,0000
Total (corr.)	237,988	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 54,4889

Porcentaje ajustado = 52,8082

Tabla de Predicciones Inversas para COT

Porcentaje	COT	LC Inferior 95,0% Límite Conf.	LC Superior 95,0% Límite Conf.
0,1	-0,00839289	-0,411456	0,131098
0,5	0,0517211	-0,294315	0,171668
1,0	0,0808752	-0,237524	0,191363
2,0	0,11273	-0,175493	0,212905
3,0	0,132942	-0,136151	0,226587
4,0	0,148146	-0,106565	0,236889
5,0	0,160513	-0,0825061	0,245276
6,0	0,171039	-0,0620339	0,25242
7,0	0,180269	-0,0440887	0,258689
8,0	0,188533	-0,0280253	0,264307
9,0	0,196049	-0,0134202	0,26942
10,0	0,202967	0,0000200676	0,27413
15,0	0,231611	0,0556199	0,293678
20,0	0,254377	0,0997367	0,309287
25,0	0,273907	0,137509	0,322753
30,0	0,291446	0,171344	0,334933
35,0	0,307699	0,202591	0,346325
40,0	0,323121	0,2321	0,357276
45,0	0,338042	0,260453	0,368069
50,0	0,352726	0,288055	0,37899
55,0	0,36741	0,315158	0,39041
60,0	0,382331	0,341792	0,402922
65,0	0,397753	0,367528	0,417646
70,0	0,414005	0,391197	0,436616
75,0	0,431544	0,411675	0,462152
80,0	0,451075	0,429852	0,495215
85,0	0,47384	0,448075	0,536717
90,0	0,502484	0,469189	0,590751
91,0	0,509403	0,474139	0,603951
92,0	0,516919	0,479475	0,618333
93,0	0,525183	0,485302	0,634187
94,0	0,534412	0,491768	0,651936
95,0	0,544939	0,499099	0,672221
96,0	0,557306	0,507668	0,696098
97,0	0,57251	0,518149	0,725505

98,0	0,592721	0,532016	0,764662
99,0	0,624577	0,553765	0,826486
99,5	0,653731	0,573593	0,883144
99,9	0,713845	0,614339	1,00011

Vereda Charandú

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	102,818	1	0,0000
Residuo	98,583	30	0,0000
Total (corr.)	201,401	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 51,0514

Porcentaje ajustado = 49,0653

Tabla de Predicciones Inversas para COT

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	COT	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-0,803615	-1,90966	-0,176695
0,5	-0,407284	-1,36105	0,134603
1,0	-0,215071	-1,09519	0,285772
2,0	-0,00504931	-0,804889	0,451151
3,0	0,128202	-0,620844	0,556217
4,0	0,228442	-0,482482	0,635341
5,0	0,309979	-0,370001	0,699769
6,0	0,379381	-0,274315	0,75466
7,0	0,440232	-0,190461	0,802834
8,0	0,494717	-0,11542	0,846007
9,0	0,544269	-0,0472097	0,885308
10,0	0,589882	0,0155452	0,921517
15,0	0,778731	0,274959	1,07184
20,0	0,928823	0,480517	1,19193
25,0	1,05759	0,65625	1,29558
30,0	1,17322	0,813393	1,38932
35,0	1,28038	0,958231	1,47697
40,0	1,38205	1,09472	1,56109
45,0	1,48043	1,22556	1,64369
50,0	1,57724	1,3527	1,7266
55,0	1,67405	1,47759	1,81175
60,0	1,77242	1,60127	1,90151
65,0	1,8741	1,72441	1,99898
70,0	1,98126	1,84748	2,1084
75,0	2,09689	1,9714	2,23536
80,0	2,22566	2,099	2,38714
85,0	2,37575	2,23707	2,57472
90,0	2,5646	2,40068	2,82085
91,0	2,61021	2,43912	2,88137
92,0	2,65976	2,48055	2,94746
93,0	2,71425	2,52575	3,02047
94,0	2,7751	2,57587	3,10237
95,0	2,8445	2,63266	3,19616
96,0	2,92604	2,69895	3,30678

97,0	3,02628	2,77995	3,44327
98,0	3,15953	2,88697	3,62536
99,0	3,36955	3,05459	3,91342
99,5	3,56176	3,20721	4,17783
99,9	3,95809	3,52046	4,72449

Vereda Chaguaipe

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	171,925	1	0,0000
Residuo	53,3072	30	0,0055
Total (corr.)	225,232	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 76,3324

Porcentaje ajustado = 74,5564

Tabla de Predicciones Inversas para COT

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	COT	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	3,06864	2,80987	3,23413
0,5	3,22049	3,00495	3,35926
1,0	3,29414	3,09933	3,42016
2,0	3,37461	3,20222	3,48695
3,0	3,42566	3,26732	3,52951
4,0	3,46407	3,31617	3,56164
5,0	3,49531	3,35582	3,58787
6,0	3,5219	3,38949	3,61028
7,0	3,54521	3,41894	3,62999
8,0	3,56609	3,44524	3,6477
9,0	3,58507	3,46911	3,66387
10,0	3,60255	3,49102	3,67881
15,0	3,67491	3,58105	3,74136
20,0	3,73241	3,65146	3,79221
25,0	3,78175	3,71067	3,83703
30,0	3,82605	3,76254	3,87858
35,0	3,86711	3,80919	3,91851
40,0	3,90606	3,85194	3,9579
45,0	3,94376	3,89177	3,99755
50,0	3,98085	3,92948	4,03805
55,0	4,01794	3,96583	4,07992
60,0	4,05563	4,00156	4,12367
65,0	4,09459	4,03744	4,16993
70,0	4,13564	4,07436	4,21959
75,0	4,17995	4,11341	4,27396
80,0	4,22928	4,15619	4,33521
85,0	4,28679	4,20537	4,40729
90,0	4,35914	4,26654	4,4987

91,0	4,37662	4,28122	4,52086
92,0	4,39561	4,29714	4,54498
93,0	4,41648	4,31462	4,57153
94,0	4,4398	4,33409	4,60122
95,0	4,46639	4,35625	4,63512
96,0	4,49763	4,38224	4,67501
97,0	4,53603	4,41413	4,72411
98,0	4,58709	4,45641	4,78948
99,0	4,66755	4,52288	4,89269
99,5	4,7412	4,58357	4,98729
99,9	4,89305	4,7084	5,18266

Vereda Pueblo nuevo

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	31,9732	1	0,0000
Residuo	190,544	30	0,0000
Total (corr.)	222,517	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 14,3689

Porcentaje ajustado = 12,5713

Tabla de Predicciones Inversas para COT

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	COT	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	-2,90372	-5,84629	-1,55824
0,5	-2,09042	-4,54803	-0,963958
1,0	-1,69599	-3,91883	-0,675314
2,0	-1,26501	-3,23181	-0,359449
3,0	-0,991568	-2,79627	-0,158691
4,0	-0,785869	-2,46887	-0,00743236
5,0	-0,618548	-2,20274	0,115791
6,0	-0,476132	-1,97638	0,220831
7,0	-0,351261	-1,77805	0,313072
8,0	-0,239453	-1,60059	0,395792
9,0	-0,137769	-1,43933	0,471144
10,0	-0,0441678	-1,291	0,540624
15,0	0,343365	-0,678462	0,829874
20,0	0,651364	-0,194413	1,06254
25,0	0,9156	0,217429	1,26557
30,0	1,15289	0,582586	1,45259
35,0	1,37278	0,913992	1,63285
40,0	1,58143	1,21747	1,8149
45,0	1,7833	1,49351	2,00862
50,0	1,98196	1,73943	2,22498
55,0	2,18062	1,95535	2,47134
60,0	2,38249	2,14875	2,7477

65,0	2,59114	2,3306	3,05138
70,0	2,81103	2,51075	3,3829
75,0	3,04832	2,69769	3,74813
80,0	3,31256	2,90068	4,16002
85,0	3,62056	3,13331	4,6441
90,0	4,00809	3,42253	5,25666
91,0	4,10169	3,49201	5,40499
92,0	4,20338	3,56736	5,56626
93,0	4,31518	3,65007	5,74372
94,0	4,44005	3,74231	5,94206
95,0	4,58247	3,84735	6,16842
96,0	4,74979	3,97057	6,43455
97,0	4,95549	4,12182	6,76196
98,0	5,22893	4,32258	7,1975
99,0	5,65991	4,63844	7,88452
99,5	6,05435	4,92708	8,51373
99,9	6,86765	5,52136	9,81199

Vereda Bajo Jagua

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	229,398	1	0,0000
Residuo	34,1684	30	0,2741
Total (corr.)	263,567	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 87,0361

Porcentaje ajustado = 85,5185

Tabla de Predicciones Inversas para COT

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	COT	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	2,0198	1,92742	2,0772
0,5	2,06658	1,9886	2,11532
1,0	2,08926	2,01821	2,13387
2,0	2,11405	2,0505	2,1542
3,0	2,12977	2,07093	2,16714
4,0	2,1416	2,08628	2,17691
5,0	2,15122	2,09874	2,18488
6,0	2,15941	2,10932	2,19168
7,0	2,1666	2,11859	2,19767
8,0	2,17303	2,12687	2,20304
9,0	2,17887	2,13438	2,20793
10,0	2,18426	2,14129	2,21246
15,0	2,20654	2,16972	2,23134
20,0	2,22426	2,19206	2,2466
25,0	2,23945	2,21097	2,25995
30,0	2,2531	2,22767	2,27222
35,0	2,26575	2,24283	2,28391
40,0	2,27775	2,25685	2,29537
45,0	2,28936	2,27001	2,30685
50,0	2,30078	2,28252	2,3186

55,0	2,31221	2,29456	2,33081
60,0	2,32381	2,30632	2,3437
65,0	2,33581	2,31802	2,35747
70,0	2,34846	2,32993	2,37241
75,0	2,36211	2,34238	2,38893
80,0	2,3773	2,35587	2,4077
85,0	2,39502	2,37125	2,42992
90,0	2,4173	2,39024	2,45825
91,0	2,42269	2,39478	2,46514
92,0	2,42853	2,39969	2,47264
93,0	2,43496	2,40508	2,4809
94,0	2,44215	2,41108	2,49015
95,0	2,45034	2,4179	2,50071
96,0	2,45996	2,42589	2,51315
97,0	2,47179	2,43568	2,52848
98,0	2,48751	2,44864	2,5489
99,0	2,5123	2,469	2,58116
99,5	2,53498	2,48756	2,61075
99,9	2,58176	2,5257	2,67191

Planta de tratamiento de Pasto

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	168,026	1	0,0000
Residuo	67,4144	30	0,0001
Total (corr.)	235,44	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 71,3666

Porcentaje ajustado = 69,6677

Tabla de Predicciones Inversas para COT

Porcentaje	COT	LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
		Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	1,7114	1,56907	1,8018
0,5	1,79589	1,67807	1,87126
1,0	1,83687	1,7308	1,90508
2,0	1,88164	1,78827	1,94218
3,0	1,91005	1,82462	1,96583
4,0	1,93142	1,85189	1,9837
5,0	1,9488	1,87402	1,99829
6,0	1,9636	1,8928	2,01076
7,0	1,97657	1,90922	2,02173
8,0	1,98818	1,92389	2,0316
9,0	1,99875	1,93719	2,04061
10,0	2,00847	1,9494	2,04894
15,0	2,04873	1,99947	2,08391
20,0	2,08073	2,0385	2,11245
25,0	2,10818	2,07119	2,13775
30,0	2,13283	2,09968	2,16133
35,0	2,15567	2,12515	2,1841

40,0	2,17735	2,14839	2,20665
45,0	2,19832	2,16997	2,22937
50,0	2,21896	2,19038	2,25255
55,0	2,2396	2,21009	2,27643
60,0	2,26057	2,22951	2,30131
65,0	2,28225	2,24908	2,32752
70,0	2,30509	2,26929	2,35556
75,0	2,32974	2,29072	2,38619
80,0	2,35719	2,31426	2,42063
85,0	2,38919	2,34139	2,46109
90,0	2,42945	2,37518	2,51234
91,0	2,43917	2,3833	2,52475
92,0	2,44974	2,39211	2,53826
93,0	2,46135	2,40177	2,55313
94,0	2,47433	2,41255	2,56975
95,0	2,48912	2,42482	2,58873
96,0	2,5065	2,43921	2,61106
97,0	2,52787	2,45687	2,63853
98,0	2,55628	2,48029	2,67511
99,0	2,60105	2,51713	2,73284
99,5	2,64203	2,55077	2,78575
99,9	2,72652	2,61999	2,89499

Planta de tratamiento de Túquerres

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	213,585	1	0,0000
Residuo	47,6582	30	0,0214
Total (corr.)	261,243	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 81,7572

Porcentaje ajustado = 80,226

Tabla de Predicciones Inversas para COT

Porcentaje	COT	LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
		Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	1,10671	1,0431	1,15259
0,5	1,15677	1,10295	1,19591
1,0	1,18105	1,13188	1,21701
2,0	1,20757	1,1634	1,24016
3,0	1,2244	1,18333	1,25491
4,0	1,23707	1,19829	1,26606
5,0	1,24736	1,21042	1,27515
6,0	1,25613	1,22072	1,28292
7,0	1,26382	1,22972	1,28975
8,0	1,2707	1,23777	1,29589
9,0	1,27696	1,24507	1,30149
10,0	1,28272	1,25177	1,30666
15,0	1,30657	1,27932	1,32826
20,0	1,32553	1,30093	1,34573
25,0	1,34179	1,3192	1,36098
30,0	1,3564	1,33535	1,37493

35,0	1,36993	1,35005	1,38812
40,0	1,38277	1,36374	1,4009
45,0	1,3952	1,37672	1,41352
50,0	1,40742	1,38925	1,4262
55,0	1,41965	1,40152	1,43913
60,0	1,43208	1,41375	1,45251
65,0	1,44492	1,42615	1,46657
70,0	1,45845	1,43899	1,48163
75,0	1,47306	1,45262	1,4981
80,0	1,48932	1,46757	1,51666
85,0	1,50828	1,48476	1,53854
90,0	1,53213	1,50612	1,56634
91,0	1,53789	1,51124	1,57309
92,0	1,54415	1,51679	1,58044
93,0	1,55103	1,52288	1,58854
94,0	1,55872	1,52967	1,59759
95,0	1,56748	1,53738	1,60794
96,0	1,57778	1,54642	1,62012
97,0	1,59044	1,55751	1,63513
98,0	1,60727	1,5722	1,65512
99,0	1,6338	1,59528	1,68672
99,5	1,65808	1,61633	1,71571
99,9	1,70813	1,65957	1,77563

Planta de tratamiento de Ipiales

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	162,53	1	0,0000
Residuo	110,642	30	0,0000
Total (corr.)	273,172	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 59,4973

Porcentaje ajustado = 58,0331

Tabla de Predicciones Inversas para COT

Porcentaje	COT	LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
		Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	1,86065	1,80411	1,89721
0,5	1,89136	1,84327	1,92259
1,0	1,90625	1,86223	1,93493
2,0	1,92252	1,88292	1,94844
3,0	1,93284	1,89603	1,95703
4,0	1,94061	1,90587	1,96351
5,0	1,94692	1,91387	1,96879
6,0	1,9523	1,92067	1,9733
7,0	1,95702	1,92662	1,97726
8,0	1,96124	1,93194	1,98081
9,0	1,96508	1,93678	1,98404
10,0	1,96861	1,94122	1,98702
15,0	1,98324	1,95955	1,99945
20,0	1,99487	1,97401	2,00943
25,0	2,00484	1,9863	2,01811

30,0	2,0138	1,99721	2,02603
35,0	2,0221	2,00718	2,0335
40,0	2,02998	2,01648	2,04076
45,0	2,0376	2,02529	2,04797
50,0	2,0451	2,03373	2,0553
55,0	2,0526	2,04191	2,06289
60,0	2,06023	2,04992	2,07089
65,0	2,0681	2,05791	2,07947
70,0	2,0764	2,06601	2,08882
75,0	2,08536	2,07444	2,09921
80,0	2,09534	2,08355	2,11107
85,0	2,10697	2,09389	2,12518
90,0	2,1216	2,1066	2,14321
91,0	2,12513	2,10964	2,1476
92,0	2,12897	2,11293	2,15239
93,0	2,13319	2,11653	2,15766
94,0	2,13791	2,12053	2,16356
95,0	2,14328	2,12509	2,17031
96,0	2,1496	2,13042	2,17825
97,0	2,15737	2,13696	2,18804
98,0	2,16769	2,14561	2,20109
99,0	2,18396	2,15919	2,22171
99,5	2,19885	2,17157	2,24063
99,9	2,22956	2,19701	2,27973

Ensayo catalítico con patrón sintético de MON

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	190,555	1	0,0000
Residuo	30,0568	30	0,4627
Total (corr.)	220,612	31	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 86,3757

Porcentaje ajustado = 84,5626

Tabla de Predicciones Inversas para COT

		LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
Porcentaje	COT	Límite Conf.	Límite Conf.
0,1	1,67515	-6,09959	4,05275
0,5	2,44725	-4,44603	4,55883
1,0	2,8217	-3,64436	4,80453
2,0	3,23085	-2,76866	5,07325
3,0	3,49044	-2,21322	5,24391
4,0	3,68572	-1,79549	5,37239
5,0	3,84456	-1,45577	5,47697
6,0	3,97977	-1,16667	5,56604
7,0	4,09831	-0,913238	5,64419
8,0	4,20445	-0,686356	5,7142
9,0	4,30099	-0,480051	5,77791
10,0	4,38985	-0,290179	5,83658
15,0	4,75775	0,495571	6,07988
20,0	5,05014	1,11954	6,27377
25,0	5,30099	1,65438	6,44058

30,0	5,52626	2,13422	6,59084
35,0	5,73501	2,57838	6,73056
40,0	5,93309	2,99931	6,86369
45,0	6,12474	3,40594	6,9931
50,0	6,31334	3,80537	7,12119
55,0	6,50193	4,20386	7,25022
60,0	6,69358	4,60756	7,38257
65,0	6,89166	5,02308	7,5211
70,0	7,10041	5,45834	7,66973
75,0	7,32568	5,92363	7,83453
80,0	7,57653	6,43329	8,02653
85,0	7,86892	7,00735	8,27032
90,0	8,23682	7,66608	8,64064
91,0	8,32568	7,80742	8,74785
92,0	8,42222	7,95077	8,8745
93,0	8,52836	8,09552	9,02666
94,0	8,6469	8,24165	9,2121
95,0	8,78211	8,39073	9,4412
96,0	8,94095	8,54701	9,72922
97,0	9,13623	8,71959	10,1029
98,0	9,39582	8,92834	10,6202
99,0	9,80497	9,23203	11,4609
99,5	10,1794	9,49637	12,244
99,9	10,9515	10,0235	13,8765

Anexo K. Coeficiente de correlación de Spearman con respecto al pH en las diferentes muestras de agua.

Vereda Orejuela

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		-0,0015
		(32)
		0,9932
inmovilidad	-0,0015	
	(32)	
	0,9932	

Vereda Charandú

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,1597
		(32)
		0,3739
inmovilidad	0,1597	
	(32)	
	0,3739	

Vereda Chaguaipe

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,3071
		(32)
		0,0872
inmovilidad	0,3071	
	(32)	
	0,0872	

Vereda Pueblo nuevo

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,0291
		(32)
		0,8713
inmovilidad	0,0291	
	(32)	
	0,8713	

Vereda Bajo jagua

Correlación Ordinal de Spearman

	inmovilidad	pH
inmovilidad		0,3535
		(32)
		0,0491
pH	0,3535	
	(32)	
	0,0491	

Planta de tratamiento de Pasto

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,3868
		(32)
		0,0313
inmovilidad	0,3868	
	(32)	
	0,0313	

Planta de tratamiento de Túquerres

Correlación Ordinal de Spearman

	inmovilidad	pH
inmovilidad		0,3321
		(32)
		0,0645
pH	0,3321	
	(32)	
	0,0645	

Planta de tratamiento de Ipiales

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,3670
		(32)
		0,0410
inmovilidad	0,3670	
	(32)	
	0,0410	

Ensayo con patrón sintético de MON

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		-0,2018
		(32)
		0,2613
inmovilidad	-0,2018	
	(32)	
	0,2613	

Anexo L. Coeficiente de correlación de Spearman con respecto a la conductividad eléctrica en las diferentes muestras de agua.

Vereda Orejuela

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,8443
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,8443	
	(32)	
	0,0000	

Vereda Charandú

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,7760
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,7760	
	(32)	
	0,0000	

Vereda Chaguaipe

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,9364
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,9364	
	(32)	
	0,0000	

Vereda Pueblo Nuevo

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,8434
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,8434	
	(32)	
	0,0000	

Vereda Bajo Jagua

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,8958
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,8958	
	(32)	
	0,0000	

Planta de tratamiento de Pasto

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,9287
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,9287	
	(32)	
	0,0000	

Planta de tratamiento de Túquerres

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,9323
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,9323	
	(32)	
	0,0000	

Planta de tratamiento de Ipiales

Correlación Ordinal de Spearman

	conductividad	inmovilidad
conductividad		0,9622
		(32)
		0,0000
inmovilidad	0,9622	
	(32)	
	0,0000	

Ensayo con patrón sintético de MON

Correlación Ordinal de Spearman

	pH	inmovilidad
pH		0,6929
		(32)
		0,0001
inmovilidad	0,6929	
	(32)	
	0,0001	

Anexo M. Resultados Parámetros Fisicoquímicos Determinados para Cada Punto de Muestreo.

Puntos de muestreo	Cloruros (mg/L Cl ⁻)	Límite ** permitido	Fosfatos (mg/L PO ₄ ⁻³)	Límite ** permitido	Nitratos (mg/L N- NO ₃)	Límite ** permitido	Nitritos (mg/L N-NO ₂)	Límite ** permitido	Sulfatos (mg/L SO ₄ ⁻²)	Límite ** permitido	Color Aparente (UPC)	Límite ** permitido	Turbiedad (UNT)	Límite ** permitido	Fluoruros (mg/L F ⁻)	Límite ** permitido	Dureza total (mg/L CaCO ₃)	Límite ** permitido
Orejuela	6	250	<0,1	0,5	0,48	10	<0,005	0,1	<5	250	18,6	15	2	2	0,006	1	34	300
Charandú	3,12	250	<0,1	0,5	0,57	10	0,006	0,1	<5	250	29,2	15	6	2	0,07	1	38	300
Chaguaipe	4,25	250	0,17	0,5	<0,2	10	0,02	0,1	11,7	250	107,8	15	43,3	2	0,24	1	30	300
Pueblo Nuevo	14,25	250	0,18	0,5	<0,2	10	0,037	0,1	7,95	250	69,8	15	28,8	2	0,13	1	84	300
Bajo Jagua	3,25	250	<0,1	0,5	<0,2	10	0,032	0,1	<5	250	30,7	15	17,5	2	0,03	1	24	300
Planta de Tratamiento de Pasto	10,75	250	<0,1	0,5	1,04	10	<0,005	0,1	<5	250	<8	15	6,9	2	0,05	1	23	300
Planta de Tratamiento de Túquerres	3	250	<0,1	0,5	<0,2	10	<0,005	0,1	81,38	250	<8	15	1,3	2	0,09	1	55	300
Planta de Tratamiento de Ipiales	20,24	250	<0,1	0,5	0,39	10	<0,005	0,1	82,3	250	<8	15	1,3	2	0,2	1	89	300
Ensayo Catalítico con Patrón Sintético de MON	<0,7	250	<0,1	0,5	0,401	10	0,006	0,1	5,94	250	41,6	15	2,9	2	0,01	1		300

**Según Resolución 2115 de 2007. Agua potable