

EVALUACIÓN ECOTÓXICA DE UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS PARA EL
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS



JAVIER ANDRES BELTRÁN CHAVES

JUAN DAVID PAZ JOJOA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA INGENIERÍA AMBIENTAL
PASTO, NARIÑO

2016

EVALUACIÓN ECOTÓXICA DE UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS PARA EL
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS

JAVIER ANDRES BELTRÁN CHAVES

JUAN DAVID PAZ JOJOA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniero Ambiental

Directora

I.S.A M.Sc. Diana Carolina Morales P.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA INGENIERÍA AMBIENTAL
PASTO, NARIÑO

2016

Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de los autores. Artículo 1° del acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del presidente jurado

Firma de Jurado

Firma de Jurado

San Juan de Pasto, 16 de Agosto de 2016

RESUMEN

La contaminación de los ecosistemas acuáticos naturales por aguas residuales de origen hospitalario (ARH) es un tema de atención tanto ambiental como para la salud humana por la presencia de compuestos tóxicos. Las sustancias que componen el ARH son difíciles de degradar por medio de métodos de tratamiento convencionales, por lo cual se están estudiando nuevas tecnologías de procesos biológicos de aireación extendida. En este sentido, el objetivo de este trabajo consiste en evaluar la eficiencia de remoción ecotóxica de un reactor biológico de lodos activados con dos tiempos de aireación diferentes en etapa de arranque; determinando la toxicidad del tratamiento del afluente y efluente en La Fundación Hospital San Pedro (Pasto); los muestreos compuestos del efluente se hicieron durante días y horarios de mayor actividad del hospital. Los ensayos de toxicidad se realizaron utilizando bioindicador *Allium cepa* L. establecido por la EPA, válido para medir efectos de contaminantes presentes del agua. Los resultados mostraron que los niveles de toxicidad después de los tratamientos ARH (efluente), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los dos tiempos de aireación, indicando que la toxicidad del efluente de ambos reactores es la misma en promedio, necesitando más tiempo para que el sistema se adapte y remueva niveles de toxicidad. En conclusión el *Allium* Test es una alternativa viable para el monitoreo y control ecotóxica de calidad del agua mediante el crecimiento de la raíz e interferencia del ciclo celular del bioindicador.

Palabras clave: aireación extendida, *Allium* Test, bioindicadores, calidad de agua, toxicidad.

-
1. Estudiante X semestre Ingeniería Ambiental, Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. jhabch33@hotmail.com
 2. Estudiante X semestre Ingeniería Ambiental, Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. juan18241@hotmail.com
 3. Docente I.S.A M.Sc., Universidad de Nariño. San Juan de Pasto. Colombia. diana.morales.p@gmail.com

ABSTRACT

Pollution of natural aquatic ecosystems by wastewater originating from hospital waste (ARH) is an issue of environmental care as well as an issue to human health by the presence of toxic compounds. The substances that make up the ARH sample is difficult to degrade by conventional treatment methods, so new technologies are being studied to enhance the biological processes such as extended aeration. In this sense, the objective of this work is to evaluate the efficiency of ecotoxic removal of a biological reaction which is activated with two different times starting stage aeration sludge; determining the toxicity of influent and effluent treatment in the Hospital Foundation of San Pedro (Pasto); composite samples of the effluent were made during days at which the hospital was busiest. Toxicity tests were performed using *Allium cepa* L. bioindicator established by the EPA, valid for measuring effects of water contaminants. The results showed that levels of toxicity following the ARH treatments (effluent), I found no statistical significant differences ($p > 0.05$) between the two aeration times, indicating that the toxicity of the effluent samples from both biochemical reactions were the same on average, and it takes longer for the system to be restored and remove the toxicity level. In conclusion the *Allium* test is a viable option for adjusting the ecotoxic water quality control by root growth and cell cycle interference with a bioindicator alternative.

Key words: extended aeration, *Allium* Test, bioindicators, water quality, toxicity.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	VIII
GLOSARIO	IX
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
CONCLUSIONES	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AR: Aguas residuales.

ARH: Aguas residuales hospitalarias.

°C: Grados Centígrados

DBO: Demanda biológica de oxígeno

DQO: Demanda Química de Oxígeno

EC50: Concentración Efectiva Media

EPA: Agencia de Protección Ambiental
(Estados Unidos)

FHSP: Fundación Hospital San Pedro

CI₅₀: Concentración de inhibición media.

CE₅₀: Concentración Efectiva media

IM: Índice Mitótico

L: Litro

mm: Milímetros

OMS: Organización Mundial de Salud.

pH: Grado de acidez o basicidad

RAS: Reglamento Técnico para el sector
de Agua Potable y Saneamiento Básico

SST: Sólidos Suspendidos Totales

TRC: Tiempo de Retención Celular

TRH: Tiempo de Retención Hidráulica

GLOSARIO

Adaptación: Cambios en un organismo, como respuesta a variaciones de las condiciones del ambiente, que se producen sin ninguna alteración irreversible del sistema biológico y sin exceder la capacidad normal de respuesta (homeostasis).

Afluente: Agua residual o cualquier otro líquido que ingrese a un reservorio, o algún proceso de tratamiento.

Aireación extendida: Es un proceso de inyección de aire en el tratamiento del agua residual por fangos activados de carga orgánica relativamente baja.

Aguas residuales: Aguas cuya composición y calidad original han sido afectadas como resultado de su utilización.

Aguas Residuales Hospitalarias: Aguas residuales resultantes de las actividades hospitalarias.

Calidad de agua: Concepto complejo que implica un juicio subjetivo que es función del uso. Relación de parámetros físicos, químicos y biológicos que determinan su composición, grado de alteración, y su utilidad a los seres humanos y el medio ambiente.

Contaminantes emergentes: Corresponden en la mayoría de los casos a contaminantes no regulados, que pueden ser candidatos a regulación futura dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia.

Caudal: Cantidad de volumen de agua o fluido, que se mueve en un tiempo determinado, suele medirse en metros cúbicos sobre segundo (m³/L).

Cuerpo receptor: Toda masa de agua, corriente o no, natural o artificial, superficial o subterránea (río, arroyo, laguna, lago, embalse, acuífero, alcantarillado) susceptible a recibir directa o indirectamente vertidos o descargas de aguas residuales.

Ecotoxicidad: Resultante del estrés de los tóxicos que actúan en el ambiente

Ecotoxicología: Rama de la toxicología dedicada específicamente al efecto y movimiento de los tóxicos sobre los comportamientos ambientales

Efluente: Líquido que sale de un proceso de tratamiento.

Demanda biológica de oxígeno (DBO): Es una medida indirecta del contenido de materia orgánica biodegradable, expresada mediante la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar biológicamente la materia orgánica en una muestra de agua, a una temperatura estandarizada de 20°C.

Demanda Química de Oxígeno (DQO): Es una medida indirecta del contenido de materia orgánica e inorgánica oxidable, mediante el uso de un fuerte oxidante en una muestra de agua. Sus unidades son mg O₂/L. Su valor siempre será mayor o igual al obtenido en los ensayos de DBO.

Descarga o vertido: La acción de descargar o verter aguas residuales a los cuerpos hídricos receptores o a sistemas de alcantarillado.

Fangos Activados: Cultivo bacteriano disperso en forma de floculo en un depósito agitado, aireado y alimentado con agua residual, que es capaz de metabolizar como nutrientes los contaminantes biológicos presentes en esa agua

Muestra compuesta: Se compone de varias alícuotas espaciadas temporalmente (con frecuencias variables, minutos, horas, días) que se adicionan al mismo recipiente.

Toxicidad: Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo, tipo y severidad del daño.

Tóxico: Cualquier agente químico o físico capaz de producir un efecto adverso para la salud.

Riesgo Biológico: El riesgo biológico o bio-riesgo consiste en la presencia de un organismo, o la sustancia derivada de un organismo, que plantea una amenaza a la salud humana.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones recomendadas para las pruebas de toxicidad con <i>Allium cepa</i> L.	5
Tabla 2. Nivel de toxicidad basado en Unidades Tóxicas	7
Tabla 3. Sistema de tratamiento lodos activados (Parámetros)	8
Tabla 4. Valores correspondientes a las longitudes de crecimiento, % de Inhibición y % IM de las raíces del <i>Allium cepa</i> L para 72 h de exposición a diferentes concentraciones de ARH y control negativo.....	12
Tabla 5. Indicadores de toxicidad estimados para el vertimiento de ARH con <i>Allium Cepa</i> L y <i>Vibrio fischeri</i>	13
Tabla 6. Valores correspondiste a CI ₅₀ y UT, del <i>Allium cepa</i> L para el tratamiento del reactor de lodos activados.....	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de Ubicación Fundación Hospital San Pedro.....	3
Figura 2. Valores del bioensayo control positivo con concentraciones de Cu (II), en función del porcentaje inhibición de la raíz del <i>Allium cepa</i> L.	10
Figura 3. Valores del bioensayo control positivo con concentraciones de Cu (II) en función del porcentaje del índice mitótico (% IM) encontrado en las raíces meristemáticas del <i>Allium cepa</i> L.	11
Figura 4. Porcentajes de remoción e incremento de toxicidad del reactor de lodos activados con dos tiempos de aireación tratando 100% con ARH Real.....	14

INTRODUCCIÓN

Las nuevas perspectivas de la población se plantean encaminadas en pro del medio ambiente, como una respuesta a la temática ambiental a nivel global como a escala regional; en ese propósito de vincular los avances y desarrollo de la ciencia articulado al bienestar ambiental y conservación de recursos vitales para la supervivencia de los seres humanos como de ecosistemas presentes. Por tanto una de las preocupaciones y evidenciándose como las más importante está relacionada con el recurso hídrico, siendo los cuerpos de agua los mayormente afectados por la contaminación y las acciones humanas que se realicen dentro de este (Arroyo *et al.*, 2015, Pérez, 2015; Medina, 2015).

Donde el vertido de aguas residuales sin tratamiento es un claro ejemplo de afectación de la calidad y cantidad del agua y por ende la degradación de ecosistemas acuáticos y ribereños presentes, como también la salud de los seres humanos que se abastecen de esta agua para consumo y/o actividades de riesgo o pecuario. La contaminación de los cuerpos de agua asociados a efluentes de origen hospitalario pueden generar riesgos en el ambiente y a la salud humana por enfermedades, hechos derivados por la falta de un sistema adecuado para su tratamiento (García *et al.*, 2011; Janet *et al.*, 2012; Roig, 2010).

Continuando con lo anterior, la gran diversidad de actividades en el Hospital San Pedro genera un agua residual con posibles efectos ecotóxicos sobre el ambiente. Estos tipos de efluentes constituyen mezclas complejas de sustancias cuya actividad tóxica y genotóxica dependerá de las interacciones sinérgicas y antagónicas que puedan ocurrir entre sus distintos componentes. En general, las bajas concentraciones de ciertos agentes tóxicos pueden ser químicamente no detectables por métodos analíticos lo que hace necesaria la utilización de sistemas biológicos para su detección. Es por ello que estos problemas trascienden el campo técnico-sanitario e involucran aspectos sociales, económicos, políticos y ambientales, entre otros (Chaparro y Pires, 2010; Duarte y Gutiérrez, 2013).

Como también debido a la respuesta tóxica con el bioindicador utilizado en el presente trabajo, si bien el efecto de dilución de estos efluentes en aguas del Río Pasto resulta

considerable, es sabido que varios fármacos, tales como los analgésicos, antibióticos, hormonas, psicofármacos y citostáticos, entre otros, pueden encontrarse dentro del rango de concentraciones muy bajas y con un nivel de toxicidad moderada. Por otra parte, muchos de estos compuestos presentan baja biodegradabilidad en el ambiente, como por ejemplo los antibióticos del tipo quinolonas, nitroimidazoles, sulfamidas y los citostáticos generando mayor disponibilidad de los tóxicos en el ambiente (Pérez *et al.*, 2011).

En este sentido, los vertimientos de aguas residuales hospitalarias son focos de contaminación significativos, es allí donde se ha dirigido esta investigación con el objetivo de evaluar la eficiencia de remoción ecotóxica de un reactor biológico de lodos activados con dos tiempos de oxidación diferentes en etapa de arranque.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El estudio, se realizó en La Fundación Hospital San Pedro (FHSP) del Municipio de Pasto ubicado en el Departamento de Nariño (Figura 1). La Fundación Hospital San Pedro fundado (fundado en 1886), siendo una entidad de alta complejidad por prestar servicios de salud en lo afereente a hospitalización, ginecología obstetricia, patología, imagenología, ecocardiograma, ecografía, radiología y tomografía, oncología, hematología y quimioterapia, además de un amplio servicio de farmacología; se caracteriza por sus servicios de medicina interna, quirúrgica y hospitalización, que hacen de este centro de salud una rescatada institución que atiende a la población del Departamento de Nariño, zona sur del Departamento de Cauca y zona Norte del Departamento de Putumayo.

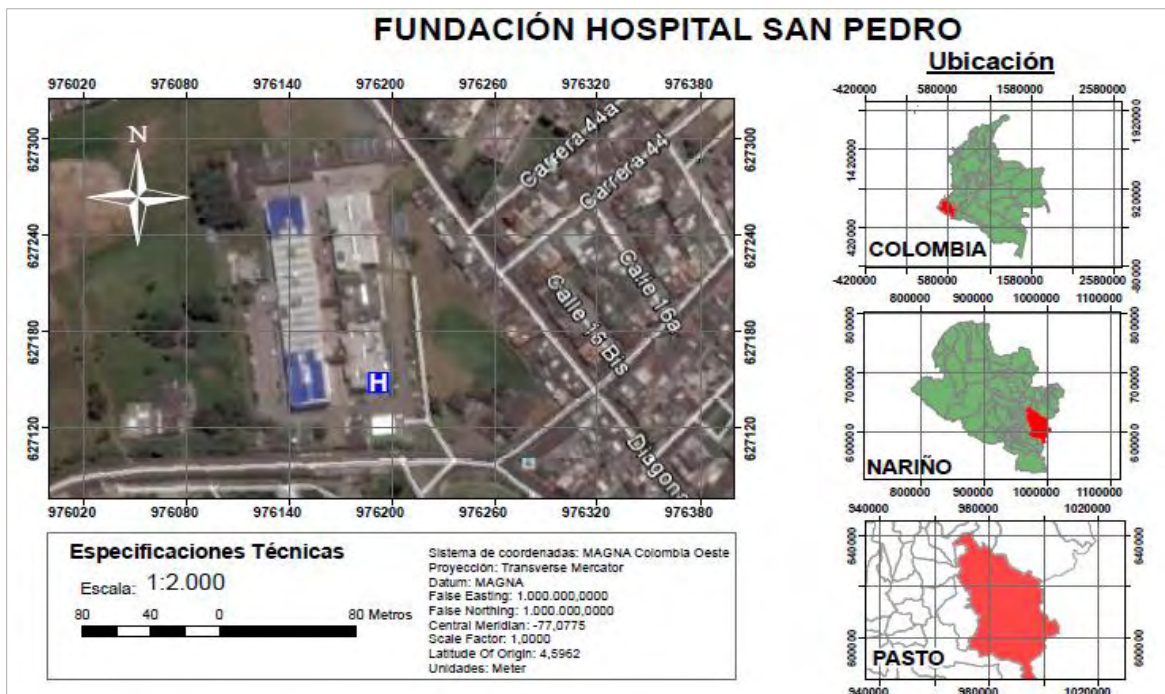


Figura 1. Mapa de Ubicación Fundación Hospital San Pedro.

Para dar cumplimiento a los objetivos propuestos, se realizó una serie de actividades, que se desarrollaron en tres (3) etapas, con la obtención de tres (3) productos.

Adaptación de un protocolo de evaluación ecotóxica en las aguas residuales FHSP.

Para el presente trabajo de investigación se utilizó como indicador biológico el bulbo de cebolla común *Allium cepa* L, recomendado por diversos investigadores para realizar estudios de toxicidad y genotoxicidad (Reyes, 2015; Muñoz y Guerrero, 2013; Nancy *et al.*, 2006; Fiskesjö, 1993).

Por tanto esta investigación en cuanto a pruebas de toxicidad se usaron bulbos de *Allium cepa* L, al presentar estos un crecimiento rápido de raíz, por tener una tasa cíclica de reproducción celular constante además porque sus células meristemáticas presentan cromosomas de gran tamaño, al estar en presencia de sustancias orgánicas e inorgánicas tóxicas permitieron evidenciar alteraciones que impiden el crecimiento normal de la raíz.

Para la elaboración de los bioensayos se siguió las condiciones recomendadas por Castillo (2004) para las pruebas de toxicidad con *Allium cepa* L (Tabla 1), se acondicionó un área física de los laboratorios de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño (Pasto) utilizando un estante de laboratorio como método de aislamiento para las pruebas de toxicidad; se seleccionó lotes de cebolla a partir de semilla comercial Hybrid Onion Osaka F1, extraída a 5 meses de siembra; obteniendo cuerpos de diámetros entre 15 a 20 mm, medidas adecuadas para el montaje con tubos de ensayos universales ($\varnothing=16\text{mm}$).

Posteriormente el efecto tóxico se determinó de forma indirecta, mediante la comparación de la elongación de las raíces de cebollas expuestas al compuesto tóxico (control positivo) con respecto a las cebollas no expuestas (control negativo) luego de un período de 72 horas de prueba. La cuantificación del efecto se realizó calculando el porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces respecto a la longitud promedio de las raíces del control (ver ecuación 1).

En cuanto a pruebas de genotoxicidad, se siguió los procedimientos del Manual de Laboratorio Biología General (Mitosis en las Plantas) de Universidad de Nariño (Solarte, 2004) y para cálculo del porcentaje de células en fase mitótica (IM) según recomendaciones de Urteaga y Lallana (2005). En cuanto a los análisis estadísticos, se utilizó la matriz de correlación de Pearson ($\alpha=0,05$) para establecer las correlaciones entre los % Inhibición del

crecimiento de las raíces y la cantidad de Cu (II) utilizado en diferentes diluciones escalonadas. El Porcentaje de inhibición de las raíces de la cebolla (Castillo, 2004) e índice mitótico IM (Urteaga y Lallana, 2005) se calculó con las ecuaciones 1 y 2:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Longitud control} - \text{Longitud de muestra}}{\text{Longitud de control}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$\% \text{ IM} = \frac{\text{Número de células en mitosis}}{\text{Número total de células}} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Tabla 1. Condiciones recomendadas para las pruebas de toxicidad con *Allium cepa* L.

Organismo de prueba	Bulbo de cebolla común <i>Allium cepa</i> L.
Tipo de ensayo	Estático
Temperatura	Ambiente 18°C
Iluminación	Indirecta
Recipientes de prueba	Tubos de Ensayo de 10 cm x 1.6 cm diámetro gradillas o soportes para tubos, bisturí y reglilla.
Número de réplicas	12
Material biológico	Bulbos de aproximadamente 1,5 cm de diámetro
Condición de los bulbos	Anillo radicular en perfectas condiciones.
Agua de dilución	Agua destilada
Número de concentraciones	5
Duración de la prueba	72 horas
Efecto medido	Inhibición de crecimiento de las raíces (Índice Mitótico)
Control negativo	Agua enriquecida con nutrientes
Control positivo	Cobre (II) a partir de una solución de CuSO ₄
Resultado final	Concentración inhibitoria media (CI ₅₀)

Fuente: Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Castillo (2004).

Determinación de la calidad del agua residual del FHSP

Caracterización del agua residual. Debido a la variabilidad en la composición, caudal, concentración del líquido cloacal durante el día, se tomaron las medidas pertinentes para asegurar que las muestras sean representativas del efluente hospitalario, se formó una

muestra compuesta (5 litros) entre las 6h00 y las 18h00, que constituye la franja horaria de mayor actividad del Hospital, (volumen tomado en cada alícuota 1 litro), siguiendo los pasos estipulados por la norma Técnicas Generales de Muestreo NTC-ISO 5667-2 (ICONTEC, 1995).

Para el análisis fisicoquímico, las muestras se entregaron a los Laboratorios Especializados de Análisis Químico y de Aguas Universidad de Nariño, certificado por el IDEAM (2015), mediante Resolución 3566 de 2014, donde se analizaron los siguientes parámetros: Aceites y grasas, Sólidos suspendidos totales (SST), Sólidos suspendidos volátiles (SSV) Demanda química de oxígeno (DQO), Demanda bioquímica de oxígeno (DBO5), Fosforo total, Nitrógeno NTK, además se hicieron análisis *in situ* tales como pH y temperatura.

De igual manera para la realización de los bioensayos se tomó una muestra compuesta de 2 litros (sin preservantes); 1 litro de ARH se envió correspondiente en cadena de frío hacia el laboratorio de Ingeniería en Producción Acuícola - Universidad de Nariño para realizar el bioensayo con el *Allium cepa* L. El otro litro de ARH se envió en una nevera vía terrestre al Laboratorio de Investigaciones de Ambientales de la Pontificia Universidad Javeriana de la Ciudad de Cali para ser analizadas y comparadas con un ensayo de toxicidad estandarizado ISO 11348-3/ SM 8050B, por medio del método de bioluminiscencia bacterial (bioindicador *Vibrio fischeri*).

Realización de bioensayos descarga de AR Fundación Hospital San Pedro. Como medida de monitoreo de calidad de aguas se realizó el *Allium* test, en el que se expuso el *Allium cepa* L, con la muestra de ARH de La Fundación Hospital San Pedro; en el laboratorio se llevaron a cabo disoluciones la muestra madre de AR en concentraciones de 100, 75, 50, 25, 5 % (v/v) cada una con 12 réplicas. Las condiciones y características del ensayo se hicieron teniendo en cuenta los protocolos descritos en la Tabla 1 de Castillo (2004). Para la determinación de dichos efectos de inhibición, se analizó el flujo del ciclo celular y las fases cromosómicas del ápice radical de la cebolla mediante el cálculo del índice Mitótico (IM) por cada concentración, este procedimiento se realizó por medio de

laboratorio Mitosis en las plantas (Solarte, 2004). Una vez se obtuvo los resultados, se hizo el análisis estadístico adecuado para determinar la longitud promedio de las raíces del *Allium Cepa* L, se estableció el margen de error a partir de su desviación estándar; se utilizó el software STATGRAPHICS Plus V5.1 para el cálculo del CI₅₀ (Concentración de Inhibición Media) por medio del método PROBIT con un nivel de confianza del 95%.

Los resultados de toxicidad del ARH de La Fundación Hospital San Pedro, analizada por medio del *Allium* test en la Universidad de Nariño se comparó con los resultados obtenidos por los laboratorios de Investigaciones Ambientales de la Pontificia Universidad Javeriana Cali a través de Concentración Efectiva media (CE₅₀) del *Vibrio fischeri*. Siendo este un bioensayo que actualmente se encuentra estandarizado en Colombia a nivel internacional según ISO 11348-3/ SM 8050B, para realizar esta comparación del vertido del hospital con dos bioindicadores, se utilizó el criterio emitido por CEPIS (2001), a través de Unidades de Toxicidad (Ecuación 3).

$$UT = \frac{100}{CI_{50} \circ CE_{50}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde el valor de CI₅₀ o CE₅₀ está expresado como porcentaje del efluente en agua de dilución.

Para la categorización de los niveles de toxicidad se utilizó la relación propuesta por Ramírez (2003), propone la siguiente tabla para expresar el nivel de incidencia toxicológico basado en Unidades de Toxicidad.

Tabla 2. Nivel de toxicidad basado en Unidades Tóxicas

Nivel de incidencia	Unidades tóxicas	Abreviaturas
No tóxico	1	NoTox
Levemente tóxico	> 1 – 1,3	LeTox
Moderadamente tóxico	> 1,3 – 2	MoTox
Tóxico	> 2 – 4	Tox
Muy tóxico	> 4	HiTox

Fuente: Ramírez (2003).

Definición del tiempo de oxidación más eficiente para la reducción ecotóxica en la etapa de arranque. Para cumplir el tercer objetivo, se evaluó la toxicidad del efluente de un reactor biológico con dos tiempos de oxidación (etapa de arranque), proyecto que se trabajó en conjunto con una investigación de la Universidad Mariana, como requisito de tesis de Maestría en ingeniería Ambiental, para lo cual, definir los parámetros de diseño se necesitó conocer el caudal promedio día de efluente del hospital, posteriormente se requirió muestreos representativos mínimo de 12 horas y ser enviados para análisis de parámetros físico químicos tales como DQO, DBO₅, SST, SSV, pH y temperatura, indispensables para los parámetros de diseño de un reactor biológico de lodos activados con aireación extendida.

Después de contar con la información de laboratorio se despeja una serie de cálculos definidos en la RAS 2000 título E como fin de determinar el tiempo de retención celular, tiempo de retención hidráulico, tiempo de oxigenación o momento de saturación oxígeno-agua, flujo másico y porcentaje de remoción de DQO Y DBO₅ esperados.

Partiendo de esta base de diseño para determinar el volumen adecuado, se procedió a calcular las medidas para cumplir con el volumen ideal que se requiere, se decidió el reactor del área física del tiempo de retención hidráulico, de forma cilíndrica para así evitar los bordes de pérdida que se generan en las esquinas de haberlo hecho de forma rectangular, los cilindros aplicando la formula.

Tabla 3. Sistema de tratamiento lodos activados (Parámetros)

Especificaciones	Tanque homogeneizador	Reactor Biológico 1	Reactor Biológico 2	Clarificadores 1 y 2
Volumen	250 L	17 L	17 L	20 L
Altura	90cm	50 cm	50 cm	17 cm
Material	Plástico	Acrílico (5mm)	Acrílico (5mm)	Acrílico (5mm)
TRH	NA	8 h	8 h	10 h
TRC	NA	20 d	20 d	NA
Tiempo de Aireación	NA	Escalonada (16 horas encendida/8 horas apagada)	Extendida (24horas)	NA
Concentración O₂	1 mg/L	2,5 mg/L	2,5 mg/L	1,5 mg/L

Fuente: este estudio con base en RAS (2000)

Porcentajes de remoción. Se comparó eficiencia ecotóxica de dos reactores con dos tipos de aireación en etapa de arranque, el primer tratamiento consta de un sistema de aireación escalada frente al segundo tratamiento con aireación extendida (Tabla 3).

Para los cálculos de remoción y aumento de toxicidad se realizó calculado % de inhibición de la raíz *Allium cepa* L a una exposición del 100% del AR sin tratar (afluente) y al 100% del agua tratada (efluente) correspondiente a los muestreos después del proceso de sedimentación.

Por otra parte para determinar el nivel de toxicidad en los dos reactores, se utilizó el método PROBIT para calcular la CI_{50} , en el afluente y efluente del sistema de lodos activados.

Análisis estadístico. Para determinar cuál de los dos reactores tienen mayor eficiencia en cuanto a niveles de toxicidad, se realizó una Prueba de Hipótesis de diferencia estadística para establecer si la toxicidad del efluente de ambos reactores es la misma (H_0); se utilizó el software IBM SPSS Statistics 20.

Por tanto, para rechazar o aceptar la hipótesis (H_0) se realizó una serie de análisis exploratorios en las variables de respuesta, que consta de las siguientes pruebas: Diagrama de Caja y Bigotes, prueba de Normalidad (método de Shapiro-Wilk) y prueba de Homocedasticidad (método de Levene Statics).

En este orden de ideas, se realizó las pruebas paramétricas con el Método ANOVA (análisis de varianza) la cual consta en la comparación de las medias de los dos reactores con un nivel de significancia del 0,05. Vale destacar que el factor de estudio es el tipo de reactor (Aireado o Escalonado) y las variables de respuesta es la Toxicidad (CL_{50})

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Adaptación de un protocolo de evaluación ecotóxica en las aguas residuales FHSP

Controles. Según los resultados obtenidos, para el control Negativo se encontró que a una disolución del 75% de agua enriquecida con nutrientes (Castillo, 2004), se logró un mayor rendimiento en las raíces del *Allium cepa* L., por lo cual se estableció que el crecimiento óptimo promedio de la raíz es de 16,11 mm, valor de referencia para encontrar los porcentajes de inhibición del control positivo y la muestra evaluada.

Entre tanto para el control Positivo Cu (II) del *Allium* test a 72 horas de exposición se obtuvo los siguientes resultados:

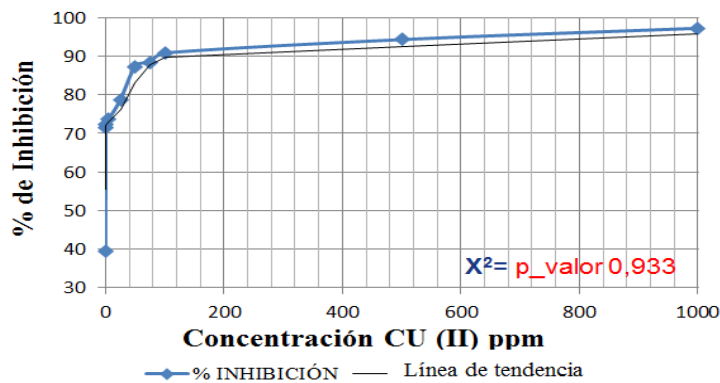


Figura 2. Valores del bioensayo control positivo con concentraciones de Cu (II), en función del porcentaje inhibición de la raíz del *Allium cepa* L.

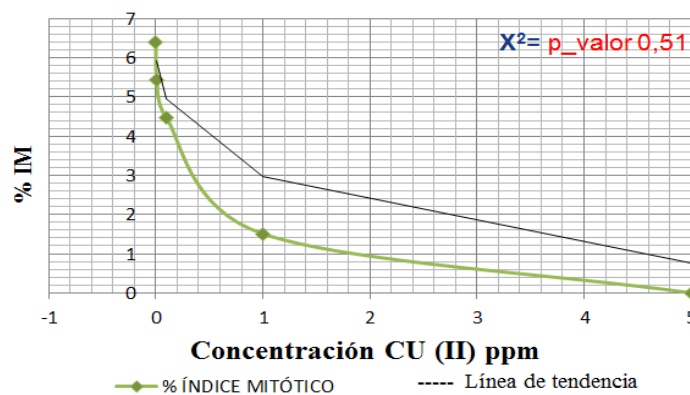


Figura 3. Valores del bioensayo control positivo con concentraciones de Cu (II) en función del porcentaje del índice mitótico (% IM) encontrado en las raíces meristemáticas del *Allium cepa* L.

Como se observó en la Figura 2, el control positivo se encuentra en un rango de inhibición de la raíz entre 39,53 y 97,26 %, según Castillo (2014), estos valores se encuentran dentro de los parámetros de confianza para que el control positivo se considere aceptable, sin embargo se realizó una prueba de bondad con el Test de CHI cuadrado de Pearson X^2 ($\alpha=0,05$), entre los concentraciones del Cu(II) y valores del porcentaje de inhibición, obteniéndose el p_valor de 0,933; igualmente para los valores de IM (Figura 3) y la concentración de Cu(II) se obtuvo un p_valor de 0,51.

De este modo los resultados demuestran que hay una relación entre la concentración y los porcentajes de inhibición e índice mitótico, considerando el bioensayo aceptable y aplicable para medir niveles de toxicidad y genotoxicidad.

Determinación de la calidad del agua residual del FHSP

Caracterización del agua residual. Los parámetros físico químicos de la FHSP, presenta las características de aguas residuales domésticas “típicas” con valores dentro de un rango determinado en DBO₅ desde 200 a 400 mlO₂/L, y una DQO entre los 450 a 800 mlO₂/L, valores establecidos por Sperling (2012). Los resultados de análisis de laboratorio hechas para el hospital con muestreos compuestos de 12 horas determinaron las siguientes concentraciones: Grasas y aceites 32,3 mg/L, DBO₅ 215 mgO₂/L, DQO 478,2 mgO₂/L, fosforo total 1,25 P-PO₄/L, Nitrógeno NTK 36,5 mg/L, SST 189 mg/L, SSV 35,0 mg/L.; que al ser comparados con la Norma Resolución 631 del 2015 (MINAMBIENTE, 2015). Considerando que la Fundación Hospitalaria cuenta con servicios médicos de internación más actividades medicas de hemodiálisis y diálisis peritoneal, los parámetros físico químicos del hospital que están fuera del rango permisible son los SSV, SST, grasas y aceites, mientras que DQO y DBO₅ están dentro del rango permisible; al permitirse estos altos niveles de descargas del efluente siendo la razón social de la fundación Hospitalaria ofrecer servicios médicos de alta complejidad.

Bioensayos descarga de agua residual FHSP. Los valores obtenidos para los parámetros analizados en las raíces del *Allium cepa* L expuestas a distintas concentraciones de agua residual de FHSP se muestran en la Tabla 4.

Las longitudes para la concentración del 100% de AR demuestran que la descarga del Hospital San Pedro presenta % de inhibición mayor al 50% respecto al control negativo, a razón de esto el cálculo de la concentración de inhibición media (CI₅₀) es medible por el método PROBIT (Tabla 5).

En cuanto a los valores del IM; estadísticamente hay una relación directa con concentración del ARH, analizadas con el método de CHI cuadrado de Pearson ($P_{valor} > 0,05$), comprobando la teoría de Fiskesjö (1985, 1993, 1997) donde el *Allium cepa* L al ser expuesta a una sustancia tóxica la división celular de los meristemos radiculares se inhibe, retardando el proceso de mitosis o destruyendo las células.

Tabla 4. Valores correspondientes a las longitudes de crecimiento, % de Inhibición y % IM de las raíces del *Allium cepa* L para 72 h de exposición a diferentes concentraciones de ARH y control negativo.

Diluciones	Concentración AR %(v/v)	Longitud de la raíz (mm)	DS	Inhibición (%)	IM (%)	Total células observadas
Control(-)	0%	16,11	3,27	0,0	6,40	297
1	5%	15,69	3,00	2,62	5,97	335
2	25%	13,18	4,66	18,20	4,44	496
3	50%	11,89	4,03	26,15	3,69	325
4	75%	10,26	3,08	36,31	3,13	416
5	100%*	6,86	2,44	57,39	1,99	652
					Total	2521

* % de crecimiento de la raíz menor al 50% comparado con el control

Indicadores de Toxicidad. A partir de las pruebas preliminares de toxicidad realizadas para el vertimiento del ARH se encontró el modelo matemático de la toxicidad expresada en nivel del efecto letal (Método PROBIT). Evidenciándose a través de las pruebas de toxicidad realizadas con dos tipos de bioindicadores: *Allium cepa* L con una CI₅₀ de 88,27% (v/v) del ARH, ocasionó la inhibición del crecimiento de raíz al 50%; en cambio las

bacterias bioluminiscentes *Vibrio fischeri*, en una concentración del 75% de ARH reduce su efecto de emisión de luz a la mitad (CE₅₀) (Tabla 5).

De acuerdo con la clasificación toxicológica para ensayos con organismos acuáticos basada en UT de Ramírez (2013), muestran que la incidencia de toxicidad del vertimiento de los dos bioindicadores está en el nivel LeTox; al ser la misma demostró la precisión del nivel de confiabilidad de bioensayo *Allium cepa* L. con el bioindicador estandarizado de toxicidad *Vibrio fischeri*, de la Universidad Pontificia Javeriana de Cali.

Al ser la razón social del hospital ofrecer servicios de salud, los vertimientos generados en este, presentan un contenido leve de sustancias tóxicas, que generan condiciones de alteraciones sinérgicas a las condiciones de calidad del agua del cuerpo receptor, esto se evidenció a través de las pruebas de toxicidad realizadas.

Sin embargo en lo respecto a la CE₅₀ de la *Vibrio fischeri* presentó mayor sensibilidad al AR del FHPS. Según estudios ecotoxicológicos realizados recientemente se debe que los organismos que involucran bacterias, crustáceos o peces entre otros, tienen una alta sensibilidad y capacidad de respuesta rápida debido a la complejidad de su entorno natural y la necesidad de establecer relaciones causa/efecto entre la concentración de los contaminantes y los daños ambientales generados (Lee *et al.* 2009; Pablos *et al.* 2009; Iwasaki *et al.* 2010; Jo *et al.* 2010).

Tabla 5. Indicadores de toxicidad estimados para el vertimiento de ARH con *Allium Cepa* L y *Vibrio fischeri*.

Ensayo	CI50	UT (100/CI50)	Nivel de Toxicidad
<i>Allium cepa</i> L	88,27	1,1	Levemente Toxico
<i>Vibrio fischeri</i>	75	1,3	Levemente Toxico

Fuente: este estudio con base en niveles de toxicidad Ramírez (2003).

Definición del tiempo de oxidación más eficiente para la reducción ecotóxica en la etapa de arranque.

Remoción e incremento de toxicidad. Los resultados en la Grafico 3 indican que para los dos tratamientos no se evidencia remoción en la primera semana de arranque del reactor, incrementándose la toxicidad debida a la utilización del lodo lixiviar proveniente del Relleno Sanitario Antanas - Pasto.

El tratamiento 1 (Aireación escalada), los valores de % de inhibición del *Allium cepa* L no son constantes como consecuencia del proceso de adaptación del reactor y las fuertes variaciones en el flujo, sin embargo se encuentra una mayor remoción de 16,39% en la semana 3.

En cuanto al tratamiento 2 (aireación extendida), no se encuentra una línea de tendencia descendiente por lo tanto descriptivamente, por lo tanto su remoción es más estable resultando una capacidad de remover sustancias toxicas del 19,30% en la semana 4.

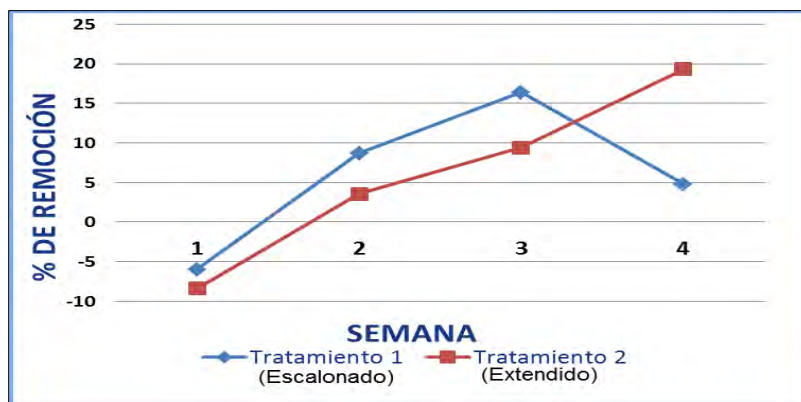


Figura 4. Porcentajes de remoción e incremento de toxicidad del reactor de lodos activados con dos tiempos de aireación tratando 100% con ARH Real.

Análisis estadístico (Niveles de toxicidad). El nivel de toxicidad permitió estimar la respuesta aguda al finalizar el periodo de exposición de la especie en tratamiento con el rector de lodos activados. Los resultados en la Tabla 8 corresponden a la CI_{50} (concentración letal o inhibitoria) y su nivel de incidencia del *Allium cepa* L antes y después de un tratamiento con dos tiempos de aireación (escalonada y extendida).

Mediante los análisis exploratorios en la variable de respuesta (CL_{50}) se demostró que se puede aplicar el Método de Comparación de Medias del efluente de los dos reactores, en el

diagrama de cajas y bigotes no se encontraron valores atípicos en las concentraciones del efluente de cada reactor, igualmente para la prueba de Normalidad (método de Shapiro-Wilk $p_valor\ 0,95 > 0,05$) demuestran que los datos provienen de una distribución con población normal, y empleando la prueba de Homocedasticidad (Método de Levene $p_valor\ 0,88 > 0,05$) los datos provienen de la misma varianza, con estos análisis se concluye que tanto las mediciones como los métodos y equipos utilizados no presentaron problemas.

Los resultados fueron sometidos a Análisis de Varianza (ANOVA) del cual no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los dos tiempos de aireación, indicando que la toxicidad del efluente de ambos reactores es la misma en promedio por lo tanto no se puede deducir que reactor tiene mayor diferencia de toxicidad o capacidad de remoción; necesitando más tiempo para que el sistema se adapte.

Tabla 6. Valores correspondiente a CI_{50} y UT, del *Allium cepa* L para el tratamiento del reactor de lodos activados.

TRATAMIENTO 1						
Fecha	T (°C)	pH	CI_{50} (% v/v)			
			Afluente	UT _A	Efluente	UT _E
26/10/2016	20	7,5	35,02	2,86 Tox	41,33	2,42 Tox
03/10/2016	20	8,0	29,33	3,41 Tox	32,21	3,10 Tox
10/10/2016	20	7,0	21,90	4,57 HiTox	36,94	2,71 Tox
18/10/2016	20	7,6	26,46	3,78 Tox	25,86	3,87 Tox
TRATAMIENTO 2						
Fecha	T (°C)	pH	CI_{50} (% v/v)			
			Afluente	UT _A	Efluente	UT _E
26/10/2016	20	7,5	35,02	2,86 Tox	22,99	4,35 HiTox
03/10/2016	20	8,0	29,33	3,41 Tox	24,75	4,04 HiTox
10/10/2016	20	7,0	21,90	4,57 HiTox	26,93	3,71 Tox
18/10/2016	20	7,6	26,46	3,78 Tox	37,38	2,68 Tox

CONCLUSIONES

Allium cepa L es un organismo que ofrece un buen modelo experimental “*in vivo*” para evaluar la toxicidad y la genotoxicidad de sustancias y mezclas complejas.

El efecto tóxico evidenciado por la inhibición de crecimiento de la raíz, involucra mecanismos relacionados con la cinética de división celular, dado que la exposición del *Allium cepa* L a algunos compuestos tóxicos impiden un adecuado desarrollo y expansión celular; mientras que el índice mitótico es un indicador que permite cuantificar el efecto genotóxico que produce las ARH sobre las células meristemáticas.

El tratamiento de lodos activados con aireación extendida en etapa de arranque indicó que los niveles de toxicidad del efluente en los reactores es la misma estadísticamente

RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en los tratamientos dan lugar a futuras investigaciones los hospitales locales, regionales y nacionales, con el propósito de identificar compuestos específicos presentes en el agua residual hospitalaria y de monitorear la respuesta ecotóxica del reactor en la etapa de estabilización y maduración del sistema, ampliando el número y variedad de bioensayos incluyendo otros organismos de diferentes niveles tróficos, para poder tener una visión más completa de los mecanismos que hacen a los procesos tóxicos en tratamientos de aguas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARROYO, V., BALLESTERO, M., MEJÍA, A., 2015. Inseguridad Económica del Agua en Latinoamérica: de la abundancia a la inseguridad. Séptima edición. CAF, Buenos Aires. 36p.

CASTILLO, G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. El Rodeo. México D.C. 202 p.

CEPIS. (2001). Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. Manual de Evaluación y Manejo de Sustancias Tóxicas en Aguas superficiales. Evaluación y Manejo del Riesgo. En: www.bvsde.paho.org/bvsaca/e/fulltext/seccion1/seccion1.pdf; consulta: octubre 2016.

CHAPARRO, R., PIRES, C. 2010. Estudios Ecotoxicológicos como herramientas para evaluar el desempeño de un reactor anaerobio de biomasa inmovilizada. DYNA. 77(164): 284-291.

DUARTE, C., GUTIÉRREZ, F. 2013. Tratamiento de agua residual hospitalaria previamente ozonizada utilizando un reactor anaerobio de lecho fijo. Bogotá D.C. En: <http://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/10654/11357/1/DuarteBarreroCarlosEduardo2013.pdf>; consulta: octubre 2016.

FENECH, M. 2000). The *in vitro* micronucleus technique. Mutation Research. 455(1-2): 81 - 95.

FISKESJÖ, G. 1985. The *Allium test* as a standard in environmental monitoring. Hereditas. 102: 99-112.

FISKESJÖ, G. 1988. The *Allium test* an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutation Research. 197:243 - 260.

FISKESJÖ, G. 1993. The *Allium test* in wastewater monitoring. Enviromental Toxicology and Water Quality. 8(1): 291-298.

FISKESJÖ, G.; DUTKA, B. 1996. Toxicological monitoring of drinking waters in developing countries. Proceedings of WaterTox Workshop, (pp. 89-153). Ottawa: Burlington National Water Research Institute.

GARCÍA, C.; GORTÁRES, P.; DROGUI, P. 2011. Contaminantes emergentes: efectos y tratamientos de remoción. *Química Viva*. 10(2):96 - 105.

IDEAM. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. 2015. Laboratorios acreditados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, IDEAM, bajo los lineamientos de la norma NTC-ISO/IEC 17025. Colombia. 35 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. 1995. Norma Técnica Colombiana NTC-ISO 5667-2. Gestión Ambiental. Calidad del Agua. Muestreo. Técnicas Generales de Muestreo. Bogotá D.C. Colombia. 15 p.

IWASAKI, Y.; HAYASHI, T.; KAMO M. 2010. Comparison of population-level effects of heavy metals on fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73(1):465 - 471.

JANET, M.; SOTO, A.; USMA, J.; GUTIÉRREZ, O. 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + limpia*. 7(2):52 - 73.

JO, H.; SON, J.; CHO, K.; JUNG, J. 2010. Combined effects of water quality parameters on mixture toxicity of copper and chromium toward *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 81: 1301 - 1307.

LEE S.W.; KIM S.M.; CHOI J. 2009. Genotoxicity and ecotoxicity assays using the freshwater crustacean *Daphnia magna* and the larva of the aquatic midge *Chronomus riparius* to screen the ecological risk of nanoparticle exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28(1):86 - 91.

LEMME, D.; MARIN, M. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*. 682(1):71 - 81.

LIZARAZO, J.; ORJUELA, M. 2013. Sistemas de plantas de tratamiento de aguas residuales en Colombia. Bogotá-Colombia. En: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11112/1/marthaisabelorjuela2013.pdf>. 23p; consulta: octubre, 2016.

MEDINA, R. 2015. Presupuestos, sentidos y prácticas ambientales en la ciénaga de Mallorquín y sus áreas de influencias en relación con el desarrollo social y humano para transformar las condiciones de vida del sector, ciudad o región. Módulo arquitectura CUC. 15(2): 85-104.

MINAMBIENTE. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. 2015. Resolución 0631 de 2015, por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado. En: http://corponor.gov.co/control_calidad/RESOLUCION%20MINAMBIENTE%20NACIONAL%20631%20DE%202015.pdf; consulta: septiembre 2016.

MINDESARROLLO. 2000. Reglamento Técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico. Título E. Tratamiento de Aguas Residuales. Bogotá D.C., Colombia. 145p.

MUÑOZ, D.; GUERRERO, N. 2013. *Allium test* para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de *Allium cepa*. Memorias. 11(19):83 - 86.

NANCY, B.; WULFF, A.; MUDR, D. 2006. *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol. Theoria. 15 (2):9 -16.

PABLOS, M.; FERNANDEZ, C.; BABIN M.; NAVAS, M.; CARBONELL, G.; MARTINI, F; GARCIA, H.; TARAZONA, V. 2009. Use of a novel battery of bioassays for the biological characterisation of hazardous wastes. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72(1):1594-1600.

- PÉREZ, D. 2015. Ciencia de la Sostenibilidad: ¿Una nueva disciplina o un nuevo enfoque para todas las disciplinas?. Rev. Iberoamericana de Educación. 69(1):39 - 60.
- PIRES, N.; SOUZA, P.; PRATES, T.; FARIA, L.; FILHO, P.; MAGALHÃES. 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal. 13(1):55 - 65.
- RAMIREZ, P.; MENDOZA, A. 2008. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. Primera edición. Semarnat. México D.C.428p
- REYES, R. 2015. Estudio Diagnóstico de la Ecotoxicidad de Afluentes del Río Guadalquivir, en el área comprendida entre Las Tipas y El Angosto de San Luis, Provincia Cercado- Tarija. ACTA NOVA. 7(1):28 - 46.
- ROIG, J., 2010. Eliminación de contaminantes emergentes mediante Humedales Artificiales como sistema alternativo o complementario a un tratamiento de aguas convencional. En https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/44470/Tesis_Fin_de_master; consulta: octubre, 2016.
- SOLARTE, M. 2004. Manual de Laboratorio Biología General de Universidad de Nariño (Mitosis en las plantas). En: Practicas de química, <http://editorial.udenar.edu.co/?p=196>; consulta: agosto, 2016.
- SPERLING, M. V. 2012. Principios del tratamiento biológico de aguas residuales. Introducción a la calidad del agua y al tratamiento de aguas residuales. Volumen 1. Primera edición en español. Minas Gerais, Brasil. 468 p.
- URTEAGA, F.; LALLANA, V. 2005. Optimización de una técnica de tinción para determinación de efectos citogenéticos en ápices radicales de *Allium cepa*. Rev. Científica Agropecuaria. 9(1):63 - 70.