

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS UTILIZANDO PECES CEBRA (*Danio rerio*) COMO BIOINDICADOR EN UN SISTEMA DE EXPOSICIÓN NO FORZADA

PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA AMBIENTAL

CABASCANGO VÁSQUEZ TAMIA DANIELA
tamia.cabascango12@gmail.com

ORTIZ LEÓN KAROL TATIANA
karol.ortiz.leon@gmail.com

Director: Ph.D PAUL VARGAS JENTZSCH
paul.vargas@epn.edu.ec

Codirector: MSc. MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL
maria.aldas@epn.edu.ec

Quito, diciembre 2019

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotras, Tamia Daniela Cabascango Vásquez y Karol Tatiana Ortiz León, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Tamia Daniela Cabascango Vásquez

Karol Tatiana Ortiz León

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo fue desarrollado por Tamia Daniela Cabascango Vásquez y Karol Tatiana Ortiz León, bajo nuestra supervisión.

Paul Vargas Jentsch
DIRECTOR

María Belén Aldás Sandoval
CODIRECTOR

AGRADECIMIENTO

A Dios, por guiarme en cada paso para cumplir esta meta y por poner a personas espectaculares en mi vida, también agradezco a mis padres, hermanos, familia y a mis grandes amigos que han sabido ser un soporte en momentos de alegría y tristeza.

A nuestros directores Paul Vargas y María Belén Aldás, que con su entusiasmo y sabiduría siempre estuvieron para nosotras tanto personal como académicamente brindándonos su apoyo para realizar el mejor trabajo, así mismo a Cristiano Araujo que supo guiarnos en el transcurso de los ensayos.

A mi compañera y amiga Taty, por confiar en mí y haber hecho un buen equipo de trabajo, poniendo todo su esfuerzo para que este proyecto salga adelante.

Al Laboratorio Docente de Ingeniería Ambiental, Laboratorio de Química Orgánica, Centro de Investigación y Control Ambiental, al Museo de Historia Natural Gustavo Orcés y en especial a Vladimir Carvajal que siempre compartió con nosotras sus conocimientos y experiencias en el transcurso de nuestro proyecto, de igual manera a Edison Vera y Estuardo Laverde.

A todos quienes pusieron su granito de arena para que este trabajo se vea realizado.

Tamia

AGRADECIMIENTO

Al Doctor Paul Vargas Jentsch, por confiar en nosotras para realizar este proyecto de investigación que surgió como una idea descabellada pero ahora se hace realidad. Por su dirección y apoyo que fue fundamental para culminar este trabajo. Gracias por siempre impulsarnos a seguir adelante e ir en busca de grandes cosas.

A la MSc. María Belén Aldás, por ser una excelente docente, profesional y persona. Gracias por guiarnos y aportar con su abundante conocimiento y experiencia para lograr alcanzar nuestra meta.

Al personal del Instituto de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Docente de Ingeniería Ambiental y al Centro de Investigación y Control Ambiental. En especial, un sincero agradecimiento al MSc. Vladimir Carvajal, Ingeniero Edison Vera y a Estuardo por las grandes virtudes que demostraron tener y su incondicional apoyo.

A Byron, mi mejor amigo y compañero de vida, por enseñarme el significado de amor y perseverancia. Gracias por impulsarme a alcanzar mis sueños, sueños que ahora compartimos. Te mereces todo lo bueno de la vida.

A mis amigas Melissa, Génesis, Evelyn, Michelle, Karen, Paulina y mi pequeña sobrina Asiri, con las que construimos una amistad con momentos inolvidables. A mi amiga Liz, que me acompañó desde del colegio y ahora su amistad se ha vuelto muy importante en mi vida.

A Margarita Vásquez que siempre estuvo pendiente de nosotras. Por formar a una persona de cualidades incomparables y admirables como lo es Tamia.

Finalmente, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Tami por ser mi compañera en este proceso para alcanzar nuestro sueño de ser ingenieras. Por tu ayuda en este arduo camino y por esa sonrisa que siempre mostraste a pesar de los intentos fallidos. Hoy podemos decir que no fue fácil, pero juntas lo logramos.

Tatiana

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos.

Tania

DEDICATORIA

Quiero dedicar este que hasta ahora es mi mayor logro a mis padres, ustedes mis maestros de vida, esta es la recompensa de todo su sacrificio, enseñanzas y amor infinito hacia sus hijos.

A mi familia, que es mi apoyo, mi pilar fundamental de vida, mi mayor orgullo y mi más grande tesoro, este logro es por y para ustedes.

Para mi hermana y mejor amiga Jessica, siempre cuidamos la una de la otra y hoy quiero dedicarte este trabajo para que sientas el mismo orgullo que yo siento por ti. Para mi hermano Bryan, eres más valiente, fuerte e inteligente de lo que crees confié plenamente en ti y sé que me llenaras de orgullo como lo has hecho hasta ahora.

Para mis Abuelos Inés y Hugo que me enseñaron el valor de la familia y lo fundamental que es la unión familiar. Me enseñaron a ser fuerte y a luchar por mis sueños. Por ser mis padres y mí guía.

Para Rocío, que más que mi tía es mi madre y amiga. Quiero dedicarte este y todos los logros que están por venir, me enseñaste que la vida está llena de obstáculos pero que siempre estarás a mi lado para ayudarme a cruzarlos, porque nunca me dejaste caer. Jamás dejare de ser tu princesa.

Para mis tíos Byron, Katherin y Enrique por brindarme su amor incondicional, su apoyo, sus palabras de aliento que siempre me impulsaron y por regalarme lo más bonito en mi vida, sus hijos. Ahora quiero ser un orgullo para ustedes.

Para mis primos Luciana e Isaac, siempre velaré y cuidaré de ustedes. Son lo más valioso en mi vida, quiero verlos crecer y ser grandes personas. En mi tienen una amiga y hermana que les brindara apoyo incondicional.

Tatiana

CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi
RESUMEN	xvii
ABSTRACT.....	xviii
PRESENTACIÓN.....	1
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ANTECEDENTES.....	1
1.2. OBJETIVOS.....	3
1.2.1. GENERAL.....	3
1.2.2. ESPECÍFICOS	3
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	4
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	7
2.1. CONTAMINACIÓN HÍDRICA.....	7
2.1.1. PRINCIPALES CONTAMINANTES DEL AGUA	7
2.3.1. COMPUESTOS CIANURADOS DE LA YUCA.....	9
2.3.2. IMPACTOS AMBIENTALES DE LAS RALLADORAS DE YUCA	10
2.4.1. COLORANTES USADOS EN LA INDUSTRIA TEXTIL.....	11
2.4.2. IMPACTOS AMBIENTALES DE LA INDUSTRIA TEXTIL.....	12
2.5. PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA	13
2.5.1. FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA.....	14
2.5.2. PROCESO FENTON.....	17
2.6. ECOTOXICOLOGÍA	18
2.6.1. ESTUDIOS DE TOXICIDAD	19
2.6.2. EXPOSICIÓN NO FORZADA	20

2.8.	CARACTERISTICAS DEL PEZ CEBRA.....	22
2.9.	PEZ CEBRA COMO BIOINDICADOR.....	23
2.10.	MANEJO DE LOS ORGANISMOS UNA VEZ FINALIZADOS LOS ENSAYOS	24
2.11.1.	LÍMITES DE DESCARGA DE AGUAS RESIDUALES.....	25
3.1.1.	CORTE Y UNIÓN DE LOS COMPARTIMENTOS	28
3.1.2.	ELABORACIÓN DE TAPONES	30
3.1.3.	BASE PARA EL SISTEMA.....	31
3.2.	ACONDICIONAMIENTO Y CONTROL DE LOS ORGANISMOS	32
3.2.1.	CONDICIONES DE LABORATORIO	32
3.2.2.	CONDICIONES DEL AGUA DE CULTIVO	32
3.2.3.	ACLIMATACIÓN DE LOS ORGANISMOS.....	32
3.3.1.	CALIBRACIÓN DEL SISTEMA	34
3.3.2.	CONTROL DE DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS	35
3.4.	PREPARACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA	36
3.4.1.	PREPARACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120	36
3.4.2.	PREPARACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA.....	38
3.5.1.	EXPOSICIÓN NO FORZADA USANDO AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120	43
3.5.2.	EXPOSICIÓN NO FORZADA USANDO AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA.....	46
3.5.3.	DISPOSICIÓN FINAL DE LOS ORGANISMOS.....	47
3.5.4.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
	CAPÍTULO 4. RESULTADOS	49
4.1.	CONDICIONES DEL AGUA DE CULTIVO.....	49
4.2.	PRUEBAS PRELIMINARES	50
4.2.1.	CALIBRACIÓN DEL SISTEMA	50
4.2.2.	CONTROL DE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS	51
4.3.	AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS	53
4.3.1.	CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120 SIN TRATAR Y TRATADA.....	53

4.3.2. CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA.....	54
4.4. ENSAYOS DE EXPOSICIÓN NO FORZADA.....	56
4.4.1. AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120	56
4.4.2. AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA	62
4.5. ASPECTOS Y DETALLES EXPERIMENTALES ADICIONALES A CONSIDERAR.....	76
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	79
5.1. CONCLUSIONES	79
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades del colorante Rojo Reactivo 120	11
Tabla 2. Clasificación de POAs basados en procesos fotoquímicos y no fotoquímicos	14
Tabla 3. Límites de descarga de aguas residuales a cuerpos de agua dulce	26
Tabla 4. Criterios de calidad de aguas para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces.	27
Tabla 5. Diluciones para el Agua Residual Sintética con colorante RR120	44
Tabla 6. Diluciones para el Agua Residual Sintética del rallado de yuca.....	46
Tabla 7. Diluciones para el Agua Residual Sintética Tratada del rallado de yuca	46
Tabla 8. Parámetros del agua considerados óptimos para los peces cebra.	49
Tabla 9. Conductividad medida a las 0, 4 y 6 horas en cada compartimento	51
Tabla 10. Distribución de los organismos en agua declorada en 4 horas de ensayo	52
Tabla 11. Distribución de los organismos en agua declorada en 6 horas de ensayo	52
Tabla 12. Parámetros medidos del agua residual sintética con colorante RR120	53
Tabla 13. Porcentaje de remoción de contaminantes en el agua residual sintética con el colorante RR120.	54
Tabla 14. Parámetros medidos en el agua residual sintética del rallado de yuca sin tratar y tratada	55
Tabla 15. Porcentaje de remoción de contaminantes en el agua residual sintética del rallado de yuca	56
Tabla 16. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada a las 4 horas de ensayo.....	57
Tabla 17. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada a las 6 horas	

de ensayo.....	59
Tabla 18. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética del rallado de yuca sin tratar a las 4 horas de ensayo	63
Tabla 19. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética producto del rallado de yuca sin tratar a las 6 horas de ensayo.....	65
Tabla 20. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca a las 4 horas de ensayo.....	67
Tabla 21. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca a las 6 horas de ensayo.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del colorante RR120.	12
Figura 2. Esquema del proceso de fotocátalisis	15
Figura 3. Medidas del corte de las botellas PET para la construcción del sistema lineal de exposición no forzada.	29
Figura 4. Medidas de los compartimentos del sistema lineal de exposición no forzada	29
Figura 5. Sistema lineal de exposición no forzada con siete compartimentos.....	30
Figura 6. Tapones para el sistema.	31
Figura 7. Bases para los sistemas lineales de exposición no forzada.....	31
Figura 8. Aclimatación de los peces cebra en las peceras.....	33
Figura 9. Peces cebra en la pecera con agua de cultivo y con los accesorios para asegurar limpieza del agua.	34
Figura 10. Concentración de NaCl en cada compartimento del sistema.	35
Figura 11. Proceso Fenton para el tratamiento de agua residual sintética con RR120.	38
Figura 12. Agua residual sintética producto del rallado de yuca.....	39
Figura 13. Compósito de Nitruro de Carbono graffítico.	40
Figura 14. Proceso de ultrasonido previo a la fotocátalisis heterogénea para el tratamiento del agua residual sintética producto del rallado de yuca	41
Figura 15. Esquema del proceso de los ensayos de exposición no forzada	43
Figura 16. Ensayo de exposición no forzada con colorante RR120	44
Figura 17. Separación y conteo de organismos.	45
Figura 18. Conteo de organismos.	45
Figura 19. Conductividad medida a las 0, 4 y 6 horas en cada compartimento.....	50
Figura 20. Agua residual sintética con RR120 sin tratar y tratada.....	54
Figura 21. Gradiente de contaminación del agua residual sintética con RR120 en base a la concentración de colorante RR120.....	57

Figura 22. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación proveniente del agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada para las 4 horas de ensayo.	58
Figura 23. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación proveniente del agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada para las 6 horas de ensayo.	60
Figura 24. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación proveniente del agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada para las 4 y 6 horas de ensayo.	61
Figura 25. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética con colorante RR120.....	62
Figura 26. Gradiente de contaminación del agua residual sintética del rallado de yuca en base al DQO.	62
Figura 27. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética de rallado de yuca sin tratar para las 4 horas de ensayo.....	64
Figura 28. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética producto del rallado de yuca sin tratar para las 6 horas de ensayo	65
Figura 29. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética sin tratamiento del rallado de yuca.	66
Figura 30. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca para las 4 horas de ensayo.....	68
Figura 31. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual	

sintética tratada producto del rallado de yuca para las 6 horas de ensayo.....	69
Figura 32. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética tratada del rallado de yuca.	70
Figura 33. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética sin y con tratamiento del rallado de yuca.	71
Figura 34. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética de rallado de yuca sin tratar y tratada para las 4 horas de ensayo.	72
Figura 35. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética de rallado de yuca sin tratar y tratada para las 6 horas de ensayo.	73
Figura 36. Concentración de cianuro en cada compartimento para el agua del rallado de yuca tratada y sin tratar.....	74
Figura 37. Concentración de cianuro en relación al DQO en cada compartimento para el agua producto del rallado de yuca sin tratar y tratada a las 4 y 6 horas de ensayo.	75

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL CLORURO DE SODIO (NaCl) PARA LA CALIBRACIÓN DEL SISTEMA DE EXPOSICIÓN NO FORZADA	94
ANEXO 2. RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN DEL SISTEMA DE EXPOSICIÓN NO FORZADA CON NaCl.....	97
ANEXO 3. ANÁLISIS DE CALIDAD DEL AGUA DECLORADA.....	100
ANEXO 4. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL COLORANTE ROJO REACTIVO 120 (RR120)	102
ANEXO 5. CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA.....	105
ANEXO 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PREFERENCIA/ FUGA DE LOS ORGANISMOS EN LAS AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS.....	108

RESUMEN

La contaminación del agua es un problema ambiental que genera gran preocupación a nivel mundial, por lo cual, es indispensable desarrollar tecnologías de tratamientos de aguas residuales que permitan su descarga en cuerpos de agua receptores. En esta investigación, se evaluó la eficacia del tratamiento de dos tipos de aguas residuales sintéticas mediante el uso del pez cebra (*Danio rerio*) como organismo bioindicador en un sistema lineal de exposición no forzada. El mismo que constó de siete compartimentos en los que se introdujo aguas residuales sin tratar, tratadas y sus respectivas diluciones. Para probar las aguas residuales tratadas y sin tratar, se propusieron dos enfoques: el primer tipo de agua residual sintética consistió en una solución acuosa del colorante Rojo Reactivo 120 (RR120) con una concentración inicial de 80 mg/L. Esta agua residual sintética fue tratada por el proceso Fenton, que permitió la eliminación del 97,03 % de RR120. Para el segundo tipo de agua residual sintética, se consideró el efluente líquido producto del rallado de yuca para la obtención de almidón. Esta agua residual fue tratada mediante un proceso de fotocátalisis heterogénea con un compuesto de nitruro de carbono gráfico. Dado que, tanto el agua residual sin tratar como la tratada todavía contenían altas concentraciones de materia orgánica (alta DQO), se diluyeron con agua de cloro para alcanzar un contenido máximo de DQO de 200 mg/L. A cada compartimento, se agregaron tres peces cebra y la migración de estos organismos a los otros compartimientos se controló después de 4 y 6 horas. Se observó la preferencia del pez cebra por las aguas residuales tratadas diluidas con RR120. Para las aguas residuales del rallado de yuca, como consecuencia del tratamiento, se observó una notable preferencia del pez cebra por aguas con alto contenido de DQO. Esto se puede atribuir a la eliminación del 96,45 % de cianuro debido al tratamiento con fotocátalisis heterogénea. Los resultados presentados en esta investigación pueden contribuir a la mejora de métodos y estrategias para evaluar la calidad del agua tanto en efluentes industriales como en cuerpos de agua afectados por actividades industriales cercanas.

PALABRAS CLAVE: TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES, *DANIO RERIO*, SISTEMA DE EXPOSICIÓN NO FORZADA, ROJO REACTIVO 120, YUCA.

ABSTRACT

Water pollution is an environmental problem that generates great concern worldwide, so it is essential to develop wastewater treatment technologies that require its discharge into receiving water bodies. In this research, the efficacy of the treatment of two types of synthetic wastewater was evaluated by using zebrafish (*Danio rerio*) as bioindicator organisms in a system of non-forced exposure. A non-forced exposure system was constructed; it consisted of seven compartments in which treated and untreated wastewaters and their dilutions were introduced. In order to test the treated and untreated wastewaters, two approaches were proposed for the quality assessment: the first synthetic wastewater consisted of an aqueous solution of the azo dye Reactive Red 120 (RR120) with an initial concentration of 80 mg/L. This synthetic wastewater was treated by the Fenton process, which allowed the removal of 97.03 % of RR120. For second synthetic wastewater, the liquid effluent obtained from cassava starch processing was considered. This wastewater was treated by a heterogeneous photocatalytic process with a composite of graphitic carbon nitride. Since both the treated and untreated wastewater still contained high concentrations of organic matter (high COD), they were diluted with dechlorinated water to reach a maximum content of COD of 200 mg/L. To each compartment, three zebrafish were added and the migration of these organisms to other compartments was controlled after 4 and 6 hours. The preference of zebrafish for diluted treated wastewater with RR120 was observed. For the wastewater from the cassava starch processing, as consequence of the treatment, a remarkable preference of zebrafish for waters with high content of COD was noticed. This can be attributed to the removal of 96.45 % cyanide due to the heterogeneous photocatalytic process. The results presented in this research can contribute to the improvement of methods and strategies to assess the quality of water in both industrial effluents and water bodies affected by neighboring industrial activities.

KEY WORDS: TREATMENT OF SYNTHETIC WASTEWATER, *DANIO RERIO*, SYSTEM OF NON-FORCED EXPOSURE, REACTIVE RED 120, CASSAVA.

PRESENTACIÓN

El presente proyecto de titulación evaluó la eficacia de tratamientos de aguas residuales sintéticas aplicando una metodología de exposición no forzada con peces cebra (*Danio rerio*) como bioindicadores.

El trabajo consta de 5 capítulos que se encuentran descritos a continuación:

El capítulo 1 “Introducción”, presenta los antecedentes y planteamiento del problema. Además, incluye los objetivos generales y específicos, el alcance y la justificación que fueron plantados al inicio de la investigación.

El capítulo 2 “Marco teórico”, describe la contaminación hídrica haciendo énfasis en la contaminación por efluentes industriales específicamente de la industria del rallado de yuca y textil. A su vez, incluye una breve descripción de los Procesos de Oxidación Avanzada, particularmente los procesos Fenton y fotocátalisis heterogénea y su aplicación en tratamientos de aguas residuales industriales. Finalmente, se habla sobre ensayos ecotoxicológicos, el método de exposición no forzada y las generalidades del pez cebra (*Danio rerio*) como organismo bioindicador.

El capítulo 3 “Metodología” incluye el procedimiento que se empleó para la construcción de los sistemas para la exposición no forzada y el método que se usó para el acondicionamiento y control de los peces cebra. Además, se muestra el método empleado para las pruebas preliminares, síntesis, caracterización y tratamiento de las aguas residuales usadas para los ensayos. Finalmente se describe la metodología de exposición no forzada.

El capítulo 4 “Resultados” muestra los resultados obtenidos en las pruebas preliminares, en la caracterización de las aguas residuales sintéticas antes y después de su tratamiento, así como los resultados de los ensayos de exposición no forzada con su respectiva discusión y análisis estadístico.

Finalmente, el capítulo 5 “Conclusiones y Recomendaciones” presenta las conclusiones acordes a los objetivos propuestos al inicio del proyecto y plantean recomendaciones que pueden ser consideradas en futuras investigaciones.

CAPÍTULO 1.

INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES

El desarrollo industrial contribuye a nivel mundial tanto económica como socialmente, ya que generan fuentes de empleo y mejora la calidad de vida de la sociedad. Sin embargo, estas mejoras no siempre son amigables con el ambiente, ya que pueden desencadenar problemas de contaminación, principalmente en cuerpos de agua, lo cual altera el equilibrio de los ecosistemas y pone en riesgo el acceso seguro al agua (Suárez y Molina, 2014).

El agua es un compuesto esencial para los seres vivos, pues es fundamental para que éstos puedan llevar a cabo sus funciones vitales; es considerado como un factor primordial para la existencia de la vida en el planeta (Garzón, 2009). A pesar de su importancia, el agua se ha convertido en medio de transporte y destino final de una gran variedad y cantidad de residuos que pueden alterar su composición original, lo que produce contaminación del recurso hídrico (Martínez, 2010).

Se pueden distinguir varias fuentes de contaminación de cuerpos de agua superficial y subterránea; tales son los casos de distintas industrias como químicas, agrícolas, textiles, etc., como también actividades cotidianas de los seres humanos. En vista de la gran necesidad de encontrar soluciones, se han desarrollado tecnologías para el tratamiento de aguas residuales que incluyen procesos biológicos, químicos y/o físicos, de tal manera que sea posible la descarga de las aguas tratadas a cuerpos de agua receptores sin afectar su calidad (Gil et al., 2012). Es por eso que la legislación ambiental de distintos países, en reglamentos específicos, considera límites máximos permisibles para distintos parámetros, tanto para la descarga a cuerpos de agua dulce como de agua salada. Lo que se busca es que contaminantes remanentes en las aguas tratadas puedan terminar de degradarse en el cuerpo de agua receptor por acción de procesos fisicoquímicos y biológicos naturales sin afectar a la fauna y flora acuáticas.

La evaluación de la eficiencia de los tratamientos y de la calidad del agua a descargarse se realiza con base fundamentalmente a parámetros fisicoquímicos y, muchas veces, aspectos biológicos que son subestimados. Con los parámetros fisicoquímicos puede no establecerse con suficiente precisión el impacto a nivel ecosistémico, pues no se considera las concentraciones de contaminantes que pueden causar perturbación en los organismos acuáticos y por ende provocar un desequilibrio en los ecosistemas acuáticos (Islam et al., 2018).

Para determinar el impacto que producen ciertos contaminantes en los ecosistemas y los efectos tóxicos sobre los organismos vivos se realizan ensayos ecotoxicológicos. Dichos ensayos consisten en exponer a los organismos de manera forzada a diferentes concentraciones de contaminantes para determinar respuestas como mortalidad y cambios morfológicos y fisiológicos en los mismos (Vargas y Perea, 2011). Sin embargo, dichos ensayos no toman en cuenta que los organismos son capaces de detectar y evitar contaminantes antes de sufrir daños físicos y tampoco se considera los problemas a nivel ecosistémico que puede causar dicho desplazamiento (Araújo et al., 2018).

El evaluar el desplazamiento de los organismos intentando evitar posibles sustancias tóxicas, implica un cambio de enfoque de una exposición forzada a una exposición no forzada, en la cual los organismos pueden elegir al ambiente en el que prefieren estar (Islam et al., 2018).

Es importante conocer que organismos como los peces, evitan la contaminación en concentraciones incluso mucho menores a las concentraciones letales o subletales que se han establecido en ensayos ecotoxicológicos tradicionales. Por ejemplo, se ha reportado que ciertos peces como la trucha arcoíris son capaces de “oler” metales pesados y, por tanto, huir de aguas que tienen concentraciones mayores de estos contaminantes (Araujo et al., 2018). Por eso, es muy atractiva la posibilidad de aprovechar tal capacidad de los peces para su aplicación en ensayos con exposición no forzada a contaminantes, aspecto que además permitiría tener información que se aproxime a lo que ocurre en realidad en un cuerpo de agua (Araújo et al., 2014).

Los peces *Danio rerio*, o más conocidos como peces cebra, son utilizados como organismos indicadores en ensayos ecotoxicológicos (Bello, 2015). Por esto se propone usar estos peces para desarrollar una metodología basada en la exposición no forzada, aplicable a aguas residuales sintéticas tratadas y sin tratar que simulan el proceso del rallado de yuca y de industrias textiles con un colorante Rojo Reactivo 120 (RR120). Tal metodología permitiría evaluar la calidad del agua y su potencial efecto contaminante si es descargada a un cuerpo de agua receptor.

Bajo estas premisas, el presente trabajo buscó evaluar la eficacia de dos tipos de tratamientos de aguas residuales: El primero fue el tratamiento de aguas residuales sintéticas producto del rallado de yuca mediante fotocátalisis heterogénea, y el segundo fue el tratamiento de aguas residuales con colorante RR120 mediante un proceso de Fenton. Para lograr esta evaluación, se realizaron ensayos de exposición lineal no forzada de peces cebra a distintas concentraciones de dichas aguas tratadas y sin tratar. De esta manera, se puede contribuir con datos sobre los impactos que puede causar en ecosistemas y organismos vivos la descarga directa de aguas residuales industriales sin tratamiento previo.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. GENERAL

Evaluar la eficacia de tratamientos de aguas residuales sintéticas utilizando peces cebra (*Danio rerio*) como bioindicadores en un sistema de exposición no forzada para plantear técnicas alternativas de monitoreo.

1.2.2. ESPECÍFICOS

- Caracterizar las aguas residuales sintéticas producidas en laboratorio como producto del proceso de rallado de yuca y aguas con colorante RR120 mediante metodologías ya establecidas, para evaluar el comportamiento de los organismos indicadores (peces cebra).
- Tratar las aguas residuales sintéticas producto del rallado de yuca y aguas contaminadas con colorante RR120, mediante POAs; Fotocátalisis y Fenton

respectivamente, para evaluar el comportamiento de organismos indicadores (peces cebra).

- Desarrollar dos gradientes de contaminación de las aguas residuales sintéticas producto del rallado de yuca y con colorante RR120, usando una estructura con botellas PET para realizar el ensayo de exposición no forzada de los peces cebra.
- Evaluar la eficacia de los tratamientos de las aguas residuales sintéticas mediante el análisis del comportamiento de los peces cebra en un sistema de exposición no forzada.

1.3. ALCANCE

El presente trabajo presenta un estudio experimental en el que se aplica la exposición no forzada de peces cebra (*Danio rerio*) a aguas que contienen distintos tipos de contaminantes. Se presentan dos escenarios: aguas residuales sintéticas del rallado de yuca, y aguas sintéticas con el colorante textil RR120. Estas aguas sintéticas simulan efluentes de dos tipos de industria diferentes, razón por la cual permiten evaluar la aplicabilidad de esta metodología para la evaluación de la eficiencia de tratamientos de agua, en concreto, mediante procesos de fotocátalisis heterogénea y Fenton convencional.

La evaluación se basa en el comportamiento de los peces cebra en un sistema con un gradiente de contaminación establecido a partir de aspectos de la normativa ecuatoriana vigente. Mediante esta investigación, se pretende proponer un nuevo enfoque para una evaluación más exhaustiva de los sistemas de tratamiento de aguas, su eficiencia y sobre los valores de parámetros de calidad de agua aceptables para la descarga de efluentes tratados a cuerpos de agua dulce.

1.4. JUSTIFICACIÓN

Los tratamientos mediante los procesos de fotocátalisis heterogénea y Fenton convencional han sido ampliamente usados para la remoción de carga contaminante de las aguas residuales. Ambos han demostrado ser eficaces para lograr la mejora de la calidad del agua en términos de parámetros fisicoquímicos

ampliamente reconocidos por la comunidad científica como indicadores de calidad. Sin embargo, una evaluación basada solamente en parámetros fisicoquímicos puede resultar incompleta y adolecer de criterios referidos al impacto en ecosistemas acuáticos debido a la presencia de sustancias que no son íntegramente determinadas por los parámetros usualmente considerados. Para lograr una evaluación más completa de la calidad de las aguas, resultaría más apropiado realizar ensayos ecotoxicológicos con un nuevo enfoque aplicativo; usando un organismo indicador capaz de moverse y seleccionar el agua que tenga mejor calidad, lo que implica además la posibilidad de que este evite agentes tóxicos que quizás los parámetros tradicionales no llegan a identificar y/o cuantificar (Araújo, 2018). Es necesario tomar en cuenta que, hasta la fecha, no se ha utilizado una metodología de exposición no forzada para evaluar tratamientos de aguas residuales industriales y, a partir de resultados cuantitativos, se pretende que el método utilizado sea complemento para los ensayos ecotoxicológicos comúnmente utilizados.

Para aplicar los ensayos propuestos, se consideró un sistema lineal de exposición no forzada en el cual se genera un gradiente de contaminación; se incorporan diluciones de las aguas tratadas y sin tratar en siete compartimentos conectados entre sí a través de los cuales los peces cebras pueden movilizarse libremente al agua que tenga las condiciones de su preferencia. De esta manera, se simula un escenario real propio de un cuerpo de agua que está bajo la influencia de una fuente puntual de contaminación. Es importante recalcar que existen estudios donde se ha demostrado la efectividad de dicha metodología en aguas naturales contaminadas, obteniendo resultados positivos y aplicables a varios tipos de contaminantes (Araújo, 2018).

Las aguas residuales sintéticas del rallado de yuca y con colorante RR120 simulan los efluentes que se generan en la producción del almidón de yuca y las industrias textiles, respectivamente. En cuanto a los tratamientos para cada tipo de agua residual, estos han sido seleccionados en virtud a la existencia de estudios previos que permiten conocer su eficiencia en la remoción de los contaminantes. Al conocer la eficiencia de estos tratamientos, medida previamente a partir de la remoción del contaminante (generalmente, sin medir los productos de

degradación), y comparar esos resultados con el comportamiento de los organismos indicadores en un sistema de exposición no forzada, se puede lograr una evaluación más completa de la calidad de agua resultante. A partir de estos experimentos y las consecuentes observaciones, se podrían plantear nuevas estrategias de control de la calidad de efluentes líquidos, complementarias a las herramientas analíticas actualmente existentes. Sin duda, mejores controles de calidad de aguas descargadas a cuerpos de agua repercutirían positivamente en las poblaciones aledañas y aseguraría la efectiva protección de ecosistemas sensibles.

CAPÍTULO 2.

MARCO TEÓRICO

2.1. CONTAMINACIÓN HÍDRICA

La contaminación hídrica se define como la alteración de las características físicas, químicas y/o biológicas del agua, lo cual produce afectación en la calidad del agua y causa efectos negativos sobre los ecosistemas, de tal manera, el agua deja de ser apta para su uso generando problemas a nivel social y ambiental (Carbajo, 2013).

Existen dos fuentes de contaminación hídrica: la natural y la antrópica. Por sus características, es la contaminación antrópica (la causada por las actividades humanas) la que genera problemas a nivel mundial y requiere especial atención (Gordón, 2017). Esta contaminación está fuertemente influenciada por el crecimiento demográfico, desarrollo industrial y agrícola, pues éstos han incrementado la demanda y uso del recurso hídrico con la consecuente generación de aguas residuales (Carbajo, 2013). La generación de aguas residuales no es por sí misma el problema, sino el hecho de que estas son descargadas a cuerpos de agua sin tratamiento o deficientemente tratadas. Las aguas residuales contienen compuestos que pueden ser tóxicos e incluso pueden acumularse en el organismo de los seres vivos, pues son compuestos que generalmente presentan cierta dificultad para degradarse en el ambiente (Jiménez, 2015).

Por tanto, es necesario desarrollar tecnologías que permitan el tratamiento de aguas residuales y así lograr eliminar compuestos que resulten perjudiciales para los organismos vivos y los ecosistemas con el objetivo de mejorar la gestión de los recursos hídricos, integrando su uso y regeneración (Carbajo, 2013).

2.1.1. PRINCIPALES CONTAMINANTES DEL AGUA

Los contaminantes del agua pueden clasificarse de diversas maneras. Para fines de este trabajo se consideró una clasificación general que incluye los siguientes contaminantes:

Materia orgánica: Los contaminantes orgánicos incluyen a la materia orgánica biodegradable, que puede ser fácilmente degradada por microorganismos, sin embargo, altas concentraciones de ésta en el agua pueden causar una disminución de la concentración del oxígeno disuelto y el consecuente impacto negativo en la biota acuática (Metcalf y Eddy, 2003). También se incluye materia orgánica refractaria, que es la que no puede ser degradada por medios biológicos, por ejemplo, pesticidas y colorantes sintéticos, tensoactivos, entre otros (Orozco et al., 2011)

Materia inorgánica: Considera compuestos que no tienen carbono en su estructura; incluye ácidos, bases y metales pesados, entre los más importantes. Dentro de la materia inorgánica también se incluyen nutrientes como fosfatos y nitratos, pues estos en altas concentraciones causan la eutrofización de cuerpos de aguas (Escobar, 2002).

Microorganismos patógenos: Son aquellos microorganismos que llegan al agua generalmente por descargas de aguas residuales domésticas sin tratamiento o de criaderos de animales. Incluyen microorganismos como virus, bacterias y protozoos (Escobar, 2002).

2.2. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES

Las aguas residuales industriales son producto inevitable de los procesos de producción de una industria y su composición varía dependiendo del tipo de industria (Valencia, 2013). Estas aguas causan un problema de contaminación ya que generalmente son vertidas directamente al alcantarillado o a cuerpos de agua cercanos y contienen compuestos contaminantes en concentraciones elevadas con la consiguiente consecuencia del aumento de la toxicidad en el agua, lo que puede ocasionar alteraciones en los organismos vivos e incluso su muerte (Bermeo y Salazar, 2013). Estas sustancias presentes en las aguas residuales industriales deben pasar por un tratamiento previo y específico según cada actividad (lo que condiciona las características de la carga contaminante), esto con el fin de disminuir la concentración de contaminantes a un nivel asimilable para los cuerpos de agua receptores (Carbajo, 2013).

2.3. INDUSTRIA DEL RALLADO DE YUCA

La industria del rallado de yuca tiene como principal objetivo elaborar almidón de yuca. Esta industria está en constante crecimiento y tecnificación debido al aumento de la demanda de dicho producto, ya que no es solo utilizado en la industria alimenticia sino también es empleado como materia prima o auxiliar en industrias como la del papel, farmacéutica y textil (Vargas, 2014).

2.3.1. COMPUESTOS CIANURADOS DE LA YUCA

Se conoce que la yuca contiene compuestos precursores de ácido cianhídrico (HCN), conocidos también como cianógenos y su concentración varía según la zona donde se cultiva y el tipo de yuca. Es el contenido de estos precursores de HCN lo que diferencia los tipos de yuca; en yucas dulces el contenido de cianuro es bajo, menor a 180 ppm, mientras que en yucas amargas es alto, mayor a 300 ppm de cianuro. Es importante destacar que no se conocen variedades de yuca sin cianógenos (FAO, 2007).

La presencia de cianógenos en las distintas partes del tubérculo también varía dependiendo al tipo de yuca; en yucas dulces se encuentran más concentrados en la cáscara de la yuca, por debajo de la cascarilla mientras que en la pulpa va disminuyendo su concentración conforme se acerca al centro de la pulpa, en cambio para la yuca amarga el contenido de cianógenos es similar en la cáscara y la pulpa (FAO, 2007).

El cianuro presente en la yuca se encuentra de dos formas, alrededor del 10 al 15 % del cianuro total se encuentra como cianuro libre y 85 al 90 % como cianuro ligado o linamarina. El cianuro ligado se libera cuando los tejidos de la yuca sufren daños mecánicos o por trituración, y se diluye en el agua usada en los procesos de obtención de almidón de yuca lo cual es considerado como un factor contaminante en cuerpos de agua (FAO, 2007).

Al ingresar el HCN al cuerpo de los seres humanos puede ocasionar dificultades respiratorias debido a que el cianuro reacciona con el hierro presente en la sangre formando cianohemoglobina lo que impide el transporte del oxígeno en la sangre. Además, la presencia de cianuro en un cuerpo de agua usado para abastecimiento de agua potable complica los procesos de potabilización, incrementa los costos de

tratamiento y puede generar incluso problemas sanitarios debido a que el HCN aún en bajas concentraciones manifiesta toxicidad (FAO, 2007).

2.3.2. IMPACTOS AMBIENTALES DE LAS RALLADORAS DE YUCA

La obtención de almidón mediante el rallado de yuca, como cualquier proceso industrial, genera impactos en el ambiente (Vargas, 2014). Los principales impactos que se evidencian dentro de esta industria están relacionados con la generación de residuos, mismos que pueden ser divididos en dos categorías: 1) sólidos, que incluyen los restos de yuca como fibra y cascarilla, y 2) líquidos, que es el caso de las aguas residuales generadas en el procesamiento de la yuca (FAO, 2007).

El mayor impacto que ocasionado por la industria del rallado de yuca es la generación de aguas residuales, ya que el procesamiento de la yuca requiere grandes volúmenes de agua, la producción de 1 kg de almidón de yuca genera aproximadamente 12 L de agua residual (FAO, 2007).

Las aguas residuales resultantes del rallado de yuca se caracterizan por tener altos contenidos de materia orgánica, valores de pH bajos e incluso presencia de ácido cianhídrico (Torres et al., 2007). Por ello, al descargar estas aguas residuales sin un tratamiento previo a un cuerpo de agua, este se verá afectado principalmente en la disminución del oxígeno disuelto y, en consecuencia, se puede dar la muerte de organismos acuáticos. Otros efectos adversos pueden resultar del carácter tóxico de ciertos constituyentes de estas aguas (Vargas, 2014). Por lo tanto, es evidente la necesidad de realizar un tratamiento de los efluentes del proceso para evitar la contaminación de los cuerpos receptores (Torres et al., 2007).

2.4. INDUSTRIA TEXTIL

La industria textil en el Ecuador es uno de los sectores más importantes para la economía del país debido a la gran aceptación nacional e internacional de textiles producidos. La importancia de esta industria también radica en la generación de fuentes de empleo, pues es el segundo sector de la manufactura que más personal requiere (Espinosa, 2013).

2.4.1. COLORANTES USADOS EN LA INDUSTRIA TEXTIL

Con el objetivo de modificar el color de un material textil, la industria utiliza colorantes que, generalmente, son de origen sintético. Se prefiere estos colorantes por su alta estabilidad y mayor grado de fijación, lo que evita decoloraciones de los textiles y menores pérdidas debido a los lavados.

Existen distintos tipos de colorantes, aproximadamente 10 000 variedades que son usados para la tintura de fibras (Espinosa, 2017) como los colorantes sintéticos usados en la industria textil deben poseer características físicoquímicas específicas para dicho proceso, lo cual genera ventajas funcionales en los colorantes sintéticos para poder ser aplicados en el teñido. El problema que se genera con el uso de dichos colorantes es que éstos, a pesar de ser compuestos orgánicos, difícilmente se degradan en el ambiente o al pasar por tratamientos convencionales, esto por la estabilidad de sus moléculas (Bermeo Tinoco, 2016).

2.4.1.1. COLORANTE ROJO REACTIVO 120

El colorante Rojo Reactivo 120 (RR120) es un colorante reactivo, generalmente utilizado para el teñido de fibras de celulosa. Este tipo de colorante se usa en un baño de tintura, con el resultado de que el 60 % se fija en los tejidos y el resto del colorante es eliminado en las aguas residuales (Daskalak et al., 2011). El Rojo Reactivo 120 también es conocido como colorante monoclorotriaznilo aniónico, y posee las propiedades detalladas en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades del colorante Rojo Reactivo 120

Propiedades Rojo Reactivo 120	
Estado	Sólido
Rango de fusión	Mayor a 350 °C
Solubilidad en agua	60-70 g/L a 20 °C
pH (Solución 1%)	6,0 - 8,8
Naturaleza	Peligrosa
Estabilidad	Considerado estable

Fuente: Santa Cruz Biotechnology, 2006

El Rojo Reactivo 120 es un colorante de difícil degradación debido a la complejidad estructural de su molécula y a la presencia de anillos aromáticos como se observa en la Figura 1.

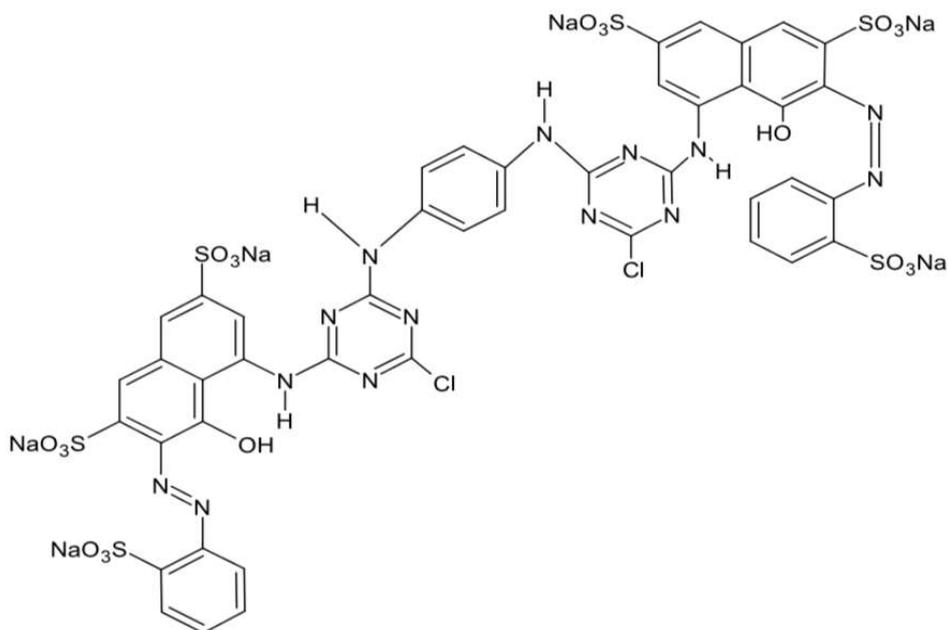


Figura 1. Estructura química del colorante RR120.

Fuente: Garófalo-Villalta, 2017

2.4.2. IMPACTOS AMBIENTALES DE LA INDUSTRIA TEXTIL

En varios procesos industriales de textileras, como el teñido, blanqueo y lavado, se consumen grandes cantidades de agua con la consiguiente generación de aguas residuales, las cuales son generalmente descargadas a cuerpos de agua sin pasar por un tratamiento previo (Garófalo-Villalta, 2017). Estas aguas residuales contienen colorantes sintéticos, mismos que son compuestos orgánicos refractarios que pueden manifestar cierta toxicidad y que dificultan su tratamiento (Tinoco et al., 2012).

Los colorantes textiles, en especial los de origen sintético, al ser liberados en cuerpos de agua causan varios efectos adversos como la disminución del oxígeno disuelto en el agua, eutrofización y perturbación de procesos fotosintéticos al impedir el paso de la luz (Tinoco et al., 2012). Esto puede ocasionar un

desequilibrio en los ecosistemas acuáticos y también provocar un daño estético de cuerpos de agua (Bazrafshan et al., 2013).

Los colorantes textiles más comunes son persistentes en el ambiente y su biodegradabilidad es baja debido a la complejidad de su molécula y a su alta estabilidad. Precisamente esas características generan problemas ambientales al descargarse aguas residuales que contienen colorantes a cuerpos de agua receptores. Por tanto, es necesario asegurar el adecuado tratamiento de efluentes de la industria textil, no solo limitado a la decoloración de los colorantes, sino también a eliminar la toxicidad que podría estar asociada a los productos de degradación (Osorio et al., 2010). Los tratamientos convencionales (biológicos) no son apropiados para el tratamiento de este tipo de aguas residuales y se requieren tratamientos especiales, entre los que destacan los conocidos como Procesos de Oxidación Avanzada (POAs) (Bazrafshan et al., 2013).

2.5. PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA

Los Procesos de Oxidación Avanzada (POAs), son un conjunto de tratamientos oxidativos, en la actualidad se utilizan para tratar aguas residuales industriales y hospitalarias, ya que resultan muy eficientes para el tratamiento de efluentes con la presencia de contaminantes tóxicos y contaminantes emergentes como pesticidas, colorantes y otros (Ameta, 2018).

Los POAs también son conocidos como procesos que implican la generación de radicales hidroxilos y otras especies reactivas de oxígeno como el radical anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el oxígeno en cantidad suficiente para tratar el agua. El radical hidroxilo presenta mayor eficiencia en los tratamientos de agua, éste interactúa con los contaminantes orgánicos generando una gran cantidad de productos de oxidación como cetonas, aldehídos o alcoholes que generalmente son menos tóxicos (Ameta, 2018).

Existen varios POAs que han sido estudiados durante mucho tiempo y, también, hay diversas clasificaciones disponibles en la literatura científica. Una forma de clasificar los POAs es según el uso de radiaciones luminosas o no, es decir, la aplicación de procesos fotoquímicos y no fotoquímicos, respectivamente (Pey, 2008). Los procesos más utilizados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de POAs basados en procesos fotoquímicos y no fotoquímicos

Procesos fotoquímicos	Procesos no fotoquímicos
UV/H ₂ O ₂	Ozonización
UV/O ₃	O ₃ /H ₂ O ₂
Ultravioleta de vacío	Fenton
Fotocatálisis	Oxidación electroquímica
<ul style="list-style-type: none"> ● Homogénea: Foto-Fenton ● Heterogénea: Fotocatálisis con TiO₂ y otros fotocatalizadores sólidos 	Radiólisis
	Plasma no térmico
	Irradiación gamma
	Irradiación con electrones acelerados

Fuente: Bes et al., 2018

Los POAs presentan varias ventajas sobre los tratamientos convencionales para aguas residuales. El uso de estos procesos no traslada los contaminantes de una fase a otra, sino que transforma químicamente los contaminantes hasta lograr su eliminación. Son eficientes para tratar contaminantes refractarios, mismos que se transforman en subproductos que pueden ser más biodegradables o se mineralizan (Bes et al., 2018).

A pesar de que los POAs poseen grandes ventajas al usarlos para el tratamiento de aguas residuales también presentan varios inconvenientes como el costo elevado que implica el uso de estas tecnologías y, algunas veces, los largos tiempos de reacción que se necesita para completar el tratamiento (Bes et al., 2018).

2.5.1. FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA

La fotocatálisis heterogénea se basa en el uso de semiconductores sólidos, insolubles en agua, que actúan en presencia de luz UV o visible con el fin de eliminar contaminantes mediante la generación de radicales altamente reactivos (el radical hidroxilo es el más importante) que son capaces de oxidar los contaminantes (Garcés et al., 2004).

En el proceso de fotocatálisis heterogénea están involucradas las bandas de valencia y de conducción, tal como se muestra en la Figura 2. La banda de valencia

posee electrones disponibles para reaccionar y la banda de conducción se encuentra vacía (Falla, 2016). La banda de valencia y la banda de conducción están separadas por una energía llamada distancia energética entre bandas llamada también banda prohibida (Pey, 2008). Al exponer al semiconductor a luz UV o visible, los electrones de la banda de valencia ganan energía y se produce un desplazamiento o salto de estos electrones hacia la banda de conducción. Para que este salto se produzca es necesario que la luz a la que se exponga al semiconductor tenga mayor energía que la de banda prohibida (Falla, 2016). Este salto genera un espacio vacío en la banda de valencia que se lo denomina “huevo” (h^+) y el cual da lugar a reacciones de oxidación, mientras que los electrones (e^-) presentes en la banda de conducción promueven reacciones de reducción (Falla, 2016). Los huecos interaccionan químicamente con el agua y generan radicales hidroxilos ($\cdot OH$), mientras que los electrones en la banda de conducción reaccionan con el oxígeno formando radicales superóxido ($O_2\cdot$). Los radicales formados son los responsables de la degradación de los contaminantes presentes en el agua (Pelayo, 2018).

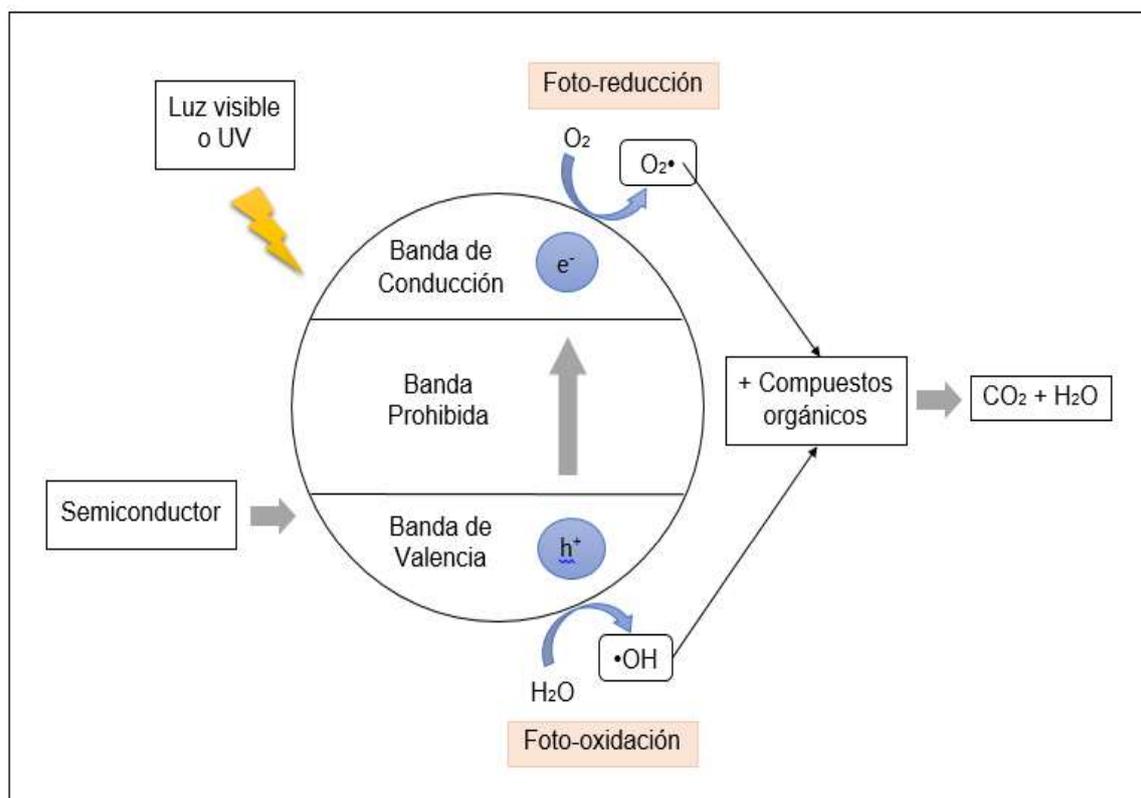


Figura 2. Esquema del proceso de fotocatalisis

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

A lo largo del tiempo se han investigado varios fotocatalizadores de los cuales el más utilizado es el dióxido de titanio (TiO_2) debido a que es un compuesto económico, permite trabajar en un amplio rango de pH y se caracteriza por su estabilidad biológica y química (Pey, 2008). En esta investigación el catalizador utilizado es el nitruro de carbono grafitico ($\text{g-C}_3\text{N}_4$), cuya eficiencia para el tratamiento de aguas residuales sintéticas del rallado de yuca fue estudiada por Terán-Benalcázar (2019). El $\text{g-C}_3\text{N}_4$ posee excelentes características fotocatalíticas, es un compuesto con gran estabilidad térmica, ya que es resistente y no volátil hasta $600\text{ }^\circ\text{C}$; posee también una gran estabilidad química y se puede obtener a partir de materiales económicos (Ramos, 2012).

2.5.1.1. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA

Existen varios factores que influyen en la eficiencia de remoción de contaminantes cuando se usa como tratamiento de aguas residuales la fotocatalisis heterogénea (Pey, 2008). Dentro de los factores más importantes se encuentran:

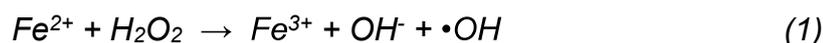
pH: El no trabajar en un pH adecuado puede generar alteraciones en la velocidad de degradación de contaminantes, también afecta las propiedades superficiales del catalizador (Pey, 2008). El pH del agua a tratar condiciona la adsorción del contaminante sobre la superficie del fotocatalizador lo cual, a su vez, puede facilitar la degradación del contaminante. Un criterio importante para poder inferir al valor de pH apropiado para el tratamiento es el punto de carga cero (PZC) del fotocatalizador (Garófalo-Villalta et al., 2019).

Fotocatalizador: El fotocatalizador debe tener partículas con tamaño uniforme y de gran área superficial, forma esférica y ausencia de porosidad interna (Pey, 2008). Los fotocatalizadores nanoparticulados suelen ser más eficientes que los microparticulados aunque los primeros también son más difíciles de separar del agua tratada (Fu, Li, y Li, 2019). Se debe encontrar la concentración óptima del catalizador, ya que mientras mayor sea la concentración se tendrá una mayor eficiencia de remoción de contaminantes, sin embargo, si se tiene una concentración del catalizador en exceso se puede incrementar la turbidez del agua lo que dificulta la penetración de la luz con la consiguiente disminución en la remoción de contaminantes (Garcés et al., 2004).

Irradiancia: La velocidad de reacción es directamente proporcional a la intensidad de luz, considerado un factor indispensable para el diseño del reactor (Bes et al., 2018).

2.5.2. PROCESO FENTON

El proceso Fenton es un POA que se basa en la formación de radicales hidroxilos por reacción del ion ferroso (Fe^{2+}) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en una solución acuosa a pH ácido, temperatura ambiente y presión atmosférica (Garcés et al., 2004). La combinación de sales de hierro con H_2O_2 se denomina reactivo Fenton (Bes et al., 2018). De acuerdo a trabajos previos (Pelayo, 2018; Bes et al., 2018 y Rubio et al., 2014), el proceso Fenton se puede sintetizar en las siguientes en las reacciones mostradas en las Ecuaciones 1 y 2:



La Ecuación 1 muestra la formación de $\bullet OH$ a partir de H_2O_2 y Fe^{2+} , mientras que la Ecuación 2 expresa la restauración de Fe^{2+} a partir de Fe^{3+} , aunque esta segunda reacción es más lenta. En la práctica, esto se traduce en un aumento de la concentración de Fe^{3+} con la consiguiente generación de precipitados de hidróxido férrico, $Fe(OH)_3$ (Sánchez, 2015). También se forman los radicales perhidroxilo ($HOO\bullet$), mismos que también contribuyen en la degradación de los contaminantes.

Existen aspectos importantes que se deben tomar en cuenta a la hora de seleccionar este proceso para tratamientos de aguas residuales, como el pH de la mezcla, ya que se debe mantener el pH alrededor de 3 en el tratamiento para que el Fe^{2+} permanezca disuelto, y esto que obliga a neutralizar la solución al concluir el proceso. A su vez, los precipitados de $Fe(OH)_3$ que quedan como producto del

tratamiento son lodos residuales que deben ser separados y tratados para su disposición final (Sánchez, 2015).

El uso del proceso Fenton como una alternativa para el tratamiento de aguas residuales genera ciertas ventajas como su aplicabilidad en distintos efluentes y a escala industrial, posee alta eficiencia al eliminar color del agua en tiempos de contacto bajos, también facilita la biodegradabilidad de compuestos orgánicos refractarios y no genera subproductos tóxicos (Sánchez, 2015).

Por el contrario, la aplicación de este proceso también origina ciertos inconvenientes como el alto consumo de reactivos al no regenerarse Fe^{2+} , y de los mayores inconvenientes es la formación de lodo residual (Sánchez, 2015).

2.5.2.1. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL PROCESO FENTON

Al usar el proceso Fenton para tratar aguas residuales existen varios factores que influyen en la eficiencia de remoción de contaminantes (Pey, 2008). Dentro de los aspectos más importantes se encuentran:

pH: El proceso Fenton tiene mayor actividad catalítica a un pH de aproximadamente 2,8, ya que influye directamente en la formación de radicales $\bullet OH$ por ende influye en la la eficiencia de degradación. Con valores de pH mayores a 4 disminuye la formación de radicales $\bullet OH$ y se forman precipitados de hidróxido férrico (Pey, 2008).

Concentración de H_2O_2 : La concentración de H_2O_2 es directamente proporcional a la velocidad de degradación. Sin embargo, al llegar al punto máximo de degradación se puede generar una recombinación de los radicales $\bullet OH$ (Ecuación 3), lo que afecta a la eficiencia del proceso (Pey, 2008).



2.6. ECOTOXICOLOGÍA

Según Botello (2005), la Ecotoxicología es una rama multidisciplinaria que estudia las causas y efectos, condiciones y límites de seguridad a la exposición de productos contaminantes hacia la biota. Cuando el tóxico se introduce en el

ecosistema, éste afecta la estructura y función del ambiente. El tóxico puede pasar por uno o varios procesos de transformación, degradación, retención, redistribución y bioacumulación. (Salvatierra, 2019).

A partir de los años sesenta, ya con el conocimiento de que los contaminantes son sustancias capaces de producir efectos adversos a la salud de un ecosistema, y no únicamente la del ser humano, la ecotoxicología ha tomado un rol cada vez más importante en el campo de las ciencias ambientales; en las legislaciones se incorporaron cambios que buscan salvaguardar el ambiente y se estableció que uno de los principales objetivos de esta rama es evaluar los resultados obtenidos para así determinar el tipo y cantidad de sustancias que son tolerables para el ambiente (Römbke y Moltmann, 1977; Botello, 2005; Ramírez, 2018).

2.6.1. ESTUDIOS DE TOXICIDAD

Años atrás, los ensayos toxicológicos estaban basados en la muerte de organismos indicadores al estar en contacto con una concentración conocida de contaminante que pudiera causar daño al ser humano. En la actualidad, se ha combinado la ecología con la toxicidad, se han ampliado los objetivos de dichos ensayos y se puede tener una visión más completa sobre los efectos adversos del contaminante en la biota (Botello, 2005; Araújo, 2014).

Existen condiciones requeridas para los ensayos de ecotoxicidad entre las cuales están: los organismos a ser utilizados deben ser de una misma población y deben estar previamente aclimatados, las condiciones ambientales deben ser constantes y, si es posible, estandarizadas para cada tipo de organismo, las concentraciones a ser utilizadas deben ser conocidas y se debe contar con un grupo de individuos que servirán de control para los respectivos ensayos. Los resultados obtenidos deben ser procesados estadísticamente para determinar la vulnerabilidad de los organismos a dichos contaminantes, lo que permite evaluar y predecir los impactos que tendría el contaminante en un medio natural (Botello, 2005; Salvatierra, 2019).

En los estudios de ecotoxicología es común encontrar el término “estrés”, el cual se refiere a toda alteración fisiológica que hace que el individuo se vuelva más vulnerable a otros cambios ambientales. En función de la respuesta a dicho estrés, se tiene una clasificación en tres subgrupos: 1) primarias, que se refiere a todas

las respuestas nerviosas y neuroendocrinas; 2) secundarias, que son consecuencia de las primarias englobando respuestas fisiológicas y bioquímicas; y 3) terciarias, que se derivan de las respuestas secundarias donde ya se pueden notar cambios en el sistema inmunológico, lo que causa la muerte del individuo (Bayne et al, 1976; Botello, 2005).

Los grados de toxicidad se encuentran en función de la concentración y del tiempo de exposición a los contaminantes, lo que permite tener dos tipos de ensayos principales: agudos y crónicos; los primeros evalúan los efectos nocivos de la exposición en corto tiempo y se tienen como respuesta valores de mortalidad y movilidad, mientras que los segundos se realizan con concentraciones subletales y con tiempos más prolongados representativos del ciclo de vida del organismo, con respuestas relativas a valores de crecimiento, de comportamientos y respuestas fisiológicas; Salvatierra (2019), señala también que es posible tener ensayos de reproducción en los que el periodo de exposición cubre por lo menos a tres generaciones, y los ensayos de recuperación, que implican la transferencia de los organismos inicialmente expuestos a la contaminación a un medio no contaminado. Otra clasificación es aquella que se encuentran en función de la renovación del flujo en el cual estarán los organismos, éstos pueden ser ensayos estáticos, semi estáticos y ensayos de flujo continuo o dinámico (Botello, 2005; Araújo, 2014).

2.6.2. EXPOSICIÓN NO FORZADA

Si bien los modelos de ensayos toxicológicos convencionales son capaces de predecir algunos de los efectos adversos al ambiente, no se toma en cuenta que los organismos también tienen la capacidad de elegir un hábitat adecuado. Por esta razón, se desarrolló un nuevo modelo de exposición no forzada que ofrece una mayor relevancia desde el punto de vista conductual del organismo, y es así que Araújo (2013) presenta ensayos orientados para analizar la dinámica de dispersión de los organismos frente a distintos contaminantes.

Con este modelo se puede observar el libre desplazamiento de organismos de una zona de mayor concentración de sustancias potencialmente tóxicas a una de en la que la presencia de dichas sustancias sea menor, lo cual vendría a ser una representación de lo que sucede en ambientes naturales con organismos que

tienen capacidad de moverse. Es así que varios autores consideran a la exposición no forzada como un complemento a la evaluación de efectos adversos de contaminantes en el ambiente (Araújo, 2014; Cedeño, 2015).

Los ensayos tradicionales miden una respuesta en función del tiempo de exposición y concluyen que dichos organismos presentan daños en sus funciones biológicas siempre y cuando se encuentren expuestos en la totalidad de tiempo al contaminante en un hábitat natural y este escenario realmente no ocurre, debido a que los organismos tienen la capacidad de huir de la zona contaminada a la primera señal de alerta temprana ante un agente extraño y como resultado de esta huida presentar consecuencias negativas en el ecosistema (Hellou, 2011).

Hellou (2011) señala que existen tres tipos de respuestas de los organismos a la antes mencionada “alerta temprana”; la primera es una respuesta inmediata como mecanismo de protección, la segunda es una respuesta no tan rápida que puede progresar y, por último, se tiene una respuesta después de una exposición prolongada que puede tener consecuencias no deseadas. Es importante señalar que si una investigación se basa en estudios ecológicos y químicos se facilita la interpretación de estudios de campo (Chapman, 1985).

En la actualidad, se plantean dos posibles escenarios para este tipo de ensayos de exposición no forzada cada una con sus respectivas variantes. El primero es un sistema lineal propuesto por Lopes (2014), que presenta compartimentos conectados linealmente donde en cada uno se coloca una concentración distinta de contaminante. El segundo escenario, que permite una mejor representación de un ambiente natural, es un sistema de ensayo heterogéneo multi-hábitat llamado HeMHAS por sus siglas en inglés (Heterogeneous multi-habitat assay system), que cuenta con compartimentos interconectados de distinta manera entre sí, donde los organismos tienen una mayor capacidad de elección. Con este último escenario se ha logrado un importante avance conceptual y metodológico para evaluar el riesgo ecológico (Araújo, 2018).

2.7. BIOINDICADORES

Los bioindicadores son organismos vivos usados para entender ciertos procesos biológicos; ya que se encuentran susceptibles a cambios ambientales, y de esta

manera, proporcionar y modelar una visión fundamental de otros organismos (Rahman, 2018).

Los estudios con organismos vivos representan una parte importante en el desarrollo de investigaciones, sin embargo, las limitaciones de modelos en mamíferos hicieron que se encuentren nuevos modelos basados en otros vertebrados que complementen tales estudios (Kari, 2007).

Existen 3 principales criterios para elegir un organismo de ensayo los cuales son su relevancia ecológica, sensibilidad a los contaminantes y variabilidad. Otros criterios adicionales surgen de los mencionados, entre los que destacan la disponibilidad y posibilidad de cultivo de organismos, factibilidad, tiempo de ensayo, entre los más importantes.

Los bioindicadores que se encuentran expuestos a contaminantes ambientales presentan la siguiente clasificación: 1) Indicadores de exposición, los cuales se caracterizan por presentar daños e interferencias en procesos enzimáticos, 2) Indicadores de efecto producido, en el que se presenta deterioro fisiológico como efecto causado por el contaminante ambiental, 3) Indicadores de susceptibilidad, en el que los organismos presentan afectación a la capacidad de respuesta ante factores externos (Koeman, 1991; Botello, 2005).

2.8. CARACTERÍSTICAS DEL PEZ CEBRA

El pez cebra pertenece a la familia Cyprinidae y clase Actinopterygii, que significa “con aletas radiadas” (Nüsslein-Volhard, 2002). Es un organismo proveniente de los ríos tropicales del sur de Asia, y se distribuye en partes de la India, Bangladesh, Nepal, Myanmar y Pakistán, que son regiones que tienen un clima monzónico con marcadas estaciones lluviosas y secas. Según Lawrence (2007), estos peces crecen en distintos hábitats, que incluyen zanjas de drenaje, estanques artificiales, arroyos con corrientes lentas y aguas turbias. También se reportó que el pez cebra vive en cuerpos de agua poco profundos con vegetación acuática y con sustrato limoso (Spence, 2008).

Estos peces alcanzan un tamaño aproximado de 5 centímetros de longitud, tienen una sola aleta dorsal, boca rigurosa dirigida hacia arriba y sus ojos se encuentran

ubicados de manera central. Su cuerpo es alargado y presenta rayas horizontales de color azul oscuro. Esta especie presenta dimorfismo sexual, siendo la hembra más grande y con una tonalidad de fondo plateado, mientras que el macho es más pequeño y presenta tonalidades doradas (Ayala, 2014).

Estos peces son omnívoros, son muy activos y veloces, y se mantienen siempre en grupos. El desove va de 200 a 300 huevos transparentes que eclosionan aproximadamente a los 3 días. Estos individuos presentan una expectativa de vida de 3 a 4 años en cautiverio (Ayala, 2014; Rahman, 2018).

Según estudios, tanto el pez cebra salvaje como el de laboratorio, han mostrado un comportamiento preferencial por el desove en lugares con amplia vegetación, lo que hace que sugiera un hábitat ligeramente alcalino de pH $\sim 8,0$, aguas relativamente claras (~ 35 cm). Lawrence (2007), presentó algunos rangos de tolerancia para los peces cebra en condiciones de laboratorio, entre los cuales se especifica una temperatura de $28,5$ °C, pH entre $7,0$ y $8,0$, y dureza entre 75 y 200 mg/L CaCO_3 . El contenido de oxígeno disuelto propuesto por este autor debería estar por debajo de la saturación ($\sim 7,8$ mg/L a 28 °C), lo que permitiría condiciones estables para la vida de los peces.

2.9. PEZ CEBRA COMO BIOINDICADOR Y ORGANISMO MODELO

El pez cebra (*Danio rerio*) es uno de los organismos que con mayor frecuencia son utilizados para estudios de desarrollo biológico, toxicológico, genético, biomédico, entre otros. Los peces cebra son usados, ya sea como embrión o en su etapa joven y adulta, debido a que contiene un genoma secuenciado y la facilidad de su manejo (Rahman, 2018).

Estos organismos son considerados tanto bioindicadores debido a que permite registrar cambios en el ecosistema como se señala en el punto 2.7, y también como organismos modelo que, al ser ya utilizados en innumerables ensayos, permiten generar modelos o diseños a ser aplicados a futuro permitiendo obtener información con niveles de respuesta garantizadas (Rahman, 2018). Estudios indican que los individuos de pez cebra presentan características fisiológicas, genéticas e inmunológicas con cierta similitud al cuerpo humano. El genoma del

pez cebra comparte con el del ser humano muchas similitudes, por esta razón, fue intensamente estudiada la biología del desarrollo de varios de sus sistemas entre los que se incluye el sistema nervioso entérico (SNE), sistema inmunológico, angiogénesis y regeneración (Nüsslein-Volhard, 2002; Junji Itou, 2012; Chávez, 2016).

El desarrollo de nuevos fármacos, modelamiento de enfermedades, piscicultura y toxicogenómica aplicada al estudio de la contaminación ambiental, forman parte de los campos mayormente estudiados con este tipo de bioindicadores (Rojas, 2007). Con base a los objetivos de investigación, el uso de estos organismos como bioindicadores puede ir acompañado a ensayos posteriores con mamíferos y otros peces. Por tanto, según Chávez (2016), los ensayos con pez cebra pueden considerarse el punto de partida en investigaciones que buscan probar nuevas hipótesis.

2.10. MANEJO DE LOS ORGANISMOS UNA VEZ FINALIZADOS

LOS ENSAYOS

En la actualidad, existen muchos cuestionamientos éticos sobre el uso de animales con fines de investigación, fundamentalmente desde el punto de vista del deterioro del bienestar del animal. Por tanto, investigadores que trabajan con animales deben conocer y cumplir los principios éticos para la experimentación con animales. Una de las propuestas planteadas en el Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con Animales, señala que debe haber una meta razonable y que el conocimiento adquirido pueda ser de gran ayuda para el ser humano en la protección de la vida, alivio de dolor tanto para él como de los animales y, de esta manera, contribuir al progreso de la ciencia (Navarro, et al., 2012).

Cada investigador se encuentra en la obligación ética de encontrar una técnica factible que permita precautelar el bienestar animal y cumplir con los objetivos del proyecto. Una vez que haya finalizado el experimento, se debe asegurar la apropiada disposición final del animal y, si el caso lo amerita, la eutanasia. Para la realización de tales procedimientos, existen recomendaciones de la Asociación Americana de Medicina Veterinaria (AVMA). Si el investigador decide que no es

necesario aplicar la eutanasia al finalizar el ensayo, está en plena obligación de asegurar una disposición final correcta (Navarro, 2012). Entre los métodos de eutanasia para el pez cebra se encuentra el enfriamiento hasta que pierda su orientación y el opérculo deje de moverse. El enfriamiento se recomienda entre 2-4 °C, según la etapa de desarrollo en la que se encuentre el pez cebra (AVMA, 2007).

2.11. LEGISLACIÓN ECUATORIANA

En la Constitución de la República del Ecuador vigente desde el año 2008 se incorporan, por primera vez, derechos de la naturaleza y, también, el derecho de las personas a vivir en un ambiente sano. A su vez, se establece que el Estado debe garantizar el cuidado, conservación y manejo del agua, lo que implica que debe regular toda actividad que pueda alterar dicho recurso (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

Uno de los instrumentos utilizado para la gestión y control del recurso hídrico es el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA), que en el Anexo 1 del Libro VI (Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua) establece parámetros y límites máximos permisibles para la descarga de efluentes (TULSMA, 2015).

2.11.1. LÍMITES DE DESCARGA DE AGUAS RESIDUALES

Los límites máximos permisibles de descarga para cuerpos de agua dulce se presentan en la Tabla 3 y los criterios de calidad para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, y en aguas marinas y de estuarios se presentan en la Tabla 4.

Tabla 3. Límites de descarga de aguas residuales a cuerpos de agua dulce

Parámetro	Unidad	Cuerpo de agua dulce
Aceites y Grasas	mg/L	30,0
Aluminio	mg/L	5,0
Arsénico	mg/L	0,1
Bario	mg/L	2,0
Boro	mg/L	2,0
Cadmio	mg/L	0,02
Cianuro Total	mg/L	0,1
Cinc	mg/L	5,0
Cloro Activo	mg/L	0,5
Cloroformo	mg/L	0,1
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	mg/L	100
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L	200
Estaño	mg/L	5,0
Hierro total	mg/L	10,0
Níquel	mg/L	2,0
Plata	mg/L	0,1
Plomo	mg/L	0,2
Potencial hidrógeno (pH)	-	6-9
Temperatura	°C	Condición natural ± 3

Fuente: TULSMA, 2015.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Tabla 4. Criterios de calidad de aguas para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces.

Parámetro	Unidad	Agua dulce
Aceites y Grasas	mg/L	0,3
Aluminio	mg/L	0,1
Arsénico	mg/L	0,05
Bario	mg/L	1,0
Boro	mg/L	0,75
Cadmio	mg/L	0,001
Cianuro Total	mg/L	0,01
Cinc	mg/L	0,03
Cloro Residual Total	mg/L	0,01
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	mg/L	20,0
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L	40,0
Hierro total	mg/L	0,3
Níquel	mg/L	0,025
Plata	mg/L	0,01
Plomo	mg/L	0,001
Potencial hidrógeno (pH)	-	6,5 - 9

Fuente: TULSMA, 2015.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

Los pasos que se siguieron para lograr cumplir con los objetivos planteados son los siguientes: construcción del sistema, acondicionamiento de los organismos de control, pruebas preliminares, obtención de las aguas residuales sintéticas y su tratamiento, y ensayos de exposición no forzada.

3.1. CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA

La construcción del sistema de exposición no forzada fue basada en el “Manual para la construcción del sistema de exposición no forzada y realización de ensayos ecotoxicológicos de fuga” propuesto por Cedeño (2015).

En la construcción del sistema se utilizó botellas PET, silicona SikaFlex 11FC+, espuma Flex, piola, tubo PVC y bases de madera. Los pasos realizados para construcción del sistema se detallan a continuación.

3.1.1. CORTE Y UNIÓN DE LOS COMPARTIMENTOS

El número de compartimentos depende de la necesidad en los ensayos de la investigación a realizarse y de la disponibilidad de espacio en el laboratorio. Dados estos aspectos, se propuso que el sistema esté compuesto por siete compartimentos.

Para construir cada compartimento se utilizó un pegamento no tóxico que, en este caso fue silicona SikaFlex 11FC+, teflón y botellas de plástico PET de 1 L de agua mineral cuyo uso ha sido únicamente contener agua para consumo humano. De esta manera se descartó cualquier posibilidad de contaminación. Además, como una estrategia adicional para asegurar la calidad de los materiales empleados se estableció que, si una botella tuviese algún olor o existiese la presencia de algún material extraño, esta sería descartada. Estos detalles fueron cuidadosamente descritos por Cedeño et al. (2015) en el manual que estos autores elaboraron.

Para la construcción de los compartimentos individuales se seleccionó las botellas con las mejores condiciones, es decir, que no estuvieran aplastadas o rotas. Se retiró la etiqueta de las botellas y cada una fue lavada para eliminar cualquier tipo de impureza. Luego se procedió a cortar cada botella con base a las mediciones y marcas mostradas en la Figura 3.

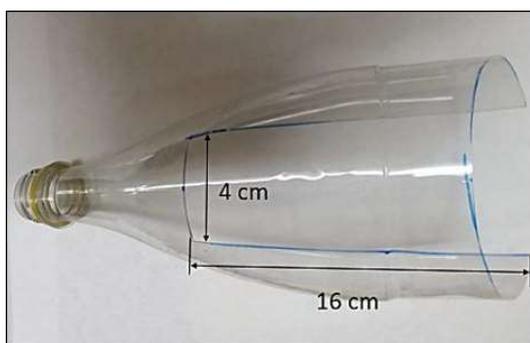


Figura 3. Medidas del corte de las botellas PET para la construcción del sistema lineal de exposición no forzada.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Cada compartimento fue construido a partir de la unión (con pegamento) de dos de las botellas cortadas; en una de las botellas cortadas se colocó el pegamento en el borde externo y en la otra en el borde interno, y se procedió a colocar una botella sobre otra. Esta unión, para evitar fugas de agua, debió asegurarse por presión en las zonas de contacto de las botellas y el pegamento. Se dejó secar el pegamento por 24 h y se verificó que no hubiera fugas mediante el llenado de cada compartimento con agua. Nótese que los compartimentos tuvieron una apertura superior a través de la cual se introdujo el agua y los peces. Las dimensiones finales de los compartimentos se presentan en la Figura 4.

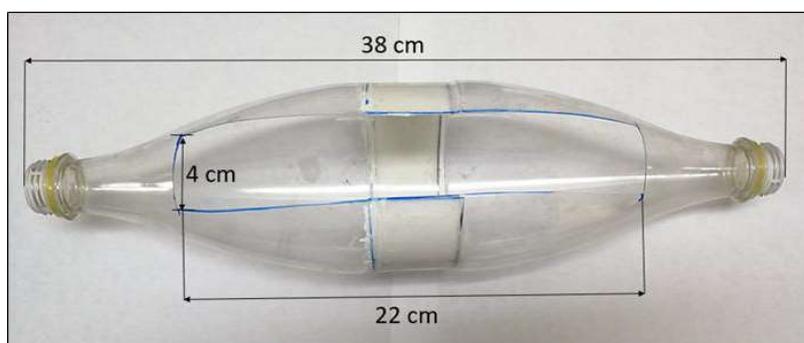


Figura 4. Medidas de los compartimentos del sistema lineal de exposición no forzada

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Cada compartimento fue construido de tal manera que pudiera contener aproximadamente 1 L de agua. Esto fue verificado a través del llenado de los compartimentos con agua, pues es indispensable que no existan diferencias en los compartimentos que pudieran condicionar el movimiento de los organismos (peces cebra).

Siete compartimentos fueron conectados, tal como se muestra en la Figura 5; los picos de las botellas fueron unidos mediante pegamento y un refuerzo de teflón para proporcionar estabilidad a la unión. Se dejó secar el pegamento por 24 h y luego se procedió a un refuerzo adicional de pegamento en la unión de los compartimentos. Nuevamente, para verificar que no existan fugas, se procedió a llenar los compartimentos con agua.



Figura 5. Sistema lineal de exposición no forzada con siete compartimentos.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.1.2. ELABORACIÓN DE TAPONES

Para los ensayos, se debe llenar los compartimentos con aguas de distinta calidad. Para minimizar la difusión de los contaminantes a las aguas de menor concentración es necesario mantenerlas separadas hasta iniciar los ensayos. Por esta razón se elaboraron tapones que bloquean el paso entre compartimentos. Para su elaboración se utilizó espuma flex, una cuerda delgada de polipropileno y el mismo pegamento usado para unir las botellas PET. La medida del tapón depende del pico de la botella, por lo cual se dibujó el borde del pico de la botella usada para los ensayos en la plancha de espuma flex y se procedió a cortar. A

estos pedazos de espuma flex se unieron pedazos de cuerda de aproximadamente 10 cm, que fue un tamaño suficiente para poder sacar los tapones sin perturbar el agua de los compartimentos. Para asegurar y reforzar los tapones se colocó pegamento en ambas caras de los círculos de espuma flex y para sellar y pegar por completo la unión con la cuerda. Los tapones obtenidos se muestran en la Figura 6.



Figura 6. Tapones para el sistema.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.1.3. BASE PARA EL SISTEMA

Dada la forma cilíndrica de los compartimentos, fue necesario preparar una base que mantuviera estable e inmóvil el sistema lineal de exposición no forzada. Esta base se construyó a partir de tubos PVC de 6 pulgadas de diámetro y 3 metros de largo, que fueron cortados de manera longitudinal por la mitad. Debajo de los tubos se colocaron soportes de madera que evitaron que la base de PVC pudiera rotar y caer. Las bases para los sistemas, con sus respectivos soportes de madera, se muestran en la Figura 7.



Figura 7. Bases para los sistemas lineales de exposición no forzada.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Finalmente, fue necesario medir el volumen del sistema completo, ya que es importante que la cantidad de agua que se utilizara cubra por completo el paso entre compartimentos y no sobrepase la abertura superior del sistema.

3.2. ACONDICIONAMIENTO Y CONTROL DE LOS ORGANISMOS

3.2.1. CONDICIONES DE LABORATORIO

El laboratorio donde se encontraban los organismos durante el tiempo de realización del presente trabajo tuvo una temperatura promedio de 24,9 °C y humedad relativa promedio de 45 % (para más detalles ver Anexo 3).

Los ensayos fueron realizados en un cuarto cerrado y totalmente oscuro, con una temperatura y humedad relativa constantes durante los ensayos de 20 °C y 43 %, respectivamente. De esta manera, se descartaron factores externos que interfieran en el comportamiento de los peces durante las 4 y 6 horas de duración de los ensayos (Araújo, 2015).

3.2.2. CONDICIONES DEL AGUA DE CULTIVO

La calidad del agua donde crecerán los peces es muy importante para su desarrollo, para lo cual se realizó una comparación entre el agua de cultivo o agua declarada con valores de parámetros teóricos para determinar si el agua declarada se encontraba en óptimas condiciones, la misma que fue utilizada para la dilución de aguas tratadas y sin tratar.

3.2.3. ACLIMATACIÓN DE LOS ORGANISMOS

Los peces cebra fueron adquiridos en el acuario "Aventura Acuática", con número de RUC 1722212691001, ubicado en la Avenida Napo en la ciudad de Quito (Ecuador). Las características requeridas de los peces cebra fueron que la edad de los organismos este entre 3 y 4 meses de edad, que tengan un tamaño de 1,5 ± 0,3 cm y que provengan del mismo lote.

La aclimatación de los peces no solo implica el paso de estos organismos a nuevo ambiente, sino también que se encuentren saludables y en un ambiente estable. Ciertos cambios en la calidad de agua pueden esperarse cuando los peces recién

adquiridos son llevados al nuevo ambiente en el laboratorio, razón por la cual es necesario que los peces se adapten a estas nuevas condiciones. Durante el periodo de aclimatación, se mantuvieron los peces en condiciones de temperatura, flujo de aire y calidad del agua constantes. La alimentación de los peces fue suspendida 24 horas antes de iniciar los ensayos. Además, se verificó y registró la mortalidad de los peces durante la aclimatación, pues está no debe superar el 10 % del total (Zapata, 2008).

Para la aclimatación de los peces se utilizó una pecera con una capacidad de 113,3 L con dimensiones de 78,5 x 39,0 x 37,0 cm, en la cual se colocó agua previamente declorada (agua de cultivo) y los peces por un tiempo de 4 h con el fin de adaptar a los organismos a un nuevo ambiente, tal como se muestra en la Figura 8.



Figura 8. Aclimatación de los peces cebra en las peceras.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Los peces cebra, durante el tiempo de la investigación, fueron alimentados con hojuelas para peces pequeños con una frecuencia de una vez cada 48 h, pues el objetivo era evitar que aumentaran su tamaño muy rápido. El agua de cultivo fue cambiada un 50 % cada dos días para eliminar los desechos generados por la alimentación de los peces. Además, para que el agua se mantenga más limpia, se colocaron dos filtros, uno de esponja y otro de carbón activado y un sistema de aireación, tal como se muestra en la Figura 9.



Figura 9. Peces cebra en la pecera con agua de cultivo y con los accesorios para asegurar limpieza del agua.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.3. PRUEBAS PRELIMINARES

3.3.1. CALIBRACIÓN DEL SISTEMA

La calibración del sistema tiene como objetivo determinar la estabilidad del gradiente de contaminación en el sistema en un tiempo mayor o igual en el que se realizarán los ensayos definitivos. Para lo cual se siguió la metodología que establece en el “Manual para la construcción del sistema de exposición no forzada y realización de ensayos ecotoxicológicos de fuga” (Cedeño et al., 2015).

Los pasos necesarios para realizar la calibración del sistema son: elaborar la curva de calibración de NaCl y determinar la estabilidad del gradiente de contaminación.

3.3.1.1. CURVA DE CALIBRACIÓN DE NaCl

Es sabido que la conductividad eléctrica del agua aumenta con el contenido salino que ésta tenga. Por tanto, se buscó determinar la variación de la conductividad con la concentración de cloruro de sodio (NaCl) en el agua. Para realizar la curva de calibración, se usaron soluciones acuosas con concentraciones de 0, 17, 34, 50, 66, 84 y 100 mg/L de NaCl, mismas a las que se les midió la conductividad con un conductímetro Orion Star, Thermo Scientific A. Con estos datos se elaboró un gráfico de concentración de NaCl versus conductividad.

3.3.1.2. ESTABILIDAD DEL GRADIENTE DE CONTAMINACIÓN

Para probar la estabilidad de un gradiente de contaminación, se colocaron soluciones de NaCl de distinta concentración en los compartimentos del sistema lineal de exposición no forzada. Las concentraciones de NaCl usadas fueron 0, 17, 34, 50, 66, 84 y 100 mg/L, mismas que se dispusieron en el sistema de lineal de exposición no forzada, con los tapones que separaban los compartimentos colocados, tal como se muestra en la Figura 10.

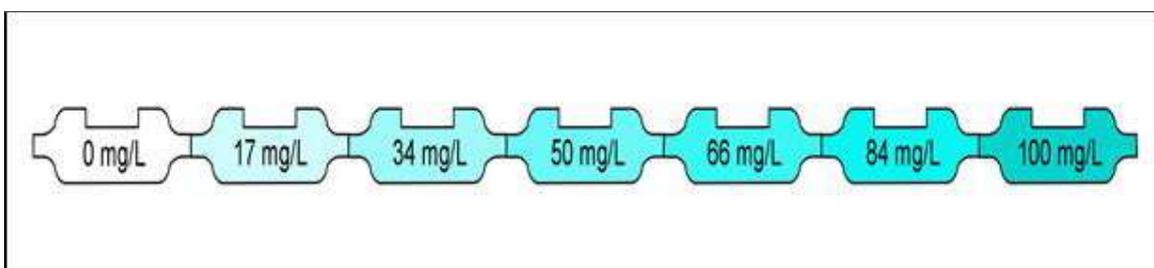


Figura 10. Concentración de NaCl en cada compartimento del sistema.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Para iniciar los ensayos de estabilidad del gradiente de contaminación, se retiraron los tapones con el cuidado suficiente para minimizar la mezcla de las aguas de los compartimentos. Se controló el tiempo desde el retiro de los tapones y se midió la conductividad en cada compartimento cada hora hasta las seis horas. La conductividad inicial también fue medida con fines comparativos. Los ensayos de gradiente de contaminación fueron realizados por cuadruplicado.

La evaluación estadística de los resultados permitió determinar si el gradiente de contaminación se mantuvo estable o no; para ello se usaron los valores de desviación estándar y coeficiente de variación.

3.3.2. CONTROL DE DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS

Previo a los ensayos con aguas residuales tratadas y sin tratar, se realizó un ensayo para verificar que los organismos no tengan preferencia por ningún compartimento en particular y, más bien, los organismos se encuentren de manera uniformemente distribuida en todo el sistema.

Para esto se colocó agua de cloro en todos los compartimentos del sistema lineal de exposición no forzada, se colocó los tapones y tres peces fueron introducidos en cada compartimento. Estos ensayos se realizaron bajo oscuridad. Se retiraron los tapones, se controló el tiempo y se realizó el conteo de los organismos al pasar 4 y 6 horas de ensayo. Se usó luz roja para facilitar la manipulación del sistema y no perturbar a los peces, tal como fue sugerido previamente por Araújo (2015).

El control de la distribución de los organismos es un ensayo preliminar indispensable para realizar los ensayos de exposición no forzada, ya que, si se observa preferencia de los organismos por un compartimento en particular, es necesario revisar las condiciones de laboratorio como temperatura, luz o cualquier factor externo que pueda provocar el movimiento preferencial de los organismos en ausencia de gradientes de concentración de contaminantes (Araújo, 2015).

3.4. PREPARACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA

3.4.1. PREPARACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120

El agua residual sintética con RR120 se preparó mediante el pesado 80 mg de RR120 y su posterior dilución con agua destilada hasta el aforo de 1 L. De esta manera se logró obtener una solución con concentración de 80 mg/L de RR120 (Garófalo-Villalta, 2017).

3.4.1.1. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL RR120

Para determinar la concentración de RR120, se preparó una curva de calibración. Soluciones acuosas con concentraciones de 1, 2, 5, 10, 20, 40, 60 y 80 mg/L de RR120 fueron obtenidas a partir de la dilución con cantidades apropiadas de agua destilada de la solución madre de 100 mg/L. La solución madre fue obtenida por dilución de 100 mg de RR120 en agua destilada hasta el aforo de 1 L.

La cuantificación del colorante en las soluciones acuosas se realizó por espectrofotometría UV/VIS con un espectrofotómetro UV-VIS (HITACHI U- 1900). Las mediciones se llevaron a cabo a la longitud de onda de máxima absorbancia para la solución de RR120 (507 nm). Cada solución de RR120 para la curva de calibración fue medida por duplicado a esa longitud de onda y la absorbancia fue registrada. Con estos resultados se construyó un gráfico Absorbancia vs

concentración de RR120. La interpolación de los valores de absorbancia obtenidos para muestras de concentración desconocida de RR120 en esta curva de calibración permitió obtener la concentración.

3.4.1.2. TRATAMIENTO DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120 MEDIANTE EL PROCESO FENTON

Para tratar el agua residual sintética con RR120 se usaron las condiciones del proceso Fenton reportadas previamente por Garófalo-Villalta (2017) para la degradación de ese mismo colorante; la relación utilizada de peróxido de hidrógeno y sulfato ferroso heptahidratado ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) fue 17,7 mM/0,2 g para cada 250 mL de agua sintética. Según esta autora, la degradación del colorante que se alcanzó con estas condiciones fue de 98,10 % de RR120.

Se preparó 1 litro de una solución de 80 mg/L de RR120 y se ajustó el pH de esta solución a 3,0 con una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1N con la finalidad de evitar que se formen precipitados de hidróxido férrico; se usó aproximadamente 1,5 mL de H_2SO_4 1N. Posteriormente se añadió 0,8 g de sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y, con agitación constante mediante una pastilla magnética, se procedió a colocar 2188 μL de solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% (p/p). Se mantuvo la agitación durante 60 min en una plancha de agitación magnética (SPIN-MASTER 4802) para permitir la degradación de RR120. Pasado el tiempo de reacción estipulado, se elevó el pH de la solución hasta 12,0 por adición de aproximadamente 15 mL de solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1N y se dejó reposar por 10 min para permitir la precipitación del hidróxido férrico formado y facilitar su posterior separación de la fase acuosa. La separación del hidróxido férrico se realizó por decantación de la fase acuosa y posterior centrifugación de esta fase a 4000 rpm con una centrífuga WIFUG 200E durante 5 min. Una etapa adicional de filtrado de la fase acuosa a través de doble papel filtro cuantitativo aseguró que la fase acuosa estuviera libre de precipitados que pudieran haberse resuspendido.

Una vez finalizado el tratamiento del agua residual sintética con RR120 se determinó la concentración final de RR120 mediante la absorbancia a la longitud de onda definida previamente para fines cuantitativos. Como paso final, para

simular las condiciones de descarga a un cuerpo de agua, se bajó el pH a 7. Esta agua fue usada para los ensayos de exposición no forzada.

El proceso Fenton para tratar el agua residual sintética con RR120 se muestra en la Figura 11, en la cual se puede observar la solución de 80 mg/L de RR120 con 0,8 g/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 2188 μL de H_2O_2 (p/p).



Figura 11. Proceso Fenton para el tratamiento de agua residual sintética con RR120.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.4.1.3. CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120

Para caracterizar el agua residual sintética con RR120 se midieron varios parámetros básicos de calidad del agua:

- pH, temperatura, conductividad; mediante el equipo multiparámetro Thermo Scientific Orion Star A
- Turbidez con un turbidímetro HACH 2100P
- DQO mediante el método de espectrofotometría HACH
- COT mediante el equipo analizador de carbono orgánico total TOC-5000A
- Concentración de RR120 mediante espectrofotometría UV-VIS

La medición de dichos parámetros se hizo por duplicado.

3.4.2. PREPARACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA

Para la síntesis del agua residual se usó yuca proveniente de la provincia de Manabí, adquirida directamente de los agricultores de la zona de Chone.

Para la preparación del agua residual sintética del rallado de yuca se cortó y pesó 100 g de yuca con cáscara. Una vez pesada la yuca, se procedió a pelar y lavar para eliminar la cáscara e impurezas asociadas a la misma. Se ralló la yuca con ayuda de un rallador de cocina, se la colocó en un vaso de precipitación con 500 mL de agua destilada y la mezcla se agitó durante 5 minutos. Transcurrido el tiempo de mezcla, se separaron los sólidos gruesos del líquido con ayuda de una muselina; los sólidos fueron desechados y el líquido se dejó reposar por 10 minutos de tal manera que el almidón pueda sedimentar en el fondo del vaso de precipitados. Una vez pasado este tiempo de reposo, se filtró al vacío el líquido sobrenadante a través de una doble capa de papel filtro cuantitativo. El agua obtenida de esta manera, de apariencia turbia con una tonalidad amarillenta, es el agua residual sintética del rallado de yuca (Terán-Benalcázar, 2019).

El agua residual sintética del rallado de yuca requirió un tratamiento de clarificación previo al tratamiento fotoquímico. La clarificación se llevó a cabo por adición al agua de bentonita (0,5 g de bentonita por cada 100 mL de agua) y posterior agitación por 10 min. A continuación, se dejó reposar durante 90 minutos para posibilitar la separación del sólido de la fase líquida (sedimentación). El líquido sobrenadante fue separado (Figura 12) y tratado mediante el proceso fotoquímico. Para almacenar el agua obtenida fue necesario mantenerlo refrigerado a una temperatura de 4 °C por un periodo máximo de 5 días ya que pasado este tiempo la materia orgánica presente en el agua residual sintética empieza a degradarse (Terán-Benalcázar, 2019).



Figura 12. Agua residual sintética producto del rallado de yuca.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.4.2.1. TRATAMIENTO DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA MEDIANTE FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA

El tratamiento fotocatalítico aplicado en este trabajo se basó en la investigación previa realizada por Terán-Benalcázar (2019), quien utilizó un compósito de nitruro de carbono grafítico (g-C₃N₄) para tratar aguas residuales sintéticas del rallado de yuca.

El compósito de g-C₃N₄ se obtiene a partir de urea y oxalato de calcio monohidratado con una relación 2:1. Los dos compuestos deben ser mezclados en un crisol hasta obtener una mezcla homogénea. Una vez preparada la mezcla se sometió a calentamiento en una mufla (MERCK). Como primera fase el compuesto debe pasar de temperatura ambiente a 300 °C, una vez alcanzada esta temperatura se deja por un tiempo de 3 minutos, en la segunda fase la temperatura de la mufla debe pasar de 300 °C a 600 °C, una vez alcanzada esta temperatura se mantuvo la muestra por 40 minutos hasta alcanzar el equilibrio térmico. Finalmente, la mufla debe ser apagada y dejar que vuelva a la temperatura ambiente (Valenzuela, 2016).

Para eliminar toda interferencia y materia carbonizada que queda después de la pirólisis se procedió a realizar 3 lavados con agua destilada y a secarla por 120 minutos a 100 °C, posteriormente se lleva por 30 minutos al ultrasonido y se secó en una estufa a 80 °C por 3 horas (Terán-Benalcázar, 2019). El compósito obtenido después del secado se muestra en la Figura 13. Después del lavado y secado el compósito debe ser triturado en un mortero para obtener un polvo fácil de manejar.



Figura 13. Compósito de Nitruro de Carbono grafítico.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Una vez obtenido el compuesto de C_3N_4 se realizó el tratamiento de agua mediante fotocatalisis heterogénea utilizando una lámpara de luz visible. Para esto se preparó una solución colocando el compuesto de C_3N_4 en el agua residual sintética del rallado de yuca con una relación 2:1, es decir se necesitan 200 mg de compuesto para tratar 100 mL de agua residual. Una vez preparada la solución se introduce el sonotrodo del equipo de ultrasonido (HIELSCHER UP-100H) con amplitud de onda sónica de 100% y ciclo 1, durante 30 minutos como se muestra en la Figura 14. La solución se mantuvo en agitación constante en una plancha magnética (OVAN) al 25% de sus revoluciones y con baños de agua fría para evitar que se evapore el solvente.



Figura 14. Proceso de ultrasonido previo a la fotocatalisis heterogénea para el tratamiento del agua residual sintética producto del rallado de yuca

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Una vez transcurrido los 30 minutos en el ultrasonido se colocó 25 mL de solución obtenida en un cristalizador y se añadió peróxido a una concentración al 30 % en peso marca Scharlau, teniendo en cuenta que para cada 10 mL de muestra son necesarios 25 μ L de peróxido (Terán-Benalcázar, 2019) y se colocó el cristalizador dentro del reactor durante 2 horas con agitación constante en una plancha de agitación (marca VWR) a 400 rpm. Se controló cada 30 minutos que el nivel de muestra no disminuyera manteniendo un flujo constante y suficiente de agua de

enfriamiento conectado al reactor. El reactor que se utilizó tiene una capacidad para 50 mL de muestra.

Después de haber pasado la muestra por el reactor se centrifugó en una centrifuga (Labec, MSCEN-206) durante 20 minutos a una velocidad de 5500 rpm para separar el compuesto de la fase líquida; esta fase líquida es el agua residual sintética tratada que se utilizó para los ensayos de exposición no forzada.

3.4.2.2. CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA

Para caracterizar el agua residual sintética producto del rallado de yuca se midió parámetros básicos de calidad del agua que son:

- pH, temperatura, conductividad; mediante el multiparámetro Thermo Scientific Orion Star A.
- Turbidez; usando un turbidímetro HACH 2100P.
- DQO; mediante el método de espectrofotometría HACH.
- COT, mediante el equipo analizador de carbono orgánico total TOC-5000A.
- Cianuros, mediante el método TEST METHOD*

*únicamente en el agua residual producto del rallado de yuca

La medición de dichos parámetros se hizo por duplicado y en el caso de cianuros por triplicado, debido a la complejidad de medición de dicho parámetro como se muestra en el Anexo 5.

3.5. ENSAYOS DE EXPOSICIÓN NO FORZADA

Los ensayos de exposición no forzada se realizaron como se realizaron usando dos enfoques; en el primero se usó agua residual sintética con RR120 tratada y sin tratar en el mismo sistema y en el segundo enfoque agua residual sintética del rallado de yuca sin tratar en un sistema y tratado en un sistema diferente, tal como se muestra en la Figura 15.

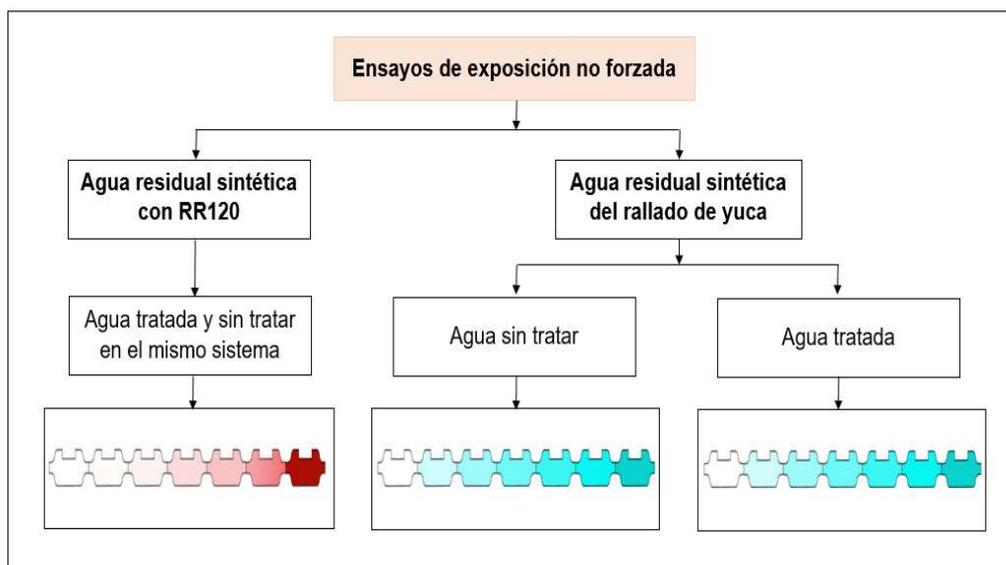


Figura 15. Esquema del proceso de los ensayos de exposición no forzada

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.5.1. EXPOSICIÓN NO FORZADA USANDO AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120

3.5.1.1. DETERMINACIÓN DEL GRADIENTE DE CONTAMINACIÓN

Para definir el gradiente de contaminación que se utilizó en el ensayo de exposición no forzada con agua residual sintética con colorante RR120 se colocó en el compartimento de mayor concentración al agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar (concentración 80 mg/L de RR120), seguido del agua tratada, en los cuatro compartimentos siguientes diluciones a la mitad de la solución del compartimento anterior y finalmente agua de clorada.

Las diluciones que se utilizaron para el sistema de agua residual sintética con colorante RR120 fueron definidas una vez obtenida la concentración después del tratamiento y siguió el orden señalado a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5. Diluciones para el Agua Residual Sintética con colorante RR120

Muestra	Compartimento	Concentración Colorante (mg/L)
Agua Decolorada	1	0
	2	0,15
	3	0,30
Agua residual tratada	4	0,59
	5	1,19
	6	2,38
Agua residual sin tratar	7	80

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.5.1.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN EL ENSAYO DE EXPOSICIÓN NO FORZADA

Para determinar la distribución de los organismos en el ensayo de exposición no forzada se colocó los tapones en cada sistema, posteriormente se colocó la respectiva dilución en cada compartimento. El ensayo de exposición no forzada se hizo por triplicado y un blanco como se muestra en la Figura 16.

**Figura 16.** Ensayo de exposición no forzada con colorante RR120

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Una vez colocadas las diluciones se procedió a separar los peces en vasos pequeños con la menor cantidad de agua posible, tres peces en cada vaso como se muestra en la Figura 17.



Figura 17. Separación y conteo de organismos.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Al tener el total de organismos necesarios para el ensayo se procedió a colocar 3 peces en cada compartimento. Una vez listas las disoluciones y los peces en cada compartimento en todos los sistemas se retiran los tapones colocados inicialmente y se empieza a correr el tiempo del ensayo. En este estudio el tiempo de ensayo en el cual se hizo el conteo de los peces fue a las 4 y 6 horas de exposición.

Es necesario que el ensayo se haga en completa oscuridad para evitar que los peces se dirijan a algún compartimento en específico por la cantidad de luz que existe en el lugar. Para el conteo de los organismos a las 4 y 6 horas se debe colocar nuevamente los tapones para evitar la movilidad de los organismos en el sistema, también se requiere de luz roja para que los organismos no detecten la presencia de personas como se muestra en la Figura 18.



Figura 18. Conteo de organismos.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.5.2. EXPOSICIÓN NO FORZADA USANDO AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA

3.5.2.1. DETERMINACIÓN DEL GRADIENTE DE CONTAMINACIÓN

Las diluciones para el agua sin tratar se basaron en la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y su límite permisible aceptado por la normativa ecuatoriana vigente (Libro VI Anexo 1) para el control de descargas de efluentes a cuerpos de agua dulce. De esta manera se partió de un DQO de 200 mg/L y a partir de este valor se realizaron las 6 respectivas diluciones como se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Diluciones para el Agua Residual Sintética del rallado de yuca

Muestra	Compartimento	Concentración DQO (mg/L)
Agua Declorada	1	0
	2	5
	3	10
Agua Residual Sintética	4	25
	5	50
	6	100
	7	200

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Al igual que para el agua residual sintética sin tratar, se usó las mismas concentraciones de DQO para formar el gradiente de contaminación para facilidad en su análisis posterior (Tabla 7).

Tabla 7. Diluciones para el Agua Residual Sintética Tratada del rallado de yuca

Muestra	Compartimento	Concentración DQO (mg/L)
Agua Declorada	1	0
	2	5
	3	10
Agua Residual Sintética Tratada	4	25
	5	50
	6	100
	7	200

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

3.5.2.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN EL ENSAYO DE EXPOSICIÓN NO FORZADA

Se mantuvieron las mismas condiciones que para el agua residual sintética con colorante RR120 señaladas en el literal 3.5.1.2., mismo número de réplicas, proceso de colocar tapones y organismos, método y tiempo de conteo de organismos con la única diferencia de que se utilizaron las concentraciones antes determinadas para formar el gradiente de contaminación con las diluciones en cada compartimento y los organismos.

3.5.3. DISPOSICIÓN FINAL DE LOS ORGANISMOS

Si bien es cierto que los organismos fueron sometidos a una determinada concentración de contaminante por un periodo corto de tiempo, no se sabe si puede ocasionar cambios perceptibles, por tal motivo al terminar cada ensayo a cada grupo de peces utilizados se los colocó en cuarentena en una pecera separada para ver si existía algún cambio físico o conductual por la exposición tanto para el agua con colorante como para el agua producto de las ralladoras de yuca. Una vez pasado este tiempo se los destinó a las peceras de exposición en el Museo de Historia Natural "Gustavo Orcés" de la Escuela Politécnica Nacional sirviendo éstos para educación ambiental.

3.5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.4.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS

El análisis estadístico para la distribución de los organismos en los ensayos de exposición no forzada se realizó mediante el Test Exacto de Fisher con la ayuda del programa GraphPad InStat 3, el cual analiza si existe o no relación entre las variables. En este caso se analizó si existe relación entre los organismos esperados con los observados. Esta prueba arroja valores de $p < 0,05$ cuando existe variación estadísticamente significativa o muy significativa, es decir que los organismos observados no guardan relación con los esperados y para valores de $p > 0,05$ cuando existe una variación estadísticamente no significativa es decir que los organismos observados están estadísticamente relacionados con los esperados (Pértega y Pita, 2004).

3.5.4.2. RESPUESTA DE FUGA Y PREFERENCIA

Se realizó un análisis de respuesta de los organismos frente a cada concentración, esta respuesta está dada en función del porcentaje, el cual indica que tan excesivo o decreciente está aquel valor con respecto al esperado. Una vez obtenidos dichos valores, se procedió a realizar las respectivas gráficas para los dos tipos de aguas residuales sintéticas (Anexo 6). De esta manera se puede observar claramente las concentraciones de contaminante a las que los organismos muestran preferencia y cuáles son las que evitan (Araújo, 2018).

Para el análisis estadístico se determinó el número total de organismos existentes en cada compartimento de cada sistema, el número de organismos esperados y el porcentaje de preferencia, los cuales fueron determinados para cada compartimento y vienen dados por las Ecuaciones 4 y 5.

$$\text{Esperados} = \frac{\# \text{ Total de organismos}}{\# \text{ Total de compartimentos}} \quad (4)$$

$$\text{Esperados} = \frac{63}{7}$$

$$\text{Esperados} = 9$$

Quiere decir que se esperan 9 organismos por compartimentos

$$\% \text{ Preferencia} = \frac{\# \text{ organismos en un compartimento} - \# \text{ organismos esperados}}{\# \text{ organismos esperados}} \times 100 \quad (5)$$

Si, el porcentaje de preferencia es positivo (+) quiere decir que existe preferencia por dicho compartimento en tanto por ciento extra al esperado, si el porcentaje es negativo (-) indicará que existe fuga de los organismos igualmente en porcentaje (Araujo, 2018).

CAPÍTULO 4.

RESULTADOS

4.1. CONDICIONES DEL AGUA DE CULTIVO

Los parámetros de importancia que permiten las condiciones de vida de los peces cebra se compararon con los valores teóricos indicados por Lawrence (2007) y Avbesh (2012) con las mediciones de los parámetros realizadas por personal técnico del Centro de Investigación y Control Ambiental (CICAM) mediante la aplicación de los métodos estándar, Edición 23, 2017. Dicha comparación se encuentra detallada en la Tabla 8, en la cual se muestra que los valores de conductividad, alcalinidad y dureza se encuentran por debajo de las condiciones teóricas.

Tabla 8. Parámetros del agua considerados óptimos para los peces cebra.

Parámetro	Unidad	Condiciones teóricas		Agua declarada
		Lawrence	Avbesh	usada*
pH	NA	7,0 - 8,0	6,0 - 8,5	7,23
Temperatura	°C	24 - 30	26,0 - 28,5	21,5
Conductividad	mS	-	300 -1 500	180,9
Alcalinidad	mg/L CaCO ₃	-	50 - 150	39,0
Dureza	mg/L CaCO ₃	75 - 200	50-100	47,0
Oxígeno Disuelto	mg/L	7,8	> 6,0	6,6
Nitrato (NO ₃ ⁻)	mg/L	< 50	< 50	-
Nitritos (NO ₂ ⁻)	mg/L	< 0,1	< 0,1	-
Salinidad	g / L	0,25 - 0.75	0,5 - 1	-
Transparencia	Cm	> 35	-	-
Turbidez	NTU	-	-	0,31

*Los valores presentados fueron obtenidos del reporte de análisis del agua declarada. Esta agua fue usada como referencia de un agua de buena calidad en el que los peces cebra.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz.

4.2. PRUEBAS PRELIMINARES

4.2.1. CALIBRACIÓN DEL SISTEMA

La calibración del sistema se realizó mediante un gradiente de contaminación usando NaCl. Los resultados de la calibración del sistema se exponen en Anexo 1, en el cual se muestra la conductividad inicial y final en cada compartimento y en cada sistema, los cuales son transformados a concentración de NaCl.

A partir de los datos del Anexo 1 se obtiene la Figura 19 y Tabla 9 en las cuales se muestra los valores de la conductividad de los cuatro sistemas en el tiempo de ensayo de 0, 4 y 6 horas, con las cuales se obtuvo el promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación para cada tiempo.

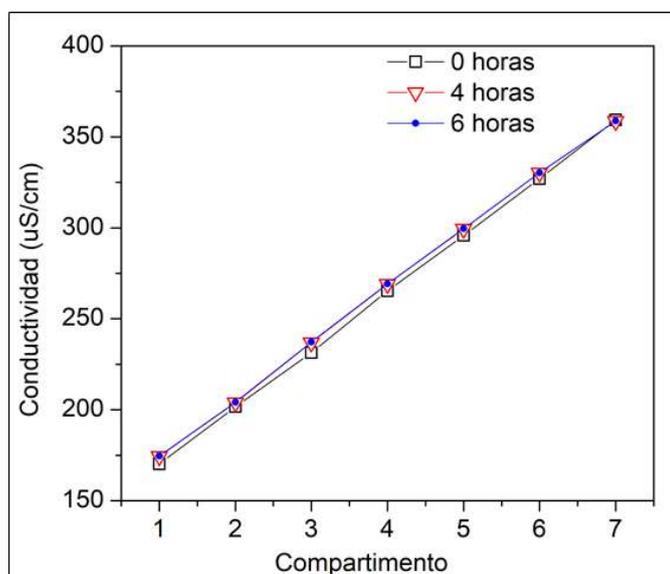


Figura 19. Conductividad medida a las 0, 4 y 6 horas en cada compartimento.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Figura 19, se muestra la conductividad en $\mu\text{S}/\text{cm}$ en cada compartimento, se diferencian 3 curvas que representan los tiempos en los que se midió la conductividad (0, 4 y 6 horas). Se puede observar que en los distintos tiempos de ensayo no existe una diferencia en la conductividad, con lo cual se puede asegurar que existe un gradiente de contaminación a lo largo del sistema. Sin embargo, para interpretar de manera objetiva los resultados la variabilidad existente entre los valores de conductividad obtenidos a las 0, 4 y 6 horas de ensayo se calculó el coeficiente de variación que se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Conductividad medida a las 0, 4 y 6 horas en cada compartimento

CONDUCTIVIDAD ($\mu\text{S}/\text{cm}$)							
Compartimento	1	2	3	4	5	6	7
0 horas	170,18	201,60	231,44	265,29	295,81	326,99	359,38
4 horas	174,46	204,00	236,95	269,08	299,40	330,21	358,66
6 horas	178,35	210,25	244,30	278,40	305,30	336,20	363,20
Promedio	174,33	205,28	237,56	270,92	300,17	331,13	360,42
SD	4,08	4,47	6,45	6,75	4,79	4,67	2,44
CV (%)	2,34	2,18	2,72	2,49	1,60	1,41	0,68

SD: Desviación Estándar, CV: Coeficiente de Variación

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 9, se calculó el coeficiente de variación con el fin de determinar si la difusión de los contaminantes en el sistema de exposición no forzada con el paso del tiempo es significativa o no.

A su vez, se conoce que valores de CV menores al 5% indican generalmente gran homogeneidad, CV alrededor del 20% representan por lo general a una homogeneidad moderada y mayores al 50% indican gran heterogeneidad (Rustom, 2012). Por lo tanto, al tener coeficientes de variación menores a 2,72 % en todos los compartimentos se comprueba que no existe variabilidad significativa entre los valores de conductividad a las 0, 4 y 6 horas de ensayo, es decir la difusión que existe en el sistema es mínima garantizando que en el sistema se tiene una gradiente de contaminación definido.

4.2.2. CONTROL DE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS

Las Tablas 10 y 11 muestran la distribución de los organismos en cada compartimento en cada sistema para observar si no existe preferencia de los organismos por algún compartimento en especial, ya que se utiliza en todos los compartimentos 1 litro de agua declorada.

Para los ensayos de control de distribución de organismos se usó agua declorada, la cual se tomó del grifo y se dejó reposar por al menos 24 horas con oxigenación

constante para eliminar el cloro, (se realizó el mismo procedimiento para realizar las diluciones en todos los ensayos). El análisis de los parámetros básicos del agua declorada se muestran en el Anexo 3.

Tabla 10. Distribución de los organismos en agua declorada en 4 horas de ensayo

Réplicas	Compartimento							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
Sistema 1	2	4	4	2	4	2	3	21
Sistema 2	3	3	3	4	3	2	3	21
Sistema 3	4	2	4	2	2	3	4	21
Sistema 4	2	4	3	3	3	4	2	21
Total	11	13	14	11	12	11	12	84

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Tabla 11. Distribución de los organismos en agua declorada en 6 horas de ensayo

Réplicas	Compartimento							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
Sistema 1	2	3	4	3	4	2	3	21
Sistema 2	3	4	3	4	3	2	2	21
Sistema 3	4	2	4	2	2	3	4	21
Sistema 4	3	4	3	3	3	3	2	21
Total	12	13	14	12	12	10	11	84

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En las Tablas 10 y 11 se expone lo resultados obtenidos en los ensayos realizados con agua declorada, el número de organismos inicial por compartimento es 3 en un sistema, el ensayo se realizó en 4 sistemas, por lo tanto, el número total de organismos por compartimento es 12. El conteo a las 4 y 6 horas mostró una distribución equitativa de los organismos en los compartimentos, entre 11 y 14 peces por compartimento, sin mostrar preferencia de los peces cebras por ningún compartimento en particular.

Al demostrar que no existe preferencia de los organismos por ningún compartimento se considera a los sistemas y las condiciones de laboratorio aptas para realizar los ensayos.

4.3. AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS

4.3.1. CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120 SIN TRATAR Y TRATADA

Los parámetros medidos para la caracterización de las aguas residuales sintéticas con colorante RR120 se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Parámetros medidos del agua residual sintética con colorante RR120

Parámetro	Unidad	Agua Residual sin Tratar	Agua Residual Tratada
pH	NA	5,91	7,44
Temperatura	°C	20,00	16,60
Conductividad	μS/cm	64,47	1224,00
Turbidez	NTU	0,61	8,32
DQO	mg/L	53,00	16,50
COT	mg/L	25,63	22,52
Concentración de RR120	mg/L	80,00	2,38

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 12, se muestra los parámetros básicos que fueron medidos para la caracterización del agua residual sintética con RR120 al comparar con los límites máximos permisibles establecidos por norma (Tabla 4) el valor de pH para descargar en cuerpos de agua dulce es de entre 6 y 9 y referente al DQO el valor permitido para descarga es de 200 mg/L, por lo tanto se puede observar que en el agua sin tratar el valor de pH no es el óptimo para su descarga, lo cual mejora después de su tratamiento ya que al tener un pH de 7,44 ya permite su descarga en cuerpos de agua dulce. El DQO tanto en el agua tratada como sin tratar cumple con la normativa. Sin embargo, no existen límites referentes a la concentración de colorante que se puede descargar. Se determinó los porcentajes de remoción de DQO, COT y concentración de colorante presentes en el agua residual sintética con RR120, los cuales son presentados en la Tabla 13.

Tabla 13. Porcentaje de remoción de contaminantes en el agua residual sintética con el colorante RR120.

Parámetro	Unidad	Agua Residual sin Tratar	Agua Residual Tratada	Remoción (%)
Concentración de RR120	mg/L	80	2,38	97,03
COT	mg/L	25,63	22,52	12,13
DQO	mg/L	53	16,5	68,87

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 13, se evidencia que la remoción obtenida al tratar el agua residual sintética con RR120 con el proceso Fenton convencional, el menor porcentaje de remoción es en el COT con una remoción de únicamente del 12,13%. En cuanto a la DQO se tiene una remoción del 68,87% y la concentración de RR120 tiene la remoción más alta que es del 97,03%, es decir, se elimina casi en su totalidad el color del agua residual, lo cual se evidencia en la Figura 20.



Figura 20. Agua residual sintética con RR120 sin tratar y tratada.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

4.3.2. CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA

Los parámetros medidos para la caracterización de las aguas residuales sintéticas del rallado de yuca se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Parámetros medidos en el agua residual sintética del rallado de yuca sin tratar y tratada

Parámetro	Unidad	Agua Residual sin Tratar	Agua Residual Tratada
pH	NA	6,81	8,24
Temperatura	°C	18,55	19,35
Conductividad	μS/cm	1268,5	1188,5
Turbidez	NTU	9,48	4,935
DQO	mg/L	5980	5510
COT	mg/L	2971,75	2731
Cianuro total	mg/L	1,36	0,05

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 14, se observan los parámetros que fueron medidos para caracterizar el agua residual sintética del rallado de yuca, en la cual se muestran valores de pH de 6,81 y 8,24 para el agua sin tratar y tratada respectivamente, por lo tanto, dichos valores cumplen con los límites máximos permisibles dados por la norma para descarga de aguas residuales en cuerpos de agua dulce ya que establece un pH entre 6 y 9. Referente a la DQO la norma permite una descarga de hasta 200 mg/L (TULSMA, 2015), y en comparación a nuestros valores obtenidos, el agua residual del rallado de yuca tanto sin tratar como tratada tiene valores muy por encima de lo establecido siendo 5980 mg/L y 5510 mg/L respectivamente, indicando así, que se requiere un tratamiento adicional para el agua residual antes de su descarga. Finalmente, al hablar del contaminante de mayor importancia presente en el agua residual del rallado de yuca, la normativa establece un límite de descarga de 0,1 mg/L de cianuro total (TULSMA, 2015), cantidad que es 13,6 veces menor a la que se tiene en el agua sin tratar (1,36 mg/L), es decir que tampoco es posible descargar dicha agua sin un tratamiento previo.

Gracias al tratamiento de fotocátalisis heterogénea, el valor de cianuro disminuye a 0,05 mg/L, lo cual muestra su eficacia al eliminar el cianuro y a su vez se alcanza los límites que establece la norma para su descarga.

Con los valores obtenidos en la Tabla 14 se determinaron los porcentajes de remoción de los contaminantes del agua residual sintética producto del rallado de

yuca entre los cuales se encuentra el DQO, COT y cianuro total, lo cual se evidencia en la Tabla 15.

Tabla 15. Porcentaje de remoción de contaminantes en el agua residual sintética del rallado de yuca

Parámetro	Unidad	Agua Residual sin Tratar	Agua Residual Tratada	Remoción (%)
DQO	mg/L	5980	5510	7,86
COT	mg/L	2971,75	2731	8,10
Cianuro total	mg/L	1,36	0,05	96,45

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 15 se puede observar que al tratar el agua sintética del rallado de yuca mediante fotocátalisis heterogénea, la remoción DQO es la más baja con el 7,86%, seguido del COT con una remoción de 8,10% y finalmente el cianuro total con una alta eficiencia de remoción del 96,45 %, lo cual demuestra que a pesar de no ser un método efectivo para remover materia orgánica si lo es en cuanto al cianuro, que es un contaminante tóxico para los organismos vivos.

4.4. ENSAYOS DE EXPOSICIÓN NO FORZADA

4.4.1. AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120

4.4.1.1. DETERMINACIÓN DEL GRADIENTE DE CONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES

El gradiente de contaminación para el agua residual sintética con el colorante RR120 se elaboró como se muestra en la Figura 21.

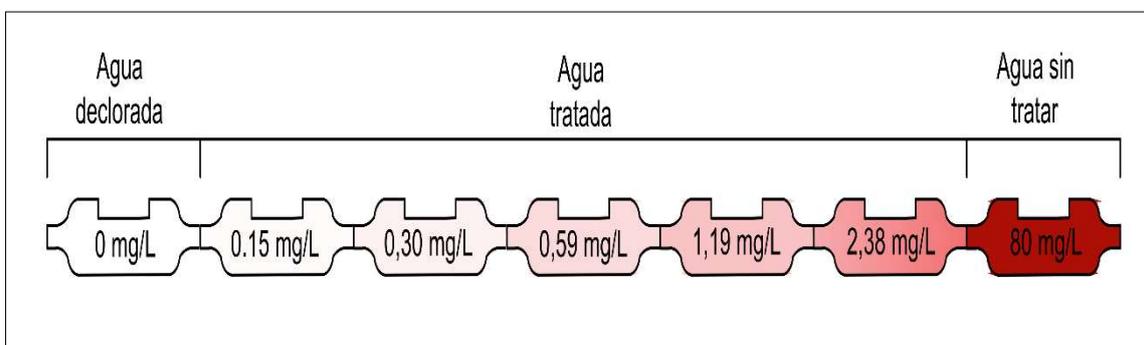


Figura 21. Gradiente de contaminación del agua residual sintética con RR120 en base a la concentración de colorante RR120.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Como se muestra en la Figura 21, para el primer compartimento se utilizó agua sintética sin tratamiento con una concentración de 80 mg/L de RR120, para el siguiente compartimento el agua sintética después del tratamiento de Fenton convencional con concentración de RR120 de 2,38 mg/L de RR120 y a partir de esta se diluyó a la mitad así sucesivamente para los siguientes cuatro compartimentos, teniendo concentraciones de 1,19; 0,59; 0,30 y 0,15 respectivamente para cada compartimento y finalmente un compartimento con agua declorada.

4.4.1.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS A LAS 4 HORAS DE ENSAYO

Los resultados del estudio de exposición no forzada sobre peces cebra donde se muestran las concentraciones evaluadas de colorante RR120, así como el número de organismos en cada compartimento, junto con el porcentaje de organismos que se encontró en cada compartimento se muestra en la Tabla 16. El ensayo se realizó usando tres réplicas por cada concentración, de esta manera se pudo obtener el porcentaje de organismos por compartimento.

Tabla 16. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada a las 4 horas de ensayo.

Réplicas	Concentración RR120 (mg/L)						
	Tratada						Sin tratar
	0	0,15	0,30	0,59	1,19	2,38	80
1	7	7	0	0	5	0	2
2	8	4	7	2	0	0	0
3	1	1	6	2	5	5	1
Total por compartimento	16	12	13	4	10	5	3
% Organismos por compartimento	25,40	19,05	20,63	6,35	15,87	7,94	4,76

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Figura 22, se observa que los peces tienden a dirigirse a las concentraciones intermedias del agua tratada siendo la concentración de 0,0 mg/L de RR120 (agua decolorada) la concentración en la que se concentra la mayor cantidad de organismos y la concentración de 0,3 mg/L la concentración del agua tratada que dicho compartimento es el de preferencia de los peces cebra. La concentración de 80 mg/L de RR120 de agua sin tratar es el compartimento que los peces cebra evitan, ya que se observó la menor cantidad de organismos.

Con ayuda del software GraphPad InStat se realizó un análisis estadístico, específicamente la prueba exacta de Fisher, para determinar la relación entre los datos esperados con los observados, la cual arrojó como resultados para el ensayo con agua residual con RR120 en todos los compartimentos a las 4 horas de ensayo, valores de p mayores a 0,05 (estadísticamente no significativos), es decir que los datos observados no tienen diferencia estadística con los esperados.

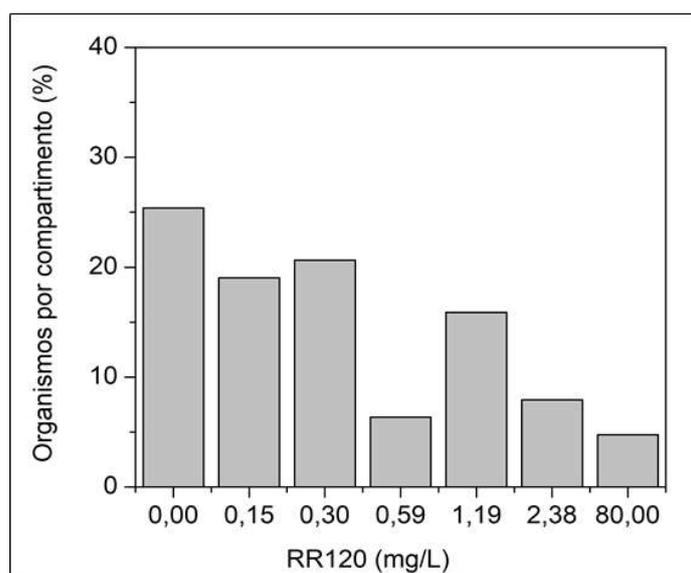


Figura 22. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación proveniente del agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada para las 4 horas de ensayo.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

4.4.1.3. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS A LAS 6 HORAS DE ENSAYO

Los resultados obtenidos a las 6 horas de exposición de peces cebra en agua residual sintética con RR120 sin tratar y tratadas se observan en la Tabla 17.

Tabla 17. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada a las 6 horas de ensayo.

Réplicas	Concentración RR120 (mg/L)						
	Tratada						Sin tratar
	0	0,15	0,30	0,59	1,19	2,38	80
1	3	9	2	3	3	0	1
2	3	4	10	2	1	1	0
3	2	3	1	3	6	5	1
Total por compartimento	8	16	13	8	10	6	2
% Organismos por compartimento	12,70	25,40	20,63	12,70	15,87	9,52	3,17

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 17 y la Figura 23 se muestran los resultados obtenidos a las 6 horas de exposición de peces cebra a las aguas residuales sintéticas con RR120 tratada y sin tratar, en dichos resultados se observa que el compartimento de preferencia de los peces cebra es el que tiene concentración de RR120 de 0,15 mg/L, seguido de la concentración 0,3 mg/L, siendo los compartimentos de concentraciones intermedias los de preferencia por los organismos. Mientras que las concentraciones que los peces cebra evitan son los más altos, es decir la concentración de 80 mg/L de RR120 (agua sin tratar) y 2,38 mg/L de RR120 (agua tratada). Es decir, a pesar de que existe una remoción de colorante RR120 de 97 % y la concentración disminuye de 80 a 2,38 mg/L, el compartimento número 6 de derecha a izquierda es evitado todavía por los peces, lo cual se debe a la alta difusión que existe en dichos compartimentos, debido a la gran diferencia de concentración que representa el agua sin tratar y tratada.

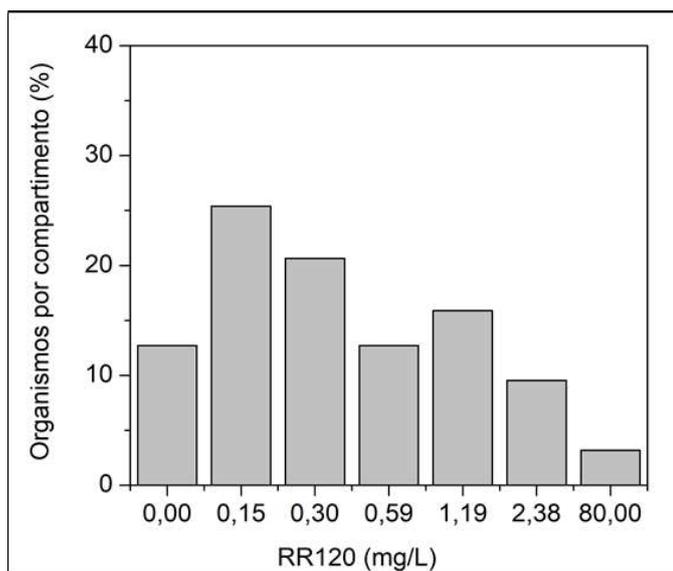


Figura 23. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación proveniente del agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada para las 6 horas de ensayo.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

4.4.1.4. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS A LAS 4 Y 6 HORAS DE ENSAYO DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON RR120.

Se realizó una comparación de manera gráfica de los resultados obtenidos en los ensayos de exposición no forzada con peces cebra en agua residual sintética con RR120 en los tiempos de conteo de organismos es decir a las 4 y 6 horas del ensayo.

En la Figura 24 se evidencia que los compartimentos de preferencia de los peces cebra son los que contienen concentraciones bajas y medias, en decir los peces se dirigen hacia el centro y extremo izquierdo del sistema. A las 4 horas se encuentran más organismos en la concentración de 0 mg/L de RR120 (agua declorada) con el 25,4% de organismos y a las 6 horas con el mismo porcentaje de organismos, pero en el segundo compartimento de izquierda a derecha, es decir en la concentración de 0,3 mg/L.

A pesar de la diferencia en el porcentaje de organismos en las 4 y 6 horas de ensayo, es notoria la tendencia que existe en la distribución de organismos, ya que a medida que disminuye la concentración aumenta la cantidad de organismos y en los compartimentos de menor concentración la distribución de organismos es

similar, lo cual quiere decir que los organismos prefieren los compartimentos de menor concentración de agua residual sintética con RR120 tratada. Sin embargo, también es notorio que en concentraciones altas de agua tratada, a pesar de que el porcentaje de organismos es menor, no son concentraciones que los peces evitan por completo, lo cual indica que a pesar de no ser concentraciones de preferencia para los organismos no existe concentraciones de toxinas o contaminantes suficientemente altas que hagan que los peces eviten estos compartimentos en su totalidad.

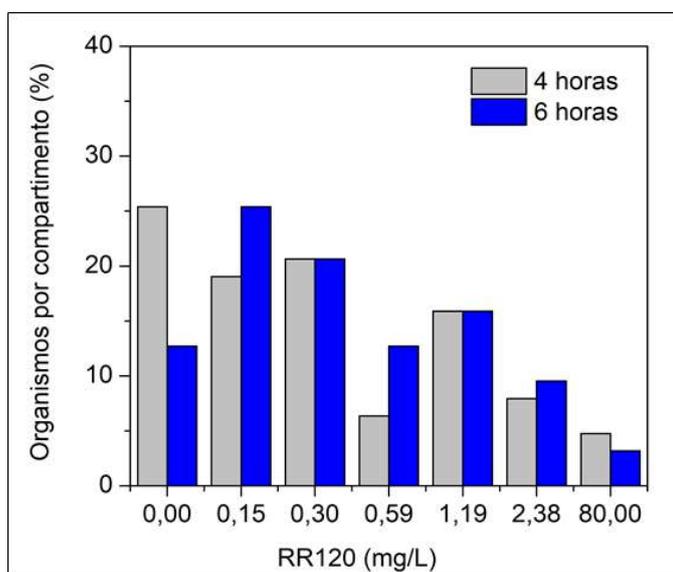


Figura 24. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación proveniente del agua residual sintética con colorante RR120 sin tratar y tratada para las 4 y 6 horas de ensayo.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

4.4.1.5. RESPUESTA DE PREFERENCIA Y FUGA: AGUA RESIDUAL SINTÉTICA CON COLORANTE RR120

Siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo 3, para agua residual sintética con colorante RR120 se obtuvieron los valores en porcentaje registrados en el Anexo 6a., al graficar los datos se obtuvieron de la Figura 25a y Figura 25b para las 4 y 6 horas de duración del ensayo respectivamente.

Tomando en cuenta que el primer compartimento contiene agua de clorada, del segundo al sexto agua tratada con el método de Fenton convencional y el último compartimento tiene agua sin tratamiento previo.

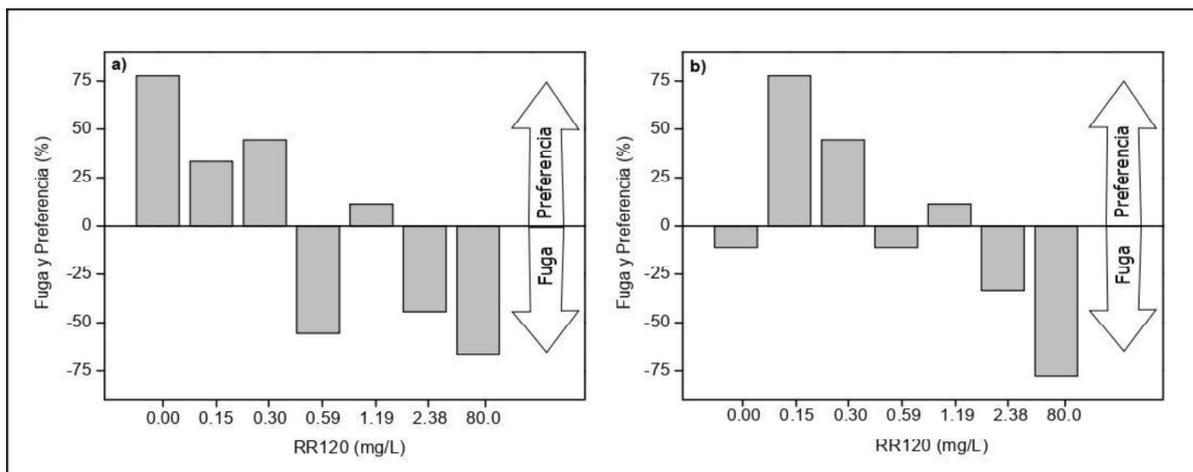


Figura 25. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética con colorante RR120.

a) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 4 horas, b) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 6 horas. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Como se puede observar tanto para la Figura 25a y Figura 25b, para el último compartimento que contiene la mayor concentración (sin ningún tratamiento), existe un alto porcentaje de fuga, al igual que la concentración más alta del agua tratada y a su vez es evidente que los organismos presentan preferencia por las concentraciones bajas de esta agua ya tratada.

4.4.2. AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA

4.4.2.1. DETERMINACIÓN DEL GRADIENTE DE CONTAMINACIÓN

Para determinar el gradiente de contaminación para el agua residual sintética del rallado de yuca sin tratar y tratada se partió de 200 mg/l de DQO y se realizaron diluciones a la mitad como se muestra en la Figura 26.

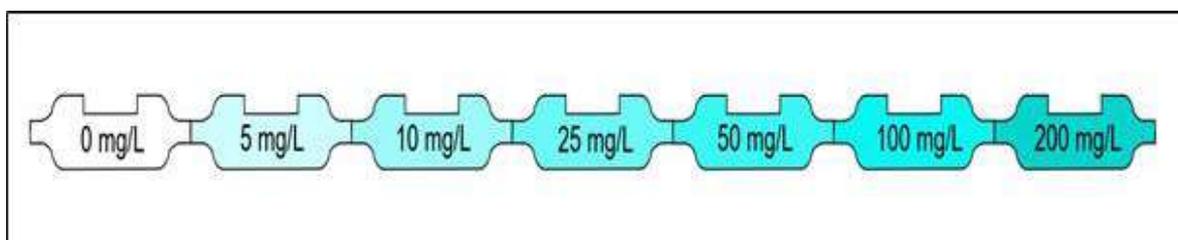


Figura 26. Gradiente de contaminación del agua residual sintética del rallado de yuca en base al DQO.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

4.4.2.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN AGUA SIN TRATAR A LAS 4 HORAS DE ENSAYO

Los resultados del estudio de exposición no forzada sobre peces cebra donde se muestran las concentraciones evaluadas de DQO, así como el número de organismos en cada compartimento, junto con el porcentaje de organismos que se encontró en cada compartimento se muestra en la Tabla 18. El ensayo se realizó usando tres réplicas por cada concentración, de esta manera se pudo obtener el porcentaje de organismos por compartimento.

Tabla 18. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética del rallado de yuca sin tratar a las 4 horas de ensayo.

Réplicas	Concentración DQO (mg/L)						
	0	5	10	25	50	100	200
1	14	4	1	2	0	0	0
2	10	10	1	0	0	0	0
3	14	5	2	0	0	0	0
Total por compartimento	38	19	4	2	0	0	0
% Organismos por compartimento	60.32	30.16	6.35	3.17	0.00	0.00	0.00

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Con los resultados de la Tabla 18 se realizó una gráfica porcentaje de organismos respecto a la concentración de DQO como se observa en la Figura 27.

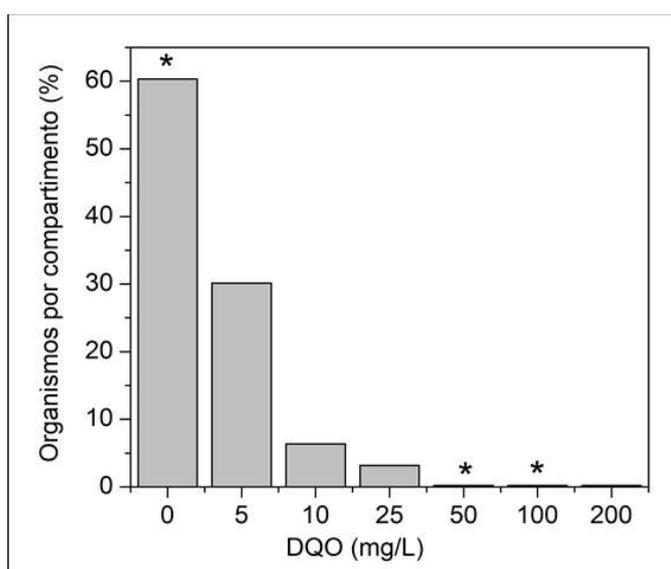


Figura 27. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética de rallado de yuca sin tratar para las 4 horas de ensayo.

* Compartimentos en donde existe una variación estadística muy significativa o significativa ($p < 0.05$) de los datos observados respecto a los esperados. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

La concentración de DQO y el porcentaje de organismos exhibieron una relación inversamente proporcional; así, a medida que aumenta la concentración de DQO menor es el número de organismos presentes. Es importante destacar que en los tres compartimentos con mayor concentración de DQO, es decir concentraciones de 50, 100 y 200 mg/L son concentraciones que los organismos evitan completamente, es decir, no se encontró ningún organismo en dichos compartimentos, ya que a pesar de tener concentraciones por debajo de la norma de DQO, el cianuro es elevado y es un compuesto considerado altamente tóxico que provoca envenenamiento crónico e incluso la muerte en animales (Annachhatre y Amornkaew, 2001).

Los asteriscos representan valores de p menores a 0,05 calculados con el Test exacto de Fisher, lo que significa que existe una diferencia estadística significativa o altamente significativa entre los valores observados en el ensayo con los esperados. En este caso los compartimentos con asterisco son los compartimentos de 0 mg/L de DQO, ya que a pesar de que se espera que la mayor cantidad de organismos este en el compartimento, debido a que es el de menor concentración de contaminantes, el porcentaje de organismos observados es muy elevado respecto al esperado. En los compartimentos con concentraciones de 50 y 100 mg/L de DQO también se registraron asteriscos ya que en estos compartimentos se espera un porcentaje de organismos presentes bajo más no que la presencia de organismos sea nula.

4.4.2.3. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN AGUA SIN TRATAR A LAS 6 HORAS DE ENSAYO

Los resultados obtenidos a las 6 horas se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética producto del rallado de yuca sin tratar a las 6 horas de ensayo.

Réplicas	Concentración DQO (mg/L)						
	0	5	10	25	50	100	200
1	6	13	1	1	0	0	0
2	14	4	2	1	0	0	0
3	11	7	2	1	0	0	0
Total por compartimento	31	24	5	3	0	0	0
% Organismos por compartimento	49,21	38,10	7,94	4,76	0,00	0,00	0,00

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Con los resultados de la Tabla 19, se realizó una gráfica porcentaje de organismos respecto a la concentración de DQO como se observa en la Figura 28.

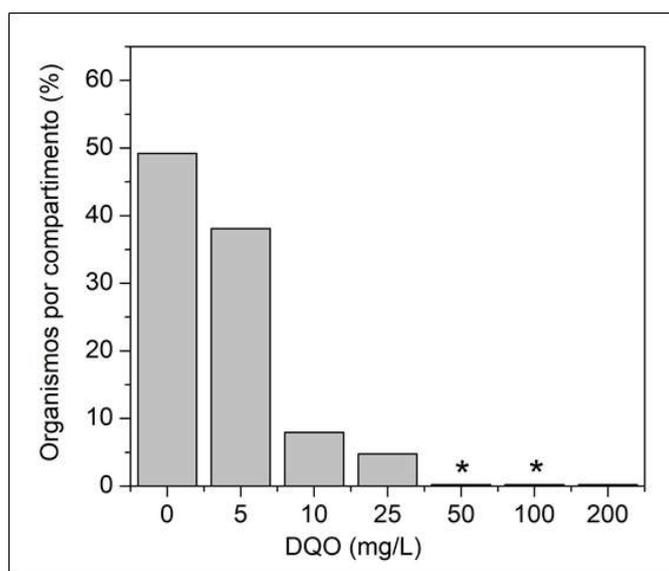


Figura 28. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética producto del rallado de yuca sin tratar para las 6 horas de ensayo

* Compartimentos en donde existe una variación estadística muy significativa o significativa ($p < 0.05$) de los datos observados respecto a los esperados. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Tabla 19 y la Figura 28 se observan resultados similares que en la Tabla 18 y Figura 26, es decir los datos obtenidos tanto en las 4 horas como en las 6 horas muestran resultados similares, ya que la concentración de DQO y el porcentaje de

organismos exhibieron una relación inversamente proporcional; así, a medida que aumenta la concentración de DQO menor es el número de organismos presentes. Sin embargo en los compartimentos de menor concentración (0 y 5 mg/L) a las 6 horas la distribución de organismos tiende a igualarse, pero continúan siendo los compartimentos con mayor porcentaje de organismos.

Los compartimentos con asteriscos, es decir aquellos con valores de p menores a 0,05 son los de concentración de 50 y 100 mg/L de DQO, estos valores observados tienen una diferencia estadística significativa o altamente significativa respecto a los esperados, al igual que a las 4 horas ya que en estos compartimentos se espera un porcentaje de organismos bajo, pero no se observó ningún organismo.

4.4.2.4. RESPUESTA DE PREFERENCIA Y FUGA: AGUA RESIDUAL SINTÉTICA SIN TRATAMIENTO DEL RALLADO DE YUCA

Para el agua residual sintética producto del rallado de yuca se obtuvieron los datos en porcentaje señalados en Anexo 6b y graficados como se muestran en la Figura 29.

Para el caso del primer compartimento a las 4 horas donde se obtuvo un 322,22 % de preferencia quiere decir que en este compartimento existe 3,22 veces más organismos que los esperados.

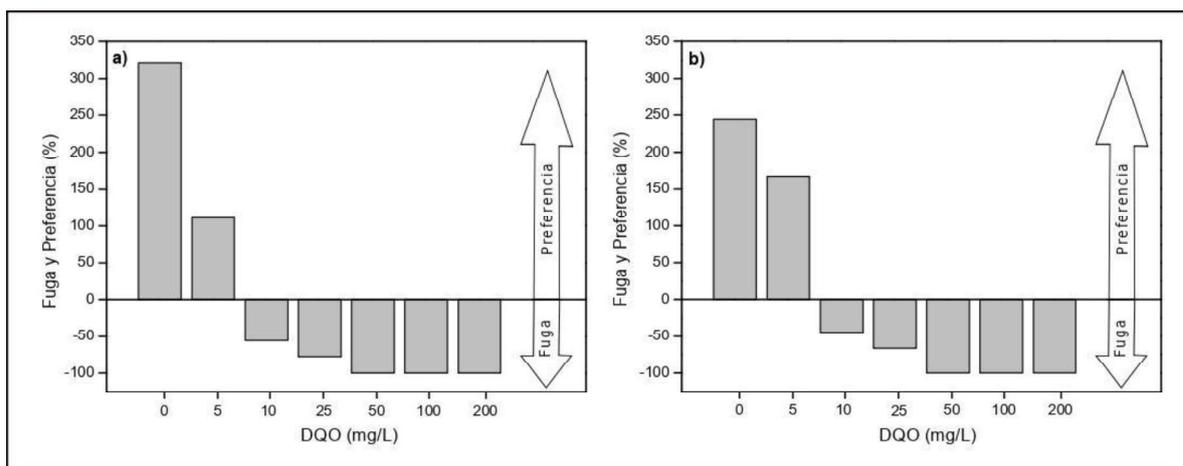


Figura 29. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética sin tratamiento del rallado de yuca.

a) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 4 horas, b) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 6 horas. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

La Figura 29a y Figura 29b representan la respuesta de los organismos a las 4 y 6 horas respectivamente, en ambas gráficas se observa claramente que los organismos tuvieron preferencia por los compartimentos con menor concentración de DQO, que en este caso el porcentaje de preferencia tiene valores positivos, a partir del tercer compartimento los peces empiezan a presentar una respuesta de fuga a tales concentraciones de residual agua sintética sin tratar.

4.4.2.5. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN AGUA TRATADA A LAS 4 HORAS DE ENSAYO

Los resultados del estudio de exposición no forzada sobre peces cebra con agua residual sintética tratada muestran las concentraciones evaluadas de DQO, así como el número de organismos en cada compartimento, junto con el porcentaje de organismos que se encontró en cada compartimento como se observa en la Tabla 20. El ensayo se realizó usando tres réplicas por cada concentración, de esta manera se pudo obtener la desviación estándar y el valor promedio.

Tabla 20. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca a las 4 horas de ensayo.

Réplicas	Concentración DQO (mg/L)						
	0	5	10	25	50	100	200
1	0	2	2	1	4	9	3
2	3	5	2	0	3	3	5
3	0	0	1	2	4	7	7
Total por compartimento	3	7	5	3	11	19	15
% Organismos por compartimento	4,76	11,11	7,94	4,76	17,46	30,16	23,81

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Con los resultados de la Tabla 20, se realizó una gráfica porcentaje de organismos respecto a la concentración de DQO como se observa en la Figura 30.

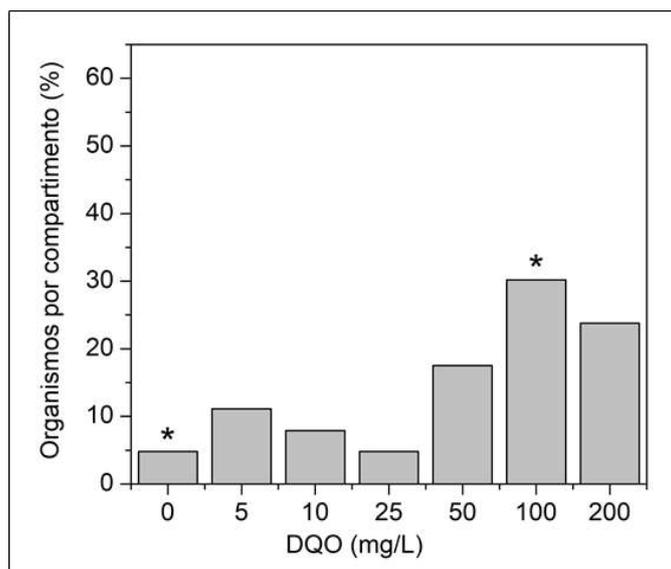


Figura 30. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca para las 4 horas de ensayo.

* Compartimentos en donde existe una variación estadística muy significativa o significativa ($p < 0.05$) de los datos observados respecto a los esperados. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

La concentración de DQO y el porcentaje de organismos exhibieron una relación directamente proporcional; así, a medida que aumenta la concentración de DQO, el número de organismos presentes es mayor. Es importante destacar que en los tres compartimentos con mayor concentración de DQO, es decir concentraciones de 50, 100 y 200 mg/L son concentraciones de preferencia para los organismos, lo cual es completamente contrario a lo que se espera, razón por la cual en la Figura 30 se presentan asteriscos en las concentraciones de 0 y 100 mg/L ya que tienen una diferencia estadística significativa con lo esperado, ya que se esperaría que los organismos tengan preferencia por los compartimentos de menor concentración de contaminantes.

4.4.2.6. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN AGUA TRATADA A LAS 6 HORAS DE ENSAYO

Los resultados obtenidos a las 6 horas se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Datos observados en la exposición no forzada con agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca a las 6 horas de ensayo.

Réplicas	Concentración DQO (mg/L)						
	0	5	10	25	50	100	200
1	0	1	6	5	4	5	0
2	2	0	1	3	5	3	7
3	2	0	0	3	4	7	5
Total por compartimento	4	1	7	11	13	15	12
% Organismos por compartimento	6,35	1,59	11,11	17,46	20,63	23,81	19,05

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Con los resultados de la Tabla 21 se realizó la gráfica del porcentaje de organismos respecto a la concentración de DQO como se observa en la Figura 31.

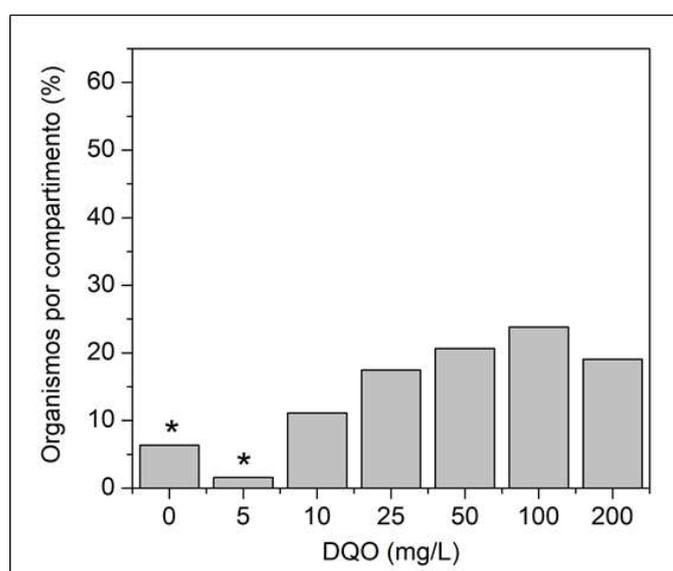


Figura 31. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca para las 6 horas de ensayo.

*Compartimentos en donde existe una variación estadística muy significativa o significativa ($p < 0.05$) de los datos observados respecto a los esperados. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Figura 31, es decir a las 6 horas de ensayo, se muestra una tendencia de los organismos a dirigirse a los compartimentos de mayor concentración ya que en las concentraciones de 25, 50, 100 y 200 mg/L de DQO se observa la mayor cantidad

de organismos con una distribución homogénea entre 17 y 24 % de organismos presentes y en los 3 compartimentos de menor concentración (0, 5 y 10 mg/L de DQO) se observa la menor cantidad de organismos, siendo el compartimento con la menor cantidad de organismos presentes el de concentración de 5 mg/L de DQO con un porcentaje de 1,59 %, es decir, solo se encontró un organismo en esta concentración.

En los compartimentos de menor concentración (0 y 5 mg/L) se tiene una diferencia significativa o muy significativa de los organismos observados con los esperados, son los que presentan asteriscos (*) en la Figura 30, esto se debe a que se espera que exista mayor cantidad de organismos en las concentraciones de menor concentración y en este caso ocurre lo contrario.

4.4.2.7. RESPUESTA DE PREFERENCIA Y FUGA: AGUA RESIDUAL SINTÉTICA TRATADA DEL RALLADO DE YUCA

Para el caso del agua sintética tratada producto del rallado de yuca se realizó el mismo procedimiento que para el agua sin tratar dando como resultado los datos en porcentaje señalados en Anexo 6c y graficados como se muestran en la Figura 32.

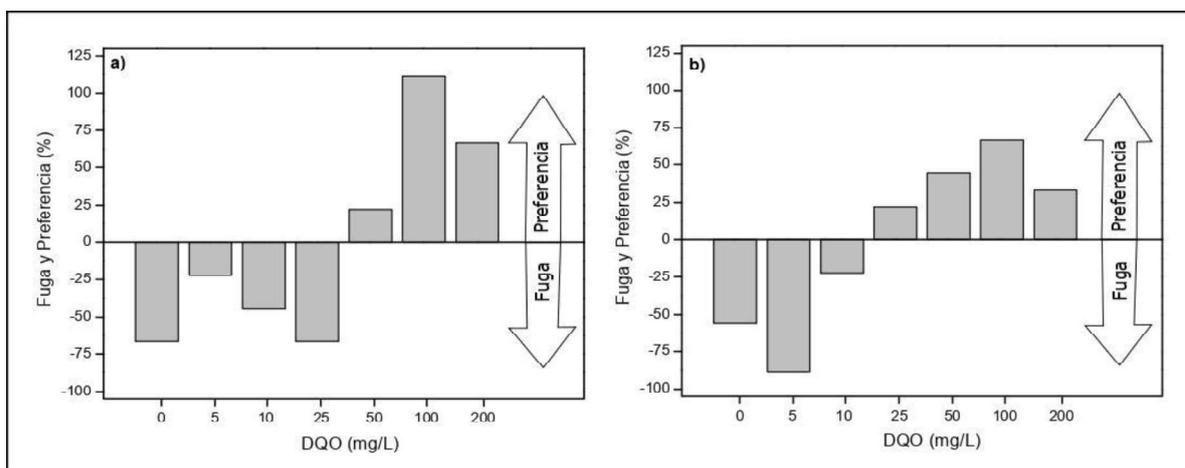


Figura 32. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética tratada del rallado de yuca.

a) Ensayo a las 4 horas, b) Ensayo a las 6 horas. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 4 horas, b) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 6 horas. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Con los datos anteriormente descritos se realizaron las Figuras 32a y 32b de Fuga y Preferencia para las 4 y 6 horas de ensayo respectivamente para el agua sintética tratada, en las cuales se observa que existe preferencia por los compartimentos con mayor concentración de DQO, dando una respuesta totalmente opuesta a la esperada.

4.4.2.8. DISTRIBUCIÓN DE LOS ORGANISMOS EN EL AGUA TRATADA Y SIN TRATAR PRODUCTO DEL RALLADO DE YUCA PARA LAS 4 Y 6 HORAS.

Para corroborar los resultados obtenidos tanto para el ensayo con el agua residual sintética tratada y no tratada se realizó un tercer ensayo usando el mismo enfoque usado para el agua con colorante RR120; es decir en el primer compartimento se colocó agua declorada, en los compartimentos del 2 al 6 el agua residual sintética tratada, y finalmente en el último compartimento el agua residual sin ningún tratamiento previo.

Con dicho ensayo se obtuvo los resultados que se muestran en el Anexo 6 y las respectivas gráficas a y b para las 4 y 6 horas respectivamente como se muestra en la Figura 33.

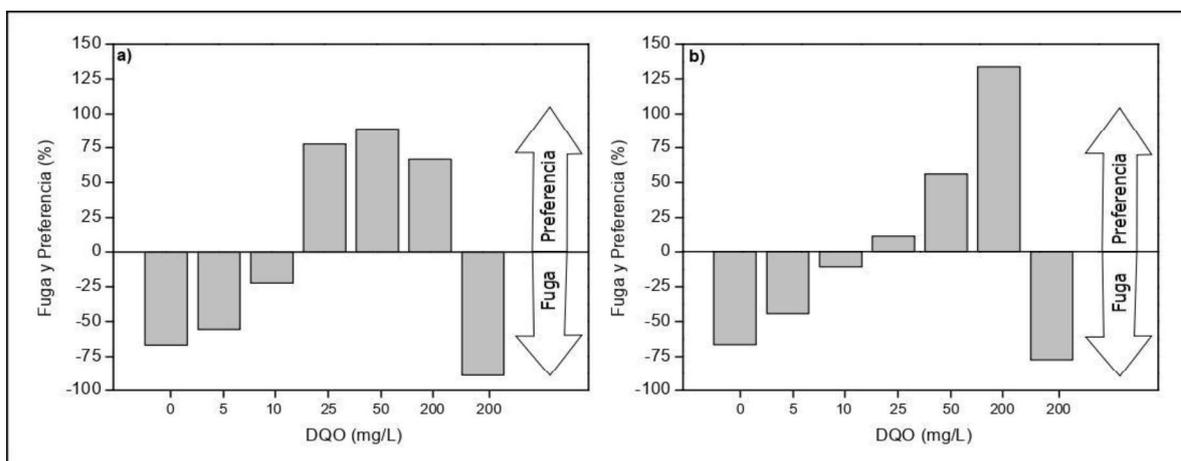


Figura 33. Porcentaje de Fuga y Preferencia para el agua residual sintética sin y con tratamiento del rallado de yuca.

a) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 4 horas, b) Porcentaje de Fuga y Preferencia para el ensayo a las 6 horas. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Como se puede observar en la Figura 33a y Figura 33b para las 4 y 6 horas respectivamente, existe alrededor del 83 % de fuga de organismo en el compartimento 7 donde se encuentra el agua residual sintética sin ningún tratamiento previo, para el resto de compartimentos que contienen agua decolorada y agua sintética tratada, los organismos presentan el mismo comportamiento que en el ensayo anterior y es así que los peces cebra prefieren el agua tratada con mayor DQO incluso al agua decolorada, como se muestra para el primer compartimento.

4.4.2.9. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS A LAS 4 Y 6 HORAS DE ENSAYO DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA DEL RALLADO DE YUCA

Con los resultados de la Tabla 18, 19, 20 y 21 se realizó gráficas comparativas del agua tratada y sin tratar en las cuales se presenta la concentración de DQO en relación al porcentaje de organismos encontrados por compartimento, como se muestra en la Figura 34 en el cual los peces fueron sometidos un tiempo de exposición de 4 horas y en la Figura 35 con un tiempo de exposición de 6 horas.

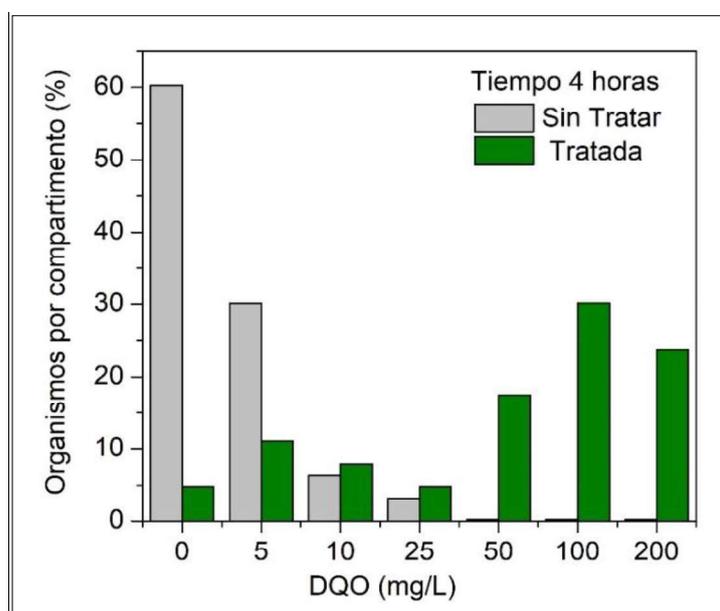


Figura 34. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética de rallado de yuca sin tratar y tratada para las 4 horas de ensayo.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

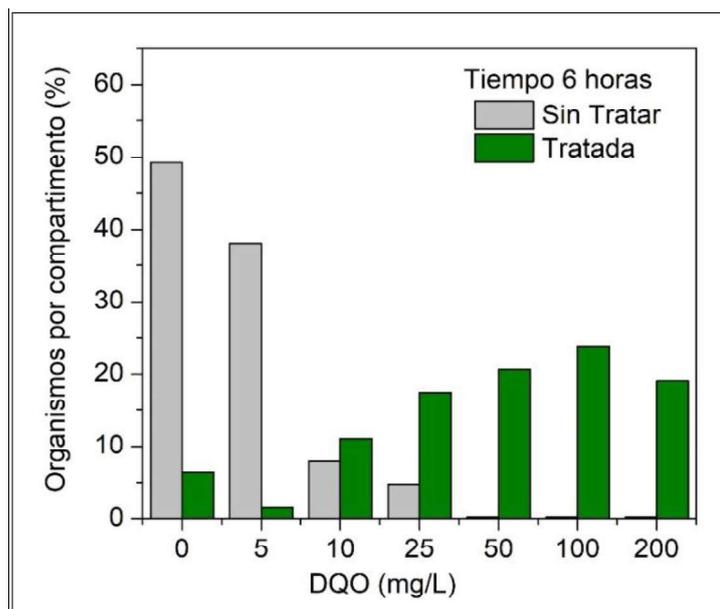


Figura 35. Porcentaje de organismos presentes en los compartimentos con un gradiente de contaminación en base al DQO del agua residual sintética de rallado de yuca sin tratar y tratada para las 6 horas de ensayo.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Se puede evidenciar gracias a la Figura 34 y 35 que en el agua sin tratar a medida que aumenta la concentración de DQO disminuyen los organismos en cada compartimento, lo que no ocurre con el agua tratada; ya que a medida que aumenta la concentración de DQO los organismos en cada compartimento aumentan. A su vez, es importante destacar la diferencia de concentración que existe en la concentración de cianuros del agua residual sintética del rallado de yuca sin tratamiento y tratada, como se muestra en la Figura 36.

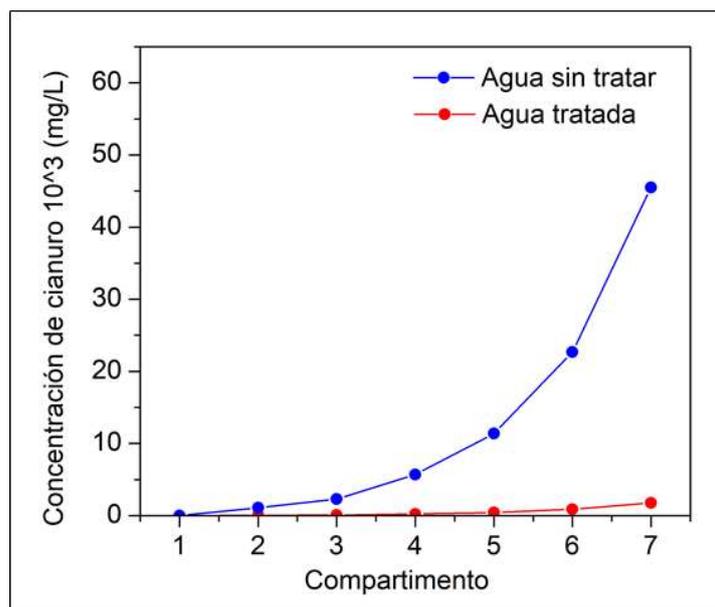


Figura 36. Concentración de cianuro en cada compartimento para el agua del rallado de yuca tratada y sin tratar.

Elaborado por: Cabascango y Ortiz

Se puede observar que en los compartimentos de mayor concentración existe una gran diferencia en cuanto a la concentración de cianuro ya que por ejemplo en el séptimo compartimento de izquierda a derecha en el ensayo con agua tratada y sin tratar se realizaron diluciones para llegar a una concentración de 200 mg/L, sin embargo la concentración de cianuro en dicho compartimento es de 0,0455 mg/L en el agua sin tratar y de 0,00175 mg/L en el agua tratada, es decir el agua sin tratar tiene aproximadamente 26 veces más cianuro que el agua tratada, lo que explica el desplazamiento de los peces, y al eliminar el 96,45 % de cianuro del agua residual, esta presenta concentraciones en la que los peces pueden permanecer.

Con los resultados obtenidos en el ensayo con el agua residual producto del rallado de yuca tratada y sin tratar se realiza la Figura 37 en el cual se presenta en el eje de las ordenadas el porcentaje de organismos por compartimento y en el eje de las abscisas las concentraciones de DQO por compartimento que son iguales tanto para el agua tratada con la sin tratar, adicionalmente se presenta una curva de la concentración de cianuro en cada compartimento.

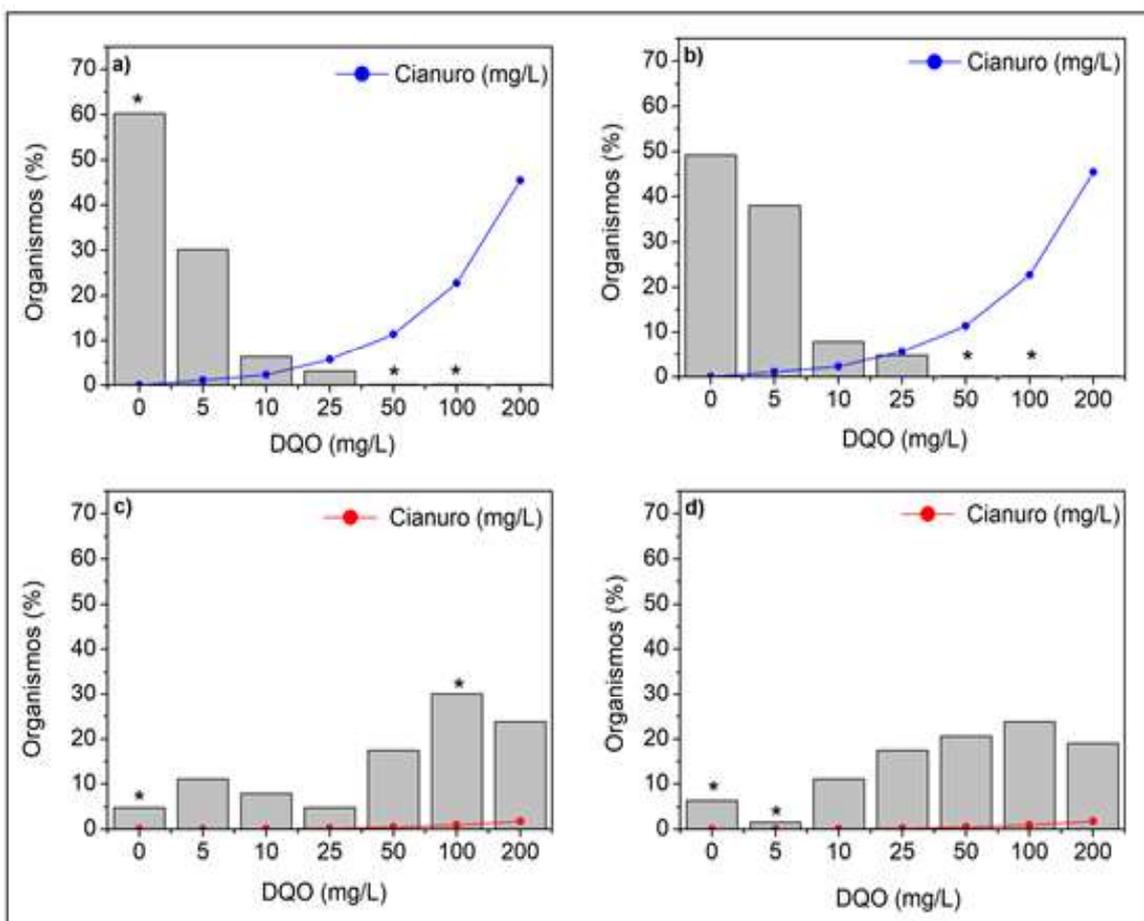


Figura 37. Concentración de cianuro en relación al DQO en cada compartimento para el agua producto del rallado de yuca sin tratar y tratada a las 4 y 6 horas de ensayo.

a) agua residual sintética del rallado de yuca a las 4 horas, b) agua residual sintética del rallado de yuca a las 6 horas, c) agua residual sintética tratada del rallado de yuca a las 4 horas, d) agua residual sintética tratada del rallado de yuca a las 6 horas. Elaborado por: Cabascango y Ortiz

En la Figura 37 se muestra el porcentaje de organismos, concentración de DQO y concentración de cianuros en cada compartimento. En la parte superior se muestran las gráficas del agua residual del rallado de yuca sin tratar que son las Figuras 37a y 37b en tiempo de ensayo 4 horas y 6 horas respectivamente, en la parte inferior se muestra las figuras del agua tratada, tiempo de ensayo 4 horas (Figura 37c) y 6 horas (Figura 37d).

Es claro que los compartimentos que prefieren los peces para el caso del agua sin tratar (Figura 37a y 37b) son los de menor concentración (0 y 5 mg/L de DQO), mientras que en agua tratada los peces se dirigen hacia los compartimentos de

mayor concentración (50,100 y 200 mg/L de DQO) como muestra en las Figuras 37c y 37d, con lo cual se observa que al tratar el agua y a pesar de no tener altos porcentajes de eficiencia de remoción de DQO y COT, la remoción de cianuro es evidente, y al eliminar esta toxina los peces ya no evitan los compartimentos de concentraciones más altas de dichos parámetros y más bien es notoria la preferencia de los organismos por las concentraciones altas.

Es importante mencionar que existe un factor no determinado en el agua tratada que hace que los peces se sientan atraídos a los compartimentos de mayor concentración, lo cual se puede relacionar con las características del agua en la que los peces cebra prefieren estar y a su vez se comprueba que las concentraciones de DQO y COT que se utilizan para los ensayos no resultan perjudiciales para los peces, por el contrario al tener cierta cantidad de carga orgánica en el agua los peces pueden asociar estas condiciones con presencia de nutrientes (Araujo, 2018).

4.5. ASPECTOS Y DETALLES EXPERIMENTALES ADICIONALES A CONSIDERAR

Al considerar aplicar la metodología de exposición no forzada para investigaciones futuras es recomendable que el espacio disponible en el laboratorio sea amplio y que las condiciones de luz y temperatura sean estables para evitar el desplazamiento de los organismos debido a condiciones externas. A su vez, al trabajar con organismos vivos es importante evitar cualquier tipo de contaminación que se pueda dar en el laboratorio por otros ensayos ya que pueden causar efectos adversos o la muerte de los organismos.

Varios peces cebra que se comercializan en Ecuador como peces cebra originales son peces que han sido modificados genéticamente con un gen que les da fluorescencia, por lo tanto, es necesario antes de realizar los ensayos determinar que los peces cebra adquiridos no presenten ninguna modificación usando luz azul y los peces cebra que presentan esta fluorescencia deberán ser descartados.

Es importante considerar todos los problemas que genera la adquisición de peces cebra como diferencia en el tamaño y edad del organismo, la manera en la que fueron criados, la alimentación, entre otros ya que estos aspectos pueden causar

resultados variables en la investigación, por lo tanto, se puede considerar tener un criadero de peces cebra en el laboratorio para poder controlar dichos aspectos.

Los tiempos utilizados para los ensayos de exposición no forzada (4 y 6 horas) al ser comparados mostraron que existen mejores resultados a las 6 horas de ensayo, ya que se observó una tendencia más clara del compartimento al que prefieren dirigirse los organismos, por lo cual se recomienda usar tiempos de exposición de 6 horas o incluso mayores.

El ensayo de exposición no forzada con agua residual sintética con el colorante RR120 mostró mayor difusión en el sistema debido a la gran diferencia de concentración entre el compartimento con agua sin tratar 80 mg/L y el compartimento con agua tratada 2,38 mg/L, por lo tanto, es importante al momento de usar esta metodología no usar diferencias de concentración muy elevadas para evitar en la medida de lo posible la difusión de los contaminantes en el sistema.

La ampliación del rango en el gradiente de contaminación, daría una visión más precisa de los ambientes que están evitando los organismos y también de los que muestran preferencia, tanto para las aguas residuales tratadas y no tratadas; esto ayudaría como refuerzo para los valores establecidos por la normativa ecuatoriana o en su caso al cambio de la misma.

Realizar el mismo sistema de exposición no forzada y con las mismas condiciones, pero con aguas reales, con esto se podría comparar los resultados y saber cuál es la diferencia que existe y que otros factores están interviniendo en el análisis.

Es importante determinar los compuestos que se generan en cada tratamiento para conocer el factor que hace que los peces *Danio rerio* se sientan a gusto o no en un determinado ambiente, de esta manera se podría complementar este trabajo experimental.

Se plantea una nueva opción para la disposición final de los animales utilizados en los ensayos de laboratorio, siendo la educación ambiental la mejor de las alternativas. Sin embargo, hay que considerar que en esta investigación se usó esta disposición final debido a que las concentraciones de contaminantes usadas

y los tiempos de exposición en los ensayos con los peces no requería aplicar método alguno de eutanasia.

CAPÍTULO 5.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La caracterización de las aguas residuales sintéticas evidencia, en el caso del agua residual sintética con RR120, una alta concentración de colorante (80 mg/L de RR120) y no implicaron valores altos de DQO y COT. Los valores obtenidos de DQO y COT fueron 25,63 y 53,00 mg/L, respectivamente. En el caso del agua residual sintética producto del rallado de yuca destacaron concentraciones altas de cianuro (1,36 mg/L), DQO (5 980 mg/L) y COT (2 971,75 mg/L).

El tratamiento de las aguas residuales sintéticas con el colorante RR120 permitió alcanzar el 97,03 % de remoción del contaminante en la solución original fue degradado mediante el proceso Fenton. Sin embargo, las remociones de DQO y COT fueron menores, con valores de 68,87 % y 12,13 %, respectivamente. Las características del agua tratada serían aceptables para su descarga pues los parámetros de referencia están por debajo de los límites máximos permisibles establecidos por la norma. Sin embargo, el tratamiento mediante el proceso Fenton convencional no sería suficiente al ser evaluado con los peces cebrá, pues los ensayos con estos organismos indicaron que hubo una tendencia de los peces cebrá a moverse hacia las concentraciones más bajas de RR120, con concentraciones de 0,15 y 0,30 mg/L. Una dilución del agua tratada con las concentraciones mencionadas resultaría más favorable a los peces cebrá.

El tratamiento del agua residual producto del rallado de yuca permitió alcanzar una concentración de cianuro de 0,05 mg/L, lo que significa una remoción de cianuro del 96,45 %, siendo un valor por debajo de los límites máximos permisibles de este contaminante únicamente para la descarga en cuerpos de agua dulce (0,1 mg/L). A pesar del gran porcentaje de remoción esta concentración de cianuro no cumple con la normativa establecida para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario, pues el valor máximo permisible es de 0,01 mg/L. Las remociones de DQO y COT logradas con el tratamiento fueron bajas, con porcentajes alcanzados de 7,86 % y 8,10 %, respectivamente.

respectivamente. La preferencia de los peces cebra por el agua sintética del rallado de yuca que fue tratada sugiere que el contaminante que causa la huida no es la alta carga orgánica sino algún componente minoritario que es degradado por el tratamiento, en este caso, el cianuro. La reducción de la concentración de cianuro mejoraría la aceptabilidad de los organismos por las aguas tratadas. La preferencia por parte de los peces de las aguas tratadas por encima del agua clorada también puede deberse a que la carga orgánica remanente en el agua tratada podría ser confundida por alimento por los organismos.

La determinación de los gradientes de contaminación en el sistema de exposición no forzada para ensayos ecotoxicológicos fueron usados tomando dos enfoques distintos; en el primero se combinó en un mismo sistema el agua residual sintética con RR120 sin tratar y tratada, y en el segundo enfoque se ensayaron el agua residual sintética del rallado de yuca tratada y sin tratar por separado. Ambos enfoques aportan información sobre las preferencias de los organismos y la aplicabilidad de cada uno está sujeta a los requerimientos experimentales. El primer enfoque puede ser apropiado cuando se sospecha que contaminantes en baja concentración pueden tener un importante efecto sobre el comportamiento de los organismos, mientras que el segundo enfoque permite comparar el comportamiento de los organismos en condiciones en las que estos tienen más opciones de elegir el agua con la calidad de su preferencia.

Los ensayos de exposición no forzada evidenciaron que el tratamiento mediante el proceso Fenton del agua residual sintética con colorante RR120 alcanzó un alto porcentaje de remoción del colorante, sin embargo, no resulta eficaz para que los peces cebra prefieran el agua tratada sino más bien diluciones de la misma. En cuanto al tratamiento del agua residual sintética del agua producto del rallado de yuca mediante el proceso de fotocátalisis heterogénea mostró ser eficaz en la remoción de cianuro y se presume que esto mejoró las condiciones del agua residual al punto que los peces cebra prefieren incluso las concentraciones más altas de DQO del agua tratada.

Por lo antes expuesto, es razonable considerar que los parámetros considerados en la legislación para juzgar si un efluente es apto para su descarga (o no) no

reflejan a cabalidad los potenciales efectos ecotoxicológicos en la biota y se hace necesario considerar otras estrategias como las propuestas en este trabajo.

5.2. RECOMENDACIONES

Profundizar en el estudio de las reacciones químicas que tienen lugar tanto para la degradación de RR120 por el proceso Fenton, como para la remoción de carga orgánica de las aguas residuales del rallado de yuca mediante fotocátalisis heterogénea con g-C₃N₄ (compósito) y radiación visible.

Estudiar más tipos de efluentes evaluados mediante los ensayos de exposición no forzada y complementar con ensayos de toxicidad con organismos comúnmente usados en esta clase de ensayos (por ejemplo, *Daphnia magna*).

Combinar POAs con procesos biológicos y evaluar las aguas tratadas con ensayos de exposición no forzada.

Evaluar el uso de organismos invertebrados. Por temas éticos, en la actualidad existe una marcada tendencia a reducir los ensayos en los que se usan vertebrados. Además, el uso de invertebrados permitiría tener más organismos por compartimento y esto resultaría beneficioso para el manejo estadístico de los resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Veterinary Medical Association (AVMA). (2007). Guidelines on Euthanasia, Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia. Recuperado de: https://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/downloads/reports_out/euthanasia.pdf
- Ameta, R., Solanki, M., Benjamin, S., y Ameta, S. (2018). Photocatalysis. En *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment*. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/book/9780128104996/advanced-oxidation-processes-for-waste-water-treatment>
- Ameta, S. (2018). Introduction. En *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment*. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/book/9780128104996/advanced-oxidation-processes-for-waste-water-trea>
- Annachhatre, A., y Amatya, P. L. (2000). UASB Treatment of Tapioca Starch Wastewater. *Journal of Environmental Engineering*, 126 (12), 1149–1152. doi: 10.1061/(ASCE)0733-9372(2000)126:12(1149)
- APHA, AWWA, WEF. (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association*, 23rd ed, 1546.
- Araújo, C. (2013). Huir para no sufrir: una respuesta frente a la contaminación y sus consecuencias ambientales. Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. Manabí, Ecuador. Recuperado de: http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/4808/1/Anexo%201%20Presentacion_Huir%20para%20no%20sufrir_ULEAM_2013_Cristiano%20Araujo.pdf
- Araújo, C., Marín, J., y Macías, D. (2014). Ecuactox. Ecotoxicología acuática Fundamentos y aplicaciones. Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. Manabí, Ecuador.
- Araújo, C., Griffith, D., Vera-Vera, V., Jentzsch, P., Cervera, L., Nieto-Ariza, B., Salvatierra, D., Erazo, S., Jaramillo, R., Ramos, L., Moreira-Santos, M., y Ribeiro, R. (2018). A novel approach to assessing environmental

disturbance based on habitat selection by zebrafish as a model organism. *Elsevier B.V.* (906-915). doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.170

Araújo, C., y Blasco, J. (2018). Spatial avoidance as a response to contamination by aquatic organisms in non-forced, multi-compartmented exposure systems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(2):312-320. doi: 10.1002/etc.4310

Araújo, C., González, E., Pintado, M., Biel, M., Lara, P., Tovar, A., y Blasco, J. (2018). Disturbance of ecological habitat distribution driven by a chemical barrier of domestic and agricultural discharges: An experimental approach to test habitat fragmentation. *Science of the Total Environment*, 651. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.200

Araújo, C., Roque, D., Blasco, J., Ribeiro, R., Moreira-Santos, M., Toribio, A., y Barro, S. (2018). Stress-driven emigration in complex field scenarios of habitat disturbance: The heterogeneous multi-habitat assay system (HeMHAS). *Science of the Total Environment*, 644 (2018) 31–36. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.336.

Avbesh, A., Chen, M., Mathew, T., Iverson, M., Mondal, a., Ong, D., Rainey-Smith, S., Tadeei, K., Lardelli, M., Groth, D., Verdile, G., y Martins, R. (2012). Cuidado y Mantenimiento regulares de un pez cebrá. Regular Care and Maintenance of a Zebrafish (*Danio rerio*) Laboratory: An Introduction. *Perth, Australia*. (69), e4196. doi: 10.3791/4196.

Ayala, N. (2014). Estudio comparativo de los efectos de los anestésicos metanosulfonato de triclaína (MS-222) y eugenol, para su uso en el pez cebrá (*Danio rerio*) como modelo experimental. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. Recuperado de: <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/12677/2015000001106.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Bazrafshan, E., Kord, F., Reza, A., Raksh, A., y Hossein, A. (2013). Decolorisation of Reactive Red 120 Dye by Using Single-Walled Carbon Nanotubes in Aqueous Solutions. *Journal of Chemistry*. doi: 10.1155/2013/938374

- Bello, C. (2015). Cronotoxicidad del Cadmio en pez cebra: análisis de mortalidad y respuestas de comportamiento. Recuperado de <http://www.conama10.comama.org/conama10/download/files/CT%202010/1000000198.pdf>
- Bermeo, D., y Salazar, F. (2013). Optimización de la planta de tratamiento de aguas residuales industriales de una empresa textil. Recuperado de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6215/1/UPS-GT000524>
- Bermeo, M., y Tinoco, O. (2016). Remoción de colorantes de efluente sintético de industria textil aplicando tecnología avanzada. *Revista Industrial Data*, 19(2): 91-95. doi: 10.15381/idata.v19i2.12844
- Bes, S., Silva, A., y Bengoa, C. (2018). Manual técnico sobre procesos de oxidación avanzada aplicados al tratamiento de aguas residuales industriales. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. ISBN: 978-84-09-08637-5.
- Botello, A., Rendón, J., Gold-Bouchot, G., y Agraz-Hernández, C. (2005). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y tendencias. Segunda Edición. México. ISBN: 9786077887713
- Capó, M. (2007). Principios de ecotoxicología: diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. ISBN: 978-8473602631.
- Carbajo, J. (2013). Aplicación de la fotocatalisis solar a la degradación de contaminantes orgánicos en fase acuosa con catalizadores nanoestructurados de TiO₂. Recuperado de: http://digital.csic.es/bitstream/10261/100081/1/Carbajo%20Olleros,%20J.%20_Tesis_2013.pdf
- Castillo, G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. ISBN: 968-5536-33-3
- Cedeño, L., Rodríguez, E., Vera, V., Salvatierra, D., y Araújo, C. (2015). Manual para la construcción del sistema de exposición no forzada y realización de

ensayos ecotoxicológicos de fuga. Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. Manta, Ecuador.

Cedeño, L. (2015). Medición de la respuesta de fuga de larvas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) expuestas al cobre. Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. Manta, Ecuador.

Centro de Actividad Regional para la Producción Limpia [CAR/PL]. (2002). Prevención de la contaminación en la Industria textil en los países del Mediterráneo. Barcelona. Recuperado de: <https://docplayer.es/26857630-Prevencion-de-la-contaminacion-en-la-industria-textil-en-los-paises-del-mediterraneo.html>

Chávez, M., Aedo, G., Fierro, F., Allende, M., y Egaña, J. (2016). Zebrafish as an Emerging Model Organism to Study Angiogenesis in Development and Regeneration. *Frontiers in Physiology*. 7(56). doi: 10.3389/fphys.2016.00056

Chitramuthu, B. (2013). Modeling Human Disease and Development in Zebrafish. *Human Genetics & Embryology*. 3(1). doi: 10.4172/2161-0436.1000e108.

Daskalak, V., Timotheatou, E., Katsaounis, A., y Kalderis, D. (2011). Degradation of Reactive Red 120 using hydrogen peroxide in subcritical water. *Desalination* 274(1):200-205. doi: 10.1016/j.desal.2011.02.009

De la Fuente, S. (2011). Regresión Logística. Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Madrid, España. Recuperado de: <http://www.estadistica.net/ECONOMETRIA/CUALITATIVAS/LOGISTICA/regresion-logistica.pdf>

Escobar, J. (2002). La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar. Santiago de Chile. Recuperado de: <https://archivo.cepal.org/pdfs/Waterguide/LCL1799S.pdf>

Espinosa, S. (2013). Desarrollo textil en el Ecuador. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.puce.edu.ec>

/bitstream/handle/22000/5798/TPUCE5954%282%29.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- Espinosa, T. (2017). Degradación del colorante Rojo Reactivo 120 en un proceso Sono-Fenton heterogéneo con goethita impregnada en arenas de sílice y calcita. Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
- Falla, Y. (2016). Investigación documental de la fotocatalisis para la degradación compuestos orgánicos tóxicos y/o refractarios en medios acuosos y las aplicaciones adelantadas en el grupo de investigación en fotocatalisis y estado sólido (GIFES). Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, Colombia. Recuperado de: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/7560>
- Food and Agriculture Organization [FAO]. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Roma. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a1028s/a1028s.pdf>
- Fu, Y. S., Li, J., y Li, J. (2019). Metal/Semiconductor Nanocomposites for Photocatalysis: Fundamentals, Structures, Applications and Properties. *Nanomaterials*, 9(3):359. doi: 10.3390/nano9030359
- Garcés, L., Mejía, E., y Santamaria, J. (2004). La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1). ISSN : 1794-4449
- Garófalo-Villalta, S. (2017). Degradación del colorante Rojo Reactivo 120 mediante aplicación de los procesos sono-fenton convencional y modificado por goethita. Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Garófalo-Villalta, S., Medina-Espinosa, T., Sandoval-Pauker, C., Villacis, W., Ciobotă, V., Muñoz Bisesti, F., y Vargas Jentzsch, P. (2019). Degradation of Reactive Red 120 dye by a heterogeneous Sono-Fenton process with goethite deposited onto silica and calcite sand. *Journal of the Serbian Chemical Society*. doi: 10.2298/JSC190506096G

- Garzón, R. (2009). Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibra de Agave tequilana Webber var azul. Recuperado de <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis217.pdf>
- Gil, M., Soto, A., Usma, J., y Gutiérrez, O. (2012). Contaminantes emergentes en aguas. Producción + Limpia. ISSN: 1909-0455
- Gordón, F. (2017). Aplicabilidad del composito goethita/óxido de grafeno reducido para remover metales pesados de aguas contaminadas. Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador. Recuperado de: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/18363/1/CD-8127.pdf>
- Guyon, J., Steffen, L., Howell, M., Pusack, T., Lawrence, C., y Kunkel, L. (2007). Modeling human muscle disease in zebrafish. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1772 (2007) 205–215. doi: 10.1016/j.bbadis.2006.07.003
- Hellou, J. (2011). Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. *Environmental Science and Pollution Research International*. doi: 10.1007/s11356-010-0367-2
- Islam, M., Araújo, C., y Blasco, J. (2018). Spatial avoidance, inhibition of recolonization and population isolation in zebrafish (*Danio rerio*) caused by copper exposure under a non-forced approach. *Science of the Total Environment*, 653 (2019) 504–511. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.375
- Itou, J., Kawakami, H., Burgoyne, T., y Kawakami, Y. (2012). Life-long preservation of the regenerative capacity in the fin and heart in zebrafish. *Open Biology* 1, 739-746. doi: 10.1242/bio.20121057
- Jackson, H, y Ingham, P. (2013). Control of muscle fibre-type diversity during embryonic development. The zebrafish paradigm. *Mechanisms of Development*, 130(9-10), 447-457. doi: 10.1016/j.mod.2013.06.001
- Jiménez, M. (2015). Desarrollo de nuevas estrategias basadas en fotocatalisis solar para la regeneración de aguas de una industria agro-alimentaria.

Almería. Recuperado de: https://www.psa.es/es/areas/tsa/docs/Tesis_Margarita_Jimenez.pdf

Kari, G., Rodeck, U., y Dicker, A. (2007). Zebrafish: An Emerging Model System for Human Disease and Drug Discovery. *American Society for Clinical Pharmacology & Therapeutics*. doi: 10.1038/sj.clpt.6100223

Lawrence, C. (2007). The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture. ResearchGate*, 269, 1-20. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.077.

Lopes, I., Baird, J., y Ribeiro, R. (2004). Avoidance of Copper Contamination by Field Populations of *Daphnia Longispina*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. doi: 10.1897/03-231

Martínez, A. (2010). Degradación de Azul de Metileno y 4-Clorofenol por fotocátalisis con luz ultravioleta, utilizando TiO₂ como catalizador. Recuperado de http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/42/065/42065224.pdf

Metcalf, y Eddy. (2003). Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. Madrid, España.

Ministerio de Ambiente del Ecuador (MAE). (2015). TULSMA: Libro VI-Anexo 1: Norma de Calidad Ambiental y de descarga de efluentes : Recurso Agua. Recuperado de: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/>

Navarro, J., Ramírez, R., y Villagrán, C. (2012). Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con Animales. Samsara Editorial, México. ISBN: 978-970-94-2830-8

Normativa Mexicana. (2001). Análisis de aguas-Determinación de cianuros totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas- Método de Prueba. NMMX-AA-058-SCFI-2001. CDU: 543.3:661.8.97.

Nuñez, M. (2016). Influencia del pH en una tintura de poliéster 100% oara tejido de punto con colorantes dispersos. Universidad Central del Ecuador, Quito.

Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6858/1/T-UCE-0017-0012-2016.pdf>

Nüsslein-Volhard, C. y Dahm, R. (2002). *Zebrafish*. OXFORD University Press. Inglaterra. ISBN: 0199638098

Orozco, C., Pérez, A., González, N., Rodríguez, F., y Alfayate, J. (2011). *Contaminación ambiental. Una visión desde la química*. Madrid, España.

Osorio, J., Vidal, A., y Quintero, J. (2010). Decoloración de aguas residuales textiles utilizando el hongo ligninolítico anamorfo R1 de *Bjerkandera* sp. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, núm. 57, enero, 2011, pp. 85-93. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/430/43021212010.pdf>

Pelayo, D. (2018). Procesos de oxidación avanzada: avances recientes y tendencias futuras. Recuperado de: <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/14217/409513.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Pértega, S., y Pita, S. (2004). Asociación de variables cualitativas: El test exacto de Fisher y el test de McNemar. Recuperado de: http://www.agamfec.com/pdf/CADERNOS/VOL11/VOL11_5/14_Invest_N11_5.pdf

Pey, J. (2008). Aplicación de procesos de oxidación avanzada (fotocatálisis solar) para tratamiento y reutilización de efluentes textiles. Valencia, España. Recuperado de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/2241/tesisUPV2816.pdf>

Rahman, F., y Sulaiman, S. (2018). *Zebrafish (Danio rerio) as a Model Organism. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. doi: 10.5772/intechopen.81517.

Ramirez, P., Barrera, G., Gúzman, X., y Barrera, H. (2018). *Ecotoxicología*. Primera Edición. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México D.F., México. Recuperado de: <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/ecotoxicologia.pdf>

- Ramos, P. M. (2012). Nitruros de carbono grafénicos y composites g-C₃N₄/grafeno como catalizadores para la generación de hidrógeno por fotólisis del agua. doi:10.13140/2.1.1250.4320
- Rojas, A., Bernad, A., y Izpisúa, J. (2007). El pez cebra, versatilidad al servicio de la biomedicina. *Investigación y Ciencia*. ISSN 0210-136X
- Rubio, A., Chica, E., y Pañuela, G. (2014). Aplicación del proceso Fenton en el tratamiento de aguas residuales de origen petroquímico. *Ingeniería y Competitividad*, 16(2), 211 - 223. ISSN 0123-3033.
- Rustom, A. (2012). Estadística descriptiva, probabilidad e inferencia. Una visión conceptual y aplicada. Universidad de Chile. Santiago de Chile. Recuperado de: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/120284/Rustom_Antonio_Estadistica_descriptiva.pdf?sequence=1
- Salvatierra, J. (2019). Ecotoxicología. Academia. Recuperado de: <https://www.academia.edu/9984247/Ecotoxicologia>
- Sánchez, C. (2015). Reacciones Fenton (FT-TER-003). Coruña. Recuperado de: <https://www.wateractionplan.com/documents/177327/558161/Reacciones+Fenton.pdf/09059f05-fa5a-f906-0551-d94b40f0971b>
- Santa Cruz Biotechnology. (2006). Reactive Red 120. Recuperado de: <http://datasheets.scbt.com/sc-215799.pdf>
- Soriano, E. (2015). Diseño y construcción de una planta de tratamiento de aguas residuales de una recicladora de tanques. Guayaquil, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20912/1/TESIS%20MIA%20024%20-%20planta%20de%20trat%20aguas%20residuales%20recicladora%20de%20tanques.pdf>
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C., y Smith, C. (2008). The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. *Biological Reviews*. doi: 10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x
- Suárez, S., y Molina, E. (2014). El desarrollo industrial y su impacto en el medio.

Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 2014;52 (3):357-363. ISSN 1561-3003

Terán-Benalcázar, K. (2018). Estudio de degradación de almidón mediante fotocatalisis heterogénea con nitruro de carbono puro, irradiado y en compósito, para su aplicación a aguas residuales del rallado de yuca (*Manihot esculenta* Crantz).

Tinoco, O., Medina, A., y Zapata, H. (2012). Tratamiento de efluentes textiles con luz ultravioleta solar. *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial*, 14(2): 09-15. ISSN: 1810-9993

Torres, P., Pérez, A., Cajigas, Á., Jurado, C., y Ortiz, N. (2007). Selección de inóculos para el tratamiento anaeróbico de aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*. ISSN: 1692-9918

Valencia, A. (2013). Diseñi de un sistema de tratamiento para las aguas residuales de la cabecera parroquial de San Luis - Provincia de Chimborazo. Riobamba. Recuperado de: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3118/1/236T0084.pdf>

Vargas, A., y Perea, Y. (2011). Determinación de la concentración letal medio, de bario e hidróxido de sodio, mediante bioensayos de toxicidad en un ecosistema, sobre *Daphnia magna*. Bogotá, Colombia. Recuperado de: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14893/T41.11%20V426d.pdf?sequence=1>

Vargas, P. (2014). Mejoramiento de la calidad ambiental del Rio Portoviejo. Recuperado de: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/handle/28000/4703>

Valenzuela, T. (2016). Estudio del efecto del dopaje con cobre, hierro y manganeso en el catalizador de nitruro de carbono Grafitico (G-C₃N₄) sintetizado a partir de úrea, en la reacción fotocatalítica de oxidación del alcohol bencílico. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y

Agroindustria. Recuperado de: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/16705/1/CD-7301.pdf>

Zapata, O. (2008). Ensayo de Toxicidad agua con larvas y juveniles de los peces tilapia, carpa y cíclicos. Ensayos toxicológicos para evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. México. ISBN: 978-968-817-882-9

ANEXOS

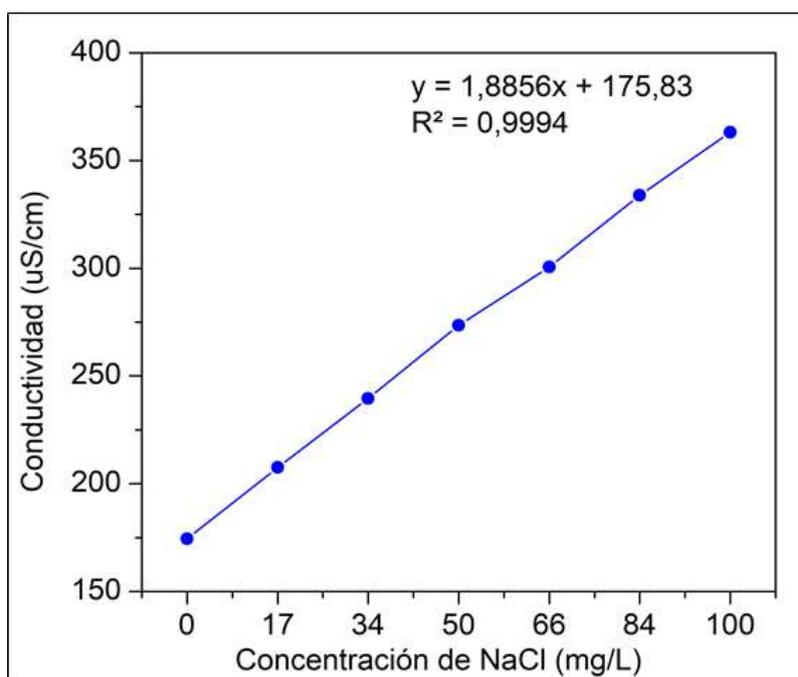
ANEXO 1.

**CURVA DE CALIBRACIÓN DEL CLORURO DE SODIO (NaCl) PARA LA
CALIBRACIÓN DEL SISTEMA DE EXPOSICIÓN NO FORZADA**

a) Datos experimentales para la construcción de la curva de calibración del NaCl

Concentración NaCl (mg/L)	Conductividad (μS/cm)
0	175
17	208
34	240
50	274
66	301
84	334
100	363

b) Curva de calibración del NaCl



Con los datos obtenidos se construyó la curva de calibración con la cual se obtuvo la regresión lineal detallada a continuación.

$$y = 1,8856 x + 175,83$$

Esta ecuación permite relacionar la conductividad con la concentración del NaCl

Donde:

x : Concentración NaCl (mg/L)

y : Conductividad de la solución ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

ANEXO 2.
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN DEL SISTEMA DE EXPOSICIÓN NO
FORZADA CON NaCl

a) Conductividad ($\mu\text{S/cm}$) medida en el sistema 1, desviación estándar y coeficiente de variación (%) calculados.

SISTEMA 1 - Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)							
Comp.	1	2	3	4	5	6	7
0 horas	157,53	202,80	227,03	253,70	281,73	313,73	349,93
4 horas	162,55	206,10	231,50	258,30	286,10	318,80	347,75
6 horas	163,25	206,80	231,70	258,55	286,65	319,00	348,45
Promedio	161,11	205,23	230,08	256,85	284,83	317,18	348,71
SD	3,12	2,14	2,64	2,73	2,69	2,98	1,11
CV (%)	1,94	1,04	1,15	1,06	0,95	0,94	0,32

b) Conductividad ($\mu\text{S/cm}$) medida en el sistema 2, desviación estándar y coeficiente de variación (%) calculados.

SISTEMA 2 - Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)							
Comp.	1	2	3	4	5	6	7
0 horas	174,53	190,03	224,33	267,27	301,20	327,73	358,93
4 horas	179,60	192,25	235,40	269,85	304,15	330,90	358,35
6 horas	179,60	192,25	235,40	269,85	304,15	330,90	358,35
Promedio	177,91	191,51	231,71	268,99	303,17	329,84	358,54
SD	2,93	1,28	6,39	1,49	1,70	1,83	0,34
CV (%)	1,64	0,67	2,76	0,55	0,56	0,55	0,09

c) Conductividad ($\mu\text{S/cm}$) medida en el sistema 3, desviación estándar y coeficiente de variación (%) calculados.

SISTEMA 3 - Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)							
Comp.	1	2	3	4	5	6	7
0 horas	174,17	206,03	234,77	266,60	299,73	332,53	365,60
4 horas	176,65	207,40	236,90	269,80	302,20	334,75	364,95
6 horas	177,00	207,45	237,50	270,20	302,55	334,90	365,25
Promedio	175,94	206,96	236,39	268,87	301,49	334,06	365,27
SD	1,54	0,80	1,44	1,97	1,54	1,33	0,33
CV (%)	0,88	0,39	0,61	0,73	0,51	0,40	0,09

d) Conductividad ($\mu\text{S/cm}$) medida en el sistema 4, desviación estándar y coeficiente de variación (%) calculados.

SISTEMA 4 - Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)							
Comp.	1	2	3	4	5	6	7
0 horas	174,50	207,53	239,63	273,60	300,57	333,97	363,07
4 horas	179,05	210,25	244,00	278,35	305,15	336,40	363,60
6 horas	178,35	210,25	244,30	278,40	305,30	336,20	363,20
Promedio	177,30	209,34	242,64	276,78	303,67	335,52	363,29
SD	2,45	1,57	2,61	2,76	2,69	1,35	0,28
CV (%)	1,38	0,75	1,08	1,00	0,89	0,40	0,08

ANEXO 3.
ANÁLISIS DE CALIDAD DEL AGUA DECLORADA



ESCUELA
POLITÉCNICA
NACIONAL

**ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y CONTROL AMBIENTAL**

Campus Politécnico "José Rubén Orellana Ricaurte" • Calle Ladrón de Guevara E 11-253
Tel: (+593-2) 2976300 / 3938780 Ext: 2151 • Línea directa: (+593-2) 3938864 • Apartado 17-01-2759 • E-mail: cicam@epn.edu.ec
Quito - Ecuador



INFORME DE RESULTADOS

Quito, 23 de julio de 2019

DATOS DE CLIENTE

Solicitado por: Tamia Cabascango
Atención: -
Dirección: 6 de Diciembre y Tomás de Berlanga
Identificación de la muestra: -
Fecha de recolección: 2019-06-27
Responsable del muestreo: CICAM

No. IRI19-240
Ref. ST19-100

Teléfono: -

Origen/lugar de muestreo: Pccra del Museo de Historia
Tipo de muestra: Agua potable
Tipo de envase: Plástico
Llegó refrigerada: Si
Se utilizó preservante: No

LABORATORIO

Número de ingreso al laboratorio: MI-19-240
Fecha de ingreso al Laboratorio: 2019-06-27

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	***LÍMITE	FECHA DEL ANÁLISIS	PROCEDIMIENTO
(a) Alcalinidad total (CaCO ₃)	mg/L	39	-	2019-06-27	PE-38/SM Ed 23, 2017, 2320 B/Volumetría
(a) Cloro libre residual	mg/L	<0,2	-	2019-06-27	PE-27/SM Ed 23, 2017, 4500 - Cl G/ Espectrofotometría VIS
(a) Demanda bioquímica de oxígeno DBO ₅	mg/L	<2	<2	2019-06-28	PE-06/ SM Ed.23, 2017, 5210 B/ Volumetría
(a) Demanda química de oxígeno, DQO	mg/L	43	<4	2019-06-27	PE-01/ SM Ed.23, 2017, 5220 D/ Espectrofotometría VIS
(a) Dureza total	mg/L	47	-	2019-06-27	PE-15/ SM Ed.23, 2017, 2340 C/ Volumetría
(a) Oxígeno disuelto (O ₂)	mg/L	6,6	-	2019-06-27	PE-18/ SM Ed.23, 2017, 4500-O C/ Iodometría
(a) pH	NA	7,23	6-9	2019-07-03	PE-02/ SM Ed.23, 2017, 4500 - H+ B/ Electrométrico
(a) Sólidos totales	mg/L	136	-	2019-07-04	PE-34/ SM Ed.23, 2017, 2540 B / Gravimétrico
(a) Sólidos totales disueltos	mg/L	82	-	2019-07-04	PE-35/ SM Ed.23, 2017, 2540 C / Gravimétrico
(a) Turbiedad	NTU	0,31	100,0	2019-07-03	PE-12/ SM Ed.23, 2130 B/ Turbidimetría

NOTA: ESTE INFORME SOLO AFECTA A LA MUESTRA SOMETIDA A ENSAYO

(a) Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° OAE LE 2C 06-012

***Límites máximos permisibles de acuerdo a Norma TULSMA, Libro VI, Anexo I Agua, Tabla I

NOTA: La incertidumbre de la medición de este ensayo se encuentra disponible para el cliente, cuando lo requiera.
Procedimiento de muestreo: PT-06; PM-01
Cadena de custodia No. 19-003
Condiciones ambientales: 24,9°C; 45% HR
Plan de muestro: 19-005

Revisado por: Jairo Jimpikit
RESPONSABLE TÉCNICO



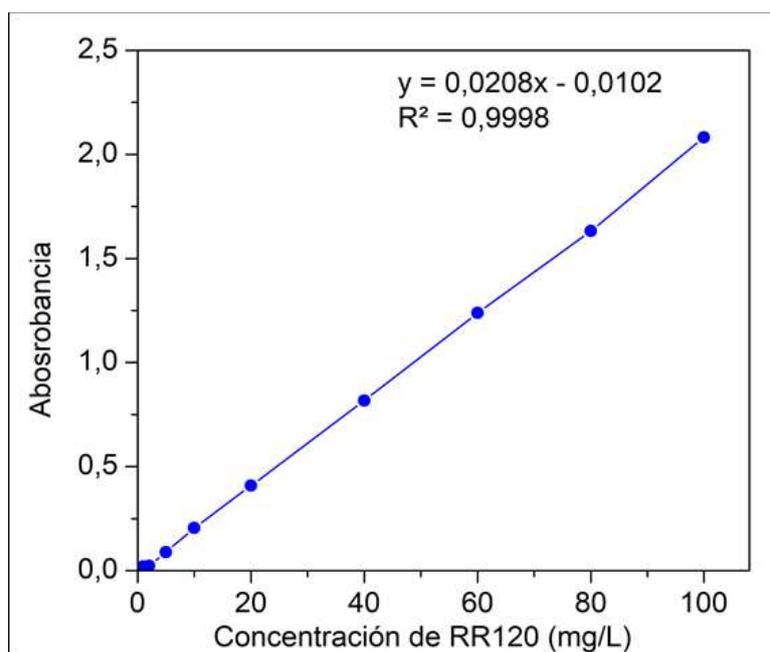
Aprobado por: MSc. Carola Fierro
RESPONSABLE DE LABORATORIO

ANEXO 4.
CURVA DE CALIBRACIÓN DEL COLORANTE ROJO REACTIVO 120 (RR120)

- a) Datos obtenidos por el método espectrofotométrico para la construcción de la curva de calibración del colorante RR120 a una longitud de onda $\lambda = 507$ nm.

Concentración (mg/L)	Absorbancia
100	2,082
80	1,633
60	1,238
40	0,817
20	0,409
10	0,205
5	0,089
2	0,023
1	0,019

- b) Curva de calibración del colorante RR120



Con los datos obtenidos se construyó la curva de calibración con la cual se obtuvo la regresión lineal detallada a continuación.

$$y = 0,0208 x - 0,0102$$

Esta ecuación permite relacionar la absorbancia con la concentración del colorante RR120.

Donde:

x : Concentración del colorante RR 120 (mg/L)

y : Absorbancia de la solución medida a una longitud de onda de $\lambda = 507$ nm

ANEXO 5.
CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL SINTÉTICA

a) Caracterización del agua residual sintética producto del rallado de yuca

Parámetro	Unidades	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio
pH	-	6,83	6,78	-	6,805
Temperatura	°C	18,60	18,50	-	18,55
Conductividad	µs/cm	1264,00	1273,00	-	1268,5
Turbidez	NTU	9,49	9,47	-	9,48
DQO	mg/L	5970,00	5990,00	-	5980
COT	mg/L	3028,00	2915,50	-	2971,75
Cianuro total	mg/L	0,88	1,36	1,84	1,36

b) Caracterización del agua residual sintética producto del rallado de yuca tratada con fotocatalisis heterogénea

Parámetro	Unidades	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio
pH	-	8,49	7,98	-	8,24
Temperatura	°C	19,00	19,70	-	19,35
Conductividad	µs/cm	1191,00	1186,00	-	1188,50
Turbidez	NTU	5,02	4,85	-	4,94
DQO	mg/L	5440,00	5580,00	-	5510,00
COT	mg/L	2705,50	2756,50	-	2731,00
Cianuro total	mg/L	0,02	0,10	0,03	0,05

c) Caracterización del agua residual sintética con colorante RR120

Parámetro	Unidades	Repetición 1	Repetición 2	Promedio
pH	-	5,86	5,95	5,91
Temperatura	°C	19,80	20,20	20,00
Conductividad	µs/cm	60,32	68,62	64,47
Turbidez	NTU	0,63	0,59	0,61
DQO	mg/L	50,00	56,00	53,00
COT	mg/L	25,49	25,77	25,63
Concentración de RR120	mg/L	80,00	80,00	80,00

d) Caracterización del agua residual sintética con colorante RR120 tratada con Fenton convencional

Parámetro	Unidades	Repetición 1	Repetición 2	Promedio
pH	-	7,34	7,53	7,44
Temperatura	°C	16,50	16,70	16,60
Conductividad	µs/cm	1237,00	1211,00	1224,00
Turbidez	NTU	8,42	8,22	8,32
DQO	mg/L	18,00	15,00	16,50
COT	mg/L	22,49	22,55	22,52
Concentración de RR120	mg/L	1,86	2,89	2,38

ANEXO 6.
ANÁLISIS ESTADÍSTICO PREFERENCIA/ FUGA DE LOS ORGANISMOS EN
LAS AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS

a) Análisis Preferencia/Fuga para el agua residual sintética tratada y no tratada con colorante RR120.

Colorante RR120	AGUA CON Y SIN TRATAMIENTO				
	4 HORAS			6 HORAS	
	Comp.	Observados	Preferencia (%)	Observados	Preferencia (%)
Agua Declorada	1	16	77,78	8	-11,11
	2	12	33,33	16	77,78
	3	13	44,44	13	44,44
Agua Tratada	4	4	-55,56	8	-11,11
	5	10	11,11	10	11,11
	6	5	-44,44	6	-33,33
Agua sin Tratamiento	7	3	-66,67	2	-77,78
Total	7	63		63	
Esperados		9		9	

b) Análisis Preferencia/Fuga para el agua residual sintética sin tratar producto del rallado de yuca.

Rallado de Yuca	AGUA SIN TRATAR				
	4 HORAS			6 HORAS	
	Comp.	Observados	Preferencia (%)	Observados	Preferencia (%)
Agua Declorada	1	38	322,22	31	244,44
Menor	2	19	111,11	24	166,67
	3	4	-55,56	5	-44,44
	4	2	-77,78	3	-66,67
	5	0	-100	0	-100
	6	0	-100	0	-100
Mayor	7	0	-100	0	-100
Total	7	63		63	
Esperados		9		9	

c) Análisis Preferencia/Fuga para el agua residual sintética tratada producto del rallado de yuca.

Rallado de Yuca	AGUA TRATADA				
	4 HORAS			6 HORAS	
	Comp.	Observados	Preferencia (%)	Observados	Preferencia (%)
Agua Declorada	1	3	-66,67	4	-55,56
Menor	2	7	-22,22	1	-88,89
	3	5	-44,44	7	-22,22
	4	3	-66,67	11	22,22
	5	11	22,22	13	44,44
	6	19	111,11	15	66,67
Mayor	7	15	66,67	12	33,33
Total	7	63		63	
Esperados		9		9	

d) Análisis Preferencia/Fuga para el agua residual sintética tratada y no tratada producto del rallado de yuca.

Rallado de yuca	AGUA CON Y SIN TRATAMIENTO				
	4 HORAS			6 HORAS	
	Comp.	Observados	Preferencia (%)	Observados	Preferencia (%)
Agua Declorada	1	3	-66,67	3	-66,67
	2	4	-55,56	5	-44,44
	3	7	-22,22	8	-11,11
Agua Tratada	4	16	77,78	10	11,11
	5	17	88,89	14	55,56
	6	15	66,67	21	133,33
Agua sin Tratamiento	7	1	-88,89	2	-77,78
Total	7	63		63	
Esperados		9		9	