

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EVALUACIÓN DE RIESGO TÓXICO Y ECOTOXICOLÓGICO
DE LA LAGUNA QUIULACOCHA EN EL DISTRITO SIMÓN
BOLÍVAR, DEPARTAMENTO DE PASCO, PERÚ”**

Presentada por:

GUILLERMO ALONSO VIZARRETA LUNA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Lima – Perú

2021

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EVALUACIÓN DEL RIESGO TÓXICO Y ECOTOXICOLÓGICO
DE LA LAGUNA QUIULACOCHA EN EL DISTRITO SIMÓN
BOLÍVAR, DEPARTAMENTO DE PASCO, PERÚ”**

Presentada por:

GUILLERMO ALONSO VIZARRETA LUNA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Ph.D. Lizardo Visitación Figueroa
PRESIDENTE

Mg.S. Juan Carlos Palma
MIEMBRO

Mg.Sc. Armando Javier Aramayo Bazzetti
MIEMBRO

Ph.D. Lisveth Flores del Pino de Wright
ASESORA

DEDICATORIA

A mi madre, por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la profesora Lisveth Flores por su constante guía y compromiso en la presente investigación.

A mis compañeros de laboratorio Pierina Ratto, Renzo Velásquez y Eder Apumayta, por aportar su experiencia y ayudarme continuamente.

A mis amigos y amigas, Natalia, Victoria, Salvador, Danelza y Braulio, por su apoyo en el campo y laboratorio.

A los miembros del Departamento de Química de la Universidad Nacional Agraria La Molina y al Profesor Javier Quino de la Universidad de Lima, por las facilidades logísticas brindadas.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Justificación.....	2
1.2. Alcance del estudio.....	4
1.3. Objetivos.....	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. Minería del Perú	6
2.2. Recurso hídrico.....	8
2.3. Área de estudio	10
2.3.1. Ubicación geográfica.....	10
2.3.2. Indicadores demográficos y socioeconómicos	11
2.4. Contaminación en Quiulacocha.....	12
2.5. Ecotoxicología.....	16
2.5.1. Ecotoxicología en ecosistemas acuáticos	17
2.5.2. Efectos ecotoxicológicos	18
2.6. Evaluación de riesgo tóxico o para la salud humana.....	20
2.7. Evaluación de riesgo ecotoxicológico	20
2.8. Marco legal.....	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Toma de muestras de agua y sedimentos.....	23
3.2. Medición de parámetros fisicoquímicos.....	28
3.2.1. Parámetros in situ	28
3.2.2. Determinación de metales totales.....	30
3.3. Procedimiento de caracterización de la toxicidad de lixiviados (TCLP)	30
3.3.1. Determinación del peso seco	30
3.3.2. Tamizado	32
3.3.3. Obtención del lixiviado según el protocolo EPA-1311	32
3.4. Determinación de los efectos ecotoxicológicos.....	34
3.4.1. Bioensayo: <i>Daphnia magna</i>	34

3.4.2. Bioensayo: <i>Lactuca sativa</i>	40
3.4.3. Bioensayo: <i>Vibrio Fischeri</i>	44
3.5. Determinación del riesgo.....	47
3.5.1. Evaluación del riesgo tóxico o para la salud humana.....	47
3.5.2. Evaluación del riesgo ecotoxicológico	50
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
4.1. Caracterización fisicoquímica	51
4.1.1. Parámetros in situ	51
4.1.2. Metales totales	54
4.2. Determinación del peso seco de las muestras de sedimentos.....	54
4.3. Efectos ecotoxicológicos	55
4.3.1. Bioensayo: <i>Daphnia magna</i>	55
4.3.2. Bioensayo: <i>Lactuca sativa</i>	61
4.3.3. Bioensayo: <i>Vibrio fischeri</i>	73
4.4. Evaluación de riesgo tóxico.....	79
4.5. Evaluación del riesgo ecotoxicológico	87
4.5.1. Determinación de la Concentración Ambiental Prevista (PEC).....	87
4.5.2. Determinación de la Concentración Prevista Sin Efecto (PNEC).....	88
4.5.3. Cuantificación del riesgo	89
V. CONCLUSIONES.....	94
VI. RECOMENDACIONES	96
VII. BIBLIOGRAFÍA	97
VIII. ANEXOS	109

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Indicadores demográficos.....	11
Tabla 2: Indicadores socioeconómicos.....	11
Tabla 3: Composición del agua de la laguna Quiulacocha.....	15
Tabla 4: Análisis de sangre en niños de la población de Quiulacocha.....	16
Tabla 5: Materiales y equipos para muestreo de agua y sedimentos.....	23
Tabla 6: Coordenadas UTM de los puntos de muestreo.....	27
Tabla 7: Métodos analíticos en laboratorio	30
Tabla 8: Tiempo de preservación de muestras (días)	32
Tabla 9: Sistema de clasificación de toxicidad para efluentes descargados al medio acuático	34
Tabla 10: Metales inorgánicos y metaloides recomendados por USEPA	47
Tabla 11: Estándares y valores guías de calidad de agua	48
Tabla 12: Nivel de Efecto Umbral (TEL) y Nivel de Efecto Probable (PEL) en calidad de sedimentos de agua dulce	49
Tabla 13: Parámetros in situ de la temporada de lluvias	52
Tabla 14: Parámetros in situ de la temporada seca.....	53
Tabla 15: Concentración de metales inorgánicos y metaloides.....	53
Tabla 16: Peso seco de las muestras de sedimentos	54
Tabla 17: Concentración Letal media (CL50) y Unidades Tóxicas (UT) para 24 y 48 horas de exposición.....	55
Tabla 18: Inmovilización de <i>Daphnia magna</i> a las 24 y 48 horas de exposición para las muestras de agua.....	56
Tabla 19: Inmovilización a las 24 y 48 horas para las muestras de lixiviados de sedimentos.....	58
Tabla 20: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de germinación.....	62
Tabla 21: Porcentaje de inhibición de germinación (muestras de agua)	63
Tabla 22: Porcentaje de inhibición de germinación (muestras de lixiviados de sedimentos)	64
Tabla 23: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de elongación de radícula	66

Tabla 24: Porcentaje de inhibición de elongación de radícula (muestras de agua).....	67
Tabla 25: Porcentaje de inhibición de elongación de radícula (muestras de lixiviados de sedimentos).....	68
Tabla 26: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de elongación de hipocótilo	70
Tabla 27: Porcentaje de inhibición de elongación de hipocótilo (muestras de agua).....	71
Tabla 28: Porcentaje de inhibición de elongación de hipocótilo (muestras de lixiviados de sedimentos).....	72
Tabla 29: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de bioluminiscencia	74
Tabla 30: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (Muestra A1)	74
Tabla 31: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (Muestra A2)	75
Tabla 32: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (Muestra B1).....	76
Tabla 33: Inhibición de bioluminiscencia (Muestra B2)	77
Tabla 34: Efectos en la salud de los metales y metaloides evaluados	84
Tabla 35: Determinación de la concentración ambiental prevista (PEC) de la muestra A1	88
Tabla 36: Selección de la concentración prevista sin efecto (PNEC) de la muestra A1	89
Tabla 37: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de agua A1	90
Tabla 38: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de agua A2.....	91
Tabla 39: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de lixiviado de sedimentos B1	92
Tabla 40: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de lixiviado de sedimentos B2	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama esquemático de los posibles impactos ambientales de industrias de minería/fundición.	7
Figura 2: Volumen de agua disponible y población en el Perú.	9
Figura 3: Ubicación de la laguna Quiulacocha.	10
Figura 5: Transferencia de metales pesados (HMs) en la cadena alimentaria humana.	19
Figura 6: Fases del proceso de Evaluación de Riesgo Ecológico.	21
Figura 7: Hidrograma de precipitación.	24
Figura 8: Temporada de lluvia (2 de febrero del 2019)	24
Figura 10: Temporada seca (10 de agosto del 2019).	25
Figura 11: Toma de muestra en temporada seca	26
Figura 12: Puntos de muestreo para ambas temporadas.	28
Figura 13: Medición de parámetros in situ (temporada de lluvia)	29
Figura 14: Medición de parámetros in situ (temporada seca)	29
Figura 15: Determinación del peso seco.	31
Figura 16: Fórmula para la determinación del peso seco.	32
Figura 17: Descripción de la obtención del lixiviado TCLP	33
Figura 18: Unidades tóxicas (UT).	34
Figura 19: Daphnia magna.	35
Figura 20: Sistema de cultivo	36
Figura 21: Fuente de agua de alimentación	37
Figura 22: Reposición del agua de alimentación.	37
Figura 23: Procedimiento del bioensayo	39
Figura 24: Parámetros evaluados (germinación, radícula e hipocótilo).	40
Figura 25: Semillas “Black rose”	41
Figura 26: Placas Petri con papel filtro	42
Figura 27: Procedimiento del bioensayo	43
Figura 28: Kit 1243-500 WaterTox™ EVO	45
Figura 29: Preparación de diluciones	46
Figura 31: Curvas Concentración-Respuesta	59

Figura 32: Acumulación de complejos de Hierro (III) en el tracto digestivo de Daphnia magna (color azul).....	60
Figura 33: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a las 120 horas de exposición para el bioensayo de <i>Lactuca sativa</i> (inhibición de germinación).....	65
Figura 34: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a las 120 horas de exposición para el bioensayo de <i>Lactuca sativa</i> (Inhibición de elongación de radícula)	69
Figura 36: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a los 30 minutos de exposición para el bioensayo de <i>Vibrio fischeri</i> (Inhibición de bioluminiscencia)	79
Figura 37. Metales que sobrepasan Estándares de Calidad Ambiental (ECA), categoría 4, subcategoría E1	81
Figura 38: Metales que sobrepasan los valores recomendados por la Guía Canadiense de Calidad de Agua para la Protección de la vida Acuática (CWQG, agua dulce)	82
Figura 39: Metales y metaloides que sobrepasan el Nivel de Efecto Umbral (TEL) y el Nivel de Efecto Probable (PEL)	83
Figura 40: Cálculo del PNEC	89

ANEXOS

Anexo 1: Términos ecotoxicológicos	110
Anexo 2: Mapas	113
Anexo 3: Control positivo	115
Anexo 4: Análisis estadístico	117
Anexo 5: Scripts	122
Anexo 6: Metodologías analíticas para la determinación de los parámetros in situ.....	125
Anexo 7: pH y temperatura de las diluciones	126
Anexo 8: Informes de laboratorio.....	130

RESUMEN

La presente investigación evaluó los riesgos tóxicos y ecotoxicológicos en muestras de agua y sedimentos de la laguna Quiulacocha, ubicada en Pasco-Perú, las cuales fueron recolectadas en temporada seca (agosto) y de lluvias (febrero). La evaluación de riesgo tóxico se realizó comparando las concentraciones de metales totales, determinadas mediante Espectroscopia de Emisión Atómica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES), con estándares ambientales peruanos y canadienses. Se concluyó que los niveles de concentración de los siguientes metales: arsénico, cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo, talio y zinc, representan riesgos tóxicos para la salud humana. La evaluación de riesgo ecotoxicológico se realizó determinando los cocientes de riesgo (RQ), mediante el Procedimiento de Lixiviación para la Característica de Toxicidad (TCLP) y los bioensayos: *Daphnia magna* (OCSPP 850.1010), *Lactuca sativa* (EPA/600/3-88/029) y *Vibrio fischeri* (BioTox™ WaterTox™ EVO). En todos los bioensayos, la muestra de agua de temporada seca presentó los menores valores de Concentración Letal media (CL50) y Concentración de Inhibición media (CI50). En el bioensayo realizado con *Daphnia magna* se obtuvo CL50 = 0,096 por ciento; con *Lactuca sativa*, CI50 = 6,90 por ciento (germinación), CI50 = 2,09 por ciento (radícula), CI50 = 3,12 por ciento (hipocótilo); y con *Vibrio fischeri*, CI50 = 0,15 por ciento. La clasificación de toxicidad aguda indicó que la mayoría de las muestras, agua y sedimentos de ambas temporadas, se encuentran en el rango de toxicidad “ALTA” a “MUY ALTA”. Finalmente, los metales que obtuvieron riesgos ecotoxicológicos inaceptables ($RQ > 1$) para las muestras fueron: aluminio (2,08), hierro (202,13), manganeso (52,03), zinc (27,36) para la temporada de lluvias y aluminio (18,89), cobre (2,85), estroncio (2,13), hierro (4394,73), manganeso (1866,27), zinc (1225,29) para la temporada seca. Mientras que para las muestras de lixiviados de sedimentos fueron: aluminio (3,19), arsénico (1,86), hierro (452,33), plomo (12,96), zinc (1,24) para la temporada de lluvias y aluminio (6,29), arsénico (14,82), estroncio (1,06), hierro (4605,75), manganeso (22,65), plomo (19,22), zinc (14,24) para temporada seca.

Palabras clave: Evaluación de riesgos, ecotoxicología, Quiulacocha, metales pesados, bioensayos.

ABSTRACT

This research evaluated the toxic and ecotoxicological risks in water and sediment samples from the Quiulacocha lagoon, located in Pasco-Peru, during the dry (August) and rainy (February) seasons. The toxic risk assessment was done by the comparison of total metal concentrations, obtained from the Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (ICP-AES), with Peruvian and Canadian environmental standards. It was found that the following metals: arsenic, cadmium, copper, chromium, nickel, lead, thallium, and zinc, represent toxic risks for human health. The ecotoxicological risk assessment was performed by determining the risk quotients (RQ), using the “*Toxicity Characteristic Leaching Procedure*” (TCLP) and the bioassays: *Daphnia magna* (OCSPP 850.1010), *Lactuca sativa* (EPA/600/3-88/029) and *Vibrio fischeri* (BioTox™ WaterTox™ EVO). For all the bioassays, the water sample collected during dry season presented the lowest values of mean Lethal Concentration (LC50) and mean Inhibition Concentration (IC50). *Daphnia magna* bioassay, LC50 = 0.096 percent was obtained, for *Lactuca sativa*; IC50 = 6.90 percent (germination), IC50 = 2.09 percent (radicle), IC50 = 3.12 percent (hypocotyl) and for *Vibrio fischeri*; IC50 = 0.15 percent. The acute toxicity classification indicated that most of the samples were within the toxicity range “HIGH” to “VERY HIGH”. Finally, unacceptable ecotoxicological risks ($RQ > 1$) were obtained for the metals: aluminum (2,08), iron (202,13), manganese (52,03), zinc (27,36) for rainy season; and aluminum (18,89), copper (2,85), strontium (2,13), iron (4394,73), manganese (1866,27), zinc (1225,29) for dry season. On the other hand, in the leached of sediment samples were: aluminum (3,19), arsenic (1,86), iron (452,33), lead (12,96), zinc (1,24) for rainy season; and aluminum (6,29), arsenic (14,82), strontium (1,06), iron (4605,75), manganese (22,65), lead (19,22), zinc (14,24) for dry season.

Keywords: Risk assessment, ecotoxicology, Quiulacocha, heavy metals, bioassays.

I. INTRODUCCIÓN

La minería es considerada en muchos países como un motor clave para impulsar el desarrollo económico, ya que genera nuevas oportunidades de empleos, aumento de la recaudación tributaria y nueva infraestructura. La Organización de Naciones Unidas (ONU) reconoce el alto potencial de la industria minera para contribuir positivamente al logro de los Objetivos de Desarrollo Sostenibles (ODS), los cuales tienen como meta integral el desarrollo humano transgeneracional (PNUD, 2016).

A pesar de todos los beneficios que podría generar esta actividad, si los actores responsables (Estado, empresa, población) no ejercen una gestión sostenible, se desencadenará una serie de impactos negativos sobre la salud humana y el ambiente, dando lugar al surgimiento de conflictos socioambientales. Lo cual se traduce en el deterioro de la calidad de vida de las personas y la pérdida de biodiversidad.

El Perú no se encuentra exento a esta problemática, en la actualidad cuenta con 8448 pasivos ambientales mineros (MINEM, 2019). Los cuales son definidos como “aquellas instalaciones, efluentes, emisiones, restos o depósitos de residuos producidos por operaciones mineras, en la actualidad abandonadas o inactivas y que constituyen un riesgo permanente y potencial para la salud de la población, el ecosistema circundante y la propiedad” (MINAM, 2017).

El ámbito de estudio de la presente investigación es la laguna Quiulacocha, ubicada en el departamento de Pasco, distrito Simón Bolívar. Esta laguna se encuentra catalogada como un pasivo ambiental minero y su historia comienza en el año 1900 con la llegada de la Cerro de Pasco Cooper Corporation, quienes empezaron con la disposición del relave minero en la laguna Quiulacocha, “iniciando con ello su desaparición y el éxodo de especies de aves y roedores, así como la muerte de truchas y ranas” (Blanchiani y Labor, 2009).

“La minería en Pasco ha dinamizado la economía local, con la generación de empleos y mayor demanda de bienes y servicios, considerándose como la región más productiva del país” (R. Benavides, 2012). Sin embargo, su realidad ambiental es crítica, reflejándose en los 544 pasivos ambientales pertenecientes solo en el departamento de Pasco, de los cuales 24 se encuentran en el distrito Simón Bolívar.

1.1. Justificación

La extracción minera es una actividad de tiempo limitado. En el caso peruano, la gestión ambiental data desde hace 30 años aproximadamente (las obligaciones ambientales fueron establecidas inicialmente con el Decreto Legislativo N° 708 del año 1992), motivo por el cual la actividad minera de fecha anterior - que no aplicó instrumentos ambientales - terminaron abandonadas y sin un debido cierre de actividad, convirtiéndose en los comúnmente conocidos pasivos ambientales. Estos, por sus extremas características fisicoquímicas, resultan altamente influyentes en la calidad de vida de las poblaciones y generan perturbaciones en el equilibrio de los ecosistemas, incluso aún, pudiendo terminar en pérdidas completas de biodiversidad.

La laguna Quiulacocha fue utilizada como depósito de relaves mineros desde los primeros años del siglo pasado (CESEL, 2006), posteriormente se le categorizó como un pasivo ambiental. Asimismo, se encuentra rodeada de los relaves Excelsior, Ocroyoc y está ubicada al lado del poblado Quiulacocha. Debido a los factores mencionados, los recursos agua, aire y suelo se convirtieron en fuentes potenciales de contaminación, causando daños a la salud de los pobladores y al ecosistema de esta zona, los cuales están descritos en los siguientes estudios previos:

Según la Asociación Civil Centro Labor (2006) los servicios ambientales que brindaba esta laguna a la población fueron desapareciendo a la par con el desarrollo de la actividad minera, desde hace aproximadamente 60 años. Uno de los mayores servicios que brindaba esta laguna era el de fuente de recursos genéticos de aves, el cual vino acompañado de los beneficios de estas al ecosistema. Además, de funcionar como reservorio de recurso hídrico. No obstante, a la fecha no existe ninguno de estos servicios ecosistémicos.

Un estudio elaborado por el Ministerio de Salud (2005) a 112 niños del poblado de Quiulacocha determinó que “la prevalencia de plumbemia en niños de Quiulacocha es de 89,20 por ciento, observándose que el 34,2 por ciento de 15 a 19,9 $\mu\text{g/dL}$ y 22,5 por ciento de 20 a 44,99 $\mu\text{g/dL}$ ”. Mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un límite de 10 $\mu\text{g/dL}$ de plomo en sangre.

Además, Source International de Italia (2018) realizó una evaluación de la calidad de agua de la laguna Quiulacocha y concluyó:

“... se encontraron muchos animales muertos (principalmente aves y perros) intoxicados por ingerir esa agua. Asimismo, afirmaron que la población se encontraba muy expuesta a la contaminación por vapores y polvos, compuestos de grandes cantidades de metales pesados y que las aguas residuales se infiltraban en los acuíferos”.

Las empresas mineras y poblaciones de la zona vierten sus aguas industriales y descargas domésticas a la quebrada Quiulacocha, la cual desemboca en el río San Juan (E. Paz, 2016). Asimismo, según O. Rojas (2018) la relavera Quiulacocha y el desmote Excelsior tienen conexiones subterráneas con el río Ragre, el cual tiene un recorrido de 7941 m y un ancho de 1 – 3,5 m. Es importante resaltar que las aguas residuales de Cerro de Pasco son captadas mediante canales que bordean el tajo abierto, la relavera Quiulacocha, el desmote Excelsior y son descargadas al río Ragre sin ningún proceso de tratamiento (OEFA, 2012).

Cerro de Pasco, ciudad ubicada a 2 km aproximadamente de Quiulacocha, fue declarada en estado de emergencia sanitario por Decreto Supremo 020-2017-SA, “debido a la presencia de contaminantes en el agua para consumo humano (hierro, arsénico, aluminio, plomo, coliformes fecales y organismos de vida libre, entre otros) que superan los límites máximos permisibles y por la presencia de metales pesados (arsénico, plomo, cadmio y mercurio) en el suelo de uso residencial y parques, que exceden los estándares de calidad para suelos”. Además, la British Broadcasting Corporation (BBC), fuente periodística de alto prestigio, se pronunció en el 2018, catalogando a Cerro de Pasco como una de las ciudades más contaminadas del mundo.

A partir de toda la evidencia mencionada, se puede concluir que la laguna Quiulacocha necesita una evaluación de riesgo ambiental. Para dichos fines, la presente investigación propone determinar el nivel de toxicidad promedio de esta laguna, mediante la evaluación del riesgo y el uso de bioensayos. “La importancia de los bioensayos en el control de la contaminación se basa en la capacidad de estos de valorar efectos sobre los organismos vivos, permitiendo establecer relaciones dosis-respuesta para un determinado compuesto químico” (P. Sánchez, 2002).

1.2. Alcance del estudio

El enfoque de la presente investigación es experimental, busca evaluar el nivel de toxicidad promedio de la laguna Quiulacocha y los riesgos a los que se encuentran expuestos la población de Quiulacocha y el ecosistema, a partir de la determinación de cocientes de riesgos e indicadores de toxicidad como Concentración Letal Media (CL50) y Concentración de Inhibición Media (CI50), para muestras de agua y sedimentos de la laguna Quiulacocha.

Dentro de lo planteado anteriormente, es importante recalcar que la toma de muestras (agua y sedimentos) fue superficial y el número de puntos de muestreo se hizo en función del grado de accesibilidad en la laguna. Asimismo, este estudio no incluye la identificación de las fuentes generadoras de contaminación de la laguna. Para ello, se hubiera necesitado realizar estudios hidrogeoquímicos.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar el riesgo tóxico y ecotoxicológico de la laguna quiulacocha mediante el uso de bioensayos con *daphnia magna*, *lactuca sativa* y *vibrio fischeri*.

1.3.2. Objetivos específicos

- Realizar la caracterización fisicoquímica de la laguna Quiulacocha: conductividad, oxígeno disuelto, metales, pH, potencial redox y temperatura.
- Evaluar el riesgo tóxico en función de los Estándares de Calidad Ambiental (Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM), Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life (CCME, 1999), Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life (CCME, 2001).

- Evaluar el riesgo ecotoxicológico de las muestras de agua y sedimentos mediante la determinación del cociente de riesgo.
- Realizar la prueba Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TLCP), EPA-1311; para las muestras de sedimentos.
- Evaluar los efectos ecotoxicológicos de las muestras de agua y lixiviados de sedimentos, utilizando las pruebas de inmovilización de *Daphnia magna*, OCSPP 850.1010; germinación y elongación de *Lactuca sativa*; EPA/600/3-88/029 y *Vibrio fischeri*; BioTox™ WaterTox™ EVO Kit 1243-500.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Minería del Perú

La industria minera se encuentra relacionada a la economía y al ambiente. Este sector atrae una gran cantidad de inversiones, influyendo principalmente en los países en vías de desarrollo como el Perú. Sin embargo, la minería también es una fuente de pasivos ambientales y conflictos socioambientales, debido a la naturaleza del desarrollo de los procesos de su actividad (OSINERGMIN, 2007).

Como menciona M. Glave (2007):

“Los peruanos tenemos una relación de amor-odio con la minería. La larga tradición minera del país y su contribución a la generación de divisas necesarias para mantener el equilibrio macroeconómico hacen que este sector sea apreciado y considerado por varios grupos de la sociedad como el motor del crecimiento de la economía peruana”.

No obstante, a lo largo de los años el rol de Estado como intermediario entre la población y las empresas mineras, no ha seguido los principios de sostenibilidad de forma eficiente. Conllevando a una generación de impactos ambientales significativos (Figura 1).

La mitigación de estos impactos se realiza mediante las acciones establecidas en los instrumentos de gestión ambiental. Sin embargo, según Greenpeace Argentina y R. Morán (2013) es común que estos instrumentos (Declaraciones / Evaluaciones de Impacto Ambiental) subestimen los costos futuros asociados a la mitigación y remediación de impactos ambientales, ya que habitualmente se hacen suposiciones optimistas, poco realistas del verdadero grado de significancia en el ecosistema.

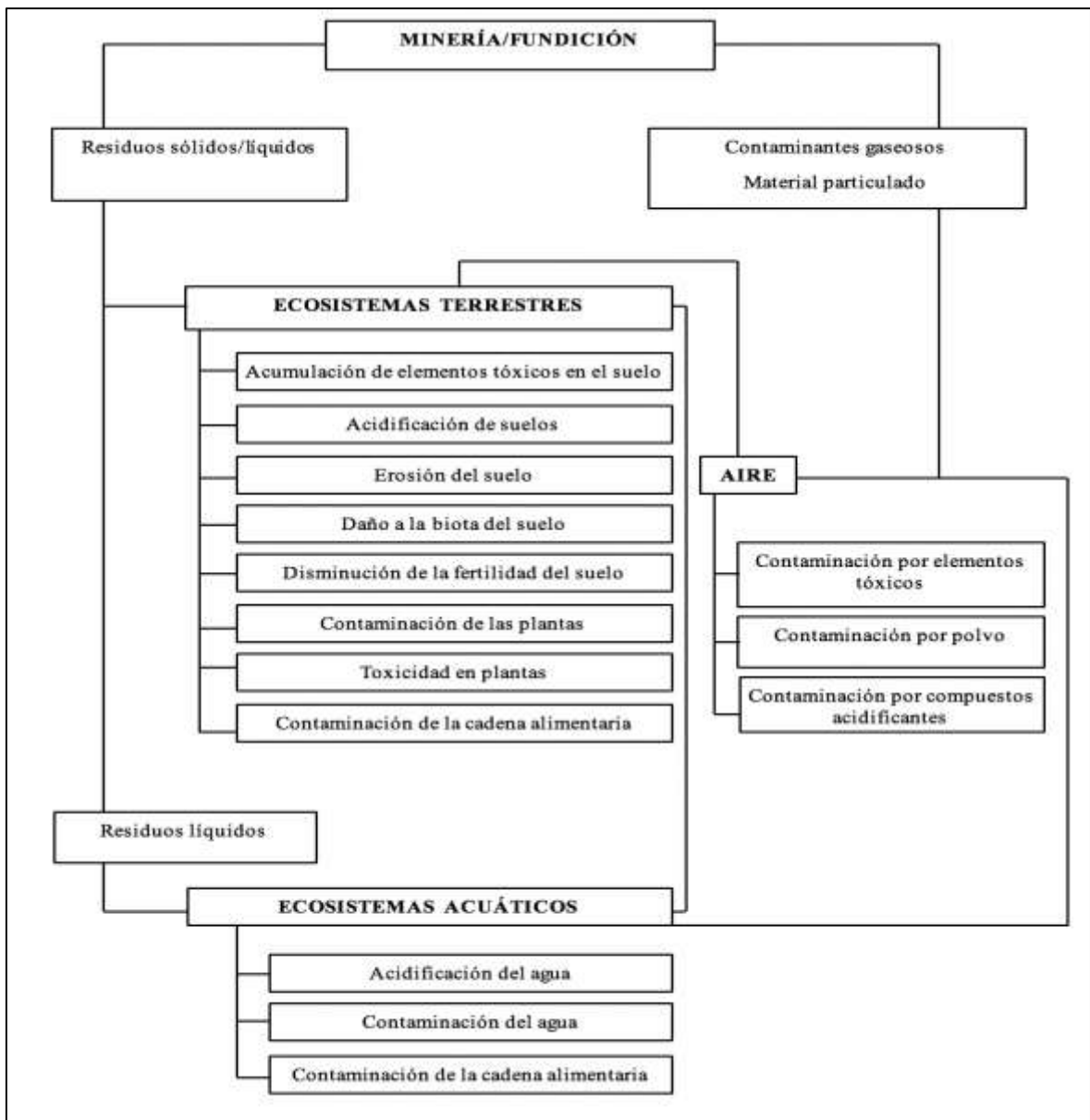


Figura 1: Diagrama esquemático de los posibles impactos ambientales de industrias de minería/fundición. Adaptado de “Environmental Impacts of Metal Ore Mining and Processing: A Review,” por S. Dudka & D.C. Adriano, 1997, *Journal of Environmental Quality*, 26(3), 590.

Según el INGEMMET (2017), el Perú se proyecta a que su beneficio económico estimado hasta el 2050, derivado del aprovechamiento de nuestros recursos minerales metálicos, sería del orden de los US\$ 734 mil millones y en una hipótesis conservadora, de US\$ 547 mil millones. Parece un panorama muy gratificante pero incluso aún con estas cifras, los problemas de pobreza, equidad y conflictos socioambientales siguen vigentes en la sociedad peruana.

2.2. Recurso hídrico

El recurso hídrico es cada vez más escaso en el mundo, el crecimiento de la población, la intensificación de las actividades antropogénicas y entre otras variables, hacen que el volumen disponible por cada habitante sea menor con cada año. Al año 2050 se proyecta que la demanda global por agua aumente en un 55 por ciento, debido a la creciente demanda de la industria (+400%), la generación de energía termoeléctrica (+140%), el uso doméstico (+130%) y también a que existirán 2 mil 300 millones de personas más que hoy (OECD, 2012). Asimismo, si se persiste en el enfoque actual de la gestión del agua, al 2030 se podría esperar una brecha del 40 por ciento en el suministro de agua dulce (2030 Water Resources Group, 2014).

Según PNUD (2009) el Perú es un país privilegiado en términos de recursos hídricos, su extensión territorial representa el 0,87 por ciento de la superficie continental global, pero posee el 4,6 por ciento del agua superficial del planeta. “Aunque el agua en el Perú, en general, dista de ser un recurso escaso, es un hecho que no está disponible de forma natural en el espacio y tiempo que se la necesita” (MINAGRI y ANA, 2013). La Figura 2 muestra la disponibilidad de agua en Perú, en función de la cantidad de habitantes por cada cuenca hidrográfica.

No solo la disponibilidad de este recurso debe ser motivo de preocupación, sino también su calidad. Según PNUD y OMS (1996), la calidad de agua es un término utilizado para expresar la idoneidad del agua para sustentar diversos usos o procesos. Cualquier uso particular tendrá ciertos requisitos para las características físicas, químicas o biológicas del agua, es decir, que dependiendo del uso del agua se utilizarán diferentes parámetros fisicoquímicos para evaluar la calidad para un uso específico.

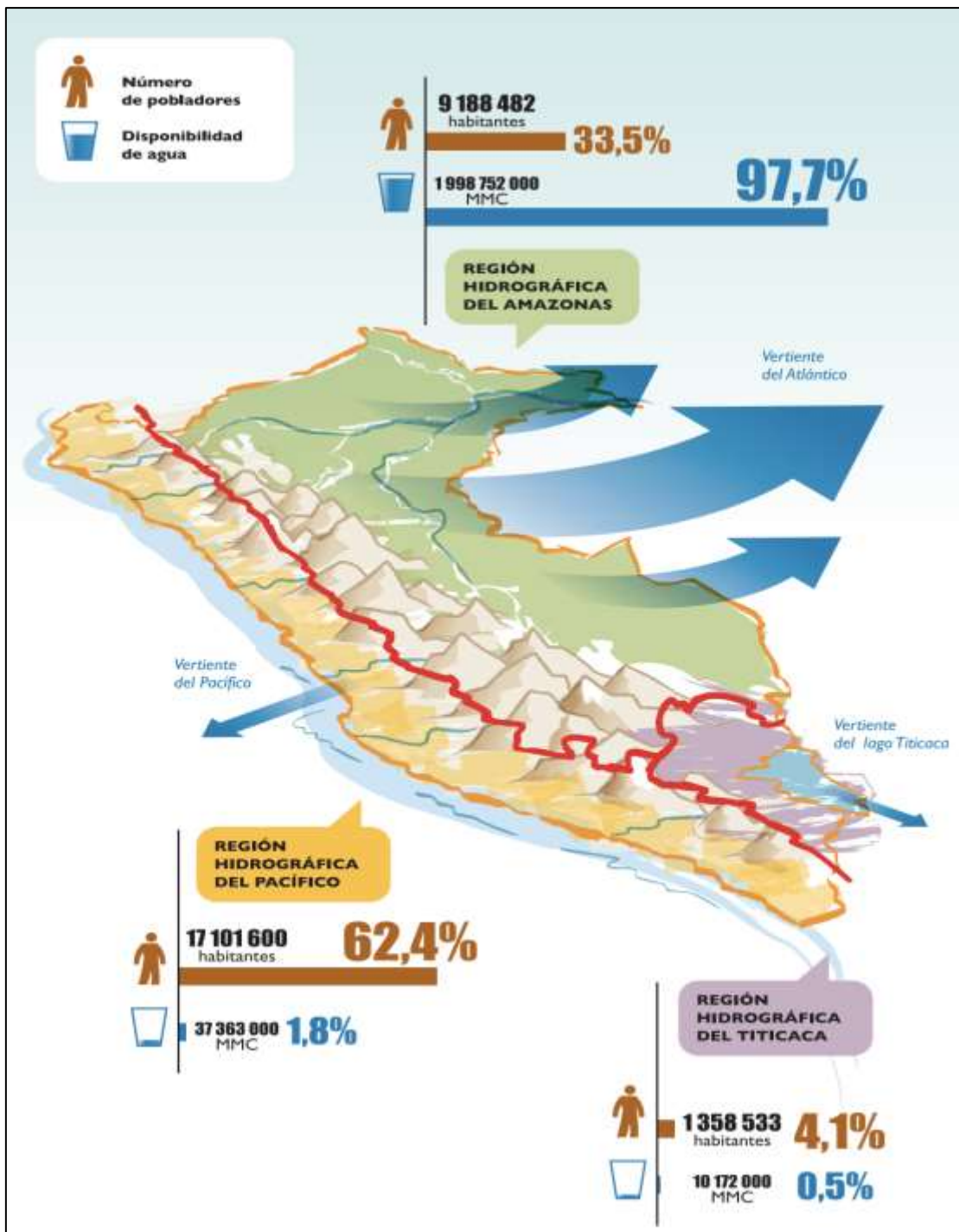


Figura 2: Volumen de agua disponible y población en el Perú. Recuperado de “Viene de las alturas: disponibilidad y usos del agua,” por Programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), 2009, *Informe sobre Desarrollo Humano, Perú 2009: Por una densidad del Estado al servicio de la gente*, 57-79. Copyright 2010 por el Programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).

2.3.2. Indicadores demográficos y socioeconómicos

Tabla 1: Indicadores demográficos

Indicador	Unidad de medida	Periodo (años)	Perú	Pasco
Población total	habitantes	2015	31 151 643	306 158
Población urbana	%	2015	76,20	64
Población rural	%	2015	76,20	36
Densidad poblacional	hab/km2	2015	24,20	12
Nacimientos anuales	nacimientos	2010-2015	588 806	6538
Tasa bruta de mortalidad	x 1000 hab.	2010-2015	5,50	5,50
Defunciones anuales	muerres	2010-2015	167 303	1654
Tasa global de fecundidad	hijos por mujer	2015	3	2,70
Esperanza de vida al nacer (hombres y mujeres)	años	2010-2015	74,13	71,40

Nota: Adaptado de “Análisis de situación de Pasco,” por Ministerio de Salud, 2015.

Tabla 2: Indicadores socioeconómicos

Indicador	Unidad de medida	Período (años)	Perú	Pasco
Población alfabeta (15+ años) Total	%	2014	93,60	93,60
Escolaridad promedio (15+ años)	Hombre	2014	10,30	10
	Mujer		10	9,40
Hogares con acceso a servicios básicos	Agua	2014	81,70	71,50
	Saneamiento		91,20	76,30
Pobreza (Línea de pobreza)	Luz eléctrica	2014	91,40	79,60
	Total		22,70	39
Ingreso real promedio per cápita mensual, por variación porcentual	Extrema	2014	4,30	10,20
Ingreso real promedio per cápita mensual, por variación porcentual	base 2012, Nuevos soles (S/.)	2009-2014	855	590
Índice de desarrollo humano (IDH)	IDH	2012	0,506	0,411

Nota: Adaptado de “Análisis de situación de Pasco,” por Ministerio de Salud, 2015.

2.4. Contaminación en Quiulacocha

“Cuando se habla de casos como Cerro de Pasco y La Oroya, algunos dicen que esta es la minería del pasado. Sin embargo, para poblaciones como las de Simón Bolívar todo esto es un dramático presente y están luchando para que no sea el futuro para ellos y sus hijos. Mientras no se solucione este tipo de casos, la minería seguirá siendo vista como una actividad contaminadora que vulnera un derecho fundamental: el derecho a la salud que todo ser humano espera que sea respetado y salvaguardado” (CooperAcción, 2017).

Los pasivos ambientales mineros constituyen uno de los problemas más complejos y potencialmente riesgosos para el Perú. Con un total 8795 pasivos ambientales hasta la actualidad, de los cuales 544 pertenecen al departamento de Cerro de Pasco y 24; al distrito Simón Bolívar (MINEM, 2019).

La historia de la minería en Quiulacocha y en Pasco en general, no es reciente. En el año 1900 llega Cerro de Pasco Cooper Corporation, empresa que inicia el arrojado de relave minero a la laguna de Quiulacocha, luego aparece CENTROMIN PERÚ, quienes comienzan a explotar a tajo abierto y finalmente, Volcan Cía. Minera explotando hasta la actualidad el Tajo Abierto “Raúl Rojas” y las minas del entorno, con la amenaza de desaparecer la antigua ciudad del Cerro de Pasco” (Blanchiani y Labor, 2009).

En la actualidad, para el caso particular de la laguna de Quiulacocha, la cual se encuentra a 30 metros del poblado de Quiulacocha, aproximadamente. Son 3 los relaves los que circundan a esta laguna: Quiulacocha, Excelsior y Ocroyoc (Figura 4). Debido a la conexión hidrológica que existe entre ellos y la laguna, se les considera como los posibles causantes de la contaminación del cuerpo de agua en estudio.

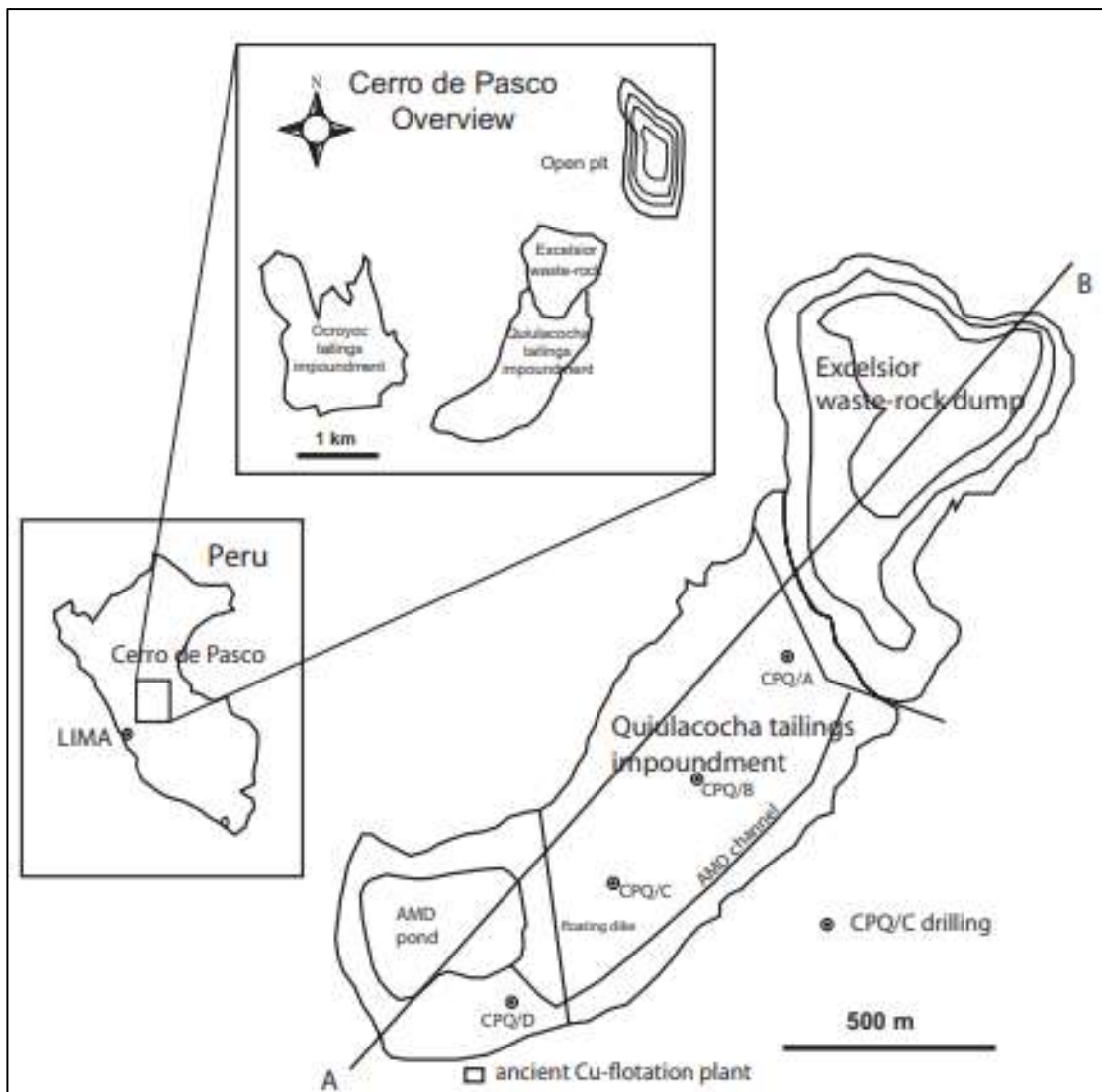


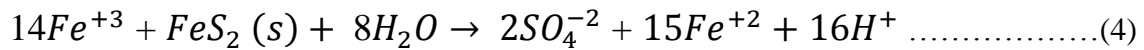
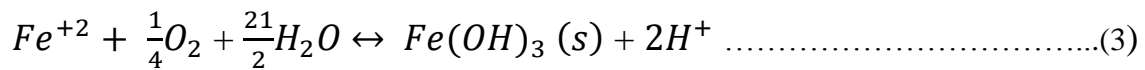
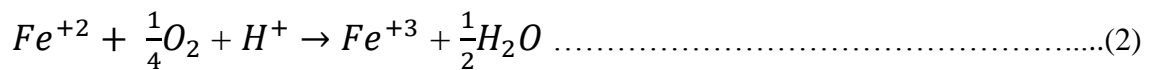
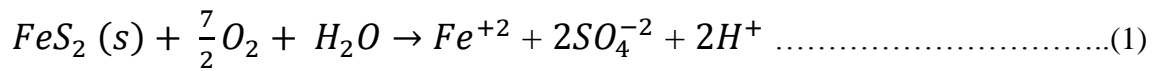
Figura 4: Distribución de los relaves cercanos a la laguna Quiulacocha. Recuperado de “Geochemistry and mineralogy of the Quiulacocha tailings impoundment from the polymetallic Zn-Pb-(Ag-Bi-Cu) deposit Cerro de Pasco, Peru. 2199-2206,” por C. Wade, B. Cold & L. Fontboté, 2006, *Journal of American Society of Mining and Reclamation*, 2199-2206.

Los relaves mineros son definidos como mezclas de rocas trituradas y fluidos provenientes de los procesos de la actividad minera (Kossoff et al., 2014). Las condiciones ambientales determinarán la formación de Drenaje Ácido de Mina (DAM) a partir de los relaves mineros, es decir, los relaves actúan como “materia prima” de los DAMs. Estos últimos son definidos como aguas ácidas con altas concentraciones de metales formadas a partir de reacciones químicas entre el agua y minerales que contienen azufre (USEPA, 2018).

Nordstrom y Alpers (1997) afirman que el proceso de oxidación de la pirita es el principal responsable de la formación de aguas ácidas. Por tal motivo, es necesario entender los

procesos químicos involucrados en la formación de DAMs con el fin de proponer medidas de remediación y medidas de prevención siendo estas últimas las más eficientes, ya que se reducirían costos para las empresas y lo más importante, los impactos sobre la biodiversidad y la salud serían reducidos drásticamente.

Las reacciones involucradas en la formación de DAMs según Chaparro, 2015, son:



La reacción (1) muestra el proceso de oxidación de la pirita, en este paso el oxígeno actúa como agente oxidante principal y los sulfuros se oxidan a sulfatos. La reacción (2) muestra la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} . Si el pH es mayor a 4,5, hierro ferroso se oxida e hidroliza para formar hidróxidos que son precipitados de color rojo-naranja muy característicos de los DAMs (3) y si el pH es menor a 4,5, el proceso que sucederá mayoritariamente será la oxidación del hierro ferroso a férrico y este último actuará como el agente oxidante principal de la pirita, reemplazando al oxígeno atmosférico y generándose mayor acidez tal como se muestra en la reacción (4).

Por otra parte, Wade et al., (2006) realizó un estudio geoquímico y mineralógico del relave en Quiulacocho y determinó la relación entre la contaminación crítica de la laguna y los DAMs. Identificó 2 tipos de relaves, los de sulfuro de Cu y Zn-Pb. Asimismo, concluyó que la conexión hidrológica de los tres sistemas de desechos mineros (relaves) en Cerro de Pasco (Excelsior, Quiulacocho, Ocroyoc) es la causa principal de estado crítico de la laguna, ya que el relave Quiulacocho por sí solo no representa un aporte significativo de drenaje ácido de mina (DAM) debido a la presencia de material con alta cantidad de carbonatos, capaces de neutralizar la acidez producida a través de la oxidación de sulfuro, es el relave Excelsior el que aporta la acidez sobre la laguna Quiulacocho.

Los metales pesados representan una amenaza para la biodiversidad y salud de las personas, siempre y cuando se den las condiciones ambientales necesarias para que se encuentren biodisponibles, lo cual dependerá de parámetros como el pH, temperatura, potencial redox, etc. Según Bourg & Loch (1995), los sólidos presentes en suelos, acuíferos y cuerpos de agua superficiales pueden retener cantidades significativas de metales pesados tóxicos, cuya retención es controlada principalmente por los fenómenos geoquímicos de adsorción y precipitación. Además, mencionan que la liberación potencial de contaminantes almacenados en los sólidos hacia la fase acuosa, la dispersión en el ambiente y la disponibilidad para la biota, está controlada principalmente por las variables de pH y potencial redox.

Por lo mencionado en el párrafo anterior, se entiende que esta laguna presenta las condiciones fisicoquímicas favorables para el incremento de la solubilidad de metales pesados en el agua y sedimentos de la laguna. Lo cual es corroborado por estudios como los que se presentan en Tabla 3 que demuestran las elevadas concentraciones de sulfatos y metales pesados contenidos en esta.

Tabla 3: Composición del agua de la laguna Quiulacocha

Composición	Wade et al. (2006)	Blanchianni & Labor (2009)
pH	2,3	3,9
Cl^-	85,50 mg/L	
SO_4^{2-}	44424 mg/L	8949,55 mg/L
Na^+	111 mg/L	
K^+	63 mg/L	
Mg^{2+}	4032 mg/L	
Ca^{2+}	900 mg/L	
Al	56,70 mg/L	30,57 mg/L
As	6,54 mg/L	
Cu	26,90 mg/L	33,73 mg/L
Fe	1691 mg/L	3911 mg/L
Pb	0,63 mg/L	
Zn	578,10 mg/L	335,20 mg/L

Nota: Adaptado de “Geochemistry and mineralogy of the Quiulacocha tailings impoundment from the polymetallic Zn-Pb-(Ag-Bi-Cu) deposit Cerro de Pasco, Peru. 2199-2206,” por C. Wade, B. Cold & L. Fontboté, 2006, *Journal of American Society of Mining and Reclamation*, 2199-2206. Y, “Evaluación de la Calidad de los Recursos Hídricos en la Provincia de Pasco y de la Salud en el Centro Poblado de Paragsha,” por F. Blanchini & Asociación Civil Centro de Cultura Popular Labor, 2009.

Por otra parte, debido a los antecedentes sobre la contaminación de la laguna, Astete et al., (2009) realizó un estudio de intoxicación por plomo en 124 niños y niñas menores a 10 años de edad de la población de Quiulacocha, en el cual se concluyó que la prevalencia de intoxicación por plomo ($Pb > 10 \mu\text{g/dL}$, límite recomendado por la Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos) fue en promedio de 85,8 por ciento del total de evaluados, corroborando la situación crítica que vive esta población desde hace muchos años (Tabla 4).

Tabla 4: Análisis de sangre en niños de la población de Quiulacocha.

Nivel de plomo ($\mu\text{g/dL}$)	Quiulacocha (%)
< 10	10,80
10 a 14,49	32,40
15 a 19,9	34,2
> 20	22,5

Nota: Adaptado de “Intoxicación por Plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros,” por J. Astete, M. Gastañaga, C. Lucero, M. Sabastizagal, T. Pari & F. Rodríguez, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 26(1), 15-19.

“La intoxicación plúmbica crónica constituye un problema de salud pública en Perú y se presenta principalmente en poblaciones con exposición ambiental a contaminación minera. En múltiples regiones de nuestro país se han identificado áreas críticas de contaminación por plomo con efectos indeseables en la salud de sus pobladores, pero a la fecha la gran mayoría se encuentran pendientes de solución” (Ramos et al., 2009).

2.5. Ecotoxicología

En las últimas décadas, la mejora en eficiencia y la innovación en tecnologías, ha incrementado exponencialmente los niveles de producción en todos los sectores económicos. Lo cual ha ocasionado un incremento de la contaminación y polución, generando mayores impactos al ambiente y aumentando la liberación de sustancias químicas a este.

La ecotoxicología es una herramienta para evaluar “la polución, su origen, evolución e interacciones con las moléculas que integran dinámicamente los ecosistemas, sus acciones y efectos sobre los seres vivos que forman estos ecosistemas” (Sanz, 1975). En tal sentido, proporciona información representativa de la significancia de los impactos ambientales en términos de toxicidad.

Forbes y Forbes (1994) describen los objetivos de la ecotoxicología:

- Generar información que puedan usarse para respaldar las decisiones de evaluación de riesgos y gestión ambiental.
- Verificar la validez de los requisitos legales que regulan el desarrollo, fabricación o liberación de sustancias potencialmente peligrosas.
- Desarrollar principios empíricos o teóricos para una mayor comprensión del comportamiento y los efectos de los productos químicos en los organismos.

2.5.1. Ecotoxicología en ecosistemas acuáticos

G. Rand (2003) describe la ecotoxicología acuática como el estudio de los efectos de los productos químicos y otros materiales de actividades antropogénicas y naturales (denominados colectivamente agentes o sustancias tóxicas) en organismos acuáticos en diversos niveles de organización, desde organismos subcelulares hasta organismos individuales, comunidades y ecosistemas. Priorizando los efectos adversos a nivel del organismo incluyen letalidad a corto y largo plazo (expresada como mortalidad o supervivencia) y subletal, como cambios en el comportamiento, crecimiento, desarrollo, reproducción, actividad de captación y desintoxicación, y estructura tisular.

Herramientas como la ecotoxicología sirven para entender como los contaminantes interactúan en el ambiente acuático y cuál es el nivel de toxicidad para este medio y sus componentes. A continuación, se presenta algunos estudios en los cuales se determinaron los efectos ecotoxicológicos de agua y sedimentos para diferentes lagunas, mediante el uso bioensayos:

- Libralato et al., (2008) aplicaron el test Microtox® con la bacteria *V. fischeri* para la determinación de toxicidad aguda a los sedimentos de laguna “Venecia” (Italia), la cual se ve afectada por la presencia de áreas industriales y urbanas cercanas. Después de 10 años de recopilación de data de esta prueba a la laguna, se verificó la sensibilidad y la capacidad discriminatoria de la prueba de fase sólida Microtox®, los últimos resultados de 45 sitios ubicados tanto en la laguna como en los canales internos de la ciudad de Venecia indicaron una amplia gama de condiciones tóxicas.
- Martínez et al. (2008), realizaron una comparación entre la respuesta al efecto tóxico de las especies *Simocephalus mixtus* y *Daphnia magna* expuestas a los sedimentos de la laguna “El Limón” (México), la cual ha recibido más de 40 años de descargas de aguas

residuales no tratadas de un complejo petroquímico. No se registraron efectos tóxicos agudos para una exposición de 48 horas del efluente sobre ambos individuos. Sin embargo, se evidenció retraso en el inicio de la reproducción para la prueba de toxicidad crónica. Se concluyó que los efectos agudos y crónicos que observaron fueron provocados por la presencia de compuestos tóxicos en las muestras de sedimentos, pero fue difícil discriminar una relación directa con tóxicos específicos.

- L. Marín (2007) evaluó la toxicidad del agua de la laguna “Mal Menor” (España), la cual es afectada por los residuos de las actividades mineras, contribuyendo en la contaminación por metales pesados y en la generación de drenajes ácidos de mina. Utilizó, como criterio de toxicidad, el estadio de larva *pluteus* totalmente desarrollada. Concluyendo que los metales analizados causaron efectos embritoxicos debido a un efecto sinérgico en la mezcla de metales y sustancias no identificadas.

Por lo mencionado en los estudios anteriores, se puede concluir que la utilización de bioensayos es muy aceptada al momento de evaluar los impactos reales en un ecosistema y puede servir en la toma de decisiones para antes de realizar alguna actividad que pueda generar impactos sobre el ambiente (principio precautorio) o para después, en planes de mitigación y remediación.

2.5.2. Efectos ecotoxicológicos

Los efectos ecotoxicológicos hacen referencia a cómo la exposición a una sustancia tóxica puede causar efectos en la salud humana y/o biota de un ecosistema. Esta investigación utilizará como sustancias tóxicas de estudio a los metales pesados, los cuales, dependiendo de la especiación química, ocasionarán diferentes efectos tóxicos. Los metales pesados tienen la capacidad de bioacumularse fácilmente, por lo tanto, pueden transferir los efectos tóxicos en toda una cadena trófica, incluso en la cadena alimentaria humana (Figura 5).

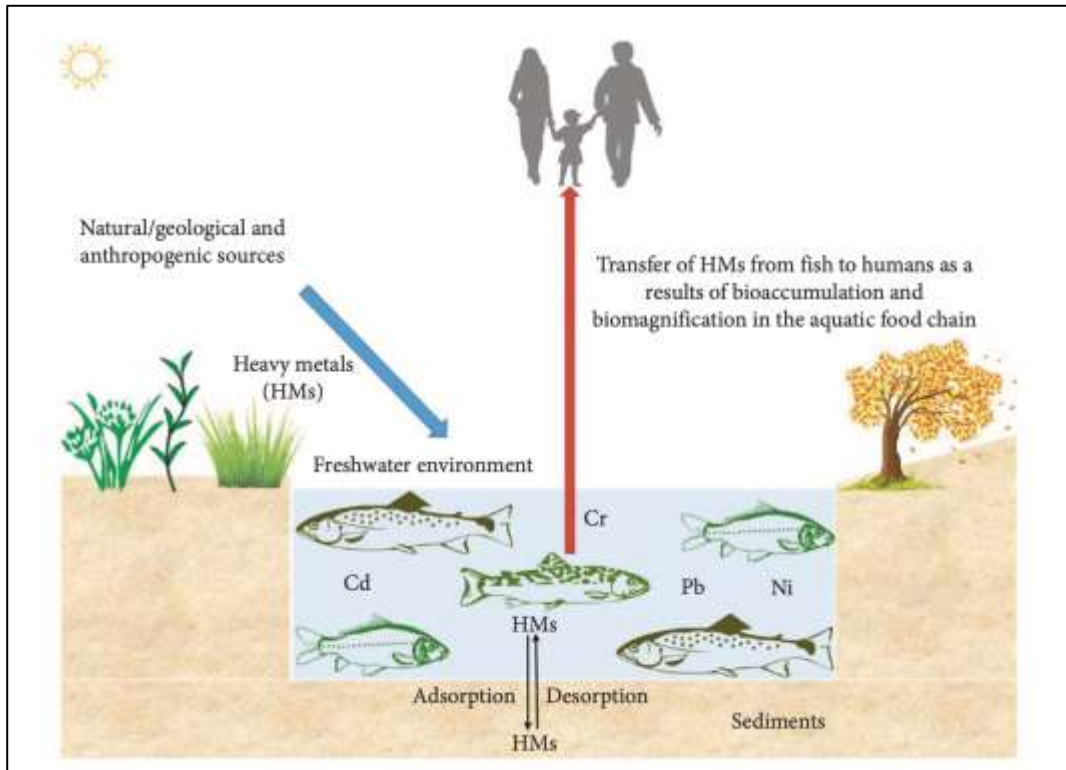


Figura 5: Transferencia de metales pesados (HMs) en la cadena alimentaria humana. Recuperado de “Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation,” por H. Ali, E. Khan & I. Ilahi, 2019, *Hindawi Journal of Chemistry*, 14. Copyright 2019 por Hazrat Ali et al.

Estudios como los de K. Jiang et al., (2019) demostraron que la exposición a metales pesados puede causar una disminución significativa del rendimiento morfológico y fisiológico de cultivos como el trigo. Mientras V. Funes et al., (2006), realizaron un estudio en ostras (*Crassostrea angulata*) y mejillones (*Mytilus galloprovincialis*) provenientes del litoral español del Atlántico sur, contaminado con Cobre y Zinc, concluyendo que estos metales pesados catalizan la formación de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), los cuales ocasionaron un daño oxidativo significativo en biomoléculas importantes como el ADN y lípidos, de estas especies.

Para comprender los efectos ecotoxicológicos a determinar en esta investigación, en el anexo 1 se presenta una lista de términos establecidos por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

2.6. Evaluación de riesgo tóxico o para la salud humana

El riesgo para la salud humana se puede definir como "la probabilidad de efectos adversos resultantes de la exposición a un agente ambiental o una mezcla de agentes" (USEPA, 2003). Cuando se identifica un problema o peligro, se evalúan los posibles efectos sobre la salud humana y se evalúan las posibles vías de exposición. A continuación, se describen las etapas de la evaluación de riesgo para la salud humana, según la información consignada en el portal oficial de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), actualizado al 2017:

- Etapa 1: Identificación del Peligro. Es el proceso de determinar si la exposición a un factor estresante puede causar un aumento en la incidencia de efectos adversos específicos para la salud (por ejemplo, cáncer, defectos de nacimiento). También es si el efecto adverso para la salud es probable que ocurra en humanos.
- Etapa 2: Evaluación de Dosis-Respuesta. Describe cómo la probabilidad y la gravedad de los efectos adversos para la salud (las respuestas) están relacionadas con la cantidad y el estado de exposición a un agente (la dosis proporcionada).
- Etapa 3: Evaluación de la Exposición. Es el proceso de medir o estimar la magnitud, frecuencia y duración de la exposición humana a un agente en el medio ambiente, o estimar exposiciones futuras para un agente que aún no se ha liberado. La exposición puede medirse directamente, pero comúnmente se realiza una estimación indirectamente a través de las concentraciones medidas en el medio ambiente, modelos de transportes químicos y estimaciones de la ingesta humana a lo largo del tiempo.
- Etapa 4: Caracterización del riesgo. Tiene el objetivo de otorgar el criterio para la toma de decisiones al evaluador de riesgos, haciendo referencia a la naturaleza y existencia de riesgos. Además de entregar la información sobre cómo se evaluó el riesgo, dónde todavía existen suposiciones e incertidumbres, y dónde será necesario tomar decisiones políticas.

2.7. Evaluación de riesgo ecotoxicológico

El riesgo para el ecosistema o riesgo ecológico se evalúa principalmente con modelos ecotoxicológicos, los cuales son diseñados mediante información obtenida de pruebas ecotoxicológicas o bioensayos. Estos, al utilizar como fundamento científico la exposición

de sustancias sobre organismos vivos, brindan una valoración mucho más real que, por ejemplo, una caracterización de solo parámetros ambientales.

Según USEPA (1998), la evaluación del riesgo ecológico incluye tres fases principales: del problema, análisis y caracterización del riesgo.

- Formulación de problemas: los evaluadores de riesgos evalúan los objetivos y seleccionan los puntos finales de la evaluación, preparan el modelo conceptual y desarrollar un plan de análisis.
- Análisis: los evaluadores evalúan la exposición a agentes estresores y la relación entre los niveles de estresores y los efectos ecológicos.
- Caracterización del riesgo: los evaluadores estiman el riesgo a través de la integración de los perfiles de exposición y respuesta al agente estresores, describen el riesgo discutiendo líneas de evidencia y determinando la adversidad ecológica.

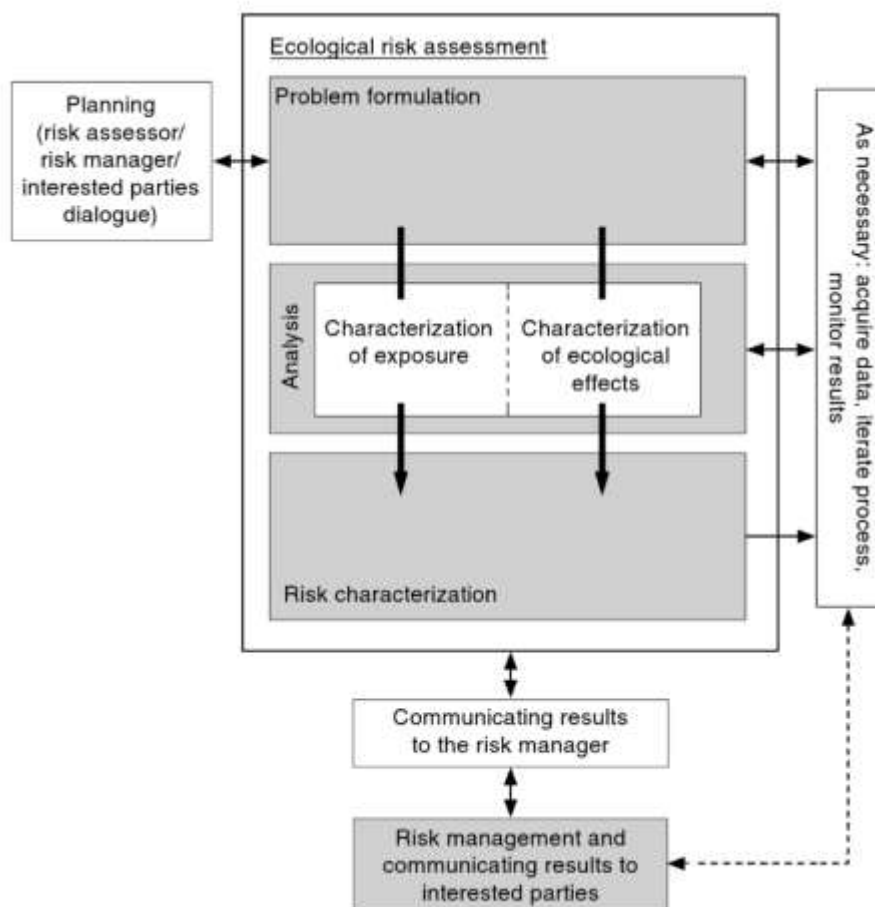


Figura 6: Fases del proceso de Evaluación de Riesgo Ecológico. Recuperado de “Guidelines for Ecological Risk Assessment,” por United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1998.

2.8. Marco legal

Para efectos de esta investigación se utilizó como un primer criterio, la normativa nacional especializada sobre la materia. Al respecto, la primera norma revisada fue la Ley General del Ambiente, Ley N° 28611.

El artículo 31 de la ley anterior, establece que el Estándar de Calidad Ambiental “es la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente. Según el parámetro en particular a que se refiera, la concentración o grado podrá ser expresada en máximos, mínimos o rangos”.

En aplicación de lo anterior, se aprobó la última actualización del Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para agua, mediante el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM. Al respecto, para motivos de esta investigación se aplicó la categoría 4, conservación del ambiente acuático, subcategoría E1, lagunas y lagos. Asimismo, se utilizaron estándares internacionales de la Guía Canadiense de Calidad de Agua Dulce (CWQG, por sus siglas en inglés) y la Guía Canadiense de Calidad de Sedimentos de Agua dulce.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Toma de muestras de agua y sedimentos

La toma de muestras de agua y sedimentos se realizó siguiendo los lineamientos establecidos por el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales (Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA) y Sampling and Monitoring for the Mine Life Cycle (McLemore et al., 2014), respectivamente. Los materiales y equipos utilizados se describen en el Tabla 5.

Tabla 5: Materiales y equipos para muestreo de agua y sedimentos

Categoría	Descripción
Medio de transporte	Vehículo para transporte terrestre (camioneta).
Materiales	Cooler grande (57L), frascos de plástico de boca ancha (1 L), bolsas ziploc (1kg) guantes descartables, mascarillas, pizetas, gel packs.
Equipos	Multiparámetro, GPS, brazo muestreador y palas.
Soluciones y reactivos	Agua destilada, ácido nítrico, hidróxido de sodio, soluciones estándar (pH, conductividad, potencial redox)
Formatos	Etiquetas, registro de datos en campo , cadena de custodia
Indumentaria de protección	Botas de jebe largas, lentes y mandil.
Otros	Plumones indelebles, tablero acrílico y libreta de campo.

Nota: Adaptado de “Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales,” por Autoridad Nacional del Agua (ANA), 2016.

El muestreo se realizó en temporada de lluvias y temporada seca. Las cuales se establecieron en función del hidrograma de variación mensual de precipitación (Figura7). La información para la elaboración de este hidrograma fue obtenida de la base de datos PISCO-SENAHMI.

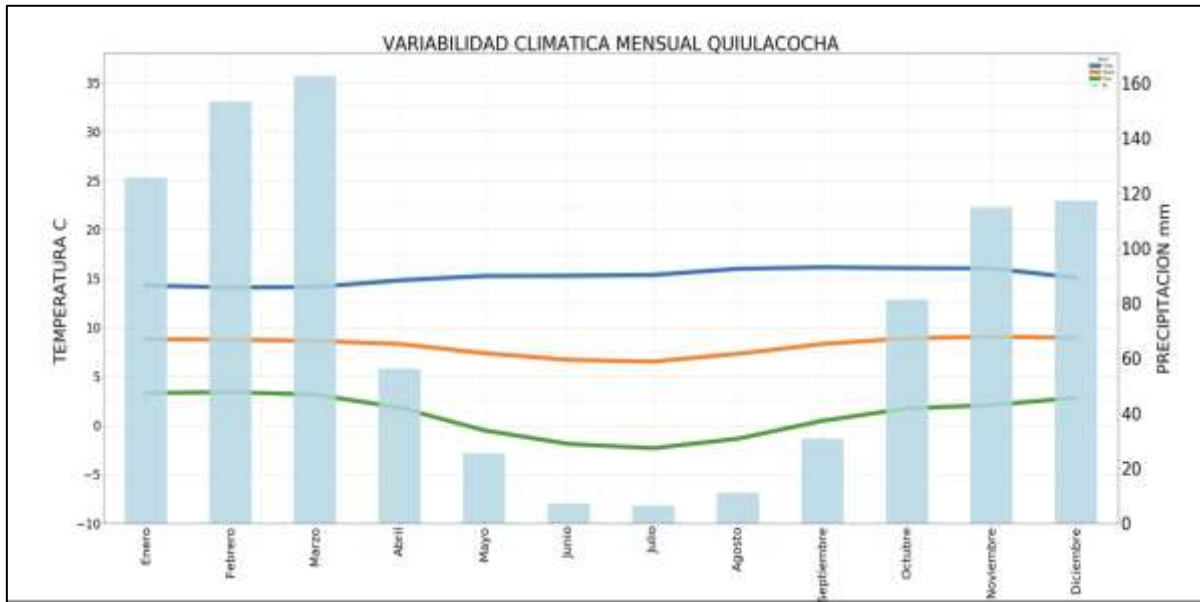


Figura 7: Hidrograma de precipitación.

Para facilitar la descripción de las metodologías utilizadas en la presente investigación, se utilizó la siguiente codificación de muestras:

- A1: Muestra compuesta de agua de laguna en la temporada de lluvia.
- A2: Muestra compuesta de agua de laguna en temporada seca.
- S1: Muestra compuesta de sedimentos en temporada de lluvia.
- S2: Muestra compuesta de sedimentos en temporada seca.



Figura 8: Temporada de lluvia (2 de febrero del 2019)



Figura 9: Toma de muestra en temporada de lluvia



Figura 10: Temporada seca (10 de agosto del 2019)



Figura 11: Toma de muestra en temporada seca

A continuación, se describe el procedimiento de toma muestras:

- 1) Se establecieron 4 puntos de muestreo alrededor de la laguna, para cada temporada de muestreo (Figura 12). Para la temporada de lluvias, se procedió a tomar 4 muestras simples de 1L en cada punto de muestreo (X1, Y1, W1 y Z1), ver T. Al finalizar la toma de todas las muestras simples se procedió a preparar la muestra compuesta “A1” con sus respectivos reactivos de preservación. De la misma manera se preparó la muestra compuesta “A2” de la temporada seca, en sus respectivos puntos de muestreo (X2, Y2, W2 y Z2). Estas muestras compuestas fueron usadas para la determinación de metales totales y efectos ecotoxicológicos promedios de la laguna.

- 2) Para las muestras de sedimentos, se recolectaron 4 muestras puntuales de 1 kg en cada punto de muestreo (X1, Y1, W1 y Z1). Al finalizar la toma de todas las muestras simples se procedió a preparar la muestra compuesta “S1”, con la cual se realizó la determinación de metales totales y efectos ecotoxicológicos (TCLP) promedios de la laguna. De la misma manera se preparó la muestra compuesta “S2” de la temporada seca en sus respectivos puntos de muestreo (X2, Y2, W2 y Z2).
- 3) Las muestras se almacenaron en un cooler de 57 L de capacidad, el cual fue implementado con gel packs para la preservación de las muestras.
- 4) Finalmente, las muestras fueron transportadas de la ciudad de Cerro de Pasco hacia los laboratorios de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Lima) y fueron almacenadas a una temperatura de apropiadamente 4° C.

Tabla 6: Coordenadas UTM de los puntos de muestreo

PUNTOS DE MUESTREO			
TEMPORADA	CÓDIGO	COORDENADAS UTM	
		ESTE	NORTE
LLUVIA	W1	359415.00	8816634.00
	X1	359323.00	8816943.00
	Y1	359571.00	8816477.00
	Z1	359945.00	8816564.00
SECA	W2	359376.60	8816702.98
	X2	359479.35	8816544.89
	Y2	359544.71	8816609.68
	Z2	359731.87	8816756.07

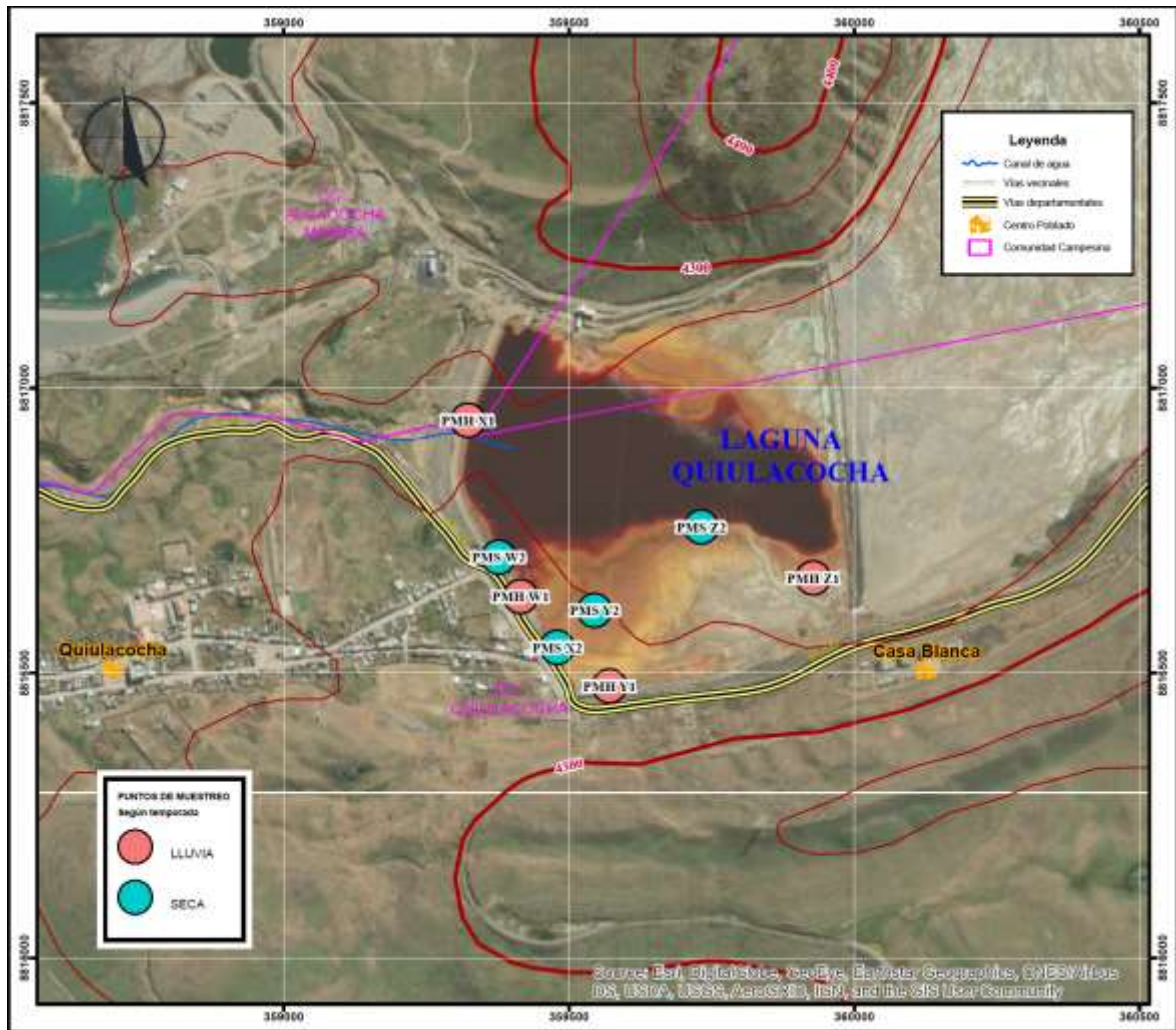


Figura 12: Puntos de muestreo para ambas temporadas

3.2. Medición de parámetros fisicoquímicos

Se realizaron las mediciones para todos los puntos de muestreo (temporada de lluvia y temporada seca).

3.2.1. Parámetros in situ

Los parámetros de conductividad, oxígeno disuelto, pH, potencial redox y temperatura, fueron medidos haciendo uso del equipo multiparámetro “HACH HQ40D”. Al cual se le conectaron diferentes sondas para medir cada parámetro por separado. Cada sonda fue calibrada antes de realizar las mediciones con sus respectivas soluciones de calibración. Ver metodologías analíticas de cada parámetro en el anexo 6.



Figura 13: Medición de parámetros in situ (temporada de lluvia)



Figura 14: Medición de parámetros in situ (temporada seca)

3.2.2. Determinación de metales totales

Las muestras compuestas obtenidas del muestreo de ambas temporadas (A1, A2, S1 y S2) fueron enviadas para analizar en el laboratorio “Société Générale de Surveillance (SGS)”.

En el siguiente cuadro se describen los métodos analíticos utilizados para el análisis de las muestras:

Tabla 7: Métodos analíticos en laboratorio

Parámetro	Muestra	Referencia	Método de ensayo
Metales totales	A1	EW_EPA200_8	EPA 200,8, Rev 5,4: 1994. Determination of Trace Elements in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry.
	A2		
	S1	ES_EPA3051_6020	EPA METHOD 3051A:2007. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments.
	S2		

3.3. Procedimiento de caracterización de la toxicidad de lixiviados (TCLP)

Este procedimiento se realizó para las muestras de sedimentos (S1 y S2) y se usó para determinar la movilidad de los analitos inorgánicos presentes en las muestras. El protocolo utilizado fue el establecido por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA): Test Method 1311, Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP).

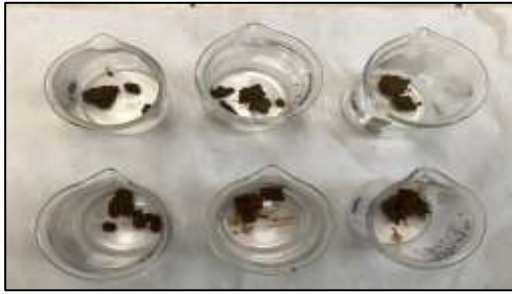
- Materiales: Frascos de plástico de boca ancha (500 ml), Fiola (1L), pipetas, probetas, microfiltros de jeringa de 0,45 µm.
- Equipos: potenciómetro LAQUA PH1300-S, agitador de mesa Lab Companion SK-600, Bomba de vacío Rocker 400.

Los lixiviados obtenidos al finalizar el TCLP se utilizaron para determinar, indirectamente, los efectos ecotoxicológicos de las muestras de sedimentos. Estos lixiviados fueron codificados de la siguiente forma:

- B1: Lixiviado proveniente de la muestra de sedimentos S1.
- B2: Lixiviado proveniente de la muestra de sedimentos S2.

3.3.1. Determinación del peso seco

Se determinó el peso seco de las muestras de sedimentos utilizando el protocolo “Dry weight determination of sediments” de TDI-Brooks International/B&B Laboratories Inc (Figura 16).



Se pesaron 2 muestras (febrero y agosto) con 3 repeticiones cada una.



Las muestras se introdujeron en una estufa a 105°C por 24 y 48 horas.



Luego de la estufa, se colocaron en un desecador por 30 minutos.



Finalmente se registraron los datos.

Figura 15: Determinación del peso seco.

$\text{Peso seco (\%)} = \frac{(\text{Peso del vaso de precipitado} + \text{Peso seco de la muestra}) - (\text{Peso del vaso de precipitado})}{(\text{Peso del vaso de precipitado} + \text{Peso húmedo de la muestra}) - (\text{Peso del vaso de precipitado})}$

Figura 16: Fórmula para la determinación del peso seco. Recuperado de “Dry weight determination of sediments,” por TDI-Brooks International/B&B Laboratories Inc; 2004.

3.3.2. Tamizado

Con un colador de 9,5 mm se realizó el tamizado para ambas muestras (S1 y S2), con el objetivo de asegurar el tamaño de partículas que indica el protocolo.

3.3.3. Obtención del lixiviado según el protocolo EPA-1311

Luego del tamizado, se procedió a realizar lo siguiente: preparación del líquido de extracción, agitación de 18 horas y filtrado. Para finalmente obtener el lixiviado, el cual se usó para la determinación de los efectos ecotoxicológicos (Figura 17).

Finalmente, los lixiviados obtenidos (B1 y B2) para ambas muestras de sedimentos (temporada de lluvias y seca), se refrigeraron a una temperatura de 4°C y se cumplieron con los tiempos de preservación de muestras establecidos en el protocolo (Tabla 8).

Tabla 8: Tiempo de preservación de muestras (días)

Fases del procedimiento TCLP	Toma de muestra a extracción de TCLP	De extracción de TCLP a extracción preparativa	De extracción preparativa a análisis	Tiempo total
Volátiles	14	NA	14	28
Semi-volátiles	14	7	40	61
Mercurio	28	NA	28	56
Metales	180	NA	180	360

Nota: Adaptado de “Test 1311: Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP),” por United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1992.



Se agregó 5,7 ml de CH_3CH_2OOH glacial en una fiola de 1L y luego se enrazó con agua destilada. Se verificó que el pH de la dilución cumpla con el criterio establecido del protocolo: $2,88 \pm 0,05$



Se colocó la muestra de sedimentos tamizada en un frasco de plástico de boca ancha y se agregó la dilución de CH_3CH_2OOH glacial, en una relación líquido de extracción-sólido seco 20:1.



La dilución TCLP se colocó en un agitador de mesa a 180 RPM, a $23^\circ C$, durante 18 horas.



1: Lixiviado después de la agitación.
2: Lixiviado después de los dos filtrados. El primer filtrado fue de caída rápida y se realizó con una bomba de vacío. Posteriormente, se realizó un segundo filtrado con jeringas y microfiltros de $0,45 \mu m$.

Figura 17: Descripción de la obtención del lixiviado TCLP

3.4. Determinación de los efectos ecotoxicológicos

A continuación, se describe la metodología utilizada para la realización de bioensayos (*Daphnia magna*, *Lactuca sativa* y *Vibrio fischeri*), cálculo de la Concentración Letal media (CL50) y Concentración de Inhibición media (CI50) para cada una de las muestras recolectadas.

Asimismo, para obtener resultados en valores adimensionales que sean comparables, se transformó los CL50 y CI50 calculados en Unidades Tóxicas (Figura 18), las cuales según USEPA (1992), se definen como la dosis o concentración de un tóxico expresado en unidades de letalidad. Posteriormente, se compararon con la escala de clasificación de toxicidad de la Tabla 9, con el fin obtener un indicador cualitativo de la toxicidad.

$$UT = \left(\frac{1}{CL_{50}} \right) * 100 \%$$

Figura 18: Unidades tóxicas (UT). CL50 se encuentra en unidades de porcentaje (%). Recuperado de “Introduction to Water Quality-Based Toxics Control for the NPDES Program,” por United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1992.

Tabla 9: Sistema de clasificación de toxicidad para efluentes descargados al medio acuático

UT	Clase	Toxicidad
< 0,4	Clase I	Sin toxicidad aguda
< 0,4 < UT < 1	Clase II	Toxicidad aguda leve
1 < UT < 10	Clase III	Toxicidad aguda
10 < UT < 100	Clase IV	Toxicidad aguda alta
TU > 100	Clase V	Toxicidad aguda muy alta

Nota: Adaptado de “A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters,” por G. Persoone, B. Marsalek, I. Blinova, T. Andrea & D. Zarina, 2003.

3.4.1. Bioensayo: *Daphnia magna*

- Protocolo: Guía de pautas de pruebas de efectos ecológicos OCSPP 850,1010, prueba de toxicidad aguda de invertebrado acuático, *Daphnia magna* (2016), adaptado a las condiciones de las muestras según se describe en el procedimiento del bioensayo.

- Fundamento: Individuos neonatos (menor a 24 horas de vida/edad) de la especie *Daphnia magna* fueron expuestos a diluciones de las muestras problema (A1, A2, B1 y B2) y a un tóxico de referencia (Dicromato de Potasio) durante un periodo de 48 horas, evaluándose la inmovilización (mortalidad) de estos organismos, con el fin de determinar la Concentración Letal media (CL50).

Este bioensayo está diseñado para determinar la relación entre las concentraciones acuosas de las mezclas complejas mencionadas y la inmovilización de las daphnias sobre la curva concentración-respuesta.



Figura 19: *Daphnia magna*. Recuperado de “Análisis Ecotoxicológicos,” por Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano (UTADEO), 2019.

“Las principales características de este bioensayo son su simplicidad, la corta duración de la exposición, la sensibilidad, la facilidad con la que se mantienen los cultivos y el nivel de estandarización” (Jonczyk y Gilron, 2005).

- Materiales: Tubos de ensayo, recipiente de plástico de 20 L, pipetas Pasteur, pipetas volumétricas graduadas de 10, 5 y 1 mL, vasos de precipitado de 1000 y 500 mL, matraz kitasato de 500 mL, puntas para micropipeta.
- Reactivos: Dicromato de Potasio, agua destilada.
- Equipos: Bomba de vacío Rocker 400, micropipeta Boeco de 100-1000 μ L.

3.4.1.1. Medio de cultivo

- Sistema de cultivo: Los individuos se obtuvieron de Centro de Investigación Piscícola (CINPIS) de la Universidad Nacional Agraria La Molina y se colocaron en un recipiente de plástico de 20 L de capacidad, el cual fue ubicado en una cámara implementada con un sistema de luces LED y temporizador. El cultivo se mantuvo con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad (implementación de sistema de luces LED con temporizador) y a una temperatura aproximada de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$.



Figura 20: Sistema de cultivo

- Alimentación: el agua de alimentación fue obtenida de un estaque perteneciente a la Universidad Nacional Agraria La Molina. Esta agua presenta las condiciones fisicoquímicas (pH y oxígeno disuelto) y nutrientes necesarios para el desarrollo de las daphnias.



Figura 21: Fuente de agua de alimentación

- Mantenimiento y limpieza: Luego de recolectar el agua de alimentación, se realizó un filtrado de caída rápida mediante el uso de una bomba de vacío Rocker 400 (aproximadamente a 10 kPa) y finalmente se hizo la reposición del agua. Este procedimiento se realizó de forma interdiaria. Asimismo, la limpieza del recipiente del cultivo fue hecha 2 veces por semana.



Figura 22: Reposición del agua de alimentación

3.4.1.2. Prueba de rango, control negativo y positivo

- Prueba de rango: se realizó para cada una de las muestras (A1, A2, B1, y B2) con el fin de determinar los intervalos de concentraciones más adecuados para realizar los bioensayos. Esta prueba se realizó exponiendo a las daphnias a un control negativo y a diluciones con las siguientes concentraciones: 100 %, 10 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 %.

Finalmente, para todas las muestras de este bioensayo, las concentraciones usadas se encontraron en un rango bajo, del 0,01 por ciento al 20 por ciento, lo cual demostró la alta sensibilidad de las daphnias frente a la toxicidad de las muestras.

- Control negativo: Fue preparada sólo con el agua de dilución (agua de alimentación).
- Control positivo: Se utilizó Dicromato de Potasio como tóxico de referencia y las daphnias fueron expuestas a diluciones con las siguientes concentraciones: 2000 mg/L, 1000 mg/L, 100 mg/L, 10 mg/L, 1 mg/L, 0,1 mg/L y un control negativo. Se realizaron 4 repeticiones para cada dilución (anexo 3).

3.4.1.3. Procedimiento del bioensayo

Luego de haber determinado las concentraciones adecuadas en la prueba de rango, se procedió a añadir 10 ml de cada dilución en tubos de ensayo y 5 individuos de *Daphnia magna* para cada uno de estos tubos. Se realizaron 4 repeticiones para cada dilución.



Figura 23: Procedimiento del bioensayo

3.4.1.4. Determinación de la Concentración Letal Media (CL50) y la curva dosis-respuesta
Se realizó un análisis PROBIT a un 95 por ciento de confianza mediante el uso del software “R” y la librería “ecotox”. El script utilizado se adjunta en el anexo 5.

3.4.2. Bioensayo: *Lactuca sativa*

- Protocolo: Protocolos para la detección de toxicidad a corto plazo en sitios de desechos peligrosos, EPA 600/3-88/029, adaptado a las condiciones de las muestras según se describe en el procedimiento del bioensayo.
- Fundamento: Las semillas de la especie *Lactuca sativa* fueron expuestas a diluciones de las muestras problema (A1, A2, B1 y B2) y a un tóxico de referencia (Zn(II)) durante un periodo de 120 horas, evaluándose la inhibición de la germinación, elongación de radícula Y elongación de hipocótilo, con el fin de determinar la Concentración de Inhibición media (CI50).

Este bioensayo está diseñado para determinar la relación entre las concentraciones acuosas de las mezclas complejas mencionadas con los parámetros de germinación y elongación evaluados, sobre la curva concentración-respuesta.

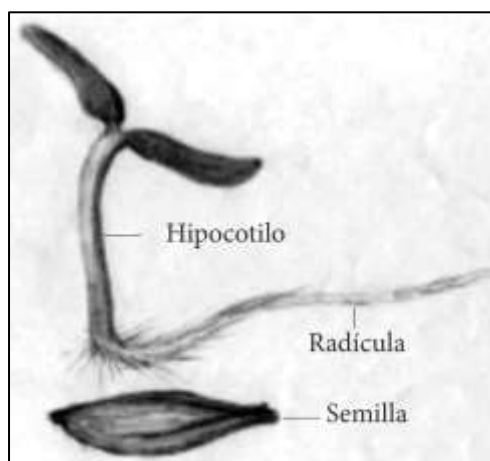


Figura 24: Parámetros evaluados (germinación, radícula e hipocótilo). Recuperado de “Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L;” por M. Sobrero & A. Ronco, 2007.

- Materiales: Placas Petri, papel filtro Whatman N°4, semillas de lechuga “Black Rose”, pipetas volumétricas graduadas de 10, 5 y 1 ml, fioles de 50 y 100 ml, puntas para micropipeta.
- Reactivos: Sulfato de Zinc, agua destilada.
- Equipos: Micropipeta Boeco de 100-1000 µl.

3.4.2.1. Selección de semillas

Se adquirieron 4 variedades de semillas (libres de fungicidas) de *Lactuca sativa* del Centro de Hidroponía de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Posteriormente, se realizaron pruebas de germinación y crecimiento con agua destilada. Finalmente, se seleccionó un lote de semillas de la variedad “Black rose”, el cual cumplía con los requerimientos de calidad descritos en el protocolo utilizado para este bioensayo.



Figura 25: Semillas “Black rose”

3.4.2.2. Preparación de placas petri

Se utilizaron placas Petri de 90 mm de diámetro, estas fueron autoclavadas a 121° C y 1,5 bar durante 1 hora. Finalmente, se colocó el papel filtro Whatman N°4 en el interior de cada placa.



Figura 26: Placas Petri con papel filtro

3.4.2.3. Prueba de rango, control negativo y positivo

- Prueba de rango: se realizó para cada una de las muestras (A1, A2, B1 y B2) con el fin de determinar los intervalos de concentraciones más adecuados para realizar los bioensayos. Esta prueba se realizó exponiendo a las semillas a un control negativo y a diluciones con las siguientes concentraciones: 100%, 10%, 1%, 0,1 %, 0,01 %.

Finalmente, para todas las muestras de este bioensayo, las concentraciones usadas se encontraron en un rango del 3,125 – 100 por ciento, lo cual demuestra la alta resistencia de la especie *Lactuca sativa* frente a la toxicidad de las muestras.

- Control negativo: fue preparado sólo con el agua de dilución (agua destilada).
- Control positivo: se utilizó sulfato de zinc como tóxico de referencia y las semillas fueron expuestas a diluciones con las siguientes concentraciones: 2000 mg/L, 1000 mg/L, 100 mg/L, 10 mg/L, 1 mg/L, 0,1 mg/L y un control negativo. Se realizaron 4 repeticiones para cada dilución (anexo 3).

3.4.2.4. Procedimiento del bioensayo

Luego de haber determinado las concentraciones adecuadas en la prueba de rango, se procedió a añadir 2 ml de cada dilución (uso de micropipeta) en una placa Petri con 20 semillas. Se realizaron 4 repeticiones para cada dilución.

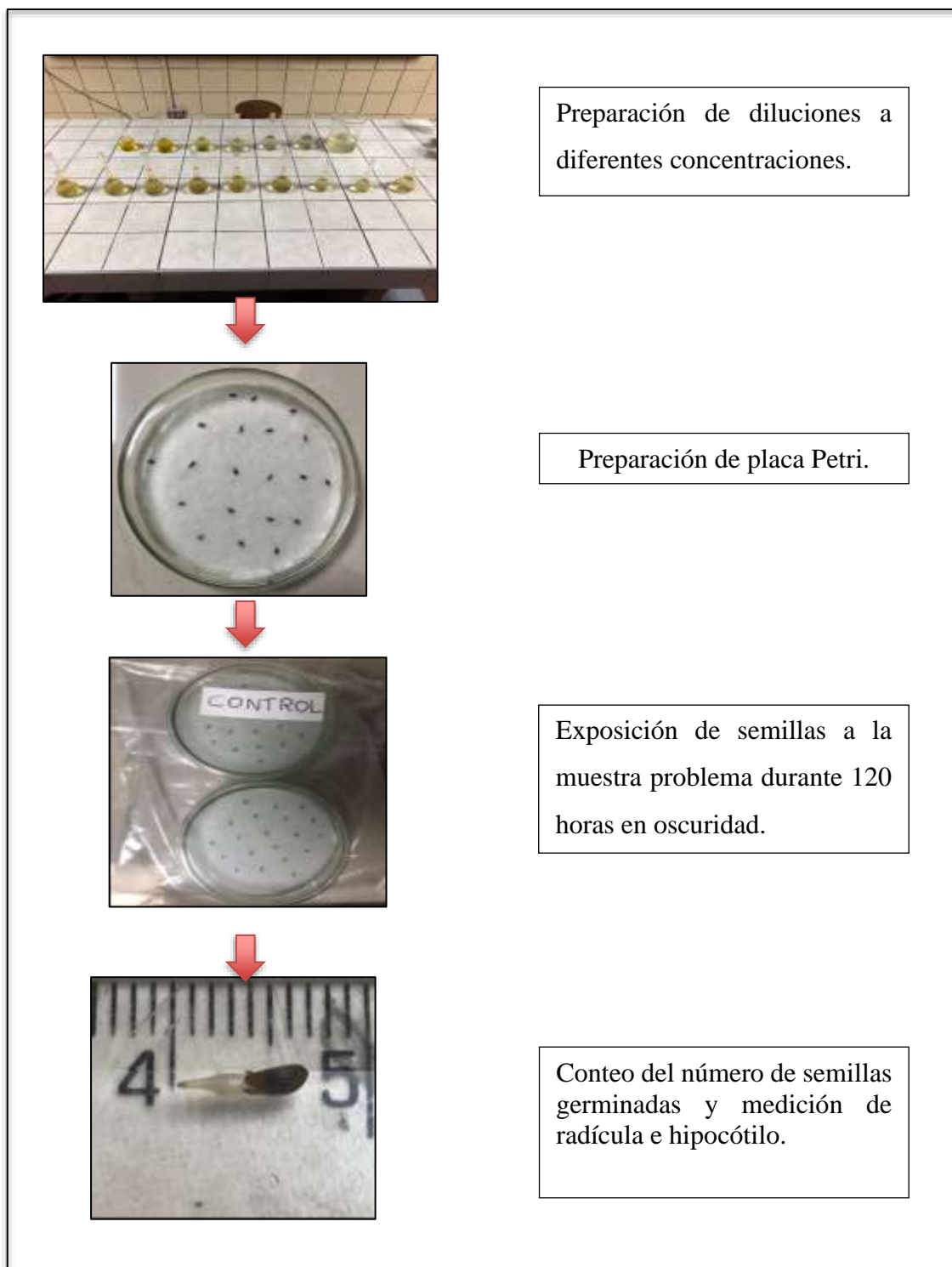


Figura 27: Procedimiento del bioensayo

3.4.2.5. Determinación de la concentración de inhibición media (CI50) y la curva dosis respuesta

Se realizó un análisis PROBIT a un 95 por ciento de confianza mediante el uso del software “R” y la librería “ecotox”. El script utilizado se adjunta en el anexo 5.

3.4.3. Bioensayo: *Vibrio Fischeri*

- Protocolo: BioTox™ WaterTox™ EVO Kit 1243-500, ensayo de luminiscencia bacteriana, adaptado a las condiciones de las muestras según se describe en el procedimiento del bioensayo.
- Fundamento: Este bioensayo se basa en el estándar ISO 11348-3, “Determinación del efecto inhibitorio de las muestras de agua sobre la emisión de luz de *Vibrio fischeri* (prueba de bacterias luminiscentes)”.

Cepas de bacterias *Vibrio fischeri* fueron expuestas a diluciones de las muestras problema (A1, A2, B1 y B2) y a un tóxico de referencia (Sulfato de Zinc) durante un periodo de 5-30 minutos en un luminómetro, con el fin de evaluar la inhibición de la bioluminiscencia y determinar la Concentración Inhibición media (CI50).

La toxicidad de la muestra para la fotobacteria *Vibrio fischeri* se mide comparando la emisión de luz inicial y final después de un tiempo de contacto predeterminado (5-30 min). La bioluminiscencia bacteriana se controla enzimáticamente y los componentes de muestra que alteran estos procesos provocan disminuciones en la intensidad de la luz que se comparan con los controles libres de toxinas.

Este bioensayo está diseñado para determinar la relación entre las concentraciones acuosas de las mezclas complejas mencionadas con el parámetro de bioluminiscencia evaluado, sobre la curva concentración-respuesta.

- Materiales: Tubos de ensayo Rohren de 5 ml (75 x 12 mm, PS), micropipeta 10-5000 uL, bloques de enfriamiento (15°C), vaso de precipitado de 500 ml.
- Reactivos: WaterTox™ EVO Kit 1243-500 (Viales de reactivo bacteriano 1243-147 *Vibrio Fischeri* y reactivo diluyente 1243-110), Cloruro de Sodio.
- Equipos: Luminómetro de tubo FB14 Titertek-Berthold conectado a una PC con software Sirius, baño de María, agitador magnético.

3.4.3.1. Preparación del material biológico

- 1) Los reactivos bacterianos del kit WaterTox™ EVO vienen liofilizados con estabilizadores y se deben almacenar a una temperatura de -18°C para garantizar su preservación. Mientras que los reactivos diluyentes deben ser almacenados a 4°C.

- 2) Preparación del agua de dilución: Se disolvió la tableta de NaCl en 45 ml de agua ultrapura para obtener una solución de NaCl al 20 por ciento. Luego, transferir 20 ml de la solución recién preparada a 180 ml de agua Milli-Q (ultrapura) para obtener 200 ml de solución de NaCl al dos por ciento.
- 3) Reconstitución del reactivo bacteriano 1243-157 *Vibrio Fischeri*: Se agregó el reactivo diluyente 1243-110 (refrigerado a 4°C) al recipiente del reactivo bacteriano. Una vez obtenido el reactivo reconstituido, se mantuvo a 4° C durante 30 minutos. Posteriormente, se estabilizó el reactivo reconstituido en baño María, a 15°C por otros 30 minutos.



Figura 28: Kit 1243-500 WaterTox™ EVO. Recuperado de “Página web de Environmental Bio-detection Products Inc;” por Environmental Bio-detection Products Inc; 2019.

3.4.3.2. Prueba de rango, control positivo y negativo

- Prueba de rango: se realizó para cada muestra (A1, A2, B1 y B2) con el fin de determinar los intervalos de concentraciones más adecuados para realizar el bioensayo. Esta prueba se realizó exponiendo a la bacteria *Vibrio fischeri* a un control negativo y a diluciones con las siguientes concentraciones: 100 %, 10 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 %.

Finalmente, para todas las muestras de este bioensayo, las concentraciones usadas se encontraron en un rango del 10- 0,001 por ciento, lo cual demuestra la alta sensibilidad de la bacteria *Vibrio fischeri* frente a la toxicidad de las muestras.

- Control negativo: Fue preparada sólo con el agua de dilución (NaCl al 2 %).

- Control positivo: Se utilizó Sulfato de Zinc como tóxico de referencia y las semillas fueron expuestas a diluciones con las siguientes concentraciones: 2000 mg/L, 1000 mg/L, 100 mg/L, 10 mg/L, 1 mg/L, 0,1 mg/L y un control negativo. Se realizaron 4 repeticiones para cada dilución (anexo 3).

3.4.3.3. Procedimiento del bioensayo

- 1) Se procedió a preparar las diluciones de las muestras problema (A1, A2, B1 y B2), utilizando como agua de dilución NaCl al dos por ciento. Se realizaron 3 repeticiones por cada dilución.

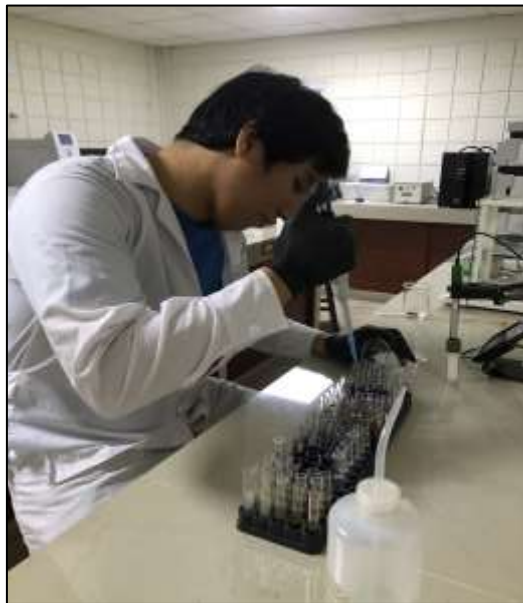


Figura 29: Preparación de diluciones

- 2) Se agregó 500 uL del reactivo reconstituido, luego de los 30 minutos de estabilización, en todos los tubos de ensayos preparados en el paso anterior.
- 3) Se procedió a insertar los tubos de ensayos en el luminómetro, previamente configurado, para realizar las lecturas iniciales de bioluminiscencia. Es importante resaltar que estas lecturas solo fueron del reactivo reconstituido y que el tiempo entre cada lectura fue de 10 segundos.
- 4) Inmediatamente terminada cada lectura se agregó 500 uL de la dilución correspondiente en los tubos de ensayo. El tiempo de contacto desde que se agregó la primera dilución fue de 20 minutos y se mantuvo en baño María a 15°C.
- 5) Luego de los 20 minutos se procedió a realizar las lecturas finales.

3.4.3.4. Determinación de la concentración de inhibición media (ci50) y la curva dosis-respuesta

Se realizó un análisis PROBIT a un 95 por ciento de confianza mediante el uso del software “R” y la librería “ecotox”. El script utilizado se adjunta en el anexo 5.

3.5. Determinación del riesgo

La evaluación del riesgo tóxico y ecotoxicológico se realizó en función de las concentraciones de metales inorgánicos y metaloides priorizados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2013), debido a sus características tóxicas.

Tabla 10: Metales inorgánicos y metaloides recomendados por USEPA

Metales y metaloides	
Aluminio	Manganeso
Antimonio	Mercurio (inorgánico)
Arsénico	Molibdeno
Bario	Níquel
Berilio	Selenio
Boro	Plata
Cadmio	Estroncio
Cromo	Estaño
Cobalto	Talio
Cobre	Vanadio
Hierro	Zinc
Plomo	-

Nota: Adaptado de “Framework for Metals Risk Assessment,” por United States Environmental Protection Agency, 2013.

3.5.1. Evaluación del riesgo tóxico o para la salud humana

Actualmente, según el inventario de pasivos ambientales minero publicado por el Ministerio de Energía y Minas en el 2020 el cuerpo de agua en estudio es catalogado como un pasivo ambiental minero (relavera Quiulacocho). Sin embargo, para fines de esta investigación se buscó evaluar a este pasivo ambiental según la percepción de la población y en su calidad de cuerpo de agua natural, es decir, en el tiempo en el que las actividades mineras no lo deterioraron y aún brindaba servicios ecosistémicos. Por lo tanto, este riesgo se evaluó mediante comparaciones con los Estándares de Calidad Ambiental (Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM) de la categoría 4, conservación del ambiente acuático, subcategoría E1, lagunas y lagos.

Por otra parte, también se comparó con los valores guías para metales pesados recomendados por la “Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life” (CCME, 1999).

Tabla 11: Estándares y valores guías de calidad de agua

Metales y metaloides	ECA, mg/L	CWQG, mg/L
Aluminio	-	0,005
Antimonio	0,64	-
Arsénico	0,15	0,005
Bario	0,7	-
Berilio	-	-
Boro	-	1,5
Cadmio	0,00025	0,00037
Cobalto	-	-
Cobre	0,1	0,004
Cromo (VI)	0,011	0,001
Estaño	-	-
Estroncio	-	-
Hierro	-	0,3
Manganeso	-	1,2
Mercurio	0,0001	0,00026
Molibdeno	-	0,073
Níquel	0,052	0,15
Plata	-	0,00025
Plomo	0,0025	0,007
Selenio	0,005	0,001
Talio	0,0008	0,0008
Vanadio	-	-
Zinc	0,12	-

Nota: Adaptado de “Estándares de Calidad Ambiental (ECA), categoría 4, subcategoría E1,” por Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM, 2017 y “Canadian Water Quality Guidelines (CWQG) for the Protection of Aquatic Life,” por Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999.

Asimismo, el riesgo tóxico para las muestras sedimentos (S1 y S2), se realizó mediante la comparación de las concentraciones de los metales determinados en estas muestras con el Nivel de Efecto Umbral (Threshold Effects Level - TEL), por debajo de estos niveles (concentraciones) se espera que los efectos biológicos adversos ocurran raramente, y Nivel de Efecto Probable (Probable Effect Level.– PEL), por encima de estos niveles se espera que los efectos adversos ocurran con frecuencia. Ambos fueron establecidos por el Council of Ministers of the Environment de Canadá en su documento “Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life” de 2001.

Los datos obtenidos a partir del Programa Nacional de Estado y Tendencias (National Status and Trends Program – NSTP) y pruebas de toxicidad de sedimentos enriquecidos (Spiked-

Sediments Toxicity Test – SSTT), fueron compilados en la Base de Datos para Efectos Biológicos de Sedimentos (Biological Effects Database for Sediments - BEDS), de la cual se calcularon los niveles TEL y PEL ya mencionados. Es importante resaltar que esta guía hace referencia a los siguientes rangos biológicos de efectos adversos: menos del 25 por ciento de efectos ocurren por debajo del TEL, efectos que ocurren ocasionalmente entre TEL y PEL, más del 50 por ciento de efectos ocurren por encima del PEL. Long et al. (1995) mencionan que estos rangos se basan en el supuesto de que la toxicidad resultante de la exposición a un químico aumenta cuando la concentración en el sedimento también aumenta.

Tabla 12: Nivel de Efecto Umbral (TEL) y Nivel de Efecto Probable (PEL) en calidad de sedimentos de agua dulce

Metales de primer interés	TEL, mg/kg	PEL, mg/kg
Aluminio	-	-
Antimonio	-	-
Arsénico	5,9	17
Bario	-	-
Berilio	-	-
Boro	-	-
Cadmio	0,6	3,5
Cobalto	-	-
Cobre	35,7	197
Cromo	37,3	90
Estaño	-	-
Estroncio	-	-
Hierro	-	-
Manganeso	-	-
Mercurio	0,17	0,486
Molibdeno	-	-
Níquel	-	-
Plata	-	-
Plomo	35	91,3
Selenio	-	-
Talio	-	-
Vanadio	-	-
Zinc	123	315

Nota: Los símbolos “-” hacen referencia a que no existen TEL y PEL para esos metales, ya que, según la norma canadiense, raramente se encuentran concentraciones que afecten a la salud. Adaptado de “Canadian Sediment Quality Guidelines (CWQG) for the Protection of Aquatic Life,” por Canadian Council of Ministers of the Environment, 2001. TEL y PEL fueron calculados con el peso seco de sedimentos.

3.5.2. Evaluación del riesgo ecotoxicológico

El riesgo ecotoxicológico para los metales de primer interés detectados en las muestras de agua y sedimentos de la laguna Quiulacocha se evaluó en función del cociente de riesgo (RQ, por sus siglas en inglés), establecido por la Agencia Europea de Productos Químicos (por sus siglas en inglés, ECHA):

- PEC: Concentración ambiental prevista (Predicted Environmental Concentration, por sus siglas en inglés). Equivalente a la concentración en el medioambiente.
- PNEC: Concentración prevista sin efecto (Predicted No Effect Concentration, por sus siglas en inglés). No se esperan efectos adversos por debajo de esta concentración.

$$\text{Riesgo aceptable: } RQ = \frac{PEC}{PNEC} < 1$$
$$\text{Riesgo inaceptable: } RQ = \frac{PEC}{PNEC} > 1$$

Figura 30: Cociente de riesgo (RQ). Adaptado de “Technical Guidance Document on Risk Assessment,” por European Chemicals Agency (ECHA), 2003.

El principio para la determinación de este riesgo consiste en comparar los efectos potenciales de una sustancia con el nivel de exposición, existente o esperado, en el medio ambiente (De la Torre et al., 2004). Es decir, existirá riesgo ecotoxicológico si la concentración de la sustancia en el compartimento ambiental es mayor a la concentración a la cual no se esperan ningún efecto adverso.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización fisicoquímica

4.1.1. Parámetros in situ

En las tablas 13 y 14 se muestran los valores obtenidos de los parámetros medidos in situ en la temporada de lluvias y temporada seca. El pH es un indicador para determinar la corrosividad del agua, mientras más bajo sea el valor de pH, mayor será el nivel de corrosividad (OMS, 2003). Los valores de pH medidos fueron de 2,60 y 2,71 para las temporadas de lluvias y seca, respectivamente. Estos resultados indican que la laguna Quiulacocha tiene un alto nivel de acidez y de corrosividad, el Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para agua, categoría 4, subcategoría E1, establece que los valores de pH deberían encontrarse en el rango de 6,5 a 9. La acidez del agua ($\text{pH} < 4$) aumenta la movilización de metales pesados y, por ende, su biodisponibilidad. Asimismo, es importante mencionar que la acidez se encuentra controlada por ácidos minerales fuertes, ácidos débiles como el carbónico, húmico y fúlvico, y sales hidrolizantes de metales como hierro y aluminio (UNESCO/OMS/PNUD, 1996), lo cual concuerda con las altas concentraciones de los metales pesados (ver Tabla 15).

La conductividad promedio para la mayoría de los cuerpos de agua dulce varían de 10 a 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, pero puede exceder los 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ cuando se trata de aguas contaminadas (UNESCO/OMS/PNUD, 1996). Para ambas temporadas de muestreo, la laguna Quiulacocha sobrepasa en exceso los valores recomendados, lo cual es un indicador del alto grado de contaminación que presenta esta laguna. Se puede inferir, por los resultados obtenidos de las concentraciones de los metales pesados, que este nivel conductividad es debido a la gran cantidad de metales disueltos en forma de iones disociados. Asimismo, es importante resaltar que los resultados muestran como el factor de dilución de las precipitaciones influye en el nivel de conductividad, ya que la conductividad promedio en la temporada seca fue de 22038 $\mu\text{S}/\text{cm}$, casi 3 veces más que los 6143 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de la temporada de lluvias. el Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para agua, categoría 4, subcategoría E1, establece que los valores de conductividad deberían ser menor o igual a 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

El potencial redox o óxido-reducción (ORP, por sus siglas en inglés), caracteriza el estado de oxidación-reducción de las aguas naturales. El oxígeno, el hierro y el azufre, así como algunos sistemas orgánicos son los más influyentes para determinar el ORP (UNESCO/OMS/PNUD, 1996). Según USEPA (2017), un ORP numéricamente positivo representa un entorno propicio para la oxidación de una sustancia introducida mediante la reducción de los medios originales. Para ambas temporadas de muestreo, los valores determinados son altamente positivos, lo cual indica que la laguna es un ambiente en el cual predominan las reacciones de oxidación. Asimismo, se observó una relación directa entre la disminución del oxígeno disuelto promedio y el ORP promedio, ambos valores disminuyeron para la temporada seca.

Respecto al parámetro de oxígeno disuelto, los valores promedios para ambas temporadas de muestreo son menores a 3 mg/L, lo cual, según Ecological Society of America (2012), significa que condiciones hipóxicas son predominantes en el agua de esta laguna, influyendo directamente en la supervivencia de la biota del ecosistema. El Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para agua, categoría 4, subcategoría E1, establece que los valores de oxígeno disuelto deberían ser mayores o igual a 5 mg/L.

Tabla 13: Parámetros in situ de la temporada de lluvias

Puntos de muestreo	pH	Temperatura**, °C	OD, mg/L	Conductividad, µs/cm	ORP, mV
W1	2,61	15,57	0,97	6090	511,00
X1	2,59	12,80	0,99	6140	494,50
Y1	2,61	15,60	0,97	6200	495,30
Z1*	3,23	12,63	5,21	5780	448,40
PROMEDIO	2,60	14,66	0,98	6143	500,27

Nota: (*) Al realizar las mediciones en el punto “Z1” se produjo lluvia intensa. Por lo que estos datos fueron descartados. (**) La temperatura es el promedio de las mediciones realizadas para cada parámetro, por punto de muestreo.

Tabla 14: Parámetros in situ de la temporada seca

Puntos de muestreo	pH	Temperatura*, °C	OD, mg/L	Conductividad, $\mu\text{s}/\text{cm}$	ORP, mV
W2	2,81	16,27	0,24	21380	418,60
X2	2,64	20,20	0,20	22100	423,50
Y2	2,63	21,90	0,47	23300	427,80
Z2	2,76	15,85	0,22	21370	417,70
PROMEDIO	2,71	18,55	0,28	22038	421,90

Nota: (*) La temperatura es el promedio de las mediciones realizadas para cada parámetro, por punto de muestreo.

Tabla 15: Concentración de metales inorgánicos y metaloides

Metales de primer interés	Concentración, mg/L		Concentración, mg/kg	
	A1	A2	S1	S2
Aluminio	19,598	18,136	3910,612	390,287
Antimonio	0,008	0,001	139,633	28,057
Arsénico	1,867	0,777	2280,159	919,061
Bario	0,006	0,002	214,639	19,636
Berilio	0,002	0,003	0,253	<0,173
Boro	< 0,006	0,079	< 17,195	< 17,195
Cadmio	0,433	0,937	2,603	1,057
Cobalto	0,045	0,166	1,177	0,190
Cobre	3,466	2,738	660,077	30,908
Cromo	0,022	0,013	8,102	1,964
Estaño	< 0,00010	< 0,00010	20,844	2,781
Estroncio	0,591	2,046	72,332	65,614
Hierro	1900,044	4218,938	555143,472	285556,480
Manganeso	489,096	1791,617	947,975	1404,096
Mercurio	< 0,00009	< 0,00009	2,299	0,279
Molibdeno	0,134	0,053	4,109	0,605
Níquel	0,130	0,526	3,397	< 0,498
Plata	< 0,00010	< 0,00010	31,557	5,249
Plomo	0,708	0,171	15904,588	1191,429
Selenio	0,003	0,007	< 3,605	< 3,605
Talio	0,013	0,081	22,203	16,233
Vanadio	0,014	0,009	25,059	18,915
Zinc	257,138	1176,277	1516,644	883,007

4.1.2. Metales totales

En la tabla 15 se presentan los resultados del análisis de metales totales para las muestras A1, A2, S1 y S2. Siendo los metales de mayor interés para esta investigación: aluminio, arsénico, cadmio, cromo, hierro, níquel, plomo y zinc, debido al nivel de concentración y los efectos nocivos que podrían generar en la salud humana y el ecosistema. Estos efectos serán tratados a mayor profundidad en los resultados de la evaluación de riesgo tóxico y ecotoxicológicos. El informe del análisis de metales totales se adjunta en el Anexo 8.

4.2. Determinación del peso seco de las muestras de sedimentos

La tabla 16 muestra el peso seco de cada muestra de sedimentos, Estos resultados fueron utilizados en el Procedimiento de Caracterización de la Toxicidad de Lixiviados (TCLP, por sus siglas en inglés) con el fin de preparar una dilución 1:20 entre los sólidos secos de los sedimentos y el líquido de extracción, respectivamente.

Por otra parte, se esperaba obtener valores de porcentajes de humedad más altos en la muestra de sedimentos de la temporada de lluvias, en comparación con la temporada seca. Sin embargo, se obtuvieron resultados contrapuestos, esto pudo ser causado por las características propias de cada muestra de sedimentos.

Tabla 16: Peso seco de las muestras de sedimentos

Muestra de sedimentos	Po*, mg	Pf**, mg	Humedad, %	Peso seco, %	Promedio, %
S1	R1	32438,00	32017,00	20,85	79,15
	R2	35297,00	34860,00	21,65	78,35
	R3	34939,00	34393,00	27,00	73,00
S2	R1	33821,00	32849,00	47,46	52,54
	R2	35525,00	34549,00	47,77	52,23
	R3	31477,00	30518,00	46,77	53,23

Nota: (*) Po: Peso antes del secado. (**) Pf: Peso después del secado.

4.3. Efectos ecotoxicológicos

Es importante resaltar que las muestras utilizadas para la determinación de los efectos ecotoxicológicos fueron las muestras de agua (A1 y A2) y las de lixiviados (B1 y B2). Estas últimas se obtuvieron del TCLP realizado a las muestras de sedimentos (S1 y S2).

4.3.1. Bioensayo: *Daphnia magna*

El porcentaje de *Daphnia magna* neonatas inmovilizadas del control negativo de todas las muestras fue menor al 10 por ciento, valor establecido para asegurar la validez de los bioensayos según el protocolo EPA-OCSPP 850,1010. Asimismo, el protocolo recomienda ajustar el pH de las diluciones entre 6 – 8,5 pero debido a las altas concentraciones de metales pesados de las muestras, se optó por no hacerlo ya que se alteraría la especiación química de estos metales (ver anexo 7). Por otra parte, de acuerdo con los resultados presentados en el anexo 3, se pudo verificar la sensibilidad frente al tóxico de referencia utilizado (dicromato de potasio).

La Tabla 17 muestra los valores de Concentración Letal Media (CL50) y Unidades Tóxicas para el tiempo de exposición de 24 horas que se encontraron en el rango de 0,26-2,47 por ciento y 10,73-384,62 UT, respectivamente. Mientras que para la exposición a 48 horas; fueron 0,096-2,43 por ciento y 16,30-1041,67 UT. Estudios previos como el de Soucek et al. (2000), quienes realizaron pruebas de toxicidad aguda mediante bioensayos con *Daphnia magna* en el río Lick Branch (Estados Unidos), el cual impactado por drenajes ácidos de mina (pH promedio de 3,30 y presencia de hierro, aluminio y zinc, en altas concentraciones), obtuvieron valores de CL50 de 27,08 por ciento y 33,18 por ciento para muestras de agua y valores de CL50 de 35,39 por ciento y 55,07 por ciento, para muestras de sedimentos. También, Chamorro et al. (2017), con el mismo bioensayo, determinaron CL50 menores a uno por ciento para muestras expuesta a drenajes ácidos de mina.

Tabla 17: Concentración Letal media (CL50) y Unidades Tóxicas (UT) para 24 y 48 horas de exposición

Muestra	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
	CL50, %	CL50, %	UT	UT
A1	2,47	2,43	40,49	41,15
A2	0,26	0,096	384,62	1041,67
B1	9,32	6,14	10,73	16,30
B2	0,98	0,85	102,23	117,36

En la tabla 18 se muestra los resultados de la inmovilización de daphnias a las 24 y 48 horas de exposición para las muestras de agua, registrándose que la inmovilización para la muestra “A1” se inició a la concentración de dos por ciento y la inmovilización al 100 por ciento ocurrió a partir de la concentración de tres por ciento. Mientras que para la muestra “A2”, la inmovilización inició a la concentración de 0,10 por ciento y la inmovilización al 100 por ciento, ocurrió a partir de la concentración de 0,75 por ciento.

Tabla 18: Inmovilización de *Daphnia magna* a las 24 y 48 horas de exposición para las muestras de agua

A1												
Concentración (%)	24 horas de exposición						48 horas de exposición					
	R1	R2	R3	R4	σ	Promedio	R1	R2	R3	R4	σ	Promedio
0,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,00	1	0	0	0	0,5	0,25	1	0	0	0	0,5	0,25
2,50	2	3	3	1	0,96	2,25	3	4	2	2	0,96	2,75
3,00	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	0	5
3,50	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	0	5
4,00	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	0	5
4,50	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	0	5
5,00	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	0	5
A2												
0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0	0,00	0
0,10	2	1	1	1	0,50	1,25	4	2	2	4	1,15	3
0,25	2	3	1	1	0,96	1,75	4	5	3	3	0,96	3,75
0,50	3	4	3	2	0,82	3	5	5	5	4	0,50	4,75
0,75	5	5	5	5	0,00	5	5	5	5	5	0,00	5
1,00	5	5	5	5	0,00	5	5	5	5	5	0,00	5

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4.

Para la muestra “A1”, la Concentración Letal Media (CL50) se determinó mediante un análisis Probit y se obtuvo un resultado de 2,47 por ciento para el tiempo de exposición de 24 horas y 2,43 por ciento para las 48 horas. Lo cual significa que a estas concentraciones se inmovilizó el 50 por ciento de los individuos evaluados. También, se observa que los CL50 determinados para esta muestra son equivalentes a 40,49 UT y 41,15 UT (Tabla 17) para las 24 y 48 horas, respectivamente. Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra para ambos tiempos de exposición es considerada “ALTA”.

En el caso de la muestra “A2”, la Concentración Letal Media (CL50) determinada para el tiempo de exposición de 24 horas fue de 0,26 por ciento y 0,096 por ciento para las 48 horas. Lo cual significa que a estas concentraciones se inmovilizó el 50 por ciento de los individuos evaluados. Además, se puede observar que los CL50 determinados son equivalentes a 384,62 UT y 1041,67 UT (Tabla 17) para las 24 y 48 horas, respectivamente. Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra para ambos tiempos de exposición es considerada “MUY ALTA”.

En la tabla 19 se muestra los resultados de la inmovilización de daphnias a las 24 y 48 horas para las muestras de lixiviados de sedimentos, registrándose que la inmovilización para la muestra “B1” se inició a partir de la concentración de cinco por ciento y la inmovilización al 100 por ciento ocurrió a partir de la concentración de 15 por ciento. Mientras que para la muestra “B2”, la inmovilización inició a la concentración de 0,50 por ciento y la inmovilización al 100 por ciento, ocurrió a partir de la concentración de 1,50 por ciento.

Para la muestra “B1”, la Concentración Letal Media (CL50) determinada para el tiempo de exposición de 24 horas fue de 9,32 por ciento y 6,14 por ciento para las 48 horas. Lo cual significa que a estas concentraciones se inmovilizó el 50 por ciento de los individuos evaluados. Asimismo, se puede observar que los CL50 determinados son equivalentes a 10,73 UT y 16,30 UT (Tabla 17) para las 24 y 48 horas, respectivamente. Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra para ambos tiempos de exposición es considerada “ALTA”.

En el caso de la muestra “B2”, la Concentración Letal Media (CL50) determinada para el tiempo de exposición de 24 horas fue de 0,98 por ciento y 0,85 por ciento; para las 48 horas. Lo cual significa que a estas concentraciones se inmovilizó el 50 por ciento de los individuos evaluados. Además, se puede observar que los CL50 determinados son equivalentes a 102,23 UT y 117,36 UT (Tabla 17) para las 24 y 48 horas, respectivamente. Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra para ambos tiempos de exposición es considerada “MUY ALTA”.

Tabla 19: Inmovilización a las 24 y 48 horas para las muestras de lixiviados de sedimentos

B1										
Concentración (%)	24 horas					48 horas				
	R1	R2	R3	R4	Promedio	R1	R2	R3	R4	Promedio
0,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5,00	2	1	1	0	1	2	3	1	1	1,75
7,50	1	1	1	1	1	5	4	1	3	3,25
10,00	1	2	3	1	1,75	3	5	4	5	4,25
12,50	1	4	4	4	3,25	5	5	5	4	4,75
15,00	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
17,50	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
20,00	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
B2										
0,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,50	1	0	0	1	0,5	1	0	0	1	0,5
1,00	1	1	2	1	1,25	4	2	2	3	2,75
1,50	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2,00	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2,50	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4.

Las curvas concentración-respuesta de los bioensayos realizados para todas las muestras se presentan en la Figura 31, en la cual se puede observar que a medida que aumenta la concentración de cada muestra, el efecto tóxico (inmovilización) sobre las daphnias aumenta.

Según Kent (1998) la toxicidad puede ser evaluada comparando la pendiente de cada curva dosis-respuesta., una pendiente pronunciada es indicador de que una sustancia química se absorbe rápidamente y se desintoxica lentamente. Los valores de las pendientes de las curvas A1, A2, B1 y B2 son 22,11, 2,69, 5,64, 6,73, respectivamente. Por la tanto, se puede estimar que la tendencia de la velocidad de asimilación de los contaminantes en las daphnias es la siguiente: $A1 > B2 > B1 > A2$.

Por otra parte, en términos de toxicidad, se puede apreciar que las curvas A2 y B2 indican los CL50 con valores más bajos, lo cual refleja que necesitan una menor concentración de las muestras para causar un efecto tóxico mayor, en comparación con las curvas A1 y B1. Partiendo del supuesto que el metal hierro es el principal agente estresor debido a que es el

metal en mayor concentración en todas las muestras, se puede inferir que la elevada toxicidad de las muestras recolectadas en la temporada seca (A2 y B2) pudo ser causada debido al factor de dilución; es decir, los agentes estresores se encuentran en mayor concentración en la temporada seca debido a que la ocurrencia de precipitaciones es escasa, en comparación con la temporada de lluvias (Tabla 15).

Otros factores que pudieron haber influenciado sobre el potencial tóxico de las muestras son la elevada acidez, con valores de pH que oscilan entre 2,60 - 2,81, y la presencia de altas concentraciones de metales pesados (Tabla 15), que en estos medios ácidos presentan una alta biodisponibilidad y, por lo tanto, las probabilidades de asimilación de estos metales en las daphnias también son altas. La alta concentración de Aluminio de las muestras “A1” y “A2”, son posibles indicadores de la acidificación de la laguna, debido a que este metal se hidroliza en el agua y libera iones H_3O^+ , lo cual causa la disminución del pH (Satizábal et al., 1999).

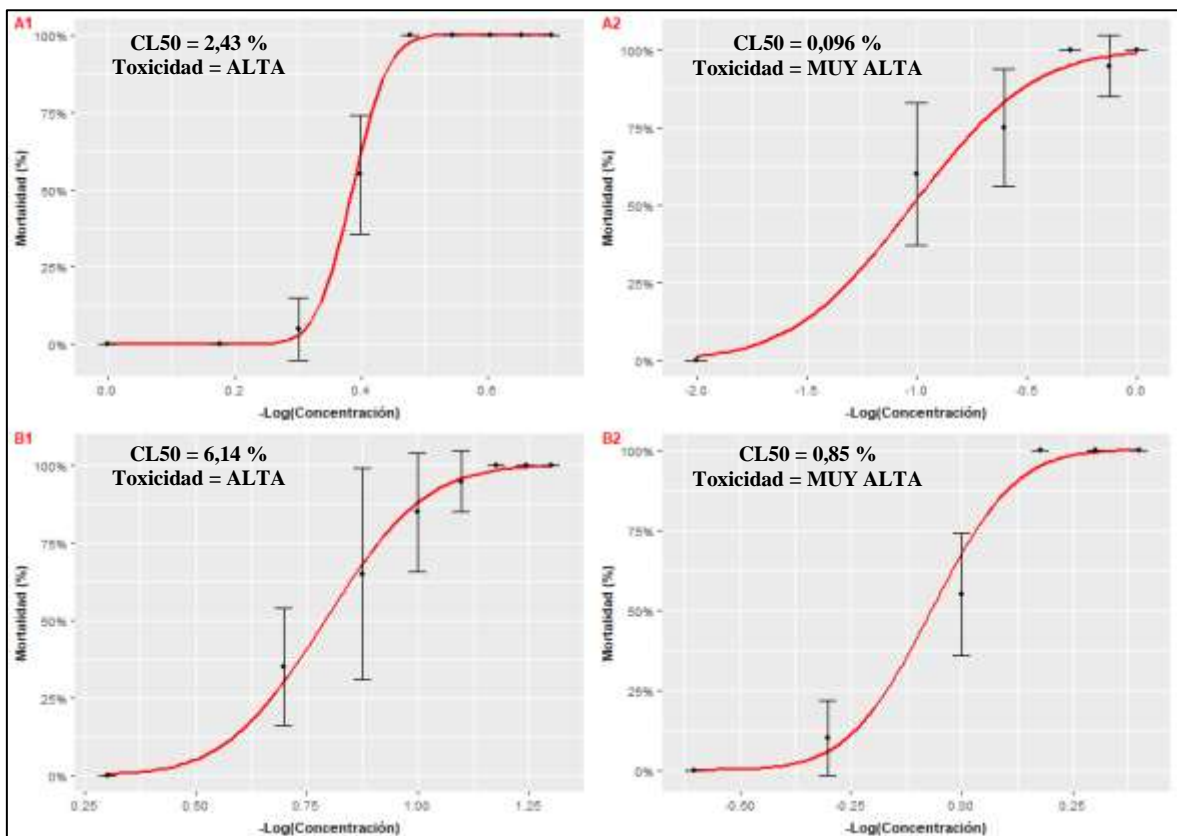


Figura 31: Curvas Concentración-Respuesta a las 48 horas de exposición de todas las muestras para el bioensayo de *Daphnia magna*.

Cabe precisar que no se puede atribuir exactamente el efecto tóxico a ningún metal en específico, ya que en la presente investigación no se ha analizado los efectos tóxicos que ocasiona cada metal de forma aislada. En consecuencia, se infiere que la toxicidad de las muestras está influenciada fuertemente por los efectos sinérgicos entre los metales pesados, sustancias no identificadas y los parámetros ambientales. Sin embargo, la caracterización fisicoquímica de todas las muestras señala que las concentraciones de Hierro total son exorbitantemente altas en comparación con el resto de los metales (Tabla 13 y 14). Lo cual concuerda con estudios previos sobre la caracterización fisicoquímica de la laguna Quiulacocha (Tabla 3). Por lo tanto, es posible que el Hierro sea el metal que más contribuye en el efecto tóxico promedio de todas las muestras. Van Anholt et al., (2002) demostraron que el Hierro es asimilado por las daphnias, en la Figura 32 se puede observar una microscopía en la cual el color azul indica bioacumulación de complejos de hierro (III) en el tracto digestivo

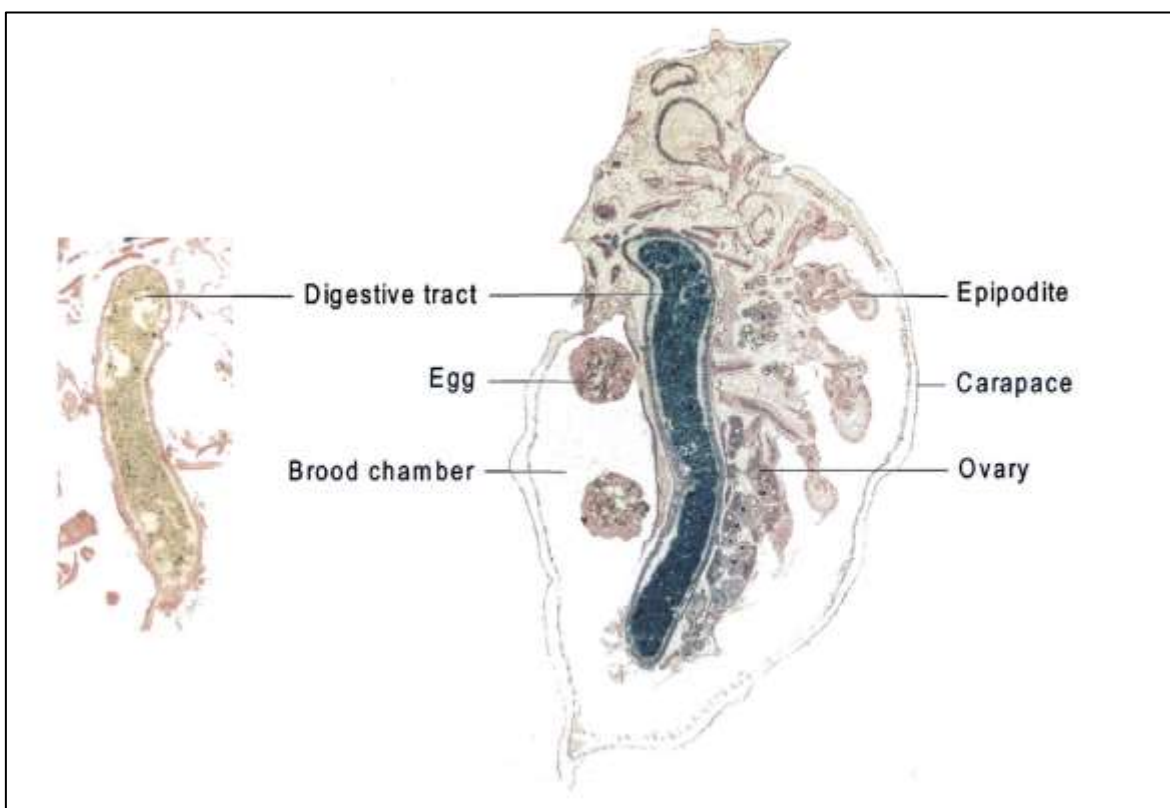


Figura 32: Acumulación de complejos de Hierro (III) en el tracto digestivo de *Daphnia magna* (color azul). Recuperado de “Effects of Iron Sulfate Dosage on the Water Flea (*Daphnia magna* Straus) and Early Development of Carp (*Cyprinus carpio* L.),” por van Anholt, R., Spanings, F., Knol, A., van der Velden, J., & Wendelaar, S. (2002), *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42, 182–192.

Adicionalmente, la caracterización fisicoquímica (Tablas 13 y 14) también indica concentraciones elevadas de otros metales que podrían estar relacionadas directamente con el efecto tóxico de todas las muestras. M. Havas, (1985) evaluó la bioacumulación y toxicidad del aluminio en *Daphnia magna*, encontrando que este metal se adhiere a los pelos de las patas torácicas, posteriormente pasa al caparazón y luego al intestino. Además, USEPA (1988) menciona que la capacidad de nado de las daphnias puede ser impedida debido a fibras de aluminio floculadas detrás de los caparazones, provocando alteraciones en la alimentación y finalmente, resultando en la muerte. Por otra parte, Según Wang et al. (2018) el Arsénico causa efectos nocivos sobre el sistema digestivo de las daphnias, siendo el As^{+3} la especie química más tóxica para organismos acuáticos (Gaete y Cháves, 2008). Estudios como el de Jeziorski y Yan (2006) afirman que el Zinc altera el balance de Ca^{2+} , lo cual podría generar inhibiciones irreversibles en el crecimiento de las daphnias. Se debe resaltar que los efectos tóxicos mencionados pueden variar para un mismo metal como para todos ya que dependerán mucho de las condiciones del medio, principalmente de parámetros como temperatura, dureza total, pH, oxígeno disuelto y entre otros, los cuales definirán el grado de disponibilidad biológica y, por consiguiente, la magnitud de los efectos tóxicos.

4.3.2. Bioensayo: *Lactuca sativa*

El porcentaje de semillas germinadas del control negativo de todas las muestras fue superior al 90 por ciento, valor establecido para asegurar la validez de los bioensayos según el protocolo EPA-600/3-88/029. Asimismo, el protocolo recomienda ajustar el pH de las diluciones entre 4 – 10 pero debido a las altas concentraciones de metales pesados de las muestras, se optó por no hacerlo ya que se alteraría la especiación química de los metales (anexo 7). Es importante resaltar que de acuerdo con los resultados presentados en el anexo 3, se pudo verificar la sensibilidad frente al tóxico de referencia utilizado (Zn (II)).

4.3.2.1. Inhibición de germinación

En la tabla 20 se puede observar los valores de la Concentración de Inhibición Media (CI50) y Unidades Tóxicas para cada muestra, las cuales se encontraron en el rango de 6,90-11,45 por ciento y 8,73-14,49 UT, respectivamente. Otras investigaciones como la de Chamorro et al. (2017), obtuvieron 17 por ciento de concentración como valor de CI50 para pruebas de germinación con drenajes ácidos de mina con una exposición de 144 horas.

Tabla 20: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de germinación

Muestra	CI50 (%)	UT
A1	9,28	10,78
A2	6,90	14,49
B1	11,45	8,73
B2	7,63	13,11

La tabla 21 muestra los resultados para las muestras de agua, en las cuales se registró que a partir de la concentración de 25 por ciento ocurrió la inhibición de la germinación al 100 por ciento para la muestra “A1”. Mientras que para la muestra “A2”, la inhibición de la germinación al 100 por ciento ocurrió a la concentración de 12,5 por ciento. Sin embargo, no se pudo registrar las concentraciones a las cuales los efectos tóxicos de ambas muestras comenzaron a expresarse, ya que como se puede observar en esta tabla, los valores de inhibición promedio para el rango de concentraciones de 0 - 6,25 por ciento de las muestras “A1” y “A2”, no presentan una correlación directa, es decir, los porcentajes de inhibición se deberían haber incrementado a medida que las concentraciones de las diluciones aumentaban. Por lo tanto, se infiere que esto pudo ser causado debido a las características genotípicas propias de las semillas y no por el efecto tóxico de la muestra.

Las Concentraciones de Inhibición Media (CI50) se determinaron mediante un análisis Probit y se obtuvieron resultados de 9,28 por ciento para la muestra “A1” y 6,90 por ciento para la muestra “A2”. Lo cual significa que a estas concentraciones se inhibió el 50 por ciento de la germinación de las semillas. Es importante resaltar que la concentración de 12.50 por ciento de la muestra “A1” no fue considerada para la determinación de su respectiva CI50, debido a la alta variabilidad de los datos. Asimismo, la CI50 de la muestra “A1” es equivalente a 10,78 UT (Tabla 20), lo cual según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “ALTA”. Mientras que para la muestra “A2” se obtuvo 14,49 UT (Tabla 20) equivalente a una toxicidad “ALTA”.

Tabla 21: Porcentaje de inhibición de germinación (muestras de agua)

A1						
Concentración (%)	R1	R2	R3	R4	Promedio	Porcentaje de inhibición promedio (%)
0,00	0	2	0	0	0,5	2,50
1,00	1	2	2	0	1,25	6,25
3,13	0	2	2	1	1,25	6,25
6,25	2	2	1	0	1,25	6,25
12,50	0	1	0	0	0,25	1,25
25,00	20	20	20	20	20	100,00
50,00	20	20	20	20	20	100,00
100,00	20	20	20	20	20	100,00
A2						
0,00	1	1	1	1	1	5,00
1,00	1	2	2	2	1,75	8,75
3,13	1	2	2	2	1,75	8,75
6,25	3	1	1	0	1,25	6,25
12,50	20	20	20	20	20	100,00
25,00	20	20	20	20	20	100,00
50,00	20	20	20	20	20	100,00
100,00	20	20	20	20	20	100,00

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4. Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

La tabla 22 muestra los resultados para las muestras de lixiviados de sedimentos, en las cuales se registró que a partir de la concentración de 50 por ciento ocurrió la inhibición de la germinación al 100 por ciento para la muestra “B1”. Mientras que para la muestra “B2”, la inhibición de la germinación al 100 por ciento ocurrió a la concentración de 25 por ciento. Sin embargo, no se pudo registrar las concentraciones a las cuales los efectos tóxicos de ambas muestras comenzaron a expresarse, ya que como se puede observar en esta tabla, los valores de inhibición promedio para el rango de concentraciones de 0 – 25 por ciento de ambas muestras, no presentan una correlación directa, es decir, los porcentajes de inhibición se deberían haber incrementado a medida que las concentraciones de las diluciones aumentaban. Por lo tanto, se infiere que esto pudo ser causado debido a las características genotípicas propias de las semillas y no por el efecto tóxico de la muestra.

Las Concentraciones de Inhibición Media (CI50) se determinaron mediante un análisis Probit y se obtuvieron resultados de 11,45 por ciento para la muestra “B1” y 7,63 por ciento

para la muestra “B2”. Lo cual significa que a estas concentraciones se inhibió el 50 por ciento de la germinación de las semillas. Es importante resaltar que las concentraciones de 12.50 y 25,00 por ciento de la muestra “B1” no fueron consideradas para la determinación de su respectiva CI50, debido a la alta variabilidad de los datos. Asimismo, la CI50 de la muestra “B1” es equivalente a 8,73 UT (Tabla 20), lo cual según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “AGUDA”. Mientras que para la muestra “B2” se obtuvo 13,11 UT (Tabla 20) equivalente a una toxicidad “ALTA”.

Tabla 22: Porcentaje de inhibición de germinación (muestras de lixiviados de sedimentos)

B1						
Concentración (%)	R1	R2	R3	R4	Promedio	Porcentaje de inhibición promedio (%)
0,00	0	2	0	0	0,5	2,50
1,00	0	2	1	3	1,5	7,50
3,13	1	1	1	3	1,5	7,50
6,25	2	2	0	1	1,25	6,25
12,50	0	2	1	0	0,75	3,75
25,00	3	3	2	2	2,5	12,50
50,00	20	20	20	20	20	100,00
100,00	20	20	20	20	20	100,00
B2						
0,00	1	1	1	1	1	5,00
1,00	2	1	2	1	1,5	7,50
3,13	0	1	4	0	1,25	6,25
6,25	1	4	1	0	1,5	7,50
12,50	17	17	20	18	18	90,00
25,00	20	20	20	20	20	100,00
50,00	20	20	20	20	20	100,00
100,00	20	20	20	20	20	100,00

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4. Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

Las curvas concentración-respuesta de los bioensayos realizados para todas las muestras se presentan en la Figura 33, en la cual se puede observar que a medida que aumenta la concentración de cada muestra, el efecto tóxico (inhibición de la germinación) sobre las semillas aumenta.

Se puede observar como en todas las curvas Concentración-Respuesta a medida que aumenta la concentración de cada muestra, el efecto tóxico sobre las semillas de *Lactuca sativa* aumenta. Durante esta etapa de germinación ocurren numerosos procesos fisiológicos en los

que la presencia de una sustancia tóxica puede alterar el desarrollo normal de la planta (Rodríguez et al., 2014).

Los valores de las pendientes de las curvas A1, A2, B1 y B2 3,03, 3,17, 2,41, 3,19, respectivamente. Por la tanto, se puede estimar que la tendencia de la velocidad de asimilación de los contaminantes en las semillas es la siguiente: B2 > A2 > A1 > B1.

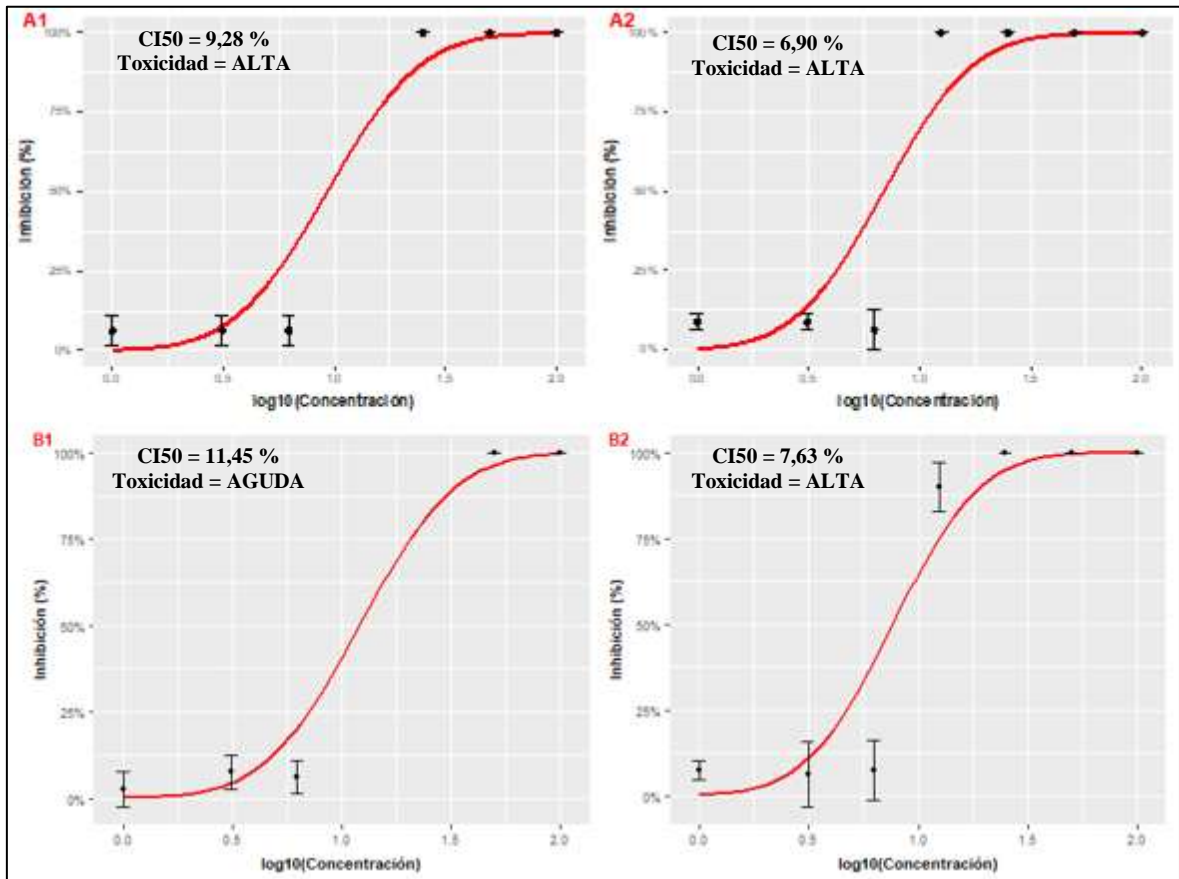


Figura 33: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a las 120 horas de exposición para el bioensayo de *Lactuca sativa* (inhibición de germinación)

4.3.2.2. Inhibición de elongación de radícula

La longitud inhibida promedio se determinó a partir de las longitudes promedio de cada tratamiento después de un tiempo de exposición de 120 horas y de las longitudes promedio de los controles, expuestos a las mismas condiciones:

$$\text{Longitud inhibida} = \text{Longitud del control} - \text{Longitud medida}$$

Para el análisis estadístico y la determinación de la CI50, no se tomó en consideración las concentraciones con las cuales se obtuvieron efectos de hormesis, debido a que la evaluación de este efecto necesitaría la elaboración de un modelo en específico, el cual solo sería factible con una zona de hormesis más extensa, es decir, una mayor cantidad de tratamientos que causen este efecto.

En la tabla 23 se puede observar los valores de la Concentración de Inhibición Media (CI50) y Unidades Tóxicas para cada muestra, las cuales se encontraron en el rango de 2,09 – 6,38 por ciento y 15,67 – 47,75 UT, respectivamente.

Tabla 23: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de elongación de radícula

Muestra	CI50 (%)	UT
A1	6,38	15,67
A2	2,09	47,75
B1	6,25	16,00
B2	4,93	20,28

En la Tabla 24 se puede observar los resultados obtenidos para las muestras de agua, en las cuales se registró una inhibición de elongación promedio de la radícula de 1,98 por ciento a una concentración de 3,125 por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 12,50 por ciento para la muestra “A1”. Asimismo, se observó efecto de hormesis a la concentración de uno por ciento, el cual pudo ser ocasionado por la presencia de metales que en bajas concentraciones actúan como micronutrientes. Según Mattson (2008), la hormesis es un proceso en el cual la exposición a una dosis baja de algún químico o factor ambiental induce un efecto beneficioso adaptativo en la célula u organismo. Mientras que para la muestra “A2”, se registró una inhibición de elongación de la radícula de 29,28 por ciento a una concentración de uno por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 12,50 por ciento, no se observó efecto de hormesis.

Las Concentraciones de Inhibición Media (CI50) se determinaron mediante un análisis Probit y se obtuvieron resultados de 6,38 y 2,09 por ciento para las muestras “A1” y “A2”, respectivamente. Lo cual significa que a estas concentraciones se inhibió el 50 por ciento de la elongación de la radícula. Asimismo, las CI50 de las muestras “A1” y “A2” son equivalentes a 15,67 UT y 47,75 UT (Tabla 23), respectivamente. Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de ambas muestras es considerada “ALTA”.

Tabla 24: Porcentaje de inhibición de elongación de radícula (muestras de agua)

A1						
Concentración (%)	Longitud inhibida (mm)					Porcentaje de inhibición (%)
	R1	R1	R1	R1	Promedio	
0,00	-3,15	1,25	-0,85	2,75	0,00	0,00
1,00	-2,26	-3,61	-4,02	-2,80	-3,17	-10,96
3,125	0,75	0,12	1,05	0,37	0,57	1,98
6,25	11,06	13,76	11,84	13,38	12,51	43,21
12,50	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95	100,00
25,00	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95	100,00
50,00	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95	100,00
100,00	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95	100,00
A2						
0,00	-1,02	-0,07	-3,26	4,35	0,00	0,00
1,00	4,98	10,61	8,94	7,94	8,12	29,28
3,13	14,80	14,11	15,00	15,39	14,82	53,48
6,25	24,25	24,35	24,04	23,92	24,14	87,09
12,50	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00
25,00	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00
50,00	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00
100,00	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4. Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

Los resultados obtenidos para las muestras de lixiviados de sedimentos se presentan en la Tabla 25, en las cuales se puede observar que se registró una inhibición de elongación de la radícula de 8,09 por ciento a una concentración de 1 por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 50 por ciento para la muestra “B1”. Mientras que para la muestra “B2”, se registró una inhibición de elongación de la radícula de 4,35 por ciento a una concentración de uno por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 12,50 por ciento. No se registraron efectos de hormesis para ninguna de las dos muestras.

La Concentración de Inhibición Media (CI50) se determinó mediante un análisis Probit y se obtuvieron resultados de 6,25 y 4,93 por ciento para las muestras “B1” y “B2”, respectivamente. Lo cual significa que a estas concentraciones se inhibió el 50 por ciento de la elongación de la radícula. Asimismo, las CI50 de las muestras “B1” y “B2” son

equivalentes a 16 UT y 20,28 UT (Tabla 23), respectivamente. Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de ambas muestras es considerada “ALTA”.

Tabla 25: Porcentaje de inhibición de elongación de radícula (muestras de lixiviados de sedimentos)

B1						
Concentración (%)	Longitud inhibida (mm)					Porcentaje de inhibición (%)
	R1	R1	R1	R1	Promedio	
0,00	-3,15	1,25	-0,85	2,75	0,00	0,00
1,00	-3,00	3,62	6,21	2,54	2,34	8,09
3,13	11,84	5,90	3,95	16,13	9,45	32,66
6,25	6,84	11,28	8,25	5,58	7,99	27,59
12,50	16,10	19,39	21,63	24,00	20,28	70,06
25,00	25,60	27,95	26,12	27,01	26,67	92,12
50,00	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95	100,00
100,00	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95	100,00
B2						
0,00	-1,02	-0,07	-3,26	4,35	0,00	0,00
1,00	3,61	4,45	-2,06	-1,18	1,21	4,35
3,13	0,78	1,67	0,56	1,72	1,18	4,26
6,25	20,87	24,08	23,82	21,45	22,55	81,37
12,50	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00
25,00	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00
50,00	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00
100,00	27,72	27,72	27,72	27,72	27,72	100,00

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4. Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

Las curvas concentración-respuesta de los bioensayos realizados para todas las muestras se presentan en la Figura 34, en la cual se puede observar que a medida que aumenta la concentración de cada muestra, el efecto tóxico (inhibición de elongación) sobre las radículas aumenta.

Los valores de las pendientes de las curvas A1, A2, B1 y B2 son 7,73, 2,40, 1,99, 8,70, respectivamente. Por lo tanto, se puede estimar que la tendencia de la velocidad de asimilación de los contaminantes en las semillas es la siguiente: B2 > A1 > A2 > B1.

Adicionalmente, la caracterización fisicoquímica (Tabla 13 y 14) indica concentraciones elevadas de muchos metales, como el Aluminio, que podría estar relacionado directamente con el efecto tóxico de todas las muestras, según Panda et al., (2009) la región más afectada

debido a la toxicidad del Aluminio es la raíz de la planta, ya que este bloquea el mecanismo división celular, ocasionando la inhibición del crecimiento de la raíz. Por otra parte, Lyu et al., (2018) realizaron un estudio de fitotoxicidad en raíces de *Lactuca sativa* y demostraron que la toxicidad en términos de CE50 (Concentración efectiva media) para elementos esenciales y no esenciales se encontraban en el orden Ni > Zn > Cu > Mn > Fe y Cd > Hg > Pb > As > Cr, respectivamente.

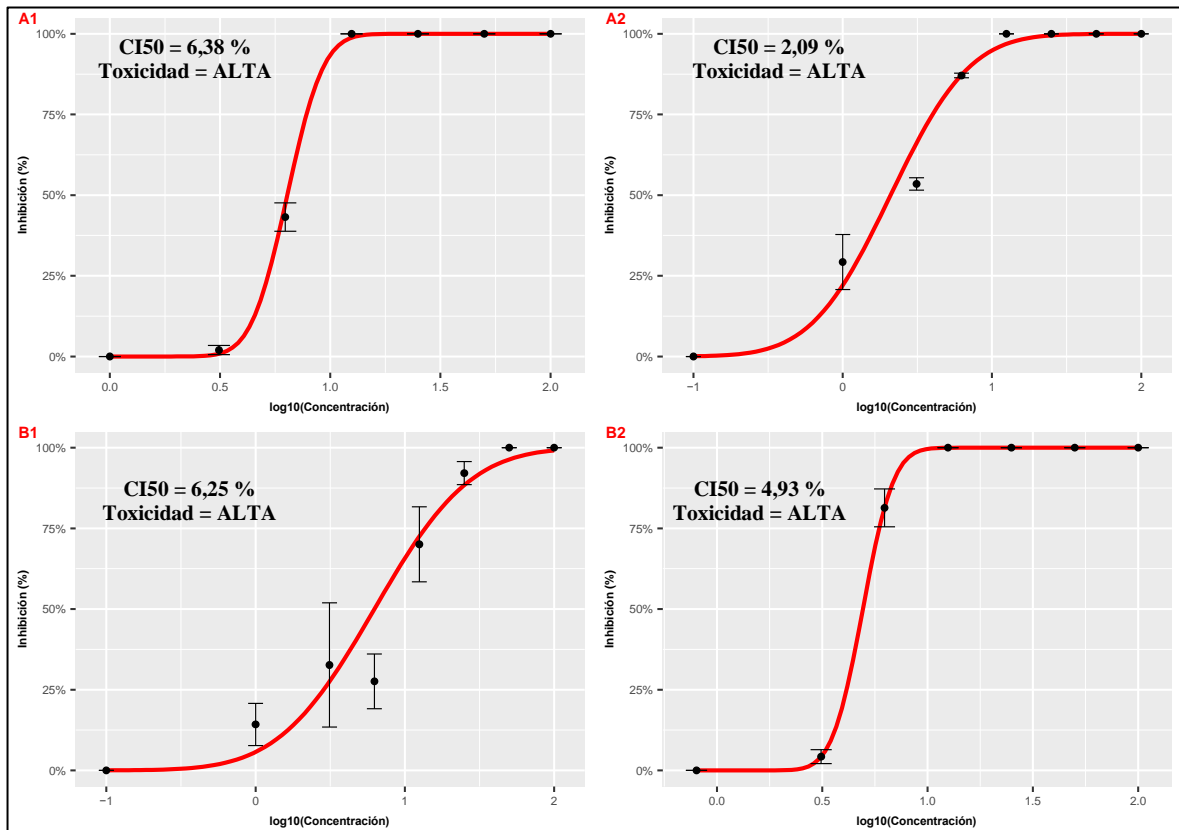


Figura 34: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a las 120 horas de exposición para el bioensayo de *Lactuca sativa* (Inhibición de elongación de radícula)

4.3.2.3. Inhibición de elongación de hipocótilo

La longitud inhibida promedio se determinó a partir de las longitudes promedio de cada tratamiento después de un tiempo de exposición de 120 horas y de las longitudes promedio de los controles, expuestos a las mismas condiciones.

Para el análisis estadístico y la determinación de la CI50, no se tomó en consideración las concentraciones con las cuales se obtuvieron efectos de hormesis, debido a que la evaluación de este efecto necesitaría la elaboración de un modelo en específico, el cual solo sería factible

con una zona de hormesis más extensa, es decir, una mayor cantidad de tratamientos que causen este efecto.

En la tabla 25 se puede observar los valores de la Concentración de Inhibición Media (CI50) y Unidades Tóxicas para cada muestra, las cuales se encontraron en el rango de 3,12 – 14,00 por ciento y 7,14 – 32,03 UT, respectivamente.

Tabla 26: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de elongación de hipocótilo

Muestra	CI50 (%)	UT
A1	10,13	9,88
A2	3,12	32,03
B1	14	7,14
B2	6,59	15,18

En la Tabla 26 se puede observar los resultados obtenidos para las muestras de agua, en las cuales se registró una inhibición de elongación promedio del hipocótilo de 2,90 por ciento a una concentración de 3,125 por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 25 por ciento para la muestra “A1”, también se observó efecto de hormesis a la concentración de uno por ciento. Por otra parte, para la muestra “A2” se registró una inhibición de elongación del hipocótilo de 19,57 por ciento a una concentración de uno por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 12,50, no se observó efectos de hormesis.

Las Concentraciones de Inhibición Media (CI50) se determinaron mediante un análisis Probit y se obtuvieron resultados de 10,13 y 3,12 por ciento para las muestras “A1” y “A2”, respectivamente. Lo cual significa que a estas concentraciones se inhibió el 50 por ciento de la elongación del hipocótilo. Asimismo, la CI50 de la muestra “A1” es equivalente a 9,88 UT (Tabla 26), según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “AGUDA” y la muestra “A2” presenta una CI50 equivalente a 32,03 UT (Tabla 26), por lo cual se considera que esta muestra presenta una toxicidad “ALTA”.

Los resultados de las muestras de lixiviados de sedimentos se presentan en la Tabla 28, en la cual se puede observar que se registró una inhibición de elongación promedio del hipocótilo de 12,56 por ciento a una concentración de uno por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 50 por ciento para la muestra “B1” y no se observó efectos de hormesis. Para la muestra “B2” se registró una inhibición de elongación promedio del

hipocótilo de 40,30 por ciento a una concentración de 6,25 por ciento y una inhibición total a partir de la concentración de 12,50, sí se observó un efecto de hormesis para esta muestra, a las concentraciones de 1 y 3,125 por ciento.

Tabla 27: Porcentaje de inhibición de elongación de hipocótilo (muestras de agua)

A1						
Concentración (%)	Longitud inhibida (mm)					Porcentaje de inhibición (%)
	R1	R2	R3	R4	Promedio	
0,00	0,48	-1,95	0,03	1,45	0,00	0,01
1,00	-0,27	-1,95	-0,57	-0,20	-0,75	-5,72
3,13	2,33	-0,12	-0,12	-0,58	0,38	2,90
6,25	4,09	3,61	3,63	4,55	3,97	30,41
12,50	5,30	4,89	3,93	5,50	4,90	37,58
25,00	13,05	13,05	13,05	13,05	13,05	100,00
50,00	13,05	13,05	13,05	13,05	13,05	100,00
100,00	13,05	13,05	13,05	13,05	13,05	100,00
A2						
0,00	0,54	-2,92	2,19	0,19	0,00	0,00
1,00	1,93	3,30	2,97	2,91	2,78	19,57
3,13	4,69	4,30	5,63	4,25	4,72	33,25
6,25	10,48	10,82	10,40	10,09	10,45	73,64
12,50	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00
25,00	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00
50,00	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00
100,00	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4. Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

Las Concentraciones de Inhibición Media (CI50) se determinaron mediante un análisis Probit y se obtuvieron resultados de 14 y 6,59 por ciento para las muestras “B1” y “B2”, respectivamente. Lo cual significa que a estas concentraciones se inhibió el 50 por ciento de la elongación del hipocótilo. Asimismo, la CI50 de la muestra “B1” es equivalente a 7,14 UT (Tabla 26), según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “AGUDA” y la muestra “B2” presenta una CI50 equivalente a 15,18 UT (Tabla 26), por lo cual se considera que esta muestra presenta una toxicidad “ALTA”.

Tabla 28: Porcentaje de inhibición de elongación de hipocótilo (muestras de lixiviados de sedimentos)

B1						
Concentración (%)	Longitud inhibida (mm)					Porcentaje de inhibición (%)
	R1	R2	R3	R4	Promedio	
0,00	0,48	-1,95	0,03	1,45	0,00	0,01
1,00	1,15	1,88	1,47	2,05	1,64	12,56
3,13	3,58	0,58	0,94	1,76	1,71	13,13
6,25	1,27	2,27	3,10	1,47	2,03	15,55
12,50	-0,20	3,16	3,10	3,90	2,49	19,09
25,00	6,46	7,70	5,55	6,99	6,68	51,16
50,00	13,05	13,05	13,05	13,05	13,05	100,00
100,00	13,05	13,05	13,05	13,05	13,05	100,00
B2						
0,00	0,54	-2,92	2,19	0,19	0,00	0,00
1,00	0,02	-1,23	-2,09	-1,28	-1,14	-8,07
3,13	-4,51	-1,60	-2,94	-0,96	-2,50	-17,63
6,25	5,29	6,40	5,69	5,49	5,72	40,30
12,50	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00
25,00	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00
50,00	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00
100,00	14,19	14,19	14,19	14,19	14,19	100,00

Nota: Las repeticiones fueron codificadas como R1, R2, R3 y R4. Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

Las curvas concentración-respuesta de los bioensayos realizados para todas las muestras se presentan en la Figura 35, en la cual se puede observar que a medida que aumenta la concentración de cada muestra, el efecto tóxico (inhibición de elongación) sobre los hipocótilos aumenta.

Los valores de las pendientes de las curvas A1, A2, B1 y B2 son 3,33, 2,55, 1,76, 9,91, respectivamente. Por la tanto, se puede estimar que la tendencia de la velocidad de asimilación de los contaminantes en las semillas es la siguiente: B2 > A1 > A2 > B1.

Adicionalmente, la caracterización fisicoquímica (Tabla 13 y 14) indica concentraciones elevadas de muchos metales que pueden ser los posibles causantes de la inhibición del hipocótilo. Según Hossain et al. (2012) los metales pesados, dependiendo de sus estados de oxidación, pueden ser altamente reactivos, lo que resulta en toxicidad para las células vegetales de muchas maneras, como por ejemplo: alteraciones de diferentes procesos fisiológicos de la planta, incluida la inactivación y desnaturalización de enzimas, proteínas,

bloqueo de grupos funcionales de importancia metabólica, lo cual conlleva a perturbaciones en procesos metabólicos vitales como la fotosíntesis y respiración celular.

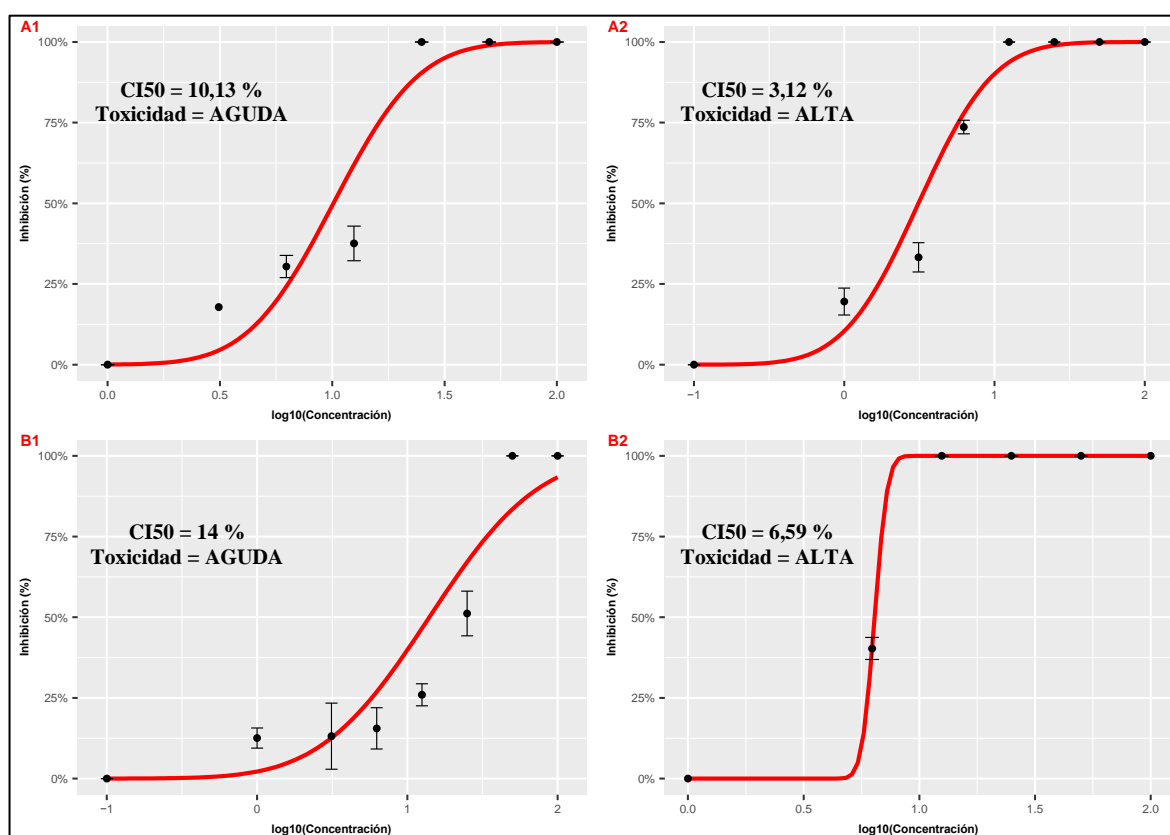


Figura 35: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a las 120 horas de exposición para el bioensayo de *Lactuca sativa* (elongación del hipocótilo)

4.3.3. Bioensayo: *Vibrio fischeri*

Este bioensayo fue realizado siguiendo los procedimientos establecidos en el protocolo BioTox™ WaterTox™ EVO Kit 1243-500, el cual está basado en la norma ISO 11348:3 – 2007: Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Asimismo, el protocolo recomienda ajustar el pH de las diluciones entre 6 – 8,5 pero debido a las altas concentraciones de metales pesados de las muestras, se optó por no hacerlo ya que se alteraría la especiación química de los metales (anexo 7). Asimismo, es importante resaltar que de acuerdo con los resultados presentados en el anexo 3, se pudo verificar la sensibilidad frente al tóxico de referencia utilizado (Zn (II)).

Para el análisis estadístico y la determinación de la CI50, no se tomó en consideración las concentraciones con las cuales se obtuvieron efectos de hormesis.

En la Tabla 29 se puede observar los valores de la Concentración de Inhibición Media (CI50) y Unidades Tóxicas para cada muestra, las cuales se encontraron en el rango de 0,15 – 9,90 por ciento y 10,10 – 666,67 UT, respectivamente.

Tabla 29: Concentración de Inhibición media (CI50) y Unidades Tóxicas (UT) para inhibición de bioluminiscencia

Muestra	CI50 (%)	UT
A1	0,94	106,38
A2	0,15	666,67
B1	9,90	10,10
B2	0,31	322,58

Tabla 30: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (Muestra A1)

Concentración	Bi (RLU)	Bic (RLU)	Bf (RLU)	Inhibición (%)	Inhibición promedio (%)
0	10838089	3833497,693	3706152	3,32	
0	11065147	3913809,483	4028204	-2,92	0,02
0	10915781	3860977,824	3873929	-0,34	
0,001	10917248	3861496,711	4156915	-7,65	
0,001	10899716	3855295,536	4205652	-9,09	-8,37
0,001	10908482	3858396,124	4181283,5	-8,37	
0,01	17617111	6231278,815	17156215	-175,32	
0,01	17543921	6205391,069	17168724	-176,67	-177,59
0,01	17492289	6187128,518	17371757	-180,77	
0,1	17460230	6175789,056	17244527	-179,23	
0,1	17397733	6153683,488	16961788	-175,64	-178,46
0,1	17320282	6126288,601	17184565	-180,51	
0,5	17226475	6093108,497	14390324	-136,17	
0,5	17217342	6089878,1	13863090	-127,64	-134,47
0,5	17061624	6034799,7	14459578	-139,60	
1	17175759	6075169,941	1604665	73,59	
1	17092233	6045626,289	1622681	73,16	73,88
1	17088048	6044146,029	1516767	74,91	

Nota: Bi = Bioluminiscencia inicial sin corregir; Bic = Bioluminiscencia inicial corregida (factor de corrección = 0,35), Bf = Bioluminiscencia final; RLU = Unidades Relativas de Luz; (*) Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

En la Tabla 30 se registró que en la mayoría de los tratamientos (0 – 0,5 %) de la muestra “A1” ocurrieron efectos de hormesis. La literatura respalda que es común que esta bacteria expuesta a metales pesados presente efectos de hormesis notables. Zou et al. (2017) realizaron bioensayos con *Vibrio fischeri* y obtuvieron un orden de efectos estimulantes de $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{3+} > Cr^{3+} > Mg^{2+} > Cs^{+} > Co^{2+}$, donde el

Cadmio presentó un efecto de hormesis de -133,01 por ciento, atribuyendo este fenómeno a la exposición de dosis bajas de metales pesados y sus efectos combinados.

La Concentración de Inhibición Media (CI50) se determinó mediante un análisis Probit y se obtuvo un resultado de 0,94 por ciento. Lo cual significa que a esta concentración se inhibió el 50 por ciento de bioluminiscencia. Además, este CI50 es equivalente a 106,38 UT (Tabla 29). Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “MUY ALTA”.

Por otra parte, la Tabla 31 presenta los resultados obtenidos de la muestra “A2”, en la cual se registró que la inhibición total se dio a partir de la concentración de 0,5 por ciento. Asimismo, se registró efectos de hormesis en el rango de concentraciones de 0 – 0,01 por ciento.

Tabla 31: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (Muestra A2)

Concentración	Bi (RLU)	Bic (RLU)	Bf (RLU)	Inhibición (%)	Inhibición promedio (%)
0	12871202	8792462,9	8766060	0,30	
0	13274293	9067818,897	9081308	-0,15	0,01
0	13853631	9463571,203	9476485	-0,14	
0,001	14122918	9647524,183	10295233	-6,71	
0,001	14345855	9799814,956	10239794	-4,49	-4,03
0,001	14643830	10003365,03	10090716	-0,87	
0,01	14762038	10084114,25	10614782	-5,26	
0,01	14905524	10182131,15	10664455	-4,74	-4,63
0,01	15003659	10249168,27	10647261	-3,88	
0,1	14721020	9966584,272	9320008,5	6,49	
0,1	14560436	9946397,651	9405493	5,44	6,49
0,1	14619538	9986770,892	9234524	7,53	
0,5	14496176	9902500,922	144	100,00	
0,5	14782996	10098430,89	113	100,00	100,00
0,5	14718945	10054676,93	175	100,00	
1	14596773	9971219,865	512	100,00	
1	14489797	9898143,355	510	100,00	100,00
1	14569243	9952413,812	511	100,00	

Nota: Bi = Bioluminiscencia inicial sin corregir; Bic = Bioluminiscencia inicial corregida (factor de corrección = 0,35), Bf = Bioluminiscencia final; RLU = Unidades Relativas de Luz; (*) Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

La Concentración de Inhibición Media (CI50) se determinó mediante un análisis Probit y se obtuvo un resultado de 0,15 por ciento. Lo cual significa que a esta concentración se inhibió el 50 por ciento de bioluminiscencia. Además, este CI50 es equivalente a 666,67 UT (Tabla 29). Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “MUY ALTA”.

Tabla 32: Porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (Muestra B1)

Concentración	Bi (RLU)	Bic (RLU)	Bf (RLU)	Inhibición (%)	Inhibición promedio (%)
0	13644015	4692657,45	4351164	7,28	
0	13185808	4535063,919	4651271	-2,56	-0,07
0	13268439	4563483,631	4788770	-4,94	
0,001	13313467	4578970,347	4770119	-4,17	
0,001	13336146	4586770,454	4707478	-2,63	-4,75
0,001	13333293	4585789,207	4927522	-7,45	
0,01	13273126	4565095,656	5574774	-22,12	
0,01	13071305	4495682,303	5770089	-28,35	-25,49
0,01	13114011	4510370,401	5682661	-25,99	
0,1	12648305	4350197,701	5896004	-35,53	
0,1	12576886	4325634,191	5666713	-31,00	-32,38
0,1	12716378	4373610,404	5712224	-30,61	
0,5	12473244	4289988,055	5565658	-29,74	
0,5	12236909	4208704,123	5449340	-29,48	-28,61
0,5	12352892	4248594,762	5379867	-26,63	
1	12196503	4194807,076	5200008	-23,96	
1	12076547	4153549,981	4898747	-17,94	-21,67
1	12044542	4142542,334	5099133	-23,09	
5	15286389	5257527,73	8219900	-56,35	
5	15619444	5372077,079	9170301	-70,70	-63,55
5	15452916,5	5314802,405	8695100,5	-63,60	
10	15471914	5321336,314	2328718	56,24	
10	15626178	5374393,139	2590689	51,80	54,01
10	15549046	5347864,726	2459703,5	54,01	

Nota: Bi = Bioluminiscencia inicial sin corregir; Bic = Bioluminiscencia inicial corregida (factor de corrección = 0,35), Bf = Bioluminiscencia final; RLU = Unidades Relativas de Luz; (*) Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

La inhibición promedio para la muestra “B1” al igual que los resultados de la muestra “A1”, presenta en la mayoría de los tratamientos (0 – 5 %) efectos de hormesis (Tabla 32). Asimismo, la Concentración de Inhibición Media (CI50) de la muestra “B1” fue de 9,90 por ciento. Lo cual significa que a esta concentración se inhibió el 50 por ciento de

bioluminiscencia. Además, este CI50 es equivalente a 10,10 UT (Tabla 29). Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “ALTA”. Los resultados obtenidos de la muestra “B2” se pueden observar en la Tabla 33, en la cual se registró que a partir de la concentración de 0,1 por ciento comenzó a expresarse los efectos tóxicos. Además, se registró que la inhibición total se dio a partir de concentraciones superiores a uno por ciento. Asimismo, se registró efectos de hormesis en el rango de concentraciones de 0 – 0,01 por ciento. Además, la Concentración de Inhibición Media (CI50) de la muestra “B2” fue de 0,31 por ciento. Lo cual significa que a esta concentración se inhibió el 50 por ciento de bioluminiscencia. Esta CI50 es equivalente a 322,58 UT (Tabla 29). Por lo tanto, según la escala de Persoone (Tabla 9), la toxicidad de esta muestra es considerada “MUY ALTA”.

Tabla 33: Inhibición de bioluminiscencia (Muestra B2)

Concentración	Bi (RLU)	Bic (RLU)	Bf (RLU)	Inhibición (%)	Inhibición promedio (%)
0	13394465	7788012,859	7735813	0,67	
0	13408809	7796352,965	7895076	-1,27	0,00
0	13662496	7943855,506	7897332,33	0,59	
0,001	13717625	7975909,444	8594817	-7,76	
0,001	13706037	7969171,774	8362128	-4,93	-7,07
0,001	13766582	8004374,765	8686312	-8,52	
0,01	13805384	8026935,612	9081894	-13,14	
0,01	13770095	8006417,347	9071910	-13,31	-13,54
0,01	13876666	8068381,473	9210736	-14,16	
0,1	13990612	8134633,684	7942681	2,36	
0,1	13947104	8109336,603	7743811	4,51	3,43
0,1	13905959	8121985,143	7843246	3,43	
0,5	14067762	8179491,406	1804101	77,94	
0,5	14083691	8188753,087	1857929	77,31	78,24
0,5	14084351	8189136,834	1681882	79,46	
1	14391861	8367933,959	343288	95,90	
1	14241443	8280475,646	355741	95,70	95,81
1	14398197	8371617,932	349514,5	95,83	

Nota: Bi = Bioluminiscencia inicial sin corregir; Bic = Bioluminiscencia inicial corregida (factor de corrección = 0,35), Bf = Bioluminiscencia final; RLU = Unidades Relativas de Luz; (*) Los porcentajes de inhibición señalados en la tabla son referenciales ya que no fueron determinados mediante el análisis Probit.

Las curvas Concentración-Respuesta se presentan en la Figura 36, en la cual se puede observar que a medida que aumenta la concentración de cada muestra, la inhibición de la emisión de bioluminiscencia de la bacteria *Vibrio fischeri* aumenta. Esta inhibición se puede deber a que la bioluminiscencia se encuentra relacionada directamente con la respiración celular, a través de la cadena de transporte de electrones, lo cual la convierte en un indicador de la toxicidad ocasionada por agentes xenobióticos sobre el metabolismo celular (Abbas et al., 2018). Es importante resaltar, que los resultados que mostraron efectos de hormesis, no fueron considerados al momento de realizar las curvas.

Los valores de las pendientes de las curvas A1, A2, B1 y B2 son 23,81, 8,15, 23,52, 3,64, respectivamente. Por la tanto, se puede estimar que la tendencia de la velocidad de asimilación de los contaminantes en las bacterias es la siguiente: $A1 > B1 > A2 > B2$.

La caracterización fisicoquímica de las muestras indica concentraciones elevadas de metales como Arsénico, Cadmio, Cobre, Mercurio, Níquel, Plata y Zinc. Abdel-Hamid y Blaghen (2018) determinaron la toxicidad de estos metales, en función de la Concentración Efectiva media (CE50), utilizando bioensayos con *Vibrio fischeri* en un pH de 7,5 aproximadamente y obtuvieron la siguiente relación de CE50: $Hg^{2+} > Ag^+ > As^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$, con CE50 de 0,008, 0,002, 1, 1,5, 1,5, 1,7, 1,8 mg/L, respectivamente. Estos valores tan bajos de CE50 demuestran la alta sensibilidad de la bacteria *Vibrio fischeri* frente a metales pesados y si se compara con los resultados obtenidos en esta investigación, considerando los bajos valores de pH, la diversidad de metales presentes en las muestras y los efectos sinérgicos que pudieron ocurrir durante el tiempo de exposición. Se puede inferir que todas las muestras resultaron tener alta y/o muy alta toxicidad.

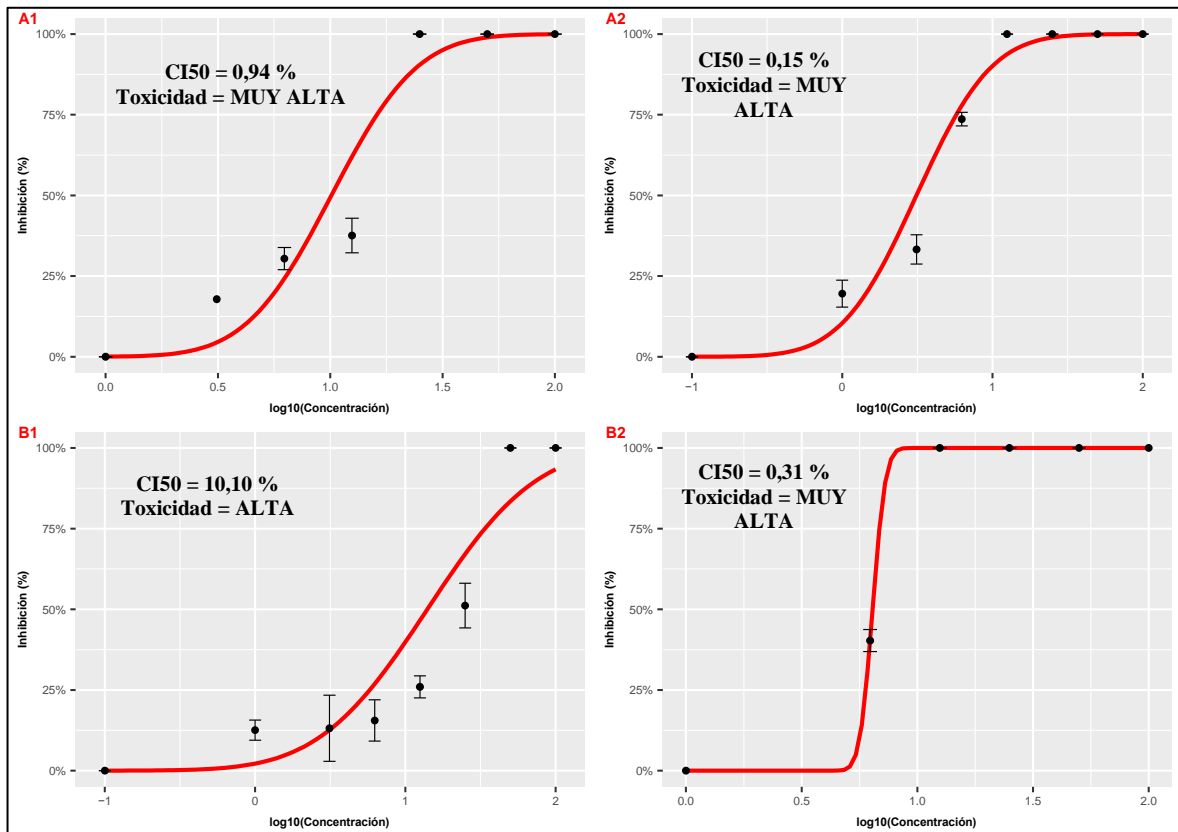


Figura 36: Curvas Concentración-Respuesta de todas las muestras a los 30 minutos de exposición para el bioensayo de *Vibrio fischeri* (Inhibición de bioluminiscencia)

4.4. Evaluación de riesgo tóxico

Las Figuras 37, 38 y 39 muestran los metales cuyas concentraciones han sobrepasado los Estándares de Calidad Ambiental para agua (categoría 4 - Conservación del Ambiente Acuático, subcategoría E1 - Lagos y Lagunas), los valores límites recomendados por la Guía Canadiense de Calidad de Agua dulce y la Guía Canadiense de Calidad de Sedimentos de Agua dulce.

En el caso de las muestras de agua, se hubiera esperado una tendencia en la cual las concentraciones de los metales de la temporada de lluvias fueran mucho menores en comparación con las concentraciones de la temporada seca, debido al factor de dilución. Este factor hace referencia a que el volumen de agua de la laguna Quiulacocha aumenta en la temporada de lluvias, por lo tanto, los metales se diluyen mucho más. Sin embargo, como se puede observar los metales: arsénico, cobre, cromo y plomo de la Figura 37 y los metales aluminio, arsénico, cobre, cromo, molibdeno y plomo de la Figura 38, no cumplen con la tendencia del factor de dilución. Edokpayi et al, (2017) obtuvieron resultados similares para el metal aluminio, mencionando que la causa de este fenómeno se debió a las altas

escorrentías superficiales de tierras agrícolas y suelos ricos en aluminio generadas durante la temporada de lluvias. Además, Nyantakyi et al, (2019) concluyen que las escorrentías urbanas, las cuales ocurren principalmente en temporadas de lluvias, tienden a arrastrar residuos cargados con metales pesados hacia los cuerpos de aguas superficiales. Por lo tanto, se puede inferir que la variación estacional de las concentraciones de metales pesados de la laguna Quiulacocha, pudo ser causada por las escorrentías superficiales y su interacción con un ambiente urbano de alta actividad minera.

Por otra parte, para las muestras de sedimentos, se pueden observar que las concentraciones de los metales son exorbitantemente altas en comparación con los límites recomendados en la normativa canadiense, a excepción de los metales Cobre y Mercurio de la temporada seca (Figura 39). Es importante resaltar que los sedimentos no presentan estabilidad espacial que permita asegurar las características de un determinado punto, es decir, nunca se podrá reproducir exactamente las mismas condiciones de muestreo para muestras posteriores (CSN, 2007). Las distribuciones espaciales y temporales de las concentraciones de metales en sedimentos están influenciados por muchos factores ambientales, incluyen los procesos biogeoquímicos y de sedimentación (Che et al. 2003).

La contaminación antropogénica ha generado acumulaciones de grandes cantidades de metales pesados en sedimentos, los cuales cumple un rol importante en el transporte y almacenamiento de metales pesados que son causantes de alteraciones en ecosistemas acuáticos. No obstante, algunos de estos metales como el arsénico, cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc, se introducen en la cadena alimentaria y terminan convirtiéndose en una amenaza para la salud humana debido a que su alta toxicidad puede causar envenenamientos en microorganismos bentónicos, peces, etc. (Li et al. 2020).

Omoruyi et al. (2018) mencionan que las posibles consecuencias de la toxicidad de metales pesados en la salud humana, ocurren a través de la transferencia de alimentos por consumo, lo cual aplica para las muestras utilizadas en la presente investigación, ya sea por transferencia directa o indirecta. Asimismo, concluyen que la exposición a metales pesados tóxicos podría ser una preocupación importante para los humanos que viven cerca de ecosistemas acuáticos contaminados, como es el caso de la población de Quiulacocha.

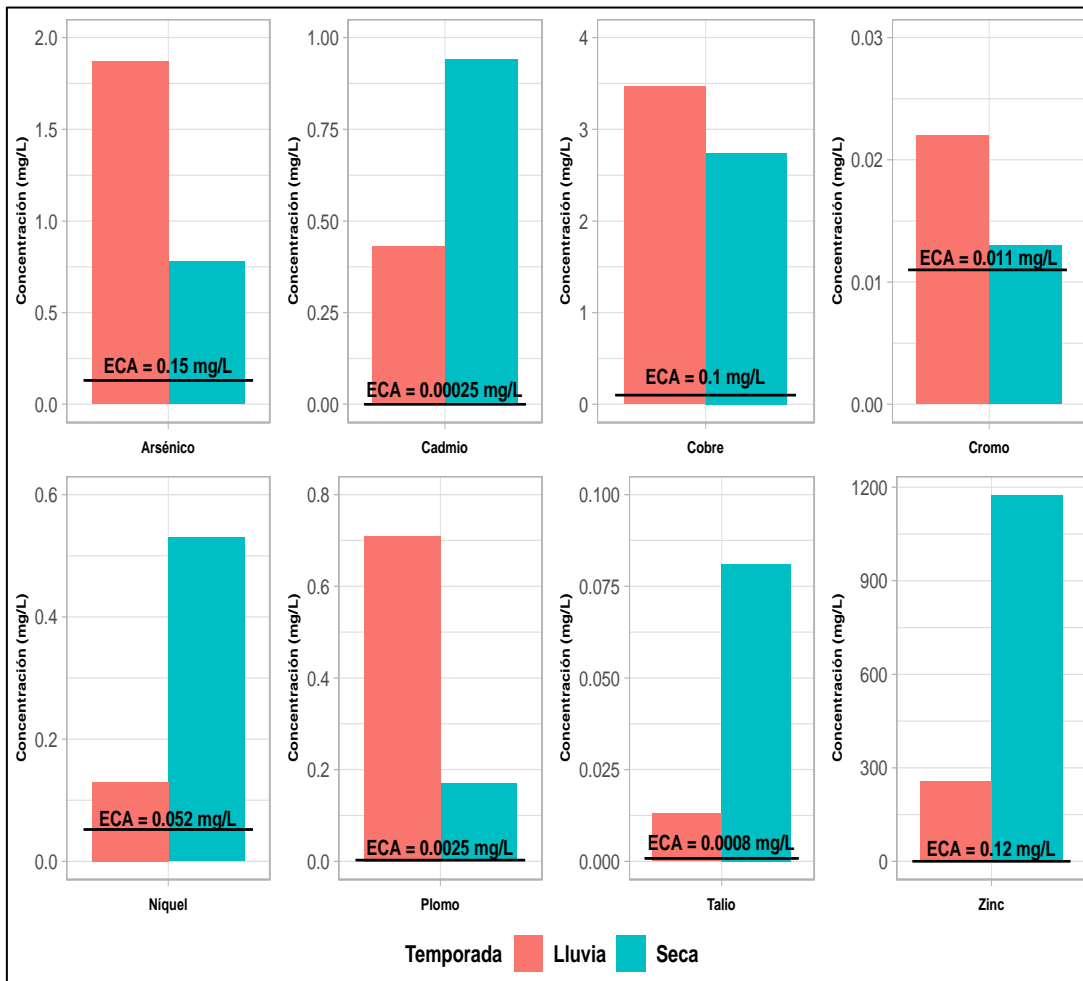


Figura 37. Metales que sobrepasan Estándares de Calidad Ambiental (ECA), categoría 4, subcategoría E1

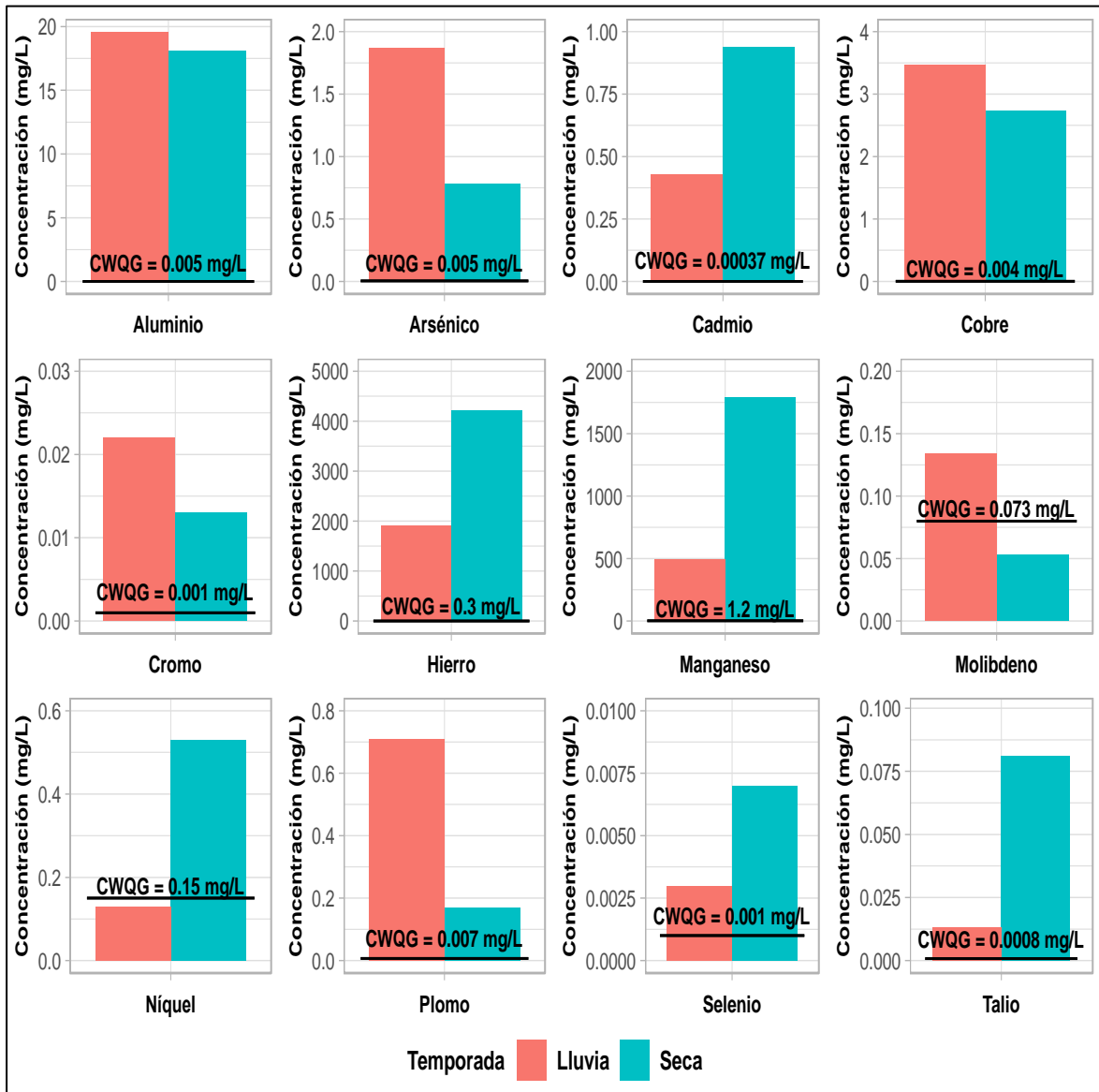


Figura 38: Metales que sobrepasan los valores recomendados por la Guía Canadiense de Calidad de Agua para la Protección de la vida Acuática (CWQG, agua dulce)

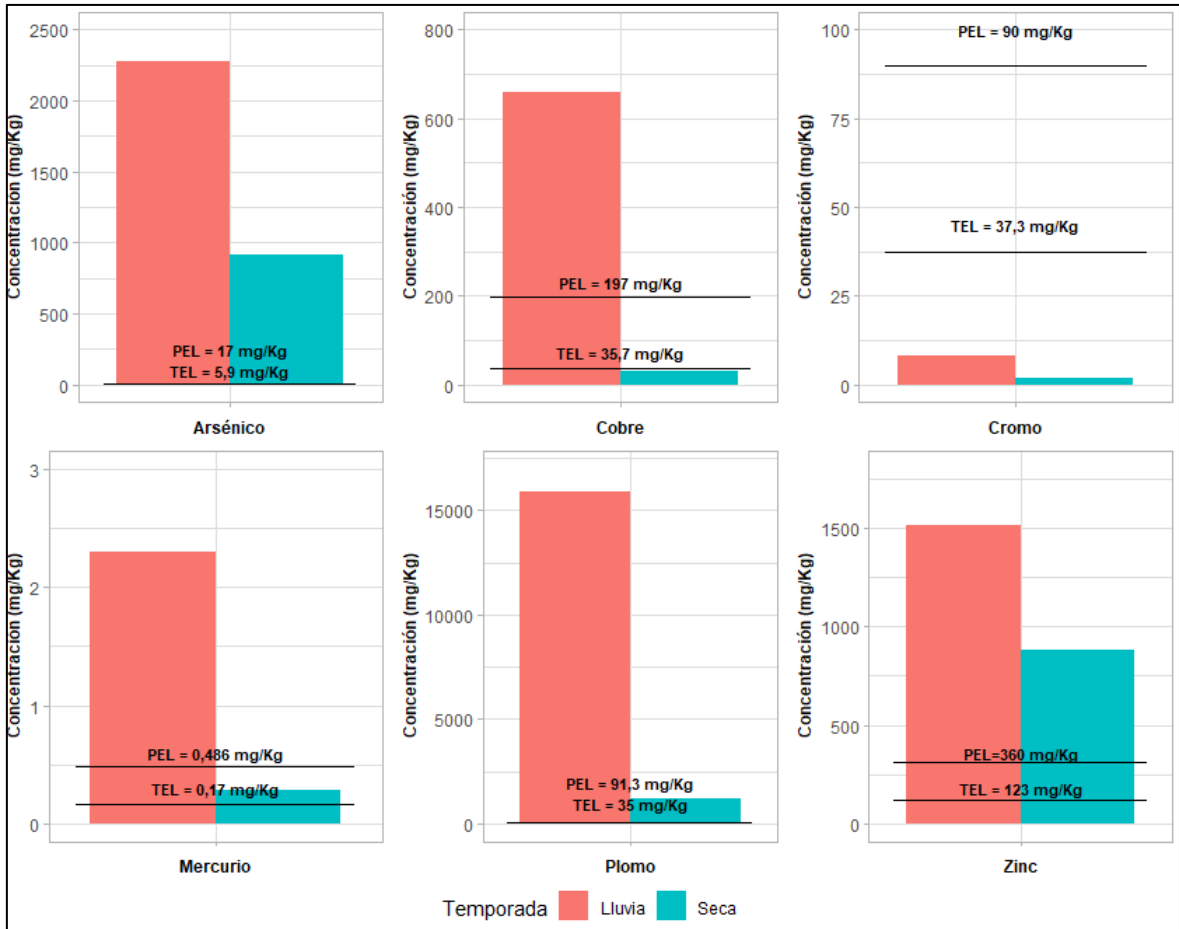


Figura 39: Metales y metaloides que sobrepasan el Nivel de Efecto Umbral (TEL) y el Nivel de Efecto Probable (PEL)

Los resultados anteriores dan a entender la condición ambiental crítica a la cual se viene enfrentando la población de Quiulacocha desde hace muchos años. A continuación, se presentan algunos de los efectos sobre la salud humana que pueden ocasionar los metales (Figura 37, 38 y 39) a los cuales se encuentran expuestos los pobladores de Quiulacocha: Ver Tabla 34.

Tabla 34: Efectos en la salud de los metales y metaloides evaluados

Metal	Rutas de exposición			Carcinogénico	Observaciones
	Absorción cutánea	Inhalación	Ingesta		
Aluminio	Sin evidencia	Problemas respiratorios y deficiencia en el sistema nervioso.	Algunos estudios han sugerido que puede causar enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, no se sabe con certeza.	Sin evidencia	Se ha observado daños en los huesos de niños, ya que el aluminio previene la absorción de fosfato en el estómago, sustancia necesaria para el desarrollo óseo.
Arsénico	Irritación, enrojecimiento e hinchazón de la piel.	Dolor de garganta e irritación de los pulmones.	Alteraciones en la piel como oscurecimiento y verrugas.	Sí	Los daños sobre la salud mencionados hacen referencia al arsénico inorgánico. Asimismo, se ha observado que ingerir arsénico aumenta el riesgo de desarrollar cáncer del hígado, la vejiga y los pulmones. Mientras que la inhalación; aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón.
Cadmio	Sin evidencia	Daños graves en los pulmones, pudiendo causar hasta la muerte.	Irritación del estómago, intestino y daños a los riñones.	Sí	Una exposición crónica por ingestión a bajas concentraciones puede causar fragilidad en los huesos.
Cobre	Sin evidencia	Irritación de nariz, boca, ojos. Dolores de cabeza, mareo, náusea y diarrea.	Náuseas, vómitos, calambres estomacales o diarrea.	Sin evidencia	La ingestión intencional puede causar daños en los riñones, hígado y hasta la muerte.

Continuación...

Cromo	Sin evidencia	Problemas para respirar como asma, tos, falta de aliento, respiración jadeante.	El cromo VI puede causar irritación del estómago, úlceras y anemia.	Sí (Cromo VI)	Los compuesto de cromo III son menos tóxicos que los de cromo VI, inhalación de este último puede causar cáncer del pulmón.
Hierro	Sin evidencia				
Manganeso	Sin evidencia	Alteración del sistema nervioso, enfermedad del manganismo (movimientos lentos de las manos). Irritación de pulmones, neumonía.	Sin evidencia	Sin evidencia	Los estudios en niños han sugerido que los niveles extremadamente altos de exposición al manganeso pueden producir efectos no deseados en el desarrollo del cerebro, incluidos cambios en el comportamiento y una disminución en la capacidad de aprender y recordar.
Mercurio	Irritación cutánea e irritación ocular.	Irritabilidad, temblores, cambios en la visión, sordera, dificultades con la memoria.	Se da principalmente en la ingesta de pescado con metilmercurio, el cual probablemente es carcinógeno.	Probablemente (cloruro de mercurio y metilmercurio)	Efectos en el corazón en niños después de ingerir accidentalmente cloruro mercúrico. Los síntomas incluyen frecuencia cardíaca rápida y aumento de la presión arterial.
Molibdeno	Sin evidencia				
Níquel	Reacción alérgica (salpullido).	Bronquitis crónica, disminución de la función pulmonar y los senos nasales.	Sin evidencia	Sí (en algunos compuesto de Níquel)	El polvo de níquel de refinерías y el sulfuro de níquel son carcinogénicos en seres humanos.

Continuación...

Plomo	Los efectos del plomo son los mismos, independientemente de cómo entra al cuerpo. El plomo afecta principalmente al sistema nervioso, pero también puede generar anemia, debilidad en los dedos, muñecas y tobillos.			Probablemente	La exposición a alta concentraciones puede dañar gravemente el cerebro y los riñones. En mujeres embarazadas, pueden producir abortos y en hombres, puede alterar la producción de espermatozoides.
Selenio	Erupciones cutáneas, enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor en la piel.	Mareos, fatiga e irritación de las membranas mucosas.	Cabello quebradizo y uñas deformadas. Selenosis, las personas pueden perder la sensación y el control de brazos y piernas.	Probablemente	En casos extremos, se ha informado de la acumulación de líquido en los pulmones (edema pulmonar) y bronquitis severa.
Talio	Sin evidencia.	Sin evidencia.	Daños en el sistema nervioso, pulmones, corazón, hígado y riñones.	Sin evidencia.	Una exposición aguda a grandes cantidades puede ser mortal.
Zinc	Sin evidencia				

Nota: Adaptado de "Toxicological profiles," por Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2020.

4.5. Evaluación del riesgo ecotoxicológico

4.5.1. Determinación de la Concentración Ambiental Prevista (PEC)

Como se mencionó, el PEC es la concentración existente en el compartimento ambiental de evaluación. Por lo que se utilizó como PEC a las concentraciones de los metales analizadas en las muestras A1, A2, B1 y B2 (ver Tabla 35). Es importante resaltar que los PECs de las concentraciones de los metales que no alcanzaron el límite de detección al momento del análisis de las muestras, fueron considerados como ceros.

También es importante señalar que las muestras “B1” y “B2” son lixiviados obtenidos de realizar el procedimiento TCLP a los sedimentos recolectados. Por ello, las concentraciones en los lixiviados son mucho menor que en los sedimentos analizados. Con el fin de no sobreestimar los cocientes de riesgos (RQ), se procedió a calcular las concentraciones teóricas en ambos lixiviados, dividiendo la concentración total de los sedimentos entre 20 (asumiendo extracciones de 100 por ciento de eficiencia). El factor de dilución de 20 refleja la relación líquido/sólido empleada en el procedimiento TCLP (USEPA, 1994). Por lo tanto, los PEC utilizados para estas muestras son las concentraciones teóricas en los lixiviados.

Tabla 35: Determinación de la concentración ambiental prevista (PEC) de la muestra A1

Metales y metaloides	Concentración, mg/L	PEC, mg/L
Aluminio	19,598	19,598
Antimonio	0,008	0,008
Arsénico	1,867	1,867
Bario	0,006	0,006
Berilio	0,002	0,002
Boro	< 0,006	0,000
Cadmio	0,433	0,433
Cobalto	0,045	0,045
Cobre	3,466	3,466
Cromo	0,022	0,022
Estaño	< 0,00010	0,000
Estroncio	0,591	0,591
Hierro	1900,044	1900,044
Manganeso	489,096	489,096
Mercurio	< 0,00009	0,000
Molibdeno	0,134	0,134
Níquel	0,130	0,130
Plata	< 0,00010	0,000
Plomo	0,708	0,708
Selenio	0,003	0,003
Talio	0,013	0,013
Vanadio	0,014	0,014
Zinc	257,138	257,138

4.5.2. Determinación de la Concentración Prevista Sin Efecto (PNEC)

Para este cálculo, primero se necesita seleccionar los factores de evaluación correspondientes para cada tipo de bioensayo. Existen muchos factores de evaluación, los cuales dependerán del compartimento ambiental y el tiempo de exposición de los organismos utilizados en los bioensayos. Para esta investigación, se utilizó un factor de 1000, valor recomendado por la Agencia Europea de Productos Químicos (ECHA, por sus siglas en inglés) cuando se evalúa el riesgo para toxicidad aguda. El uso de un factor de 1000 es conservador y está diseñado para garantizar que las sustancias con potencial para causar efectos adversos se identifiquen en la evaluación de efectos (ECHA, 2003). Nikinmaa (2014) menciona que la magnitud del factor de evaluación depende del nivel de conocimiento sobre el sistema, es decir, cuando mejor se conoce el sistema, menor es la magnitud del factor. Por lo tanto, debido a la complejidad de las muestras de agua y sedimentos utilizados en esta investigación, se seleccionó el factor ya mencionado.

Posteriormente, se procedió a calcular el PNEC para todos los bioensayos de cada muestra, dividiendo las CL50/CI50 (convertidas de unidades por ciento a mg/L), entre el factor de evaluación.

$$\text{PNEC} = \frac{CL_{50} \text{ ó } CI_{50}}{1000}$$

Figura 40: Cálculo del PNEC. Adaptado de “Technical Guidance Document on Risk Assessment,” por European Chemicals Agency (ECHA), 2003

4.5.3. Cuantificación del riesgo

Se escogió el PNEC más bajo de entre todos los bioensayos para cada muestra (ver Tabla 36) y se realizó la cuantificación del riesgo de cada metal utilizando la fórmula descrita en la Figura 30. Es importante señalar que debido a que las muestras evaluadas son muestras complejas, es decir, son una mezcla de los diferentes metales en estudio, se utilizó el mismo PNEC para los metales de una misma muestra. El mismo procedimiento se realizó para las muestras “A2”, “B1” y “B2”.

Tabla 36: Selección de la concentración prevista sin efecto (PNEC) de la muestra A1

Bioensayo		CL ₅₀ o CI ₅₀ , %	CL ₅₀ o CI ₅₀ , mg/L	Factor de evaluación	PNEC, mg/L
<i>Daphnia magna</i>	Inmovilización	2,43	24300,00	1000	24,30
	Germinación	9,28	92800,10		141,90
<i>Lactuca sativa</i>	Inhibición de radícula	6,38	63800,00		63,80
	Inhibición de hipocótilo	10,13	101300,90		101,25
<i>Vibrio fischeri</i>	Inhibición de bioluminiscencia	0,94	9400,00		9,40

Las Tablas 37 y 38 presentan los riesgos ecotoxicológicos calculados para las muestras de agua. Se puede observar que, de los 23 metales y metaloides evaluados, se obtuvo 4 metales (aluminio, hierro, manganeso y zinc) con cocientes de riesgo (RQ) superiores a 1 para la muestra “A1”. Mientras que para la muestra “A2” se obtuvo 6 metales (aluminio, cobre, estroncio, hierro, manganeso y zinc) con cocientes de riesgo (RQ) superiores a 1. De acuerdo a estos resultados, se afirma que existen riesgos inaceptables para cada uno de los metales mencionados, lo cual quiere decir que estos metales tienen mayores probabilidades de expresar su toxicidad en el ambiente.

Tabla 37: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de agua A1

Metales y metaloides	PEC, mg/L	PNEC, mg/L	Cociente de riesgo (RQ)	Tipo de riesgo
Aluminio	19,598		2,08	Inaceptable
Antimonio	0,008		0,00	Aceptable
Arsénico	1,867		0,20	Aceptable
Bario	0,006		0,00	Aceptable
Berilio	0,002		0,00	Aceptable
Boro	0,000		0,00	Aceptable
Cadmio	0,433		0,05	Aceptable
Cobalto	0,045		0,00	Aceptable
Cobre	3,466		0,37	Aceptable
Cromo	0,022		0,00	Aceptable
Estaño	0,000		0,00	Aceptable
Estroncio	0,591	9,40	0,06	Aceptable
Hierro	1900,044		202,13	Inaceptable
Manganeso	489,096		52,03	Inaceptable
Mercurio	0,000		0,00	Aceptable
Molibdeno	0,134		0,01	Aceptable
Níquel	0,130		0,01	Aceptable
Plata	0,000		0,00	Aceptable
Plomo	0,708		0,08	Aceptable
Selenio	0,003		0,00	Aceptable
Talio	0,013		0,00	Aceptable
Vanadio	0,014		0,00	Aceptable
Zinc	257,138		27,36	Inaceptable

Tabla 38: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de agua A2

Metales y metaloides	PEC, mg/L	PNEC, mg/L	Cociente de riesgo (RQ)	Tipo de riesgo
Aluminio	18,136		18,89	Inaceptable
Antimonio	0,001		0,00	Aceptable
Arsénico	0,777		0,81	Aceptable
Bario	0,002		0,00	Aceptable
Berilio	0,003		0,00	Aceptable
Boro	0,079		0,08	Aceptable
Cadmio	0,937		0,98	Aceptable
Cobalto	0,166		0,17	Aceptable
Cobre	2,738		2,85	Inaceptable
Cromo	0,013		0,01	Aceptable
Estaño	0,000		0,00	Aceptable
Estroncio	2,046	0,96	2,13	Inaceptable
Hierro	4218,938		4394,73	Inaceptable
Manganeso	1791,617		1866,27	Inaceptable
Mercurio	0,000		0,00	Aceptable
Molibdeno	0,053		0,06	Aceptable
Níquel	0,526		0,55	Aceptable
Plata	0,000		0,00	Aceptable
Plomo	0,171		0,18	Aceptable
Selenio	0,007		0,01	Aceptable
Talio	0,081		0,08	Aceptable
Vanadio	0,009		0,01	Aceptable
Zinc	1176,277		1225,29	Inaceptable

Las Tablas 39 y 40 presentan los riesgos ecotoxicológicos calculados para las muestras de lixiviados de sedimentos. Se puede observar que, de los 23 metales y metaloides evaluados, se obtuvo 5 metales (aluminio, arsénico, hierro, plomo y zinc) con cocientes de riesgo (RQ) superiores a 1 para la muestra “B1”. Mientras que para la muestra “B2” se obtuvo 7 metales (aluminio, arsénico, estroncio, hierro, manganeso, plomo y zinc) con cocientes de riesgo (RQ) superiores a 1. De acuerdo a estos resultados, se afirma que existen riesgos inaceptables para cada uno de los metales mencionados, lo cual quiere decir que estos metales tienen mayores probabilidades de expresar su toxicidad en el ambiente.

Asimismo, es importante recalcar que las muestras “B1” y “B2” son lixiviados obtenidos de realizar el procedimiento TCLP a los sedimentos recolectados, por ello, la concentración en el lixiviado es mucho menor que en los sedimentos analizados. Lo que significa, que los CL50 o CI50 calculados para todos los bioensayos de estas muestras se encuentran

subestimados, es decir, representan una parte del verdadero potencial tóxico. Por lo tanto, los cocientes de riesgo para esta muestra pueden ser mucho mayores.

Tabla 39: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de lixiviado de sedimentos B1

Metales y metaloides	PEC, mg/L	PNEC, mg/L	Cociente de riesgo (RQ)	Tipo de riesgo
Aluminio	195,53		3,19	Inaceptable
Antimonio	6,98		0,11	Aceptable
Arsénico	114,01		1,86	Inaceptable
Bario	10,73		0,17	Aceptable
Berilio	0,01		0,00	Aceptable
Boro	0,00		0,00	Aceptable
Cadmio	0,13		0,00	Aceptable
Cobalto	0,06		0,00	Aceptable
Cobre	33,00		0,54	Aceptable
Cromo	0,41		0,01	Aceptable
Estaño	1,04		0,02	Aceptable
Estroncio	3,62	61,37	0,06	Aceptable
Hierro	27757,17		452,33	Inaceptable
Manganeso	47,40		0,77	Aceptable
Mercurio	0,11		0,00	Aceptable
Molibdeno	0,21		0,00	Aceptable
Níquel	0,17		0,00	Aceptable
Plata	1,58		0,03	Aceptable
Plomo	795,23		12,96	Inaceptable
Selenio	0,00		0,00	Aceptable
Talio	1,11		0,02	Aceptable
Vanadio	1,25		0,02	Aceptable
Zinc	75,83		1,24	Inaceptable

Tabla 40: Riesgo ecotoxicológico de la muestra de lixiviado de sedimentos B2

Metales y metaloides	PEC, mg/L	PNEC, mg/L	Cociente de riesgo (RQ)	Tipo de riesgo
Aluminio	19,51		6,29	Inaceptable
Antimonio	1,40		0,45	Aceptable
Arsénico	45,95		14,82	Inaceptable
Bario	0,98		0,32	Aceptable
Berilio	0,00		0,00	Aceptable
Boro	0,00		0,00	Aceptable
Cadmio	0,05		0,02	Aceptable
Cobalto	0,01		0,00	Aceptable
Cobre	1,55		0,50	Aceptable
Cromo	0,10		0,03	Aceptable
Estaño	0,14		0,04	Aceptable
Estroncio	3,28	3,10	1,06	Inaceptable
Hierro	14277,82		4605,75	Inaceptable
Manganeso	70,20		22,65	Inaceptable
Mercurio	0,01		0,00	Aceptable
Molibdeno	0,03		0,01	Aceptable
Níquel	0,00		0,00	Aceptable
Plata	0,26		0,08	Aceptable
Plomo	59,57		19,22	Inaceptable
Selenio	0,00		0,00	Aceptable
Talio	0,81		0,26	Aceptable
Vanadio	0,95		0,31	Aceptable
Zinc	44,15		14,24	Inaceptable

V. CONCLUSIONES

- 1) La caracterización fisicoquímica del agua de la laguna Quiulacocha indicó condiciones altamente ácidas con valores promedios de pH de 2,60 para la temporada de lluvias y 2,71 para la temporada seca. Asimismo, indicó condiciones hipóxicas con valores promedios de oxígeno disuelto de 0,98 mg/L y 0,28 mg/L para la temporada de lluvia y temporada seca, respectivamente. Ambos parámetros superaron los Estándares de Calidad Ambiental, categoría 4 (conservación del ambiente acuático), subcategoría E1 (lagunas y lagos) y/o los valores límites recomendados por la Guía Canadiense de Calidad de Agua Dulce
- 2) Las caracterizaciones fisicoquímicas de las muestras de agua y sedimentos para ambas temporadas de muestreo indican la presencia de una gran cantidad de diferentes metales pesados (en altas concentraciones en algunos casos) y de factores ambientales favorables (pH y potencial redox) para la biodisponibilidad y movilidad de estos metales entre diferentes matrices ambientales. Debido a ello, a la cercanía al poblado (30 metros aproximadamente) y antecedentes epidemiológicos, se podría considerar a la laguna Quiulacocha como una fuente de exposición de metales pesados para los pobladores de Quiulacocha y el ecosistema.
- 3) La evaluación del riesgo tóxico demostró que las concentraciones de los metales Al (19,598), As (1,867), Cd (0,443), Cu (3,466), Cr (0,022), Fe (1900,044), Mn (489,096), Ni (0,130), Pb (0,708), Se (0,003), Ta (0,013) y Zn (257,138) para la muestra de agua “A1”, mg/L, y Al (18,136), As (0,777), Cd (0,937), Cu (2,738), Cr (0,013), Fe (4218,938), Mn (1791,617), Ni (0,526), Pb (0,171), Se (0,007), Ta (0,081) y Zn (1176,277), mg/L, para la muestra de agua “A2”, sobrepasaron los Estándares de Calidad Ambiental, categoría 4 (conservación del ambiente acuático), subcategoría E1 (lagunas y lagos) y/o los valores límites recomendados por la Guía Canadiense de Calidad de Agua Dulce. Por lo tanto, se puede concluir que la población de Quiulacocha tiene mayores probabilidades de sufrir los efectos nocivos que generan estos metales en la salud humana.

- 4) La evaluación del riesgo tóxico también demostró que las concentraciones de los metales As (2280,159), Cu (660,077), Hg (2,299), Pb (15904,588) y Zn (1516,644) para la muestra de sedimentos “B1”, mg/Kg, y As (919,061), Cu (30,908), Hg (0,279), Pb (1191,429) y Zn (883,007), mg/Kg, para la muestra de sedimentos “B2”, sobrepasaron los niveles TEL y PEL, recomendados por Guía Canadiense de Calidad de Sedimentos de Agua dulce. Por lo tanto, se puede concluir que la población de Quiulacocha tiene mayores probabilidades de sufrir los efectos nocivos que generan estos metales en la salud humana.
- 5) La evaluación de riesgo ecotoxicológico evidenció la existencia de riesgos inaceptables ($RQ > 1$) para la muestra de agua “A1”, en los metales: Al (2,08), Fe (202,13), Mn (52,03) y Zn (27,36). Mientras que para la muestra de agua “A2”: Al (18,89), Cu (2,85), Sr (2,13), Hierro (4394, 73), Mn (1866,27) y Zn (1225,29).
- 6) La evaluación de riesgo ecotoxicológico también evidenció la existencia de riesgos inaceptables ($RQ > 1$) para la muestra de sedimentos “S1”, en los metales: Al (3,19), As (1,86), Fe (452,33), Pb (12,96) y Zn (1,24). Mientras que para la muestra de sedimentos “B2”: Al (6,29), As (14,82), Sr (1,06), He (4605,75), Mn (22,65), Pb (19,22) y Zn (14,24).
- 7) Las Concentraciones Letales medias (CL50) determinadas con el bioensayo de *Daphnia magna* que indicaron mayor toxicidad fueron para las muestras recolectadas en temporada seca, con valores de 0,096 por ciento (“A2”) y 0,85 por ciento (“B2”), considerados como toxicidad “MUY ALTA”, según la clasificación de Persoone.
- 8) Las Concentraciones de Inhibición media (CI50) determinadas con el bioensayo de *Lactuca sativa* que indicaron mayor toxicidad fueron para la muestra “A2” recolectada en temporada seca, con valores de 6,90 por ciento, 2,09 por ciento y 3,12 por ciento para los parámetros de inhibición de germinación, radícula e hipocótilo, respectivamente. Considerados como toxicidad “ALTA”, según la clasificación de Persoone.
- 9) La Concentración de Inhibición media (CI50) determinada con el bioensayo de *Vibrio fischeri* que indicó mayor toxicidad fue para la muestra “A2” recolectada en temporada seca, con un valor de 0,15 por ciento, considerado como toxicidad “MUY ALTA”, según la clasificación de Persoone.

VI. RECOMENDACIONES

- 1) Se espera que la información presentada en esta investigación sea punto de partida para la realización de nuevos estudios ecotoxicológicos, estudios de intoxicación por metales pesados en sangre, procesos de remediación para tratar cuerpos de agua tan contaminados como la laguna estudiada. Asimismo, es importante resaltar que, así como la población Quiulacocha se encuentra expuesta diariamente a los contaminantes de este pasivo ambiental minero. Existen otros 8448 pasivos con características particulares, cuyas repercusiones sobre la salud humana y los ecosistemas, aún no han sido estudiados.
- 2) Para obtener una mejor referencia de los principales metales que pudieron contribuir en los efectos ecotoxicológicos de las muestras de sedimentos (“S1” y “S2”), se recomienda realizar la determinación de metales totales los lixiviados (“B1” y “B2”), con el objetivo de hallar el porcentaje de extracción real del procedimiento TCLP.
- 3) La determinación de la especiación química de los metales presentes en todas las muestras hubiera aumentado la precisión del análisis de los efectos tóxicos sobre la salud humana y de los efectos ecotoxicológicos sobre los organismos utilizados en los bioensayos, ya que al saber los estados de oxidación de cada metal se podría haber entendido los diferentes efectos que ocasionan cada uno de ellos. Sin embargo, no se realizó ya que la tecnología para especiación química es muy sofisticada, costosa y escasa en el Perú.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- 2030 Water Resources Group. (2014). Building Partnerships for Water Security. Recuperado de <https://www.2030wrg.org/2014-annual-report-building-partnerships-water-security/>
- Abbas, G., Murtaza, B., Bibi, I., Shahid, M., Niazi, N. K., Khan, M. I., Amjad, M., Hussain, M., & Natasha. (2018). Arsenic uptake, toxicity, detoxification, and speciation in plants: Physiological, biochemical, and molecular aspects. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(1). doi:10.3390/ijerph15010059
- Abdel-Hamid, A., & Blaghen, M. (2018). Optimization of Bioluminescence of *Vibrio fischeri* and Assessment of Hg⁺⁺, Cd⁺⁺, As⁺⁺, Zn⁺⁺, Ag⁺, Cu⁺⁺ and Ni⁺⁺ Ions. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology*, 4(2), 1-9. doi:10.9734/ajb2t/2018/43927
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2020). Toxicological Profiles. Recuperado de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiledocs/index.html>
- Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Hindawi Journal of Chemistry*, 14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
- Asociación Civil Centro de Cultura Popular Labor. (2006). Participación - Boletín 6. Recuperado de <http://laborpascoperu.org.pe>
- Astete, J., Gastañaga, M. del C., Lucero, M., Sabastizagal, I., Oblitas, T., Pari, J., & Rodríguez, F. (2009). Intoxicación por Plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 26(1), 15-19. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/255654847_Intoxicacion_por_plomo_y_otros_problemas_de_salud_en_ninos_de_poblaciones_aledanas_a_relaves_mineros

- Autoridad Nacional del Agua (ANA). (2016). Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales. Recuperado de <https://www.ana.gob.pe/normatividad/rj-no-010-2016-ana-0>
- Benavides, R. (2012). La Minería Responsable y sus Aportes al Desarrollo del Perú. Recuperado de http://www.mzweb.com.br/bvn/La_Mineria_Responsable_y_sus_Aportes_al_Desarrollo_del_Peru_Por_Roque_Benavides_Ganoza.pdf
- Blanchini, F., & Asociación Civil Centro de Cultura Popular Labor. (2009). Evaluación de la Calidad de los Recursos Hídricos en la Provincia de Pasco y de la Salud en el Centro Poblado de Paragsha. Recuperado de <http://www.laborpasco Peru.org.pe>
- Broadcasting Corporation (BBC). (2018). Peru's children hit by metal poisoning. <https://www.bbc.com/news/health-44458102>
- Bourg, A. & Loch, J. (1995). Mobilization of Heavy Metals as Affected by pH and Redox Conditions. En Salomon, W. & Stigliani, W. Biogeochemistry of Pollutants in Soils and Sediments, 87-102. doi:10.1007/978-3-642-79418-6_4
- Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME). (1999). Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Recuperado de <http://stts.ccme.ca/en/index.html>
- Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME). (2001). Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Recuperado de <http://stts.ccme.ca/en/index.html>
- CESEL Ingenieros. (2006). Elaboración del plan de cierre de pasivos ambientales mineros Excelsior y Quiulacocha, CENTROMIN PERU S.A; informe final. Recuperado de <https://www.oefa.gob.pe/somos-oefa/>
- Chamorro, S., Barata, C., Piña, B., Casado, M., Schwarz, A., Sáez, K., & Vidal, G. (2018). Toxicological Analysis of Acid Mine Drainage by Water Quality and Land Use Bioassays. *Mine Water and the Environment*, 37(1), 88-97. doi:10.1007/s10230-017-0472-2
- Chaparro, T. (2015). Drenajes Ácidos de Mina Formación y Manejo. *ESAICA*, 1, 53-57.

- Chamorro, S., Barata, C., Piña, B., Casado, M., Schwarz, A., Sáez, K., & Vidal, G. (2018). Toxicological Analysis of Acid Mine Drainage by Water Quality and Land Use Bioassays. *Mine Water and the Environment*, 37(1), 88-97. doi:10.1007/s10230-017-0472-2
- Che, Y., He, Q., & Lin, W.-Q. (2003). The distributions of particulate heavy metals and its indication to the transfer of sediments in the Changjiang Estuary and Hangzhou Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, 46(1), 123-131. doi:10.1016/s0025-326x(02)00355-7
- CooperAcción. (2017). Boletín N° 216: Actualidad Minera del Perú. Recuperado de <http://cooperaccion.org.pe/boletines/boletin-n-217-julio-2017/>
- De la Torre, A., Ñuñoz, J., & Carballo, M. (2004). Curso sobre Toxicología Ambiental y Seguridad Química. [https://ritsq.org/wp-content/uploads/cd-toxamb/Documentos/10 de la Torre FINAL.pdf](https://ritsq.org/wp-content/uploads/cd-toxamb/Documentos/10%20de%20la%20Torre%20FINAL.pdf)
- Decreto Supremo 020-2017-SA: Decreto Supremo que declara en Emergencia Sanitaria por el plazo de noventa (90) días calendario los distritos de Chaupimarca y Simón Bolívar de la Provincia y departamento de Pasco, (2017). Recuperado de <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/189310-020-2017-sa>
- Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM: Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias, (2017). Recuperado de <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>
- Deudor, Rojas, and O. M. (2018). Evaluación de parámetros físico-químico y microbiológico del río Ragra afluente del río San Juan, para determinar la categoría de sus aguas–Simón Bolívar–Pasco–2018. Recuperado de https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Evaluación+de+parámetros+físicoquímico+y+microbiológico+del+río+ragra+afluente+del+río+san+juan%2C+para+determinar+la+categoría+de+sus+aguas++Simón+Bolívar++Pasco&btnG=
- Dudka, S., & Adriano, D. C. (1997). Environmental Impacts of Metal Ore Mining and Processing: A Review. *Journal of Environment Quality*, 26, 590-602. doi:10.2134/jeq1997.00472425002600030003x

- Ecological Society of America (ESA). (2012). Hypoxia. Recuperado de <https://www.esa.org/esa/wp-content/uploads/2012/12/hypoxia.pdf>
- Edokpayi, J., Odiyo, J., Popoola, E., Msagati, T. (2017). Evaluation of temporary seasonal variation of heavy metals and their potential ecological risk in Nzhelele River, South Africa. *Open Chemistry*, 15(1), 272-282. Recuperado de <https://www.degruyter.com/view/journals/chem/15/1/article-p272.xml?language=en>
- Environmental Bio-detection Products Inc. (2019). BioTox™ WaterTox™ EVO Kit 1243-500. Recuperado de <https://www.biotoxicity.com/index.php/ebpi-toxicity-tests/aliivibrio-fischeri-toxicity-tests/biotox-watertox-evo-kit>
- European Chemicals Agency (ECHA). (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment. Recuperado de https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf
- Forbes, V., & Forbes, T. (1994). *Ecotoxicology in Theory and Practice*. Recuperado de https://books.google.com.pe/books/about/Ecotoxicology_in_Theory_and_Practice.html?id=ai_FljSi5OcC&redir_esc=y
- Funes, V., Alhama, J., Navas, J., López-Barea, J., & Peinado, J. (2006). Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environmental Pollution*, 139, 214-223. doi:10.1016/j.envpol.2005.05.016
- Gaete, H., & Chávez, C. (2008). Evaluación de la toxicidad de mezclas binarias de cobre, cinc y arsénico sobre *Daphnia obtusa* (Cladocera, Crustacea). *Limnetica*, 27(1). doi:10.23818/limn.27.01
- Glave, M. (2007). La minería peruana: Lo que sabemos y lo que aún nos falta por saber. En Group for the Analysis of Development (GRADE) (Ed.), *Investigación, políticas y desarrollo en el Perú* (pp. 135-181). Recuperado de <https://www.ssoar.info/ssoar/handle/document/51537?locale-attribute=en>
- Greenpeace Argentina, & Morán, R. (2013). Preguntas y respuestas sobre minería. Recuperado de <https://cwjw8hokez2edxfba4kt5181-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/uploads/2015/12/Greenpeace-Argentina-and-Robert-Moran-2013-Sept.-Preguntas-y-Respuestas-Sobre-Minería-Greenpeace-Argentina-Buenos-Aires-18p.pdf>

- Havas, M. (1985). Aluminum bioaccumulation and toxicity to *Daphnia magna* in soft water at low pH. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42(11):1741-1748. .
doi:10.1139/f85-218
- Herranz, M., Bolivar, J., Pérez, E., Liger, E., Payeras, J., Pinilla, J. (2007). Procedimiento de toma de muestras de sedimentos para la determinación de la radiactividad ambiental. Consejo de Seguridad Nuclear, 26. Doi:10.1016/j.socimed.2003.12.015
- Hlina, B. (2019). Package ecotox: Analysis of Ecotoxicology. Recuperado de <https://cran.r-project.org/web/packages/ecotox/index.html>
- Hossain, M. A., Piyatida, P., da Silva, J. A. T., & Fujita, M. (2012). Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. *Journal of Botany*, 2012, 872875. doi:10.1155/2012/872875
- Instituto Geológico, M. y M. (INGEMMET). (2017). Estimación del potencial minero metálico del Perú y su contribución económica al Estado, acumulado al 2050. <https://www.ingemmet.gob.pe/-/estimacion-del-potencial-minero-metalico-del-peru-y-su-contribucion-economica-al-estado-acumulada-al-2050>
- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (2009). Glossary of terms used in ecotoxicology (IUPAC Recommendations 2009). *Pure and Applied Chemistry*, 81(5), 829-970. doi:10.1351/PAC-REC-08-07-09
- Jeziorski, A., & Yan, N. (2006). Species identity and aqueous calcium concentrations as determinants of calcium concentrations of freshwater crustacean zooplankton. doi:10.1139/F06-019
- Jiang, K., Wu, B., Wang, C., & Ran, Q. (2019). Ecotoxicology and Environmental Safety Ecotoxicological effects of metals with different concentrations and types on the morphological and physiological performance of wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 167(301), 345-353. doi:/10.1016/j.ecoenv.2018.10.048
- Jonczyk, E., & Gilron, G. (2005). Acute and Chronic Toxicity Testing with *Daphnia* Sp. doi:10.1007/1-4020-3120-3_11

- Kent, C. (1998). Basics of Toxicology. Recuperado de https://books.google.com.pe/books/about/Basics_of_Toxicology.html?id=VEUIWz4vQssC&redir_esc=y
- Kossoff, D., Dubbin, W. E., Alfredsson, M., Edwards, S. J., Macklin, M. G., & Hudson-edwards, K. A. (2014). Applied Geochemistry Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. *Applied Geochemistry*, 51, 229-245. doi:10.1016/j.apgeochem.2014.09.010
- Ley de Promoción de Inversiones en el Sector Minero, (1992). Recuperado de [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/76865407EB58EB6F05257E2E0050C544/\\$FILE/DL_708_LeyPromociónDeInversionesEnElSectorMinero.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/76865407EB58EB6F05257E2E0050C544/$FILE/DL_708_LeyPromociónDeInversionesEnElSectorMinero.pdf)
- Ley N° 28611: Ley General del ambiente, 45 (2005). Recuperado de <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/04/Ley-N°-28611.pdf>
- Libralato, G., Losso, C., Arizzi, A., Citron, M., Della, S., Zanotto, E., Cepak, F., & Volpi, A. (2008). Ecotoxicological evaluation of industrial port of Venice (Italy) sediment samples after a decontamination treatment. *Environmental Pollution*, 156(3), 644-650. doi:/10.1016/j.envpol.2008.06.025
- Li, H., Chai, L., Yang, Z., Yang, W., Liao, Q., Cao, Z., Peng, Y. (2020). Systematic Assessment of Health Risk from Metals in Surface Sediment of the Xiangjiang River, China. *Environmental Research and Public Health*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7084565/>
- Long, E., MacDonald, D., Smith, S., Calder, F. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ. Manage.* 19:81-97. doi:10.1007/BF02472006
- Lyu, J., Park, J., Pandey, L., Choi, S., Lee, H., De Saeger, J., Depuydt, S., & Han, T. (2018). Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 149, 225-232. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.11.006
- Marín, L. (2007). Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor Lázaro Marín Guirao [Universidad de Murcia].

Recuperado de <https://www.tesisenred.net/handle/10803/10773>; jsessionid=3848178469FE058A9281D84299CAB7D3

Martínez, F., Cruz, J., & García, L. (2008). Ecotoxicology and Environmental Safety A comparison of the response of *Simocephalus mixtus* (Cladocera) and *Daphnia magna* to contaminated freshwater sediments \$. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 26-31. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.05.005

Mattson, M. (2008). Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 1-7. doi:10.1016/j.arr.2007.08.007

McLemore, V., Smith, K., & Russell, C. (2014). Chapter 3: Sampling Considerations in the Mining Environment. En *Sampling and Monitoring for the Mine Life Cycle* (p. 815). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/267568186_Sampling_and_Monitoring_for_the_Mine_Life_Cycle_Management_Technologies_for_Metal_Mining_Influenced_Water_Series_v_6_VT_McLemore_KS_Smith_and_CC_Russell_eds_2014_Society_for_Mining_Metallurgy_and_Expl

Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), & Autoridad Nacional del Agua (ANA). (2013). Plan Nacional de Recursos Hídricos del Perú. Recuperado de <https://www.ana.gob.pe/sites/default/files/plannacionalrecursoshidricos2013.pdf>

Ministerio de Energía y Minas (MINEM). (2019). R.M. N° 010-2019-MEM/DM: Actualizan el Inventario Inicial de Pasivos Ambientales Mineros. Recuperado de http://www.minem.gob.pe/_detalle.php?idSector=1&idTitular=5769&idMenu=sub5768&idCateg=961

Ministerio de Salud (MINSA). (2005). Determinación de Plomo en sangre y factores asociados en niños y mujeres gestantes de las poblaciones de Quiulacocha y Champamarca, Cerro de Pasco. Recuperado de https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CINDOC/INFORMES_TECNICOS/30.pdf

Ministerio de Salud (MINSA). (2015). Análisis de situación de Pasco. Recuperado de http://dge.gob.pe/portal/Asis/indreg/asis_pasco.pdf

Nikinmaa, M. (2014). *An Introduction to Aquatic Toxicology* (1.^a ed.). Academic Press. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/book/9780124115743/an-introduction-to-aquatic-toxicology>

- Nordstrom, D. K., & Alpers, C. (1997). Chapter 6: Geochemistry of acid mine waters. En *The Environmental Geochemistry of Mineral Deposits: Part A: Processes, Techniques, and Health Issues Part B: Case Studies and Research Topics*. doi:10.5382/Rev.06.06
- Nyantakyi, A., Akoto, O., Fei-Baffoe, B. (2019). Seasonal variations in heavy metals in water and sediment samples from River Tano in the Bono, Bono East, and Ahafo Regions, Ghana. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191:570.
- Omoruyi, O., Tongo, I., Ezemonye. L., Ogbomida, E., Ogbeide, O., Enuneku, A. (2018). Evaluating the potential health risks of heavy metal pollution in sediment and selected benthic fauna of Benin River, Southern Nigeria. *Applied Water Science*, 8:224.
- Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental (OEFA). (2012). Reporte público del informe N 1244-2012-OEFA/DS. Recuperado de https://www.oefa.gob.pe/?wpfb_dl=10067
- Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería (OSINERGMIN). (2007). Panorama de la Minería en el Perú. Recuperado de https://www.osinergmin.gob.pe/seccion/centro_documental/Institucional/Estudios_Economicos/Libros/Libro_Panorama_de_la_Mineria_en_el_Peru.pdf
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación (UNESCO), Organización Mundial de la Salud (OMS), & Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). (1996). Chapter 3: Selection of water quality variables. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/wqachapter3.pdf
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2003). pH in Drinking-water. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/ph.pdf
- Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). (2012). OECD Environmental Outlook to 2050: The Consequences of Inaction. doi:10.1787/9789264122246-en.
- Panda, S. K., Baluska, F., & Matsumoto, H. (2009). Aluminum stress signaling in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 4(7), 592-597. doi:10.4161/psb.4.7.8903
- Paz, E. (2016). Impacto geoambiental generado por la minería en el área circunscrita al río San Juan - Provincia de Pasco, Departamento de Pasco.

<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3020/GLpavae.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Persoone, G., Marsalek, B., Blinova, I., Andrea, T., & Zarina, D. (2003). A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. Wiley Periodicals, Inc. doi:10.1002/tox.10141

Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), & Organización Mundial de la Salud (OMS). (1996). Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes (1.^a ed.). Recuperado de <https://www.springer.com/gp/book/9780412435300>

Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), Centro de Inversión Sostenible de la Universidad de Columbia (CCSI, por sus siglas originales), Red de Soluciones de las Naciones Unidas para el Desarrollo Sostenible (SDSN, por sus siglas originales), & Foro Económico Mundial. (2016). Cartografía de la minería en relación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible: un atlas. Recuperado de https://irp-cdn.multiscreensite.com/be6d1d56/files/uploaded/Mapping_Mining_SDGs_An_Atlas-Spanish-FINAL-cover.pdf

Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). (2009). Parte II, Capítulo 3, Viene de las alturas: disponibilidad y usos del agua. En Informe sobre Desarrollo Humano, Perú 2009: Por una densidad del Estado al servicio de la gente (pp. 57-79). Recuperado de <https://www.pe.undp.org/content/peru/es/home/library/poverty/InformeDesarrolloHumano2009.html>

Ramos, W., Munive, L., Alfaro, M., Calderón, M., Gonzáles, I., & Nuñez, Y. (2009). Intoxicación plúmbica crónica: una revisión de la problemática ambiental en el Perú. Revista Peruana de Epidemiología E-ISSN: 13, 1-8. https://www.researchgate.net/publication/288507739_Intoxicacion_plumbica_cronica_una_revision_de_la_problematika_ambiental_en_el_Peru

Rand, G. (2003). Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment (2.^a ed.). Recuperado de <https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=nTHWicichfoC&oi=fnd&pg=PR15&dq=fundamentals+of+aquatic+toxicology+2003&ots=A9OWvJ9LxC&sig=94cbJXqAqavAQk2U4mN31MinwvY#v=onepage&q=fundamentals+of+aquatic+toxicology+2003&f=false>

- Rodríguez, J., Robles, C., Ruíz, R., López, E., Sedeño, J., & Rodríguez, A. (2014). Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad de agua del río Chalma. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(2), 307-331. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/264384154_INDICES_DE_GERMINACION_Y_ELONGACION_RADICAL_DE_Lactuca_sativa_EN_EL_BIOMONITOREO_DE_LA_CALIDAD_DEL_AGUA_DEL_RIO_CHALMA
- Sánchez, P. (2002). Valoración ecotoxicológica de la contaminación de origen agrario: incorporación de bioensayos en los protocolos de evaluación del riesgo ambiental [Universidad Complutense de Madrid]. Recuperado de <https://eprints.ucm.es/4596/>
- Sanz, F. (1975). Sentido y posibilidades de la toxicología ambiental.
- Satizábal, A., Andrade, M., & Zuñiga, M. del C. (1999). Toxicidad agua del Aluminio sobre *Daphnia magna* en aguas con diferentes niveles de dureza. *Actualidades biológicas*, 21, 131-142. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/276355458_TOXICIDAD_AGUDA_DEL_ALUMINIO_SOBRE_Daphnia_magna_EN_AGUAS_CON_DIFERENTES_NIVELES_DE_DUREZA
- Sobrero, M., & Ronco, A. (2007). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/573/cap4.pdf>
- Soucek, D. J., Cherry, D. S., & Trent, G. C. (2000). Relative acute toxicity of acid mine drainage water column and sediments to *Daphnia magna* in the Puckett's Creek watershed, Virginia, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 38(3), 305-310. doi:10.1007/s002449910040
- Source International de Italia. (2018). Estudios en poblaciones afectadas por metales pesados en Pasco. Recuperado de <http://laborpascoperu.org.pe>
- TDI-Brooks International/B&B Laboratories Inc. (2004). Dry weight determination of sediments (p. 3). Recuperado de https://www.tdi-bi.com/analytical_services/environmental/NOAA_methods/Sediment_Dry_Weight.pdf
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1988). Ambient Water Quality Criteria for Aluminum: EPA 440/3-88/029. Recuperado de

https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?Lab=NHEERL&dirEntryID=44824

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1988). Ambient Water Quality Criteria for: EPA 440/5-86-008. Recuperado de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2019-02/documents/ambient-wqc-aluminum-1988.pdf>

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1992). Introduction to Water Quality-Based Toxics Control for the NPDES Program. Washington. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/200040Z6.PDF?Dockey=200040Z6.PDF>

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1992). Test 1311: Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP). En Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1994). Technical Assistance Document for Complying with the TC Rule and Implementing the Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP). United States Environmental Protection Agency Region 2, 1-182. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/tclp-1994_0.pdf

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1998). Guidelines for Ecological Risk Assessment (Vol. 63, Número April).

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2003). Framework for Cumulative Risk Assessment. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-11/documents/frmwrk_cum_risk_assmnt.pdf

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2013). Framework for Metals Risk Assessment. Recuperado de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/metals-risk-assessment-final.pdf>

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2016). Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.1010: Aquatic Invertebrate Acute Toxicity Test, Freshwater Daphnids. Recuperado de <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPPT-2009-0154-0041>

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2017). Human Health Risk Assessment. Recuperado de <https://www.epa.gov/risk/human-health-risk-assessment>

- United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2017). Field Measurement of Oxidation-Reduction Potential (ORP). Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-07/documents/field_measurement_of_orp113_af.r2.pdf
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2018). What is Acid Mine Drainage. Recuperado de <http://www.sosbluewaters.org/epa-what-is-acid-mine-drainage%5B1%5D.pdf>
- Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano (UTADEO). (2019). Análisis Ecotoxicológicos. Recuperado de <https://www.utadeo.edu.co/es/proyecto/laboratorio-de-limnologia/224391/analisis-ecotoxicologicos>
- van Anholt, R., Spanings, F., Knol, A., van der Velden, J., & Wendelaar, S. (2002). Effects of Iron Sulfate Dosage on the Water Flea (*Daphnia magna* Straus) and Early Development of Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42, 182–192. doi:10.1007/s00244-001-0001-x
- Wade, C., Dold, B., & Fontboté, L. (2006). Geochemistry and mineralogy of the Quiulacocha tailings impoundment from the polymetallic Zn-Pb-(Ag-Bi-Cu) deposit Cerro de Pasco, Peru. *Journal of American Society of Mining and Reclamation*, 2199-2206. <https://doi.org/10.21000/JASMR06022198>
- Wang, N., Liu, Y., Wei, Z., Yang, L., & Miao, A. (2018). Waterborne and Dietborne Toxicity of Inorganic Arsenic to the Freshwater Zooplankton *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*, 52(15), 8912-8919. doi:10.1021/acs.est.8b02600
- Zou, X., Xiao, X., He, Y., Hu, L., Hu, C., & Huang, X. (2017). Hormetic effects of metal ions upon *V. fischeri* and the application of a new parameter for the quantitative assessment of hormesis. *Journal of Hazardous Materials*. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.09.045

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Términos ecotoxicológicos

Términos	Conceptos
Bioacumulación	Aumento progresivo en la cantidad de una sustancia en un organismo o parte de un organismo que ocurre debido a que la tasa de ingesta de todas las fuentes contribuyentes y por todas las rutas posibles excede la capacidad del organismo para eliminar la sustancia de su cuerpo.
Bioconcentración	Proceso que conduce a una mayor concentración de una sustancia en un organismo que en los medios ambientales a los que está expuesta.
Biomagnificación	Resultado de estos procesos de bioconcentración y bioacumulación por los cuales las concentraciones tisulares de productos químicos bioacumulados aumentan a medida que el producto químico pasa a través de dos o más niveles tróficos.
Caracterización de la exposición	Descripción de la presencia y las características del contacto entre el contaminante y la entidad ecológica de interés, y un resumen de esta información en un perfil de exposición.
Caracterización de riesgo	Resultado de la identificación del peligro y la estimación del riesgo aplicada a un uso específico de una sustancia u ocurrencia de un peligro para la salud ambiental.
Concentración de efecto más baja observada (LOEC)	La concentración más baja de un material utilizado en una prueba de toxicidad acuática que tiene un efecto adverso estadísticamente significativo en la población expuesta de organismos de prueba en comparación con los controles.
Concentración efectiva media (EC50)	Concentración media obtenida estadísticamente de una sustancia en un medio ambiental que se espera que produzca un determinado efecto en el 50% de los organismos de prueba en una población determinada en un conjunto definido de condiciones

Continuación...

Concentración efectiva(EC)	Concentración de una sustancia que causa una magnitud de respuesta definida en un sistema dado después de un tiempo de exposición específico. Ejemplo: EC50 es la concentración mediana que causa el 50% de la respuesta máxima.
Concentración letal media (CL50)	La media de la concentración derivada de una sustancia en un medio ambiental se espera que mate al 50% de los organismos en una población determinada en un conjunto definido de condiciones.
Dosis efectiva media (ED50)	La media de dosis estadísticamente derivada de un agente químico o físico (radiación) se espera que produzca un cierto efecto en el 50% de los organismos de prueba en una población dada o que produzca un efecto semimáximo en un sistema biológico bajo un conjunto definido de condiciones
Dosis letal media (LD50)	La media de la dosis derivada estadísticamente de un agente químico o físico (radiación) se espera que mate al 50% de los organismos en una población determinada en un conjunto definido de condiciones.
Efecto adictivo	Consecuencia que sigue a la exposición a dos o más agentes fisicoquímicos que actúan de forma conjunta pero no interactúan: el efecto total es la suma simple de los efectos de exposiciones separadas a los agentes en las mismas condiciones.
Efecto crónico	La consecuencia que se desarrolla lentamente y/o tiene un curso duradero: se puede aplicar a un efecto que se desarrolla rápidamente y es de larga duración.
Nivel de efecto adverso más bajo observado (LOAEL)	La menor concentración o cantidad de una sustancia (dosis), encontrada por experimento u observación, que causa un efecto adverso sobre la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o vida útil de un organismo objetivo distinguible de los organismos normales (de control) del misma especie y cepa en condiciones de exposición definidas.

<p>Nivel de efecto más bajo observado(LOEL)</p>	<p>Menor concentración o cantidad de una sustancia (dosis), encontrada por experimento u observación, que causa cualquier alteración en la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o vida útil de los organismos objetivo distinguibles de los organismos normales (control) de la misma especie y cepa bajo las mismas condiciones definidas de exposición.</p>
<p>Nivel de efecto no observado (NOEL)</p>	<p>La mayor concentración o cantidad de una sustancia, encontrada por experimento u observación, que no causa alteraciones estadísticamente significativas de la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o vida útil de los organismos objetivo distinguibles de los observados en organismos normales (de control) de la misma especie y tensión bajo las mismas condiciones definidas de exposición.</p>
<p>Nivel de efectos adversos no observados (NOAEL)</p>	<p>La mayor concentración o cantidad de una sustancia, encontrada por experimento u observación, que causa una alteración adversa no detectable de la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o vida del organismo objetivo en condiciones de exposición definidas.</p>
<p>Toxicidad</p>	<p>Capacidad para causar daño a un organismo vivo definida con referencia a la cantidad de sustancia administrada o absorbida, la forma en que se administra y distribuye la sustancia a tiempo (dosis únicas o repetidas), el tipo y la gravedad de la lesión, el tiempo necesario para producir la lesión, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones relevantes.</p>
<p>Xenobiótico</p>	<p>Compuesto con una estructura química extraña a un organismo dado. Nota: Frecuentemente restringido a compuestos artificiales.</p>

Fuente: Adaptado de IUPAC 2009

Anexo 3: Control positivo

Daphnia magna

Concentración (%)	24 horas de exposición					48 horas de exposición				
	R1	R2	R3	R4	Promedio	R1	R2	R3	R4	Promedio
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	5	0	0	0	1,25	5	0	2	0	1,75
100	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Lactuca sativa (germinación)

Concentración (ppm)	R1	R2	R3	R4	Promedio
0	0	2	0	0	0,50
0,10	0	0	2	1	0,75
1	1	3	1	0	1,25
10	2	0	0	0	0,50
100	1	1	1	2	1,25
1000	2	2	1	2	1,75
2000	20	20	20	20	20

Lactuca sativa (radícula)

Concentración (%)	R1	R2	R3	R4	Promedio
0	-3,15	1,25	0,85	2,75	0,43
0,10	20,60	23,78	13,57	16,03	18,50
1	8,25	21,04	14,48	13,40	14,29
10	19,75	20,51	14,17	10,67	16,28
100	14,70	21,90	25,98	21,09	20,92
1000	27,40	27,84	27,71	27,33	27,57
2000	28,95	28,95	28,95	28,95	28,95

Lactuca sativa (hipocótilo)

Concentración (%)	R1	R2	R3	R4	Promedio
0	0,48	-1,95	0,03	1,45	0,00
0,10	1,40	6,63	-1,86	-1,74	1,11
1	0,50	-0,39	-1,56	-2,27	-0,93
10	0,63	0,13	-0,45	3,05	0,84
100	2,40	0,89	7,36	0,11	2,69
1000	12,08	11,33	11,31	11,96	11,67
2000	13,05	13,05	13,05	13,05	13,05

Vibrio fischeri

Concentración (%)	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	Promedio de inhibición (%)
0,1	-39.49	-38.81	-38.97	-39.09
1	-42.19	-42.10	-43.48	-42.59
10	-43.49	-40.86	-43.60	-42.65
100	-37.66	-33.12	-44.24	-38.34
1000	97.04	97.34	96.86	97.08

Anexo 4: Análisis estadístico

Análisis de la varianza (ANOVA) para el bioensayo de *Lactuca sativa* (radícula):

Muestra “A1”

- Supuesto de normalidad: Prueba de Shapiro-Wilk

$$W = 0.98819, p\text{-value} = 0.9918$$

H_0 : La distribución es normal.

H_1 : La distribución no es normal.

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Bartlett

$$\text{Bartlett's K-squared} = 2.7462, df = 1, p\text{-value} = 0.09749$$

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante.

- ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	R ²
Tratamientos	1	284.992	284.992	319.66	1.968e-06	0.9816
Residuales	6	5.349	0.892			

Para un nivel de significancia de 0.05, no se rechazaron las hipótesis nulas del supuesto de normalidad y de homocedasticidad. Por lo tanto, se pudo realizar la prueba paramétrica de ANOVA, la cual señala que sí existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) y que al menos una de las concentraciones de la muestra “A1” presenta un efecto diferente a las demás. Asimismo, se observa que el modelo explica a un 98.16 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Muestra “A2”

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Levene

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante.

- Prueba de Kruskal-Wallis

	Df	F value	Pr(>F)	R ²
Tratamientos	2	3.6147	0.07043	0.9669
Residuales	9			

Como el modelo no cumple los supuestos paramétricos para realizar el ANOVA. Se optó por realizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la cual mide la variabilidad respecto a la mediana.

Para un nivel de significancia de 0.01, no se rechazó la hipótesis nula del supuesto no paramétrico de homocedasticidad. Según la prueba de Kruskal-Wallis, se observa que las medianas son constantes. El modelo explica a un 98.16 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Muestra “B1”

- Supuesto de normalidad: Prueba de Shapiro-Wilk

$$W = 0.94679, p\text{-value} = 0.4753$$

H_0 : La distribución es normal.

H_1 : La distribución no es normal.

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Bartlett

$$\text{Bartlett's K-squared} = 4.696, df = 4, p\text{-value} = 0.3199$$

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante

- ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	R²
Tratamientos	4	1340.76	335.19	77.628	1.728e-07	0.9688
Residuales	10	43.18	4.32			

Para un nivel de significancia de 0.05, no se rechazaron las hipótesis nulas del supuesto de normalidad y de homocedasticidad. Por lo tanto, se pudo realizar la prueba paramétrica de ANOVA, la cual señala que sí existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) y que al menos una de las concentraciones de la muestra “B1” presenta un efecto diferente a las demás. Asimismo, se observa que el modelo explica a un 96.88 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Muestra “B2”

- Supuesto de normalidad: Prueba de Shapiro-Wilk

$$W = 0.95713, p\text{-value} = 0.7824$$

H_0 : La distribución es normal.

H_1 : La distribución no es normal.

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Bartlett

$$\text{Bartlett's K-squared} = 2.2532, df = 1, p\text{-value} = 0.1333$$

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante

- ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	R ²
Tratamientos	1	913.38	913.38	605.06	2.969e-07	0.9688
Residuales	6	9.06	1.51			

Para un nivel de significancia de 0.05, no se rechazaron las hipótesis nulas del supuesto de normalidad y de homocedasticidad. Por lo tanto, se pudo realizar la prueba paramétrica de ANOVA, la cual señala que sí existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) y que al menos una de las concentraciones de la muestra “B1” presenta un efecto diferente a las demás. Asimismo, se observa que el modelo explica a un 96.88 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Análisis de la varianza (ANOVA) para el bioensayo de *Lactuca sativa* (hipocótilo):

Muestra “A1”

- Supuesto de normalidad: Prueba de Shapiro-Wilk

$$W = 0.93048, p\text{-value} = 0.5205$$

H_0 : La distribución es normal.

H_1 : La distribución no es normal.

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Bartlett

$$\text{Bartlett's K-squared} = 0.50038, df = 1, p\text{-value} = 0.4793$$

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante.

- ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	R²
Tratamientos	1	1.7509	1.75088	5.0737	0.06522	0.4582
Residuales	6	2.0705	0.34509			

Para un nivel de significancia de 0.05, no se rechazaron las hipótesis nulas del supuesto de normalidad y de homocedasticidad. Por lo tanto, se pudo realizar la prueba paramétrica de ANOVA, la cual señala que sí existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) y que al menos una de las concentraciones de la muestra “A1” presenta un efecto diferente a las demás. Asimismo, se observa que el modelo explica a un 45,82 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Muestra “A2”

- Supuesto de normalidad: Prueba de Shapiro-Wilk

$$W = 0.98701, p\text{-value} = 0.9985$$

H_0 : La distribución es normal.

H_1 : La distribución no es normal.

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Bartlett

$$\text{Bartlett's K-squared} = 1.4789, df = 2, p\text{-value} = 0.4774$$

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante.

- ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	R²
Tratamientos	1	127.300	63.650	223.68	2.124e-08	0.9803
Residuales	9	2.561	0.285			

Para un nivel de significancia de 0.05, no se rechazaron las hipótesis nulas del supuesto de normalidad y de homocedasticidad. Por lo tanto, se pudo realizar la prueba paramétrica de ANOVA, la cual señala que sí existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) y que al menos una de las concentraciones de la muestra “A2” presenta un efecto diferente a las demás. Asimismo, se observa que el modelo explica a un 98,03 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Muestra “B1”

- Supuesto de normalidad: Prueba de Shapiro-Wilk

$$W = 0.9529, p\text{-value} = 0.504$$

H_0 : La distribución es normal.

H_1 : La distribución no es normal.

- Supuesto de homogeneidad de varianzas: Prueba de Bartlett

$$\text{Bartlett's K-squared} = 2.9266, df = 4, p\text{-value} = 0.5702$$

H_0 : La varianza del error es constante.

H_1 : La varianza del error no es constante.

- ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	R^2
Tratamientos	4	63.881	15.9702	27.007	6.391e-06	0.9
Residuales	12	7.096	0.5913			

Para un nivel de significancia de 0.05, no se rechazaron las hipótesis nulas del supuesto de normalidad y de homocedasticidad. Por lo tanto, se pudo realizar la prueba paramétrica de ANOVA, la cual señala que sí existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) y que al menos una de las concentraciones de la muestra “A1” presenta un efecto diferente a las demás. Asimismo, se observa que el modelo explica a un 90,00 % (R^2) el comportamiento de la inhibición de la elongación de la radícula.

Muestra “B2”

Para esta muestra no se pudo realizar el análisis estadístico debido a que se presentaron efectos de hormesis en varios datos.

Anexo 5: Scripts

```
1 A1 = Daphnia_magna
2
3 # CI50 PARA LA MUESTRA A1
4 library(ecotox)
5 A1_CI50 = LC_probit((Individuos_inmovilizados / Individuos_expuestos) ~ log10(Concentración), p = c(50),
6 weights = Individuos_expuestos, data = A1,)
7 A1_CI50$dose
8
9 # CURVA CONCENTRACIÓN-RESPUESTA
10 library(ggplot2)
11
12 A1PLOT <- ggplot(data = A1,
13 aes(x = log10(Concentración), y = (Individuos_inmovilizados/Individuos_expuestos))) +
14 geom_smooth(method = "glm", method.args = list(family = binomial(link = "probit")),
15 aes(weight = Individuos_expuestos), colour = "#FF0000", se = FALSE)
16
17 A1PLOT_1 = A1PLOT + theme (text = element_text(size=8)) + ggtitle(NULL) +
18 theme (plot.title = element_text(family="Times New Roman",
19 size=rel(2),
20 hjust = (0.5),
21 vjust=2,
22 face="bold",
23 color="red",
24 lineheight=1.5)) +
25 labs(x = "-Log(Concentración)", y = "Inhibición (%)") +
26 theme(axis.title.x = element_text(face="bold", vjust=-0.5, colour="black", size=rel(1))) +
27 theme(axis.title.y = element_text(face="bold", vjust=1.5, colour="black", size=rel(1)))
28
29
30 A1PLOT_FINAL = A1PLOT_1 + scale_y_continuous(labels = scales::percent_format()) +
31 geom_errorbar(stat = "summary", fun.data = "mean_sdl", fun.args = list(mult =1),
32 position = position_dodge(width = 0.9), size = .3, width = 0.03) +
33 stat_summary(fun.y = "mean", geom="point", shape=20, size=2, color="BLACK")
34 A1PLOT_FINAL
```

Script para *Daphnia magna*

```
1 A1 = Germinacion
2
3 # CI50 PARA LA MUESTRA A1
4 library(ecotox)
5 A1_CI50 = LC_probit((Semillas_no_germinadas / Individuos_expuestos) ~ log10(Concentración),
6 p = c(50), weights = Individuos_expuestos, data = A1,)
7 A1_CI50$dose
8
9 # CURVA CONCENTRACIÓN-RESPUESTA
10 library(ggplot2)
11
12 A1PLOT <- ggplot(data = A1,
13 aes(x = log10(Concentración), y = (Semillas_no_germinadas/Individuos_expuestos))) +
14 geom_smooth(method = "glm", method.args = list(family = binomial(link = "probit")),
15 aes(weight = Individuos_expuestos), colour = "#FF0000", se = FALSE)
16
17 A1PLOT_1 = A1PLOT + theme (text = element_text(size=8)) +
18 ggtitle(NULL) +
19 theme (plot.title = element_text(family="Times New Roman",
20 size=rel(2),
21 hjust = (0.5),
22 vjust=2,
23 face="bold",
24 color="red",
25 lineheight=1.5)) +
26 labs(x = "log10(Concentración)", y = "Inhibición (%)") +
27 theme(axis.title.x = element_text(face="bold", vjust=-0.5, colour="black", size=rel(1))) +
28 theme(axis.title.y = element_text(face="bold", vjust=1.5, colour="black", size=rel(1)))
29
30 A1PLOT_FINAL = A1PLOT_1 + scale_y_continuous(labels = scales::percent_format()) +
31 geom_errorbar(stat = "summary", fun.data = "mean_sdl", fun.args = list(mult =1),
32 position = position_dodge(width = 0.9), size = .3, width = 0.06) +
33 stat_summary(fun.y = "mean", geom="point", shape=20, size=2, color="BLACK")
34 A1PLOT_FINAL
```

Script para *Lactuca sativa* (germinación)

```

1 A1 = Radicula
2
3 # CISO PARA LA MUESTRA A1
4 library(ecotax)
5 A1_CISO =      lC_probit((Longitud_Promedio_Inhibida / Longitud_Promedio_Control) ~ log10(Concentración),
6               p = c(50), weights = Longitud_Promedio_Control, data = A1,)
7 A1_CISO$dose
8
9 # CURVA CONCENTRACIÓN-RESPUESTA
10 library(ggplot2)
11
12 AIPILOT <-      ggplot(data = A1,
13                   aes(x = log10(Concentración), y = (Longitud_Promedio_Inhibida / Longitud_Promedio_Control))) +
14               geom_smooth(method = "glm", method.args = list(family = binomial(link = "probit")),
15                           aes(weight = Longitud_Promedio_Control), colour = "#FF0000", se = FALSE)
16
17 AIPILOT_1 =      AIPILOT + theme (text = element_text(size=8)) +
18               ggtitle(NULL) +
19               theme (plot.title = element_text(family="Times New Roman",
20                                                 size=rel(2),
21                                                 hjust =-0.5),
22                     vjust=2,
23                     face="bold",
24                     color="red",
25                     lineheight=1.5)) +
26               labs(x = "log10(Concentración)", y = "Inhibición (%)") +
27               theme(axis.title.x = element_text(face="bold", vjust=-0.5, colour="black", size=rel(1))) +
28               theme(axis.title.y = element_text(face="bold", vjust=1.5, colour="black", size=rel(1)))
29
30 AIPILOT_FINAL = AIPILOT_1 + scale_y_continuous(labels = scales::percent_format()) +
31               geom_errorbar(stat = "summary", fun.data = "mean_sd1", fun.args = list(mult =1),
32                             position = position_dodge(width = 0.9), size= .3, width =0.06) +
33               stat_summary(fun.y = "mean", geom="point", shape=20,size=2, color="BLACK")
34 AIPILOT_FINAL

```

Script para *Lactuca sativa* (radícula)

```

1 A1 = Hipocotilo
2
3 # CISO PARA LA MUESTRA A1
4 library(ecotax)
5 A1_CISO =      lC_probit((Longitud_Promedio_Inhibida / Longitud_Promedio_Control) ~ log10(Concentración),
6               p = c(50), weights = Longitud_Promedio_Control, data = A1,)
7 A1_CISO$dose
8
9 # CURVA CONCENTRACIÓN-RESPUESTA
10 library(ggplot2)
11
12 AIPILOT <-      ggplot(data = A1,
13                   aes(x = log10(Concentración), y = (Longitud_Promedio_Inhibida / Longitud_Promedio_Control))) +
14               geom_smooth(method = "glm", method.args = list(family = binomial(link = "probit")),
15                           aes(weight = Longitud_Promedio_Control), colour = "#FF0000", se = FALSE)
16
17 AIPILOT_1 =      AIPILOT + theme (text = element_text(size=8)) +
18               ggtitle(NULL) +
19               theme (plot.title = element_text(family="Times New Roman",
20                                                 size=rel(2),
21                                                 hjust =-0.5),
22                     vjust=2,
23                     face="bold",
24                     color="red",
25                     lineheight=1.5)) +
26               labs(x = "log10(Concentración)", y = "Inhibición (%)") +
27               theme(axis.title.x = element_text(face="bold", vjust=-0.5, colour="black", size=rel(1))) +
28               theme(axis.title.y = element_text(face="bold", vjust=1.5, colour="black", size=rel(1)))
29
30 AIPILOT_FINAL = AIPILOT_1 + scale_y_continuous(labels = scales::percent_format()) +
31               geom_errorbar(stat = "summary", fun.data = "mean_sd1", fun.args = list(mult =1),
32                             position = position_dodge(width = 0.9), size= .3, width =0.06) +
33               stat_summary(fun.y = "mean", geom="point", shape=20,size=2, color="BLACK")
34 AIPILOT_FINAL

```

Script para *Lactuca sativa* (hipocótilo)


```

1 A1 - Vibrio_fischeri
2
3 # CI50 PARA LA MUESTRA A1
4 library(ecotox)
5 A1_CI50= LC_probit((Inhibición / Total) - log10(Concentración),
6 p = c(50), weights = Total, data = A1,)
7 A1_CI50$dose
8
9 # CURVA CONCENTRACIÓN-RESPUESTA
10 library(ggplot2)
11
12 A1PLOT <- ggplot(data = A1,
13 aes(x = log10(Concentración), y = (Inhibición / Total))) +
14 geom_smooth(method = "glm", method.args = list(family = binomial(link = "probit")),
15 aes(weight = Total), colour = "#FF0000", se = FALSE)
16
17 A1PLOT_1 = A1PLOT + theme(text = element_text(size=8)) +
18 ggtitle(NULL) +
19 theme(plot.title = element_text(family="Times New Roman",
20 size=rel(2),
21 hjust = (0.5),
22 vjust=2,
23 face="bold",
24 color="red",
25 lineheight=1.5)) +
26 labs(x = "log10(Concentración)", y = "Inhibición (%)") +
27 theme(axis.title.x = element_text(face="bold", vjust=-0.5, colour="black", size=rel(1))) +
28 theme(axis.title.y = element_text(face="bold", vjust=1.5, colour="black", size=rel(1)))
29
30 A1PLOT_FINAL = A1PLOT_1 + scale_y_continuous(labels = scales::percent_format()) +
31 geom_errorbar(stat = "summary", fun.data = "mean_sd", fun.args = list(mult =1),
32 position = position_dodge(width = 0.9), size= .3, width =0.06) +
33 stat_summary(fun.y = "mean", geom="point", shape=20,size=2, color="BLACK")
34 A1PLOT_FINAL
35

```

Script para *Vibrio fischeri*

Anexo 6: Metodologías analíticas para la determinación de los parámetros in situ

Tipo de ensayo	Norma	Título	Año
Oxígeno disuelto	SMEWW-APHA- AWWA-WEF Part 4500-O G, 23rd Ed.	Oxygen (Dissolved). Membrane Electrode Method	2017
Conductividad	SMEWW-APHA- AWWA-WEF Part 2510 B, 23rd Ed.	Conductivity. Laboratory Method	2017
pH	SMEWW-APHA- AWWA-WEF Part 4500-H+ B, 23rd Ed.	pH Value. Electrometric Method	2017
Temperatura	SMEWW-APHA- AWWA-WEF Part 2550 B, 23rd Ed.	Temperature. Laboratory and Field Methods	2017
Potencial redox	SMEWW-APHA- AWWA-WEF Part 2580 B, 23rd Ed.	Oxidation - Reduction Potential (ORP). Oxidation - Reduction Potential Measurement in Clean Water	2017
Metales	EPA Method 200.7 Rev. 4.4	Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry	1994

Anexo 7: pH y temperatura de las diluciones

Daphnia magna

AGUA DE LAGUNA (T, LLUVIA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	8,21	27,2
1	6,61	27,8
1,5	6,24	27,3
2	5,87	27,5
2,5	5,28	27,4
3	4,28	27,4
3,5	3,94	27,6
4	3,66	27,6
4,5	3,47	27,9
5	3,39	28

AGUA DE LAGUNA (T, SECA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	8,21	27,2
0,1	6,944	24
0,25	6,201	23,8
0,5	4,761	24,1
0,75	3,823	23,8
1	3,431	24

LIXIVIADO (T, LLUVIA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	8,21	27,2
5	6,445	25
7,5	6,094	25,4
10	5,905	24,9
12,5	5,761	25,4
15	5,701	25,3
17,5	5,632	25,4
20	5,556	25,6

LIXIVIADO (T, SECA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	8,21	27,2
0,5	4,111	25,2
1	3,68	24,9
1,5	3,466	25,1
2	3,294	24,8
2,5	3,165	24,7

Lactuca sativa

AGUA DE LAGUNA (T, LLUVIA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	5,765	25,8
1	3,31	26,5
3,125	3,228	26,8
6,25	3,16	26
12,5	3,05	25,3
25	2,9	23,8
50	2,75	20,9
100	2,7	20

AGUA DE LAGUNA (T, SECA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	5,765	25,8
1	3,28	26
3,125	3,17	25,9
6,25	3,07	25,7
12,5	2,95	25,9
25	2,79	24,4
50	2,7	22,9
100	2,64	20

LIXIVIADO (T, LLUVIA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	5,765	25,8
1	5,42	25,9
3,125	5,4	26
6,25	5,38	26,4
12,5	5,34	26,3
25	5,31	25,9
50	5,28	25,8
100	5,34	21,1

LIXIVIADO (T, SECA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	5,765	25,8
1	3,78	26,,5
3,125	3,512	26,4
6,25	3,36	26,2
12,5	3,16	26,1
25	2,957	26,2
50	2,8	25,9
100	2,57	25,4

Vibrio fischeri

AGUA DE LAGUNA (T, LLUVIA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	6,061	26,1
0,001	5,8	27,5
0,01	5,2	27,4
0,1	4,38	27,9
0,5	4,01	27,5
1	3,57	28,5

AGUA DE LAGUNA (T, SECA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	6,061	26,1
0,001	5,7	28,5
0,01	4,9	28,2
0,1	4,2	29,6
0,5	3,7	26,5
1	3,2	24,5

SEDIMENTOS (T, LLUVIA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	6,061	26,1
0,001	5,95	26,5
0,01	5,8	26,8
0,1	5,56	26,5
0,5	5,33	27
1	5,5	28,4
5	5,21	27,9
10	5,02	28,1

SEDIMENTOS (T, SECA)		
Concentración	pH	Temperatura
control	6,061	26,1
0,001	5,85	26,5
0,01	5,6	26,3
0,1	5,46	26,7
0,5	5,33	26,5
1	5,27	26,5

Anexo 8: Informes de laboratorio



**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1903461**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

AV. LA MOLINA S/N LA MOLINA, LIMA

ENV / LB-345079-003

Fecha de Recepción SGS : 12-02-2019

Fecha de Ejecución : Del 12-02-2019 al 19-02-2019

Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
ME
CL

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 19/02/2019

Frank M. Julcamoro Quispe

C.Q.P. 1033

Coordinador de Laboratorio



**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1903461**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					ME	CL
FECHA DE MUESTREO					02/02/2019	02/02/2019
HORA DE MUESTREO					12:10:00	12:10:00
CATEGORIA					AGUA NATURAL	AGUA NATURAL
SUBCATEGORIA					AGUA SUPERFICIAL	AGUA SUPERFICIAL
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado	Resultado
Análisis Fisicoquímicos						
Cianuro libre	EW_ASTMD7237	mg/L	0.0003	0.0008		<0.0008
Metales Totales						
Aluminio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	19.598	
Antimonio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00004	0.00013	0.00812	
Arsénico Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	1.86689	
Bario Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.0001	0.0003	0.0061	
Berilio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00194	
Bismuto Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.00372	
Boro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.002	0.006	<0.006	
Cadmio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.43293	
Calcio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.003	0.009	237.182	
Cerio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00008	0.00024	0.00655	
Cesio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0175	
Cobalto Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.00001	0.00003	0.04493	
Cobre Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.00003	0.00009	3.46611	
Cromo Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.0001	0.0003	0.0224	
Estaño Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	<0.00010	
Estroncio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.5906	
Fósforo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.015	0.047	0.774	
Gaio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00004	0.00012	0.01427	
Germanio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	<0.0006	
Hafnio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00005	0.00015	0.00197	
Hierro Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.0004	0.0013	1,900.0436	
Lantano Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.0005	0.0015	0.0024	
Litio Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.0001	0.0003	0.0796	
Lutecio Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.00002	0.00006	0.00037	
Magnesio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	743.720	
Manganeso Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	489.09612	
Mercurio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00009	<0.00009	
Molibdeno Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.01341	
Niobio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0005	0.0015	<0.0015	
Niquel Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.0002	0.0006	0.1304	
Plata Total	EW_EPA200_6	mg/L	0.000003	0.000010	<0.000010	

**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1903461**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					ME	CL
FECHA DE MUESTREO					02/02/2019	02/02/2019
HORA DE MUESTREO					12:10:00	12:10:00
CATEGORIA					AGUA NATURAL	AGUA NATURAL
SUBCATEGORIA					AGUA SUPERFICIAL	AGUA SUPERFICIAL
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado	Resultado
Metales Totales						
Plomo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.7077	
Potasio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.04	0.13	2.79	
Rubidio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0003	0.0009	0.0093	
Selenio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0004	0.0013	0.0033	
Silice Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.09	0.27	18.00 *	
Silicio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.04	0.13	8.41	
Sodio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.006	0.019	9.200	
Talio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.01335	
Tantalo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0007	0.0021	<0.0021	
Teluro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	<0.003	
Thorio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00006	0.00019	0.00145	
Titanio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.0050	
Uranio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.000003	0.000010	0.019126	
Vanadio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0139	
Wolframio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	<0.0006	
Yterbio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00357	
Zinc Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0008	0.0026	257.1383	
Zirconio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00015	0.00045	0.00114	



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1903463**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

AV. LA MOLINA S/N LA MOLINA, LIMA

ENV / LB-345079-004

Fecha de Recepción SGS : 12-02-2019
Fecha de Ejecución : Del 12-02-2019 al 22-02-2019
Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
S

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 22/02/2019

Frank M. Julcamoro Quispe
C.Q.P. 1033
Coordinador de Laboratorio



**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1903463**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					S
FECHA DE MUESTREO					02/02/2019
HORA DE MUESTREO					15:53:00
MATRIZ					SEDIMENTOS
PRODUCTO DESCRITO COMO					SEDIMENTOS
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado
Metales					
Cobre	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.357	1.136	660.077
Aluminio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	2.701	8.602	3,910.612
Antimonio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.041	0.131	139.633
Arsénico	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.897	2.857	2,280.159
Bario	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.138	0.440	214.839
Berilio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.054	0.173	0.253
Bismuto	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.032	0.103	343.738
Boro	ES_EPA3051_6020	mg/kg	5.399	17.195	<17.195
Cadmio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.045	0.144	2.603
Calcio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	65.382	208.223	16,251.626
Circonio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.046	0.147	2.884
Cobalto	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.040	0.126	1.177
Cromo	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.314	1.001	8.102
Escandio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.099	0.317	2.762
Estaño	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.295	0.940	20.844
Estroncio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.258	0.822	72.332
Fosforo	ES_EPA3051_6020	mg/kg	4.759	15.157	1,201.944
Hierro	ES_EPA3051_6020	mg/kg	9.201	29.302	555,143.472
Lantano	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.032	0.103	4.028
Litio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	1.0	3.0	4.5
Magnesio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	5.509	17.545	5,518.068
Manganeso	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.202	0.643	947.975
Mercurio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.082	0.262	2.299
Molibdeno	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.057	0.182	4.109
Niquel	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.156	0.498	3.397
Plata	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.094	0.268	31.557
Plomo	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.109	0.346	15,904.588
Potasio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	13.500	42.993	2,346.571
Selenio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	1.132	3.605	<3.605
Sodio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	7.579	24.136	386.856
Talio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.029	0.093	22.203
torio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.035	0.112	3.521
Titanio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.079	0.251	13.294
Uranio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.032	0.102	2.004
Vanadio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	1.488	4.737	25.059
Wolframio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.072	0.231	11.457
Ytrio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.030	0.096	6.537



**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1903463**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					§
FECHA DE MUESTREO					02/02/2019
HORA DE MUESTREO					15:53:00
MATRIZ					SEDIMENTOS
PRODUCTO DESCRITO COMO					SEDIMENTOS
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado
Molinos					
Zinc	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.607	1.034	1,516.644



**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1924608 Rev. 0**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

AV. LA MOLINA S/N LA MOLINA, LIMA

ENV / LB-346202-001

Fecha de Recepción SGS : 28-09-2019

Fecha de Ejecución : Del 28-09-2019 al 09-10-2019

Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
ME
CI

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 09/10/2019

Frank M. Julcamoro Quispe

C.Q.P. 1033

Coordinador de Laboratorio

**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1924608 Rev. 0**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					ME	CI
FECHA DE MUESTREO					10/08/2019	10/08/2019
HORA DE MUESTREO					11:10:00	11:10:00
CATEGORÍA					AGUA NATURAL	AGUA NATURAL
SUB CATEGORÍA					AGUA SUPERFICIAL	AGUA SUPERFICIAL
					AGUA DE LAGUNA	AGUA DE LAGUNA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado	Resultado
Análisis Frecuamicos						
Cianuro libre	EW_ASTM07237	mg/L	0.0003	0.0008		<0.0008
Metales Totales						
Aluminio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	18.136	
Antimonio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00004	0.00013	0.00091	
Arsénico Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	0.77667	
Bario Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0020	
Berilio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00254	
Bismuto Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.00047	
Boro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.002	0.006	0.079	
Cadmio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.93680	
Calcio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.003	0.009	390.701	
Cerio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00008	0.00024	0.02673	
Cesio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.1990	
Cobalto Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.16566	
Cobre Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00009	2.73757	
Cromo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0134	
Estaño Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	<0.00010	
Estroncio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	2.0456	
Fósforo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.015	0.047	0.114	
Galio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00004	0.00012	0.01826	
Germanio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	<0.0006	
Hafnio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00006	0.00015	<0.00015	
Hierro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0004	0.0013	4,218.9377	
Lantano Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0005	0.0015	0.0088	
Litio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.1903	
Lutecio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00115	
Magnesio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	4,235.534	
Manganeso Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	1,791.61668	
Mercurio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00009	<0.00009	
Molibdeno Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.05319	
Niobio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0005	0.0015	<0.0015	
Niquel Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.5264	
Plata Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.000003	0.000010	<0.000010	
Plomo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.1710	
Potasio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.04	0.13	4.45	
Rubidio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0003	0.0009	0.0734	
Selenio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0004	0.0013	0.0074	
Silicio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.09	0.27	43.10 *	
Sodio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.04	0.13	20.15	
Sodio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.006	0.019	48.404	
Talio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.08053	
Tantalio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0007	0.0021	<0.0021	
Telurio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	<0.003	
Torio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00006	0.00019	0.00110	
Titanio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.0017	
Uranio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.000003	0.000010	0.035563	
Vanadio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0093	
Wolframio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	<0.0006	
Yterbio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00885	
Zinc Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0008	0.0026	1,178.2769	
Zirconio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00015	0.00045	0.00181	

Notas:

El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.

Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.

(*) El método indicado no ha sido acreditado por el INACAL - DA , para la matriz en mención.

(**) Los resultados del ensayo no se encuentran dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL - DA debido a que la muestra no es idónea para el ensayo solicitado. Los resultados se emiten a solicitud del cliente.



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1924613 Rev. 0**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

AV. LA MOLINA S/N LA MOLINA, LIMA

ENV / LB-346202-002

Fecha de Recepción SGS : 21-09-2019
Fecha de Ejecución : Del 21-09-2019 al 11-10-2019
Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
S

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 11/10/2019

Frank M. Julcamoro Quispe
C.Q.P. 1033
Coordinador de Laboratorio

**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1924613 Rev. 0**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					S
FECHA DE MUESTREO					10/06/2019
HORA DE MUESTREO					11:10:00
MATRIZ					SEDIMENTOS
PRODUCTO DESCRITO COMO					SEDIMENTOS
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado
Metales					
Cobre	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.357	1.136	30.900
Aluminio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	2.701	8.602	390.267
Antimonio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.041	0.131	28.057
Arsénico	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.897	2.857	919.061
Bario	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.138	0.440	19.636
Berilio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.054	0.173	<0.173
Bismuto	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.032	0.103	15.332
Boro	ES_EPA3051_6020	mg/kg	5.399	17.195	<17.195
Cadmio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.045	0.144	1.057
Calcio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	65.382	208.223	1,378.882
Circonio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.046	0.147	1.160
Cobalto	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.040	0.128	0.190
Cromo	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.314	1.001	1.964
Escandio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.099	0.317	<0.317
Estaño	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.295	0.940	2.781
Estroncio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.258	0.822	65.614
Fosforo	ES_EPA3051_6020	mg/kg	4.759	15.157	129.887
Hierro	ES_EPA3051_6020	mg/kg	9.201	29.302	285.556.460
Lantano	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.032	0.103	0.264
Litio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	1.0	3.0	<3.0
Magnesio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	5.509	17.545	2,889.547
Manganeso	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.202	0.643	1,404.096
Mercurio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.082	0.262	0.279
Molibdeno	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.057	0.182	0.605
Niquel	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.156	0.498	<0.498
Plata	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.084	0.268	5.249
Piomo	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.109	0.346	1,191.429
Potasio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	13.500	42.993	1,648.822
Selenio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	1.132	3.605	<3.605
Sodio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	7.579	24.136	556.751
Talio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.029	0.093	16.233
Torio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.035	0.112	0.166
Titanio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.079	0.251	10.878
Uranio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.032	0.102	0.210
Vanadio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	1.488	4.737	18.915
Wolframio	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.072	0.231	0.710



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002



INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1924613 Rev. 0

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					S
FECHA DE MUESTREO					10/08/2019
HORA DE MUESTREO					11:10:00
MATRIZ					SEDIMENTOS
PRODUCTO DESCRITO COMO:					SEDIMENTOS
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado
Metales					
Ytiro	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.030	0.096	0.640
Zinc	ES_EPA3051_6020	mg/kg	0.607	1.934	883.007

Notas:

El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.

Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.

Los resultados de las muestras expresados en mg/kg se calculan sobre base seca.