

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



*Evaluación de la eficacia de un tratamiento foto-Fenton
en la detoxificación de aguas contaminadas con
compuestos derivados de la industria del corcho mediante
bioensayos con *Pseudokirchneriella subcapitata* y *Eisenia
fetida*.*

TRABAJO FIN DE GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

ALUMNO/A: MARTA MELIÀ PRADES

TUTOR/A: CONSUELO SABATER MARCO

COTUTOR/A: M^aÁNGELES CASTILLO LÓPEZ

Curso Académico: 2013-2014

VALENCIA, julio 2014



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO
NATURAL

Anexo 5

Ficha resumen del Trabajo Fin de
Grado

Datos personales

Nombre y apellidos: Marta Melià Prades

Datos del trabajo de fin de carrera

Título del TFC: Evaluación de la eficacia de un tratamiento foto-Fenton en la detoxificación de aguas contaminadas con compuestos derivados de la industria del corcho mediante bioensayos con *Pseudokirchneriella subcapitata* y *Eisenia fetida*.

Lugar de realización: Departamento Biotecnología ETSIAMN Fecha: Valencia, junio 2014

Titulación: Biotecnólogo

Especialidad: Toxicología ambiental

Tutor/a: Consuelo Sabater Marco

Cotutor/a: M^a Ángeles Castillo López

Resumen

Actualmente, la preocupación social por la contaminación ambiental ha aumentado. Es por ello que las técnicas de descontaminación se han actualizado, de forma que se han desarrollado procesos nuevos para eliminar productos específicos.

La principal fuente de contaminación es el vertido de aguas residuales de las industrias. Esto se debe a que muchos de los tratamientos convencionales de descontaminación no consiguen eliminar algunos productos. Es por eso que las nuevas técnicas se encargan de eliminar este tipo de compuestos. Entre las técnicas de oxidación avanzada destacan el proceso foto-Fenton, la ozonización, fotólisis del agua y ultrasonidos.

En el siguiente trabajo de investigación, se han utilizado muestras de agua contaminadas artificialmente con ocho compuestos derivados de la industria del corcho. Estos compuestos son: 2,4-dinitrofenol y los ácidos gálico, elágico, tánico, vanílico, sinápico, siríngico y protocatecuico. Las muestras de agua se han sometido a tratamientos de oxidación avanzada mediante foto-Fenton, durante diferentes tiempos. Se han evaluado los efectos toxicológicos de las diferentes muestras mediante el uso de bioensayos. Se determina el efecto en el alga *Pseudokirchneriella subcapitata* midiendo la inhibición del crecimiento y, el efecto en la lombriz de tierra *Eisenia fetida* midiendo la mortalidad y los efectos en el crecimiento y la reproducción.

Los resultados del ensayo realizado en *Pseudokirchneriella subcapitata* determinan que la muestra con más toxicidad es la muestra no tratada, y a partir de ésta, disminuye la inhibición del crecimiento de forma gradual. A los 20 minutos de tratamiento se observa un ligero aumento de la inhibición del crecimiento. Esto puede ser debido a la aparición de sustancias intermedias que también son tóxicas.

Por otra parte, los efectos observados en *Eisenia fetida* indican que los organismos expuestos a las muestras de 20 minutos tienen un mayor aumento de peso, pero una tasa de reproducción menor. A diferencia de las muestras tratadas durante 210 minutos que no difieren del control, en peso y en número de huevos.

Con estos resultados podemos concluir que el tratamiento, a lo largo de 210 min, de las muestras contaminadas, mediante el proceso de oxidación avanzada foto-Fenton ha resultado ser efectivo.

Palabras clave

Corcho, oxidación avanzada, foto-Fenton, toxicidad, *P. subcapitata*, *E. fetida*.

Abstract

Nowadays, the social concern about environmental pollution has increased. Because of this, the decontamination techniques have been upgraded, so that, new processes have been developed to remove specific products.

The main source of pollution is the spill of waste water from the industries. This is because many of the conventional decontamination treatments fail to eliminate certain products. That's why new techniques are responsible for removing these compounds. Some of the advanced oxidation techniques are photo-Fenton process, ozonation, photolysis of water and ultrasound.

In the following research work, we have used water samples artificially contaminated with eight compounds resulting from the cork industry. These compounds are 2,4-dinitrofenol and gallic, ellagic, tannic, vanillic, sinapic, syringic and protocatechuic acids. Water samples have been subjected to treatments of advanced oxidation by photo-Fenton, at different times. Toxicological effects of the different samples have been evaluated by using bioassays. The effect on algae *Pseudokirchneriella subcapitata* has been determined measuring inhibition of growth; and the effect on the earthworm *Eisenia fetida* has been determined measuring mortality and growth and reproduction effects.

The results of *Pseudokirchneriella subcapitata* assay determine that the sample with more toxicity is the untreated sample, and from this sample, the inhibition of growth is declining gradually. At 20 minutes of treatment, a slight increase of growth inhibition is observed. This may be due to the generation of intermediates which are also toxic.

On the other hand, the effects in *Eisenia fetida* show that, the organisms exposed to 20 minutes samples have greater weight gain, but a lower cocoon production. Unlike samples treated for 210 minutes which don't differ from control, in weight and cocoon production.

With these results we can conclude that the treatment, over 210 min, of contaminated samples, by the process of advanced oxidation photo-Fenton, has proved to be effective.

Key words

Corck, advanced oxidation, photo-Fenton, toxicity, *P. subcapitata*, *E. fetida*.

Resum

En l'actualitat, la preocupació social per la contaminació ambiental ha augmentat. Es per açò que s'han actialitzat les tècniques de descontaminació, de tal forma que s'han desenvolupat nous processos per eliminar productes específics.

La principal Font de contaminació es l'abocament d'aigües residuals de les indústries. Açò es degut a que molts dels tractaments convencionals de descontaminació, no aconsegueixen eliminar alguns productes. Es per això que les noves tècniques s'encarreguen de eliminar aquest tipus de compostos. Entre les tècniques d'oxidació avançada destaquen el procés foto-Fenton, l'ozonització, la fotòlisis de l'aigua i els ultrasons.

En el següent treball d'investigació, s'han utilitzat mostres d'aigua contaminades de forma artificial en vuit compostos derivats de la indústria del suro. Aquests compostos son: 2,4-dinitrofenol i els àcids gàlic, elàgic, tànic, vanílic, sinàpico, siríngic i protocatecuic. Les mostres d'aigua han sigut sotmeses a tractaments d'oxidació avançada mitjançant foto-Fenton, durant diferents temps. S'han evaluat els efectes toxicològics de les diferents mostres mitjançant bioassatjos. Es determina l'efecte en l'alga *Pseudokirchneriella subcapitata* medint la inhibició del

creixement i l'efecte en la llombriu de terra *Eisenia fetida* medint la mortalitat y els efectes en el creixement y la reproducció.

Els resultats de l'assaig realitzat en *Pseudokirchneriella subcapitata* determinen que la mostra amb més toxicitat es la mostra no tractada, i a partir d'aquesta, disminueix la inhibició del creixement de forma gradual. Als 20 minuts de tractament s'observa un lleuger augment de la inhibició del creixement. Açò pot ser degut a l'aparició de substancies intermèdies que també són tòxiques.

Per altra part, els efectes observats en *Eisenia fetida* indiquen que els organismes exposats a les mostres de 20 minuts tenen un major augment de pes, però una taxa de reproducció menor. A diferència de les mostres tractades durant 210 minuts que no es diferencien del control, en pes y nombre d'ous.

Amb aquests resultats podem concloure que el tractament, al llarg dels 210 min, de les mostres contaminades, mitjançant el procés foto-Fenton ha resultat ser efectiu.

Paraules clau

Suro, oxidació avançada, foto-Fenton, toxicitat, *P. subcapitata*, *E. fetida*.

Als meus pares i a elles, gràcies.

INDICE

1.- Introducción.....	1
1.1.- Industria del corcho.....	1
1.1.1.- Producción y composición del corcho.....	1
1.1.2.- Tratamiento del corcho.....	2
1.1.3.- Aplicaciones del corcho.....	2
1.1.4.- Contaminantes específicos.....	2
1.1.4.1.- Ácido gálico.....	3
1.1.4.2.- 2,4- dinitrofenol.....	3
1.1.4.3.- Ácido elágico.....	4
1.1.4.4.- Ácido tánico.....	4
1.1.4.5.- Ácido protocatecuico.....	5
1.1.4.6.- Ácido vanílico.....	5
1.1.4.7.- Ácido siríngico.....	6
1.1.4.8.- Ácido sinápico.....	6
1.2.- Tratamientos de descontaminación de aguas residuales.....	7
1.2.1.- Procesos de oxidación avanzada.....	7
1.2.1.1.- Procesos fotocatalisis: foto-Fenton.....	8
1.3.- Utilización de bioensayos en estudios de toxicidad.....	9
1.3.1.- <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	10
1.3.2.- <i>Eisenia fetida</i>	11
2.- Objetivos.....	12
3.- Material y métodos.....	13
3.1.- Muestras de ensayo.....	13
3.2.- Organismos de ensayo.....	14
3.3.- Equipos utilizados.....	14
3.4.- Ensayos de toxicidad.....	15
3.4.1.- Ensayo de toxicidad con <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	15
3.4.2.- Ensayo de toxicidad con <i>Eisenia fetida</i>	18
3.4.2.1.- Ensayo preliminar con <i>Eisenia fetida</i>	18
3.4.2.2.- Ensayo crónico con <i>Eisenia fetida</i>	18
3.5.- Análisis estadístico de los resultados de los ensayos de toxicidad.....	19
4.- Resultados y discusión.....	20
4.1.- Ensayo de toxicidad con <i>P. subcapitata</i>	20
4.1.1.- Ensayo con los productos puros.....	20
4.1.2.- Ensayo de las muestras tratadas con el proceso foto-Fenton.....	25
4.2.- Ensayo de toxicidad con <i>Eisenia fetida</i>	27
4.2.1.- Ensayo preliminar con <i>Eisenia fetida</i>	28
4.2.2.- Ensayo crónico con <i>Eisenia fetida</i>	28
5.- Conclusiones.....	33
6.- Bibliografía.....	34
7.- Anexos.....	37
7.1.- Ensayo de toxicidad con <i>P. subcapitata</i> y ácido sinápico.....	37
7.1.1.- Determinación del valor NOEC.....	37
7.1.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido sinápico(mg/L)	39
7.1.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.....	41

7.2.- Ensayo de toxicidad con <i>P. subcapitata</i> y ácido siríngico.....	45
7.2.1.- Determinación del valor NOEC.....	45
7.2.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido siríngico(mg/L).....	47
7.2.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.....	49
7.3.- Ensayo de toxicidad con <i>P. subcapitata</i> y ácido vanílico.....	52
7.3.1.- Determinación del valor NOEC.....	52
7.3.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido vanílico (mg/L).....	55
7.3.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.....	57
7.4.- Ensayo de toxicidad con <i>P. subcapitata</i> y ácido protocatecuico.....	60
7.4.1.- Determinación del valor NOEC.....	60
7.4.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido Protocatecuico (mg/L).....	62
7.4.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.....	64
7.5.- Ensayo de toxicidad con <i>P. subcapitata</i> para las muestras a diferentes tiempos de tratamiento.....	68
7.5.1.- ANOVA Simple. Tiempo de tratamiento (minutos) según dilución de la muestra (mg/L).....	68
7.5.1.1.- ANOVA Simple. Tiempo Inicial.....	68
7.5.1.2.- ANOVA Simple. Tiempo 5 minutos.....	69
7.5.1.3.- ANOVA Simple. Tiempo 10 minutos.....	71
7.5.1.4.- ANOVA Simple. Tiempo 20 minutos.....	72
7.5.1.5.- ANOVA Simple. Tiempo 60 minutos.....	74
7.5.1.6.- ANOVA Simple. Tiempo 120 minutos.....	75
7.5.1.7.- ANOVA Simple. Tiempo 180 minutos.....	77
7.5.1.8.- ANOVA Simple. Tiempo 210 minutos.....	78
7.5.2.- Análisis PROBIT: Determinación del valor MID.....	80
7.5.3.- ANOVA Simple. Valor LID.....	83
7.5.3.1.- Valor LID. Tiempo inicial.....	83
7.5.3.2.- Valor LID. Tiempo 5 minutos.....	85
7.5.3.3.- Valor LID. Tiempo 10 minutos.....	87
7.5.3.4.- Valor LID. Tiempo 20 minutos.....	89
7.5.3.5.- Valor LID. Tiempo 60 minutos.....	91
7.5.3.6.- Valor LID. Tiempo 120 minutos.....	92
7.5.3.7.- Valor LID. Tiempo 180 minutos.....	94
7.5.3.8.- Valor LID. Tiempo 210 minutos.....	96
7.6.- Ensayo de toxicidad de <i>Eisenia fetida</i>	97
7.6.1.- ANOVA Simple. Tiempo de ensayo (días) según tiempo (minutos).....	97
7.6.1.1.- ANOVA Simple. Día 0.....	97
7.6.1.2.- ANOVA Simple. Día 7.....	99
7.6.1.3.- ANOVA Simple. Día 14.....	100
7.6.1.4.- ANOVA Simple. Día 21.....	102
7.6.1.5.- ANOVA Simple. Día 28.....	103
7.6.2.- ANOVA Simple. Tiempo de tratamiento (minutos) según día de ensayo...	105
7.6.2.1.- ANOVA Simple. Muestra1.....	105

7.6.2.2.- ANOVA Simple. Muestra2.....	106
7.6.2.3.- ANOVA Simple. Muestra3.....	108
7.6.2.4.- ANOVA Simple. Muestra4.....	109
7.6.2.5.- ANOVA Simple. Muestra5.....	110
7.6.2.6.- ANOVA Simple. Muestra6.....	111
7.6.2.7.- ANOVA Simple. Muestra7.....	112
7.6.2.8.- ANOVA Simple. Muestra8.....	114
7.6.2.9.- ANOVA Simple. Control.....	115
7.6.3.- ANOVA Simple. Número de huevos según tiempo de tratamiento (minutos).....	116

Índice de figuras

Figura 1. Estructura química del ácido gálico.....	3
Figura 2. Estructura química del 2,4-dinitrofenol.....	3
Figura 3. Estructura química del ácido elágico.....	4
Figura 4. Estructura química del ácido tánico.....	4
Figura 5. Estructura química del ácido protocatecuico.....	5
Figura 6. Estructura química del ácido vanílico.....	5
Figura 7. Estructura química del ácido siríngico.....	6
Figura 8. Estructura química del ácido sinápico.....	6
Figura 9. <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	10
Figura 10. <i>Eisenia fetida</i>	11
Figura 11. Planta piloto azotea UPV Alcoy.....	13
Figura 12. Lector de microplacas TECAN Infinite M200.....	14
Figura 13. Incubadora LMS.....	14
Figura 14.A) Alga inmovilizada en una matriz algal (algal Toxkit) B) Cultivo madre del alga sobre agitador orbital.....	15
Figura 25. Microplacas de 96 pocillos transparentes de fondo plano (Costar, Corning Inc., New York, USA) con algas en crecimiento.....	16
Figura 16. Cristalizador de laboratorio con el sustrato artificial.....	19
Figura 17. Inhibición del crecimiento (%) de <i>P. subcapitata</i> expuesta a diferentes concentraciones de los cuatro compuestos estudiados.....	23
Figura 18. Curvas Concentración (mg/L) vs. % respuesta del 2,4-dinitrofenol y los ácidos, tánico, elágico y gálico.....	24
Figura 19. Porcentajes de inhibición del crecimiento de <i>P.subcapitata</i> expuesta a diferentes diluciones de la muestra no tratada.....	26
Figura 20. Tiempo de tratamiento vs. % de respuesta del alga <i>P.subcapitata</i> , para cada compuesto.....	27
Figura 21. Análisis de regresión del Tiempo de ensayo (días) vs. Peso de las lombrices (g).....	29
Figura 22. Media del porcentaje del número de huevos para cada tiempo de tratamiento ± RSD.....	31

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de los procesos de oxidación avanzada según la fuente de energía que se utiliza y los diferentes procesos que existen.....	8
Tabla 2. Composición del medio nutritivo “Bold’s Basal Medium” (BBM), empleado en los bioensayos.....	16
Tabla 3. Ecuación de regresión lineal correspondiente a la curva de calibrado de <i>P. subcapitata</i>	17
Tabla 4. Concentraciones de los compuestos derivados de la industria del corcho utilizadas en los ensayos de toxicidad.....	20
Tabla 5. Inhibición del crecimiento (%) de <i>P. subcapitata</i> expuesta a diferentes concentraciones de ácido sinápico, a las 72 horas de ensayo.....	21
Tabla 6. Inhibición del crecimiento (%) de <i>P. subcapitata</i> expuesta a diferentes concentraciones de ácido siríngico, a las 72 horas de ensayo.....	21
Tabla 7. Inhibición del crecimiento (%) de <i>P. subcapitata</i> expuesta a diferentes concentraciones de ácido vanílico, a las 72 horas de ensayo.....	22
Tabla 8. Inhibición del crecimiento (%) de <i>P. subcapitata</i> expuesta a diferentes concentraciones de ácido protocatecuico, a las 72 horas de ensayo.....	22
Tabla 9. Valores NOEC y EC ₅₀ de los cuatros compuestos estudiados.....	23
Tabla 10. Inhibición del crecimiento (%) de <i>P. subcapitata</i> expuesta a las soluciones acuosas contaminadas, tratadas mediante foto-Fenton, a diferentes tiempos.....	25
Tabla 11. Valores LID de las muestras tratadas a diferentes tiempos.....	26
Tabla 12. Evolución del peso (g) de las lombrices expuestas a las muestras tratadas, a lo largo del ensayo.....	28
Tabla 13. Variación del peso de las lombrices (%) respecto al control, a lo largo del ensayo.....	29
Tabla 14. Análisis de regresión del tiempo de ensayo con respecto al peso de las lombrices, para cada tiempo de tratamiento.....	30
Tabla 15. Media del número de huevos de las lombrices a los 28 días de ensayo, para cada tiempo de tratamiento.....	30

1.- INTRODUCCIÓN

El agua se considera un recurso indispensable para la vida, sin embargo una cuarta parte de la población mundial sufre escasez de agua no contaminada. Como empieza a ser un recurso limitado, hay que aprovechar los recursos hídricos. Esta necesidad aumenta porque la población ha crecido de forma desmedida y descontrolada, porque se usan de forma no consciente los recursos y porque son escasos y bastante costosos.

Es aquí donde surge la posibilidad de reutilizar el agua residual de las diferentes empresas e industrias. La EPA (Environmental Protection Agency), define la reutilización como la recuperación de agua para otra aplicación. El agua residual, pasa a diferentes plantas de tratamiento para ser depurada y conseguir eliminar todo rastro de posibles contaminantes. Esta reutilización implica estudios de viabilidad y economía, además de análisis ambientales que cumplan con las normativas.

Las medidas legislativas hasta ahora tratan de evitar la contaminación del agua. Por ello, las aguas domésticas e industriales se recogen y luego pasan a las plantas de depuración donde se tratan antes de verterlas al medioambiente. Por ejemplo, en la industria corchera, durante el proceso de obtención del corcho, los compuestos que resultan de su elaboración, se pueden transformar en compuestos tóxicos, por lo que es necesario tratar las aguas residuales procedentes de dicha industria antes de verterlas al medio ambiente.

1.1.- Industria del corcho

En España, la industria del corcho, está principalmente concentrada en Andalucía, Extremadura y Cataluña (Sánchez, 2007). España representa el 30% de la producción de corcho a nivel mundial. Es por ello, que existen hectáreas de terrenos en España dedicadas a cultivar alcornoques, con la finalidad de producir corcho.

1.1.1.- Producción y composición del corcho

Además de España, mencionada anteriormente, Portugal también es uno de los países que produce más corcho en el mundo. Concretamente, en España y Portugal, la producción de corcho es de un 54% y 26% respectivamente.

El alcornoque (*Quercus suber*) es un árbol característico del mediterráneo, del sur de Europa y norte de África. Los países que se encuentran detrás de España y Portugal en la producción de corcho en la zona del mediterráneo son Argelia, Marruecos, Italia, Francia y Túnez, con una producción de 4, 5, 6, 1 y 3%, respectivamente.

En cuanto a la composición del corcho, hay que destacar que la corteza del alcornoque es una masa elástica y homogénea de células muertas impregnadas de una sustancia grasa. El tejido suberoso es un tejido muerto que protege los tejidos interiores y la suberina es la sustancia grasa que impregna las células muertas. La suberina es muy importante, por eso representa el 45% del total del corcho, además de contener lignina en un 22% y celulosa y hemicelulosa en un 20% y otros componentes como ceras y taninos. La estructura celular del corcho le da propiedades como ligereza, elasticidad, impermeabilidad, aislante, elevado poder de fricción, durabilidad, resistencia a la degradación por ácidos y microorganismos.

1.1.2.- Tratamiento del corcho

En el tratamiento del corcho se puede diferenciar entre la preparación del corcho y la transformación. En primer lugar, en el momento de la preparación del corcho, se realiza el proceso de extracción de la corteza del alcornoque cuando éste se encuentra en su máxima actividad vegetativa. Una vez extraído se debe dejar reposar unos meses para que los factores atmosféricos eliminen la savia del corcho. Entonces, se llevan a las fábricas y se cuecen a unos 98 °C, durante una hora para que se vuelva más flexible y se permita la expansión de todas las lenticelas y así, se asegura la reducción de la microflora. Una vez se ha realizado la cocción, las planchas se secan y se dejan reposar durante tres semanas a una humedad y temperatura controladas. A continuación se sigue con el retaceo del corcho; esta etapa consiste en separar con una cuchilla diferentes partes de distinto espesor. Hay que hacer las planchas homogéneas y dejar un corte limpio para diferenciar la calidad. Por último, las planchas de la misma calidad se prensan y almacenan para transportarlas a las industrias transformadoras.

Uno de los principales productos de este sector es el tapón de corcho para las botellas, siendo su volumen de negocio en España, del 85%. Dependiendo de las características de las planchas de corcho, los tapones resultantes se van a destinar a diferentes fines.

1.1.3.- Aplicaciones del corcho

Además de la aplicación ya mencionada, el corcho tiene muchas más aplicaciones. El sector que destaca por detrás de la industria del tapón, es la industria de la construcción. En la actualidad, se aprovecha el corcho de baja calidad mediante su trituración y aglomeración. Los diferentes aglomerados dan lugar a un producto de baja densidad, impermeable a la humedad, ligero, aislante térmico y acústico, compacto y poco dilatado por el calor. Las aplicaciones que más se han desarrollado en la construcción son: aislamiento de pisos y revestimientos, aislamiento de paredes exteriores e interiores, aislamiento de cubiertas y techos y acabados.

Por otra parte, también se usa en el sector naval por su propiedad antideslizante y aislante. Así mismo, tiene su utilidad en maquinaria, artesanía y útiles de escritorio, moda y complementos.

1.1.4.- Contaminantes específicos

A pesar de que la industria del corcho es considerada como una industria ecológica, el corcho, debido a su estructura lignínica contiene una serie de compuestos tanínicos o clorados que, durante el procesado del corcho (cocción) se hidrolizan, pudiéndose transformar en otros compuestos tóxicos e incluso cancerígenos.

Este estudio abarca los contaminantes específicos del agua residual de la industria del corcho, que se han utilizado en la batería de bioensayos, para la determinación de su toxicidad. Estas sustancias son los ácidos gálico, tánico, elágico, protocatecuico, vanílico, siríngico, sinápico y el 2,4-dinitrofenol. Estos, son compuestos aromáticos que libera el corcho al medio acuoso.

1.1.4.1.- Ácido gálico

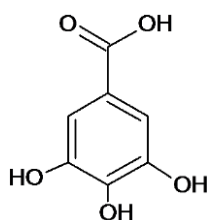


Figura 1. Estructura química del ácido gálico

El ácido gálico (Figura 1), también llamado ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, es un ácido fenólico presente en diversas fuentes naturales como: plantas, frutas (uva, granada, nueces, plátano, fresa, limón, arándano, cáscara de manzana y mango), verduras (acelgas y espinacas) y bebidas (café, vino tinto y té verde).

Este ácido se encuentra tanto de forma libre como formando parte de taninos, por eso se puede obtener directamente desde el alimento, o por hidrólisis del ácido tánico, catalizando la hidrólisis de los enlaces tipo éster presentes en los galotaninos. Se le atribuyen varios efectos biológicos como actividad antiinflamatoria, antioxidante, antibiótica y, protección cardiovascular y anticancerígena.

Según Cortés (2012), se ha demostrado que la cadena alquílica lateral de los derivados del ácido gálico es importante para su capacidad antioxidante y que la capacidad de unirse o atravesar la membrana celular depende en gran parte de la longitud de la cadena lipofílica de los compuestos. La citotoxicidad no es una característica común de los compuestos fenólicos, pero es una propiedad específica del ácido gálico siendo, los grupos hidroxilo adyacentes presentes en la molécula, los responsables de la citotoxicidad observada. Se utiliza en la industria farmacéutica como patrón para determinar el contenido en fenoles de diversos analitos.

1.1.4.2.- 2,4-dinitrofenol

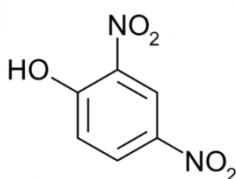


Figura 2. Estructura química del 2,4-dinitrofenol

Los compuestos nitroaromáticos se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente y han sido detectados en efluentes líquidos, ríos y suelos tratados con plaguicidas. Son liberados al ambiente principalmente a través de actividades antropogénicas.

Según Gemini *et al.* (2008), los nitrofenoles son utilizados como intermediarios en la producción de fármacos, colorantes, plaguicidas, conservantes de la madera y explosivos. Estos compuestos son altamente tóxicos para el ser humano y mamíferos dado que son sustancias que pueden llevar a la formación de metahemoglobina (un tipo de hemoglobina con hierro oxidado, que no permite liberar oxígeno) y son potentes desacoplantes de la fosforilación oxidativa.

El 2,4-dinitrofenol (Figura 2) es un compuesto persistente en el ambiente y se considera un contaminante prioritario, por ello se recomienda que su nivel en las aguas naturales sea menor de 10 ng/L. Tanto en ecosistemas naturales contaminados como en efluentes líquidos, puede encontrarse solo o asociado a otros contaminantes bióticos y abióticos. Este compuesto se utiliza para fabricar tinturas, preservativos para madera, explosivos, sustancias para controlar insectos y otros productos químicos.

1.1.4.3.- Ácido elágico

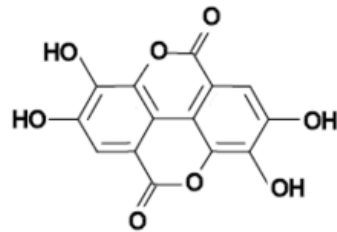


Figura 3. Estructura química del ácido elágico

Según Virgilio *et al.* (2010), el ácido elágico (Figura 3) es un elagitanino presente en el metabolismo secundario de los vegetales, su principal característica es su capacidad antimicrobiana, antioxidante, antimutagénica, anticarcinogénica y antiviral. Es una molécula de naturaleza fenólica que puede estar presente en forma libre en algunas especies vegetales como producto del metabolismo de las mismas, o bien, puede encontrarse a partir de sus precursores, los elagitaninos. Éstos tienen en su estructura un grupo conocido como HHDP, que cuando se encuentra en presencia de ácidos o bases fuertes se hidroliza y se libera el HHDP de los elagitaninos, lo que da lugar a la molécula de ácido elágico. El ácido elágico se aprovecha para la industria de los alimentos, elaborando bebidas y suplementos alimenticios. Concretamente, es el componente más abundante en el corcho (Pereira, 2007).

1.1.4.4.- Ácido tánico

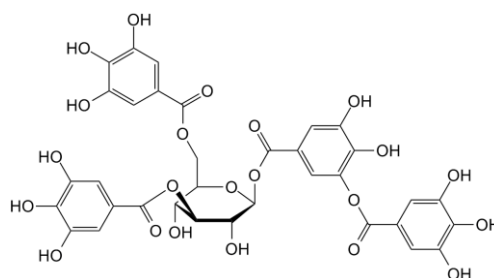


Figura 4. Estructura química del ácido tánico

El ácido tánico (Figura 4) es una forma comercial del tanino, que es un polifenol. Es un ingrediente básico en la tinción de la madera. Su estructura se basa principalmente en ésteres de glucosa de ácido gálico.

Los compuestos del ácido tánico se usan en la dieta y forman parte de hierbas medicinales con actividad antioxidante y actividad antimicrobiana; también se consideran una medida preventiva

contra el cáncer. Es tóxico incluso a bajas concentraciones para un gran número de hongos, y se observa una gran inhibición hacia las bacterias (Rudolf Forrer *et al.*, 2014).

Los taninos pueden estar presentes en el agua potable de fuentes naturales como hojas y corteza de árbol. El ácido tánico es seguro si se consume en pequeñas cantidades, pero puede dar un color amarillento y sabor amargo al agua. Aunque, en sí no es generalmente perjudicial, su presencia en agua potable indica la posibilidad de que otros aditivos más nocivos, se encuentren también en el agua.

1.1.4.5.- Ácido protocatecuico

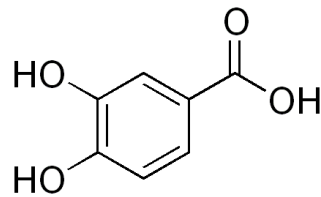


Figura 5. Estructura química del ácido protocatecuico

El ácido protocatecuico (Figura 5), también conocido como ácido 3,4-dihidroxibenzoico, es un ácido fenólico, ampliamente distribuido en el medio y presente en las plantas comestibles más utilizadas en la medicina popular. Este compuesto es uno de los componentes biológicamente activos de muchas plantas medicinales y también es muy común en la dieta humana, presente en el salvado y en el grano de arroz integral y en la cebolla. Además, también se detecta en muchas frutas como uvas, ciruelas o grosellas (Kakkar y Bais, 2014).

Este ácido, es estructuralmente similar a los ácidos gálico, cafeico, vanílico y siríngico, compuestos conocidos como antioxidantes. Se considera un metabolito secundario, como los demás compuestos fenólicos, y deriva de la vía de la fenilalanina a través de la ruta del ácido shikímico. Es un ácido generalmente estable, pero es incompatible con agentes oxidantes fuertes y bases fuertes. Tiene actividad antioxidante y antiinflamatoria.

1.1.4.6.- Ácido vanílico

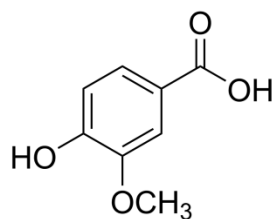


Figura 6. Estructura química del ácido vanílico

El ácido vanílico (Figura 6) es un ácido fenólico, un tipo de polifenol. Se ha demostrado que si se aplica de forma artificial en el suelo, se alteran las comunidades microbianas en algunas especies. Además, se ha estudiado, que este ácido fenólico inhibe el crecimiento de especies como *Cucumis sativus* L., también estimula la actividad deshidrogenasa del suelo, el contenido en carbono de la biomasa y causa cambios en las comunidades de hongos y bacterias del suelo.

Otro efecto que tiene la aplicación de este compuesto es que el área de las hojas disminuye con el aumento de la concentración (Zhou y Wu, 2012).

1.1.4.7.- Ácido siríngico

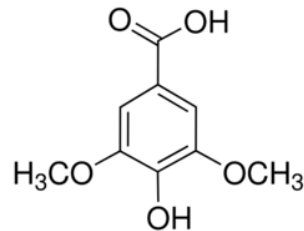


Figura 7. Estructura química del ácido siríngico

El ácido siríngico (Figura 7) es un fenol presente en algunas bebidas alcohólicas destiladas. También es un producto de metabolismo microbiano de las antocianinas y otros polifenoles que han sido consumidos por ejemplo en la fruta o en alcohol. La investigación de este ácido sugiere que los compuestos fenólicos del vino pueden desempeñar un papel positivo frente a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), que es un paso clave en el desarrollo de la aterosclerosis. El ácido siríngico se correlaciona con una actividad antioxidante alta y una inhibición de la oxidación de LDL.

Varios estudios demuestran que el peso seco de las plantas del pepino está influenciado de forma significativa por el ácido siríngico, inhibiendo el crecimiento en concentraciones entre 0,05 y 0,2 $\mu\text{mol/g}$ suelo (Zhou y Xiang, 2014).

1.1.4.8.- Ácido sinápico

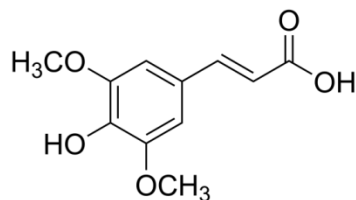


Figura 8. Estructura química del ácido sinápico

El ácido sinápico (Figura 8) es un compuesto fenilpropanoide natural que se encuentra en varias plantas, hierbas y cereales y, al que se le atribuyen, numerosas propiedades farmacológicas.

Se obtiene de la sinapina y es un ácido que se relaciona con el ácido gálico. Se ha demostrado que potencia GABA en las neuronas de una manera dependiente de la dosis. Se han realizado estudios en ratones para evaluar la actividad locomotora, pero no se observaron cambios a cualquier dosis (Hoon Yoon *et al.*, 2007).

1.2.- Tratamiento de descontaminación de aguas residuales

Las depuradoras y las plantas de tratamiento de aguas tienen como objetivo el tratamiento de las diferentes aguas residuales para transformarlas en diferentes subproductos, fangos y gas. Cuando el agua llega a las estaciones depuradoras de aguas residuales, está contaminada de diferentes formas, por ello se somete a varios tratamientos. Existen tratamientos convencionales que recogen técnicas como la penetración, el tratamiento primario, secundario o terciario y la línea de fangos.

El tratamiento primario se basa en la reducción de sólidos gruesos; para ello, el proceso se realiza totalmente con tratamientos mecánicos. El tratamiento primario incluye el cribado o las mallas de barreras, la flotación o eliminación de grasas, la sedimentación, homogenización y neutralización.

El tratamiento secundario se diseña para limpiar el agua de impurezas de tamaño menor que las que se pueden captar en el tratamiento anterior. Para ello, este tratamiento se basa en métodos mecánicos y biológicos. Los procesos que componen el tratamiento secundario son: la estabilización por contacto, la modificación del sistema convencional de lodos activos, lagunaje con aireación, estabilización por lagunaje, percolación y tratamientos anaerobios.

Y, por último, el tratamiento terciario se encarga de aumentar la calidad de las aguas para que se pueda verter al medioambiente. Las técnicas que se usan en este tratamiento son el microtamizado, la filtración, precipitación, floculación y coagulación, adsorción, ósmosis inversa, electrodiálisis, reducción de nutrientes e intercambio iónico.

Los tratamientos convencionales de depuración de aguas, no pueden degradar algunos compuestos orgánicos, como por ejemplo los contaminantes emergentes y también algunos contaminantes derivados de la industria del corcho como los compuestos fenólicos que son muy estables y poco biodegradables. Por eso, en la actualidad se han desarrollado técnicas capaces de convertir estos compuestos en otros que se puedan difundir en el medio y que sean inocuos al hombre y a la naturaleza.

1.2.1.- Procesos de oxidación avanzada

Muchos compuestos que se encuentran en las aguas residuales, procedentes de actividades industriales y agrícolas no pueden ser degradados por procesos de tratamiento biológico convencionales. Esto hace necesario el desarrollo de nuevos métodos.

Aquí es donde tienen un importante papel los procesos de oxidación avanzada (POAs), porque son una alternativa a los tratamientos que se han desarrollado hasta ahora. Constituyen uno de los recursos más utilizados en el tratamiento de aguas contaminadas con productos orgánicos, es decir, eliminan de forma eficiente muchos compuestos, como los fenólicos, citados anteriormente.

Los POAs consisten en tratamientos que involucran a especies químicas altamente reactivas como los radicales hidroxilo. Los radicales hidroxilo son capaces de interaccionar con los compuestos orgánicos del medio y convertirlos, por degradación oxidativa, en sustancias que son inocuas para el medio ambiente. Estos radicales atacan las moléculas orgánicas y tienen un potencial de oxidación mayor que los oxidantes clásicos. Estas especies son inestables y deben estar produciéndose de

forma continua mediante reacciones químicas y fotoquímicas. Estos procesos son de gran interés por su aplicación en el tratamiento de aguas residuales (Muñoz, 2011).

Según la forma en la que se obtienen los radicales hidroxilo, los POAs se pueden clasificar según si utilizan como fuente de energía la luz ultravioleta, siendo procesos fotoquímicos; o si utilizan otras fuentes de energía, siendo procesos no fotoquímicos (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los procesos de oxidación avanzada según la fuente de energía que se utiliza y los diferentes procesos que existen.

PROCESOS NO FOTOQUÍMICOS	PROCESOS FOTOQUÍMICOS
Ozonización	Fotólisis del agua en UVV
Ozonización con peróxido de hidrógeno	UV/ peróxido de hidrógeno
Procesos Fenton	Ozonización combinada
Ultrasonidos	Foto-Fenton

Entre los procesos no fotoquímicos, destaca la ozonización; el ozono puede reaccionar de forma directa con un sustrato orgánico mediante una reacción lenta, o de forma rápida mediante una reacción favorecida por un medio alcalino. La ozonización se mejora agregando peróxido de hidrógeno, que es un ácido débil, muy oxidante e inestable. Por otra parte, en el proceso de Fenton se combinan el hierro y el peróxido de hidrógeno para generar radicales hidroxilo. Estos radicales van a participar en la oxidación del hierro y en el ataque de la materia orgánica. Por último, en este grupo de procesos, la técnica de ultrasonido aprovecha el crecimiento y colapso de burbujas de gas, y se alcanzan temperaturas y presiones locales muy altas. La reacción térmica genera radicales que participan en la degradación de la materia orgánica.

En el caso de los procesos fotoquímicos, se encuentra la fotólisis del agua en ultravioleta de vacío, en la que se usa radiación con una longitud de onda menor de 190 nm. Esto produce la degradación de la materia orgánica en fases gaseosas o la fotólisis del agua que produce radicales hidroxilo. Por otra parte, la fotólisis del peróxido de hidrógeno se puede realizar usando lámparas de vapor de mercurio. Hay que tener en cuenta que, con altas concentraciones de radicales, se pueden producir efectos inhibitorios para la degradación. La ozonización combinada combina los procesos UV/peróxido de hidrógeno y la ozonización con peróxido de hidrógeno.

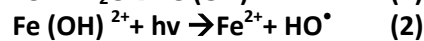
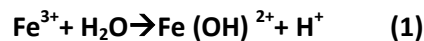
1.2.1.1.- Procesos fotocatalisis: foto-Fenton

Como se ha mencionado anteriormente, una forma de producir los radicales hidroxilo es la reacción de Fenton, que usa el peróxido de hidrógeno con sales ferrosas. Esta reacción genera radicales hidroxilo a partir de una reacción en cadena entre el ión de hierro y el peróxido. Actualmente, se ha demostrado que si se emplea radiación UV o UV/visible, se incrementa el poder oxidativo de esta reacción, y por tanto, la velocidad de degradación de los compuestos orgánicos aumenta de forma significativa. Entonces la reacción pasa a llamarse foto-Fenton.

La principal desventaja de los procesos de oxidación avanzada es el elevado coste de operación asociado al gran consumo de energía eléctrica. Este consumo aumenta cuando se utiliza radiación ultravioleta, como es el caso del proceso foto-Fenton.

Aunque los costes son elevados, el uso de los procesos de oxidación avanzada puede estar justificado si se hace como pretratamiento, para aumentar la biodegradabilidad de las aguas contaminadas y, si los intermediarios se pueden degradar mediante otros tratamientos. Por tanto, una alternativa para abaratar el proceso sería realizar una primera etapa con los procesos de oxidación avanzada y una segunda etapa en la que los intermediarios se pueden tratar para conseguir una descontaminación completa.

El reactivo de Fenton consiste en una disolución acuosa de peróxido de hidrógeno e iones ferrosos que generan radicales hidroxilo. La radiación permite la excitación de las especies de Fe^{3+} hidratadas que se forman durante el proceso Fenton (reacción 1) que, por transferencia de un electrón genera un radical hidroxilo adicional, regenerando el ión Fe^{2+} (reacción 2), que es el principal responsable de la descomposición del peróxido de hidrógeno en el reactivo Fenton. La energía que necesita esta reacción no es muy elevada, pudiendo utilizar la radiación lumínica con longitud de onda superior a 360 nm (Domènech *et al.*, 2012).



Los diferentes reactivos que se emplean en este proceso son el peróxido de hidrógeno, el hierro como catalizador, el oxígeno como oxidante y como energía la luz UV.

Entre los diferentes procesos de oxidación avanzada, foto-Fenton se consideran uno de los más prometedores para la depuración de aguas residuales. Son capaces de conseguir la degradación completa de contaminantes, con una efectividad en la oxidación mayor a otros procesos.

Estos procesos constituyen unos sistemas oxidativos que no requieren reactivos caros ni instrumentación sofisticada. El hierro es el cuarto elemento más abundante en la tierra, no es tóxico y es seguro, mientras que el peróxido de hidrógeno comparado con otros oxidantes tiene un precio razonable, es fácil de manejar y no es dañino para el medioambiente. El reactivo Fenton se considera un reactivo limpio ya que cuando se ha acabado el tratamiento, el hierro disuelto puede retirarse por precipitación aumentando el pH.

Algunas ventajas que presenta este proceso son su efectividad bajo la acción de la irradiación solar y la gran profundidad de penetración de la luz, ya que el catalizador está en disolución y se permite la penetración de la luz en función de la concentración de hierro que se añada.

1.3.- Utilización de bioensayos en estudios de toxicidad.

Los daños causados a los ecosistemas por la exposición a compuestos tóxicos se denominan efectos ecotoxicológicos. Estos efectos nos permiten determinar el grado de toxicidad que tienen algunos compuestos en los organismos por su liberación al medio.

El uso de bioensayos nos da la posibilidad de obtener datos sobre los efectos ecotoxicológicos, permitiendo evaluar los riesgos ambientales ligados a las sustancias tóxicas presentes. Los bioensayos son experimentos en los que se controlan las condiciones bióticas y abióticas. Así, se permite la fijación de los factores que influyen sobre la respuesta de los organismos y también comparar los resultados obtenidos entre diferentes poblaciones (Ferrari *et al.* 2005).

Los bioensayos se clasifican en función de la información que proporcionan. Se pueden catalogar en bioensayos de toxicidad aguda y en bioensayos de toxicidad crónica. Los bioensayos de toxicidad aguda se llevan a cabo exponiendo los individuos a diferentes concentraciones de la sustancia problema para poder determinar la concentración que resulta letal para los organismos, en periodo de tiempo corto. En el caso de los ensayos de toxicidad crónica, se valoran los efectos que se producen en los organismos como resultado de la exposición prolongada a la concentración o dilución de muestra no letal, obtenida a partir del ensayo de toxicidad aguda. Se estudian los efectos sobre la mortalidad, la reproducción, la fisiología y el comportamiento de los individuos. También influye sobre los resultados el tipo de organismo que se utiliza.

Los criterios de selección de las especies se basan en la sensibilidad a tóxicos, alta disponibilidad, estabilidad genética y uniformidad de poblaciones, amplia distribución e importancia económica y facilidad de cultivo y adaptabilidad a las condiciones de laboratorio. Existen muchas especies que se utilizan actualmente en los ensayos de toxicidad, pertenecientes a diferentes niveles tróficos. A continuación, se exponen las principales características de las especies utilizadas en los bioensayos de este trabajo.

1.3.1.- *Pseudokirchneriella subcapitata*

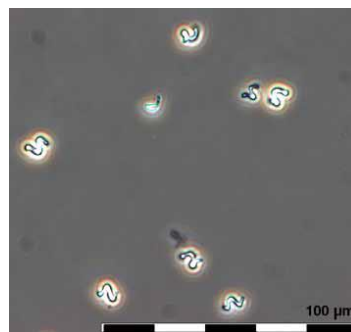


Figura 9. *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Pseudokirchneriella subcapitata (Figura 9) es una especie de alga unicelular que vive en estanques de agua dulce, lagos y ríos. Se presenta en diversidad de medios acuáticos, siempre y cuando tenga suficiente luz. Es autótrofa obligatoria. Las células en los cultivos son solitarias excepto durante la división celular, en la que forman una especie de racimos. Las células tienen una forma helicoidal, por lo general semicircular. La reproducción es por división de la célula madre en 2, 4 u 8 células hijas.

La taxonomía de acuerdo a Korshikov (1990) es la siguiente: reino: *Plantae*; filo: *Chlorophyta*; clase: *Chlorophyceae*; orden: *Chlorococcales*; familia: *Chlorellaceae*; subfamilia: *Ankistrodesmoidae*; género: *Pseudokirchneriella*; especie: *Pseudokirchneriella subcapitata*.

P.subcapitata es una especie representativa de sistemas acuáticos de agua dulce, oligotróficos y eutróficos (Villem, 2011). Estas algas son muy sensibles a las condiciones ambientales, variando su tamaño y su desarrollo. La utilización de esta especie en bioensayos de toxicidad ha aumentado por su facilidad de cultivo y su rápido crecimiento. Con este organismo, se pueden miniaturizar los ensayos, y esto permite llevar a cabo experimentos a menor coste, porque se requiere menos espacio, y se utilizan pocas cantidades de productos.

1.3.2.- *Eisenia fetida*



Figura 10. *Eisenia fetida*.

También se conoce como lombriz roja californiana (Figura 10). Es una lombriz de tierra común y se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo en diferentes hábitats. La taxonomía de esta especie es la siguiente: reino: *Animalia*, filo: *Annelida*, clase: *Clitellata*, subclase: *Oligochaeta*, orden: *Haplotaxida*, familia: *Lumbricidae*, género: *Eisenia*, especie: *Eisenia fetida*. Es una especie hermafrodita, pero para reproducirse debe aparearse con otro individuo. Cada individuo está dotado de un aparato genital masculino en la parte anterior y otro femenino en la parte posterior. Su uso tan extendido en los ensayos de toxicidad se debe al amplio margen de adaptación a las condiciones de cultivo, manejo sencillo, ciclo de vida corto, facilidad de obtención y muy numerosas.

2.- OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo han sido:

1. Determinar la toxicidad de una mezcla de contaminantes derivados de la industria del corcho en soluciones acuosas tratadas a diferentes tiempos mediante proceso foto-Fenton, utilizando una batería de bioensayos con el alga *Pseudokirchneriella subcapitata* y la lombriz de tierra *Eisenia fetida*.
2. Evaluar la eficacia del tratamiento foto-Fenton en la detoxificación de aguas residuales procedentes de la industria del corcho.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los ensayos que se realizan en este trabajo de investigación se hacen en el laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Biotecnología de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural (ETSIAMN).

3.1.- Muestras de ensayo

Se dispone de muestras de agua, procedentes del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera de la Escuela Politécnica Superior de Alcoy (EPSA) contaminadas inicialmente con los compuestos derivados de la industria del corcho (ácidos gálico, tánico, elágico, protocatecuico, vanílico, siríngico, sinápico y 2,4-dinitrofenol), a una concentración de 1 mg/L. Estas muestras han sido sometidas al proceso de oxidación avanzada (POA), foto-Fenton, durante diferentes tiempos, con el fin de estudiar la eliminación de los compuestos del agua. Las muestras se corresponden con los siguientes tiempos: M1=0min; M2=5min; M3=10min; M4=20min; M5=60min; M6=120min; M7=180min y M8=210min. Además, se han preparado soluciones acuosas de los compuestos puros de los ácidos vanílico, siríngico, sinápico y protocatecuico, a unas concentraciones de 2000, 3000, 2000 y 600 mg/L, respectivamente. No se ha utilizado ninguna sustancia vehiculizante, al tener estos compuestos una buena solubilidad. Se ha utilizado agua MiliQ para preparar, tanto las diluciones como las soluciones acuosas de los compuestos puros.

Antes de iniciar el tratamiento de fotocatalisis, las soluciones acuosas se han caracterizado en el Departamento de Ingeniería Textil y Papelera de la Escuela Politécnica Superior de Alcoy de la Universidad Politécnica de València. Se ha determinado la Demanda Química de Oxígeno (DQO), la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), el Carbono Orgánico Total (COT), el pH, la conductividad y la tensión superficial. Al finalizar el tratamiento de fotocatalisis se realiza un análisis de cromatografía gaseosa con detector de masas (MS-GC) de las soluciones acuosas.

El tratamiento de las muestras de agua fortificadas con los ocho compuestos citados se ha realizado en una planta solar (Modelo Solardetox Acadus 2005-0,25 de la casa Ecosystem) instalada en la azotea de la Escuela Politécnica Superior de Alcoy (Figura 12). Esta planta consta de cuatro tubos de Pyrex paralelos, conectados entre sí por medio de conectores de plástico, a través de los cuales fluye la disolución a tratar. Detrás de cada tubo hay un concentrador cilindro-parabólico de aluminio que concentra toda la radiación dispersa hacia el centro del tubo. Está provista de un depósito en el cual se introducen los cuatro litros de muestra a tratar junto con los reactivos empleados en la oxidación avanzada. La radiación solar a la que es sometida la muestra de agua se mide con un radiómetro (Acadus 85).



Figura 11. Planta piloto azotea UPV Alcoy

3.2.- Organismos de ensayo

Para que los ensayos de toxicología sean representativos se ha seleccionado el alga *Pseudokirchneriella subcapitata* que es un organismo productor primario y por otra parte la lombriz *Eisenia fetida* que es un descomponedor y es útil conocer los efectos sobre los organismos del suelo. El alga ha sido suministrada por la empresa ECOTest S.L. y la lombriz se ha recogido en una planta de compostaje que se encuentra en los alrededores de la Universidad Politècnica de València.

3.3.- Equipos utilizados

El lector de microplacas multifuncional TECAN Infinite M200 se ha utilizado para inyectar las microplacas y para medir la fluorescencia en los ensayos de toxicidad de *P.subcapitata*. Este lector multifuncional está equipado con tres detectores de alta resolución para las medidas de fluorescencia, luminiscencia y absorbancia y un módulo inyector que consiste en dos bombas de jeringa (XE-1000, Tecan Systems). Además el lector posee el software i-Control que permite el manejo de los datos de fluorescencia obtenidos.



Figura 12. Lector de microplacas TECAN Infinite M200.

Todos los ensayos de toxicidad se han realizado en la Incubadora LMS. Esta cámara presenta un amplio rango de aplicaciones que requieren temperaturas entre +10º y +30º, con una humedad relativa entre 5 y 85%, sin condensación. De esta forma, los ensayos de toxicidad se han podido realizar bajo las condiciones apropiadas de luz y temperatura, para cada organismo de ensayo.



Figura 13. Incubadora LMS

3.4.- Ensayos de toxicidad

3.4.1.- Ensayo de toxicidad con *Pseudokirchneriella subcapitata*

La evaluación de la toxicidad aguda de las muestras de agua contaminada sobre el alga *P. subcapitata* se ha llevado a cabo de acuerdo a la normativa UNE-EN ISO 8692: 2004, adaptado a microplaca. El objetivo del ensayo es determinar la inhibición del desarrollo del alga expuesta a diferentes diluciones de las soluciones acuosas contaminadas y tratadas durante diferentes tiempos (0, 5, 10, 20, 60, 120, 180 y 210 min), durante 72 horas. Este tipo de alga es adecuada para realizar pruebas para estimar el potencial de fitotoxicidad de muestras líquidas (Díaz-Báez *et al.*, 2004).

En primer lugar, se realizó la movilización del alga, ya que esta se suministra inmovilizada en una matriz (Figura 14A), utilizando el medio *Matrix dissolving Medium*, agitando y centrifugando varias veces, para finalmente, resuspenderla en el medio de cultivo BBM (Bold's Basal Medium). El cultivo madre se mantuvo en matraces de 250 mL, en la cámara climatizada a 22 ± 2 °C, con un fotoperiodo de 12 horas, bajo una intensidad luminosa de 1100 lux y en agitación continua mediante agitador orbital. El cultivo madre se renueva cuando alcanza la fase exponencial de crecimiento, y los matraces se tapan con tapones permeables al aire para permitir el intercambio gaseoso (Figura 14B).

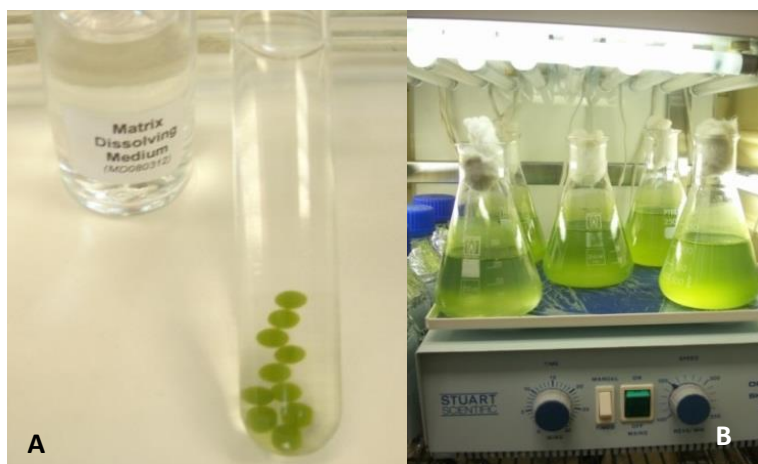


Figura 34. A) Alga inmovilizada en una matriz algal (algal Toxkit). B) Cultivo madre del alga sobre agitador orbital

El medio de cultivo utilizado en la desinmovilización del alga, en el cultivo madre y en los ensayos de toxicidad ha sido el medio BBM (Bold's Basal Medium; Tabla 2), específico para clorofíceas que cumple los requisitos indicados en el protocolo ISO 8692:2004. Este medio ha sido utilizado en otros ensayos de toxicidad con microplacas (Ramos *et al.*, 1996; Paixao *et al.*, 2007).

Tabla 2. Composición del medio nutritivo “Bold’s Basal Medium” (BBM), empleado en los bioensayos.*

SOLUCIÓN A (g para 2 L de solución)	NaNO ₃	5,0
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,5
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,5
	K ₂ HPO ₄	1,5
	KH ₂ PO ₄	3,5
	NaCl	0,5
SOLUCIÓN B (g para 1 L de solución)	NaFe EDTA	5,0
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,18
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,01
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,022
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,01
	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0,0064
SOLUCIÓN C (g para 1 L de solución)	Tiamina	0,20
	Biotina	0,01
	B ₁₂	0,01

*Para reconstituir un litro de medio BBM, se toman 100 mL de la solución Bristol, 2 mL de la solución B y 2 mL de la solución C, ajustando el volumen final con agua ultrapura 1L.

Siguiendo el protocolo, todas las muestras a ensayar se ajustaron a un pH comprendido entre 7,0 y 8,0, añadiendo NaOH (1M) o HCl (1M).

Los ensayos de toxicidad con *P. subcapitata* se realizaron en microplacas de 96 pocillos transparentes, de fondo plano (Costar, Corning Inc., New York, USA; Figura 15). Cada ensayo consta de ocho réplicas del control negativo (medio de cultivo y algas), ocho réplicas de cada dilución (muestra, medio de cultivo y algas) y ocho blancos (medio de cultivo).



Figura 45. Microplacas de 96 pocillos transparentes de fondo plano (Costar, Corning Inc., New York, USA) con algas en crecimiento.

Las concentraciones ensayadas de los compuestos puros de los ácidos vanílico, siríngico, sinápico y protocatecuico, han sido 2000, 3000, 2000 y 600 mg/L, respectivamente. Las diluciones ensayadas de las muestras contaminadas con los ocho compuestos han sido 1:1,25, 1:2, 1:3, 1:4, 1:6, 1:8, 1:12, 1:16 y 1:24, tanto para las muestras sin tratar (0 min) como para las tratadas durante diferentes tiempos (5, 10, 20, 60, 120, 180 y 210 min). Las microplacas se llenan utilizando el módulo inyector automático del lector de placas Tecan Infinite M200, siendo el volumen final de ensayo de 300 µL/pocillo.

Cada pocillo, excepto los blancos, han sido inoculados con el alga, a una concentración inicial de 10⁴ células/mL. Una vez terminado el llenado de la placa se introducen, individualmente, en una

bolsa de plástico transparente que se sella y se satura con CO₂; las microplacas de ensayo se incuban en la cámara climatizada LMS, a 24 ± 1°C, bajo iluminación continua (6000-10000 lux) y en agitación orbital (120 rpm.).

El crecimiento del alga se determina, con el lector de placas Tecan Infinite M200, a través de la medida de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila, a 430 nm and 663 nm como longitudes de onda de excitación y emisión, respectivamente, cada 24 horas, hasta un total de 72 horas de incubación.

Una vez obtenidos los datos de fluorescencia, se transforman en valores de concentración celular (Nº células/mL) a partir de una curva de calibrado obtenida previamente (Tabla 3). Para obtener esta curva de calibrado, se preparan las diluciones 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 de un cultivo de algas en fase exponencial de crecimiento. A continuación, se llenan manualmente dos microplacas con las diluciones preparadas, mediante pipeta multicanal (300 µL/pocillo) y se mide la fluorescencia a las longitudes de onda de excitación y emisión de 430 y 663 nm, respectivamente. Además, se realiza un recuento del número de células de cada dilución con la cámara cuenta glóbulos Neubauer utilizando el microscopio óptico (40X), para poder realizar, finalmente, la curva de calibrado representando fluorescencia vs concentración celular.

Tabla 3. Ecuación de regresión lineal correspondiente a la curva de calibrado de *P. subcapitata*

Alga	Ecuación de regresión	R ²
<i>P. subcapitata</i>	Y = 129,27x+6971,7	0,99

Y = nº celulas/mL

X = Valores de fluorecencia de las diluciones seriadas del cultivo madre de *P. subcapitata*.

R² : coeficiente de determinacion (p < 0.005).

En cada ensayo de toxicidad, los valores de concentración celular obtenidos para cada dilución (muestra y control) y tiempo de ensayo, se utilizan para calcular las curvas de crecimiento y los porcentajes de inhibición del desarrollo del alga. El efecto de las muestras de ensayo sobre el desarrollo del alga se determina por el método de comparación de áreas bajo las curvas de crecimiento, según la fórmula:

$$A = \frac{N_1 - N_0}{2} \times t_1 + \frac{N_1 + N_2 - 2N_0}{2} \times (t_2 - t_1) + \frac{N_{(n-1)} + N_n - 2N_0}{2} \times (t_n - t_{(n-1)})$$

Donde,

A es el area bajo la curva de crecimiento

N₀ es el nº de celulas/mL nominal a un tiempo t₀

N₁ es el nº de celulas/mL medidas a un tiempo t₁

N_n es el nº de celulas/mL medidas a un tiempo t_n

t₁ es el tiempo de la primera tras el comienzo dell ensayo

t_n es el tiempo de la medida enésima tras el comienzo del ensayo

El porcentaje de inhibición del crecimiento del alga para cada dilución de la muestra de ensayo (I_A) se calcula como la diferencia entre el área bajo la curva de crecimiento del control (A_c) y el área bajo la curva de crecimiento de la dilución (A_t) según la fórmula:

$$I_A = \frac{A_C - A_t}{A_C} \times 100$$

3.4.2.- Ensayo de toxicidad con *Eisenia fetida*

La evaluación de la toxicidad crónica de las muestras de agua contaminada sobre la lombriz *Eisenia fetida* se ha realizado de acuerdo a la normativa UNE-ISO 11268-2. El objetivo del ensayo es determinar el efecto de sustancias potencialmente tóxicas en la reproducción, mortalidad y crecimiento de las lombrices, por exposición dérmica y alimentaria, utilizando un sustrato de suelo artificial.

Los organismos utilizados en los ensayos de toxicidad han sido lombrices adultas de la especie *Eisenia fetida*, entre dos meses y un año de edad, con clitelo y una masa húmeda entre 300 mg a 600 mg. Las lombrices se aclimatan en el suelo artificial durante 7 días antes de usarlas en el ensayo.

El sustrato artificial se ha preparado de acuerdo a la normativa ISO; los componentes de este sustrato son turba *Sphagnum* (10%), arcilla caolinítica (20%) y arena de cuarzo (70%). Las lombrices han sido alimentadas semanalmente a lo largo del ensayo con harina de avena (0,5-1%), que se mezcla con el sustrato.

3.4.2.1.- Ensayo preliminar con *Eisenia fetida*

En primer lugar se ha realizado un ensayo preliminar de toxicidad crónica, para determinar la dilución que no produce mortalidad en las lombrices y utilizarla en el ensayo definitivo. Para ello, se han ensayado dos diluciones por muestra contaminada, 1:1 y 1:2. Los recipientes utilizados han sido botes de plástico de 100 mL de capacidad. A cada recipiente se añade el sustrato artificial (50 g), la muestra (40%) y dos lombrices. Además, el ensayo consta de dos controles que se preparan de la misma forma, pero en este caso se utiliza agua destilada (40%) que se mezcla con el sustrato.

Cada recipiente se precinta con film transparente perforado con pequeños agujeros, con el fin de evitar que las lombrices se escapen, permitir el intercambio gaseoso y mantener la humedad adecuada. Los recipientes se introducen en la cámara climatizada a una temperatura constante de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ y con luz continua (400-800 Lux) para favorecer el enterramiento de los gusanos durante los 28 días de ensayo.

3.4.2.2.- Ensayo crónico con *Eisenia fetida*

Una vez terminado el ensayo preliminar, y establecida la dilución adecuada de cada muestra se prepara el ensayo definitivo. Para la realización de este ensayo se han utilizado recipientes de 15 cm de diámetro y 7cm de altura (Figura 16), con una capacidad de 500 ml.

En primer lugar, se pesa el sustrato artificial (500 g) de acuerdo a la Norma ISO 11268-2. Para cada muestra contaminada se preparan tres réplicas. La muestra (40%) se mezcla con el sustrato y con la harina de avena, en una bandeja de plástico, amasando correctamente hasta conseguir una mezcla homogénea. Además, el ensayo consta de cinco controles que se preparan de la misma forma, pero en este caso se utiliza agua destilada (40%) que se mezcla con el sustrato.

A continuación, se escogen las lombrices con clitelo que se lavan con agua del grifo y se secan cuidadosamente; se pesan en grupos de 10 y cada grupo se introduce en un recipiente.

Por último, se tapan los recipientes con film transparente perforado con pequeños agujeros, con el fin de evitar que las lombrices se escapen, permitir el intercambio gaseoso y mantener la

humedad adecuada. El film se sella con una goma elástica. Los recipientes se introducen en la cámara climatizada a una temperatura constante de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ y con luz continua (400-800 Lux) para favorecer el enterramiento de los gusanos durante los 28 días de ensayo.

Semanalmente, hasta la finalización del ensayo, se extraen los gusanos, se cuentan, se lavan, se secan y se pesan. A continuación, se mezcla de nuevo el sustrato en la bandeja de plástico con el alimento y se añade una pequeña cantidad de agua destilada para compensar la pérdida por evaporación (5%). Se introducen de nuevo las lombrices en los recipientes correspondientes que se llevan a la incubadora.

El día 28 de ensayo, se sigue el mismo procedimiento, pero además se cuentan los huevos en cada cristalizador, con el fin de evaluar el efecto de cada muestra sobre la reproducción de *Eisenia fetida*.



Figura 16. Cristalizador de laboratorio con el sustrato artificial.

3.5.- Análisis estadístico de los resultados de los ensayos de toxicidad

Los datos obtenidos en los ensayos con *P. subcapitata* y *Eisenia fetida*, se analizan mediante análisis ANOVA para determinar diferencias significativas entre los distintos niveles de concentración o dilución de cada muestra estudiada y los controles. En los casos que ha sido posible, se calculan los valores NOEC (máxima concentración o dilución ensayada sin efecto observable) y EC_{50} (concentración o dilución que produce un 50% de efecto).

Para la realización del análisis estadístico se han utilizado los programas Statgraphics Plus (v. 5.1) y SPSS (v. 16.0).

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se exponen los resultados obtenidos en los bioensayos después de haber realizado los análisis estadísticos de los datos. Se exponen los resultados del ensayo agudo del alga *P. subcapitata* con los compuestos puros y con las muestras de agua tratadas mediante fotocátalisis y los resultados del ensayo crónico del gusano *Eisenia fetida*, sólo, con las muestras de agua tratadas.

4.1.- Ensayo de toxicidad con *P. subcapitata*

4.1.1.- Ensayo con los productos puros

En la Tabla 4 se muestran las concentraciones de cada compuesto estudiado y en las Tablas 5 a 8, los datos de inhibición del crecimiento de *P. subcapitata* expuesta a las diferentes concentraciones de los compuestos, obtenidos en los ensayos de toxicidad.

Tabla 4. Concentraciones de los compuestos derivados de la industria del corcho utilizadas en los ensayos de toxicidad.

Concentraciones (mg/L)			
Ácido sinápico	Ácido siríngico	Ácido vanílico	Ácido protocatecuico
500	2400	1600	37,5
333,3	1500	1000	25
250	1000	666,7	18,8
166,7	750	500	12,5
125	500	333,3	9,4
83,3	375	250	6,3
62,5	250	166,7	4,7
41,7	187,5	125	3,1
31,3	125	83,3	2,3
20,8	93,8	62,5	1,6
15,6	62,5	41,7	--
10,4	--	31,3	--
--	--	20,8	--

En las Tablas siguientes (5-8) se muestran los valores medios del porcentaje de la inhibición del crecimiento del alga *P. subcapitata*, para cada concentración de los productos puros (ácido sinápico, siríngico, vanílico, protocatecuico). Además, junto con el valor del porcentaje de inhibición se presenta el valor RSD que es la desviación estándar relativa. El análisis ANOVA de la variable dependiente, % de inhibición del crecimiento, con respecto al factor concentración de cada compuesto muestra que existen diferencias significativas en la respuesta del alga para cada uno de los compuestos estudiados ($p < 0,05$) (Anexo 7.1.2; 7.2.2; 7.3.2; 7.4.2). Para determinar las medias que son diferentes de forma significativa, se ha realizado un Test de Rango Múltiple.

Tabla 5. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de ácido sinápico, a las 72 horas de ensayo.

Concentración (mg/L)	Inhibición del crecimiento (%)*
500,0	100,3 ± 0,03 ^j
333,3	97,0 ± 0,3 ⁱ
250,0	94,5 ± 0,4 ^h
166,7	82,9 ± 0,7 ^e
125,0	70,5 ± 1,5 ^f
83,3	42,5 ± 1,5 ^e
62,5	24,7 ± 1,5 ^d
41,7	13,8 ± 2,0 ^c
31,3	6,1 ± 2,0 ^b
20,8	2,3 ± 1,2 ^a
15,6	2,2 ± 1,1 ^a
10,4	0,93 ± 0,53 ^a

*: media de ocho réplicas ± RSD (Desviación Estándar Relativa).

Los superíndices en la columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 6. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de ácido siríngeo, a las 72 horas de ensayo.

Concentración (mg/L)	Inhibición del crecimiento (%)*
2400,0	88,3 ± 1,3 ^k
1500,0	79,7 ± 1,6 ^j
1000,0	73,4 ± 2,1 ⁱ
750,0	73,0 ± 1,7 ^h
500,0	59,8 ± 2,9 ^e
375,0	53,2 ± 1,9 ^f
250,0	36,0 ± 4,0 ^e
187,5	23,1 ± 3,2 ^d
125,0	6,8 ± 1,7 ^c
93,8	2,6 ± 1,3 ^b
62,5	0,87 ± 0,87 ^a

*: media de ocho réplicas ± RSD (Desviación Estándar Relativa).

Los superíndices en la columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 7. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de ácido vanílico, a las 72 horas de ensayo

Concentración (mg/L)	Inhibición del crecimiento (%)*
1600	91,3 ± 2,1 ^k
1000	76,8 ± 2,6 ^j
666,7	71,5 ± 3,2 ⁱ
500	54,0 ± 2,3 ^{hi}
333,3	59,3 ± 2,2 ^g
250	63,7 ± 0,6 ^h
166,7	52,0 ± 1,7 ^f
125	48,3 ± 1,8 ^e
83,3	35,7 ± 1,4 ^d
62,5	19,4 ± 2,6 ^c
41,7	9,7 ± 1,9 ^b
31,3	6,0 ± 2,0 ^a
20,8	4,5 ± 1,8 ^a

*: media de ocho réplicas ± RSD (Desviación Estándar Relativa).

Los superíndices en la columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 8. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de ácido protocatecuico, a las 72 horas de ensayo.

Concentración (mg/L)	Inhibición del crecimiento (%)*
37,5	101,1 ± 0,0 ^j
25	92,9 ± 0,6 ⁱ
18,8	78,9 ± 1,0 ^h
12,5	67,4 ± 1,7 ^g
9,4	47,1 ± 3,0 ^f
6,3	29,8 ± 1,4 ^e
4,7	22,8 ± 2,1 ^d
3,1	9,3 ± 1,9 ^c
2,3	8,9 ± 2,3 ^b
1,6	3,8 ± 1,5 ^a

*: media de ocho réplicas ± RSD (Desviación Estándar Relativa).

Los superíndices en la columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Como podemos observar en las Tablas 5 a 8, los resultados del análisis ANOVA muestran que existen diferencias significativas excepto para las concentraciones 20,8; 15,6 y 10,4 mg/L del ácido sinápico, con unos valores de inhibición del crecimiento de 2,3; 2,2 y 0,93%, respectivamente y para las concentraciones 31,3 y 20,8 mg/L del ácido vanílico, con unos valores de inhibición del crecimiento de 6,0 y 4,5%, respectivamente.

También destaca el mayor efecto del ácido protocatecuico sobre el crecimiento del alga, con respecto a los otros compuestos, ya que una concentración de 37,5 mg/L produce una inhibición del crecimiento de 101,1%, mientras que se necesitan concentraciones mucho mayores de los otros compuestos, 500 mg/L de ácido sinápico, 1600 mg/L de ácido vanílico y 2400 mg/L de ácido síringico para producir una inhibición del crecimiento próxima al 100,0%. Asumimos que una concentración

de 62,5 mg/L del ácido protocatecuico produce la máxima inhibición sobre el crecimiento del alga; mientras que, esta misma concentración produce una inhibición del crecimiento similar para el ácido sinápico y el ácido vanílico, de 24,7 y 19,4%, respectivamente; en cambio, para el ácido siríntrico, dicha concentración produce una inhibición despreciable, del 0,87%.

En la Figura 17 se muestra la evolución de la inhibición del crecimiento de *P. subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de los compuestos puros. En dicha figura se observa un mayor efecto del ácido protocatecuico sobre el crecimiento del alga, seguido por el ácido sinápico. El compuesto que menor efecto ha tenido es el ácido siríntrico.

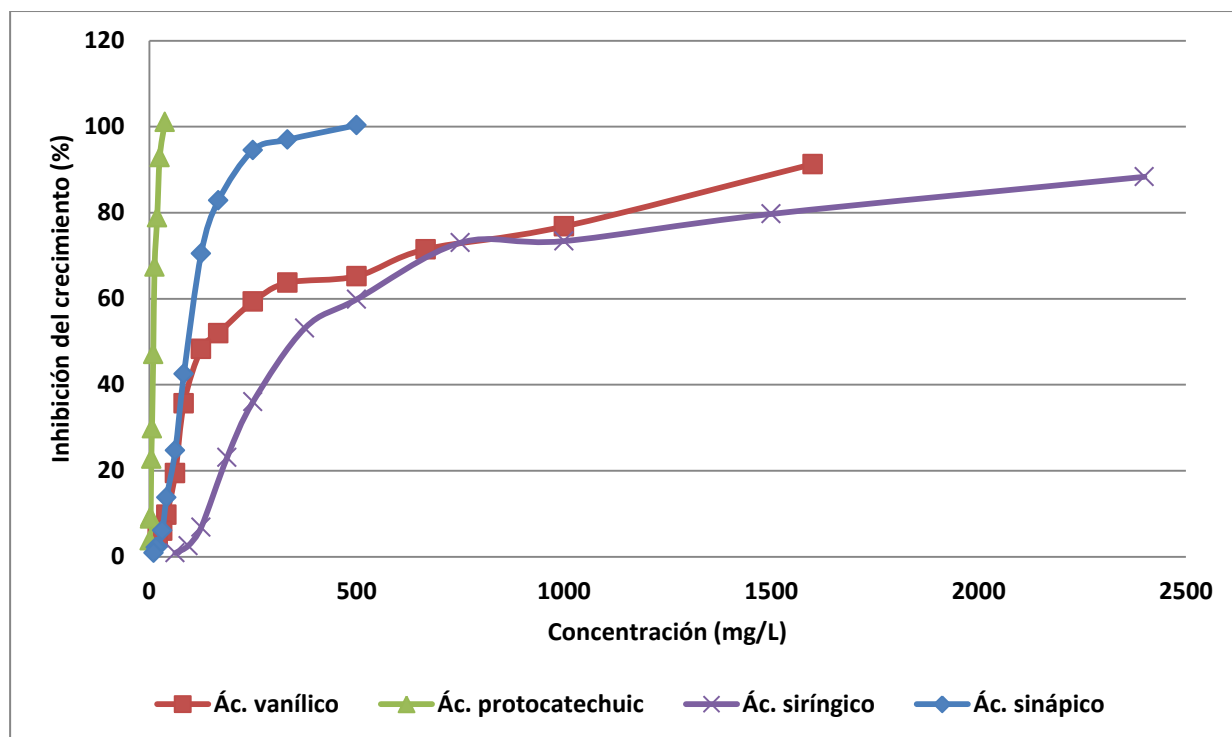


Figura 17. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de los cuatro compuestos estudiados.

La concentración más alta que no muestra diferencias significativas con respecto al control (valor NOEC), para cada compuesto, calculada mediante análisis ANOVA (Anexo 7.1.1; 7.2.1; 7.3.1; 7.4.1), y los valores EC_{50} , con sus límites de confianza al 95%, calculados mediante análisis Probit (Anexo 7.1.3; 7.2.3; 7.3.3; 7.4.3), se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores NOEC y EC_{50} de los cuatros compuestos estudiados.

Compuesto	NOEC (mg/L)	EC_{50} (mg/L)
Ácido sinápico	20,8	90,6 (85,5-96,0)
Ácido siríntrico	62,5	475,4 (456,1-495,7)
Ácido vanílico	31,3	214,7 (196,7-234,5)
Ácido protocatecuico	1,6	9,0 (8,6-9,3)

Los valores NOEC nos indican un mayor grado de toxicidad sobre el alga del ácido protocatecuico, mientras que el ácido siríntrico presenta un menor grado de toxicidad. Con respecto

a los valores EC_{50} , la toxicidad de los cuatro compuestos sería: ácido protocatecuico > ácido sinápico > ácido vanílico > ácido siríngico.

Los resultados obtenidos en este trabajo en los ensayos con los compuestos puros muestran un mayor efecto sobre el alga del ácido protocatecuico. En un trabajo realizado por el Grupo AQUAFOTOX (Grupo AOP; 2013) para estudiar el efecto de cuatro compuestos puros derivados también de la industria del corcho sobre el alga *P. subcapitata* determinaron el 2,4-dinitrofenol como el más tóxico de los cuatro (Figura 21). Los valores NOEC de estos mismos compuestos indican un mayor grado de toxicidad del 2,4-dinitrofenol (NOEC < 0,4 mg/L), mientras que el ácido gálico presenta un menor grado de toxicidad (NOEC = 20,8 mg/L). Con respecto a los valores EC_{50} , la toxicidad de los cuatro compuestos, es dinitrofenol > ácido tánico > ácido elágico > ácido gálico.

Algunos estudios indican que el ácido protocatecuico es uno de los ácidos benzoicos que producen mayores efectos adversos en los medios acuáticos, con un valor NOEC de 34,87 mg/L para un rango de concentraciones de 34,9-1116 mg/L (Lee *et al.*, 2008). Otros autores afirman que los compuestos benzoicos con grupos adicionales metoxilo, como el vanílico o siríngico, tienen niveles de toxicidad similares a los demás ácidos benzoicos, pero sus efectos tóxicos en especies como *Daphnia magna* son mayores. Por otra parte, sugieren que los ácidos benzoicos como el protocatecuico, mejoran la toxicidad si se produce la sustitución orto-hidroxilo. Además, todos los derivados dihidroxi muestran una mayor toxicidad que los ácidos benzoicos no hidroxilo y mono-hidroxilo (Kamaya *et al.*, 2004).

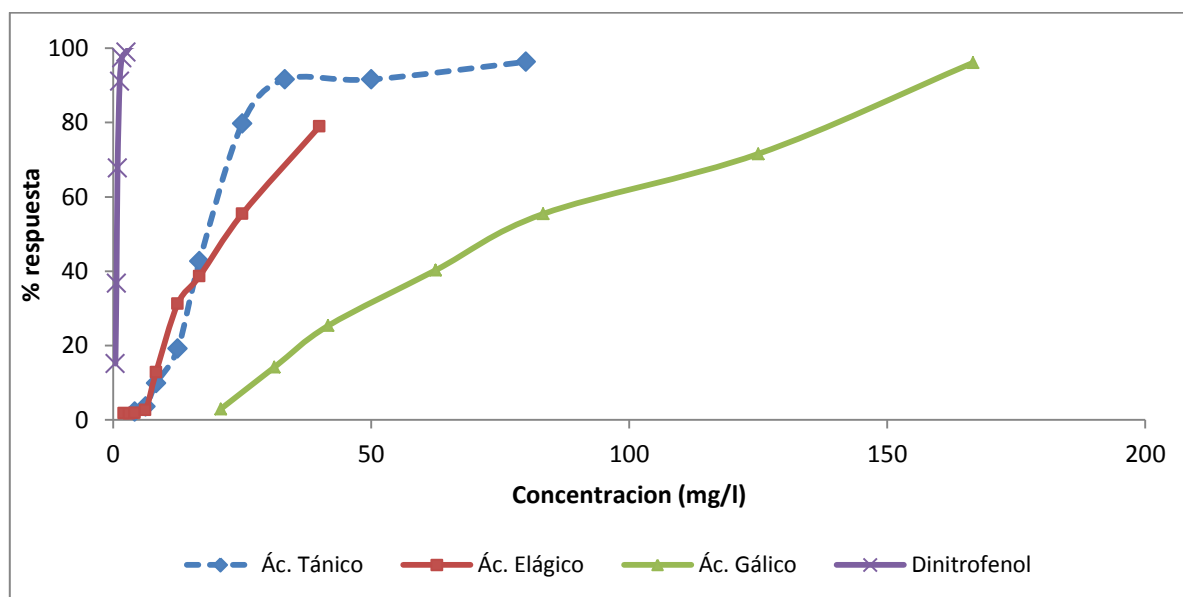


Figura 18. Curvas Concentración (mg/L) vs. % respuesta del 2,4-dinitrofenol y los ácidos, tánico, elágico y gálico.

Otros estudios realizados por Kamaya *et al.* (2006) con el alga unicelular *P.subcapitata*, determinan el efecto sobre ésta de un ácido benzoico similar a los estudiados en este trabajo. Una concentración de 3600 mg/L de ácido 4-hidroxibenzoico produce una inhibición del crecimiento del alga del 100%. En nuestro trabajo, para unas concentraciones similares también se llega a una inhibición del crecimiento del 100%.

4.1.2.- Ensayo de las muestras tratadas con el proceso foto-Fenton.

En la tabla 10 se presentan los valores medios del porcentaje de la inhibición del crecimiento del alga *P. subcapitata* de las muestras tratadas a diferentes tiempos. También se presentan los valores RSD que son una medida de la variabilidad de las réplicas. El análisis ANOVA de la variable dependiente % de inhibición del crecimiento con respecto al factor dilución, muestra que hay diferencias significativas en la respuesta del alga ($p < 0,05$). Para determinar las medias que tienen diferencias significativas, se ha realizado un Test de Rango Múltiple para cada tiempo de tratamiento (Anexo 7.5).

Tabla 10. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a las soluciones acuosas contaminadas, tratadas mediante foto-Fenton, a diferentes tiempos.

INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO (%)*								
Dilución	Tiempo de tratamiento							
	0 min	5 min	10 min	20 min	60 min	120 min	180 min	210 min
1:24	0,63±0,42 ^a	0,11±0,11 ^a	0,27±0,20 ^a	0,76±0,74 ^a	0,29±0,19 ^a	0,25±0,25 ^a	0,24±0,16 ^a	1,4±0,9 ^{ab}
1:16	0,63±0,38 ^a	0,54±0,42 ^a	0,63±0,63 ^a	0,86±0,45 ^a	0,84±0,61 ^a	0,48±0,48 ^a	2,1±1,3 ^a	2,2±0,8 ^{abc}
1:12	0,75±0,30 ^a	0,00±0,00 ^a	0,17±0,17 ^a	1,2±1,2 ^a	0,56±0,38 ^a	1,2±0,8 ^a	0,73±0,61 ^a	0,99±0,46 ^a
1:8	2,5±0,8 ^a	0,10±0,10 ^a	0,00±0,00 ^a	1,9±0,9 ^a	1,3±1,1 ^a	0,52±0,52 ^a	0,96±0,68 ^a	0,65±0,42 ^a
1:6	8,2±1,1 ^b	0,07±0,07 ^a	0,00±0,00 ^a	1,8±0,7 ^a	0,50±0,38 ^a	1,7±1,1 ^a	0,50±0,34 ^a	1,7±0,7 ^{ab}
1:4	17,0±1,1 ^c	0,00±0,00 ^a	0,40±0,40 ^a	1,1±0,4 ^a	0,78±0,52 ^a	0,26±0,26 ^a	0,72±0,49 ^a	4,8±1,4 ^{cd}
1:3	29,2±1,1 ^d	0,68±0,68 ^a	0,00±0,00 ^a	1,6±0,4 ^a	0,91±0,52 ^a	2,3±0,5 ^a	0,98±0,51 ^a	4,0±1,3 ^{bcd}
1:2	43,4±1,1 ^e	0,49±0,49 ^a	0,99±0,66 ^a	10,3±0,7 ^b	1,9±0,9 ^a	7,9±1,3 ^b	9,1±1,1 ^b	5,6±1,3 ^d
1:1,25	71,3±1,3 ^f	4,2±0,7 ^b	12,5±1,4 ^b	27,3±2,0 ^c	15,6±1,8 ^b	21,4±1,2 ^c	21,9±1,6 ^c	13,6±1,4 ^e

*: media de ocho réplicas ± RSD.

Los superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En esta tabla se puede observar que la muestra no tratada (tiempo 0 min) es la que produce una mayor inhibición del crecimiento del alga, con un porcentaje del 71,3%, para la dilución 1:1,25, con respecto a las muestras tratadas con unos porcentajes de inhibición del crecimiento que oscilan entre 4,2 y 27,3%, para la misma dilución. La inhibición del crecimiento del alga, para la muestra no tratada, disminuye de forma progresiva a medida que aumenta la dilución, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las diluciones 1:8 a 1:24, con unos porcentajes de inhibición entre 2,5 y 0,63%.

La dilución 1:1,25 es la que produce mayor efecto sobre el alga. Para esta dilución, se observa un aumento de la inhibición del crecimiento en la muestra tratada durante 20 min, con un porcentaje del 27,3%. Este aumento de la inhibición podría ser debido a la aparición de compuestos intermedios, que pueden ser más tóxicos que los compuestos de los cuales proceden, como consecuencia de las reacciones de fotocatalisis.

La Figura 18 muestra la evolución de la inhibición del crecimiento de *P.subcapitata* expuesta a diferentes diluciones de la muestra no tratada. Esta evolución de la disminución del crecimiento corresponde a un modelo logarítmico con una ecuación de regresión de $-33\ln(x)+67,225$ ($R^2=0,9709$).

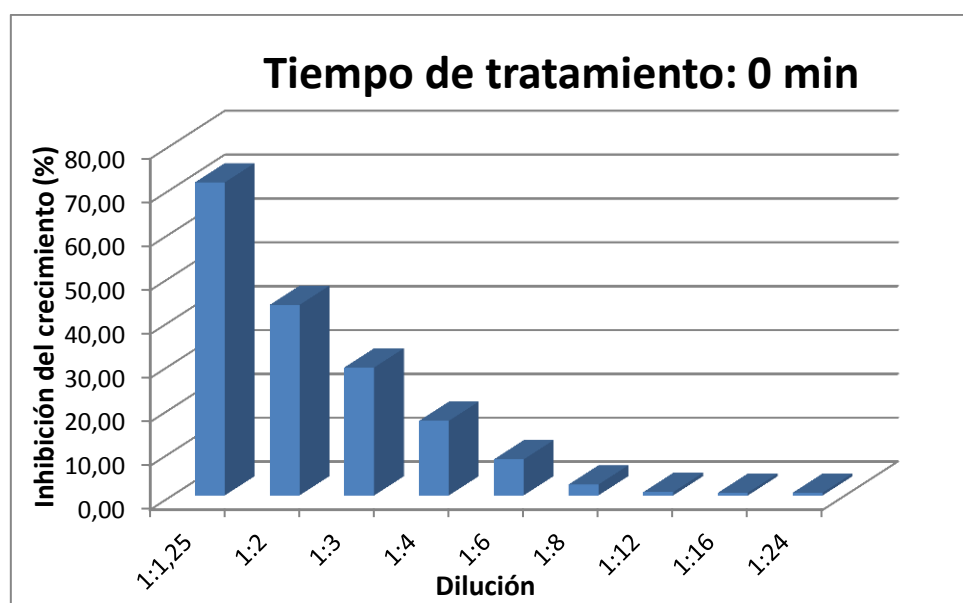


Figura 19. Porcentajes de inhibición del crecimiento de *P.subcapitata* expuesta a diferentes diluciones de la muestra no tratada.

Para calcular los valores LID de las muestras tratadas a diferentes tiempos, se ha realizado un análisis ANOVA (Anexo 8.5.3). Los valores LID, para los diferentes tiempos de tratamiento se muestran en Tabla 11. Los valores MID de las soluciones tratadas a diferentes tiempos, con un intervalo de confianza al 95%, se han calculado mediante análisis Probit (Anexo 8.5.2). En este caso, solo ha sido posible calcular el valor MID de la muestra inicial (tiempo 0 min), ya que los valores de inhibición del crecimiento de las demás muestras no llegaron al 50%. El valor MID para la muestra no tratada ha sido 1:1,8 (1:2-1:1,7).

Tabla 11. Valores LID de las muestras tratadas a diferentes tiempos.

Tiempo de tratamiento	Valores LID
0min	1:8
5min	1:2
10min	1:2
20min	1:3
60min	1:3
120min	1:3
180min	1:3
210min	1:3

Los valores LID muestran una reducción del grado de toxicidad de la muestra no tratada con respecto a las muestras tratadas, siendo dicha muestra la que presenta mayor toxicidad, tal como indica su valor MID de 1:1,8.

En este trabajo se ha observado que la muestra no tratada es la que produce un mayor efecto sobre el alga *P.subcapitata*. Otros estudios realizados con soluciones acuosas contaminadas con otros compuestos derivados de la industria del corcho y tratadas a diferentes tiempos mediante el POA ozonización muestran que el 2,4-dinitrofenol produce una disminución del efecto sobre el alga a 120 minutos; el efecto sobre el alga del ácido tánico disminuye de forma progresiva conforme avanza el tiempo de tratamiento. A diferencia de estos compuestos, para el ácido elágico y gálico, el tratamiento no reduce su toxicidad (Grupo AOP, 2013; Figura 12).

Este mismo Grupo AOP obtuvo los valores MID y LID de las muestras tratadas a diferentes tiempos. Los valores MID indican que las muestras con 2,4-dinitrofenol no tratadas son más tóxicas que las muestras tratadas (1:24). A partir de estos datos se determina que el compuesto más tóxico es el 2,4-dinitrofenol.

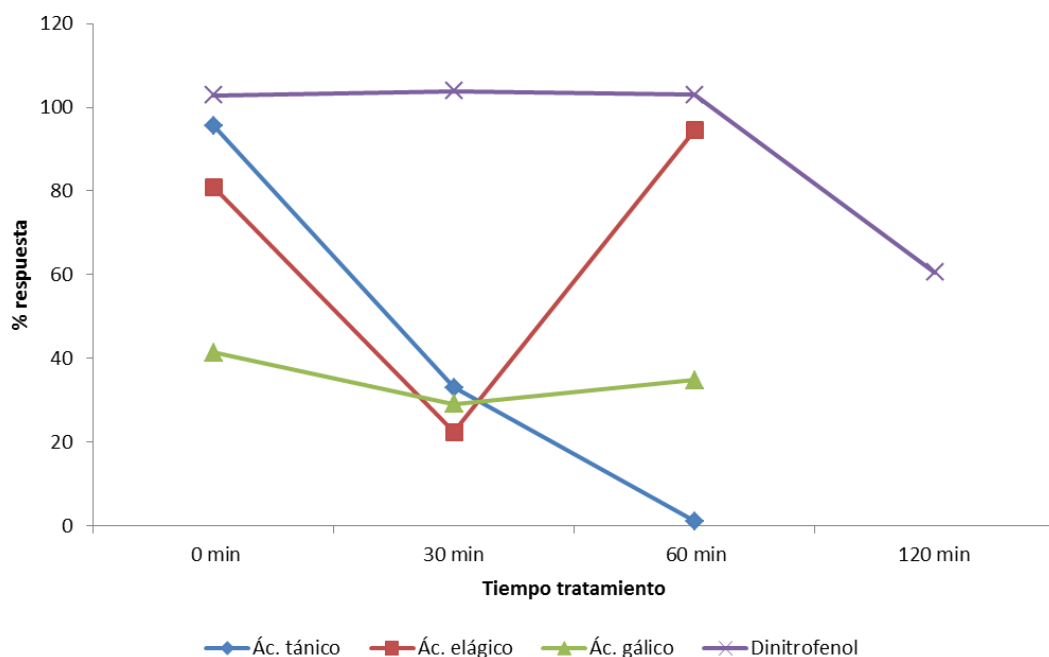


Figura 20. Tiempo de tratamiento vs. % de respuesta del alga *P.subcapitata*, para cada compuesto.

En la búsqueda bibliográfica realizada no se ha encontrado información relativa al efecto de los compuestos derivados del corcho en soluciones acuosas tratadas mediante procesos de oxidación avanzada, sobre algas; por lo tanto, este trabajo aporta información novedosa del efecto del tratamiento foto-Fenton sobre *P.subcapitata*.

4.2.- Ensayo de toxicidad con *Eisenia fetida*

A continuación se exponen los resultados obtenidos en los bioensayos después de haber realizado los análisis estadísticos de los datos. Se exponen los resultados del ensayo preliminar de la

lombriz *Eisenia fetida* y los resultados del ensayo crónico con las muestras de agua tratadas mediante fotocátalisis.

4.2.1.- Ensayo preliminar con *Eisenia fetida*.

Al finalizar el ensayo preliminar se ha observado una supervivencia de las lombrices, prácticamente, del 100%, para las dos diluciones estudiadas. A lo largo del ensayo sólo han muerto 6 lombrices sobre un total de 36, debido a causas ajenas a la muestra, como la pérdida de humedad del sustrato. Las diluciones ensayadas no han tenido ningún efecto sobre la mortalidad de las lombrices con respecto a los controles. Por lo tanto, se ha elegido la dilución mayor, 1:1, para la realización del ensayo crónico.

4.2.2.- Ensayo crónico con *Eisenia fetida*.

En la Tabla 13 se presentan los valores medios del peso (g) de las lombrices, expuestas a las muestras tratadas a diferentes tiempos, para cada día de ensayo. También se presentan los valores RSD que son una medida de la variabilidad de las réplicas. El análisis ANOVA de la variable dependiente *Pesos de las lombrices* con respecto al factor *tiempo de tratamiento*, para cada día de ensayo, muestra que hay diferencias significativas en el peso ($p < 0,05$). Para determinar las medias que tienen diferencias significativas, se ha realizado un Test de Rango Múltiple para cada tiempo de tratamiento (Anexo 7.6.1).

En la Tabla 14 se muestran los porcentajes de variación del peso de las lombrices expuestas a las muestras tratadas a diferentes tiempos, para cada día de ensayo.

Tabla 12. Evolución del peso (g) de las lombrices expuestas a las muestras tratadas, a lo largo del ensayo.

Tiempo	Tiempo de ensayo				
	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
0min	4,2±0,1 ^{ab}	4,4±0,1 ^a	5,4±0,1 ^{ab}	6,1±0,2 ^{abc}	6,9±0,3 ^{ab}
5min	4,3±0,2 ^{ab}	4,9±0,3 ^{ab}	5,9±0,6 ^{abc}	6,4±0,6 ^{abc}	7,1±0,7 ^{ab}
10min	4,2±0,3 ^{ab}	4,6±0,5 ^{ab}	5,2±0,6 ^{ab}	5,7±0,6 ^{ab}	6,7±0,4 ^{ab}
20min	4,4±0,0 ^b	5,4±0,1 ^b	6,7±0,4 ^c	7,3±0,5 ^c	7,7±0,6 ^b
60min	4,1±0,4 ^{ab}	4,7±0,5 ^{ab}	5,9±0,5 ^{abc}	6,5±0,4 ^{abc}	7,0±0,5 ^{ab}
120min	4,6±0,1 ^b	5,4±0,1 ^b	6,3±0,2 ^{bc}	6,8±0,1 ^{bc}	7,3±0,1 ^{ab}
180min	4,3±0,1 ^{ab}	4,9±0,1 ^{ab}	5,4±0,4 ^{ab}	5,8±0,6 ^{ab}	6,7±0,5 ^{ab}
210min	3,8±0,3 ^a	4,1±0,5 ^a	5,0±0,5 ^a	5,4±0,6 ^a	6,0±0,5 ^a
Control	3,8±0,2 ^a	4,6±0,1 ^{ab}	5,9±0,1 ^{abc}	6,5±0,3 ^{abc}	7,3±0,3 ^b

Media de tres réplicas ± RSD (Desviación Estándar Relativa), expresadas en gramos
Los superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 13. Variación del peso de las lombrices (%) respecto al control, a lo largo del ensayo.

Tiempo de tratamiento	VARIACIÓN DEL PESO (%) RESPECTO AL CONTROL				
	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
0min	+10,1	-5,4	-8,8	-6,4	-5,6
5min	+12,0	+5,8	+0,8	-1,8	-2,4
10min	+8,6	-0,7	-11,1	-12,9	-8,3
20min	+16,3	+15,9	+13,3	+12,3	+6,0
60min	+6,9	+2,2	-0,3	-0,5	-4,0
120min	+20,6	+15,6	+7,8	+5,2	-0,1
180min	+12,0	+5,1	-8,2	-10,5	-8,1
210min	-1,3	-12,2	-15,4	-16,4	-17,1

El peso de las lombrices expuestas a las muestras tratadas durante 20 y 120 min presenta diferencias significativas con respecto al peso de las lombrices control, a los 0 y 7 días de ensayo. A partir del día 14 no hay diferencias significativas de estas dos muestras con respecto al control. La muestra tratada durante 210 min no presenta diferencias significativas, a lo largo de los primeros 21 días de ensayo.

En la Tabla 14 se observa que el aumento de peso ha sido mayor, generalmente, en las lombrices expuestas a las muestras de 20 y 120 min. El día 28, sólo, las lombrices de la muestra de 20 min aumentaron de peso.

Se ha realizado un análisis de regresión con los datos del peso de los gusanos de la Tabla 13. Los resultados se muestran en la Figura X y en la Tabla X. La mayor pendiente (0,1255) corresponde al control, seguida de la muestra de 20 min (0,121), lo que confirma los resultados obtenidos en el análisis ANOVA. Las lombrices expuestas a la muestra de 180 min experimentaron el menor incremento de peso (0,0823).

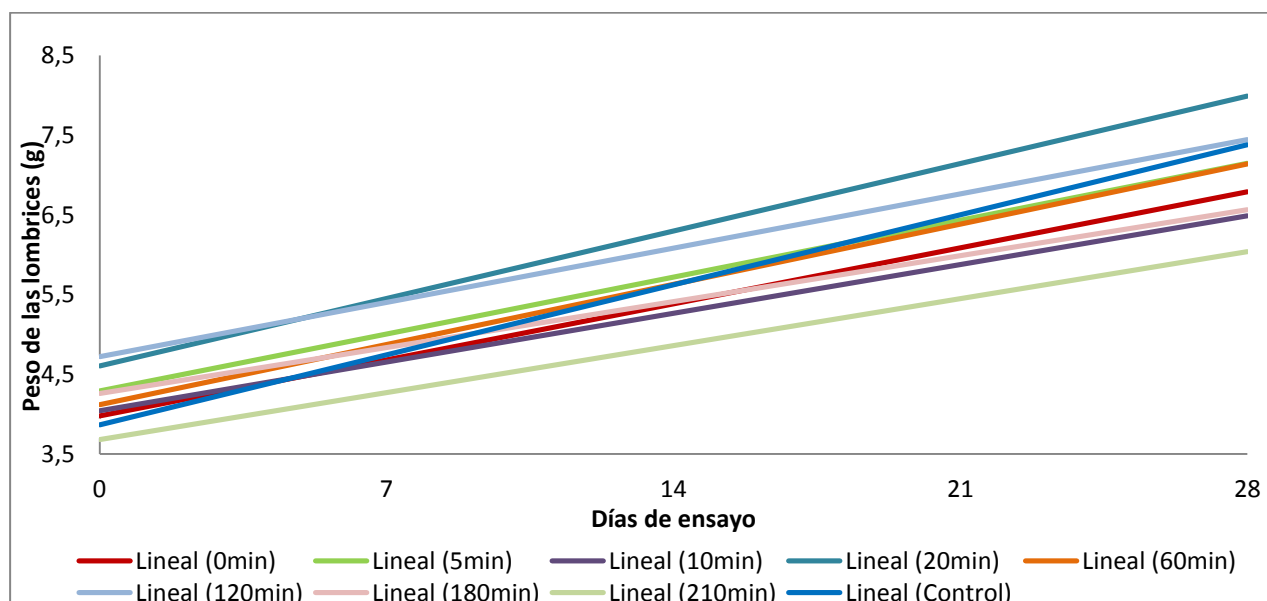


Figura 21. Análisis de regresión del Tiempo de ensayo (días) vs. Peso de las lombrices (g).

Tabla 14. Análisis de regresión del tiempo de ensayo con respecto al peso de las lombrices, para cada tiempo de tratamiento.

Muestra	Modelo	Ecuación regresión	R2
0min	Lineal	0,1004x+3,9773	0,97
5min	Lineal	0,102x+4,2927	0,99
10min	Lineal	0,0874x+4,0413	0,97
20min	Lineal	0,121x+4,606	0,96
60min	Lineal	0,1078x+4,12	0,98
120min	Lineal	0,0972x+4,722	0,98
180min	Lineal	0,0823x+4,26	0,98
210min	Lineal	0,0842x+3,6787	0,98
Control	Lineal	0,1255x+3,8668	0,99

En la Tabla 15 y en la Figura 20 se exponen los resultados del efecto de las muestras sobre la reproducción de *Eisenia fétida*. El análisis ANOVA de la variable dependiente *huevos* con respecto al factor *tiempo de tratamiento*, muestra que hay diferencias significativas ($p < 0,05$). Para determinar las medias que tienen diferencias significativas, se ha realizado un Test de Rango Múltiple para el día 28 de ensayo (Anexo 7.6.3).

Tabla 15. Media del número de huevos de las lombrices a los 28 días de ensayo, para cada tiempo de tratamiento.

Tiempo de tratamiento	Número de huevos
0min	15,7±1,9 ^b
5min	17,0±1,5 ^{bc}
10min	17,0±1,2 ^{bc}
20min	11,0±0,6 ^a
60min	20,0±1,5 ^{cd}
120min	23,0±1,5 ^d
180min	21,0±0,6 ^d
210min	16,7±1,2 ^{bc}
Control	17,0±0,5 ^{bc}

Media de tres réplicas (cinco réplicas para el control)± RSD (Desviación Estándar Relativa).
Los superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

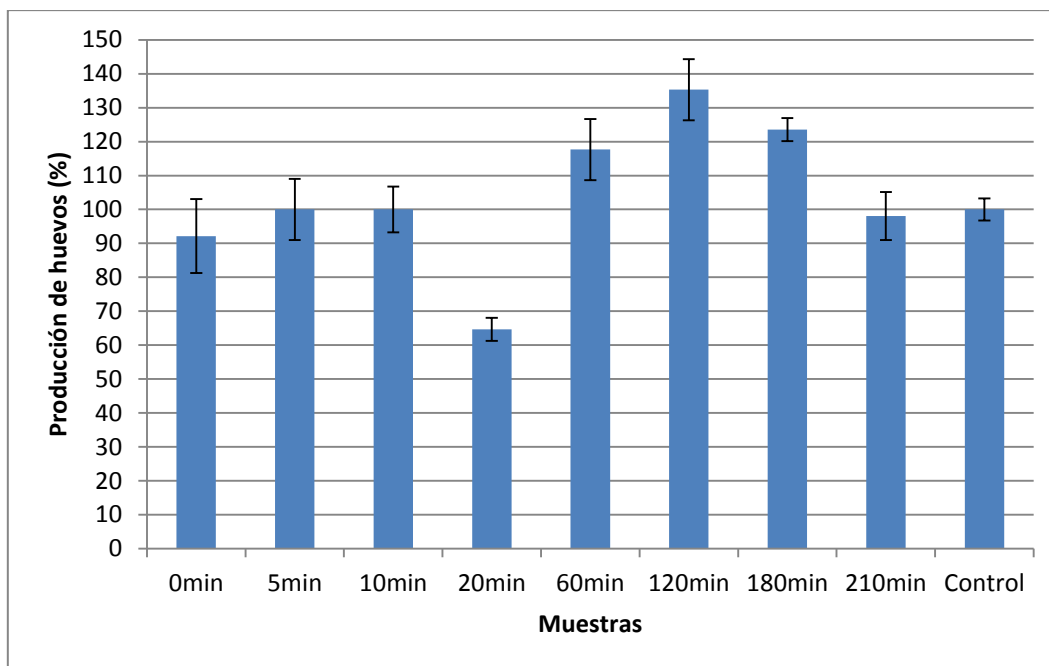


Figura 22. Media del porcentaje del número de huevos para cada tiempo de tratamiento \pm RSD.

El análisis ANOVA muestra diferencias significativas en el número de huevos de la muestra de 20, 120 y 180 min, con respecto al control. Las demás muestras no presentan diferencias significativas respecto al control.

Los resultados obtenidos en el ensayo crónico con *E. fetida* muestran un efecto del tiempo de tratamiento de las muestras sobre los pesos y la reproducción de las lombrices. Este efecto se observa, principalmente en algunas de las muestras intermedias, como son las muestras tratadas durante 20, 120 y 180 min. Esto parece indicar que durante el tratamiento foto-Fenton se forman compuestos diferentes a los iniciales que pueden tener un mayor o menor efecto sobre el peso y la reproducción, estimulando o inhibiendo estos parámetros. La muestra tratada durante 20 min tiene un efecto significativo sobre el peso y la reproducción de las lombrices, estimulando en el primer caso e inhibiendo en el segundo. En el caso de las lombrices expuestas a las muestras de 120 y 180 min se estimula de forma significativa la producción de huevos. Por otra parte, la muestra tratada a 210 minutos produce un efecto similar en las lombrices, con un peso y una producción de huevos que no difieren del control.

En la búsqueda bibliográfica realizada no se ha encontrado información relativa al efecto de los compuestos derivados del corcho en soluciones acuosas tratadas mediante procesos de oxidación avanzada, sobre lombrices de tierra; por lo tanto, este trabajo aporta información novedosa del efecto del tratamiento foto-Fenton sobre *E. fetida*.

Estudios realizados con otros compuestos como el hexahidro-1-nitroso-3,5-dinitro-1, 3,5-triazine (MNX) y hexahidro-1,3,5-trinitroso-1,3,5-triazine (TNX), afectan a la reproducción de *E. fetida* inhibiendo la producción de huevos, y sugieren un efecto negativo en ecosistemas terrestres de sitios contaminados (Zhang *et al.*, 2008).

Por otra parte, se ha determinado que los metales pesados afectan de forma negativa al peso y la mortalidad de las lombrices (Domínguez *et al.*, 2011). También se ha evaluado el efecto del cadmio, relacionado con la concentración de malondialdehído (MDA), indicando una relación negativa con el peso y el porcentaje de huevos producidos (Žaltauskaitė *et al.*, 2014).

Las aguas residuales procedentes de la industria del corcho se caracterizan por contener polifenoles; es por ello, que se han realizado estudios que evalúan el efecto de polifenoles en especies terrestres como la lombriz *E.fetida*. Algunos autores afirman que la presencia de lombrices y poca producción de huevos en algunos tratamientos, podría indicar el efecto antireproductivo de los polifenoles sobre *E.fetida*, teniendo como referencia que las lombrices, en condiciones óptimas, son capaces de producir más de dos huevos por semana (Cova *et al.*, 2007).

5.- CONCLUSIONES

De los cuatro compuestos puros estudiados, el que presenta mayor grado de toxicidad frente a *P. subcapitata* es el ácido protocatecuico, con un valor EC_{50} de 9,0 mg/L y, el que presenta menor grado de toxicidad es el ácido siríngico, con un valor EC_{50} de 475,4 mg/L.

De los resultados obtenidos en este trabajo y en trabajos similares con algunos compuestos derivados de la industria del corcho se concluye que, el 2,4-dinitrofenol y el ácido protocatecuico son los más tóxicos para el alga *P. subcapitata*.

De las muestras tratadas a diferentes tiempos, la muestra no tratada es la que produce mayor efecto sobre *P. subcapitata*, con una inhibición del crecimiento del 71,3% y un valor MID próximo a la dilución 1:2.

Los resultados obtenidos en el ensayo crónico con *E. fetida* muestran un efecto significativo del tiempo de tratamiento de las muestras sobre los pesos y la reproducción de las lombrices. Esto indica que, durante el tratamiento foto-Fenton, se forman compuestos diferentes a los iniciales, que pueden tener un mayor o menor efecto sobre el peso y la reproducción, estimulando o inhibiendo estos parámetros.

La especie *P. subcapitata* es más sensible a la muestra sin tratar (0 min), mientras que, *E. fetida* es más sensible a los subproductos que se originan durante el tratamiento, ya que la muestra sin tratar no presenta diferencias significativas con respecto al control, para esta especie. Esto demuestra la importancia de seleccionar especies pertenecientes a diferentes niveles tróficos en estudios de toxicidad.

En los bioensayos con las muestras tratadas a diferentes tiempos, se observa un ligero aumento del grado de toxicidad a ciertos tiempos intermedios que indican la formación, durante el tratamiento, de subproductos más tóxicos que los compuestos parentales. Esta toxicidad detectada disminuye cuando se prolonga el tiempo de tratamiento.

Según los resultados obtenidos, el tiempo de tratamiento foto-Fenton (210 min) es suficiente para la completa detoxificación de las muestras contaminadas. Esto demuestra la eficacia del tratamiento que permitiría la reutilización de las aguas, así como la implantación de estos procesos en plantas de tratamiento.

6.- BIBLIOGRAFÍA

Aruoja, V.; *“Algae Pseudokirchneriella Subcapitata in environmental hazard evaluation of chemicals and synthetic nanoparticles”*; Laboratory of Molecular Genetics, National Institute of Chemical Physics and Biophysics; Estonian University of Life Science; Tartu 2011.

Balaji, C.; Muthukumar, J.; Nalini, N.; *“Chemopreventive effect of sinapic acid on 1,2-dimethylhydrazine-induced experimental rat colon carcinogenesis”*; Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Science, Annamalai University, Annamalai Nagar, Tamil Nadu, India; February 14, 2014, doi: 10.1177/0960327114522501. <http://het.sagepub.com/content/early/2014/02/14/0960327114522501.abstract>

Caballero, H. S.; Garza, J. V.; *“El corcho. Un material irremplazable”*; Investigación y ciencia-Universidad Autónoma de Aguascalientes; ISSN: 1665-4412, Número 28, páginas 48-51; Centro de Investigación en Química Aplicada, Centro de Información, Saltillo, Coahuila, México.

Consolider tragua; Ministerio de Ciencia e Innovación; *“Tecnologías de tratamiento de aguas para su reutilización”*; ISBN 978-84-695-3985-9.

Cova, L. J.; García, D. E.; Castro, A. R.; Medina, M. G.; *“Efecto perjudicial de Moringa oleifera (Lam.) combinada con otros desechos agrícolas como sustratos para la lombriz roja (Eisenia spp.)”*; Interciencia; Vol. 32, Nº 11; Noviembre 2007

Cruz-Atonio, F. V.; Saucedo-Pompa, S.; Martínez-Vázquez, G.; Aguilera, A.; Rodríguez, R.; Aguilar, C. N.; *“Propiedades químicas e industriales del ácido elálgico”*; © AQM 2009 Revista de Divulgación Científica; Publicación de la Coordinación de Estudios de Postgrado e Investigación y la Facultad de Ciencias Químicas; Universidad Autónoma de Coahuila; Enero – Junio 2010. <http://www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%203/AQM3propiedades.html>

Díaz-Báez, M. C.; Bustos López, M. C.; Espinosa Ramírez, A. J.; *“Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos”*; Colección textos; Universidad Nacional de Colombia; Facultad de Ingeniería; Departamento de Ingeniería Civil; 2004.

Domènech, X.; Jardim, W. F.; Litter, M. I.; *“Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes”*; 2012

Domínguez-Crespo, M. A.; Sánchez-Hernández, Z. E.; Torres-Huerta, A. M.; Negrete-Rodríguez, M. X.; Conde-Barajas, E.; Flores-Vela, A.; *“Effect of the Heavy Metals Cu, Ni, Cd and Zn on the Growth and Reproduction of Epigeic Earthworms (E. fetida) during the Vermistabilization of Municipal Sewage Sludge”*; Water, Air, & Soil Pollution; Volume 223, Issue 2, pp 915-931; February 2012

Eisenia fetida; Copyright Template Design © 2007 Travel Portal; http://bioweb.uwlax.edu/bio203/2010/yard_jose/

Estaciones Depuradoras, S.A.; C/ Gaztambide nº 32, 28015 – Madrid; www.estacionesdepuradoras.com

“Estudio de las necesidades para la diversificación económica del corcho en los mercados”; FSE; Generalitat de Catalunya, Departament d’Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural; Madrid; *DEPÓSITO LEGAL. M-37879-2012.*

Ferrari, B.; Ferard, J. F.; *“Use of a battery of bioassays to classify hazardous wastes and evaluate their impact in the aquatic environment”*; University of Geneva, Switzerland; Natural Environmental Science; Vol. 50, 57-68; ISBN 2-940153-49-3; 2005

Forrer, H. R.; Musa, T.; Schwab, F.; Jenny, E.; Bucheli, T. D.; Wettstein, F. E.; Vogelgsang, S.; *“Fusarium Head Blight Control and Prevention of Mycotoxin Contamination in Wheat with Botanicals and Tannic Acid”*; toxins; ISSN 2072-6651; Agroscope, Institute for Sustainability Sciences, Reckenholzstrasse 191, 8046 Zurich, Switzerland; 26 February 2014.

Gemini, V.; Correa, E.; Gallego, A.; Korol, S.; “Degradación microbiana de 2,4-dinitrofenol en efluentes líquidos: efecto de factores bióticos y abióticos”; Higiene y Sanidad Ambiental, 8: 320-324; 2008

Grupo POA. Proyecto AQUAFOTOX: Desarrollo de nuevas estrategias basadas en la integración de procesos fotoquímicos solares con otras técnicas avanzadas para el tratamiento aguas residuales complejas (CTQ 2012-38754-C03-02), 2013.

Human Metabolome Database; “Showing metabocard for Syringic acid”; HMDB02085; The Metabolomics Innovation Centre (TMIC); <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB02085>

Kakkar, S.; Bais, S.; “ A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential”; Department of pharmacology, Rayat Institute of Pharmacy, Railmajra, District S.B.S. Nagar, Punjab 144533, India; Published 26 March 2014.

Kamaya, Y.; Tsuboi, S.; Takada, T.; Suzuki, K.; “Growth Stimulation and Inhibition Effects of 4-Hydroxybenzoic Acid and Some Related Compounds on the Freshwater Green Alga *Pseudokirchneriella subcapitata*”; Environmental Contamination and toxicology; November 2006

Lavado, F. S.; “Tratamientos combinados físico-químicos y de oxidación para la depuración de aguas residuales de la industria corchera”; Departamento de Ingeniería Química y Química Física, Universidad de Extremadura; 2007.

LMS Cooled Incubators; Series 1^a, 2, 3 & 4; Programmable Instruction Manual

Páliz, K. P.; “Optimización de la auto-biorremediación de aguas residuales procedentes de la industria del corcho”; Departamento de microbiología y parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla; Septiembre 2012.

Pereira, H.; “Corck: Biology, Production and Uses: Biology, Production and Uses”; Elsevier; Radarweg 29, PO Box 211, 1000 AE Amsterdam, the Netherlands; First edition 2007; ISBN-13: 978-0-444-52967-1

Proyecto AQUAFOTOX Grupo AOP, 17-18 Diciembre 2013

***Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) F.Hindák;** WoRMS (World Register of Marine Species); 1990; <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=578373>

Post Apple Scientific Inc.; “Tannic Acid”; Copyright © 2009 by Gordon Post; <http://tannicacid.info/>

Reactivos química Meyer; “Ácido tánico”; Química Suastes, S.A. de C.V.; C.P. 13270, México, Distrito Federal, Revisión 30 de noviembre de 2007.

Redacción de Espesores; “Corcho, el corazón del alcornoque”; la veu del Botànic; Revista de divulgación científica del Jardín Botànic de la Universidad de Valencia; Valencia; 20 Julio 2012. http://www.espores.org/index.php?option=com_k2&view=item&id=106:suro-el-%E2%80%9Ccor%E2%80%9D-de-la-surera&Itemid=5&lang=es,

Remacha, A.; *Tecnología del corcho*; Ed.Visión Libros; 2008

Santibañez, A. E. M.; “Proceso Fenton y foto-Fenton para la remoción de fenoles de efluentes generados en una planta de celulosa kraft”; Viçosa, Minas Gerais; Brasil 2011.

Tratamiento de aguas residuales, capítulo 4

Yáñez, D. S. C.; “Obtención de extracto tánico y extracto gálico a partir de la harina de vaina de guarango a escala de laboratorio”; Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Riobamba, Ecuador, 2012.

Yeast Metabolome Database; Metabolites; YMDB01802; “Vanillic acid”; Canadian Institutes of Health Research; <http://www.ymdb.ca/compounds/YMDB01802>

Yoon, B. H.; Jung, J.W.; Lee, J. J.; Cho, Y. W.; Jang C. G.; Jin, C.; Oh T. H.; Ryu, J.H.; “Anxiolytic-like effects os sinapic acid in mice”; ScienceDirect; Life Science 81 (2007) 234-240.

Žaltauskaitė, J.; Sodienė, I.; “*Effects of cadmium and lead on the life-cycle parameters of juvenile earthworm Eisenia fetida*”; *Ecotoxicology and environmental Safety*; Volume 103, Pages 9-16, May 2014

Zhang, B.; Cox, S. B.; McMurry, S. T.; Jackson, W. A.; Cobb, G. P.; Anderson, T. A.; “*Effect of two major N-nitroso hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) metabolites on earthworm reproductive success*”; *Environmental Pollution*, Volume 153, Issue 3, Pages 658–667, June 2008.

Zhou, X.; Wu, F.; “*Artificially applied vanillic acid changed soil microbial communities in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.)*”; Department of Horticulture, Northeast Agricultural University, Mucai 59, Xiangfang, Harbin 150030, P.R. China. 26 September 2012.

Zhou, X.G.; Wu, F.Z.; Xiang, W.S.; “*Syringic acid inhibited cucumber seedling growth and changed rhizosphere microbial communities*”; *Plant Soil Environ.*; Vol. 60, 2014, No. 4: 158-164; Northeast Agricultural University, Harbin, P.R. China; Accepted on March 10, 2014.

7.- ANEXOS

7.1.- Ensayo de toxicidad con *P. subcapitata* y ácido sinápico.

7.1.1.- Determinación del valor NOEC

ANOVA Simple - ResSinápico según ConcSinápico

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResSinápico
Factor: ConcSinápico

Número de observaciones: 104
Número de niveles: 13

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResSinápico. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResSinápico para los 13 diferentes niveles de ConcSinápico. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

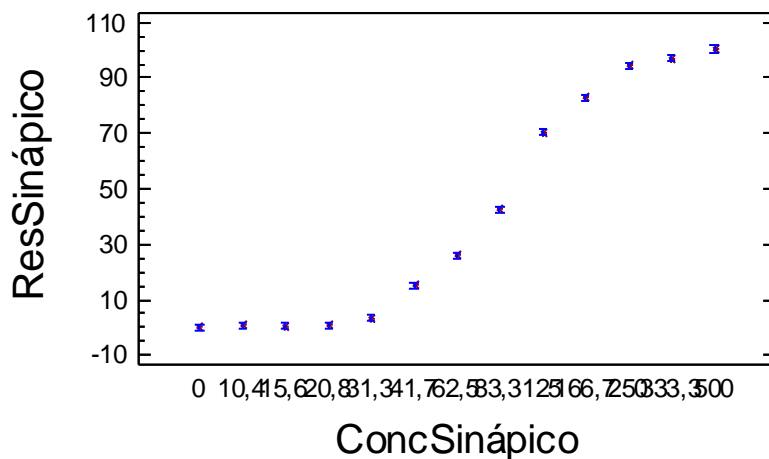


Tabla ANOVA para ResSinápico según ConcSinápico

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	167833,0	12	13986,0	2555,09	0,0000
Intra grupos	498,116	91	5,4738		
Total (Corr.)	168331,0	103			

Contraste Múltiple de Rango para ResSinápico según ConcSinápico

Método: 95,0 porcentaje LSD

ConcSinápico	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	8	0,0	X
15,6	8	0,5	X
20,8	8	0,82875	X
10,4	8	0,93125	X
31,3	8	3,53375	X
41,7	8	15,2787	X
62,5	8	25,9488	X
83,3	8	42,485	X
125	8	70,4975	X
166,7	8	82,8738	X
250	8	94,5288	X
333,3	8	96,9737	X
500	8	100,354	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10,4	-0,93125	2,32368
0 - 15,6	-0,5	2,32368
0 - 20,8	-0,82875	2,32368
0 - 31,3	*-3,53375	2,32368
0 - 41,7	*-15,2787	2,32368
0 - 62,5	*-25,9488	2,32368
0 - 83,3	*-42,485	2,32368
0 - 125	*-70,4975	2,32368
0 - 166,7	*-82,8738	2,32368
0 - 250	*-94,5288	2,32368
0 - 333,3	*-96,9737	2,32368
0 - 500	*-100,354	2,32368
10,4 - 15,6	0,43125	2,32368
10,4 - 20,8	0,1025	2,32368
10,4 - 31,3	*-2,6025	2,32368
10,4 - 41,7	*-14,3475	2,32368
10,4 - 62,5	*-25,0175	2,32368
10,4 - 83,3	*-41,5538	2,32368
10,4 - 125	*-69,5662	2,32368
10,4 - 166,7	*-81,9425	2,32368
10,4 - 250	*-93,5975	2,32368
10,4 - 333,3	*-96,0425	2,32368
10,4 - 500	*-99,4225	2,32368
15,6 - 20,8	-0,32875	2,32368
15,6 - 31,3	*-3,03375	2,32368
15,6 - 41,7	*-14,7787	2,32368
15,6 - 62,5	*-25,4488	2,32368
15,6 - 83,3	*-41,985	2,32368
15,6 - 125	*-69,9975	2,32368
15,6 - 166,7	*-82,3738	2,32368
15,6 - 250	*-94,0288	2,32368
15,6 - 333,3	*-96,4737	2,32368
15,6 - 500	*-99,8538	2,32368
20,8 - 31,3	*-2,705	2,32368
20,8 - 41,7	*-14,45	2,32368
20,8 - 62,5	*-25,12	2,32368
20,8 - 83,3	*-41,6563	2,32368
20,8 - 125	*-69,6688	2,32368
20,8 - 166,7	*-82,045	2,32368
20,8 - 250	*-93,7	2,32368
20,8 - 333,3	*-96,145	2,32368
20,8 - 500	*-99,525	2,32368
31,3 - 41,7	*-11,745	2,32368
31,3 - 62,5	*-22,415	2,32368
31,3 - 83,3	*-38,9513	2,32368
31,3 - 125	*-66,9638	2,32368
31,3 - 166,7	*-79,34	2,32368
31,3 - 250	*-90,995	2,32368
31,3 - 333,3	*-93,44	2,32368
31,3 - 500	*-96,82	2,32368
41,7 - 62,5	*-10,67	2,32368
41,7 - 83,3	*-27,2063	2,32368
41,7 - 125	*-55,2188	2,32368
41,7 - 166,7	*-67,595	2,32368
41,7 - 250	*-79,25	2,32368
41,7 - 333,3	*-81,695	2,32368
41,7 - 500	*-85,075	2,32368

62,5 - 83,3	*-16,5362	2,32368
62,5 - 125	*-44,5487	2,32368
62,5 - 166,7	*-56,925	2,32368
62,5 - 250	*-68,58	2,32368
62,5 - 333,3	*-71,025	2,32368
62,5 - 500	*-74,405	2,32368
83,3 - 125	*-28,0125	2,32368
83,3 - 166,7	*-40,3888	2,32368
83,3 - 250	*-52,0438	2,32368
83,3 - 333,3	*-54,4887	2,32368
83,3 - 500	*-57,8688	2,32368
125 - 166,7	*-12,3762	2,32368
125 - 250	*-24,0313	2,32368
125 - 333,3	*-26,4762	2,32368
125 - 500	*-29,8563	2,32368
166,7 - 250	*-11,655	2,32368
166,7 - 333,3	*-14,1	2,32368
166,7 - 500	*-17,48	2,32368
250 - 333,3	*-2,445	2,32368
250 - 500	*-5,825	2,32368
333,3 - 500	*-3,38	2,32368

* indica una diferencia significativa.

7.1.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido sinápico (mg/L).

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResSinápico
Factor: ConcSinápico

Número de observaciones: 96
Número de niveles: 12

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResSinápico. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResSinápico para los 12 diferentes niveles de ConcSinápico. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

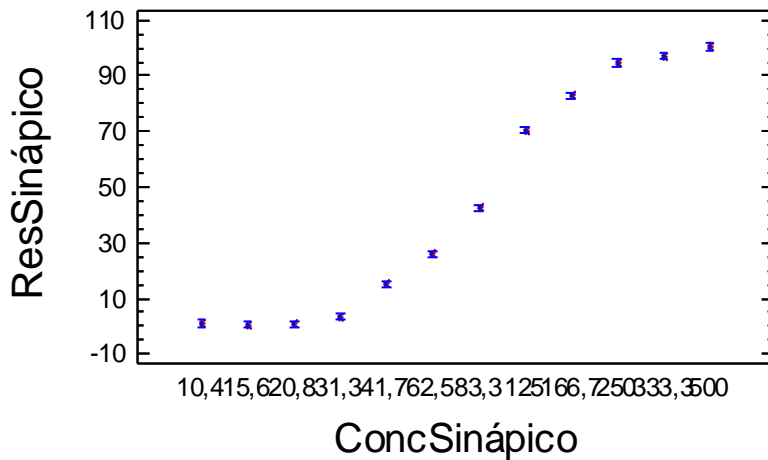


Tabla ANOVA para ResSinápico según ConcSinápico

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	153169,0	11	13924,5	2348,16	0,0000
Intra grupos	498,116	84	5,92995		
Total (Corr.)	153667,0	95			

Contraste Múltiple de Rango para ResSinápico según ConcSinápico

Método: 95,0 porcentaje LSD

ConcSinápico	Frec.	Media	Grupos homogéneos
15,6	8	0,5	X
20,8	8	0,82875	X
10,4	8	0,93125	X
31,3	8	3,53375	X
41,7	8	15,2787	X
62,5	8	25,9488	X
83,3	8	42,485	X
125	8	70,4975	X
166,7	8	82,8738	X
250	8	94,5288	X
333,3	8	96,9737	X
500	8	100,354	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
10,4 - 15,6	0,43125	2,42129
10,4 - 20,8	0,1025	2,42129
10,4 - 31,3	*-2,6025	2,42129
10,4 - 41,7	*-14,3475	2,42129
10,4 - 62,5	*-25,0175	2,42129
10,4 - 83,3	*-41,5538	2,42129
10,4 - 125	*-69,5662	2,42129
10,4 - 166,7	*-81,9425	2,42129
10,4 - 250	*-93,5975	2,42129
10,4 - 333,3	*-96,0425	2,42129
10,4 - 500	*-99,4225	2,42129
15,6 - 20,8	-0,32875	2,42129
15,6 - 31,3	*-3,03375	2,42129
15,6 - 41,7	*-14,7787	2,42129
15,6 - 62,5	*-25,4488	2,42129
15,6 - 83,3	*-41,985	2,42129
15,6 - 125	*-69,9975	2,42129
15,6 - 166,7	*-82,3738	2,42129
15,6 - 250	*-94,0288	2,42129
15,6 - 333,3	*-96,4737	2,42129
15,6 - 500	*-99,8538	2,42129

20,8 - 31,3	*-2,705	2,42129
20,8 - 41,7	*-14,45	2,42129
20,8 - 62,5	*-25,12	2,42129
20,8 - 83,3	*-41,6563	2,42129
20,8 - 125	*-69,6688	2,42129
20,8 - 166,7	*-82,045	2,42129
20,8 - 250	*-93,7	2,42129
20,8 - 333,3	*-96,145	2,42129
20,8 - 500	*-99,525	2,42129
31,3 - 41,7	*-11,745	2,42129
31,3 - 62,5	*-22,415	2,42129
31,3 - 83,3	*-38,9513	2,42129
31,3 - 125	*-66,9638	2,42129
31,3 - 166,7	*-79,34	2,42129
31,3 - 250	*-90,995	2,42129
31,3 - 333,3	*-93,44	2,42129
31,3 - 500	*-96,82	2,42129
41,7 - 62,5	*-10,67	2,42129
41,7 - 83,3	*-27,2063	2,42129
41,7 - 125	*-55,2188	2,42129
41,7 - 166,7	*-67,595	2,42129
41,7 - 250	*-79,25	2,42129
41,7 - 333,3	*-81,695	2,42129
41,7 - 500	*-85,075	2,42129
62,5 - 83,3	*-16,5362	2,42129
62,5 - 125	*-44,5487	2,42129
62,5 - 166,7	*-56,925	2,42129
62,5 - 250	*-68,58	2,42129
62,5 - 333,3	*-71,025	2,42129
62,5 - 500	*-74,405	2,42129
83,3 - 125	*-28,0125	2,42129
83,3 - 166,7	*-40,3888	2,42129
83,3 - 250	*-52,0438	2,42129
83,3 - 333,3	*-54,4887	2,42129
83,3 - 500	*-57,8688	2,42129
125 - 166,7	*-12,3762	2,42129
125 - 250	*-24,0313	2,42129
125 - 333,3	*-26,4762	2,42129
125 - 500	*-29,8563	2,42129
166,7 - 250	*-11,655	2,42129
166,7 - 333,3	*-14,1	2,42129
166,7 - 500	*-17,48	2,42129
250 - 333,3	*-2,445	2,42129
250 - 500	*-5,825	2,42129
333,3 - 500	*-3,38	2,42129

 * indica una diferencia significativa.

7.1.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		88
Rechazados	Perdidos	8
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	8
Grupo control		0

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	16	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Concentración	3,449	,063	55,128	,000	3,326	3,572
Intersección	-6,750	,123	-54,877	,000	-6,873	-6,627

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^a	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	448,663	86	,000 ^b

a. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

b. Como el nivel de significación es menor que ,150, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Límites de confianza

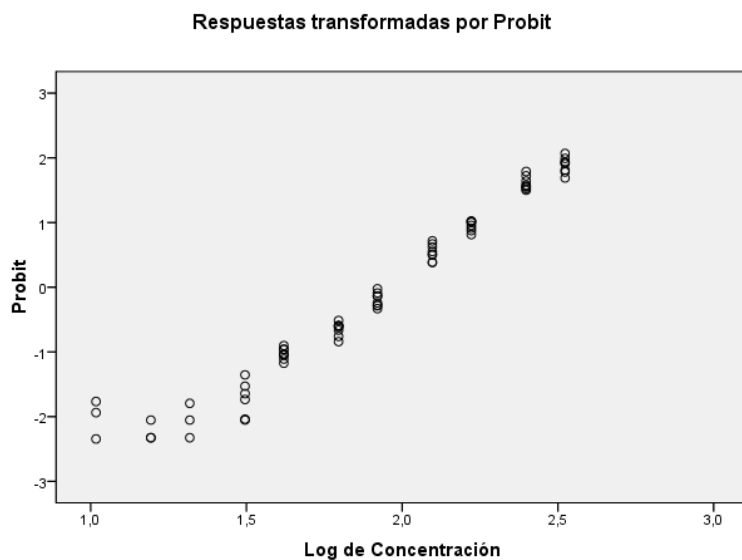
Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para $\log(\text{Concentración})^b$		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior

PROBIT ^a ,010	19,167	16,512	21,793	1,283	1,218	1,338
,020	22,993	20,103	25,824	1,362	1,303	1,412
,030	25,807	22,771	28,765	1,412	1,357	1,459
,040	28,149	25,006	31,200	1,449	1,398	1,494
,050	30,210	26,983	33,336	1,480	1,431	1,523
,060	32,083	28,786	35,271	1,506	1,459	1,547
,070	33,820	30,463	37,062	1,529	1,484	1,569
,080	35,455	32,046	38,745	1,550	1,506	1,588
,090	37,010	33,555	40,345	1,568	1,526	1,606
,100	38,503	35,005	41,877	1,585	1,544	1,622
,150	45,348	41,682	48,895	1,657	1,620	1,689
,200	51,647	47,845	55,351	1,713	1,680	1,743
,250	57,743	53,810	61,614	1,762	1,731	1,790
,300	63,829	59,750	67,894	1,805	1,776	1,832
,350	70,040	65,786	74,343	1,845	1,818	1,871
,400	76,491	72,017	81,093	1,884	1,857	1,909
,450	83,297	78,543	88,280	1,921	1,895	1,946
,500	90,587	85,472	96,054	1,957	1,932	1,983
,550	98,514	92,935	104,598	1,993	1,968	2,020
,600	107,280	101,104	114,152	2,031	2,005	2,057
,650	117,161	110,215	125,044	2,069	2,042	2,097
,700	128,561	120,612	137,756	2,109	2,081	2,139

,750	142,111	132,834	153,046	2,153	2,123	2,185
,800	158,886	147,792	172,210	2,201	2,170	2,236
,850	180,955	167,230	197,758	2,258	2,223	2,296
,900	213,127	195,177	235,577	2,329	2,290	2,372
,910	221,720	202,574	245,777	2,346	2,307	2,391
,920	231,448	210,919	257,372	2,364	2,324	2,411
,930	242,637	220,481	270,766	2,385	2,343	2,433
,940	255,775	231,661	286,568	2,408	2,365	2,457
,950	271,629	245,088	305,738	2,434	2,389	2,485
,960	291,515	261,840	329,932	2,465	2,418	2,518
,970	317,969	283,984	362,352	2,502	2,453	2,559
,980	356,888	316,298	410,494	2,553	2,500	2,613
,990	428,124	374,751	499,823	2,632	2,574	2,699

a. Se utiliza un factor de heterogeneidad.

b. Base del logaritmo = 10.



7.2.- Ensayo de toxicidad con *P. subcapitata* y ácido siríngico.

7.2.1.- Determinación del valor NOEC

ANOVA Simple - ResSiríngico según ConSiríngico
Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResSiríngico
Factor: ConSiríngico

Número de observaciones: 96
Número de niveles: 12

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResSiríngico. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResSiríngico para los 12 diferentes niveles de ConSiríngico. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

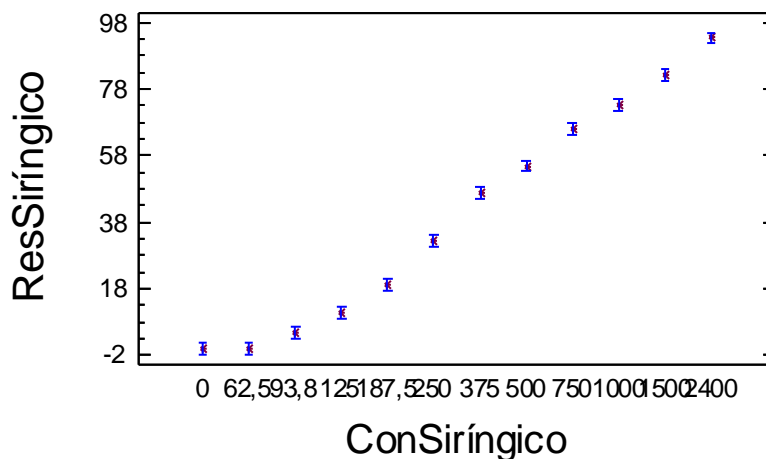


Tabla ANOVA para ResSiríngico según ConSiríngico

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	99418,5	11	9038,05	751,94	0,0000
Intra grupos	1009,65	84	12,0196		
Total (Corr.)	100428,0	95			

Contraste Múltiple de Rango para ResSiríngico según ConSiríngico

Método: 95,0 porcentaje LSD			
ConSiríngico	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	8	0,0	X
62,5	8	0,125	X

93,8	8	4,94	X
125	8	10,585	X
187,5	8	19,3375	X
250	8	32,2938	X
375	8	46,9138	X
500	8	54,8463	X
750	8	65,9013	X
1000	8	73,0138	X
1500	8	82,2163	X
2400	8	93,3513	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 62,5	-0,125	3,44719
0 - 93,8	*-4,94	3,44719
0 - 125	*-10,585	3,44719
0 - 187,5	*-19,3375	3,44719
0 - 250	*-32,2938	3,44719
0 - 375	*-46,9138	3,44719
0 - 500	*-54,8463	3,44719
0 - 750	*-65,9013	3,44719
0 - 1000	*-73,0138	3,44719
0 - 1500	*-82,2163	3,44719
0 - 2400	*-93,3513	3,44719
62,5 - 93,8	*-4,815	3,44719
62,5 - 125	*-10,46	3,44719
62,5 - 187,5	*-19,2125	3,44719
62,5 - 250	*-32,1688	3,44719
62,5 - 375	*-46,7888	3,44719
62,5 - 500	*-54,7213	3,44719
62,5 - 750	*-65,7763	3,44719
62,5 - 1000	*-72,8888	3,44719
62,5 - 1500	*-82,0913	3,44719
62,5 - 2400	*-93,2263	3,44719
93,8 - 125	*-5,645	3,44719
93,8 - 187,5	*-14,3975	3,44719
93,8 - 250	*-27,3538	3,44719
93,8 - 375	*-41,9738	3,44719
93,8 - 500	*-49,9063	3,44719
93,8 - 750	*-60,9613	3,44719
93,8 - 1000	*-68,0738	3,44719
93,8 - 1500	*-77,2763	3,44719
93,8 - 2400	*-88,4113	3,44719
125 - 187,5	*-8,7525	3,44719
125 - 250	*-21,7088	3,44719
125 - 375	*-36,3288	3,44719
125 - 500	*-44,2613	3,44719
125 - 750	*-55,3163	3,44719
125 - 1000	*-62,4288	3,44719
125 - 1500	*-71,6312	3,44719
125 - 2400	*-82,7663	3,44719
187,5 - 250	*-12,9563	3,44719
187,5 - 375	*-27,5763	3,44719
187,5 - 500	*-35,5088	3,44719
187,5 - 750	*-46,5638	3,44719
187,5 - 1000	*-53,6763	3,44719
187,5 - 1500	*-62,8788	3,44719
187,5 - 2400	*-74,0138	3,44719
250 - 375	*-14,62	3,44719
250 - 500	*-22,5525	3,44719
250 - 750	*-33,6075	3,44719
250 - 1000	*-40,72	3,44719
250 - 1500	*-49,9225	3,44719
250 - 2400	*-61,0575	3,44719
375 - 500	*-7,9325	3,44719
375 - 750	*-18,9875	3,44719
375 - 1000	*-26,1	3,44719
375 - 1500	*-35,3025	3,44719
375 - 2400	*-46,4375	3,44719
500 - 750	*-11,055	3,44719
500 - 1000	*-18,1675	3,44719
500 - 1500	*-27,37	3,44719
500 - 2400	*-38,505	3,44719
750 - 1000	*-7,1125	3,44719
750 - 1500	*-16,315	3,44719
750 - 2400	*-27,45	3,44719
1000 - 1500	*-9,2025	3,44719

1000 - 2400	*-20,3375	3,44719
1500 - 2400	*-11,135	3,44719

 * indica una diferencia significativa.

7.2.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido siríntrico (mg/L).

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResSiríntrico
 Factor: ConSiríntrico

Número de observaciones: 88
 Número de niveles: 11

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResSiríntrico. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResSiríntrico para los 11 diferentes niveles de ConSiríntrico. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

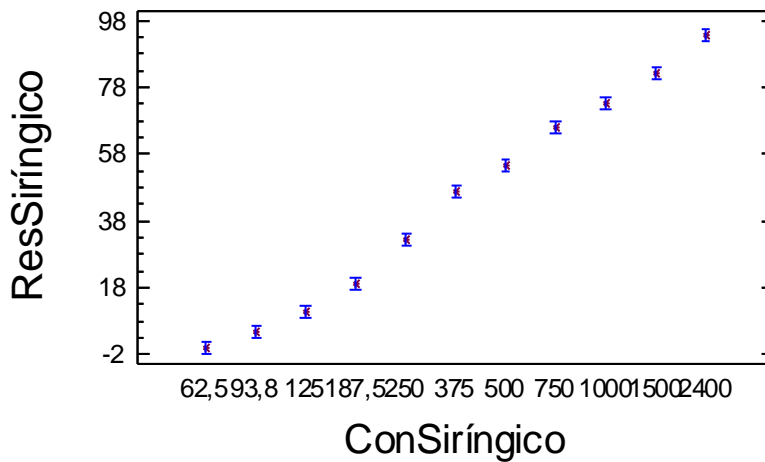


Tabla ANOVA para ResSiríntrico según ConSiríntrico

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	85249,1	10	8524,91	650,15	0,0000
Intra grupos	1009,65	77	13,1123		

Total (Corr.) 86258,7 87
 Contraste Múltiple de Rango para ResSiríntrico según ConSiríntrico

 Método: 95,0 porcentaje LSD
 ConSiríntrico Frec. Media Grupos homogéneos

62,5	8	0,125	X
93,8	8	4,94	X
125	8	10,585	X
187,5	8	19,3375	X
250	8	32,2938	X
375	8	46,9138	X
500	8	54,8462	X
750	8	65,9013	X
1000	8	73,0138	X
1500	8	82,2163	X
2400	8	93,3512	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
62,5 - 93,8	*-4,815	3,60526
62,5 - 125	*-10,46	3,60526
62,5 - 187,5	*-19,2125	3,60526
62,5 - 250	*-32,1688	3,60526
62,5 - 375	*-46,7888	3,60526
62,5 - 500	*-54,7212	3,60526
62,5 - 750	*-65,7763	3,60526
62,5 - 1000	*-72,8888	3,60526
62,5 - 1500	*-82,0913	3,60526
62,5 - 2400	*-93,2262	3,60526
93,8 - 125	*-5,645	3,60526
93,8 - 187,5	*-14,3975	3,60526
93,8 - 250	*-27,3538	3,60526
93,8 - 375	*-41,9738	3,60526
93,8 - 500	*-49,9063	3,60526
93,8 - 750	*-60,9613	3,60526
93,8 - 1000	*-68,0738	3,60526
93,8 - 1500	*-77,2763	3,60526
93,8 - 2400	*-88,4112	3,60526
125 - 187,5	*-8,7525	3,60526
125 - 250	*-21,7088	3,60526
125 - 375	*-36,3287	3,60526
125 - 500	*-44,2612	3,60526
125 - 750	*-55,3163	3,60526
125 - 1000	*-62,4288	3,60526
125 - 1500	*-71,6313	3,60526
125 - 2400	*-82,7662	3,60526
187,5 - 250	*-12,9563	3,60526
187,5 - 375	*-27,5762	3,60526
187,5 - 500	*-35,5087	3,60526
187,5 - 750	*-46,5637	3,60526
187,5 - 1000	*-53,6762	3,60526
187,5 - 1500	*-62,8787	3,60526
187,5 - 2400	*-74,0137	3,60526
250 - 375	*-14,62	3,60526
250 - 500	*-22,5525	3,60526
250 - 750	*-33,6075	3,60526
250 - 1000	*-40,72	3,60526
250 - 1500	*-49,9225	3,60526
250 - 2400	*-61,0575	3,60526
375 - 500	*-7,9325	3,60526
375 - 750	*-18,9875	3,60526
375 - 1000	*-26,1	3,60526
375 - 1500	*-35,3025	3,60526
375 - 2400	*-46,4375	3,60526
500 - 750	*-11,055	3,60526
500 - 1000	*-18,1675	3,60526
500 - 1500	*-27,37	3,60526
500 - 2400	*-38,505	3,60526
750 - 1000	*-7,1125	3,60526
750 - 1500	*-16,315	3,60526
750 - 2400	*-27,45	3,60526
1000 - 1500	*-9,2025	3,60526
1000 - 2400	*-20,3375	3,60526
1500 - 2400	*-11,135	3,60526

* indica una diferencia significativa.

7.2.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		88
Rechazados	Perdidos	16
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		0

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	12	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Concentración	2,147	,040	54,003	,000	2,069	2,225
Intersección	-5,748	,106	-54,272	,000	-5,853	-5,642

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^a	Sig.

PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	126,934	86	,003 ^b
--------	---	---------	----	-------------------

a. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

b. Como el nivel de significación es menor que ,150, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Límites de confianza

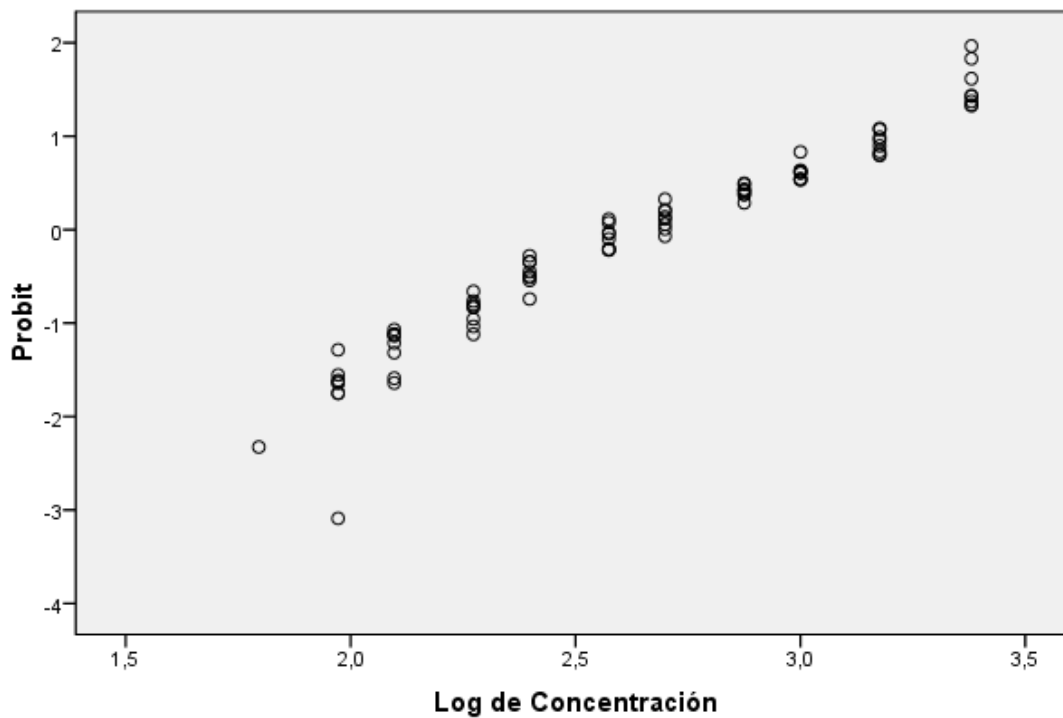
Proba bilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para log(Concentración) ^b		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a ,010	39,222	34,793	43,791	1,594	1,541	1,641
,020	52,541	47,204	57,990	1,720	1,674	1,763
,030	63,249	57,277	69,309	1,801	1,758	1,841
,040	72,720	66,241	79,266	1,862	1,821	1,899
,050	81,461	74,554	88,417	1,911	1,872	1,947
,060	89,723	82,441	97,038	1,953	1,916	1,987
,070	97,655	90,035	105,292	1,990	1,954	2,022
,080	105,350	97,423	113,281	2,023	1,989	2,054
,090	112,873	104,662	121,077	2,053	2,020	2,083
,100	120,272	111,797	128,731	2,080	2,048	2,110
,150	156,435	146,825	166,001	2,194	2,167	2,220
,200	192,785	182,206	203,324	2,285	2,261	2,308
,250	230,631	219,124	242,138	2,363	2,341	2,384
,300	270,911	258,416	283,485	2,433	2,412	2,453

,350	314,489	300,848	328,337	2,498	2,478	2,516
,400	362,306	347,244	377,762	2,559	2,541	2,577
,450	415,478	398,584	433,029	2,619	2,601	2,637
,500	475,420	456,114	495,744	2,677	2,659	2,695
,550	544,011	521,497	568,032	2,736	2,717	2,754
,600	623,850	597,053	652,823	2,795	2,776	2,815
,650	718,704	686,147	754,358	2,857	2,836	2,878
,700	834,314	793,907	879,111	2,921	2,900	2,944
,750	980,025	928,659	1037,654	2,991	2,968	3,016
,800	1172,419	1105,117	1248,831	3,069	3,043	3,097
,850	1444,844	1352,725	1550,754	3,160	3,131	3,191
,900	1879,276	1743,399	2037,756	3,274	3,241	3,309
,910	2002,470	1853,421	2176,889	3,302	3,268	3,338
,920	2145,472	1980,768	2338,895	3,332	3,297	3,369
,930	2314,526	2130,845	2531,062	3,364	3,329	3,403
,940	2519,127	2311,854	2764,508	3,401	3,364	3,442
,950	2774,642	2537,031	3057,274	3,443	3,404	3,485
,960	3108,143	2829,619	3441,262	3,493	3,452	3,537
,970	3573,564	3235,750	3980,292	3,553	3,510	3,600
,980	4301,893	3866,911	4830,194	3,634	3,587	3,684
,990	5762,740	5119,948	6554,067	3,761	3,709	3,817

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Concentración	2,147	,040	54,003	,000	2,069	2,225
Intersección	-5,748	,106	-54,272	,000	-5,853	-5,642

Respuestas transformadas por Probit



7.3.- Ensayo de toxicidad con *P. subcapitata* y ácido vanílico.

7.3.1.- Determinación del valor NOEC

ANOVA Simple - ResVanílico según ConcValínico

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResVanílico
Factor: ConcValínico

Número de observaciones: 112
Número de niveles: 14

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResVanílico. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResVanílico para los 14 diferentes niveles de ConcValínico. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

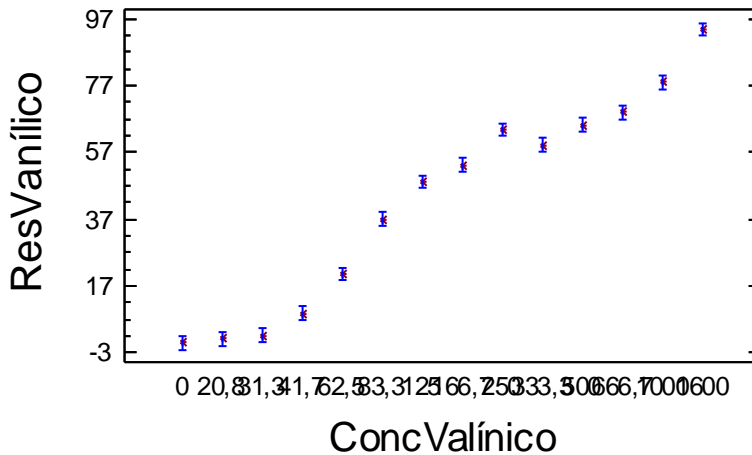


Tabla ANOVA para ResVanílico según ConcValínico

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	102187,0	13	7860,53	481,41	0,0000
Intra grupos	1600,16	98	16,3282		
Total (Corr.)	103787,0	111			

Contraste Múltiple de Rango para ResVanílico según ConcValínico

Método: 95,0 porcentaje LSD

ConcValínico	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	8	0,0	X
20,8	8	1,175	X
31,3	8	2,24375	X
41,7	8	8,7075	X
62,5	8	20,6587	X
83,3	8	36,93	X
125	8	48,27	X
166,7	8	53,2812	X
333,3	8	59,2725	X
250	8	63,7463	X
500	8	65,2387	XX
666,7	8	68,9712	X
1000	8	78,0413	X
1600	8	93,76	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20,8	-1,175	4,00944
0 - 31,3	-2,24375	4,00944
0 - 41,7	*-8,7075	4,00944
0 - 62,5	*-20,6587	4,00944

0 - 83,3	*-36,93	4,00944
0 - 125	*-48,27	4,00944
0 - 166,7	*-53,2812	4,00944
0 - 250	*-63,7463	4,00944
0 - 333,3	*-59,2725	4,00944
0 - 500	*-65,2387	4,00944
0 - 666,7	*-68,9712	4,00944
0 - 1000	*-78,0413	4,00944
0 - 1600	*-93,76	4,00944
20,8 - 31,3	-1,06875	4,00944
20,8 - 41,7	*-7,5325	4,00944
20,8 - 62,5	*-19,4837	4,00944
20,8 - 83,3	*-35,755	4,00944
20,8 - 125	*-47,095	4,00944
20,8 - 166,7	*-52,1062	4,00944
20,8 - 250	*-62,5713	4,00944
20,8 - 333,3	*-58,0975	4,00944
20,8 - 500	*-64,0637	4,00944
20,8 - 666,7	*-67,7963	4,00944
20,8 - 1000	*-76,8663	4,00944
20,8 - 1600	*-92,585	4,00944
31,3 - 41,7	*-6,46375	4,00944
31,3 - 62,5	*-18,415	4,00944
31,3 - 83,3	*-34,6863	4,00944
31,3 - 125	*-46,0263	4,00944
31,3 - 166,7	*-51,0375	4,00944
31,3 - 250	*-61,5025	4,00944
31,3 - 333,3	*-57,0288	4,00944
31,3 - 500	*-62,995	4,00944
31,3 - 666,7	*-66,7275	4,00944
31,3 - 1000	*-75,7975	4,00944
31,3 - 1600	*-91,5162	4,00944
41,7 - 62,5	*-11,9512	4,00944
41,7 - 83,3	*-28,2225	4,00944
41,7 - 125	*-39,5625	4,00944
41,7 - 166,7	*-44,5737	4,00944
41,7 - 250	*-55,0388	4,00944
41,7 - 333,3	*-50,565	4,00944
41,7 - 500	*-56,5313	4,00944
41,7 - 666,7	*-60,2638	4,00944
41,7 - 1000	*-69,3338	4,00944
41,7 - 1600	*-85,0525	4,00944
62,5 - 83,3	*-16,2713	4,00944
62,5 - 125	*-27,6113	4,00944
62,5 - 166,7	*-32,6225	4,00944
62,5 - 250	*-43,0875	4,00944
62,5 - 333,3	*-38,6138	4,00944
62,5 - 500	*-44,58	4,00944
62,5 - 666,7	*-48,3125	4,00944
62,5 - 1000	*-57,3825	4,00944
62,5 - 1600	*-73,1012	4,00944
83,3 - 125	*-11,34	4,00944
83,3 - 166,7	*-16,3512	4,00944
83,3 - 250	*-26,8163	4,00944
83,3 - 333,3	*-22,3425	4,00944
83,3 - 500	*-28,3087	4,00944
83,3 - 666,7	*-32,0412	4,00944
83,3 - 1000	*-41,1113	4,00944
83,3 - 1600	*-56,83	4,00944
125 - 166,7	*-5,01125	4,00944
125 - 250	*-15,4763	4,00944
125 - 333,3	*-11,0025	4,00944
125 - 500	*-16,9687	4,00944
125 - 666,7	*-20,7012	4,00944
125 - 1000	*-29,7713	4,00944
125 - 1600	*-45,49	4,00944
166,7 - 250	*-10,465	4,00944
166,7 - 333,3	*-5,99125	4,00944
166,7 - 500	*-11,9575	4,00944
166,7 - 666,7	*-15,69	4,00944
166,7 - 1000	*-24,76	4,00944
166,7 - 1600	*-40,4787	4,00944
250 - 333,3	*4,47375	4,00944
250 - 500	-1,4925	4,00944
250 - 666,7	*-5,225	4,00944
250 - 1000	*-14,295	4,00944
250 - 1600	*-30,0137	4,00944

333,3 - 500	*-5,96625	4,00944
333,3 - 666,7	*-9,69875	4,00944
333,3 - 1000	*-18,7688	4,00944
333,3 - 1600	*-34,4875	4,00944
500 - 666,7	-3,7325	4,00944
500 - 1000	*-12,8025	4,00944
500 - 1600	*-28,5212	4,00944
666,7 - 1000	*-9,07	4,00944
666,7 - 1600	*-24,7887	4,00944
1000 - 1600	*-15,7187	4,00944

 * indica una diferencia significativa.

7.3.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido vanílico (mg/L).

ANOVA Simple - ResVanílico según ConcValínico

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResVanílico
 Factor: ConcValínico

Número de observaciones: 104
 Número de niveles: 13

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResVanílico. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResVanílico para los 13 diferentes niveles de ConcValínico. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

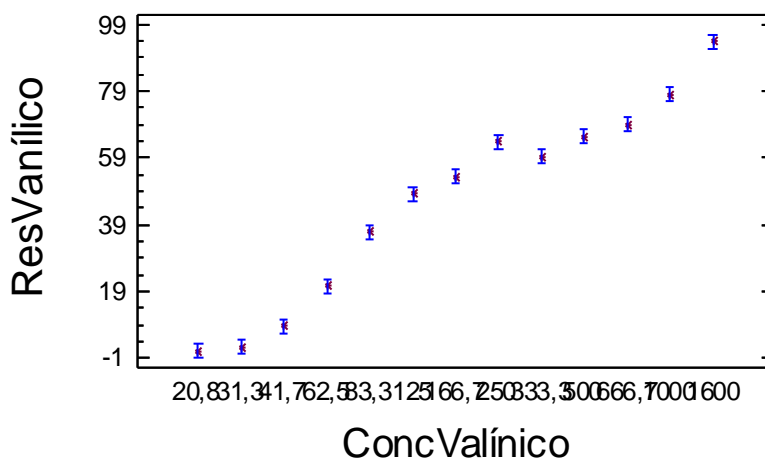


Tabla ANOVA para ResVanílico según ConcValínico

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor

Entre grupos	86347,1	12	7195,59	409,21	0,0000
Intra grupos	1600,16	91	17,5842		

Total (Corr.) 87947,2 103

Contraste Múltiple de Rango para ResVanílico según ConcValínico

Método: 95,0 porcentaje LSD

ConcValínico	Frec.	Media	Grupos homogéneos
20,8	8	1,175	X
31,3	8	2,24375	X
41,7	8	8,7075	X
62,5	8	20,6588	X
83,3	8	36,93	X
125	8	48,27	X
166,7	8	53,2812	X
333,3	8	59,2725	X
250	8	63,7463	X
500	8	65,2387	XX
666,7	8	68,9712	X
1000	8	78,0413	X
1600	8	93,76	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
20,8 - 31,3	-1,06875	4,16479
20,8 - 41,7	*-7,5325	4,16479
20,8 - 62,5	*-19,4838	4,16479
20,8 - 83,3	*-35,755	4,16479
20,8 - 125	*-47,095	4,16479
20,8 - 166,7	*-52,1062	4,16479
20,8 - 250	*-62,5713	4,16479
20,8 - 333,3	*-58,0975	4,16479
20,8 - 500	*-64,0637	4,16479
20,8 - 666,7	*-67,7963	4,16479
20,8 - 1000	*-76,8663	4,16479
20,8 - 1600	*-92,585	4,16479
31,3 - 41,7	*-6,46375	4,16479
31,3 - 62,5	*-18,415	4,16479
31,3 - 83,3	*-34,6863	4,16479
31,3 - 125	*-46,0263	4,16479
31,3 - 166,7	*-51,0375	4,16479
31,3 - 250	*-61,5025	4,16479
31,3 - 333,3	*-57,0288	4,16479
31,3 - 500	*-62,995	4,16479
31,3 - 666,7	*-66,7275	4,16479
31,3 - 1000	*-75,7975	4,16479
31,3 - 1600	*-91,5162	4,16479
41,7 - 62,5	*-11,9513	4,16479
41,7 - 83,3	*-28,2225	4,16479
41,7 - 125	*-39,5625	4,16479
41,7 - 166,7	*-44,5737	4,16479
41,7 - 250	*-55,0388	4,16479
41,7 - 333,3	*-50,565	4,16479
41,7 - 500	*-56,5313	4,16479
41,7 - 666,7	*-60,2638	4,16479
41,7 - 1000	*-69,3338	4,16479
41,7 - 1600	*-85,0525	4,16479
62,5 - 83,3	*-16,2712	4,16479
62,5 - 125	*-27,6113	4,16479
62,5 - 166,7	*-32,6225	4,16479
62,5 - 250	*-43,0875	4,16479
62,5 - 333,3	*-38,6137	4,16479
62,5 - 500	*-44,58	4,16479
62,5 - 666,7	*-48,3125	4,16479
62,5 - 1000	*-57,3825	4,16479
62,5 - 1600	*-73,1012	4,16479
83,3 - 125	*-11,34	4,16479
83,3 - 166,7	*-16,3512	4,16479
83,3 - 250	*-26,8163	4,16479
83,3 - 333,3	*-22,3425	4,16479
83,3 - 500	*-28,3087	4,16479
83,3 - 666,7	*-32,0412	4,16479
83,3 - 1000	*-41,1113	4,16479
83,3 - 1600	*-56,83	4,16479
125 - 166,7	*-5,01125	4,16479

125 - 250	*-15,4763	4,16479
125 - 333,3	*-11,0025	4,16479
125 - 500	*-16,9687	4,16479
125 - 666,7	*-20,7012	4,16479
125 - 1000	*-29,7713	4,16479
125 - 1600	*-45,49	4,16479
166,7 - 250	*-10,465	4,16479
166,7 - 333,3	*-5,99125	4,16479
166,7 - 500	*-11,9575	4,16479
166,7 - 666,7	*-15,69	4,16479
166,7 - 1000	*-24,76	4,16479
166,7 - 1600	*-40,4787	4,16479
250 - 333,3	*4,47375	4,16479
250 - 500	-1,4925	4,16479
250 - 666,7	*-5,225	4,16479
250 - 1000	*-14,295	4,16479
250 - 1600	*-30,0137	4,16479
333,3 - 500	*-5,96625	4,16479
333,3 - 666,7	*-9,69875	4,16479
333,3 - 1000	*-18,7688	4,16479
333,3 - 1600	*-34,4875	4,16479
500 - 666,7	-3,7325	4,16479
500 - 1000	*-12,8025	4,16479
500 - 1600	*-28,5212	4,16479
666,7 - 1000	*-9,07	4,16479
666,7 - 1600	*-24,7887	4,16479
1000 - 1600	*-15,7187	4,16479

* indica una diferencia significativa.

7.3.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		104
Rechazados	Perdidos	0
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		0

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	12	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Dilución	1,546	,028	54,753	,000	1,490	1,601
Intersección	-3,604	,066	-54,425	,000	-3,670	-3,538

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^a	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	453,023	102	,000 ^b

a. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

b. Como el nivel de significación es menor que ,150, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Dilución			Límites de confianza al 95% para log(Dilución) ^b		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a ,010	6,709	5,003	8,648	,827	,699	,937
,020	10,070	7,752	12,635	1,003	,889	1,102
,030	13,030	10,231	16,075	1,115	1,010	1,206
,040	15,817	12,605	19,270	1,199	1,101	1,285
,050	18,518	14,934	22,336	1,268	1,174	1,349
,060	21,178	17,250	25,329	1,326	1,237	1,404

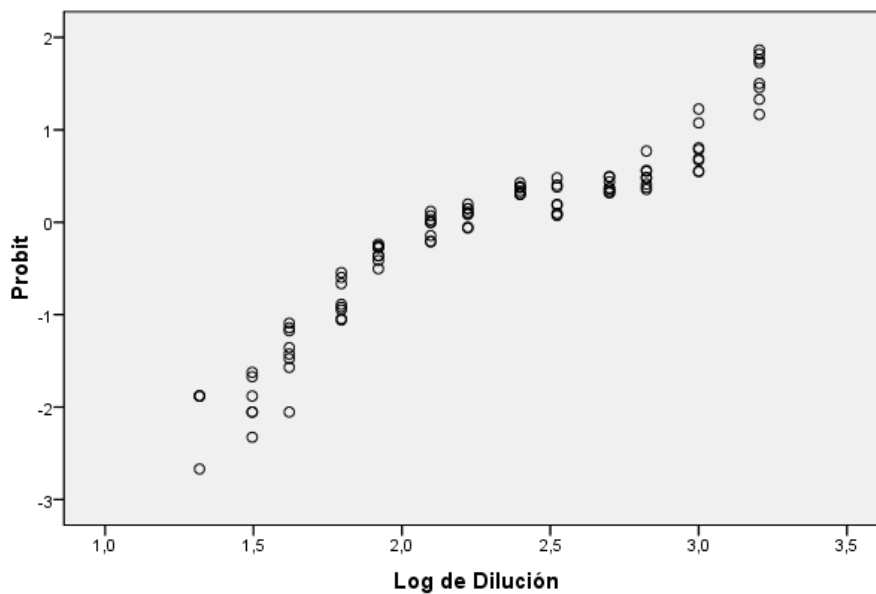
,070	23,822	19,574	28,284	1,377	1,292	1,452
,080	26,469	21,916	31,224	1,423	1,341	1,494
,090	29,130	24,288	34,165	1,464	1,385	1,534
,100	31,816	26,695	37,120	1,503	1,426	1,570
,150	45,839	39,439	52,377	1,661	1,596	1,719
,200	61,274	53,702	68,966	1,787	1,730	1,839
,250	78,597	69,879	87,460	1,895	1,844	1,942
,300	98,291	88,371	108,442	1,993	1,946	2,035
,350	120,920	109,643	132,602	2,082	2,040	2,123
,400	147,191	134,265	160,819	2,168	2,128	2,206
,450	178,030	162,971	194,259	2,250	2,212	2,288
,500	214,681	196,747	234,497	2,332	2,294	2,370
,550	258,878	236,972	283,730	2,413	2,375	2,453
,600	313,117	285,646	345,116	2,496	2,456	2,538
,650	381,146	345,784	423,408	2,581	2,539	2,627
,700	468,894	422,146	526,166	2,671	2,625	2,721
,750	586,382	522,727	666,286	2,768	2,718	2,824
,800	752,164	662,188	867,932	2,876	2,821	2,938
,850	1005,433	871,130	1182,887	3,002	2,940	3,073
,900	1448,576	1228,272	1748,911	3,161	3,089	3,243
,910	1582,141	1334,302	1922,495	3,199	3,125	3,284
,920	1741,234	1459,792	2130,787	3,241	3,164	3,329

,930	1934,692	1611,326	2386,126	3,287	3,207	3,378
,940	2176,268	1799,093	2707,844	3,338	3,255	3,433
,950	2488,817	2039,910	3128,317	3,396	3,310	3,495
,960	2913,836	2364,086	3706,856	3,464	3,374	3,569
,970	3537,065	2833,669	4567,332	3,549	3,452	3,660
,980	4576,598	3604,670	6029,174	3,661	3,557	3,780
,990	6869,272	5265,579	9342,884	3,837	3,721	3,970

a. Se utiliza un factor de heterogeneidad.

b. Base del logaritmo = 10.

Respuestas transformadas por Probit



7.4.- Ensayo de toxicidad con *P. subcapitata* y ácido protocatecuico.

7.4.1.- Determinación del valor NOEC

ANOVA Simple - ResProto según ConcProto

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResProto

Factor: ConcProto

Número de observaciones: 88

Número de niveles: 11

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResProto. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResProto para los 11 diferentes niveles de ConcProto. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

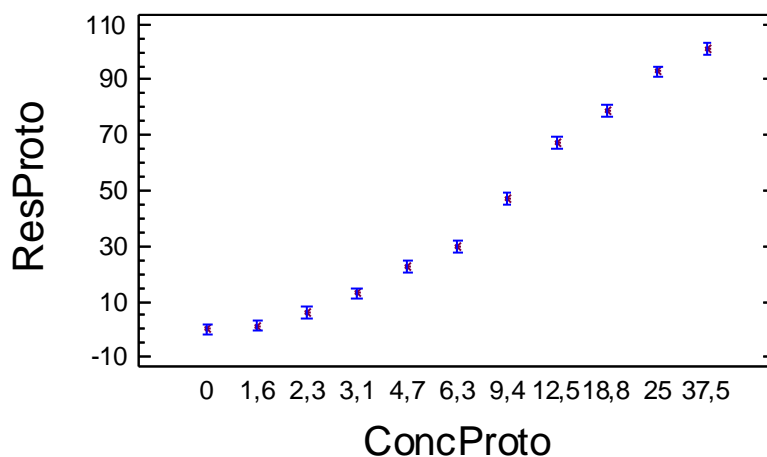


Tabla ANOVA para ResProto según ConcProto

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	113480,0	10	11348,0	704,12	0,0000
Intra grupos	1240,97	77	16,1165		
Total (Corr.)	114721,0	87			

Método: 95,0 porcentaje LSD

ConcProto	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	8	0,0	X
1,6	8	1,29875	X
2,3	8	6,03625	X
3,1	8	13,075	X
4,7	8	22,8	X
6,3	8	29,8413	X
9,4	8	47,1538	X
12,5	8	67,445	X
18,8	8	78,8912	X
25	8	92,9137	X
37,5	8	101,084	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 1,6	-1,29875	3,99699
0 - 2,3	*-6,03625	3,99699
0 - 3,1	*-13,075	3,99699

0 - 4,7	*-22,8	3,99699
0 - 6,3	*-29,8413	3,99699
0 - 9,4	*-47,1538	3,99699
0 - 12,5	*-67,445	3,99699
0 - 18,8	*-78,8912	3,99699
0 - 25	*-92,9137	3,99699
0 - 37,5	*-101,084	3,99699
1,6 - 2,3	*-4,7375	3,99699
1,6 - 3,1	*-11,7762	3,99699
1,6 - 4,7	*-21,5012	3,99699
1,6 - 6,3	*-28,5425	3,99699
1,6 - 9,4	*-45,855	3,99699
1,6 - 12,5	*-66,1462	3,99699
1,6 - 18,8	*-77,5925	3,99699
1,6 - 25	*-91,615	3,99699
1,6 - 37,5	*-99,785	3,99699
2,3 - 3,1	*-7,03875	3,99699
2,3 - 4,7	*-16,7637	3,99699
2,3 - 6,3	*-23,805	3,99699
2,3 - 9,4	*-41,1175	3,99699
2,3 - 12,5	*-61,4087	3,99699
2,3 - 18,8	*-72,855	3,99699
2,3 - 25	*-86,8775	3,99699
2,3 - 37,5	*-95,0475	3,99699
3,1 - 4,7	*-9,725	3,99699
3,1 - 6,3	*-16,7663	3,99699
3,1 - 9,4	*-34,0787	3,99699
3,1 - 12,5	*-54,37	3,99699
3,1 - 18,8	*-65,8162	3,99699
3,1 - 25	*-79,8387	3,99699
3,1 - 37,5	*-88,0087	3,99699
4,7 - 6,3	*-7,04125	3,99699
4,7 - 9,4	*-24,3538	3,99699
4,7 - 12,5	*-44,645	3,99699
4,7 - 18,8	*-56,0913	3,99699
4,7 - 25	*-70,1137	3,99699
4,7 - 37,5	*-78,2837	3,99699
6,3 - 9,4	*-17,3125	3,99699
6,3 - 12,5	*-37,6037	3,99699
6,3 - 18,8	*-49,05	3,99699
6,3 - 25	*-63,0725	3,99699
6,3 - 37,5	*-71,2425	3,99699
9,4 - 12,5	*-20,2912	3,99699
9,4 - 18,8	*-31,7375	3,99699
9,4 - 25	*-45,76	3,99699
9,4 - 37,5	*-53,93	3,99699
12,5 - 18,8	*-11,4463	3,99699
12,5 - 25	*-25,4688	3,99699
12,5 - 37,5	*-33,6388	3,99699
18,8 - 25	*-14,0225	3,99699
18,8 - 37,5	*-22,1925	3,99699
25 - 37,5	*-8,17	3,99699

 * indica una diferencia significativa.

7.4.2.- ANOVA Simple: Inhibición del crecimiento (%) según concentración de ácido Protocatechuico (mg/L).

ANOVA Simple - ResProto según ConcProto

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: ResProto
 Factor: ConcProto

Número de observaciones: 80
 Número de niveles: 10

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para ResProto. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de ResProto para los 10 diferentes niveles de ConcProto. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia

significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

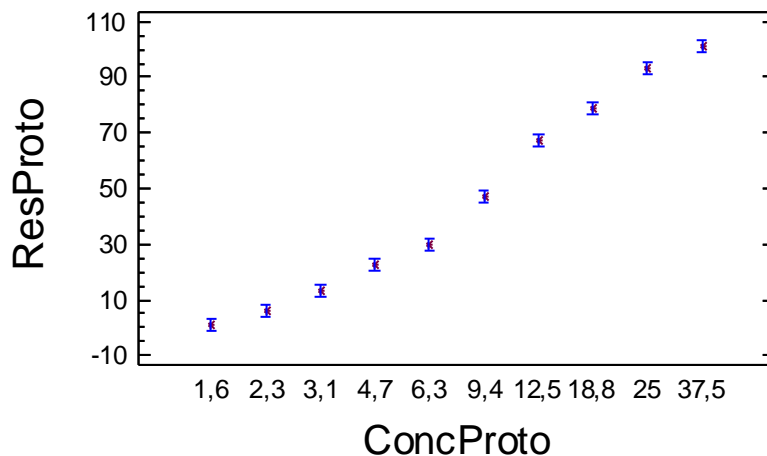


Tabla ANOVA para ResProto según ConcProto

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	98054,8	9	10895,0	614,56	0,0000
Intra grupos	1240,97	70	17,7282		
Total (Corr.)	99295,8	79			

Contraste Múltiple de Rango para ResProto según ConcProto

Método: 95,0 porcentaje LSD

ConcProto	Frec.	Media	Grupos homogéneos
1,6	8	1,29875	X
2,3	8	6,03625	X
3,1	8	13,075	X
4,7	8	22,8	X
6,3	8	29,8412	X
9,4	8	47,1538	X
12,5	8	67,445	X
18,8	8	78,8912	X
25	8	92,9137	X
37,5	8	101,084	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
1,6 - 2,3	*-4,7375	4,19878
1,6 - 3,1	*-11,7762	4,19878
1,6 - 4,7	*-21,5012	4,19878
1,6 - 6,3	*-28,5425	4,19878
1,6 - 9,4	*-45,855	4,19878
1,6 - 12,5	*-66,1463	4,19878
1,6 - 18,8	*-77,5925	4,19878
1,6 - 25	*-91,615	4,19878
1,6 - 37,5	*-99,785	4,19878
2,3 - 3,1	*-7,03875	4,19878
2,3 - 4,7	*-16,7637	4,19878
2,3 - 6,3	*-23,805	4,19878
2,3 - 9,4	*-41,1175	4,19878
2,3 - 12,5	*-61,4088	4,19878

2,3 - 18,8	*-72,855	4,19878
2,3 - 25	*-86,8775	4,19878
2,3 - 37,5	*-95,0475	4,19878
3,1 - 4,7	*-9,725	4,19878
3,1 - 6,3	*-16,7662	4,19878
3,1 - 9,4	*-34,0787	4,19878
3,1 - 12,5	*-54,37	4,19878
3,1 - 18,8	*-65,8162	4,19878
3,1 - 25	*-79,8387	4,19878
3,1 - 37,5	*-88,0087	4,19878
4,7 - 6,3	*-7,04125	4,19878
4,7 - 9,4	*-24,3538	4,19878
4,7 - 12,5	*-44,645	4,19878
4,7 - 18,8	*-56,0913	4,19878
4,7 - 25	*-70,1137	4,19878
4,7 - 37,5	*-78,2837	4,19878
6,3 - 9,4	*-17,3125	4,19878
6,3 - 12,5	*-37,6038	4,19878
6,3 - 18,8	*-49,05	4,19878
6,3 - 25	*-63,0725	4,19878
6,3 - 37,5	*-71,2425	4,19878
9,4 - 12,5	*-20,2913	4,19878
9,4 - 18,8	*-31,7375	4,19878
9,4 - 25	*-45,76	4,19878
9,4 - 37,5	*-53,93	4,19878
12,5 - 18,8	*-11,4462	4,19878
12,5 - 25	*-25,4687	4,19878
12,5 - 37,5	*-33,6387	4,19878
18,8 - 25	*-14,0225	4,19878
18,8 - 37,5	*-22,1925	4,19878
25 - 37,5	*-8,17	4,19878

* indica una diferencia significativa.

7.4.3.- Análisis PROBIT: Determinación del valor EC50.

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		72
Rechazados	Perdidos	24
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	8
Grupo control		0

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	12	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Concentración	2,765	,056	49,015	,000	2,655	2,876
Intersección	-2,635	,054	-49,064	,000	-2,688	-2,581

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^a	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	116,444	70	,000 ^b

a. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

b. Como el nivel de significación es menor que ,150, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Límites de confianza

Proba bilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para log(Concentración) ^b		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a ,010	1,293	1,161	1,425	,112	,065	,154
,020	1,622	1,474	1,770	,210	,168	,248
,030	1,874	1,714	2,031	,273	,234	,308
,040	2,088	1,921	2,253	,320	,283	,353
,050	2,280	2,106	2,452	,358	,324	,389

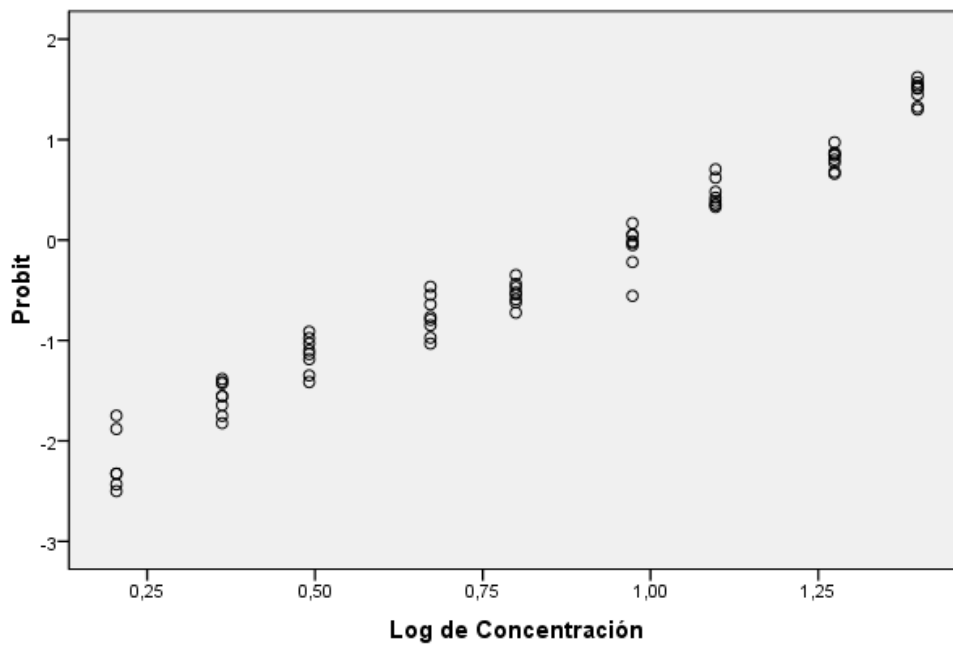
,060	2,458	2,279	2,634	,391	,358	,421
,070	2,625	2,441	2,806	,419	,388	,448
,080	2,784	2,596	2,969	,445	,414	,473
,090	2,937	2,746	3,125	,468	,439	,495
,100	3,086	2,891	3,277	,489	,461	,515
,150	3,785	3,576	3,989	,578	,553	,601
,200	4,451	4,232	4,667	,648	,627	,669
,250	5,116	4,886	5,344	,709	,689	,728
,300	5,797	5,555	6,039	,763	,745	,781
,350	6,509	6,251	6,770	,813	,796	,831
,400	7,265	6,987	7,551	,861	,844	,878
,450	8,080	7,774	8,398	,907	,891	,924
,500	8,971	8,630	9,333	,953	,936	,970
,550	9,961	9,572	10,379	,998	,981	1,016
,600	11,078	10,627	11,570	1,044	1,026	1,063
,650	12,365	11,833	12,953	1,092	1,073	1,112
,700	13,883	13,244	14,599	1,142	1,122	1,164
,750	15,731	14,948	16,619	1,197	1,175	1,221
,800	18,081	17,096	19,209	1,257	1,233	1,284
,850	21,265	19,983	22,753	1,328	1,301	1,357
,900	26,080	24,305	28,171	1,416	1,386	1,450
,910	27,398	25,480	29,665	1,438	1,406	1,472

,920	28,906	26,820	31,378	1,461	1,428	1,497
,930	30,659	28,374	33,377	1,487	1,453	1,523
,940	32,743	30,216	35,762	1,515	1,480	1,553
,950	35,294	32,462	38,692	1,548	1,511	1,588
,960	38,545	35,313	42,444	1,586	1,548	1,628
,970	42,956	39,161	47,562	1,633	1,593	1,677
,980	49,611	44,930	55,338	1,696	1,653	1,743
,990	62,253	55,788	70,265	1,794	1,747	1,847

a. Se utiliza un factor de heterogeneidad.

b. Base del logaritmo = 10.

Respuestas transformadas por Probit



7.5.- Ensayo de toxicidad con *P. subcapitata* para las muestras a diferentes tiempos de tratamiento.

7.5.1.- ANOVA Simple. Tiempo de tratamiento (minutos) según dilución de la muestra (mg/L).

7.5.1.1.- ANOVA Simple. Tiempo Inicial.

ANOVA Simple - Inicial según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Inicial

Factor: Dil

Número de observaciones: 72

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para Inicial. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de Inicial para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

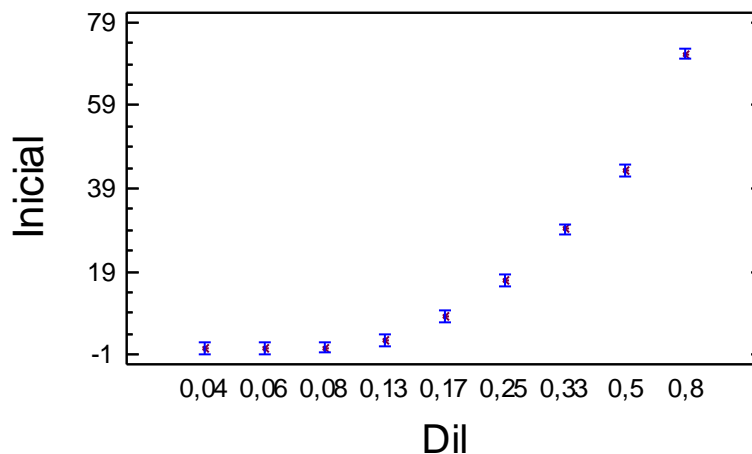


Tabla ANOVA para Inicial según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	38730,7	8	4841,34	716,21	0,0000
Intra grupos	425,86	63	6,75969		
Total (Corr.)	39156,6	71			

Contraste Múltiple de Rango para Inicial según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,04	8	0,625	X
0,06	8	0,625	X
0,08	8	0,75	X
0,13	8	2,4725	X
0,17	8	8,2	X
0,25	8	16,995	X
0,33	8	29,1675	X
0,5	8	43,4138	X
0,8	8	71,35	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	0,0	2,59779
0,04 - 0,08	-0,125	2,59779
0,04 - 0,13	-1,8475	2,59779
0,04 - 0,17	*-7,575	2,59779
0,04 - 0,25	*-16,37	2,59779
0,04 - 0,33	*-28,5425	2,59779
0,04 - 0,5	*-42,7888	2,59779
0,04 - 0,8	*-70,725	2,59779
0,06 - 0,08	-0,125	2,59779
0,06 - 0,13	-1,8475	2,59779
0,06 - 0,17	*-7,575	2,59779
0,06 - 0,25	*-16,37	2,59779
0,06 - 0,33	*-28,5425	2,59779
0,06 - 0,5	*-42,7888	2,59779
0,06 - 0,8	*-70,725	2,59779
0,08 - 0,13	-1,7225	2,59779
0,08 - 0,17	*-7,45	2,59779
0,08 - 0,25	*-16,245	2,59779
0,08 - 0,33	*-28,4175	2,59779
0,08 - 0,5	*-42,6638	2,59779
0,08 - 0,8	*-70,6	2,59779
0,13 - 0,17	*-5,7275	2,59779
0,13 - 0,25	*-14,5225	2,59779
0,13 - 0,33	*-26,695	2,59779
0,13 - 0,5	*-40,9412	2,59779
0,13 - 0,8	*-68,8775	2,59779
0,17 - 0,25	*-8,795	2,59779
0,17 - 0,33	*-20,9675	2,59779
0,17 - 0,5	*-35,2138	2,59779
0,17 - 0,8	*-63,15	2,59779
0,25 - 0,33	*-12,1725	2,59779
0,25 - 0,5	*-26,4187	2,59779
0,25 - 0,8	*-54,355	2,59779
0,33 - 0,5	*-14,2463	2,59779
0,33 - 0,8	*-42,1825	2,59779
0,5 - 0,8	*-27,9362	2,59779

* indica una diferencia significativa.

7.5.1.2.- ANOVA Simple. Tiempo 5 minutos.

ANOVA Simple - T5 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T5

Factor: Dil

Número de observaciones: 72

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T5. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T5 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis

que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

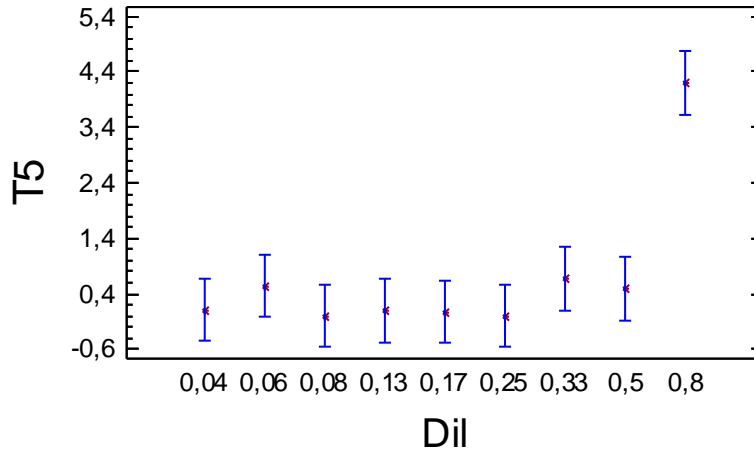


Tabla ANOVA para T5 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	114,547	8	14,3184	11,06	0,0000
Intra grupos	81,5395	63	1,29428		
Total (Corr.)	196,087	71			

Contraste Múltiple de Rango para T5 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,08	8	0,0	X
0,25	8	0,0	X
0,17	8	0,07375	X
0,13	8	0,105	X
0,04	8	0,11375	X
0,5	8	0,4875	X
0,06	8	0,545	X
0,33	8	0,6775	X
0,8	8	4,19	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-0,43125	1,13672
0,04 - 0,08	0,11375	1,13672
0,04 - 0,13	0,00875	1,13672
0,04 - 0,17	0,04	1,13672
0,04 - 0,25	0,11375	1,13672
0,04 - 0,33	-0,56375	1,13672
0,04 - 0,5	-0,37375	1,13672
0,04 - 0,8	*-4,07625	1,13672
0,06 - 0,08	0,545	1,13672
0,06 - 0,13	0,44	1,13672
0,06 - 0,17	0,47125	1,13672
0,06 - 0,25	0,545	1,13672
0,06 - 0,33	-0,1325	1,13672
0,06 - 0,5	0,0575	1,13672
0,06 - 0,8	*-3,645	1,13672
0,08 - 0,13	-0,105	1,13672
0,08 - 0,17	-0,07375	1,13672
0,08 - 0,25	0,0	1,13672
0,08 - 0,33	-0,6775	1,13672

0,08 - 0,5	-0,4875	1,13672
0,08 - 0,8	*-4,19	1,13672
0,13 - 0,17	0,03125	1,13672
0,13 - 0,25	0,105	1,13672
0,13 - 0,33	-0,5725	1,13672
0,13 - 0,5	-0,3825	1,13672
0,13 - 0,8	*-4,085	1,13672
0,17 - 0,25	0,07375	1,13672
0,17 - 0,33	-0,60375	1,13672
0,17 - 0,5	-0,41375	1,13672
0,17 - 0,8	*-4,11625	1,13672
0,25 - 0,33	-0,6775	1,13672
0,25 - 0,5	-0,4875	1,13672
0,25 - 0,8	*-4,19	1,13672
0,33 - 0,5	0,19	1,13672
0,33 - 0,8	*-3,5125	1,13672
0,5 - 0,8	*-3,7025	1,13672

 * indica una diferencia significativa.

7.5.1.3.- ANOVA Simple. Tiempo 10 minutos.

ANOVA Simple - T10 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T10
 Factor: Dil

Número de observaciones: 72
 Número de niveles: 9

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T10. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T10 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

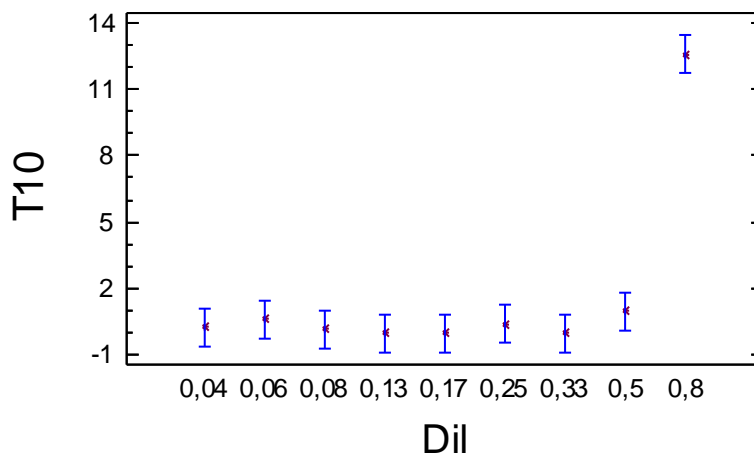


Tabla ANOVA para T10 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor

Entre grupos	1073,07	8	134,133	47,56	0,0000
Intra grupos	177,694	63	2,82054		

Total (Corr.)	1250,76	71			

Contraste Múltiple de Rango para T10 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,33	8	0,0	X
0,17	8	0,0	X
0,13	8	0,0	X
0,08	8	0,17	X
0,04	8	0,26875	X
0,25	8	0,40375	X
0,06	8	0,62875	X
0,5	8	0,98875	X
0,8	8	12,5513	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-0,36	1,67805
0,04 - 0,08	0,09875	1,67805
0,04 - 0,13	0,26875	1,67805
0,04 - 0,17	0,26875	1,67805
0,04 - 0,25	-0,135	1,67805
0,04 - 0,33	0,26875	1,67805
0,04 - 0,5	-0,72	1,67805
0,04 - 0,8	*-12,2825	1,67805
0,06 - 0,08	0,45875	1,67805
0,06 - 0,13	0,62875	1,67805
0,06 - 0,17	0,62875	1,67805
0,06 - 0,25	0,225	1,67805
0,06 - 0,33	0,62875	1,67805
0,06 - 0,5	-0,36	1,67805
0,06 - 0,8	*-11,9225	1,67805
0,08 - 0,13	0,17	1,67805
0,08 - 0,17	0,17	1,67805
0,08 - 0,25	-0,23375	1,67805
0,08 - 0,33	0,17	1,67805
0,08 - 0,5	-0,81875	1,67805
0,08 - 0,8	*-12,3813	1,67805
0,13 - 0,17	0,0	1,67805
0,13 - 0,25	-0,40375	1,67805
0,13 - 0,33	0,0	1,67805
0,13 - 0,5	-0,98875	1,67805
0,13 - 0,8	*-12,5513	1,67805
0,17 - 0,25	-0,40375	1,67805
0,17 - 0,33	0,0	1,67805
0,17 - 0,5	-0,98875	1,67805
0,17 - 0,8	*-12,5513	1,67805
0,25 - 0,33	0,40375	1,67805
0,25 - 0,5	-0,585	1,67805
0,25 - 0,8	*-12,1475	1,67805
0,33 - 0,5	-0,98875	1,67805
0,33 - 0,8	*-12,5513	1,67805
0,5 - 0,8	*-11,5625	1,67805

* indica una diferencia significativa.

7.5.1.4.- ANOVA Simple. Tiempo 20 minutos.

ANOVA Simple - T20 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T20

Factor: Dil

Número de observaciones: 72

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para

T20. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T20 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

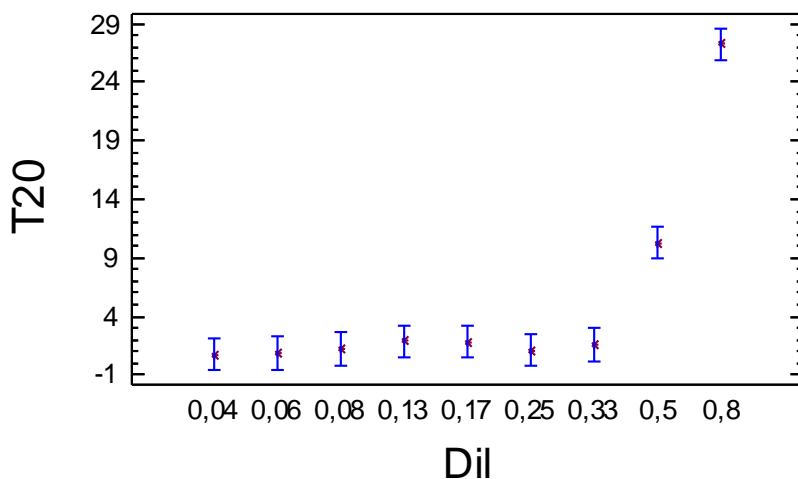


Tabla ANOVA para T20 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	4955,57	8	619,446	82,19	0,0000
Intra grupos	474,793	63	7,5364		
Total (Corr.)	5430,36	71			

Contraste Múltiple de Rango para T20 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,04	8	0,7575	X
0,06	8	0,8575	X
0,25	8	1,0875	X
0,08	8	1,24125	X
0,33	8	1,56625	X
0,17	8	1,8075	X
0,13	8	1,86875	X
0,5	8	10,3025	X
0,8	8	27,255	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-0,1	2,74298
0,04 - 0,08	-0,48375	2,74298
0,04 - 0,13	-1,11125	2,74298
0,04 - 0,17	-1,05	2,74298
0,04 - 0,25	-0,33	2,74298
0,04 - 0,33	-0,80875	2,74298
0,04 - 0,5	*-9,545	2,74298
0,04 - 0,8	*-26,4975	2,74298
0,06 - 0,08	-0,38375	2,74298
0,06 - 0,13	-1,01125	2,74298
0,06 - 0,17	-0,95	2,74298
0,06 - 0,25	-0,23	2,74298
0,06 - 0,33	-0,70875	2,74298

0,06 - 0,5	*-9,445	2,74298
0,06 - 0,8	*-26,3975	2,74298
0,08 - 0,13	-0,6275	2,74298
0,08 - 0,17	-0,56625	2,74298
0,08 - 0,25	0,15375	2,74298
0,08 - 0,33	-0,325	2,74298
0,08 - 0,5	*-9,06125	2,74298
0,08 - 0,8	*-26,0137	2,74298
0,13 - 0,17	0,06125	2,74298
0,13 - 0,25	0,78125	2,74298
0,13 - 0,33	0,3025	2,74298
0,13 - 0,5	*-8,43375	2,74298
0,13 - 0,8	*-25,3863	2,74298
0,17 - 0,25	0,72	2,74298
0,17 - 0,33	0,24125	2,74298
0,17 - 0,5	*-8,495	2,74298
0,17 - 0,8	*-25,4475	2,74298
0,25 - 0,33	-0,47875	2,74298
0,25 - 0,5	*-9,215	2,74298
0,25 - 0,8	*-26,1675	2,74298
0,33 - 0,5	*-8,73625	2,74298
0,33 - 0,8	*-25,6887	2,74298
0,5 - 0,8	*-16,9525	2,74298

* indica una diferencia significativa.

7.5.1.5.- ANOVA Simple. Tiempo 60 minutos.

ANOVA Simple - T60 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T60

Factor: Dil

Número de observaciones: 72

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T60. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T60 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

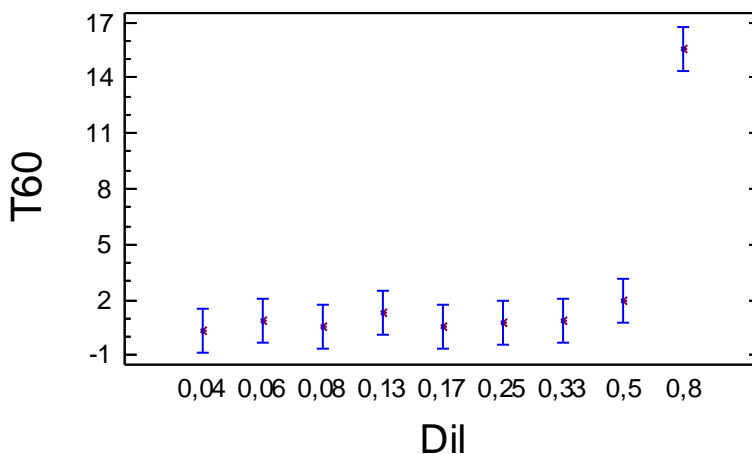


Tabla ANOVA para T60 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1546,58	8	193,322	34,00	0,0000
Intra grupos	358,187	63	5,68551		
Total (Corr.)	1904,76	71			

Contraste Múltiple de Rango para T60 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,04	8	0,28875	X
0,17	8	0,5	X
0,08	8	0,5625	X
0,25	8	0,78375	X
0,06	8	0,84375	X
0,33	8	0,91125	X
0,13	8	1,30375	X
0,5	8	1,94125	X
0,8	8	15,5663	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-0,555	2,38246
0,04 - 0,08	-0,27375	2,38246
0,04 - 0,13	-1,015	2,38246
0,04 - 0,17	-0,21125	2,38246
0,04 - 0,25	-0,495	2,38246
0,04 - 0,33	-0,6225	2,38246
0,04 - 0,5	-1,6525	2,38246
0,04 - 0,8	*-15,2775	2,38246
0,06 - 0,08	0,28125	2,38246
0,06 - 0,13	-0,46	2,38246
0,06 - 0,17	0,34375	2,38246
0,06 - 0,25	0,06	2,38246
0,06 - 0,33	-0,0675	2,38246
0,06 - 0,5	-1,0975	2,38246
0,06 - 0,8	*-14,7225	2,38246
0,08 - 0,13	-0,74125	2,38246
0,08 - 0,17	0,0625	2,38246
0,08 - 0,25	-0,22125	2,38246
0,08 - 0,33	-0,34875	2,38246
0,08 - 0,5	-1,37875	2,38246
0,08 - 0,8	*-15,0038	2,38246
0,13 - 0,17	0,80375	2,38246
0,13 - 0,25	0,52	2,38246
0,13 - 0,33	0,3925	2,38246
0,13 - 0,5	-0,6375	2,38246
0,13 - 0,8	*-14,2625	2,38246
0,17 - 0,25	-0,28375	2,38246
0,17 - 0,33	-0,41125	2,38246
0,17 - 0,5	-1,44125	2,38246
0,17 - 0,8	*-15,0663	2,38246
0,25 - 0,33	-0,1275	2,38246
0,25 - 0,5	-1,1575	2,38246
0,25 - 0,8	*-14,7825	2,38246
0,33 - 0,5	-1,03	2,38246
0,33 - 0,8	*-14,655	2,38246
0,5 - 0,8	*-13,625	2,38246

* indica una diferencia significativa.

7.5.1.6.- ANOVA Simple. Tiempo 120 minutos.

ANOVA Simple - T120 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T120

Factor: Dil

Número de observaciones: 72
 Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T120. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T120 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

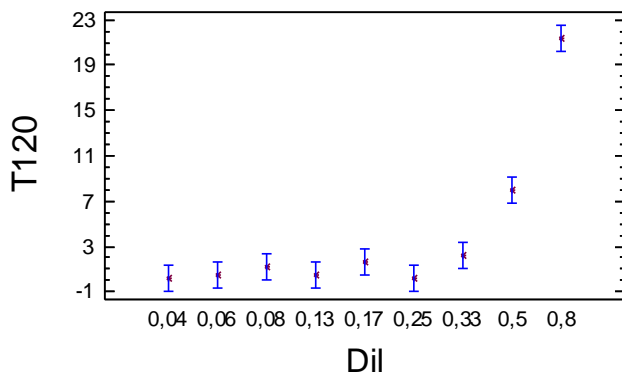


Tabla ANOVA para T120 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3097,41	8	387,176	73,26	0,0000
Intra grupos	332,969	63	5,28522		
Total (Corr.)	3430,38	71			

Contraste Múltiple de Rango para T120 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,04	8	0,24875	X
0,25	8	0,25625	X
0,06	8	0,475	X
0,13	8	0,52	X
0,08	8	1,1875	X
0,17	8	1,70625	X
0,33	8	2,28125	X
0,5	8	7,925	X
0,8	8	21,4075	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-0,22625	2,29706
0,04 - 0,08	-0,93875	2,29706
0,04 - 0,13	-0,27125	2,29706
0,04 - 0,17	-1,4575	2,29706
0,04 - 0,25	-0,0075	2,29706
0,04 - 0,33	-2,0325	2,29706
0,04 - 0,5	*-7,67625	2,29706
0,04 - 0,8	*-21,1588	2,29706
0,06 - 0,08	-0,7125	2,29706
0,06 - 0,13	-0,045	2,29706
0,06 - 0,17	-1,23125	2,29706
0,06 - 0,25	0,21875	2,29706
0,06 - 0,33	-1,80625	2,29706

0,06 - 0,5	*-7,45	2,29706
0,06 - 0,8	*-20,9325	2,29706
0,08 - 0,13	0,6675	2,29706
0,08 - 0,17	-0,51875	2,29706
0,08 - 0,25	0,93125	2,29706
0,08 - 0,33	-1,09375	2,29706
0,08 - 0,5	*-6,7375	2,29706
0,08 - 0,8	*-20,22	2,29706
0,13 - 0,17	-1,18625	2,29706
0,13 - 0,25	0,26375	2,29706
0,13 - 0,33	-1,76125	2,29706
0,13 - 0,5	*-7,405	2,29706
0,13 - 0,8	*-20,8875	2,29706
0,17 - 0,25	1,45	2,29706
0,17 - 0,33	-0,575	2,29706
0,17 - 0,5	*-6,21875	2,29706
0,17 - 0,8	*-19,7013	2,29706
0,25 - 0,33	-2,025	2,29706
0,25 - 0,5	*-7,66875	2,29706
0,25 - 0,8	*-21,1513	2,29706
0,33 - 0,5	*-5,64375	2,29706
0,33 - 0,8	*-19,1263	2,29706
0,5 - 0,8	*-13,4825	2,29706

* indica una diferencia significativa.

7.5.1.7.- ANOVA Simple. Tiempo 180 minutos.

ANOVA Simple - T180 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T180

Factor: Dil

Número de observaciones: 72

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T180. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T180 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

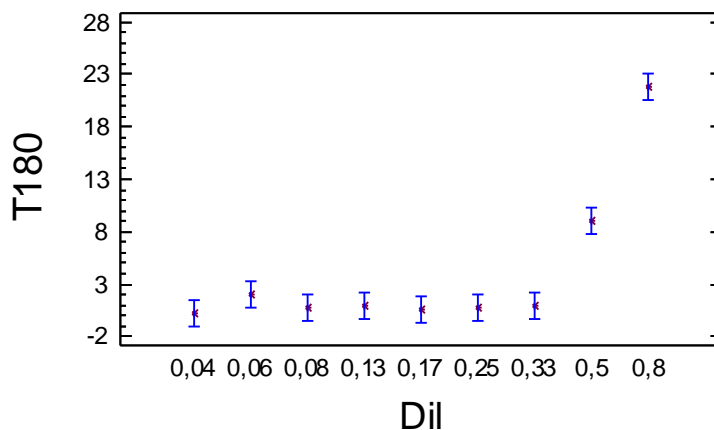


Tabla ANOVA para T180 según Dil

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3325,28	8	415,66	65,66	0,0000
Intra grupos	398,835	63	6,33071		
Total (Corr.)	3724,12	71			

Contraste Múltiple de Rango para T180 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,04	8	0,24375	X
0,17	8	0,5025	X
0,25	8	0,72375	X
0,08	8	0,7325	X
0,13	8	0,95875	X
0,33	8	0,98	X
0,06	8	2,07625	X
0,5	8	9,04875	X
0,8	8	21,9025	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-1,8325	2,51401
0,04 - 0,08	-0,48875	2,51401
0,04 - 0,13	-0,715	2,51401
0,04 - 0,17	-0,25875	2,51401
0,04 - 0,25	-0,48	2,51401
0,04 - 0,33	-0,73625	2,51401
0,04 - 0,5	*-8,805	2,51401
0,04 - 0,8	*-21,6588	2,51401
0,06 - 0,08	1,34375	2,51401
0,06 - 0,13	1,1175	2,51401
0,06 - 0,17	1,57375	2,51401
0,06 - 0,25	1,3525	2,51401
0,06 - 0,33	1,09625	2,51401
0,06 - 0,5	*-6,9725	2,51401
0,06 - 0,8	*-19,8263	2,51401
0,08 - 0,13	-0,22625	2,51401
0,08 - 0,17	0,23	2,51401
0,08 - 0,25	0,00875	2,51401
0,08 - 0,33	-0,2475	2,51401
0,08 - 0,5	*-8,31625	2,51401
0,08 - 0,8	*-21,17	2,51401
0,13 - 0,17	0,45625	2,51401
0,13 - 0,25	0,235	2,51401
0,13 - 0,33	-0,02125	2,51401
0,13 - 0,5	*-8,09	2,51401
0,13 - 0,8	*-20,9438	2,51401
0,17 - 0,25	-0,22125	2,51401
0,17 - 0,33	-0,4775	2,51401
0,17 - 0,5	*-8,54625	2,51401
0,17 - 0,8	*-21,4	2,51401
0,25 - 0,33	-0,25625	2,51401
0,25 - 0,5	*-8,325	2,51401
0,25 - 0,8	*-21,1788	2,51401
0,33 - 0,5	*-8,06875	2,51401
0,33 - 0,8	*-20,9225	2,51401
0,5 - 0,8	*-12,8538	2,51401

* indica una diferencia significativa.

7.5.1.8.- ANOVA Simple. Tiempo 210 minutos.

ANOVA Simple - T210 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T210

Factor: Dil

Número de observaciones: 72

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T210. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T210 para los 9 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

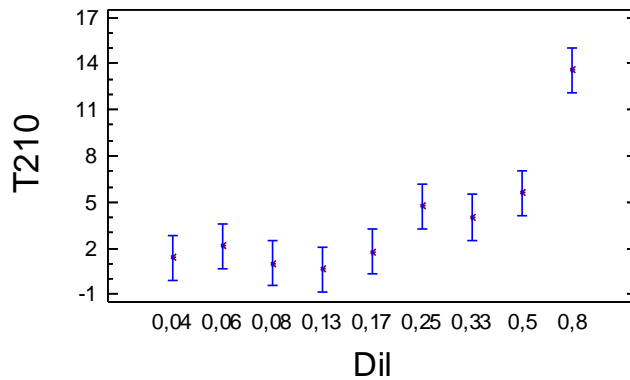


Tabla ANOVA para T210 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1045,64	8	130,705	15,28	0,0000
Intra grupos	538,925	63	8,55436		
Total (Corr.)	1584,57	71			

Contraste Múltiple de Rango para T210 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,13	8	0,645	X
0,08	8	0,98875	X
0,04	8	1,37375	XX
0,17	8	1,74125	XX
0,06	8	2,1525	XXX
0,33	8	4,00625	XXX
0,25	8	4,7525	XX
0,5	8	5,60625	X
0,8	8	13,59	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0,04 - 0,06	-0,77875	2,92236
0,04 - 0,08	0,385	2,92236
0,04 - 0,13	0,72875	2,92236
0,04 - 0,17	-0,3675	2,92236
0,04 - 0,25	*-3,37875	2,92236
0,04 - 0,33	-2,6325	2,92236
0,04 - 0,5	*-4,2325	2,92236
0,04 - 0,8	*-12,2163	2,92236
0,06 - 0,08	1,16375	2,92236
0,06 - 0,13	1,5075	2,92236
0,06 - 0,17	0,41125	2,92236
0,06 - 0,25	-2,6	2,92236
0,06 - 0,33	-1,85375	2,92236

0,06 - 0,5	*-3,45375	2,92236
0,06 - 0,8	*-11,4375	2,92236
0,08 - 0,13	0,34375	2,92236
0,08 - 0,17	-0,7525	2,92236
0,08 - 0,25	*-3,76375	2,92236
0,08 - 0,33	*-3,0175	2,92236
0,08 - 0,5	*-4,6175	2,92236
0,08 - 0,8	*-12,6013	2,92236
0,13 - 0,17	-1,09625	2,92236
0,13 - 0,25	*-4,1075	2,92236
0,13 - 0,33	*-3,36125	2,92236
0,13 - 0,5	*-4,96125	2,92236
0,13 - 0,8	*-12,945	2,92236
0,17 - 0,25	*-3,01125	2,92236
0,17 - 0,33	-2,265	2,92236
0,17 - 0,5	*-3,865	2,92236
0,17 - 0,8	*-11,8487	2,92236
0,25 - 0,33	0,74625	2,92236
0,25 - 0,5	-0,85375	2,92236
0,25 - 0,8	*-8,8375	2,92236
0,33 - 0,5	-1,6	2,92236
0,33 - 0,8	*-9,58375	2,92236
0,5 - 0,8	*-7,98375	2,92236

* indica una diferencia significativa.

7.5.2.- Análisis PROBIT: Determinación del valor MID.

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		72
Rechazados	Perdidos	0
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		0

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	15	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%

					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a Dilución	2,831	,075	37,840	,000	2,685	2,978
Intersección	,767	,041	18,796	,000	,726	,807

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^a	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	250,008	70	,000 ^b

a. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

b. Como el nivel de significación es menor que ,150, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Límites de confianza

Proba bilidad	Límites de confianza al 95% para Dilución			Límites de confianza al 95% para log(Dilución) ^b		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a ,010	,081	,068	,093	-1,092	-1,168	-1,030
,020	,101	,087	,114	-,996	-1,062	-,941
,030	,116	,101	,130	-,935	-,995	-,885
,040	,129	,114	,144	-,889	-,944	-,842
,050	,141	,125	,156	-,852	-,903	-,808
,060	,151	,135	,167	-,820	-,869	-,778
,070	,161	,145	,177	-,792	-,838	-,752

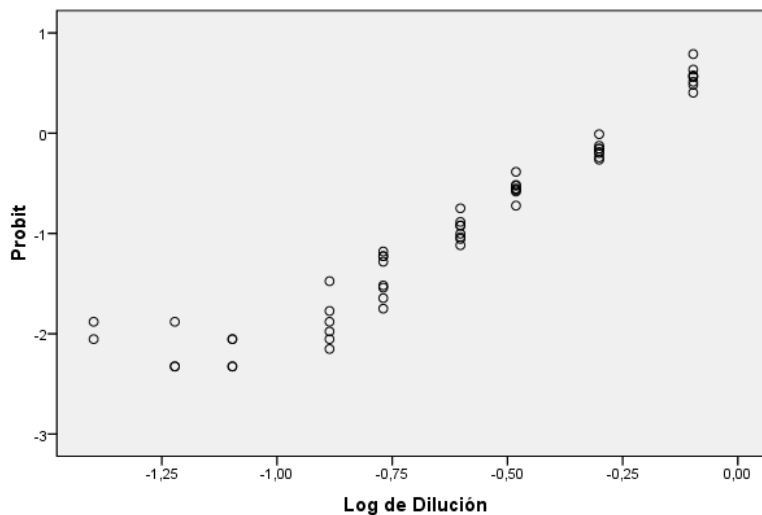
,080	,171	,154	,187	-,767	-,811	-,729
,090	,180	,163	,196	-,744	-,787	-,708
,100	,189	,172	,205	-,723	-,764	-,688
,150	,231	,213	,248	-,637	-,671	-,606
,200	,270	,252	,289	-,568	-,599	-,539
,250	,310	,290	,330	-,509	-,538	-,481
,300	,350	,328	,373	-,456	-,484	-,428
,350	,392	,367	,419	-,407	-,435	-,378
,400	,436	,408	,469	-,360	-,389	-,329
,450	,484	,451	,523	-,315	-,346	-,282
,500	,536	,498	,583	-,271	-,303	-,234
,550	,594	,548	,650	-,226	-,261	-,187
,600	,659	,604	,727	-,181	-,219	-,138
,650	,733	,668	,817	-,135	-,175	-,088
,700	,821	,742	,924	-,086	-,129	-,034
,750	,928	,831	1,056	-,033	-,080	,024
,800	1,063	,943	1,226	,026	-,026	,089
,850	1,245	1,091	1,459	,095	,038	,164
,900	1,520	1,310	1,817	,182	,117	,259
,910	1,595	1,369	1,917	,203	,136	,283
,920	1,681	1,436	2,030	,225	,157	,308
,930	1,780	1,514	2,163	,250	,180	,335

,940	1,898	1,606	2,322	,278	,206	,366
,950	2,043	1,717	2,518	,310	,235	,401
,960	2,226	1,858	2,769	,348	,269	,442
,970	2,475	2,047	3,113	,394	,311	,493
,980	2,848	2,328	3,637	,455	,367	,561
,990	3,555	2,850	4,649	,551	,455	,667

a. Se utiliza un factor de heterogeneidad.

b. Base del logaritmo = 10.

Respuestas transformadas por Probit



7.5.3.- ANOVA Simple. Valor LID.

7.5.3.1.- Valor LID. Tiempo inicial.

ANOVA Simple - T0 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T0

Factor: Dil

Número de observaciones: 78

Número de niveles: 10

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T0. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T0 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de

ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

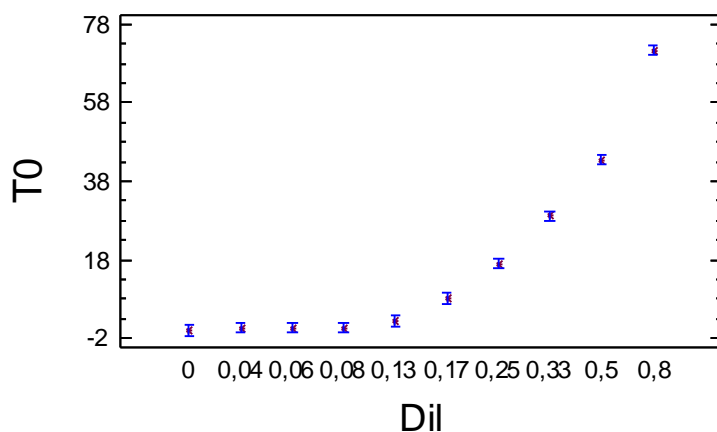


Tabla ANOVA para T0 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	40791,4	9	4532,37	723,71	0,0000
Intra grupos	425,86	68	6,26265		
Total (Corr.)	41217,2	77			

Contraste Múltiple de Rango para T0 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	6	0,0	X
0,06	8	0,625	X
0,04	8	0,625	X
0,08	8	0,75	X
0,13	8	2,4725	X
0,17	8	8,2	X
0,25	8	16,995	X
0,33	8	29,1675	X
0,5	8	43,4138	X
0,8	8	71,35	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,625	2,69692
0 - 0,06	-0,625	2,69692
0 - 0,08	-0,75	2,69692
0 - 0,13	-2,4725	2,69692
0 - 0,17	*-8,2	2,69692
0 - 0,25	*-16,995	2,69692
0 - 0,33	*-29,1675	2,69692
0 - 0,5	*-43,4138	2,69692
0 - 0,8	*-71,35	2,69692
0,04 - 0,06	0,0	2,49686
0,04 - 0,08	-0,125	2,49686
0,04 - 0,13	-1,8475	2,49686
0,04 - 0,17	*-7,575	2,49686
0,04 - 0,25	*-16,37	2,49686

0,04 - 0,33	*-28,5425	2,49686
0,04 - 0,5	*-42,7888	2,49686
0,04 - 0,8	*-70,725	2,49686
0,06 - 0,08	-0,125	2,49686
0,06 - 0,13	-1,8475	2,49686
0,06 - 0,17	*-7,575	2,49686
0,06 - 0,25	*-16,37	2,49686
0,06 - 0,33	*-28,5425	2,49686
0,06 - 0,5	*-42,7888	2,49686
0,06 - 0,8	*-70,725	2,49686
0,08 - 0,13	-1,7225	2,49686
0,08 - 0,17	*-7,45	2,49686
0,08 - 0,25	*-16,245	2,49686
0,08 - 0,33	*-28,4175	2,49686
0,08 - 0,5	*-42,6638	2,49686
0,08 - 0,8	*-70,6	2,49686
0,13 - 0,17	*-5,7275	2,49686
0,13 - 0,25	*-14,5225	2,49686
0,13 - 0,33	*-26,695	2,49686
0,13 - 0,5	*-40,9412	2,49686
0,13 - 0,8	*-68,8775	2,49686
0,17 - 0,25	*-8,795	2,49686
0,17 - 0,33	*-20,9675	2,49686
0,17 - 0,5	*-35,2138	2,49686
0,17 - 0,8	*-63,15	2,49686
0,25 - 0,33	*-12,1725	2,49686
0,25 - 0,5	*-26,4187	2,49686
0,25 - 0,8	*-54,355	2,49686
0,33 - 0,5	*-14,2463	2,49686
0,33 - 0,8	*-42,1825	2,49686
0,5 - 0,8	*-27,9362	2,49686

* indica una diferencia significativa.

7.5.3.2.- Valor LID. Tiempo 5 minutos.

ANOVA Simple - T5 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T5

Factor: Dil

Número de observaciones: 78

Número de niveles: 10

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T5. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T5 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

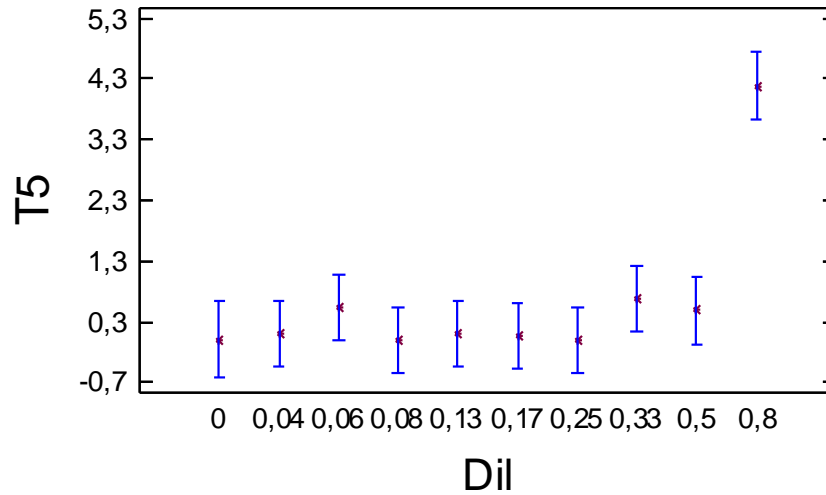


Tabla ANOVA para T5 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	117,169	9	13,0188	10,86	0,0000
Intra grupos	81,5395	68	1,19911		
Total (Corr.)	198,709	77			

Contraste Múltiple de Rango para T5 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	6	0,0	X
0,08	8	0,0	X
0,25	8	0,0	X
0,17	8	0,07375	X
0,13	8	0,105	X
0,04	8	0,11375	X
0,5	8	0,4875	X
0,06	8	0,545	X
0,33	8	0,6775	X
0,8	8	4,19	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,11375	1,1801
0 - 0,06	-0,545	1,1801
0 - 0,08	0,0	1,1801
0 - 0,13	-0,105	1,1801
0 - 0,17	-0,07375	1,1801
0 - 0,25	0,0	1,1801
0 - 0,33	-0,6775	1,1801
0 - 0,5	-0,4875	1,1801
0 - 0,8	*-4,19	1,1801
0,04 - 0,06	-0,43125	1,09256
0,04 - 0,08	0,11375	1,09256
0,04 - 0,13	0,00875	1,09256
0,04 - 0,17	0,04	1,09256
0,04 - 0,25	0,11375	1,09256
0,04 - 0,33	-0,56375	1,09256
0,04 - 0,5	-0,37375	1,09256
0,04 - 0,8	*-4,07625	1,09256
0,06 - 0,08	0,545	1,09256
0,06 - 0,13	0,44	1,09256
0,06 - 0,17	0,47125	1,09256
0,06 - 0,25	0,545	1,09256

0,06 - 0,33	-0,1325	1,09256
0,06 - 0,5	0,0575	1,09256
0,06 - 0,8	*-3,645	1,09256
0,08 - 0,13	-0,105	1,09256
0,08 - 0,17	-0,07375	1,09256
0,08 - 0,25	0,0	1,09256
0,08 - 0,33	-0,6775	1,09256
0,08 - 0,5	-0,4875	1,09256
0,08 - 0,8	*-4,19	1,09256
0,13 - 0,17	0,03125	1,09256
0,13 - 0,25	0,105	1,09256
0,13 - 0,33	-0,5725	1,09256
0,13 - 0,5	-0,3825	1,09256
0,13 - 0,8	*-4,085	1,09256
0,17 - 0,25	0,07375	1,09256
0,17 - 0,33	-0,60375	1,09256
0,17 - 0,5	-0,41375	1,09256
0,17 - 0,8	*-4,11625	1,09256
0,25 - 0,33	-0,6775	1,09256
0,25 - 0,5	-0,4875	1,09256
0,25 - 0,8	*-4,19	1,09256
0,33 - 0,5	0,19	1,09256
0,33 - 0,8	*-3,5125	1,09256
0,5 - 0,8	*-3,7025	1,09256

* indica una diferencia significativa.

7.5.3.3.- Valor LID. Tiempo 10 minutos.

ANOVA Simple - T10 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T10

Factor: Dil

Número de observaciones: 78

Número de niveles: 10

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T10. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T10 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

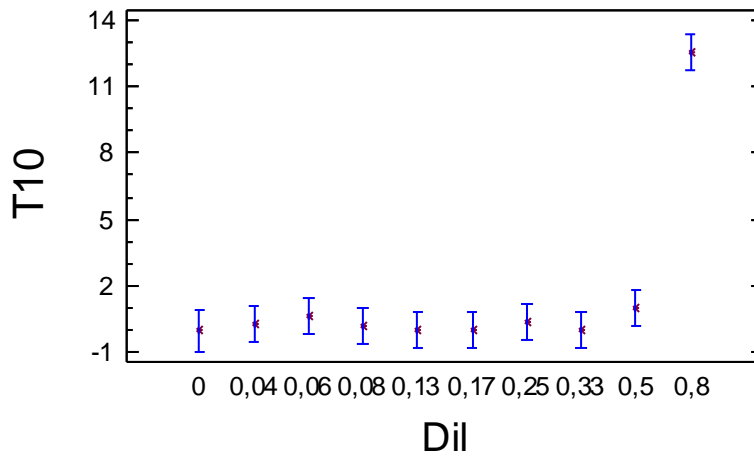


Tabla ANOVA para T10 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1088,48	9	120,942	46,28	0,0000
Intra grupos	177,694	68	2,61314		
Total (Corr.)	1266,17	77			

Contraste Múltiple de Rango para T10 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,17	8	0,0	X
0,33	8	0,0	X
0	6	0,0	X
0,13	8	0,0	X
0,08	8	0,17	X
0,04	8	0,26875	X
0,25	8	0,40375	X
0,06	8	0,62875	X
0,5	8	0,98875	X
0,8	8	12,5513	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,26875	1,74209
0 - 0,06	-0,62875	1,74209
0 - 0,08	-0,17	1,74209
0 - 0,13	0,0	1,74209
0 - 0,17	0,0	1,74209
0 - 0,25	-0,40375	1,74209
0 - 0,33	0,0	1,74209
0 - 0,5	-0,98875	1,74209
0 - 0,8	*-12,5513	1,74209
0,04 - 0,06	-0,36	1,61286
0,04 - 0,08	0,09875	1,61286
0,04 - 0,13	0,26875	1,61286
0,04 - 0,17	0,26875	1,61286
0,04 - 0,25	-0,135	1,61286
0,04 - 0,33	0,26875	1,61286
0,04 - 0,5	-0,72	1,61286
0,04 - 0,8	*-12,2825	1,61286
0,06 - 0,08	0,45875	1,61286
0,06 - 0,13	0,62875	1,61286
0,06 - 0,17	0,62875	1,61286
0,06 - 0,25	0,225	1,61286
0,06 - 0,33	0,62875	1,61286
0,06 - 0,5	-0,36	1,61286

0,06 - 0,8	*-11,9225	1,61286
0,08 - 0,13	0,17	1,61286
0,08 - 0,17	0,17	1,61286
0,08 - 0,25	-0,23375	1,61286
0,08 - 0,33	0,17	1,61286
0,08 - 0,5	-0,81875	1,61286
0,08 - 0,8	*-12,3813	1,61286
0,13 - 0,17	0,0	1,61286
0,13 - 0,25	-0,40375	1,61286
0,13 - 0,33	0,0	1,61286
0,13 - 0,5	-0,98875	1,61286
0,13 - 0,8	*-12,5513	1,61286
0,17 - 0,25	-0,40375	1,61286
0,17 - 0,33	0,0	1,61286
0,17 - 0,5	-0,98875	1,61286
0,17 - 0,8	*-12,5513	1,61286
0,25 - 0,33	0,40375	1,61286
0,25 - 0,5	-0,585	1,61286
0,25 - 0,8	*-12,1475	1,61286
0,33 - 0,5	-0,98875	1,61286
0,33 - 0,8	*-12,5513	1,61286
0,5 - 0,8	*-11,5625	1,61286

 * indica una diferencia significativa.

7.5.3.4.- Valor LID. Tiempo 20 minutos.

ANOVA Simple - T20 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T20

Factor: Dil

Número de observaciones: 78

Número de niveles: 10

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T20. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T20 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

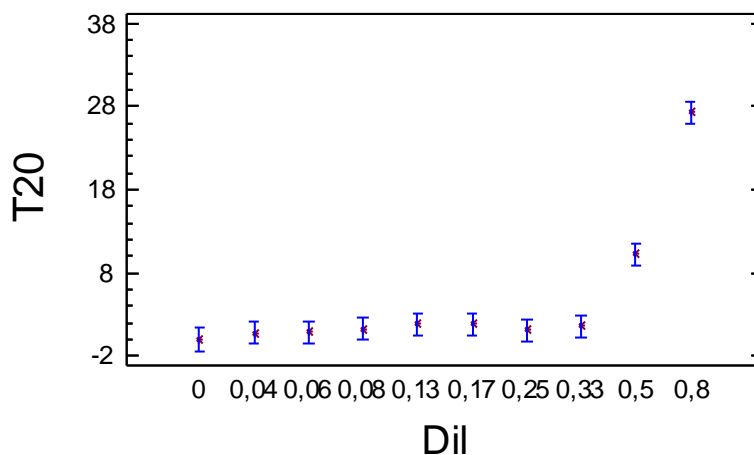


Tabla ANOVA para T20 según Dil

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	5104,97	9	567,219	81,24	0,0000
Intra grupos	474,793	68	6,98225		
Total (Corr.)	5579,76	77			

Contraste Múltiple de Rango para T20 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	6	0,0	X
0,04	8	0,7575	X
0,06	8	0,8575	X
0,25	8	1,0875	X
0,08	8	1,24125	X
0,33	8	1,56625	X
0,17	8	1,8075	X
0,13	8	1,86875	X
0,5	8	10,3025	X
0,8	8	27,255	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,7575	2,84765
0 - 0,06	-0,8575	2,84765
0 - 0,08	-1,24125	2,84765
0 - 0,13	-1,86875	2,84765
0 - 0,17	-1,8075	2,84765
0 - 0,25	-1,0875	2,84765
0 - 0,33	-1,56625	2,84765
0 - 0,5	*-10,3025	2,84765
0 - 0,8	*-27,255	2,84765
0,04 - 0,06	-0,1	2,63641
0,04 - 0,08	-0,48375	2,63641
0,04 - 0,13	-1,11125	2,63641
0,04 - 0,17	-1,05	2,63641
0,04 - 0,25	-0,33	2,63641
0,04 - 0,33	-0,80875	2,63641
0,04 - 0,5	*-9,545	2,63641
0,04 - 0,8	*-26,4975	2,63641
0,06 - 0,08	-0,38375	2,63641
0,06 - 0,13	-1,01125	2,63641
0,06 - 0,17	-0,95	2,63641
0,06 - 0,25	-0,23	2,63641
0,06 - 0,33	-0,70875	2,63641
0,06 - 0,5	*-9,445	2,63641
0,06 - 0,8	*-26,3975	2,63641
0,08 - 0,13	-0,6275	2,63641
0,08 - 0,17	-0,56625	2,63641
0,08 - 0,25	0,15375	2,63641
0,08 - 0,33	-0,325	2,63641
0,08 - 0,5	*-9,06125	2,63641
0,08 - 0,8	*-26,0137	2,63641
0,13 - 0,17	0,06125	2,63641
0,13 - 0,25	0,78125	2,63641
0,13 - 0,33	0,3025	2,63641
0,13 - 0,5	*-8,43375	2,63641
0,13 - 0,8	*-25,3863	2,63641
0,17 - 0,25	0,72	2,63641
0,17 - 0,33	0,24125	2,63641
0,17 - 0,5	*-8,495	2,63641
0,17 - 0,8	*-25,4475	2,63641
0,25 - 0,33	-0,47875	2,63641
0,25 - 0,5	*-9,215	2,63641
0,25 - 0,8	*-26,1675	2,63641
0,33 - 0,5	*-8,73625	2,63641
0,33 - 0,8	*-25,6887	2,63641
0,5 - 0,8	*-16,9525	2,63641

* indica una diferencia significativa.

7.5.3.5.- Valor LID. Tiempo 60 minutos.

ANOVA Simple - T60 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T60

Factor: Dil

Número de observaciones: 78

Número de niveles: 10

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T60. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T60 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

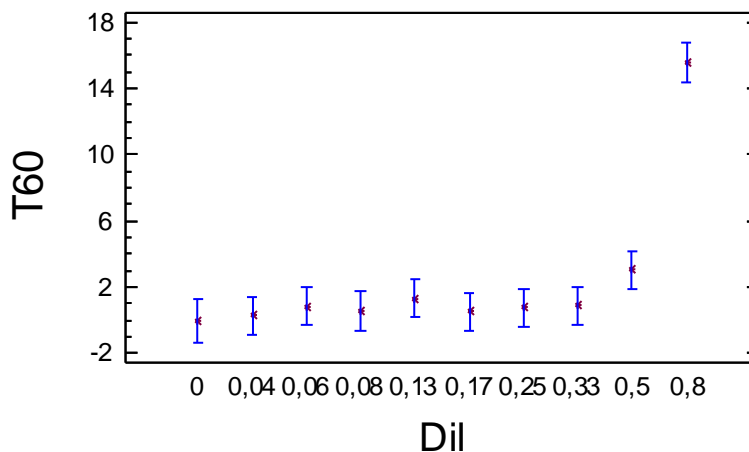


Tabla ANOVA para T60 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1583,93	9	175,992	33,30	0,0000
Intra grupos	359,419	68	5,28558		
Total (Corr.)	1943,35	77			

Contraste Múltiple de Rango para T60 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	6	0,0	X
0,04	8	0,28875	X
0,17	8	0,5	X
0,08	8	0,5625	X
0,25	8	0,78375	XX
0,06	8	0,84375	XX
0,33	8	0,91125	XX
0,13	8	1,30375	XX
0,5	8	3,06625	X
0,8	8	15,5663	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,28875	2,47762
0 - 0,06	-0,84375	2,47762
0 - 0,08	-0,5625	2,47762
0 - 0,13	-1,30375	2,47762
0 - 0,17	-0,5	2,47762
0 - 0,25	-0,78375	2,47762
0 - 0,33	-0,91125	2,47762
0 - 0,5	*-3,06625	2,47762
0 - 0,8	*-15,5663	2,47762
0,04 - 0,06	-0,555	2,29383
0,04 - 0,08	-0,27375	2,29383
0,04 - 0,13	-1,015	2,29383
0,04 - 0,17	-0,21125	2,29383
0,04 - 0,25	-0,495	2,29383
0,04 - 0,33	-0,6225	2,29383
0,04 - 0,5	*-2,7775	2,29383
0,04 - 0,8	*-15,2775	2,29383
0,06 - 0,08	0,28125	2,29383
0,06 - 0,13	-0,46	2,29383
0,06 - 0,17	0,34375	2,29383
0,06 - 0,25	0,06	2,29383
0,06 - 0,33	-0,0675	2,29383
0,06 - 0,5	-2,2225	2,29383
0,06 - 0,8	*-14,7225	2,29383
0,08 - 0,13	-0,74125	2,29383
0,08 - 0,17	0,0625	2,29383
0,08 - 0,25	-0,22125	2,29383
0,08 - 0,33	-0,34875	2,29383
0,08 - 0,5	*-2,50375	2,29383
0,08 - 0,8	*-15,0038	2,29383
0,13 - 0,17	0,80375	2,29383
0,13 - 0,25	0,52	2,29383
0,13 - 0,33	0,3925	2,29383
0,13 - 0,5	-1,7625	2,29383
0,13 - 0,8	*-14,2625	2,29383
0,17 - 0,25	-0,28375	2,29383
0,17 - 0,33	-0,41125	2,29383
0,17 - 0,5	*-2,56625	2,29383
0,17 - 0,8	*-15,0663	2,29383
0,25 - 0,33	-0,1275	2,29383
0,25 - 0,5	-2,2825	2,29383
0,25 - 0,8	*-14,7825	2,29383
0,33 - 0,5	-2,155	2,29383
0,33 - 0,8	*-14,655	2,29383
0,5 - 0,8	*-12,5	2,29383

* indica una diferencia significativa.

7.5.3.6.- Valor LID. Tiempo 120 minutos.

ANOVA Simple - T120 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T120

Factor: Dil

Número de observaciones: 78

Número de niveles: 10

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T120. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T120 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las

asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

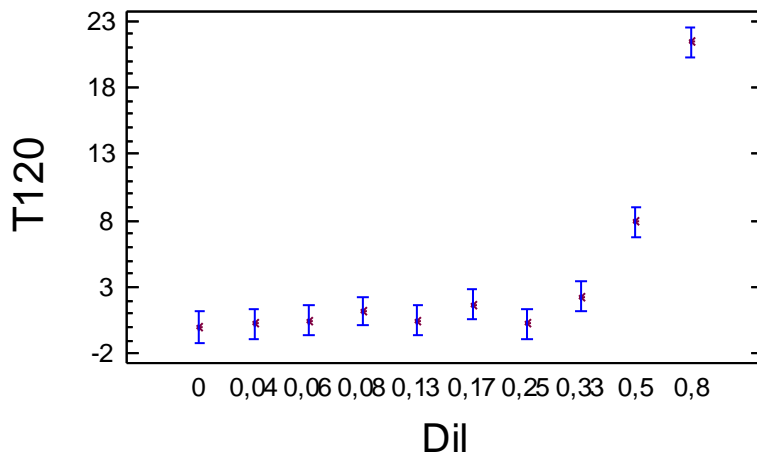


Tabla ANOVA para T120 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3186,06	9	354,007	72,30	0,0000
Intra grupos	332,969	68	4,8966		
Total (Corr.)	3519,03	77			

Contraste Múltiple de Rango para T120 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	6	0,0	X
0,04	8	0,24875	X
0,25	8	0,25625	X
0,06	8	0,475	X
0,13	8	0,52	X
0,08	8	1,1875	X
0,17	8	1,70625	X
0,33	8	2,28125	X
0,5	8	7,925	X
0,8	8	21,4075	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,24875	2,38472
0 - 0,06	-0,475	2,38472
0 - 0,08	-1,1875	2,38472
0 - 0,13	-0,52	2,38472
0 - 0,17	-1,70625	2,38472
0 - 0,25	-0,25625	2,38472
0 - 0,33	-2,28125	2,38472
0 - 0,5	*-7,925	2,38472
0 - 0,8	*-21,4075	2,38472
0,04 - 0,06	-0,22625	2,20782
0,04 - 0,08	-0,93875	2,20782
0,04 - 0,13	-0,27125	2,20782
0,04 - 0,17	-1,4575	2,20782
0,04 - 0,25	-0,0075	2,20782
0,04 - 0,33	-2,0325	2,20782
0,04 - 0,5	*-7,67625	2,20782
0,04 - 0,8	*-21,1588	2,20782
0,06 - 0,08	-0,7125	2,20782
0,06 - 0,13	-0,045	2,20782
0,06 - 0,17	-1,23125	2,20782
0,06 - 0,25	0,21875	2,20782

0,06 - 0,33	-1,80625	2,20782
0,06 - 0,5	*-7,45	2,20782
0,06 - 0,8	*-20,9325	2,20782
0,08 - 0,13	0,6675	2,20782
0,08 - 0,17	-0,51875	2,20782
0,08 - 0,25	0,93125	2,20782
0,08 - 0,33	-1,09375	2,20782
0,08 - 0,5	*-6,7375	2,20782
0,08 - 0,8	*-20,22	2,20782
0,13 - 0,17	-1,18625	2,20782
0,13 - 0,25	0,26375	2,20782
0,13 - 0,33	-1,76125	2,20782
0,13 - 0,5	*-7,405	2,20782
0,13 - 0,8	*-20,8875	2,20782
0,17 - 0,25	1,45	2,20782
0,17 - 0,33	-0,575	2,20782
0,17 - 0,5	*-6,21875	2,20782
0,17 - 0,8	*-19,7013	2,20782
0,25 - 0,33	-2,025	2,20782
0,25 - 0,5	*-7,66875	2,20782
0,25 - 0,8	*-21,1513	2,20782
0,33 - 0,5	*-5,64375	2,20782
0,33 - 0,8	*-19,1263	2,20782
0,5 - 0,8	*-13,4825	2,20782

 * indica una diferencia significativa.

7.5.3.7.- Valor LID. Tiempo 180 minutos.

ANOVA Simple - T180 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T180
 Factor: Dil

Número de observaciones: 78
 Número de niveles: 10

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T180. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T180 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

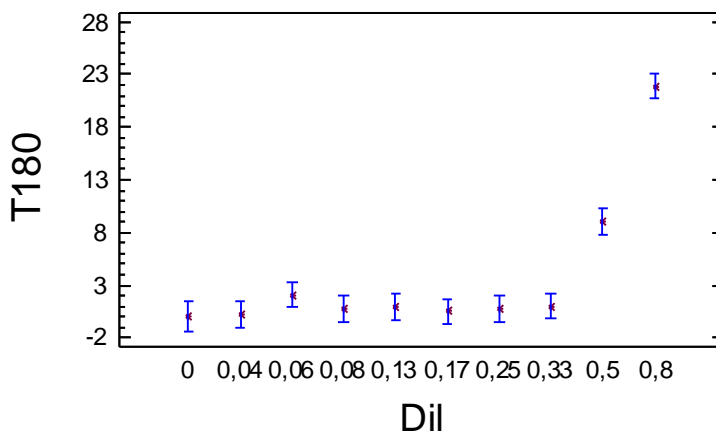


Tabla ANOVA para T180 según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3419,75	9	379,972	64,78	0,0000
Intra grupos	398,835	68	5,86522		
Total (Corr.)	3818,58	77			

Contraste Múltiple de Rango para T180 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	6	0,0	X
0,04	8	0,24375	X
0,17	8	0,5025	X
0,25	8	0,72375	X
0,08	8	0,7325	X
0,13	8	0,95875	X
0,33	8	0,98	X
0,06	8	2,07625	X
0,5	8	9,04875	X
0,8	8	21,9025	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,04	-0,24375	2,60995
0 - 0,06	-2,07625	2,60995
0 - 0,08	-0,7325	2,60995
0 - 0,13	-0,95875	2,60995
0 - 0,17	-0,5025	2,60995
0 - 0,25	-0,72375	2,60995
0 - 0,33	-0,98	2,60995
0 - 0,5	*-9,04875	2,60995
0 - 0,8	*-21,9025	2,60995
0,04 - 0,06	-1,8325	2,41634
0,04 - 0,08	-0,48875	2,41634
0,04 - 0,13	-0,715	2,41634
0,04 - 0,17	-0,25875	2,41634
0,04 - 0,25	-0,48	2,41634
0,04 - 0,33	-0,73625	2,41634
0,04 - 0,5	*-8,805	2,41634
0,04 - 0,8	*-21,6588	2,41634
0,06 - 0,08	1,34375	2,41634
0,06 - 0,13	1,1175	2,41634
0,06 - 0,17	1,57375	2,41634
0,06 - 0,25	1,3525	2,41634
0,06 - 0,33	1,09625	2,41634
0,06 - 0,5	*-6,9725	2,41634
0,06 - 0,8	*-19,8263	2,41634
0,08 - 0,13	-0,22625	2,41634
0,08 - 0,17	0,23	2,41634
0,08 - 0,25	0,00875	2,41634
0,08 - 0,33	-0,2475	2,41634
0,08 - 0,5	*-8,31625	2,41634
0,08 - 0,8	*-21,17	2,41634
0,13 - 0,17	0,45625	2,41634
0,13 - 0,25	0,235	2,41634
0,13 - 0,33	-0,02125	2,41634
0,13 - 0,5	*-8,09	2,41634
0,13 - 0,8	*-20,9438	2,41634
0,17 - 0,25	-0,22125	2,41634
0,17 - 0,33	-0,4775	2,41634
0,17 - 0,5	*-8,54625	2,41634
0,17 - 0,8	*-21,4	2,41634
0,25 - 0,33	-0,25625	2,41634
0,25 - 0,5	*-8,325	2,41634
0,25 - 0,8	*-21,1788	2,41634
0,33 - 0,5	*-8,06875	2,41634
0,33 - 0,8	*-20,9225	2,41634
0,5 - 0,8	*-12,8538	2,41634

* indica una diferencia significativa.

7.5.3.8.- Valor LID. Tiempo 210 minutos.

ANOVA Simple - T210 según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T210
Factor: Dil

Número de observaciones: 78
Número de niveles: 10

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para T210. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de T210 para los 10 diferentes niveles de Dil. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

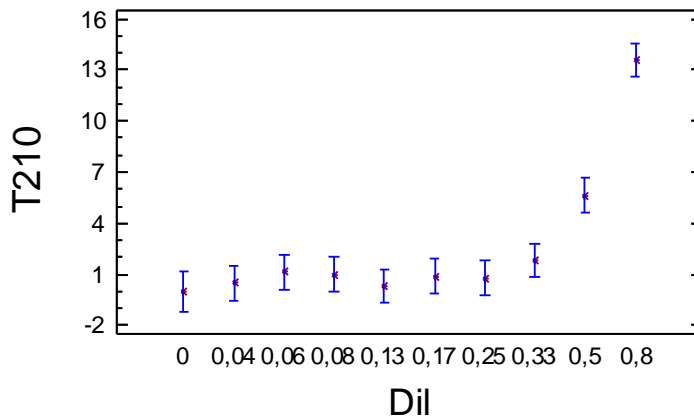


Tabla ANOVA para T210 según Dil

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor	
Entre grupos	1250,37	9	138,93	33,11	0,0000	
Intra grupos	285,357	68	4,19642			
Total (Corr.)	1535,73	77				

Contraste Múltiple de Rango para T210 según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos	
0	6	0,0	X	
0,13	8	0,305	X	
0,04	8	0,49875	X	
0,25	8	0,7525	X	
0,17	8	0,86375	X	
0,08	8	0,98875	X	
0,06	8	1,1525	X	
0,33	8	1,8175	X	
0,5	8	5,60625	X	
0,8	8	13,59	X	

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
-----------	-------------	-----	---------

0 - 0,04	-0,49875	2,20764
0 - 0,06	-1,1525	2,20764
0 - 0,08	-0,98875	2,20764
0 - 0,13	-0,305	2,20764
0 - 0,17	-0,86375	2,20764
0 - 0,25	-0,7525	2,20764
0 - 0,33	-1,8175	2,20764
0 - 0,5	*-5,60625	2,20764
0 - 0,8	*-13,59	2,20764
0,04 - 0,06	-0,65375	2,04388
0,04 - 0,08	-0,49	2,04388
0,04 - 0,13	0,19375	2,04388
0,04 - 0,17	-0,365	2,04388
0,04 - 0,25	-0,25375	2,04388
0,04 - 0,33	-1,31875	2,04388
0,04 - 0,5	*-5,1075	2,04388
0,04 - 0,8	*-13,0913	2,04388
0,06 - 0,08	0,16375	2,04388
0,06 - 0,13	0,8475	2,04388
0,06 - 0,17	0,28875	2,04388
0,06 - 0,25	0,4	2,04388
0,06 - 0,33	-0,665	2,04388
0,06 - 0,5	*-4,45375	2,04388
0,06 - 0,8	*-12,4375	2,04388
0,08 - 0,13	0,68375	2,04388
0,08 - 0,17	0,125	2,04388
0,08 - 0,25	0,23625	2,04388
0,08 - 0,33	-0,82875	2,04388
0,08 - 0,5	*-4,6175	2,04388
0,08 - 0,8	*-12,6013	2,04388
0,13 - 0,17	-0,55875	2,04388
0,13 - 0,25	-0,4475	2,04388
0,13 - 0,33	-1,5125	2,04388
0,13 - 0,5	*-5,30125	2,04388
0,13 - 0,8	*-13,285	2,04388
0,17 - 0,25	0,11125	2,04388
0,17 - 0,33	-0,95375	2,04388
0,17 - 0,5	*-4,7425	2,04388
0,17 - 0,8	*-12,7263	2,04388
0,25 - 0,33	-1,065	2,04388
0,25 - 0,5	*-4,85375	2,04388
0,25 - 0,8	*-12,8375	2,04388
0,33 - 0,5	*-3,78875	2,04388
0,33 - 0,8	*-11,7725	2,04388
0,5 - 0,8	*-7,98375	2,04388

* indica una diferencia significativa.

7.6.- Ensayo de toxicidad de *Eisenia fetida*

7.6.1.- ANOVA Simple. Tiempo de ensayo (días) según tiempo (minutos)

7.6.1.1.- ANOVA Simple. Día 0.

ANOVA Simple - día 0 según Tiempo

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: día 0

Factor: Tiempo

Número de observaciones: 29

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para día 0. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de día 0 para los 9 diferentes niveles de Tiempo. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de

los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

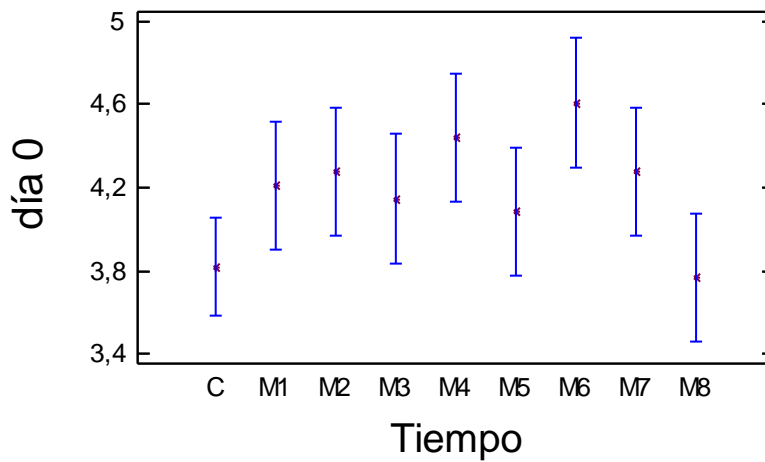


Tabla ANOVA para día 0 según Tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,98206	8	0,247757	1,89	0,1191
Intra grupos	2,6256	20	0,13128		
Total (Corr.)	4,60766	28			

Contraste Múltiple de Rango para día 0 según Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M8	3	3,77	X
C	5	3,82	X
M5	3	4,08333	XX
M3	3	4,14667	XX
M1	3	4,20667	XX
M2	3	4,27667	XX
M7	3	4,28	XX
M4	3	4,44333	X
M6	3	4,60667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
C - M1	-0,386667	0,551958
C - M2	-0,456667	0,551958
C - M3	-0,326667	0,551958
C - M4	*-0,623333	0,551958
C - M5	-0,263333	0,551958
C - M6	*-0,786667	0,551958
C - M7	-0,46	0,551958
C - M8	0,05	0,551958
M1 - M2	-0,07	0,617108
M1 - M3	0,06	0,617108
M1 - M4	-0,236667	0,617108
M1 - M5	0,123333	0,617108
M1 - M6	-0,4	0,617108
M1 - M7	-0,0733333	0,617108
M1 - M8	0,436667	0,617108
M2 - M3	0,13	0,617108
M2 - M4	-0,166667	0,617108
M2 - M5	0,193333	0,617108
M2 - M6	-0,33	0,617108
M2 - M7	-0,00333333	0,617108
M2 - M8	0,506667	0,617108

M3 - M4	-0,296667	0,617108
M3 - M5	0,0633333	0,617108
M3 - M6	-0,46	0,617108
M3 - M7	-0,133333	0,617108
M3 - M8	0,376667	0,617108
M4 - M5	0,36	0,617108
M4 - M6	-0,163333	0,617108
M4 - M7	0,163333	0,617108
M4 - M8	*0,673333	0,617108
M5 - M6	-0,523333	0,617108
M5 - M7	-0,196667	0,617108
M5 - M8	0,313333	0,617108
M6 - M7	0,326667	0,617108
M6 - M8	*0,836667	0,617108
M7 - M8	0,51	0,617108

 * indica una diferencia significativa.

7.6.1.2.- ANOVA Simple. Día 7.

ANOVA Simple - día 7 según Tiempo

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: día 7
 Factor: Tiempo

Número de observaciones: 29
 Número de niveles: 9

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para día 7. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de día 7 para los 9 diferentes niveles de Tiempo. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

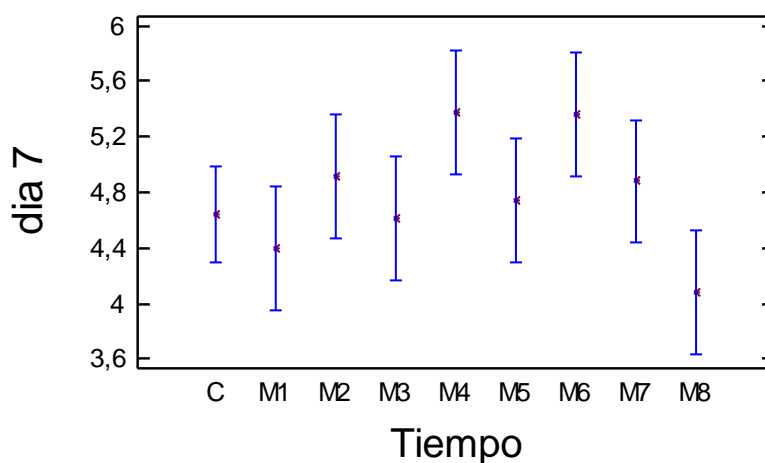


Tabla ANOVA para día 7 según Tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	4,308	8	0,5385	1,98	0,1036

Intra grupos 5,45115 20 0,272557

 Total (Corr.) 9,75914 28
 Contraste Múltiple de Rango para día 7 según Tiempo

 Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M8	3	4,07667	X
M1	3	4,39333	X
M3	3	4,61	XX
C	5	4,642	XX
M5	3	4,74333	XX
M7	3	4,88	XX
M2	3	4,91	XX
M6	3	5,36667	X
M4	3	5,38	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
C - M1	0,248667	0,795309
C - M2	-0,268	0,795309
C - M3	0,032	0,795309
C - M4	-0,738	0,795309
C - M5	-0,101333	0,795309
C - M6	-0,724667	0,795309
C - M7	-0,238	0,795309
C - M8	0,565333	0,795309
M1 - M2	-0,516667	0,889183
M1 - M3	-0,216667	0,889183
M1 - M4	*-0,986667	0,889183
M1 - M5	-0,35	0,889183
M1 - M6	*-0,973333	0,889183
M1 - M7	-0,486667	0,889183
M1 - M8	0,316667	0,889183
M2 - M3	0,3	0,889183
M2 - M4	-0,47	0,889183
M2 - M5	0,166667	0,889183
M2 - M6	-0,456667	0,889183
M2 - M7	0,03	0,889183
M2 - M8	0,833333	0,889183
M3 - M4	-0,77	0,889183
M3 - M5	-0,133333	0,889183
M3 - M6	-0,756667	0,889183
M3 - M7	-0,27	0,889183
M3 - M8	0,533333	0,889183
M4 - M5	0,636667	0,889183
M4 - M6	0,0133333	0,889183
M4 - M7	0,5	0,889183
M4 - M8	*1,30333	0,889183
M5 - M6	-0,623333	0,889183
M5 - M7	-0,136667	0,889183
M5 - M8	0,666667	0,889183
M6 - M7	0,486667	0,889183
M6 - M8	*1,29	0,889183
M7 - M8	0,803333	0,889183

 * indica una diferencia significativa.

7.6.1.3.- ANOVA Simple. Día 14.

ANOVA Simple - día 14 según Tiempo

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: día 14
 Factor: Tiempo

Número de observaciones: 29
 Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para día 14. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de día 14 para los 9 diferentes niveles de Tiempo. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

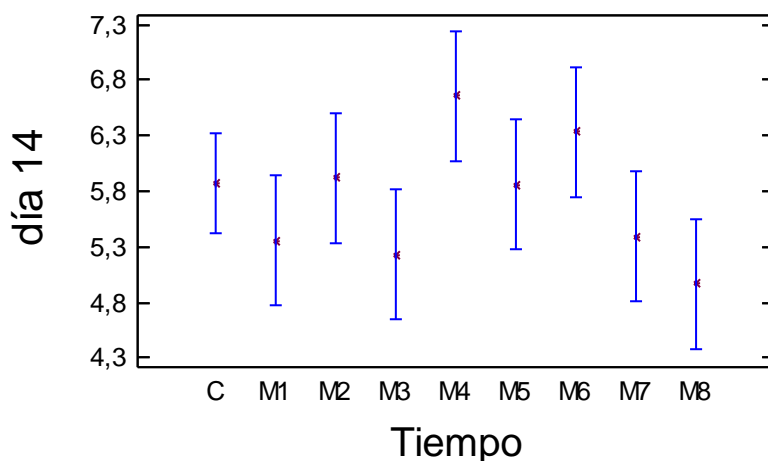


Tabla ANOVA para día 14 según Tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	7,19986	8	0,899982	1,90	0,1165
Intra grupos	9,46652	20	0,473326		
Total (Corr.)	16,6664	28			

Contraste Múltiple de Rango para día 14 según Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M8	3	4,97	X
M3	3	5,22667	XX
M1	3	5,35667	XX
M7	3	5,39333	XX
M5	3	5,85667	XXX
C	5	5,876	XXX
M2	3	5,92333	XXX
M6	3	6,33333	XX
M4	3	6,66	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
C - M1	0,519333	1,04806
C - M2	-0,0473333	1,04806
C - M3	0,649333	1,04806
C - M4	-0,784	1,04806
C - M5	0,0193333	1,04806
C - M6	-0,457333	1,04806
C - M7	0,482667	1,04806
C - M8	0,906	1,04806
M1 - M2	-0,566667	1,17177
M1 - M3	0,13	1,17177
M1 - M4	*-1,30333	1,17177
M1 - M5	-0,5	1,17177

M1 - M6	-0,976667	1,17177
M1 - M7	-0,0366667	1,17177
M1 - M8	0,386667	1,17177
M2 - M3	0,696667	1,17177
M2 - M4	-0,736667	1,17177
M2 - M5	0,0666667	1,17177
M2 - M6	-0,41	1,17177
M2 - M7	0,53	1,17177
M2 - M8	0,953333	1,17177
M3 - M4	*-1,43333	1,17177
M3 - M5	-0,63	1,17177
M3 - M6	-1,10667	1,17177
M3 - M7	-0,166667	1,17177
M3 - M8	0,256667	1,17177
M4 - M5	0,803333	1,17177
M4 - M6	0,326667	1,17177
M4 - M7	*1,26667	1,17177
M4 - M8	*1,69	1,17177
M5 - M6	-0,476667	1,17177
M5 - M7	0,463333	1,17177
M5 - M8	0,886667	1,17177
M6 - M7	0,94	1,17177
M6 - M8	*1,36333	1,17177
M7 - M8	0,423333	1,17177

 * indica una diferencia significativa.

7.6.1.4.- ANOVA Simple. Día 21.

ANOVA Simple - día 21 según Tiempo

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: día 21

Factor: Tiempo

Número de observaciones: 29

Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para día 21. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de día 21 para los 9 diferentes niveles de Tiempo. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

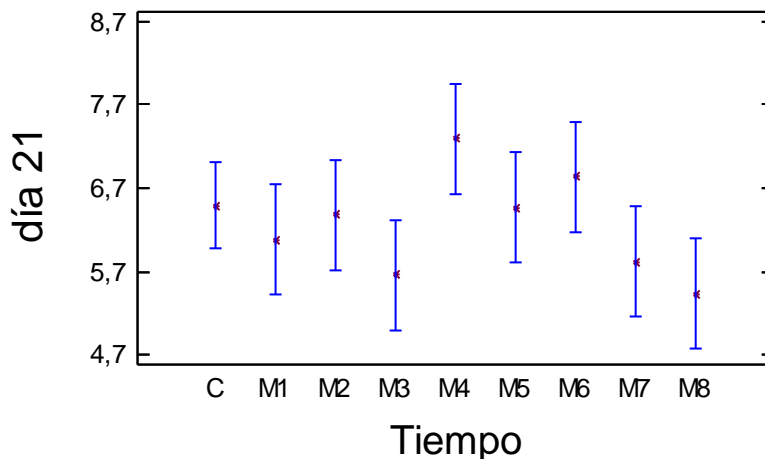


Tabla ANOVA para día 21 según Tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	8,43249	8	1,05406	1,75	0,1485
Intra grupos	12,0655	20	0,603273		
Total (Corr.)	20,4979	28			

Contraste Múltiple de Rango para día 21 según Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M8	3	5,43333	X
M3	3	5,66	XX
M7	3	5,81667	XX
M1	3	6,08	XXX
M2	3	6,38	XXX
M5	3	6,46667	XXX
C	5	6,496	XXX
M6	3	6,83333	XX
M4	3	7,29333	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
C - M1	0,416	1,18322
C - M2	0,116	1,18322
C - M3	0,836	1,18322
C - M4	-0,797333	1,18322
C - M5	0,0293333	1,18322
C - M6	-0,337333	1,18322
C - M7	0,679333	1,18322
C - M8	1,06267	1,18322
M1 - M2	-0,3	1,32287
M1 - M3	0,42	1,32287
M1 - M4	-1,21333	1,32287
M1 - M5	-0,386667	1,32287
M1 - M6	-0,753333	1,32287
M1 - M7	0,263333	1,32287
M1 - M8	0,646667	1,32287
M2 - M3	0,72	1,32287
M2 - M4	-0,913333	1,32287
M2 - M5	-0,0866667	1,32287
M2 - M6	-0,453333	1,32287
M2 - M7	0,563333	1,32287
M2 - M8	0,946667	1,32287
M3 - M4	*-1,63333	1,32287
M3 - M5	-0,806667	1,32287
M3 - M6	-1,17333	1,32287
M3 - M7	-0,156667	1,32287
M3 - M8	0,226667	1,32287
M4 - M5	0,826667	1,32287
M4 - M6	0,46	1,32287
M4 - M7	*1,47667	1,32287
M4 - M8	*1,86	1,32287
M5 - M6	-0,366667	1,32287
M5 - M7	0,65	1,32287
M5 - M8	1,03333	1,32287
M6 - M7	1,01667	1,32287
M6 - M8	*1,4	1,32287
M7 - M8	0,383333	1,32287

* indica una diferencia significativa.

7.6.1.5.- ANOVA Simple. Día 28.

ANOVA Simple - día 28 según Tiempo

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: día 28

Factor: Tiempo

Número de observaciones: 29
 Número de niveles: 9

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para día 28. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de día 28 para los 9 diferentes niveles de Tiempo. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

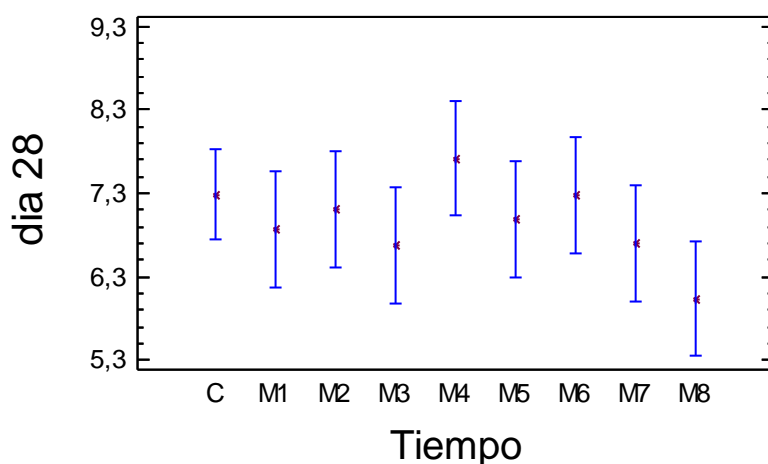


Tabla ANOVA para día 28 según Tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	5,6245	8	0,703062	1,06	0,4288
Intra grupos	13,2888	20	0,664439		
Total (Corr.)	18,9133	28			

Contraste Múltiple de Rango para día 28 según Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M8	3	6,04	X
M3	3	6,68	XX
M7	3	6,69333	XX
M1	3	6,87667	XX
M5	3	6,99333	XX
M2	3	7,11	XX
M6	3	7,27667	XX
C	5	7,286	X
M4	3	7,72	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
C - M1	0,409333	1,24175
C - M2	0,176	1,24175
C - M3	0,606	1,24175
C - M4	-0,434	1,24175
C - M5	0,292667	1,24175
C - M6	0,00933333	1,24175

C - M7	0,592667	1,24175
C - M8	*1,246	1,24175
M1 - M2	-0,233333	1,38832
M1 - M3	0,196667	1,38832
M1 - M4	-0,843333	1,38832
M1 - M5	-0,116667	1,38832
M1 - M6	-0,4	1,38832
M1 - M7	0,183333	1,38832
M1 - M8	0,836667	1,38832
M2 - M3	0,43	1,38832
M2 - M4	-0,61	1,38832
M2 - M5	0,116667	1,38832
M2 - M6	-0,166667	1,38832
M2 - M7	0,416667	1,38832
M2 - M8	1,07	1,38832
M3 - M4	-1,04	1,38832
M3 - M5	-0,313333	1,38832
M3 - M6	-0,596667	1,38832
M3 - M7	-0,0133333	1,38832
M3 - M8	0,64	1,38832
M4 - M5	0,726667	1,38832
M4 - M6	0,443333	1,38832
M4 - M7	1,02667	1,38832
M4 - M8	*1,68	1,38832
M5 - M6	-0,283333	1,38832
M5 - M7	0,3	1,38832
M5 - M8	0,953333	1,38832
M6 - M7	0,583333	1,38832
M6 - M8	1,23667	1,38832
M7 - M8	0,653333	1,38832

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.- ANOVA Simple. Tiempo de tratamiento (minutos) según día de ensayo

7.6.2.1.- ANOVA Simple. Muestra1

ANOVA Simple - M1 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M1

Factor: Días

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M1. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M1 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

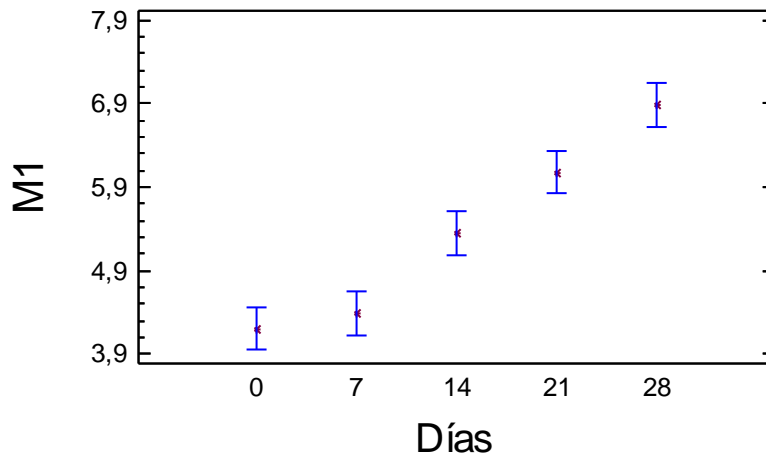


Tabla ANOVA para M1 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	15,2422	4	3,81056	46,01	0,0000
Intra grupos	0,828267	10	0,0828267		
Total (Corr.)	16,0705	14			

Contraste Múltiple de Rango para M1 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,20667	X
7	3	4,39333	X
14	3	5,35667	X
21	3	6,08	X
28	3	6,87667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,186667	0,52358
0 - 14	*-1,15	0,52358
0 - 21	*-1,87333	0,52358
0 - 28	*-2,67	0,52358
7 - 14	*-0,963333	0,52358
7 - 21	*-1,68667	0,52358
7 - 28	*-2,48333	0,52358
14 - 21	*-0,723333	0,52358
14 - 28	*-1,52	0,52358
21 - 28	*-0,796667	0,52358

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.2.- ANOVA Simple. Muestra2

ANOVA Simple - M2 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M2

Factor: Días

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para

M2. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M2 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

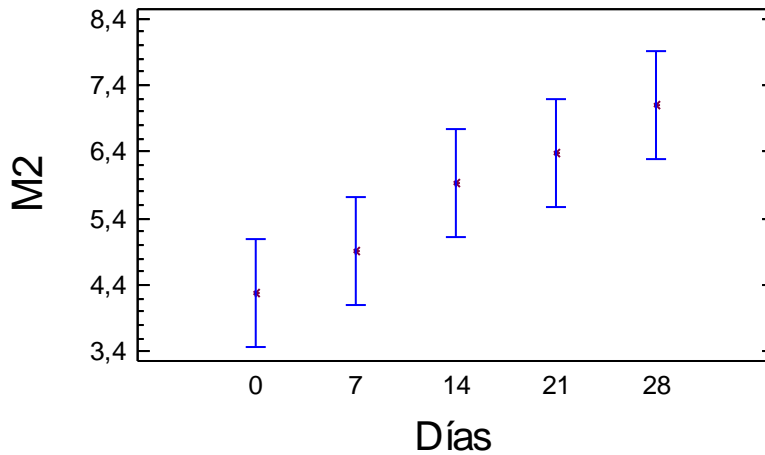


Tabla ANOVA para M2 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	15,4451	4	3,86127	4,93	0,0186
Intra grupos	7,83513	10	0,783513		
Total (Corr.)	23,2802	14			

Contraste Múltiple de Rango para M2 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,27667	X
7	3	4,91	XX
14	3	5,92333	XX
21	3	6,38	XX
28	3	7,11	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,633333	1,61035
0 - 14	*-1,64667	1,61035
0 - 21	*-2,10333	1,61035
0 - 28	*-2,83333	1,61035
7 - 14	-1,01333	1,61035
7 - 21	-1,47	1,61035
7 - 28	*-2,2	1,61035
14 - 21	-0,456667	1,61035
14 - 28	-1,18667	1,61035
21 - 28	-0,73	1,61035

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.3.- ANOVA Simple. Muestra3

ANOVA Simple - M3 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M3
Factor: Días

Número de observaciones: 15
Número de niveles: 5

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M3. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M3 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

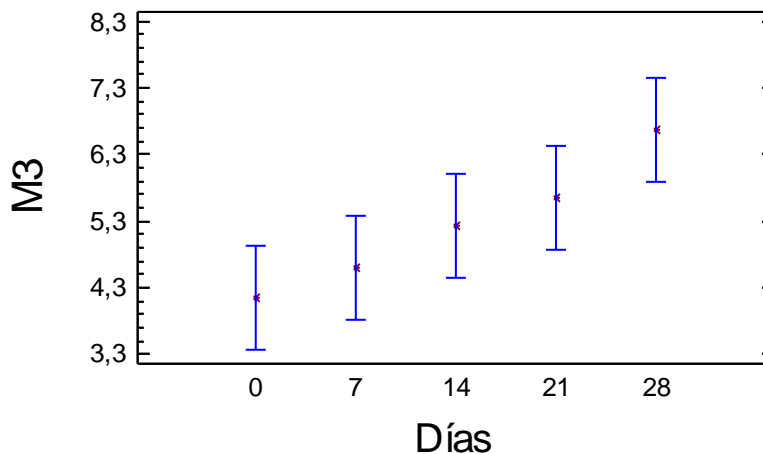


Tabla ANOVA para M3 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	11,5182	4	2,87956	3,94	0,0357
Intra grupos	7,30193	10	0,730193		
Total (Corr.)	18,8202	14			

Contraste Múltiple de Rango para M3 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,14667	X
7	3	4,61	X
14	3	5,22667	XX
21	3	5,66	XX
28	3	6,68	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,463333	1,55459
0 - 14	-1,08	1,55459
0 - 21	-1,51333	1,55459

0 - 28	*-2,53333	1,55459
7 - 14	-0,616667	1,55459
7 - 21	-1,05	1,55459
7 - 28	*-2,07	1,55459
14 - 21	-0,433333	1,55459
14 - 28	-1,45333	1,55459
21 - 28	-1,02	1,55459

 * indica una diferencia significativa.

7.6.2.4.- ANOVA Simple. Muestra4

ANOVA Simple - M4 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M4

Factor: Días

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M4. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M4 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

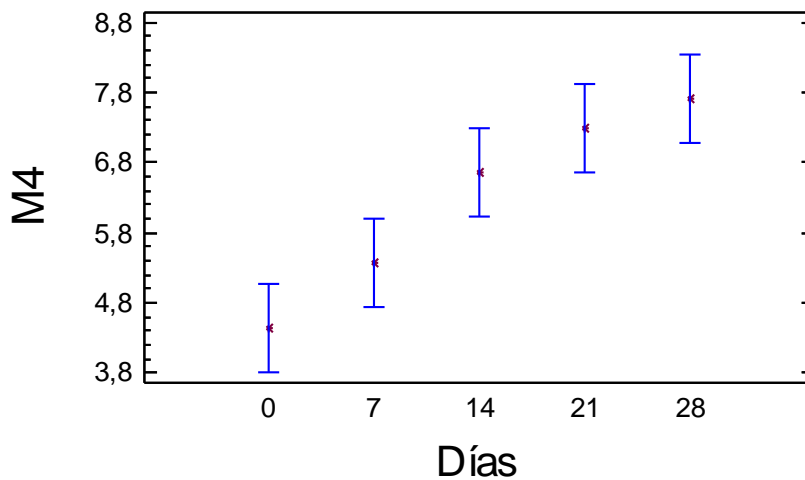


Tabla ANOVA para M4 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	22,279	4	5,56974	11,79	0,0008
Intra grupos	4,72373	10	0,472373		
Total (Corr.)	27,0027	14			

Contraste Múltiple de Rango para M4 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,44333	X
7	3	5,38	X
14	3	6,66	X
21	3	7,29333	X
28	3	7,72	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,936667	1,25038
0 - 14	*-2,21667	1,25038
0 - 21	*-2,85	1,25038
0 - 28	*-3,27667	1,25038
7 - 14	*-1,28	1,25038
7 - 21	*-1,91333	1,25038
7 - 28	*-2,34	1,25038
14 - 21	-0,633333	1,25038
14 - 28	-1,06	1,25038
21 - 28	-0,426667	1,25038

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.5.- ANOVA Simple. Muestra5

ANOVA Simple - M5 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M5

Factor: Días

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M5. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M5 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

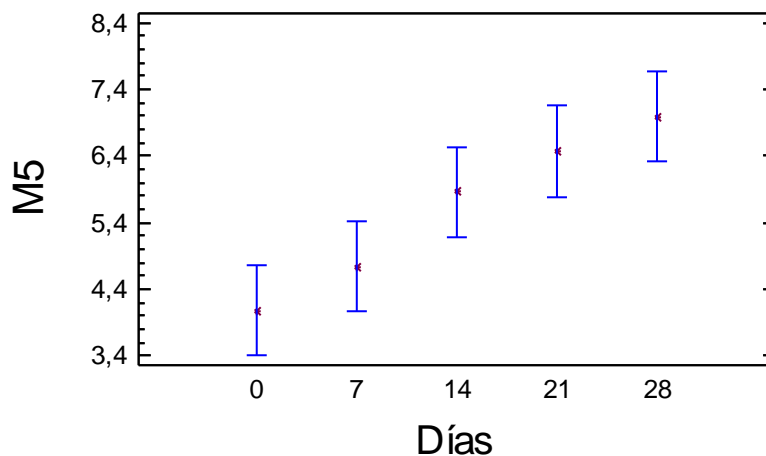


Tabla ANOVA para M5 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	17,3652	4	4,34131	7,75	0,0041
Intra grupos	5,60033	10	0,560033		
Total (Corr.)	22,9656	14			

Contraste Múltiple de Rango para M5 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,08333	X
7	3	4,74333	XX
14	3	5,85667	XX
21	3	6,46667	X
28	3	6,99333	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,66	1,36146
0 - 14	*-1,77333	1,36146
0 - 21	*-2,38333	1,36146
0 - 28	*-2,91	1,36146
7 - 14	-1,11333	1,36146
7 - 21	*-1,72333	1,36146
7 - 28	*-2,25	1,36146
14 - 21	-0,61	1,36146
14 - 28	-1,13667	1,36146
21 - 28	-0,526667	1,36146

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.6.- ANOVA Simple. Muestra6

ANOVA Simple - M6 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M6

Factor: Días

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M6. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M6 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

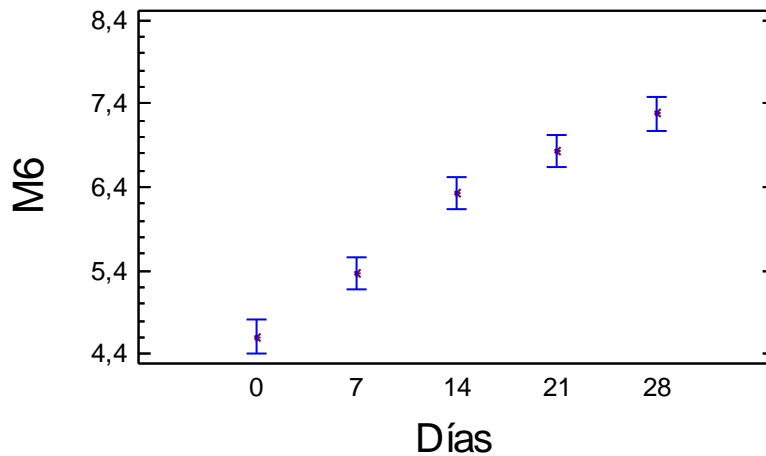


Tabla ANOVA para M6 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	14,2296	4	3,5574	74,87	0,0000
Intra grupos	0,475133	10	0,0475133		
Total (Corr.)	14,7047	14			

Contraste Múltiple de Rango para M6 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,60667	X
7	3	5,36667	X
14	3	6,33333	X
21	3	6,83333	X
28	3	7,27667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	*-0,76	0,396557
0 - 14	*-1,72667	0,396557
0 - 21	*-2,22667	0,396557
0 - 28	*-2,67	0,396557
7 - 14	*-0,96667	0,396557
7 - 21	*-1,46667	0,396557
7 - 28	*-1,91	0,396557
14 - 21	*-0,5	0,396557
14 - 28	*-0,943333	0,396557
21 - 28	*-0,443333	0,396557

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.7.- ANOVA Simple. Muestra7

ANOVA Simple - M7 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M7
Factor: Días

Número de observaciones: 15
Número de niveles: 5

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M7. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M7 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

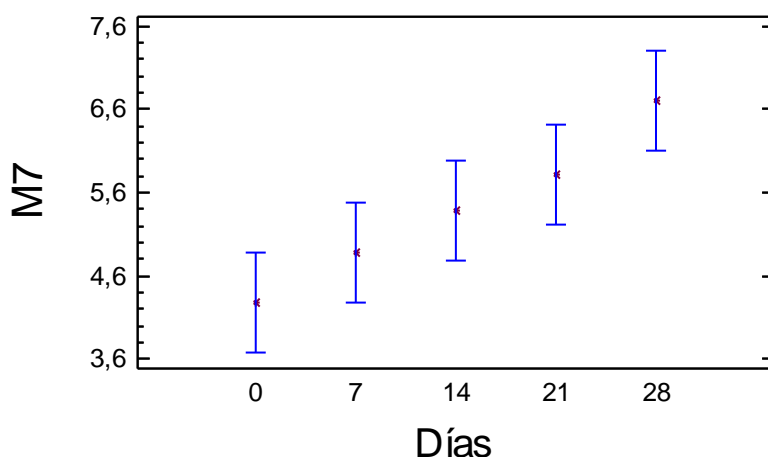


Tabla ANOVA para M7 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	10,1111	4	2,52777	5,81	0,0111
Intra grupos	4,3508	10	0,43508		
Total (Corr.)	14,4619	14			

Contraste Múltiple de Rango para M7 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	4,28	X
7	3	4,88	XX
14	3	5,39333	XX
21	3	5,81667	XX
28	3	6,69333	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,6	1,2
0 - 14	-1,11333	1,2
0 - 21	*-1,53667	1,2
0 - 28	*-2,41333	1,2
7 - 14	-0,513333	1,2
7 - 21	-0,936667	1,2
7 - 28	*-1,81333	1,2
14 - 21	-0,423333	1,2
14 - 28	*-1,3	1,2
21 - 28	-0,876667	1,2

* indica una diferencia significativa.

7.6.2.8.- ANOVA Simple. Muestra8

ANOVA Simple - M8 según Días

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: M8
Factor: Días

Número de observaciones: 15
Número de niveles: 5

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para M8. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de M8 para los 5 diferentes niveles de Días. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

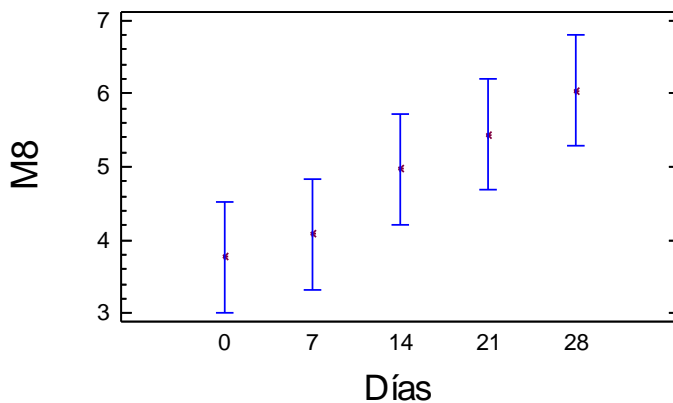


Tabla ANOVA para M8 según Días

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	10,6047	4	2,65118	3,83	0,0387
Intra grupos	6,92173	10	0,692173		
Total (Corr.)	17,5264	14			

Contraste Múltiple de Rango para M8 según Días

Método: 95,0 porcentaje LSD

Días	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	3,77	X
7	3	4,07667	XX
14	3	4,97	XXX
21	3	5,43333	XX
28	3	6,04	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	-0,306667	1,51358
0 - 14	-1,2	1,51358
0 - 21	*-1,66333	1,51358
0 - 28	*-2,27	1,51358
7 - 14	-0,893333	1,51358

7 - 21	-1,35667	1,51358
7 - 28	*-1,96333	1,51358
14 - 21	-0,463333	1,51358
14 - 28	-1,07	1,51358
21 - 28	-0,606667	1,51358

 * indica una diferencia significativa.

7.6.2.9.- ANOVA Simple. Control

ANOVA Simple - Control según DíasControl

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Control
 Factor: DíasControl

Número de observaciones: 25
 Número de niveles: 5

El StatAdvisor

 Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para Control. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de Control para los 5 diferentes niveles de DíasControl. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

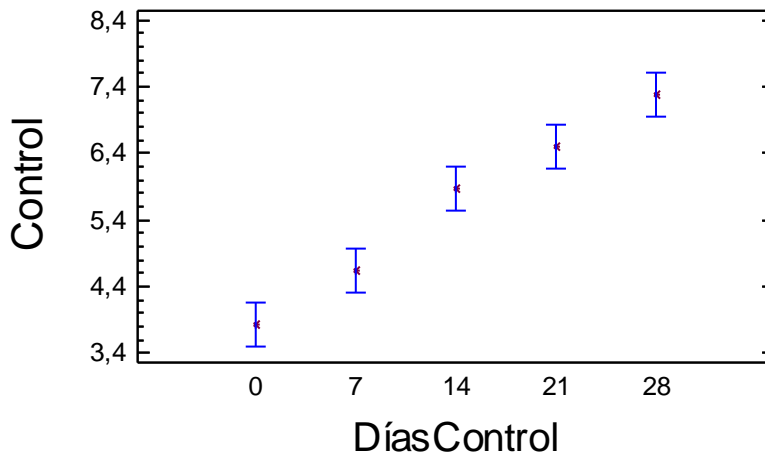


Tabla ANOVA para Control según DíasControl

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	39,0244	4	9,75609	40,14	0,0000
Intra grupos	4,86044	20	0,243022		

Total (Corr.) 43,8848 24
 Contraste Múltiple de Rango para Control según DíasControl

 Método: 95,0 porcentaje LSD

DíasControl	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	5	3,82	X

7	5	4,642	X
14	5	5,876	X
21	5	6,496	X
28	5	7,286	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 7	*-0,822	0,65037
0 - 14	*-2,056	0,65037
0 - 21	*-2,676	0,65037
0 - 28	*-3,466	0,65037
7 - 14	*-1,234	0,65037
7 - 21	*-1,854	0,65037
7 - 28	*-2,644	0,65037
14 - 21	-0,62	0,65037
14 - 28	*-1,41	0,65037
21 - 28	*-0,79	0,65037

* indica una diferencia significativa.

7.6.3.- ANOVA Simple. Número de huevos según tiempo de tratamiento (minutos)

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Huevos
Factor: Tiempo

Número de observaciones: 29
Número de niveles: 9

El StatAdvisor

Este procedimiento realiza un análisis de la varianza simple para Huevos. Realiza varios tests y gráficos para comparar los valores medios de Huevos para los 9 diferentes niveles de Tiempo. El F-test en la tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Tests de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir el test Kruskal-Wallis que compara las medianas en lugar de las medias. Los diferentes gráficos le ayudarán a juzgar la significación práctica de los resultados, y le permitirán buscar las posibles violaciones a las asunciones subyacentes en el análisis de la varianza.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD

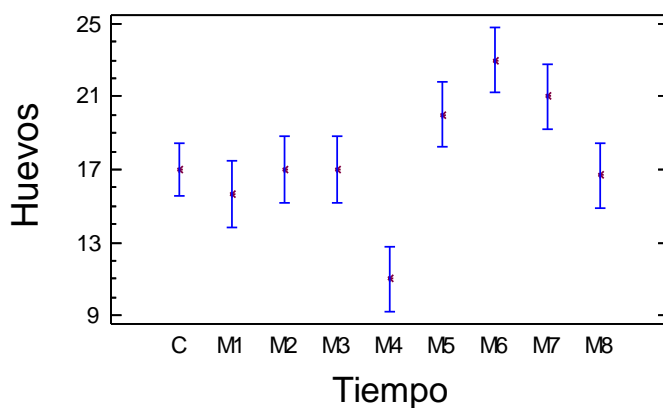


Tabla ANOVA para Huevos según Tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	287,839	8	35,9799	8,06	0,0001
Intra grupos	89,3333	20	4,46667		
Total (Corr.)	377,172	28			

Contraste Múltiple de Rango para Huevos según Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M4	3	11,0	X
M1	3	15,6667	X
M8	3	16,6667	XX
C	5	17,0	XX
M3	3	17,0	XX
M2	3	17,0	XX
M5	3	20,0	XX
M7	3	21,0	X
M6	3	23,0	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
C - M1	1,33333	3,21958
C - M2	0,0	3,21958
C - M3	0,0	3,21958
C - M4	*6,0	3,21958
C - M5	-3,0	3,21958
C - M6	*-6,0	3,21958
C - M7	*-4,0	3,21958
C - M8	0,333333	3,21958
M1 - M2	-1,33333	3,5996
M1 - M3	-1,33333	3,5996
M1 - M4	*4,66667	3,5996
M1 - M5	*-4,33333	3,5996
M1 - M6	*-7,33333	3,5996
M1 - M7	*-5,33333	3,5996
M1 - M8	-1,0	3,5996
M2 - M3	0,0	3,5996
M2 - M4	*6,0	3,5996
M2 - M5	-3,0	3,5996
M2 - M6	*-6,0	3,5996
M2 - M7	*-4,0	3,5996
M2 - M8	0,333333	3,5996
M3 - M4	*6,0	3,5996
M3 - M5	-3,0	3,5996
M3 - M6	*-6,0	3,5996
M3 - M7	*-4,0	3,5996
M3 - M8	0,333333	3,5996
M4 - M5	*-9,0	3,5996
M4 - M6	*-12,0	3,5996
M4 - M7	*-10,0	3,5996
M4 - M8	*-5,66667	3,5996
M5 - M6	-3,0	3,5996
M5 - M7	-1,0	3,5996
M5 - M8	3,33333	3,5996
M6 - M7	2,0	3,5996
M6 - M8	*6,33333	3,5996
M7 - M8	*4,33333	3,5996

* indica una diferencia significativa.