

## 7. ANEXOS

### 7.1 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES UTILIZADAS EN LOS BIOENSAYOS

#### *Pseudokirchneriella subcapitata*

*Pseudokirchneriella subcapitata* (Figura 13) es una microalga unicelular de agua dulce perteneciente al orden *Chlorococcales*, clase *Chlorophyceae*, división *Chlorophyta*, con forma de media luna y un volumen aproximado de entre 40 y 60  $\mu\text{m}^3$ , que puede encontrarse en sistemas acuáticos epicontinentales eutróficos u oligotróficos (Aruoja 2011). 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.

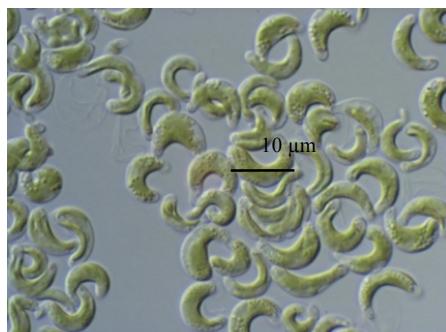


Figura 13. *Pseudokirchneriella subcapitata*

Actualmente es la especie más utilizada de los vegetales acuáticos y es una buena representante de los productores primarios en las redes alimenticias de ambientes dulceacuícolas (Larsen, 2002).

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.

#### *Daphnia magna*

*Daphnia magna* (Figura 14) es un pequeño crustáceo cuya longitud máxima es de 6 mm (sin contar la espina caudal), su coloración es variable ya que el déficit de oxígeno disuelto y la salinidad, de forma conjunta o aislada, provocan una coloración anaranjada o parda (Alonso, 1996).



Figura 14. Hembra de *Daphnia magna*

Los dáfnidos son hembras partenogenéticas; producen huevos diploides los cuales eclosionan dando hembras partenogenéticas durante muchas generaciones. El desarrollo es directo y cuando los juveniles abandonan la cámara de incubación, situada bajo el caparazón, el exoesqueleto se desprende, se produce la muda y una nueva puesta es expulsada dentro de la cámara incubadora. Ciertos factores como la temperatura del agua o un descenso en la disponibilidad de alimento (generalmente debida a un aumento de la población), inducen la aparición de machos y así se producen huevos fecundados. Las paredes de la cámara incubadora, ahora, se transforman en una cápsula protectora en forma de estribo llamada ephipium o efípia.

Toleran un amplio rango de condiciones ambientales, prefiriendo aguas de pequeño volumen (charcas, zanjas inundadas, etc.) de escasa turbidez y expuestas a radiación solar, aunque también pueden habitar en la zona litoral o formar parte del zooplancton de embalses pequeños y mineralizados.

*Daphnia magna* ha sido utilizada desde hace tiempo como una especie standard en ensayos de ecotoxicidad por organizaciones como la CE, OECD e ISO. El hecho de que *Daphnia* sea utilizada como organismo standard se debe a los siguientes factores: su reproducción es partenogénica, es fácilmente cultivable en condiciones de laboratorio, es uno de los principales consumidores de los productores primarios y lo más importante, es el alimento de invertebrados y vertebrados predadores (Hebert, 1978; Larsson y Dodson, 1993), es una especie cosmopolita y presenta una sensibilidad alta a los contaminantes.

Por todo esto, muchos autores la recomiendan como especie bioindicadora, siendo utilizada para evaluar los riesgos ambientales producidos por vertidos industriales y urbanos, plaguicidas, metales pesados, miméticos de hormonas sexuales, etc.

#### ***Eisenia fetida***

También se conoce como lombriz roja californiana (Figura 15) 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.

La especie *Eisenia fetida*, por ejemplo, presenta numerosas características que la identifican como uno de los indicadores más apropiados de la contaminación en suelos.



Figura 15. *Eisenia fetida*

### Citotoxicidad

Las líneas celulares utilizadas en este trabajo de investigación han sido:

- Células 3T3

Las células 3T3 se utilizan ampliamente en laboratorios de investigación para virología y los experimentos de biología molecular. La línea de células embrionarias de fibroblastos de ratón fue desarrollada por George Todaro y Howard Green en 1962 en la Universidad de Nueva York.

Las 3T3 (Figura 16) crecen adheridas a las placas petri a 37 grados en incubadora. Su medio de cultivo es el medio de Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 10% de suero de ternera.

Estas células se utilizan para cultivar virus de leucemia o funcionar como células inmovilizadas, o capas alimentadoras, que suministran factores de crecimiento necesarios para las células, tales como células madre y queratinocitos

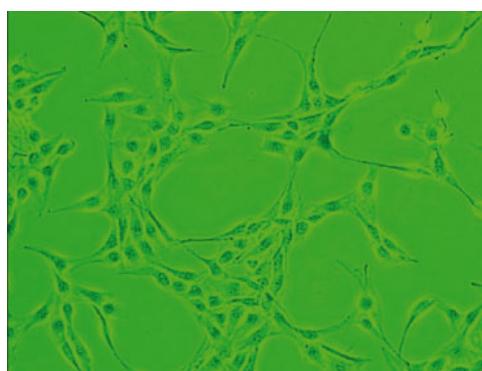


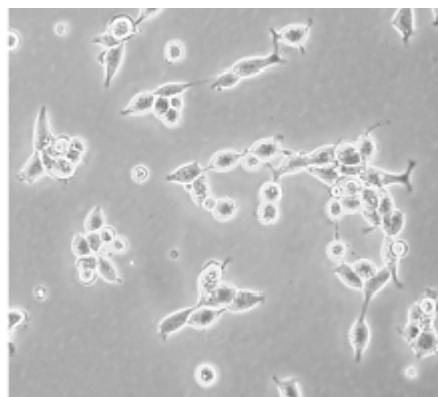
Figura 16. Imagen al microscopio de un cultivo de células 3T3

- Células HEK

Las células humanas de riñón 293, conocidas como HEK son una línea celular específica derivada originariamente a partir de células embrionarias de riñón humano cultivadas en cultivo de tejidos. Se originaron en los años 70 por la transformación de cultivos de células renales embrionarias humanas normales con adenovirus 5ADN en el laboratorio de Alex van der Eb en Leiden, Países Bajos.

Las células HEK (Figura 17) tienen un cariotipo muy complejo, exhibiendo dos o más copias de cada cromosoma y con un número cromosómico de 64. Estas células son extremadamente fáciles de trabajar y

por tanto se pueden utilizar en experimentos en los que el comportamiento de la propia célula no es de interés, son comúnmente usadas como modelo para examinar al receptor transferido.

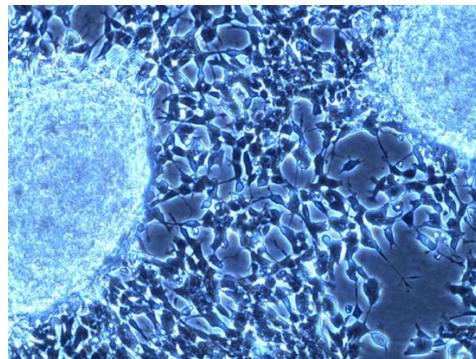


**Figura 17.**Imagen al microscopio de un cultivo de células HEK 293

#### - Células N2a

Línea celular N2a es una línea celular de neuroblastoma de ratón de rápido crecimiento. Ésta línea celular se obtuvo de la American Type Culture Collection (Manassas, USA) y se utilizó para realizar cinéticas de infección. Es posible diferenciar las células N2a (Figura 18) en células que tienen muchas propiedades de las neuronas, incluyendo neurofilamentos.

Estas células han sido utilizadas para estudiar la neurotoxicidad, como un sistema modelo para investigar una variedad de respuestas neuronales, incluyendo la citotoxicidad, la enfermedad de Alzheimer y la división asimétrica de líneas celulares de mamífero.



**Figura 18.** Imagen al microscopio de un cultivo de células N2a

## 7.2 EQUIPOS UTILIZADOS

### TECAN Infinite M200

Lector de microplacas multifuncional TECAN Infinite M200 (Figura 19) se ha utilizado para inyectar las microplacas y para medir la fluorescencia en los ensayos de toxicidad. Este lector multifuncional está equipado con tres detectores de alta resolución para las medidas de fluorescencia, luminescencia y absorbancia y un modulo inyector que consiste en dos bombas de jeringa (XE-1000, Tecan Systems). El lector posee además el software *i*-Control que permite el manejo de los datos de fluorescencia obtenidos.

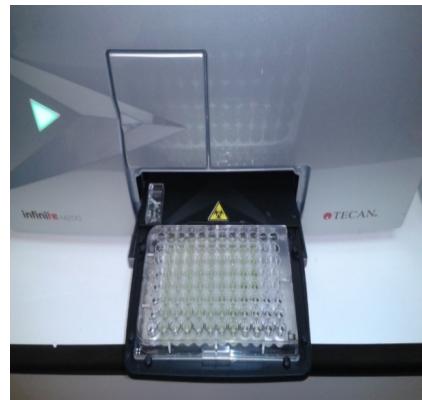


Figura 19. Lector de microplacas TECAN Infinite M200

Todos los ensayos de toxicidad se han realizado en la cámara climatizada Versatil Environmental Test Chamber SANYO MLR-350 Figura 19 .Esta cámara presenta un amplio rango de aplicaciones que requieren temperaturas entre -10°C y +60°C y la iluminación procede de 15 tubos de luz blanca (Sylvania GRO-LUX F30X/CRO). De esta forma, los ensayos de toxicidad se han realizado bajo las condiciones apropiadas de luz y temperatura.



Figura 20. Cámara climatizada

#### Cámara Cuentaglóbulos o Hemocitómetro

Para el bioensayo con *Pseudokirchneriella subcapitata* se ha utilizado una cámara cuentaglóbulos (Figura 21). Una suspensión celular se caracteriza por presentar un número de partículas microscópicas dispersas en un fluido. Habitualmente será necesario determinar, tanto la densidad de las células en la suspensión, como el porcentaje de éstas que son viables.

Una cámara de contaje celular es un dispositivo en el que se coloca una muestra de la suspensión a medir. Al contar bajo el microscopio el número de partículas presentes en ese volumen se puede determinar la densidad de partículas en la suspensión de origen.

Una cámara de contaje celular utiliza un portaobjetos que tiene dos zonas rectangulares ligeramente deprimidas.

Cada uno de estos rectángulos tiene una cuadrícula de dimensiones conocidas. La cámara se cubre con un cubreobjetos que se adhiere por simple tensión superficial.

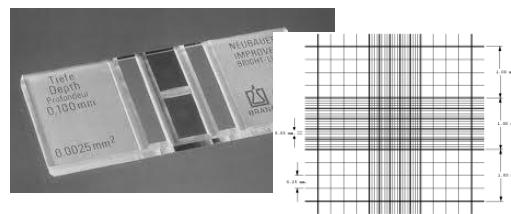


Figura 21. Cámara Cuentaglobulos

### Equipo Extra VAC 12

Para concentrar las muestras de agua se ha utilizado el sistema de vacío Extra VAC 12 de Scharlab (Figura 22). Este sistema está equipado con 12 posiciones para cartuchos SPE de 55 µm , con válvulas de aguja con punta de control individual ( llaves de paso ) de control de flujo de permiso de cada posición con las llaves de paso. También dispone de medidor de vacío con control y válvulas de seguridad para la monitorización y el ajuste de nivel de vacío,una selección de 2 bastidores para acomodar una variedad de recipientes de recogida, sistema de enclavamiento de tres puntos para asegurar la orientación adecuada de bastidores. Construcción de vidrio, polietileno, polipropileno no-contaminantes, y componentes resistentes a productos químicos.



Figura 22. Sistema de vacío

### Incubador de CO<sub>2</sub>

El incubador utilizado (Figura 23) consta de un dispositivo de control de temperatura, un dispositivo de inyección de una mezcla de aire y CO<sub>2</sub>, en la proporción deseada, entre el 4 y el 7 % y un dispositivo de recirculación de aire. Para alcanzar la humedad deseada (90%) se ha utilizado una bandeja de agua situada en el fondo del incubador, que se renovaba una vez por semana.



Figura 23. Incubadora CO<sub>2</sub>

## 7.3 ENSAYO DE TOXICIDAD CON *P. SUBCAPITATA* PARA LAS MUESTRAS A DIFERENTES TIEMPOS DE TRATAMIENTO

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

#### 7.3.1.1 0 min

##### **ANOVA Simple - T 0 min según Dil**

Resumen del Procedimiento  
 Variable dependiente: T 0 min  
 Factor: Dil  
 Número de observaciones: 80  
 Número de niveles: 10

Tabla ANOVA para T 0 min según Dil

#### Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	133830,0	9	14870,0	1556,38	0,0000
Intra grupos	668,795	70	9,55422		
Total (Corr.)	134498,0	79			

##### **Tabla de Medias para T 0 min según Dil** con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	8	0,0	1,09283	-1,5412	1,5412
0,0039	8	0,0	1,09283	-1,5412	1,5412
0,0078	8	0,0	1,09283	-1,5412	1,5412
0,0156	8	0,0	1,09283	-1,5412	1,5412
0,0313	8	13,4363	1,09283	11,8951	14,9774
0,0625	8	48,9375	1,09283	47,3963	50,4787
0,125	8	59,5313	1,09283	57,9901	61,0724
0,25	8	94,725	1,09283	93,1838	96,2662
0,5	8	97,5175	1,09283	95,9763	99,0587
1	8	93,5213	1,09283	91,9801	95,0624
Total	80	40,7669			

##### **Contraste Múltiple de Rango para T 0 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	0,0039	8	0,0	X
	0,0078	8	0,0	X
	0	8	0,0	X
	0,0156	8	0,0	X
	0,0313	8	13,4363	X
	0,0625	8	48,9375	X
	0,125	8	59,5313	X
	1	8	93,5213	X
	0,25	8	94,725	XX
	0,5	8	97,5175	X

### 7.3.1.2 0 min pre

#### ANOVA Simple - T 0 min pre según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 0 min pre

Factor: Dil

Número de observaciones: 80

Número de niveles: 10

#### Tabla ANOVA para T 0 min pre según Dil

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	122052,0	9	13561,3	2568,15	0,0000
Intra grupos	369,64	70	5,28057		
Total (Corr.)	122421,0	79			

#### Tabla de Medias para T 0 min pre según Dil con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar	Limite inf.	Limite sup.
			(s agrupada)		
0	8	0,0	0,812447	-1,14578	1,14578
0,0039	8	0,0	0,812447	-1,14578	1,14578
0,0078	8	0,0	0,812447	-1,14578	1,14578
0,0156	8	0,0	0,812447	-1,14578	1,14578
0,0313	8	9,50625	0,812447	8,36047	10,652
0,0625	8	35,0575	0,812447	33,9117	36,2033
0,125	8	54,1787	0,812447	53,033	55,3245
0,25	8	78,7213	0,812447	77,5755	79,867
0,5	8	97,7875	0,812447	96,6417	98,9333
1	8	94,3575	0,812447	93,2117	95,5033
Total	80	36,9609			

#### Contraste Múltiple de Rango para T 0 min pre según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,0039	8	0,0	X
0,0078	8	0,0	X
0	8	0,0	X
0,0156	8	0,0	X
0,0313	8	9,50625	X
0,0625	8	35,0575	X
0,125	8	54,1787	X
0,25	8	78,7213	X
1	8	94,3575	X
0,5	8	97,7875	X

### 7.3.1.3 FF 90 min

#### **ANOVA Simple - T 90 min según Dil**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 90 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 80

Número de niveles: 10

#### **Tabla ANOVA para T 90 min según Dil**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	106398,0	9	11822,0	4449,41	0,0000
Intra grupos	185,989	70	2,65699		
Total (Corr.)	106584,0	79			

#### **Tabla de Medias para T 90 min según Dil con 95,0 intervalos LSD**

Dil	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Intervalo de Confianza	
			Límite inf.	Límite sup.	
0	8	0,0	0,576301	-0,812748	0,812748
0,0039	8	14,9912	0,576301	14,1785	15,804
0,0078	8	47,9813	0,576301	47,1685	48,794
0,0156	8	74,5913	0,576301	73,7785	75,404
0,0313	8	91,72	0,576301	90,9073	92,5327
0,0625	8	97,0212	0,576301	96,2085	97,834
0,125	8	100,61	0,576301	99,7973	101,423
0,25	8	100,81	0,576301	99,9973	101,623
0,5	8	100,56	0,576301	99,7473	101,373
1	8	100,473	0,576301	99,6598	101,285
Total	80	72,8758			

#### **Contraste Múltiple de Rango para T 90 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	8	0,0	X
0,0039	8	14,9912	X
0,0078	8	47,9813	X
0,0156	8	74,5913	X
0,0313	8	91,72	X
0,0625	8	97,0212	X
1	8	100,473	X
0,5	8	100,56	X
0,125	8	100,61	X
0,25	8	100,81	X

### 7.3.1.4 FF 180 min

#### **ANOVA Simple - T 180 min según Dil**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 180 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 80

Número de niveles: 10

#### **Tabla ANOVA para T 180 min según Dil**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	121895,0	9	13543,8	2012,66	0,0000
Intra grupos	471,052	70	6,72932		
Total (Corr.)	122366,0	79			

#### **Tabla de Medias para T 180 min según Dil**

con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)		
				Límite inf.	Límite sup.
0	8	0,0	0,91715	-1,29344	1,29344
0,0039	8	0,0	0,91715	-1,29344	1,29344
0,0078	8	0,0	0,91715	-1,29344	1,29344
0,0156	8	0,0	0,91715	-1,29344	1,29344
0,0313	8	0,0	0,91715	-1,29344	1,29344
0,0625	8	8,9925	0,91715	7,69906	10,2859
0,125	8	35,21	0,91715	33,9166	36,5034
0,25	8	69,3025	0,91715	68,0091	70,5959
0,5	8	92,8638	0,91715	91,5703	94,1572
1	8	99,1	0,91715	97,8066	100,393
Total	80	30,5469			

#### **Contraste Múltiple de Rango para T 180 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil Frec. Media Grupos homogéneos

0,0156	8	0,0	X
0,0078	8	0,0	X
0,0313	8	0,0	X
0,0039	8	0,0	X
0	8	0,0	X
0,0625	8	8,9925	X
0,125	8	35,21	X
0,25	8	69,3025	X
0,5	8	92,8638	X
1	8	99,1	X

### 7.3.1.5 O<sub>3</sub> 15 min

#### ANOVA Simple - T 15 min según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 15 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 80

Número de niveles: 10

#### Tabla ANOVA para T 15 min según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	10153,3	9	1128,15	217,10	0,0000
Intra grupos	363,747	70	5,19639		
Total (Corr.)	10517,1	79			

#### Tabla de Medias para T 15 min según Dil con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar		
			(s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	8	0,0	0,805946	-1,13661	1,13661
0,0039	8	0,0	0,805946	-1,13661	1,13661
0,0078	8	0,0	0,805946	-1,13661	1,13661
0,0156	8	0,0	0,805946	-1,13661	1,13661
0,0313	8	0,0	0,805946	-1,13661	1,13661
0,0625	8	0,0	0,805946	-1,13661	1,13661
0,125	8	4,21875	0,805946	3,08214	5,35536
0,25	8	11,905	0,805946	10,7684	13,0416
0,5	8	23,9812	0,805946	22,8446	25,1179
1	8	32,6075	0,805946	31,4709	33,7441
Total	80	7,27125			

#### Contraste Múltiple de Rango para T 15 min según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,0156	8	0,0	X
0	8	0,0	X
0,0313	8	0,0	X
0,0039	8	0,0	X
0,0625	8	0,0	X
0,0078	8	0,0	X
0,125	8	4,21875	X
0,25	8	11,905	X
0,5	8	23,9812	X
1	8	32,6075	X

### 7.3.1.6 O<sub>3</sub> 60 min

#### ANOVA Simple - T 60 min según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 60 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 80

Número de niveles: 10

#### Tabla de Medias para T 60 min según Dil

con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Limite inf.	Limite sup.
0	8	0,0	0,764981	-1,07884	1,07884
0,0039	8	0,0	0,764981	-1,07884	1,07884
0,0078	8	0,0	0,764981	-1,07884	1,07884
0,0156	8	0,0	0,764981	-1,07884	1,07884
0,0313	8	0,0	0,764981	-1,07884	1,07884
0,0625	8	13,0038	0,764981	11,9249	14,0826
0,125	8	44,0562	0,764981	42,9774	45,1351
0,25	8	83,4675	0,764981	82,3887	84,5463
0,5	8	97,0725	0,764981	95,9937	98,1513
1	8	98,6275	0,764981	97,5487	99,7063
Total	80	33,6227			

#### Contraste Múltiple de Rango para T 60 min según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil Frec. Media Grupos homogéneos

0,0156	8	0,0	X
0,0078	8	0,0	X
0,0313	8	0,0	X
0,0039	8	0,0	X
0	8	0,0	X
0,0625	8	13,0038	X
0,125	8	44,0562	X
0,25	8	83,4675	X
0,5	8	97,0725	X
1	8	98,6275	X

### 7.3.2 Análisis PROBIT: Determinación del valor MID

#### 7.3.2.1 0 min

```
PROBIT Resp0min OF Total WITH Dilución
/LLOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		72
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		8

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	17	Sí

**Estimaciones de los parámetros**

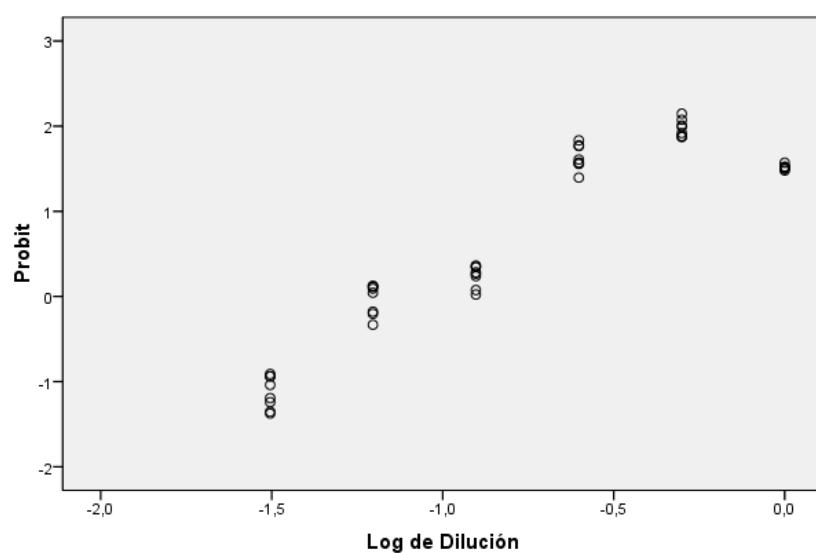
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
ROBIT <sup>a</sup>	Dilución	2,317	,046	49,913	,000	2,226
	Intersección	2,460	,053	46,193	,000	2,406

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

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	580,793	70	,000 <sup>b</sup>

Respuestas transformadas por Probit



### 7.3.2.2 0 min pre

PROBIT Resp0 minp ret OF Total WITH Dilución  
 /LOG 10  
 /MODEL PROBIT  
 /PRINT FREQ CI  
 /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		72
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		8

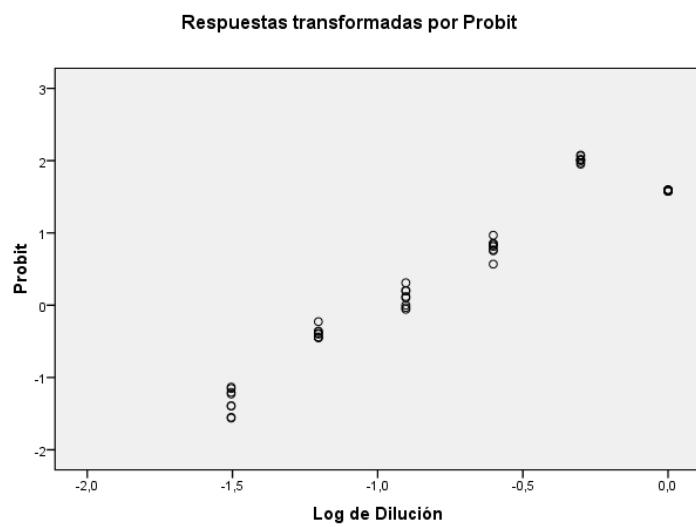
**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	2,300	,047	48,799	,000	2,208
	Intersección	2,192	,050	43,909	,000	2,142
						2,242

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

**Contrastes de chi-cuadrado**

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	191,589	70	,000 <sup>b</sup>



### 7.3.2.3 FF 90 min

PROBIT RespFF90min OF Total WITH Dilución

/LOG 10

/MODEL PROBIT

/PRINT FREQ CI

/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

**Información sobre los datos**

	Nº de casos
Válidos	40
Rechazados	12
Perdidos	0
La transformación log no se puede realizar	
Número de respuestas > Número de sujetos	32
Grupo control	8

### 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 <sup>a</sup>	Dilución	2,528	,070	36,270	,000	2,392
	Intersección	5,089	,137	37,152	,000	4,952
						5,226

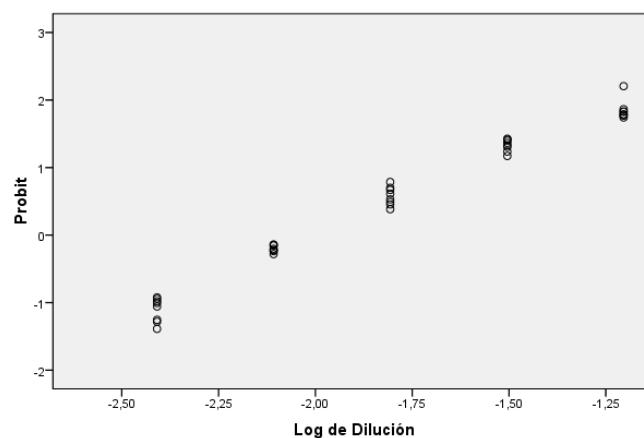
a. Modelo PROBIT: PROBIT( $p$ ) = Intersección + BX (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	31,105	38	,778 <sup>b</sup>

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

### Respuestas transformadas por Probit



### 7.3.2.4 FF 180 min

PROBIT RespFF180min OF Total WITH Dilución  
 /LOG 10  
 /MODEL PROBIT  
 /PRINT FREQ CI  
 /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
'álidos		72
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		8

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	18	Sí

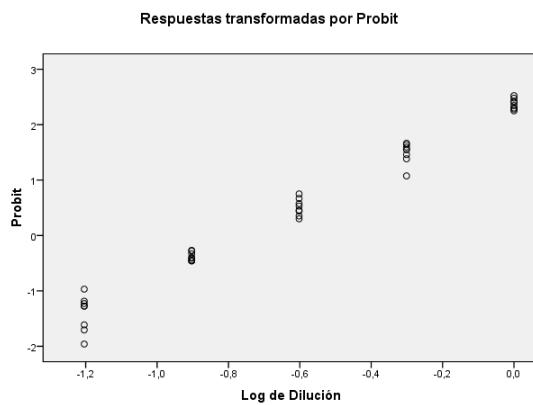
**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	3,190	,076	42,145	,000	3,042
	Intersección	2,446	,063	38,537	,000	2,383
						2,510

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

**Contrastes de chi-cuadrado**

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	53,431	70	,929 <sup>b</sup>



### 7.3.2.5 O<sub>3</sub> 15 min

```
PROBIT RespO315min OF Total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		72
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		8

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	18	Sí

### Estimaciones de los parámetros

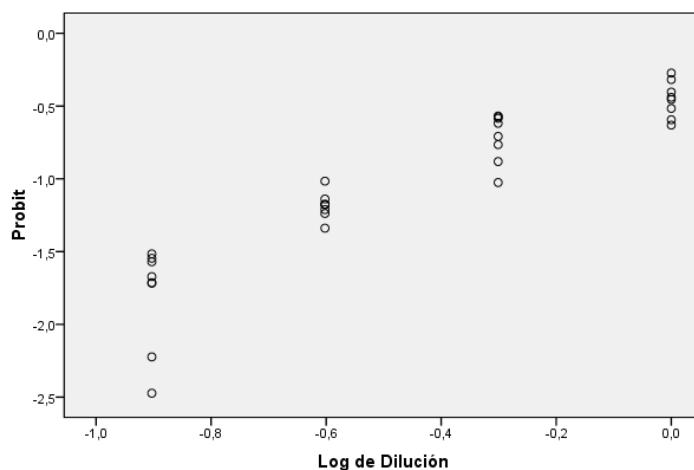
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	1,613	,070	23,108	,000	1,476
	Intersección	-,331	,038	-8,779	,000	-,369
						-,293

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

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	57,540	70	,857 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Dilución	3,387	,081	41,750	,000	3,228	3,546
Intersección	2,902	,074	39,246	,000	2,828	2,976

i. Modelo PROBIT: PROBIT(p) = Intersección + BX (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

#### 7.3.2.6 O<sub>3</sub> 60 min

PROBIT RespO360min OF Total WITH Dilución

```
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

#### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		72
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		8

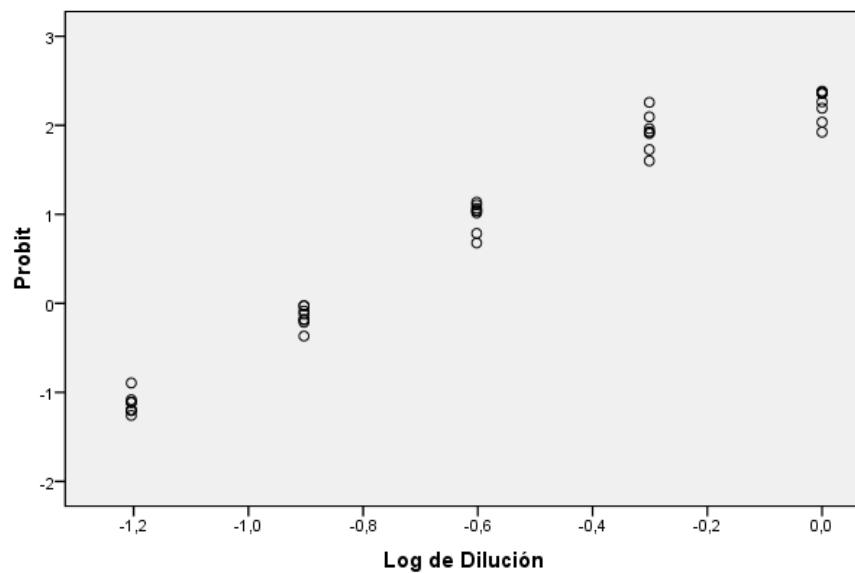
#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	19	Sí

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	118,294	70	,000 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



## 7.4 ENSAYO DE TOXICIDAD CON *D.MAGNA* PARA LAS MUESTRAS A DIFERENTES TIEMPOS DE TRATAMIENTO

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

#### 7.4.1.1 0 min

##### **ANOVA Simple - T 0 min según Dil**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 0 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 20

Número de niveles: 5

##### **Tabla ANOVA para T 0 min según Dil**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	33920,0	4	8480,0	159,00	0,0000
Intra grupos	800,0	15	53,3333		
Total (Corr.)	34720,0	19			

##### **Tabla de Medias para T 0 min según Dil con 95,0 intervalos LSD**

Dil	Frec.	Media	Error Estándar	Límite inf.	Límite sup.
			(s agrupada)		
0	4	0,0	3,65148	-5,50339	5,50339
0,125	4	0,0	3,65148	-5,50339	5,50339
0,25	4	0,0	3,65148	-5,50339	5,50339
0,5	4	60,0	3,65148	54,4966	65,5034
1	4	100,0	3,65148	94,4966	105,503
Total	20	32,0			

##### **Contraste Múltiple de Rango para T 0 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,125	4	0,0	X
0,25	4	0,0	X
0	4	0,0	X
0,5	4	60,0	X
1	4	100,0	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 0,125	0,0	11,0068
0 - 0,25	0,0	11,0068
0 - 0,5	*-60,0	11,0068
0 - 1	*-100,0	11,0068
0,125 - 0,25	0,0	11,0068
0,125 - 0,5	*-60,0	11,0068
0,125 - 1	*-100,0	11,0068
0,25 - 0,5	*-60,0	11,0068
0,25 - 1	*-100,0	11,0068
0,5 - 1	*-40,0	11,0068

\* indica una diferencia significativa.

### 7.4.1.2 0 min pre

#### ANOVA Simple - T 0 min pre según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 0 min pre

Factor: Dil

Número de observaciones: 20

Número de niveles: 5

#### Tabla ANOVA para T 0 min pre según Dil

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	32680,0	4	8170,0	122,55	0,0000
Intra grupos	1000,0	15	66,6667		
Total (Corr.)	33680,0	19			

#### Tabla de Medias para T 0 min pre según Dil con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar		
			(s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	4	0,0	4,08248	-6,15298	6,15298
0,125	4	0,0	4,08248	-6,15298	6,15298
0,25	4	5,0	4,08248	-1,15298	11,153
0,5	4	70,0	4,08248	63,847	76,153
1	4	95,0	4,08248	88,847	101,153
Total	20	34,0			

#### Contraste Múltiple de Rango para T 0 min pre según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil Frec. Media Grupos homogéneos

0,125	4	0,0	X
0	4	0,0	X
0,25	4	5,0	X
0,5	4	70,0	X
1	4	95,0	X

### 7.4.1.3 FF 90 min

#### **ANOVA Simple - T 90 min según Dil**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 90 min  
Factor: Dil

Número de observaciones: 20  
Número de niveles: 5

#### **Tabla ANOVA para T 90 min según Dil**

##### Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	45120,0	4	11280,0	423,00	0,0000
Intra grupos	400,0	15	26,6667		
Total (Corr.)	45520,0	19			

#### **Tabla de Medias para T 90 min según Dil** con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar		
			(s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	4	0,0	2,58199	-3,89149	3,89149
0,125	4	0,0	2,58199	-3,89149	3,89149
0,25	4	10,0	2,58199	6,10851	13,8915
0,5	4	100,0	2,58199	96,1085	103,891
1	4	100,0	2,58199	96,1085	103,891
Total	20	42,0			

#### **Contraste Múltiple de Rango para T 90 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	4	0,0	X
0,125	4	0,0	X
0,25	4	10,0	X
1	4	100,0	X
0,5	4	100,0	X

#### 7.4.1.4 FF 180 min

##### **ANOVA Simple - T 180 min según Dil**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 180 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 20

Número de niveles: 5

##### **Tabla ANOVA para T 90 min según Dil**

###### Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	45120,0	4	11280,0	423,00	0,0000
Intra grupos	400,0	15	26,6667		
Total (Corr.)	45520,0	19			

##### **Tabla de Medias para T 180 min según Dil**

con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf. Límite sup.	
				Límite inf.	Límite sup.
0	4	0,0	3,16228	-4,76608	4,76608
0,125	4	0,0	3,16228	-4,76608	4,76608
0,25	4	5,0	3,16228	0,233924	9,76608
0,5	4	85,0	3,16228	80,2339	89,7661
1	4	100,0	3,16228	95,2339	104,766
Total	20	38,0			

##### **Contraste Múltiple de Rango para T 180 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil Frec. Media Grupos homogéneos

0,125	4	0,0	X
0	4	0,0	X
0,25	4	5,0	X
0,5	4	85,0	X
1	4	100,0	X

### 7.4.1.5 O<sub>3</sub> 15 min

#### **ANOVA Simple - T 15 min según Dil**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 15 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 20

Número de niveles: 5

#### **Tabla ANOVA para T 15 min según Dil**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1080,0	4	270,0	2,89	0,0586
Intra grupos	1400,0	15	93,3333		
Total (Corr.)	2480,0	19			

#### **Tabla de Medias para T 15 min según Dil con 95,0 intervalos LSD**

Dil	Frec.	Media	Error Estándar		
			(s agrupada)	Limite inf.	Limite sup.
0	4	0,0	4,83046	-7,2803	7,2803
0,125	4	0,0	4,83046	-7,2803	7,2803
0,25	4	5,0	4,83046	-2,2803	12,2803
0,5	4	5,0	4,83046	-2,2803	12,2803
1	4	20,0	4,83046	12,7197	27,2803
Total	20	6,0			

#### **Contraste Múltiple de Rango para T 15 min según Dil**

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dil	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0,125	4	0,0	X
0	4	0,0	X
0,25	4	5,0	X
0,5	4	5,0	X
1	4	20,0	X

#### 7.4.1.6 O<sub>3</sub> 60 min

##### ANOVA Simple - T 60 min según Dil

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: T 60 min

Factor: Dil

Número de observaciones: 20

Número de niveles: 5

##### Tabla ANOVA para T 60 min según Dil

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	17720,0	4	4430,0	30,20	0,0000
Intra grupos	2200,0	15	146,667		
Total (Corr.)	19920,0	19			

##### Tabla de Medias para T 60 min según Dil con 95,0 intervalos LSD

Dil	Frec.	Media	Error Estándar	Límite inf.	Límite sup.
			(s agrupada)		
0	4	0,0	6,0553	-9,12634	9,12634
0,125	4	0,0	6,0553	-9,12634	9,12634
0,25	4	15,0	6,0553	5,87366	24,1263
0,5	4	15,0	6,0553	5,87366	24,1263
1	4	80,0	6,0553	70,8737	89,1263
Total	20	22,0			

##### Contraste Múltiple de Rango para T 60 min según Dil

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dil Frec. Media Grupos homogéneos

0,125	4	0,0	X
0	4	0,0	X
0,25	4	15,0	X
0,5	4	15,0	X
1	4	80,0	X

## 7.4.2 Análisis PROBIT: Determinación del valor MID

### 7.4.2.1 T 0 min

PROBIT Resp0min OF Total WITH Dilución

```
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	72
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		4

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	20	No <sup>a</sup>

a. Las estimaciones de los parámetros no han convergido.

**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	11,517	1,770	6,508	,000	8,048
	Intersección	3,723	,541	6,878	,000	3,182
						4,265

### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	11,517	1,770	6,508	,000	8,048 14,985
	Intersección	3,723	,541	6,878	,000	3,182 4,265

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

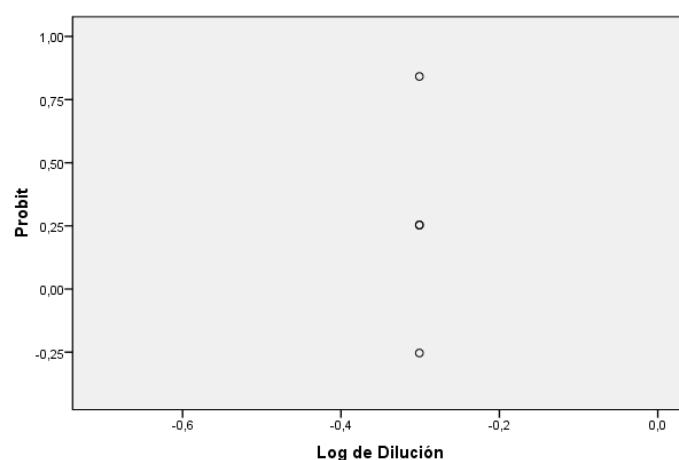
### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	33,676	14	,002 <sup>b</sup>

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.

### Respuestas transformadas por Probit



#### 7.4.2.1 0 min pre

```
PROBIT Resp0minpre OF Total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	72
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		4

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	18	Sí

**Estimaciones de los parámetros**

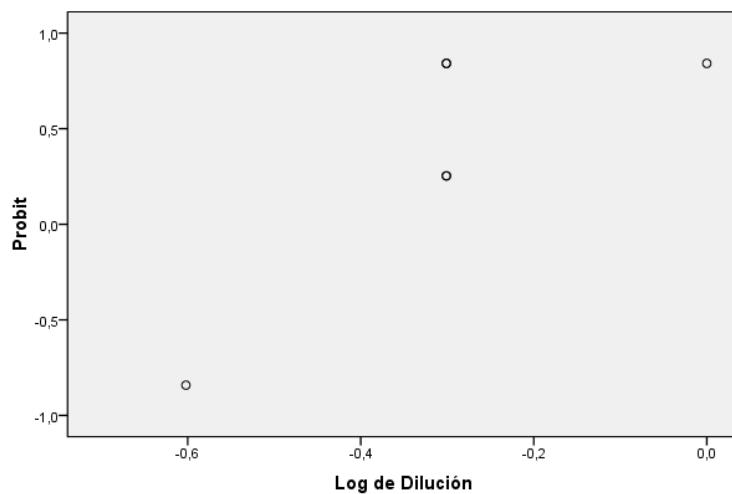
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	5,666	,247	22,919	,000	5,182
	Intersección	2,008	,098	20,444	,000	1,909
						2,106

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

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	225,496	14	,000 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



#### 7.4.2.3 FF 90 min

```
PROBIT RespFF90min OF Total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	72
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		4

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	20	No <sup>a</sup>

a. Las estimaciones de los parámetros no han convergido.

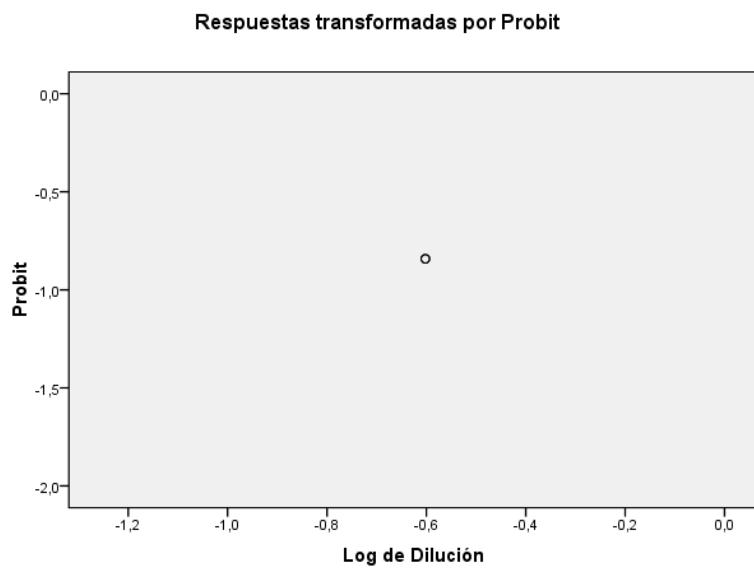
#### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	14,773	1,704	8,672	,000	11,434
	Intersección	7,560	1,014	7,452	,000	6,546
						8,574

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

#### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	49,080	14	,000 <sup>b</sup>



#### 7.4.2.4 FF 180 min

```
PROBIT RespFF180min OF Total WITH Dilución
/LLOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	72
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		4

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	20	No <sup>a</sup>

a. Las estimaciones de los parámetros no han convergido.

#### Estimaciones de los parámetros

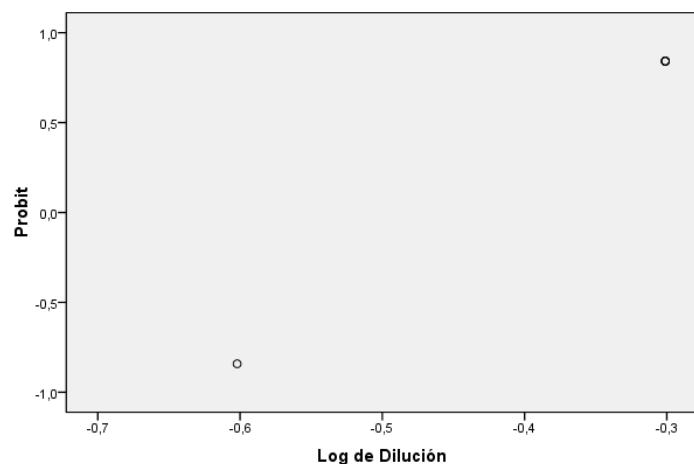
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	8,928	,430	20,782	,000	8,086
	Intersección	3,729	,184	20,233	,000	3,544
						3,913

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

#### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	87,094	14	,000 <sup>b</sup>

#### Respuestas transformadas por Probit



#### 7.4.2.5 O<sub>3</sub> 15 min

PROBIT RespO315min OF Total WITH Dilución  
 /LOG 10  
 /MODEL PROBIT  
 /PRINT FREQ CI  
 /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

#### Información sobre los datos

	Nº de casos
Válidos	16
Rechazados	72
Perdidos	
La transformación log no se puede realizar	0
Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control	4

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	17	Sí

#### Estimaciones de los parámetros

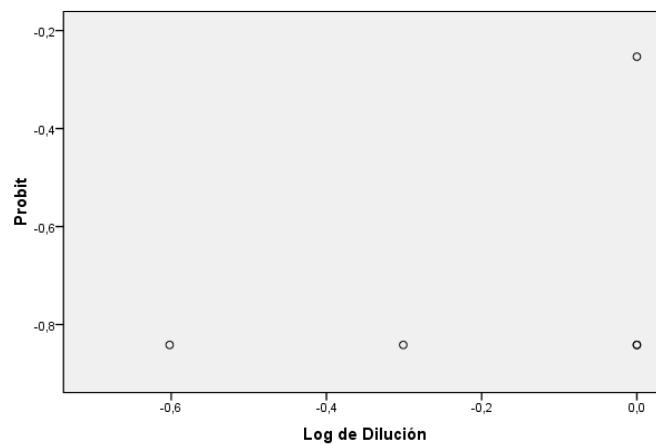
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	1,763	,188	9,366	,000	1,394
	Intersección	-,882	,067	-13,201	,000	-,949
						-,815

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

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	228,955	14	,000 <sup>b</sup>

Respuestas transformadas por Probit



#### 7.4.2.6 O<sub>3</sub> 60 min

```
PROBIT RespO360min OF Total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	72
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control		4

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	16	Sí

#### Estimaciones de los parámetros

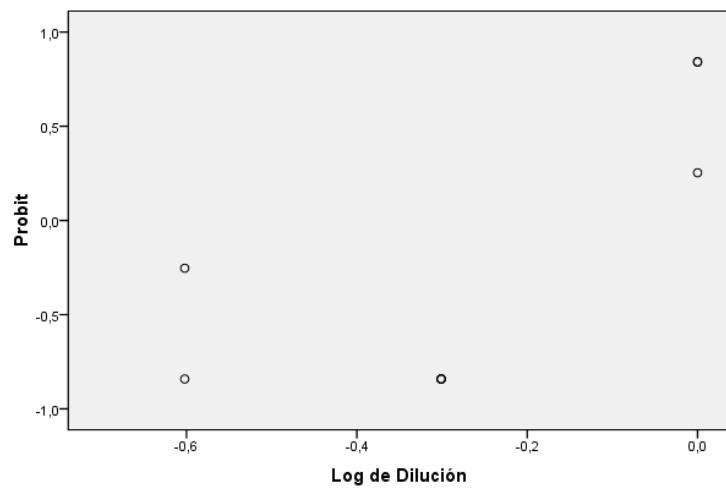
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	3,433	,164	20,913	,000	3,111
	Intersección	,580	,061	9,502	,000	,519
						,641

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

#### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	338,566	14 ,000 <sup>b</sup>

**Respuestas transformadas por Probit**



## 7.5 ENSAYO DE TOXICIDAD CON CÉLULAS 3T3 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 0 min

##### ANOVA Simple - Resp 0 min según Dilución

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 0 min  
Factor: Dilución

Número de observaciones: 32  
Número de niveles: 9

##### Tabla ANOVA para Resp 0 min según Dilución

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	36313,8	8	4539,22	101,03	0,0000
Intra grupos	1033,4	23	44,9305		
Total (Corr.)	37347,2	31			

##### Tabla de Medias para Resp 0 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar	Límite inf.	Límite sup.
			(s agrupada)		
0	16	101,438	1,67576	98,9863	103,889
0,0078	2	96,255	4,73975	89,3219	103,188
0,0156	2	99,93	4,73975	92,9969	106,863
0,0313	2	78,355	4,73975	71,4219	85,2881
0,0625	2	71,77	4,73975	64,8369	78,7031
0,125	2	48,705	4,73975	41,7719	55,6381
0,25	2	38,69	4,73975	31,7569	45,6231
0,5	2	11,165	4,73975	4,23186	18,0981
1	2	0,26	4,73975	-6,67314	7,19314
Total	32	78,5394			

##### Contraste Múltiple de Rango para Resp 0 min según Dilución

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
1	2	0,26	X
0,5	2	11,165	X
0,25	2	38,69	X
0,125	2	48,705	X
0,0625	2	71,77	X
0,0313	2	78,355	X
0,0078	2	96,255	X
0,0156	2	99,93	X
0	16	101,438	X

### 7.5.1.2 0 min pre

#### **ANOVA Simple - Resp 0 min pre según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 0 min pre

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 0 min pre según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	37719,4	8	4714,92	107,11	0,0000
Intra grupos	1012,44	23	44,0191		
Total (Corr.)	38731,8	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 0 min pre según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	101,438	1,65867	99,0113	103,864
0,0078	2	98,455	4,69143	91,5925	105,317
0,0156	2	99,165	4,69143	92,3025	106,027
0,0313	2	97,695	4,69143	90,8325	104,557
0,0625	2	87,155	4,69143	80,2925	94,0175
0,125	2	75,87	4,69143	69,0075	82,7325
0,25	2	53,305	4,69143	46,4425	60,1675
0,5	2	0,035	4,69143	-6,82746	6,89746
1	2	-4,155	4,69143	-11,0175	2,70746
Total	32	82,4391			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 0 min pre según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	0,26	X
	0,5	2	11,165	X
	0,25	2	38,69	X
	0,125	2	48,705	X
	0,0625	2	71,77	X
	0,0313	2	78,355	X
	0,0078	2	96,255	X
	0,0156	2	99,93	X
	0	16	101,438	X

### 7.5.1.3 FF 90 min

#### **ANOVA Simple - Resp FF 90 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp FF 90 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp FF 90 min según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	965,215	8	120,652	2,72	0,0288
Intra grupos	1020,7	23	44,3783		
Total (Corr.)	1985,92	31			

#### **Tabla de Medias para Resp FF 90 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	101,438	1,66543	99,0014	103,874
0,0078	2	105,525	4,71054	98,6346	112,415
0,0156	2	108,455	4,71054	101,565	115,345
0,0313	2	101,69	4,71054	94,7996	108,58
0,0625	2	100,255	4,71054	93,3646	107,145
0,125	2	100,765	4,71054	93,8746	107,655
0,25	2	101,685	4,71054	94,7946	108,575
0,5	2	96,15	4,71054	89,2596	103,04
1	2	81,39	4,71054	74,4996	88,2804
Total	32	100,463			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp FF 90 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dilución Frec. Media Grupos homogéneos

1	2	81,39	X
0,5	2	96,15	X
0,0625	2	100,255	X
0,125	2	100,765	X
0	16	101,438	X
0,25	2	101,685	X
0,0313	2	101,69	X
0,0078	2	105,525	X
0,0156	2	108,455	X

### 7.5.1.4 FF 180 min

#### **ANOVA Simple - Resp 180 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 180 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 180 min según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	6953,04	8	869,13	17,71	0,0000
Intra grupos	1129,05	23	49,0892		
Total (Corr.)	8082,09	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 180 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	101,438	1,75159	98,8753	104,0
0,0078	2	103,25	4,95425	96,0031	110,497
0,0156	2	102,645	4,95425	95,3981	109,892
0,0313	2	100,07	4,95425	92,8231	107,317
0,0625	2	96,43	4,95425	89,1831	103,677
0,125	2	102,055	4,95425	94,8081	109,302
0,25	2	93,55	4,95425	86,3031	100,797
0,5	2	75,28	4,95425	68,0331	82,5269
1	2	44,45	4,95425	37,2031	51,6969
Total	32	95,5769			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 180 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	44,45	X
	0,5	2	75,28	X
	0,25	2	93,55	X
	0,0625	2	96,43	X
	0,0313	2	100,07	X
	0	16	101,438	X
	0,125	2	102,055	X
	0,0156	2	102,645	X
	0,0078	2	103,25	X

### 7.5.1.5 O<sub>3</sub> 15 min

#### **ANOVA Simple - Resp 03 15 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 03 15 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 03 15 min según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1001,75	8	125,218	2,02	0,0893
Intra grupos	1424,59	23	61,9387		
Total (Corr.)	2426,34	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 03 15 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	101,438	1,96753	98,5595	104,316
0,0078	2	115,255	5,56501	107,115	123,395
0,0156	2	113,08	5,56501	104,94	121,22
0,0313	2	100,335	5,56501	92,1947	108,475
0,0625	2	99,83	5,56501	91,6897	107,97
0,125	2	101,495	5,56501	93,3547	109,635
0,25	2	98,635	5,56501	90,4947	106,775
0,5	2	98,5	5,56501	90,3597	106,64
1	2	88,97	5,56501	80,8297	97,1103
Total	32	101,725			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 03 15 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dilución Frec. Media Grupos homogéneos

1	2	88,97	X
0,5	2	98,5	XX
0,25	2	98,635	XX
0,0625	2	99,83	XXX
0,0313	2	100,335	XXX
0	16	101,438	X
0,125	2	101,495	XXX
0,0156	2	113,08	XX
0,0078	2	115,255	X

## 7.5.1.6 O<sub>3</sub> 60 min

### ANOVA Simple - Resp 03 60 min según Dilución

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 03 60 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

### Tabla ANOVA para Resp 03 60 min según Dilución

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	12121,0	8	1515,13	25,55	0,0000
Intra grupos	1364,18	23	59,312		
Total (Corr.)	13485,2	31			

### Tabla de Medias para Resp 03 60 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	101,438	1,92536	98,6212	104,254
0,0078	2	114,865	5,44573	106,899	122,831
0,0156	2	111,515	5,44573	103,549	119,481
0,0313	2	101,34	5,44573	93,3742	109,306
0,0625	2	99,72	5,44573	91,7542	107,686
0,125	2	100,65	5,44573	92,6842	108,616
0,25	2	99,65	5,44573	91,6842	107,616
0,5	2	87,405	5,44573	79,4392	95,3708
1	2	24,65	5,44573	16,6842	32,6158
Total	32	96,9559			

### Contraste Múltiple de Rango para Resp 03 60 min según Dilución

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	24,65	X
	0,5	2	87,405	X
	0,25	2	99,65	XXX
	0,0625	2	99,72	XXX
	0,125	2	100,65	XXX
	0,0313	2	101,34	XXX
	0	16	101,438	X
	0,0156	2	111,515	XX
	0,0078	2	114,865	X

## 7.5.2 Análisis PROBIT: Determinación del valor MID

### 7.5.2.1 T 0 min

PROBIT resp0min OF total WITH Dilución  
 /LOG 10  
 /MODEL PROBIT  
 /PRINT FREQ CI  
 /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		15
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	3
Grupo control		2

**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 <sup>a</sup>	Dilución	,077	-22,969	,000	-1,915	-1,614
	Intersección	,083	-19,857	,000	-1,730	-1,564

### Estimaciones de los parámetros

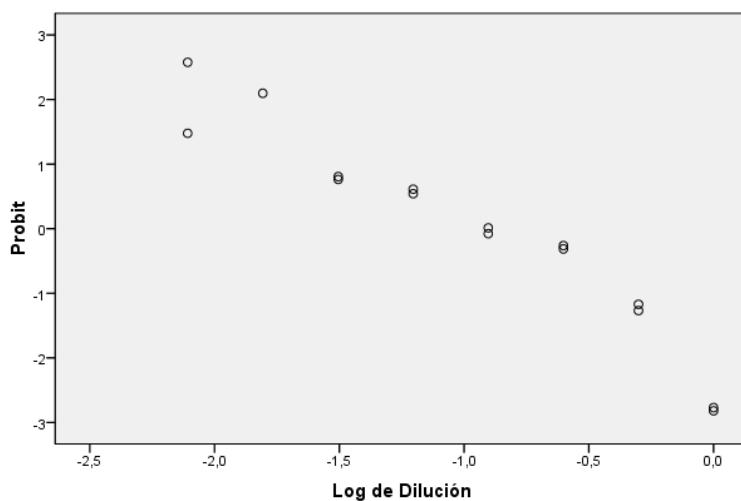
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	,077	-22,969	,000	-1,915	-1,614
	Intersección	,083	-19,857	,000	-1,730	-1,564

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

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	46,963	13	,000 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



### 7.5.2.2 T 0 min pre

```
PROBIT resp0minpre OF total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	2
Grupo control		2

### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	15	Sí

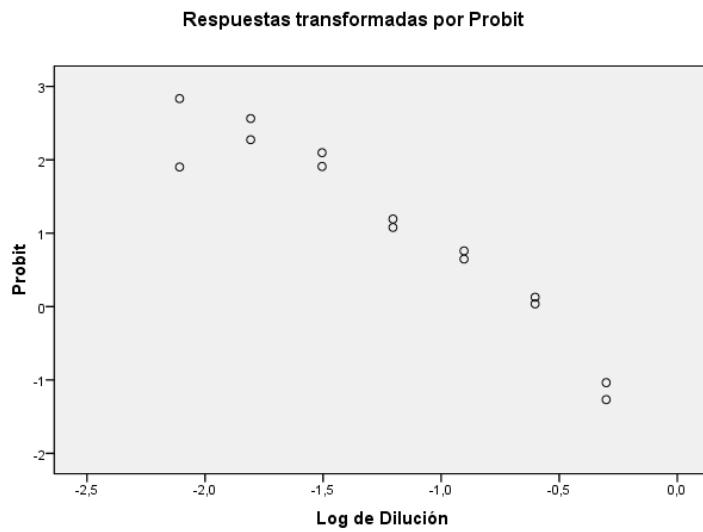
### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-2,409	,105	-22,853	,000	-2,616
	Intersección	-1,665	,091	-18,289	,000	-1,756

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

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	284,003	14 ,000 <sup>b</sup>



### 7.5.2.3 FF 180 min

PROBIT resp180min OF total WITH Dilución

```
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		7
Rechazados	Perdidos	24
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	1
Grupo control		0

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	14	Sí

### Estimaciones de los parámetros

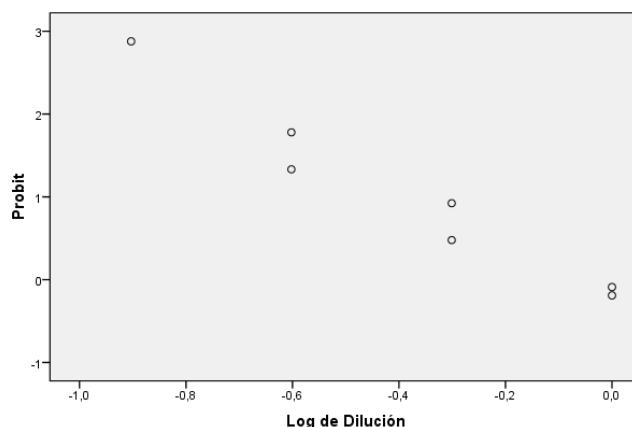
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	,244	-11,608	,000	-3,308	-2,352
	Intersección	,082	-1,865	,062	-,235	-,071

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

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	8,658	5	,123 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



### 7.5.2.4 O<sub>3</sub> 60 min

```
PROBIT resp60min OF total WITH Dilución
/LLOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

### Información sobre los datos

	Nº de casos
--	-------------

Válidos		5
Rechazados	Perdidos	24
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	3
Grupo control		0

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	13	Sí

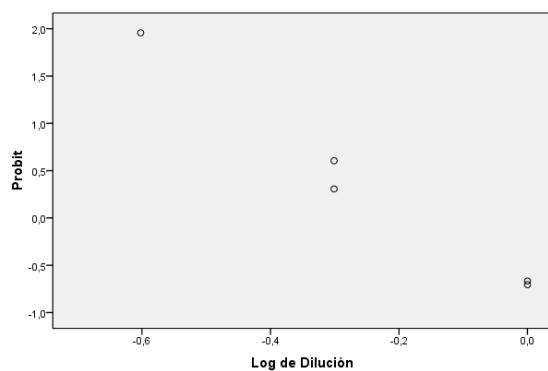
#### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-4,084	,345	-11,842	,000	-4,760
	Intersección	-,719	,092	-7,780	,000	-,811

#### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	3,910	3	,271 <sup>b</sup>

Respuestas transformadas por Probit



## 7.6 ENSAYO DE TOXICIDAD CON CÉLULAS N2a PARA LAS MUESTRAS A DIFERENTES TIEMPOS DE TRATAMIENTO

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

#### 7.6.1.1 0 min

##### ANOVA Simple - Resp 0 min según Dilución

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 0 min  
Factor: Dilución

Número de observaciones: 32  
Número de niveles: 9

##### Tabla ANOVA para Resp 0 min según Dilución

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	49909,1	8	6238,63	263,95	0,0000
Intra grupos	543,63	23	23,6361		
Total (Corr.)	50452,7	31			

##### Tabla de Medias para Resp 0 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	98,9681	1,21542	97,1902	100,746
0,0078	2	102,325	3,43774	97,2964	107,354
0,0156	2	100,145	3,43774	95,1164	105,174
0,0313	2	93,015	3,43774	87,9864	98,0436
0,0625	2	49,63	3,43774	44,6014	54,6586
0,125	2	27,34	3,43774	22,3114	32,3686
0,25	2	6,88	3,43774	1,8514	11,9086
0,5	2	0,355	3,43774	-4,6736	5,3836
1	2	0,315	3,43774	-4,7136	5,3436
Total	32	73,2344			

##### Contraste Múltiple de Rango para Resp 0 min según Dilución

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	0,315	X
	0,5	2	0,355	X
	0,25	2	6,88	X
	0,125	2	27,34	X
	0,0625	2	49,63	X
	0,0313	2	93,015	X
	0	16	98,9681	X
	0,0156	2	100,145	X
	0,0078	2	102,325	X

### 7.6.1.2 0 min pre

#### ANOVA Simple - Resp 0 min pre según Dilución

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 0 min pre

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### Tabla ANOVA para Resp 0 min pre según Dilución

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	45180,6	8	5647,57	188,16	0,0000
Intra grupos	690,332	23	30,0144		
Total (Corr.)	45870,9	31			

#### Tabla de Medias para Resp 0 min pre según Dilución con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	98,9681	1,36964	96,9647	100,972
0,0078	2	91,515	3,87392	85,8484	97,1816
0,0156	2	87,915	3,87392	82,2484	93,5816
0,0313	2	71,81	3,87392	66,1434	77,4766
0,0625	2	53,34	3,87392	47,6734	59,0066
0,125	2	48,62	3,87392	42,9534	54,2866
0,25	2	3,645	3,87392	-2,02163	9,31163
0,5	2	-0,065	3,87392	-5,73163	5,60163
1	2	-1,34	3,87392	-7,00663	4,32663
Total	32	71,6991			

#### Contraste Múltiple de Rango para Resp 0 min pre según Dilución

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	-1,34	X
	0,5	2	-0,065	X
	0,25	2	3,645	X
	0,125	2	48,62	X
	0,0625	2	53,34	X
	0,0313	2	71,81	X
	0,0156	2	87,915	X
	0,0078	2	91,515	XX
	0	16	98,9681	X

### 7.6.1.1 FF90 min

#### **ANOVA Simple - Resp FF 90 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp FF 90 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp FF 90 min según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	9632,06	8	1204,01	30,13	0,0000
Intra grupos	918,978	23	39,9556		
Total (Corr.)	10551,0	31			

#### **Tabla de Medias para Resp FF 90 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	98,9681	1,58026	96,6566	101,28
0,0078	2	106,08	4,46965	99,542	112,618
0,0156	2	113,085	4,46965	106,547	119,623
0,0313	2	102,855	4,46965	96,317	109,393
0,0625	2	98,8	4,46965	92,262	105,338
0,125	2	100,255	4,46965	93,717	106,793
0,25	2	84,605	4,46965	78,067	91,143
0,5	2	75,495	4,46965	68,957	82,033
1	2	34,52	4,46965	27,982	41,058
Total	32	94,215			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp FF 90 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	34,52	X
	0,5	2	75,495	X
	0,25	2	84,605	X
	0,0625	2	98,8	X
	0	16	98,9681	X
	0,125	2	100,255	XX
	0,0313	2	102,855	XX
	0,0078	2	106,08	XX
	0,0156	2	113,085	X

### 7.6.1.4 FF180 min

#### **ANOVA Simple - Resp 180 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 180 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 180 min según Dilución**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	19752,5	8	2469,06	97,90	0,0000
Intra grupos	580,055	23	25,2198		
Total (Corr.)	20332,6	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 180 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar	Límite inf.	Límite sup.
			(s agrupada)		
0	16	98,9681	1,25548	97,1316	100,805
0,0078	2	97,275	3,55104	92,0807	102,469
0,0156	2	98,015	3,55104	92,8207	103,209
0,0313	2	97,16	3,55104	91,9657	102,354
0,0625	2	96,87	3,55104	91,6757	102,064
0,125	2	88,24	3,55104	83,0457	93,4343
0,25	2	73,415	3,55104	68,2207	78,6093
0,5	2	46,655	3,55104	41,4607	51,8493
1	2	6,44	3,55104	1,24566	11,6343
Total	32	87,2384			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 180 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
1	2	6,44	X
0,5	2	46,655	X
0,25	2	73,415	X
0,125	2	88,24	X
0,0625	2	96,87	XX
0,0313	2	97,16	XX
0,0078	2	97,275	XX
0,0156	2	98,015	XX
0	16	98,9681	X

### 7.6.1.5 O<sub>3</sub> 15 min

#### **ANOVA Simple - Resp 03 15 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 03 15 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 03 15 min según Dilución**

##### Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3244,8	8	405,6	8,05	0,0000
Intra grupos	1158,25	23	50,3587		
Total (Corr.)	4403,05	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 03 15 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	98,9681	1,7741	96,373	101,563
0,0078	2	97,65	5,01791	90,31	104,99
0,0156	2	99,56	5,01791	92,22	106,9
0,0313	2	93,635	5,01791	86,295	100,975
0,0625	2	76,835	5,01791	69,495	84,175
0,125	2	93,605	5,01791	86,265	100,945
0,25	2	81,315	5,01791	73,975	88,655
0,5	2	89,07	5,01791	81,73	96,41
1	2	63,695	5,01791	56,355	71,035
Total	32	92,9444			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 03 15 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	63,695	X
	0,0625	2	76,835	XX
	0,25	2	81,315	XX
	0,5	2	89,07	XXX
	0,125	2	93,605	XX
	0,0313	2	93,635	XX
	0,0078	2	97,65	X
	0	16	98,9681	X
	0,0156	2	99,56	X

### 7.6.1.6 O<sub>3</sub> 60 min

ANOVA Simple - Resp 03 60 min según Dilución

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 03 60 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

**Tabla ANOVA para Resp 03 60 min según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	25460,9	8	3182,61	112,00	0,0000
Intra grupos	653,568	23	28,416		
Total (Corr.)	26114,5	31			

**Tabla de Medias para Resp 03 60 min según Dilución**  
con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	98,9681	1,33267	97,0187	100,918
0,0078	2	99,895	3,76935	94,3813	105,409
0,0156	2	99,59	3,76935	94,0763	105,104
0,0313	2	93,85	3,76935	88,3363	99,3637
0,0625	2	93,72	3,76935	88,2063	99,2337
0,125	2	92,71	3,76935	87,1963	98,2237
0,25	2	82,87	3,76935	77,3563	88,3837
0,5	2	29,29	3,76935	23,7763	34,8037
1	2	-1,28	3,76935	-6,79367	4,23367
Total	32	86,3994			

**Contraste Múltiple de Rango para Resp 03 60 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	-1,28	X
	0,5	2	29,29	X
	0,25	2	82,87	X
	0,125	2	92,71	XX
	0,0625	2	93,72	XX
	0,0313	2	93,85	XX
	0	16	98,9681	X
	0,0156	2	99,59	X
	0,0078	2	99,895	X

## 7.6.2 Análisis PROBIT: Determinación del valor MID

### 7.6.2.1 0 min

```
PROBIT resp0min OF total WITH Dilución
/LLOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		13
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	4
Grupo control		3

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	15	Sí

**Estimaciones de los parámetros**

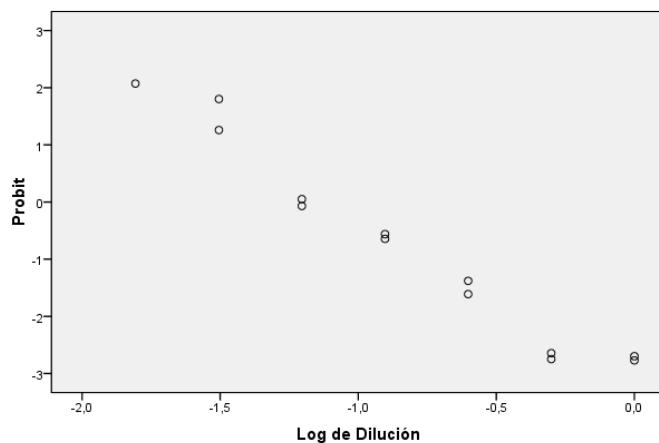
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-3,031	,152	-19,973	,000	-3,328
	Intersección	-3,403	,173	-19,726	,000	-3,575
						-3,230

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

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	23,556	11	,015 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



#### 7.6.2.2 0 min pre

```
PROBIT resp0minpre OF total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		16
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	1
Grupo control		3

### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	15	Sí

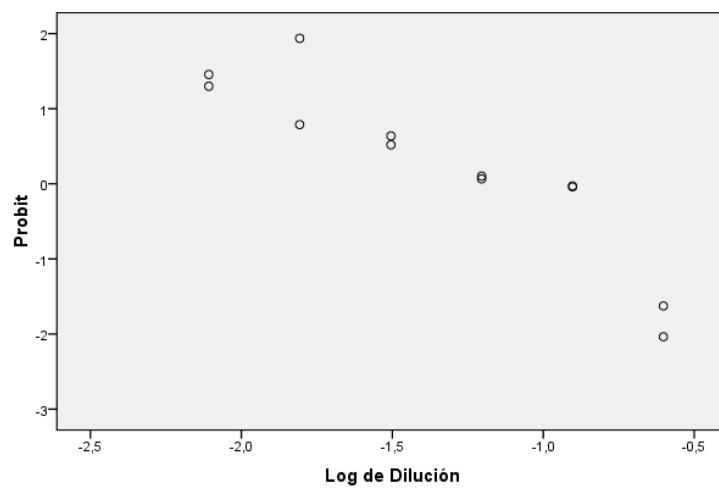
### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-1,957	,081	-24,219	,000	-2,116
	Intersección	-2,351	,105	-22,330	,000	-2,456

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	97,328	14	,000 <sup>b</sup>

### Respuestas transformadas por Probit



### 7.6.2.3 FF90 min

PROBIT resp90min OF total WITH Dilución  
 /LOG 10  
 /MODEL PROBIT  
 /PRINT FREQ CI  
 /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		8
Rechazados	Perdidos	20
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	4
Grupo control		0

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	13	Sí

**Estimaciones de los parámetros**

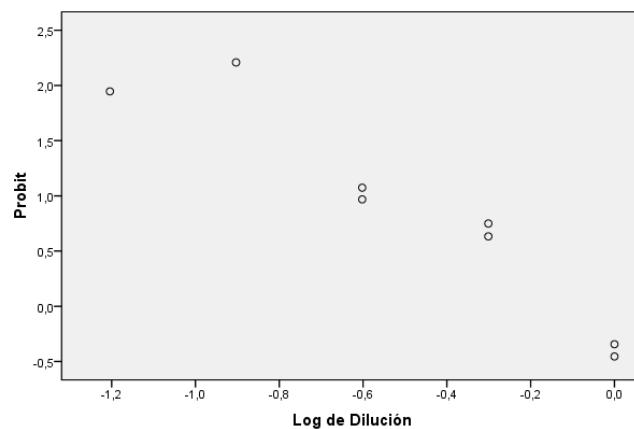
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-2,307	,184	-12,529	,000	-2,668
	Intersección	-,256	,078	-3,256	,001	-,334

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

### Contrastes de chi-cuadrado

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	19,218	6	,004 <sup>b</sup>

Respuestas transformadas por Probit



#### 7.6.2.4 O<sub>3</sub> 60 min

PROBIT resp60min OF total WITH Dilución

/LOG 10

/MODEL PROBIT

/PRINT FREQ CI

/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		14
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	3
Grupo control		3

### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	12	Sí

### Estimaciones de los parámetros

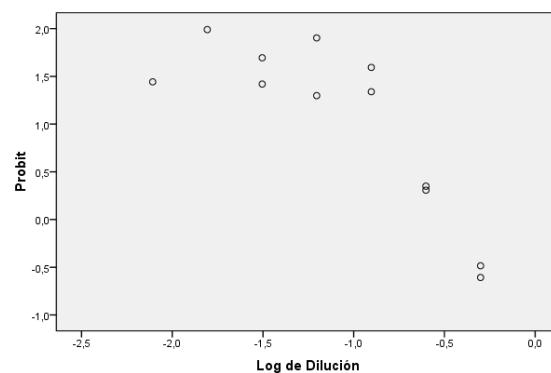
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-1,994	,091	-21,818	,000	-2,174
	Intersección	-1,104	,077	-14,419	,000	-1,180

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

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	651,473	12	,000 <sup>b</sup>

Respuestas transformadas por Probit



### 7.6.2.5 FF 180 min

PROBIT resp180min OF total WITH Dilución  
 /LOG 10  
 /MODEL PROBIT  
 /PRINT FREQ CI  
 /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		15
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	2
Grupo control		3

**Información sobre la convergencia**

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	15	Sí

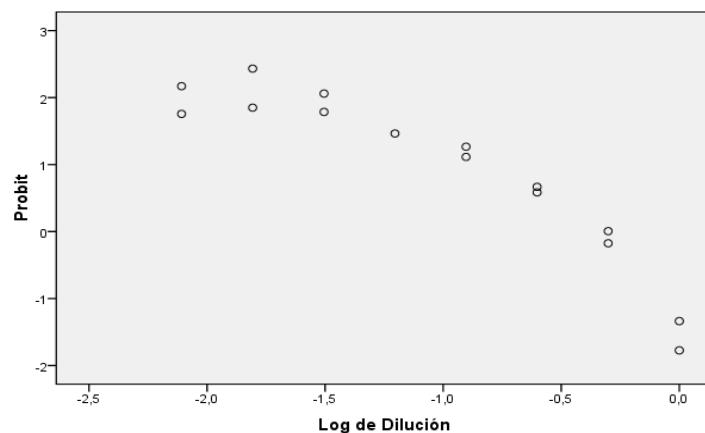
**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	,090	-19,935	,000	-1,981	-1,627
	Intersección	,071	-10,794	,000	-,835	-,694

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

**Contrastes de chi-cuadrado**

		Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	201,909	13	,000 <sup>b</sup>

**Respuestas transformadas por Probit**

## 7.7 ENSAYO DE TOXICIDAD CON CÉLULAS HEK PARA LAS MUESTRAS A DIFERENTES TIEMPOS DE TRATAMIENTO

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

#### 7.7.1.1 0 min

ANOVA Simple - Resp 0 min según Dilución

Variable dependiente: Resp 0 min  
Factor: Dilución

Número de observaciones: 32  
Número de niveles: 9

**Tabla ANOVA para Resp 0 min según Dilución**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	30872,3	8	3859,03	121,97	0,0000
Intra grupos	727,695	23	31,6389		
Total (Corr.)	31600,0	31			

**Tabla de Medias para Resp 0 min según Dilución**  
con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	99,9994	1,40621	97,9424	102,056
0,0078	2	101,145	3,97737	95,327	106,963
0,0156	2	91,745	3,97737	85,927	97,563
0,0313	2	99,51	3,97737	93,692	105,328
0,0625	2	101,92	3,97737	96,102	107,738
0,125	2	76,095	3,97737	70,277	81,913
0,25	2	42,54	3,97737	36,722	48,358
0,5	2	22,395	3,97737	16,577	28,213
1	2	0,935	3,97737	-4,88295	6,75295
Total	32	83,5175			

**Contraste Múltiple de Rango para Resp 0 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	0,935	X
	0,5	2	22,395	X
	0,25	2	42,54	X
	0,125	2	76,095	X
	0,0156	2	91,745	X
	0,0313	2	99,51	X
	0	16	99,9994	X
	0,0078	2	101,145	X
	0,0625	2	101,92	

### 7.7.1.2 0 min pre

#### **ANOVA Simple - Resp 0 min pre según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 0 min pre

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 0 min pre según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	31271,3	8	3908,91	114,54	0,0000
Intra grupos	784,919	23	34,1269		
Total (Corr.)	32056,2	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 0 min pre según Dilución**

con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	99,9994	1,46046	97,8631	102,136
0,0078	2	102,18	4,13079	96,1376	108,222
0,0156	2	95,965	4,13079	89,9226	102,007
0,0313	2	105,165	4,13079	99,1226	111,207
0,0625	2	104,615	4,13079	98,5726	110,657
0,125	2	94,45	4,13079	88,4076	100,492
0,25	2	58,675	4,13079	52,6326	64,7174
0,5	2	14,26	4,13079	8,21762	20,3024
1	2	2,165	4,13079	-3,87738	8,20738
Total	32	86,0919			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 0 min pre según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	2,165	X
	0,5	2	14,26	X
	0,25	2	58,675	X
	0,125	2	94,45	X
	0,0156	2	95,965	X
	0	16	99,9994	X
	0,0078	2	102,18	X
	0,0625	2	104,615	X
	0,0313	2	105,165	X

### 7.7.1.3 FF 90 min

ANOVA Simple - Resp FF 90 min según Dilución

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp FF 90 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

**Tabla ANOVA para Resp FF 90 min según Dilución**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	4992,87	8	624,109	16,00	0,0000
Intra grupos	897,383	23	39,0167		
Total (Corr.)	5890,25	31			

**Tabla de Medias para Resp FF 90 min según Dilución**  
con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf. Límite sup.	
				Límite inf.	Límite sup.
0	16	99,9994	1,56158	97,7151	102,284
0,0078	2	111,09	4,41682	104,629	117,551
0,0156	2	102,5	4,41682	96,0392	108,961
0,0313	2	103,755	4,41682	97,2942	110,216
0,0625	2	100,205	4,41682	93,7442	106,666
0,125	2	108,865	4,41682	102,404	115,326
0,25	2	102,87	4,41682	96,4092	109,331
0,5	2	84,85	4,41682	78,3892	91,3108
1	2	54,18	4,41682	47,7192	60,6408
Total	32	98,0194			

**Contraste Múltiple de Rango para Resp FF 90 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
1	2	54,18	X
0,5	2	84,85	X
0	16	99,9994	X
0,0625	2	100,205	XX
0,0156	2	102,5	XX
0,25	2	102,87	XX
0,0313	2	103,755	XX
0,125	2	108,865	XX
0,0078	2	111,09	X

Contraste Diferencias +/- Límites

### 7.7.1.4 FF 180 min

#### **ANOVA Simple - Resp FF 180 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp FF 180 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp FF 180 min según Dilución**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	17900,8	8	2237,6	49,76	0,0000
Intra grupos	1034,18	23	44,9645		
Total (Corr.)	18935,0	31			

#### **Tabla de Medias para Resp FF 180 min según Dilución**

con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Intervalo de Confianza	
				Límite inf.	Límite sup.
0	16	99,9994	1,67639	97,5472	102,452
0,0078	2	108,69	4,74155	101,754	115,626
0,0156	2	97,775	4,74155	90,8392	104,711
0,0313	2	93,265	4,74155	86,3292	100,201
0,0625	2	93,66	4,74155	86,7242	100,596
0,125	2	90,48	4,74155	83,5442	97,4158
0,25	2	79,55	4,74155	72,6142	86,4858
0,5	2	45,675	4,74155	38,7392	52,6108
1	2	14,775	4,74155	7,83923	21,7108
Total	32	88,9916			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp FF 180 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dilución Frec. Media Grupos homogéneos

1	2	14,775	X
0,5	2	45,675	X
0,25	2	79,55	X
0,125	2	90,48	XX
0,0313	2	93,265	XX
0,0625	2	93,66	X
0,0156	2	97,775	XX
0	16	99,9994	XX
0,0078	2	108,69	X

### 7.7.1.5 O<sub>3</sub> 15 min

#### **ANOVA Simple - Resp 03 15 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 03 15 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 03 15 min según Dilución**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	2169,43	8	271,178	7,23	0,0001
Intra grupos	862,673	23	37,5075		
Total (Corr.)	3032,1	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 03 15 min según Dilución con 95,0 intervalos LSD**

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar (s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	99,9994	1,53108	97,7598	102,239
0,0078	2	107,4	4,33056	101,065	113,735
0,0156	2	104,79	4,33056	98,4554	111,125
0,0313	2	108,655	4,33056	102,32	114,99
0,0625	2	119,79	4,33056	113,455	126,125
0,125	2	98,455	4,33056	92,1204	104,79
0,25	2	98,005	4,33056	91,6704	104,34
0,5	2	90,34	4,33056	84,0054	96,6746
1	2	78,945	4,33056	72,6104	85,2796
Total	32	100,398			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 03 15 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD	Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
	1	2	78,945	X
	0,5	2	90,34	XX
	0,25	2	98,005	XX
	0,125	2	98,455	XX
	0	16	99,9994	X
	0,0156	2	104,79	X
	0,0078	2	107,4	XX
	0,0313	2	108,655	XX
	0,0625	2	119,79	X

### 7.7.1.6 O<sub>3</sub> 60 min

#### **ANOVA Simple - Resp 03 60 min según Dilución**

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: Resp 03 60 min

Factor: Dilución

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 9

#### **Tabla ANOVA para Resp 03 60 min según Dilución**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	G1	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	5905,9	8	738,237	14,86	0,0000
Intra grupos	1142,33	23	49,6665		
Total (Corr.)	7048,22	31			

#### **Tabla de Medias para Resp 03 60 min según Dilución**

con 95,0 intervalos LSD

Dilución	Frec.	Media	Error Estándar		
			(s agrupada)	Límite inf.	Límite sup.
0	16	99,9994	1,76186	97,4222	102,577
0,0078	2	103,695	4,9833	96,4056	110,984
0,0156	2	104,515	4,9833	97,2256	111,804
0,0313	2	103,365	4,9833	96,0756	110,654
0,0625	2	100,8	4,9833	93,5106	108,089
0,125	2	101,85	4,9833	94,5606	109,139
0,25	2	91,18	4,9833	83,8906	98,4694
0,5	2	75,015	4,9833	67,7256	82,3044
1	2	49,955	4,9833	42,6656	57,2444
Total	32	95,6481			

#### **Contraste Múltiple de Rango para Resp 03 60 min según Dilución**

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Dilución	Frec.	Media	Grupos homogéneos
1	2	49,955	X
0,5	2	75,015	X
0,25	2	91,18	X
0	16	99,9994	X
0,0625	2	100,8	X
0,125	2	101,85	X
0,0313	2	103,365	X
0,0078	2	103,695	X
0,0156	2	104,515	X

## 7.7.2 Análisis PROBIT: Determinación del valor MID

### 7.7.2.1 0 min

```
DATASET NAME Conjunto_de_datos1 WINDOW=FRONT.
PROBIT resp0min OF total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		13
Rechazados	Perdidos	12
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	5
Grupo control		2

**Información sobre la convergencia**

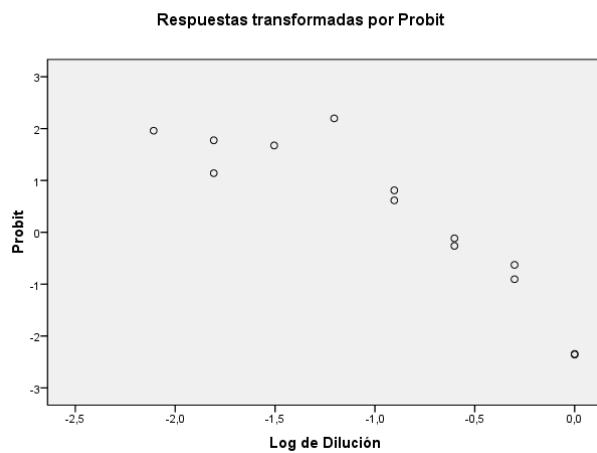
	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	12	Sí

**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	,090	-21,349	,000	-2,093	-1,741
	Intersección	,079	-17,048	,000	-1,431	-1,272

**Contrastes de chi-cuadrado**

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	133,831	,000 <sup>b</sup>



### 7.7.2.2 0 min pre

PROBIT resp0minpre OF total WITH Dilución

```
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Información sobre los datos**

		Nº de casos
Válidos		9
Rechazados	Perdidos	20
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	3
Grupo control		0

**Información sobre la convergencia**

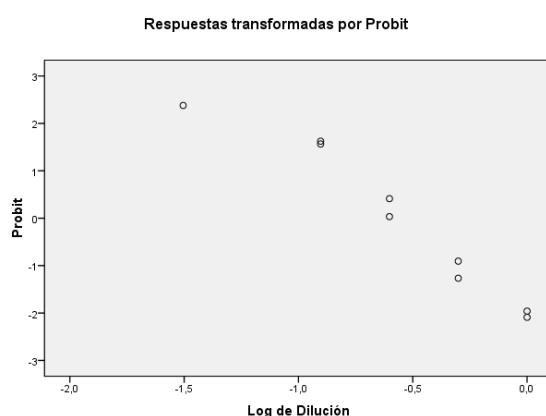
	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	15	Sí

### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	,225	-17,662	,000	-4,416	-3,534
	Intersección	,133	-16,316	,000	-2,302	-2,036

### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	117,457	7	,000 <sup>b</sup>



#### 7.7.2.3 O<sub>3</sub> 60 min

PROBIT resp60min OF total WITH Dilución

/LOG 10

/MODEL PROBIT

/PRINT FREQ CI

/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).

### Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		8
Rechazados	Perdidos	22
	La transformación log no se puede realizar	0
	Número de respuestas > Número de sujetos	2

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	14	Sí

#### Estimaciones de los parámetros

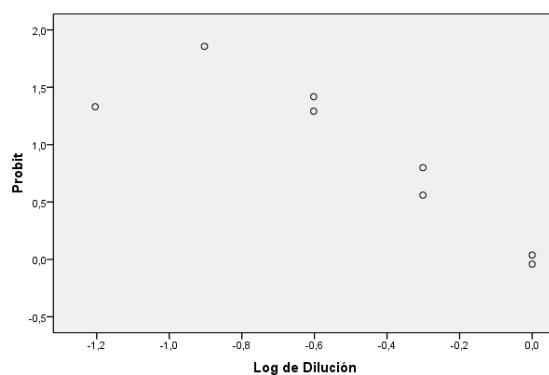
Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup> Dilución	-1,550	,155	-9,982	,000	-1,854	-1,245
Intersección	,136	,075	1,809	,070	,061	,212

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

#### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	32,780	6	,000 <sup>b</sup>

Respuestas transformadas por Probit



#### 7.7.2.4 FF 180 min

```
PROBIT resp180min OF total WITH Dilución
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI
/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

#### Información sobre los datos

	Nº de casos
Válidos	13
Rechazados	12
Perdidos	
La transformación log no se puede realizar	0
Número de respuestas > Número de sujetos	5
Grupo control	2

#### Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	14	Sí

#### Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT <sup>a</sup>	Dilución	-1,615	,089	-18,128	,000	-1,790
	Intersección	-,528	,069	-7,656	,000	-,597

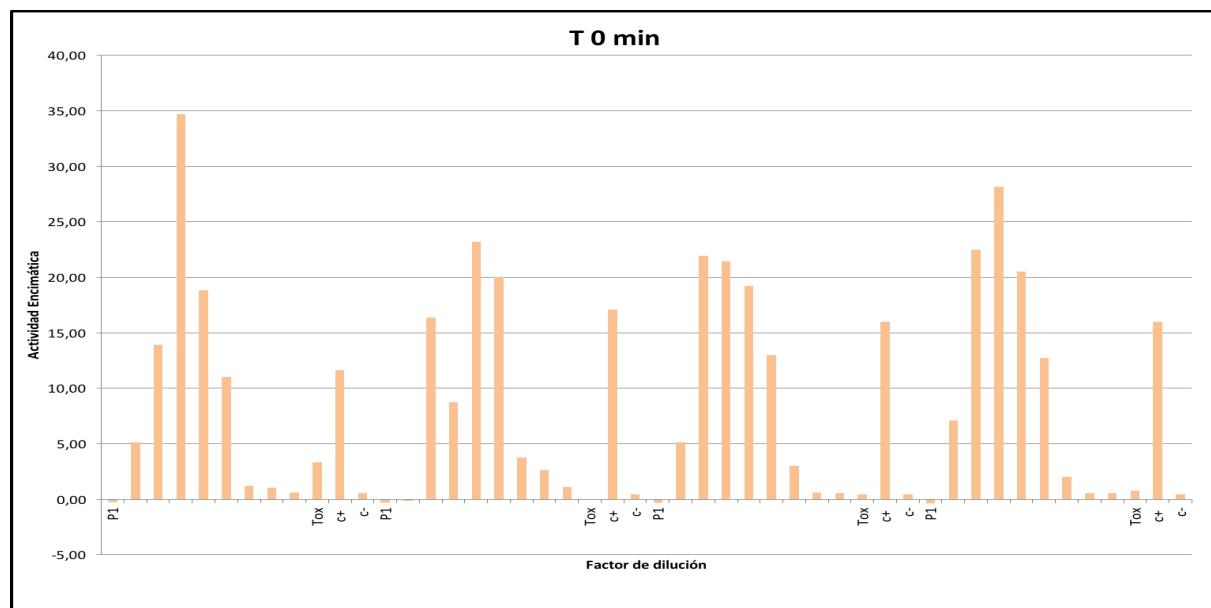
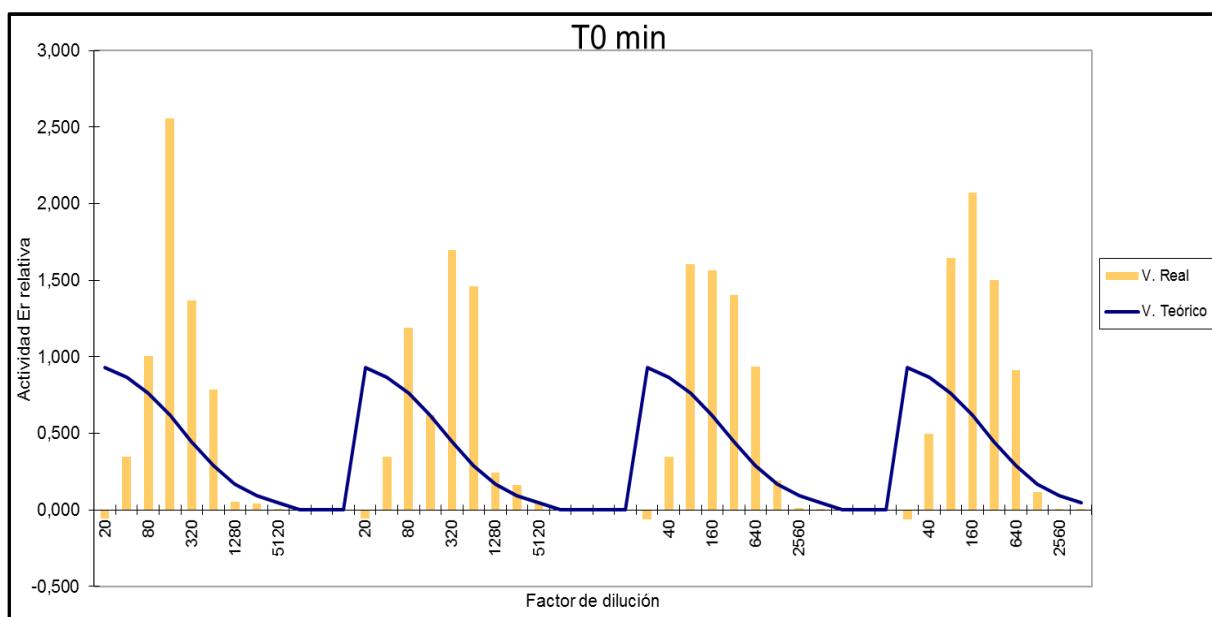
#### Contrastes de chi-cuadrado

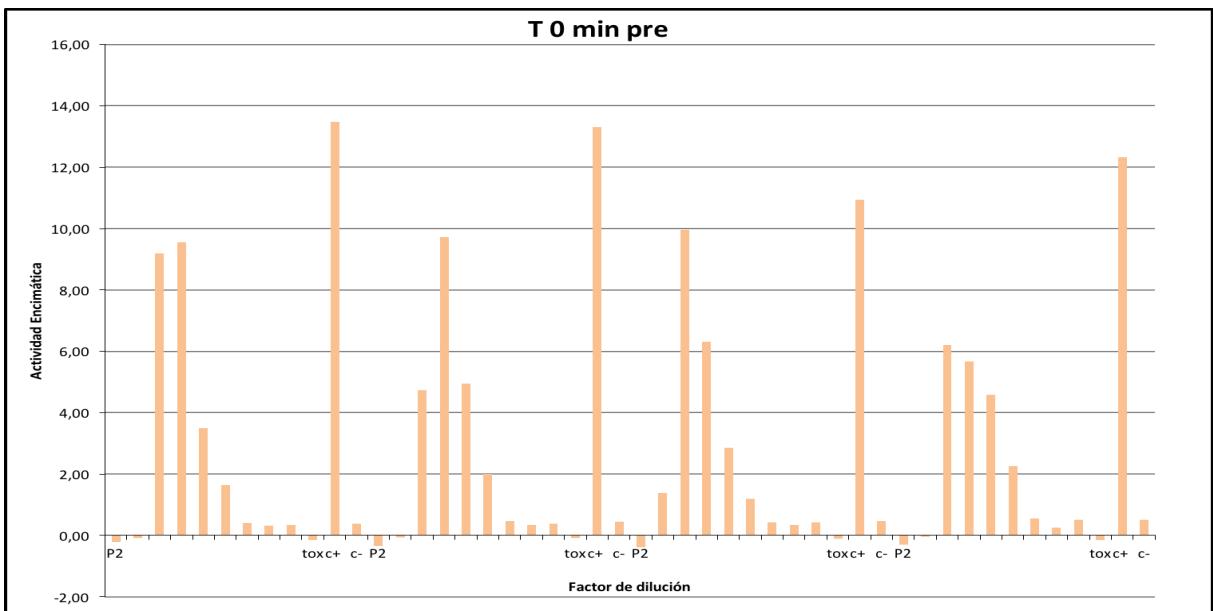
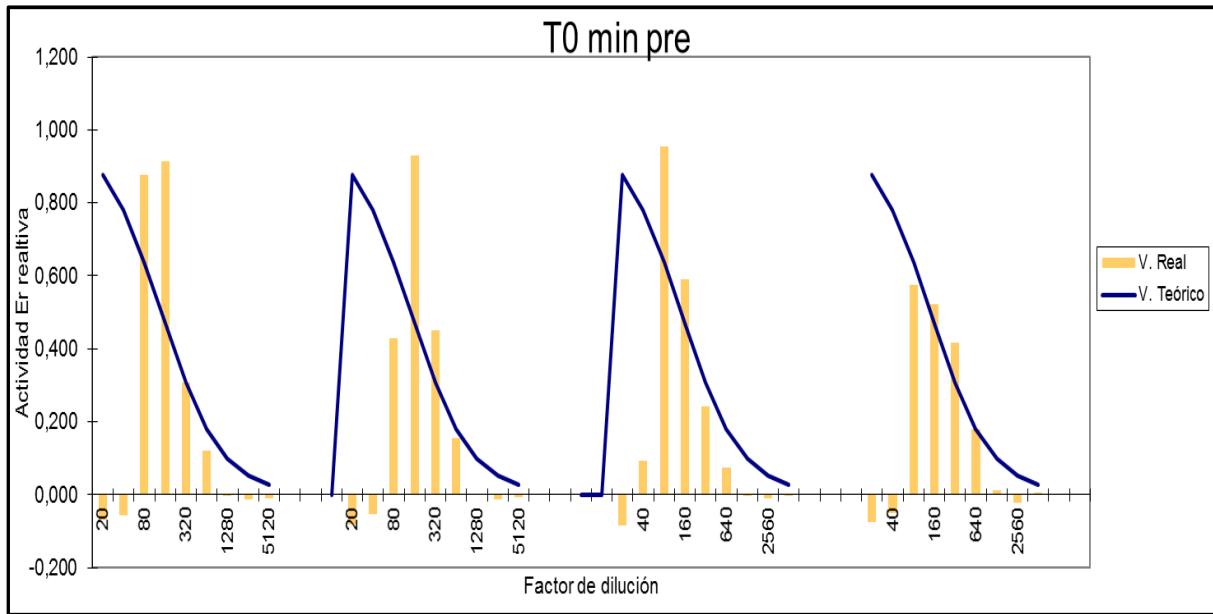
	Chi-cuadrado	gl <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	99,084	11	,000 <sup>b</sup>

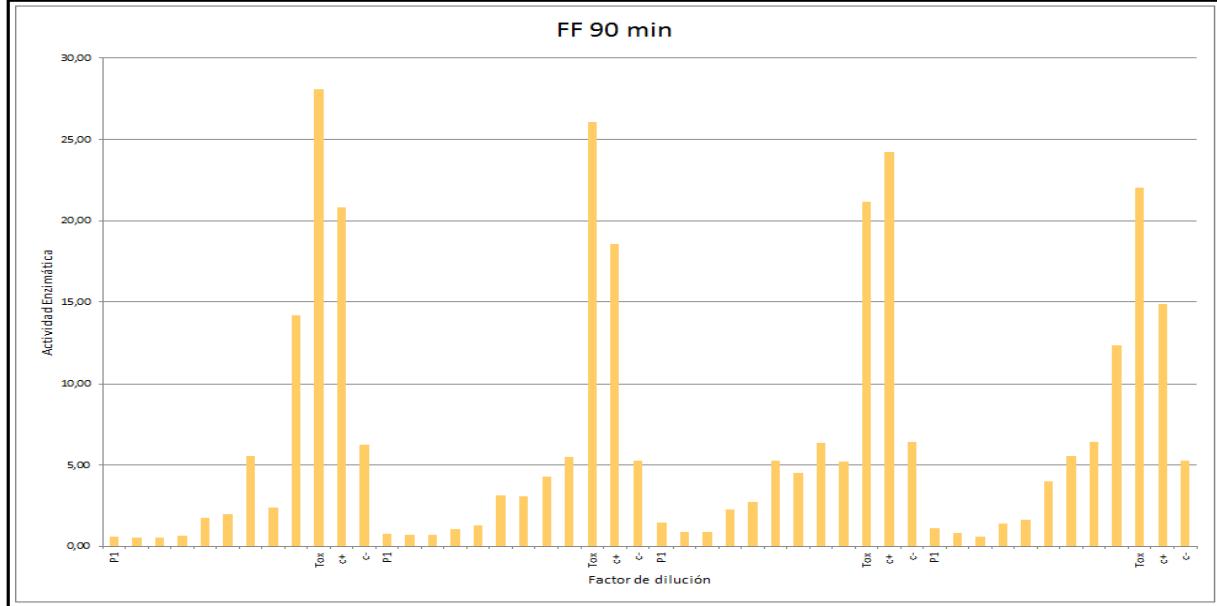
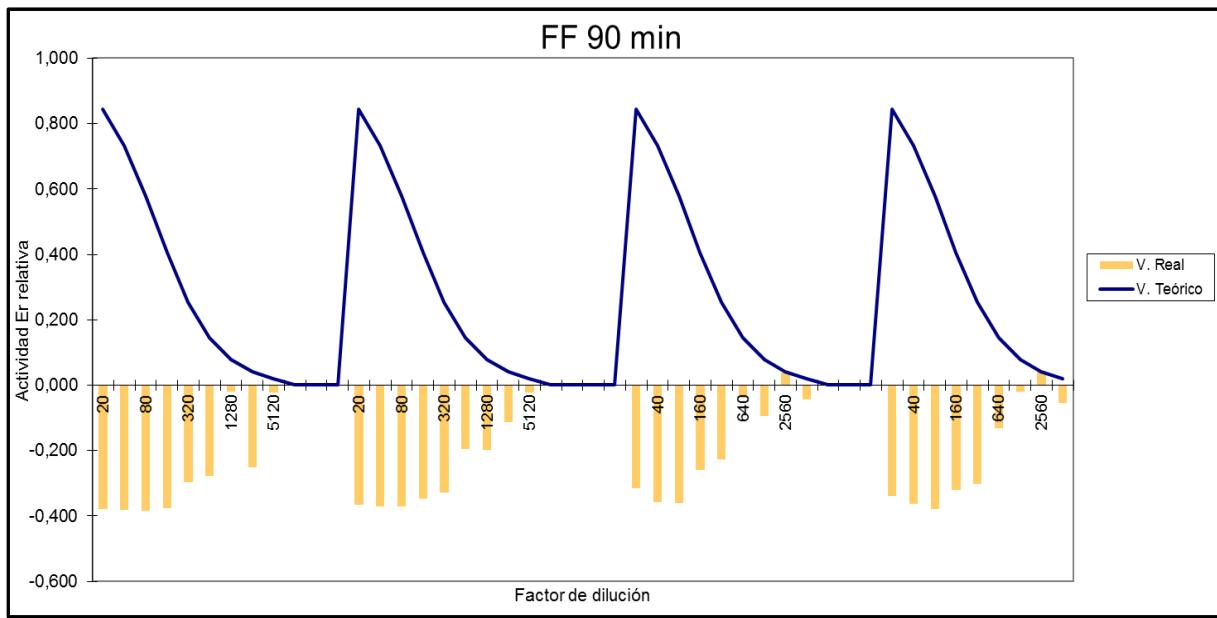


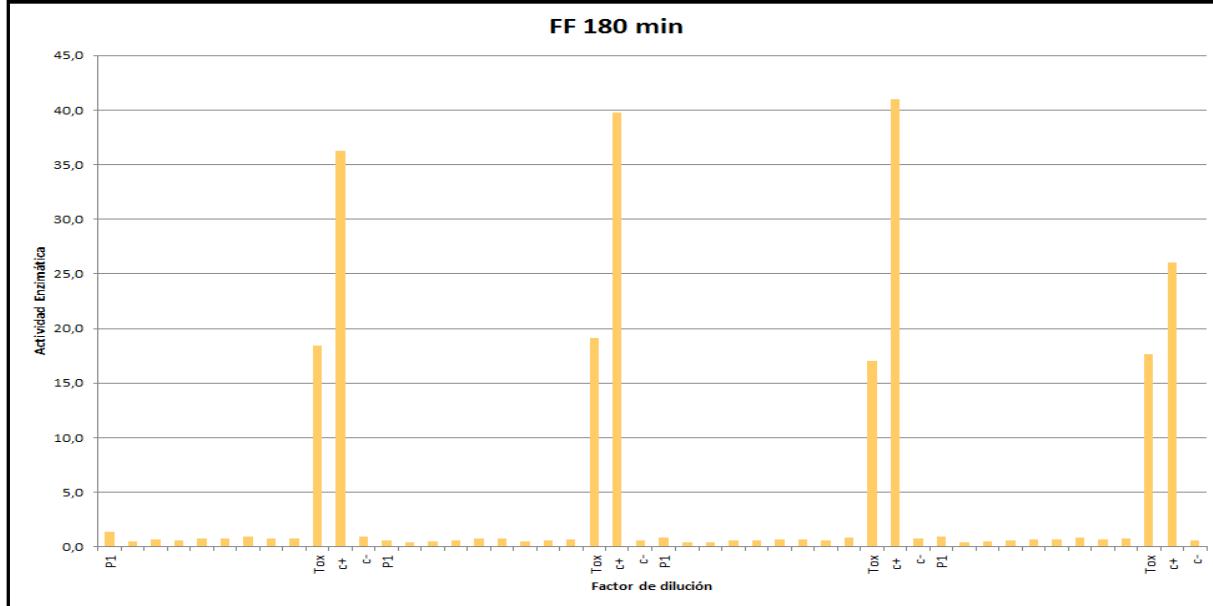
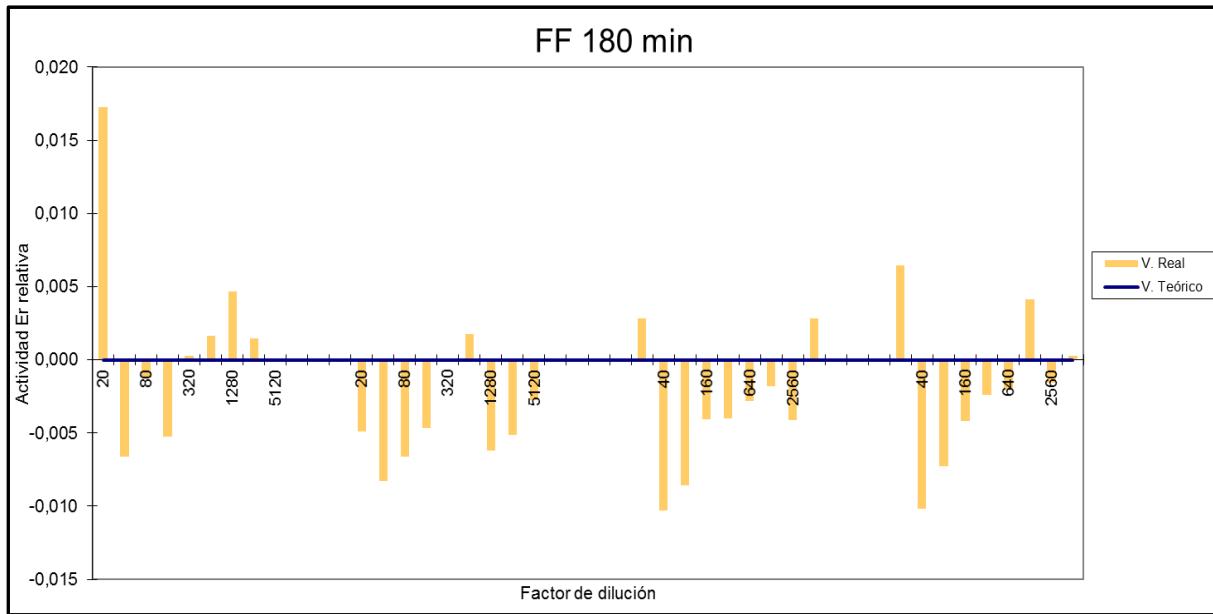
## **7.8 ENSAYO DE TOXICIDAD RYA**

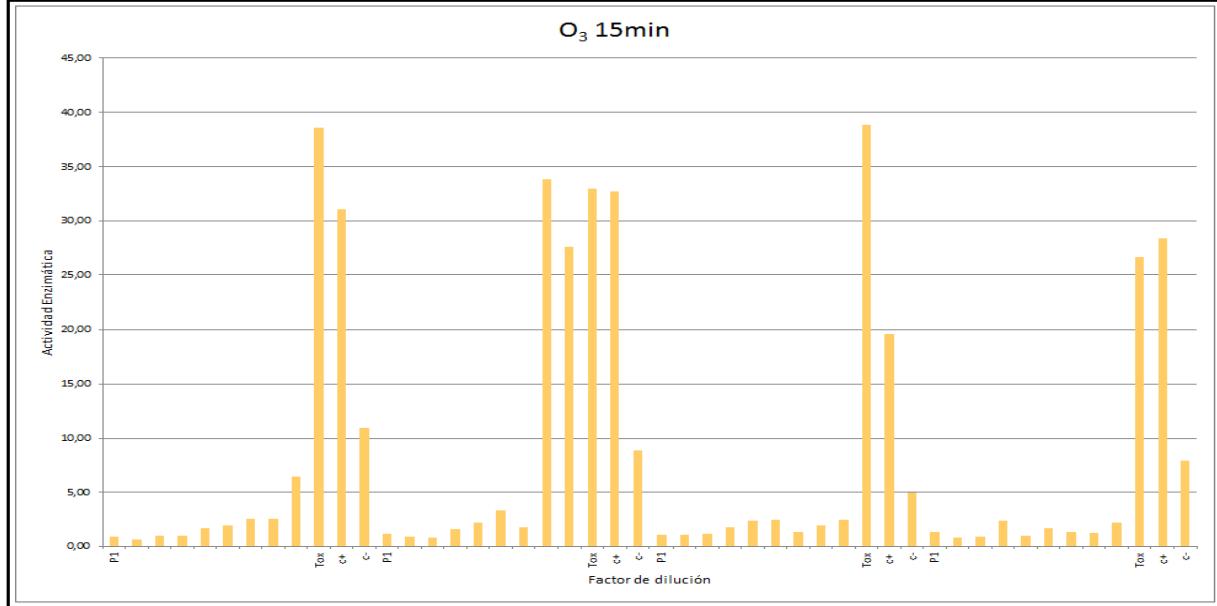
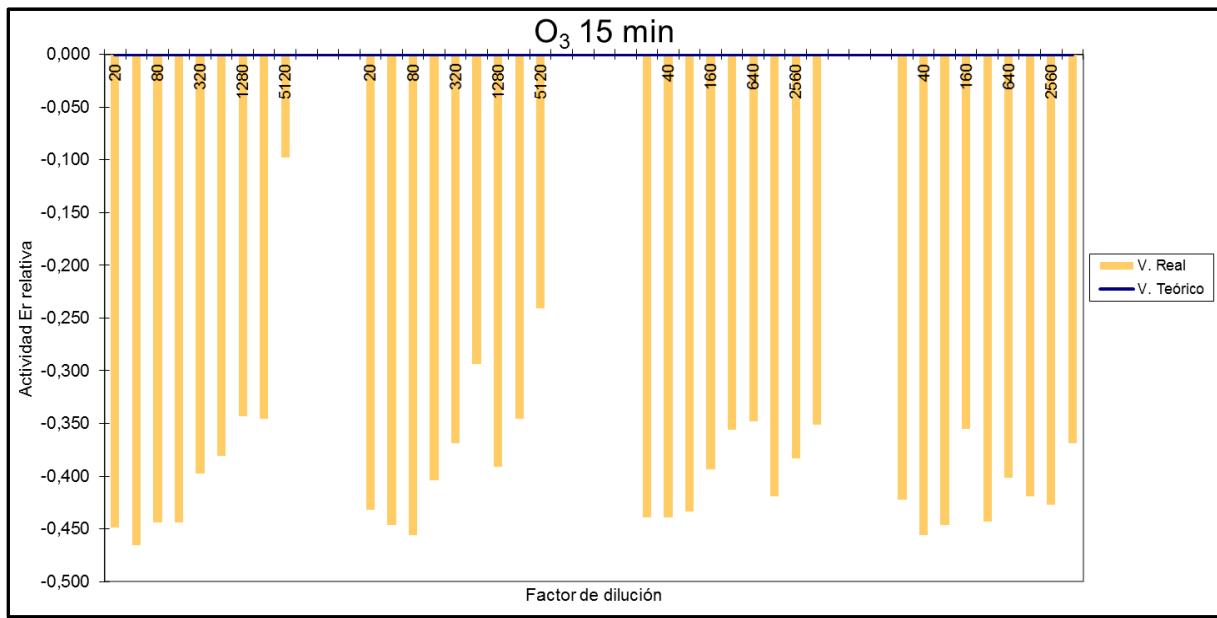
### **7.8.1 Actividad de disrupción endocrina - ensayo RYA-ER**

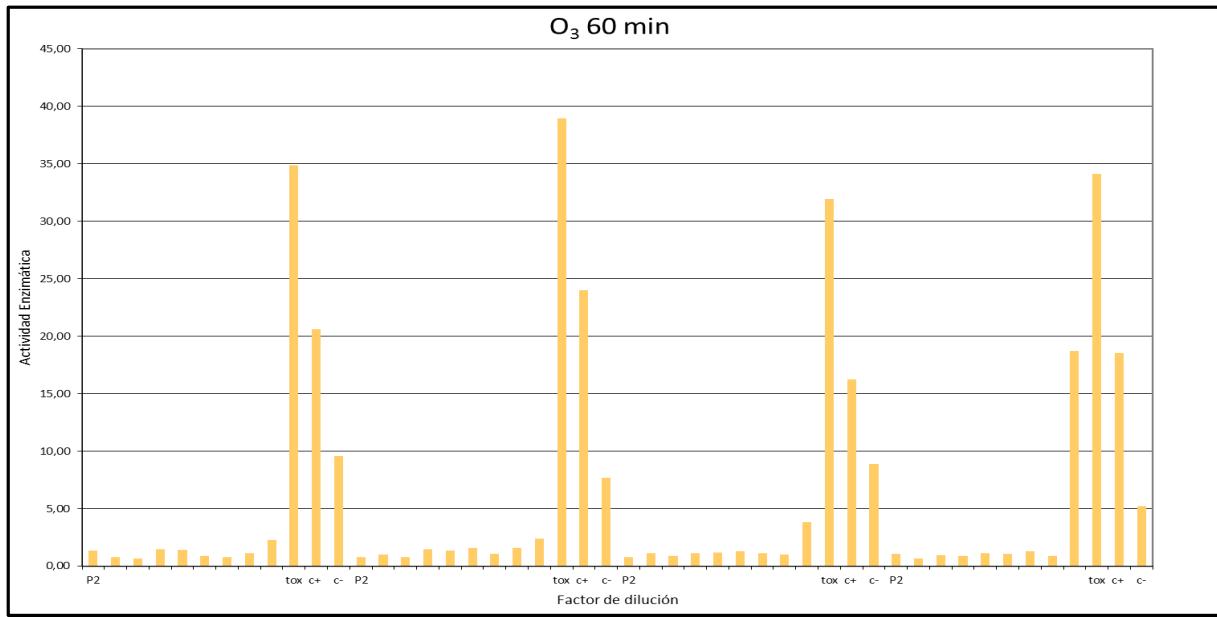
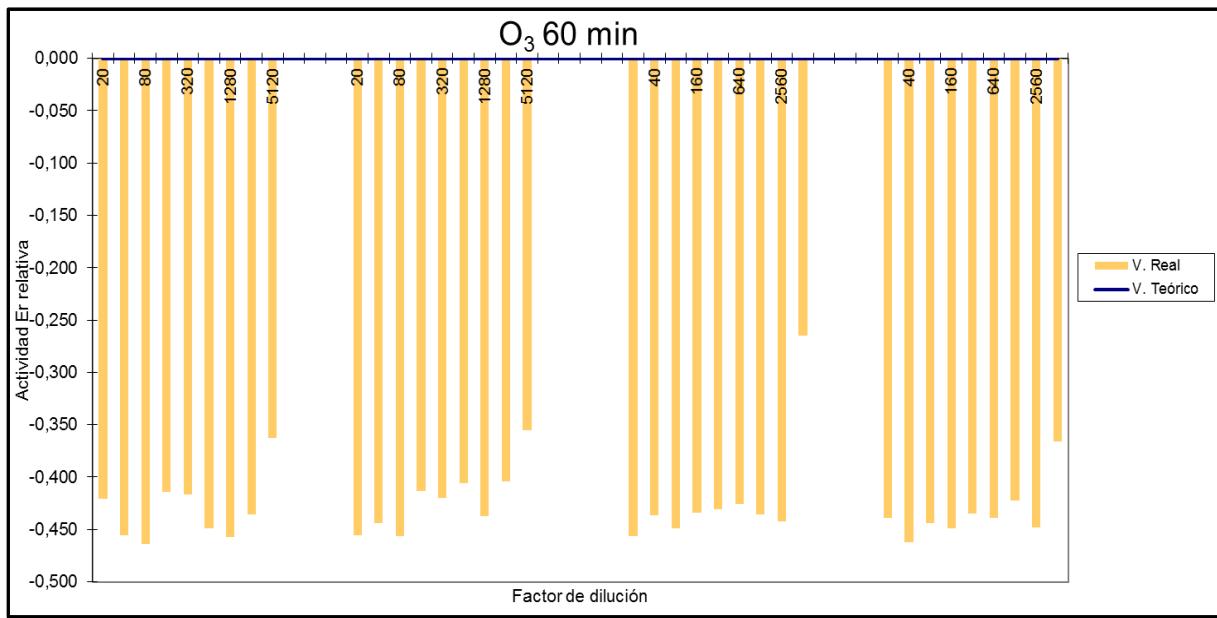












#### **7.8.2 Actividad *dioxin-like* - ensayo RYA-AhR**

