

T.  
577.2753  
E25

0034  
0035  
0036



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**TESIS**

**EFFECTOS TÓXICOS DEL DETERGENTE  
DOMÉSTICO “MAGIA BLANCA”, SOBRE LAS  
ESPECIES DE PECES *Piaractus brachypomus*  
(Cuvier, 1818) PACO Y *Colossoma macropomum*  
(Cuvier, 1818) GAMITANA (PISCIS,  
CHARACIFORMES), EN AMBIENTES  
CONTROLADOS**

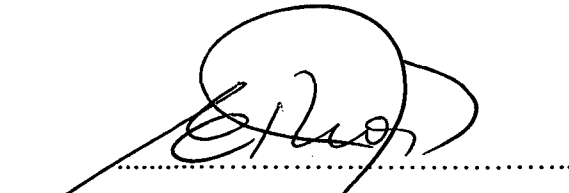
**PRESENTADA POR**

**Br. JAIME FERNANDO GARCÍA ARÉVALO  
Br. ROBERTO PEZO BENDAYAN**

**Para Optar el Título Profesional de Biólogo**

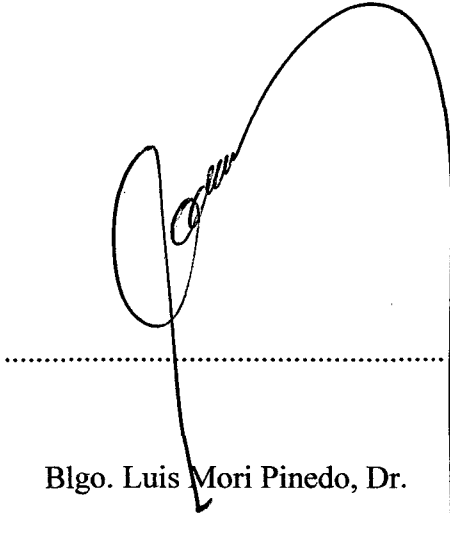
**IQUITOS - PERÚ  
2011**

**JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR**



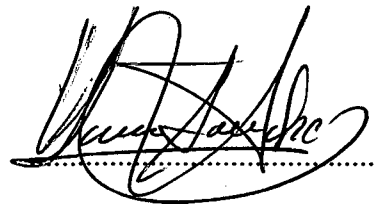
Blgo. Enrique Ríos Isern, Dr.

**Presidente**



Blgo. Luis Mori Pinedo, Dr.

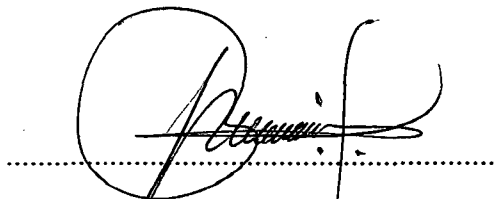
**Miembro**



Blgo. Homero Sánchez Riveiro

**Miembro**

**ASESOR DE TESIS**



Blgo. Roberto Pezo Díaz, Dr.

**FCB - UNAP**

**A mis amados padres, Jaime Luis García García y Margarita Arévalo Pinedo, por el gran apoyo brindado, durante mi época de estudiante primario, secundario y universitario, por sus consejos y orientaciones que contribuyeron a mi formación profesional.**

**A mi hermano Pepe, por acompañarme y apoyarme por mucho tiempo en el transcurso de mi carrera profesional y personal; y por ser parte de esta nueva e imparable gran fuerza...mi sobrino... el pequeño José Jared, mi gran motivo de lucha y superación sin límites...gracias.**

**A mis tíos César y Rocío, por su invaluable apoyo, por ayudarme en momentos difíciles de mi carrera, por entenderme y por enseñarme a que es posible superar todos los obstáculos que se presenten en el camino en base a dedicación y esfuerzo...gracias  
J.F.G.A.**

**A mis amados padres Roberto y Norita por todo el apoyo y la paciencia que tuvieron conmigo, así como los consejos y orientaciones que me brindaron, siempre estuvieron allí demostrando que cualquier cosa que uno se propone se puede lograr.**

**A mis hermanos Erick, que con su ejemplo me ayudó a seguir adelante y no rendirme, aunque ya no está con nosotros, siempre estarás presente en nuestros corazones, y a Adriano por todo el apoyo incondicional y cariño fraternal.**

**A mi hijo Mariano, apareciste cuando estaba en la oscuridad convirtiéndote en la luz que me permite seguir avanzando.**

**A mis abuelos, tíos, primos y sobrinos por brindarme el cariño de una familia grande y unida incluso en los duros momentos de la vida.  
R.P.B.**

**AGRADECIMIENTO**

**A Dios por concedernos el permiso de seguir vivo y por permitir que realicemos esta investigación sin sufrir mayores percances.**

**A la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, en especial a la Facultad de Ciencias Biológicas por abrirnos sus puertas y permitir que pudiéramos recibir todos los conocimientos para así poder cumplir un gran sueño.**

**A nuestros estimados y bien considerados catedráticos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, que, gracias a sus enseñanzas, consejos y guía en la experiencia del conocimiento científico, han ido formando al profesional biólogo, que ahora somos.**

**Al Blgo. Roberto Pezo Díaz, D. Sc. por todo el apoyo y orientaciones brindadas, así como compartir su experiencia de manera desinteresada.**

**A todos nuestros compañeros de estudio, que en camaradería estudiantil, nos reuníamos para estudiar, hacer nuestros informes de práctica, discutíamos e intercambiábamos ideas en bien de nuestros estudios profesionales.**

**Y A TODOS LOS QUE CREYERON EN NOSOTROS**

## I. INTRODUCCIÓN

La contaminación en el Perú, es un tema de sumo interés y, principalmente, un problema inherente a nuestra política de Saneamiento y Control de las descargas domésticas e industriales, las cuales son arrojadas a nuestros ríos sin recibir tratamiento previo, ocasionando graves efectos que se evidencian en los recursos hidrobiológicos por la alteración físico – química del agua. **(GAMERO, 1991).**

En el Perú las áreas dedicadas a actividades como la piscicultura necesitan aguas libres de contaminantes **(PRODUCE, 2002)**. El incremento de los niveles de contaminación de los ríos y lagos se debe a la ausencia de un eficiente tratamiento de las aguas residuales **(BERNA et al., 1989)**, lo que es típico en países en vías de desarrollo como el Perú.

Los detergentes domésticos, se encuentran entre los contaminantes de naturaleza orgánica de mayor trascendencia a nivel mundial, son vertidos principalmente a través de las descargas industriales y domésticas emisarios sanitarios y causan una serie de problemas ambientales en aguas superficiales, tales como, espumas, alteración de la tensión superficial del agua y disminución del oxígeno disuelto, entre otros **(ALVAREZ et al., 1999)**. Los detergentes, causan problemas de espuma en aguas superficiales, lagos, plantas de aguas residuales, y, en general, en sitios de mezcla turbulenta de aguas residuales **(YING et al., 2002)**.

**Los organismos biológicos** para ser usados como herramientas toxicológicas requieren ser **sencillos, prácticos, sensibles y repetibles** (IANNACONE *et al.*, 1998; ALAYO & IANNACONE, 2002).

**Los organismos acuáticos**, como los **peces**, juegan un papel importante dentro de la cadena alimenticia (IANNACONE & ALVARIÑO, 1998), consumen y controlan las poblaciones de insectos, micro crustáceos y algas dentro del ecosistema. Son organismos extremadamente sensibles a la perturbación ambiental, siendo afectados en su crecimiento y en sus funciones reproductivas (IANNACONE *et al.*, 1999).

Los bioensayos de toxicidad, permiten evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene sobre los organismos vivos; éstos pueden ser de dos tipos: agudo y crónico. Las pruebas **agudas** cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a una especie en particular, el valor obtenido se denomina **concentración letal media (CL<sub>50</sub>)** y corresponde a la cantidad de un tóxico que causa la muerte del 50% de la población experimental al cabo de un tiempo determinado, generalmente, en 48 o 96 horas. En contraste, los ensayos **crónicos** estiman la concentración – efecto medio (CE<sub>50</sub>) o la concentración de efectos no observables (**NOEC**) de una sustancia en estudio que causa un efecto diferente en la mortalidad de una población experimental, al cabo de un tiempo determinado (RODRIGUEZ & ESCLAPES, 1995).

Los **ensayos de toxicidad** son modificados por variables como factores **físicos y químicos, tiempo de exposición, agente químico y disponibilidad de los especímenes (LAM, 1996).**

**LEÓN (2006)**, menciona que en nuestro país se han realizado pocos trabajos sobre el efecto de los detergentes sobre recursos hidrobiológicos marinos y continentales.

Por ello, como objetivo general se ha planteado determinar los efectos tóxicos del detergente doméstico **“MAGIA BLANCA”** sobre *Piaractus brachipomus* **Paco** y *Colossoma macropomum* **Gamitana** (Piscis, Characiformes), en ambientes acuáticos controlados; y como específicos fueron: Determinar la **Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>)** del detergente doméstico **“MAGIA BLANCA”**, evaluar los **Parámetros Físico – Químicos del Agua**, antes y durante la realización de los ensayos con las especies a estudiar, determinar la **Sensibilidad en ambas especies** por la acción que ejerce el detergente **“MAGIA BLANCA”** y determinar las **Alteraciones de sus Características Físicas Externas e Internas** en los peces por acción del detergente doméstico.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La contaminación del agua dulce es uno de los factores limitantes en el crecimiento económico; muchos de los conflictos entre pueblos tienen su origen en la disponibilidad de cantidad suficiente de agua dulce de buena calidad. Además, menciona que la contaminación del agua de ríos, lagos, y humedales, que equivalen apenas el 0.01% del agua dulce del mundo, es una de las principales preocupaciones de la sociedad. Por distribución geográfica, sólo el 1% del agua sobre la superficie del planeta es de fácil acceso y es apta para el consumo humano (BID, 2002).

Más del 40% de la población mundial vive con problemas de escasez y tensión hídrica y que en el 2025 este número será mayor al 50% (BID, 2002).

(Tabla 1).

**Tabla 1. Disponibilidad de agua dulce en el mundo, 1995 y 2025**

| ESTADO          | Suministro (m <sup>3</sup> /persona) | 1995                 |                      | 2025                 |                      |
|-----------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                 |                                      | Población (millones) | Porcentaje del total | Población (millones) | Porcentaje del total |
| Escasez         | < 500                                | 1077                 | 19                   | 1783                 | 25                   |
|                 | 500 – 1000                           | 587                  | 10                   | 624                  | 9                    |
| Tensión Hídrica | 1000 – 1700                          | 669                  | 12                   | 1077                 | 15                   |
| Suficiencia     | > 1700                               | 3091                 | 55                   | 3494                 | 48                   |
| No asignada     |                                      | 241                  | 4                    | 296                  | 4                    |
| <b>Total</b>    |                                      | <b>5665</b>          | <b>100</b>           | <b>7274</b>          | <b>100</b>           |

**Fuente: Population Information Program. 1998. Soluciones para un Mundo con escasez de agua. PUCP. Maryland – USA.**



En los últimos años, se está poniendo en consideración la reevaluación de muchas sustancias, entre ellas los detergentes, cuyo alto volumen de uso hace que se les considere como muy tóxicos. Algunas instituciones como la U.S. Environmental Protection Agency (EPA) están evaluando, mediante el uso de bioindicadores, los efectos a nivel de disruptores endocrinos que pueden ocasionar problemas ambientales en organismos a través de la cadena trófica, tales, como feminización de algunas especies, problemas reproductivos, incremento de casos de cáncer, entre otros (EPA, 2011).

Aplicando el principio precautorio y de prevención (**CÓDIGO DEL MEDIO AMBIENTE Y RRNN, 1990**), se incluye a los detergentes como uno de los principales problemas ambientales que se originan en los efluentes domésticos. Hasta el momento, sólo se ha reglamentado en la normativa peruana como un parámetro potencialmente perjudicial en aguas (**LEY GENERAL DE AGUAS, revisado el 03 de Enero del 2011**), quedando pendiente una reglamentación en aguas residuales o efluentes. (Tabla 2).

**Tabla 2. Límites de sustancias o parámetros potencialmente perjudiciales (valores en mg/L)**

| <b>PARAMETROS</b>              | <b>I y II</b> | <b>III</b> | <b>IV</b>  |
|--------------------------------|---------------|------------|------------|
| <b>M.E.H. <sup>(1)</sup></b>   | <b>1.5</b>    | <b>0.5</b> | <b>0.2</b> |
| <b>S.A.A.M. <sup>(2)</sup></b> | <b>0.5</b>    | <b>1.0</b> | <b>0.5</b> |
| <b>C.A.E. <sup>(3)</sup></b>   | <b>1.5</b>    | <b>5.0</b> | <b>5.0</b> |
| <b>C.C.E. <sup>(4)</sup></b>   | <b>0.3</b>    | <b>1.0</b> | <b>1.0</b> |

(1) Material Extractable en Hexano (Grasa principalmente)

(2) Sustancias activas de azul de Metileno (Detergentes principalmente)

(3) Extracto de columna de carbón activado por alcohol (método de flujo lento)

(4) Extracto de columna de carbón activado de cloroformo (método de flujo lento)

**Fuente:** Ley General de Aguas. Revisado el 03 de Enero del 2011.

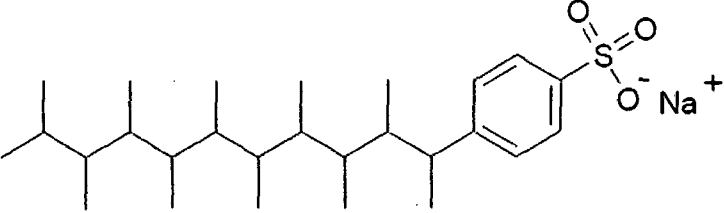
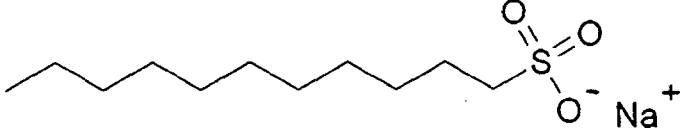
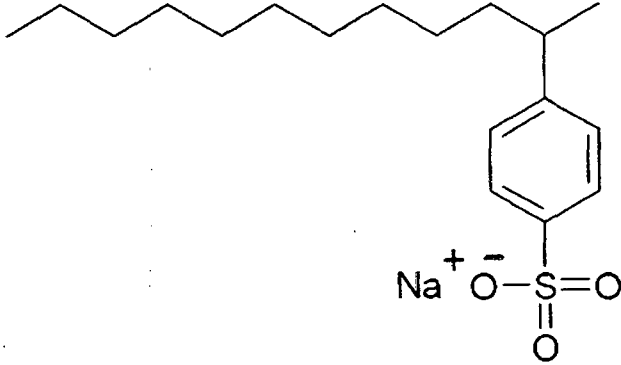
## **2.1. Detergentes**

Los detergentes sintéticos tienen propiedades limpiadoras y no forman fácilmente sales insolubles con metales, tales como el calcio y magnesio. Las características surfactantes de los detergentes se deben principalmente a su estructura, esto significa que tienen una cabeza polar o un grupo iónico, por lo general grupos sulfonatos, con muy buena afinidad por el agua, y tienen otra parte formada por una cadena hidrocarbonada insoluble en agua (no polar). (TOLLS *et al.*, 2000).

## 2.2. Clasificación de los Detergentes

Los principales detergentes utilizados en los diferentes procedimientos de lavado, de acuerdo a su estructura y capacidad de biodegradación se clasifican de acuerdo a la **Tabla 3, según MANAHAN, 1994.**

**Tabla 3. Clasificación de los detergentes**

| NOMBRE                  | ESTRUCTURA   |
|-------------------------|--|
| ABS                     |    |
| Lauril Sulfato de Sodio |  |
| LAS                     |  |

**Fuente: VISITACIÓN, 2004.** Degradación fotocatalítica de detergentes en efluentes domésticos. PUCP. Lima – Perú.

Los Arilbencensulfonatos de Sodio - ABS de cadena ramificada no pueden ser biodegradados por presentar átomos de carbono terciarios

en su estructura. Fueron prohibidos a partir de la década del 60 al observar su presencia en los canales de agua donde terminaban los efluentes domésticos; Los detergentes con base Lauril Sulfato de Sodio, son biodegradables pero de poco uso en los detergentes domésticos (**EICHHORN et al., 2001**).

Los Alquilbencensulfonatos lineales de sodio fueron introducidos a partir del año 1965 como alternativa biodegradable del ABS (Cadena ramificada de Arilbencensulfonato de sodio), dado que al presentar una cadena carbonada con carbonos secundarios, son más susceptibles a biodegradarse (**KRUGER et al., 1998**).

Los Alquilbencensulfonatos Lineales (Surfactantes Aniónicos Lineales - LAS) son los más importantes tensoactivos o surfactantes sintéticos empleados en los detergentes domésticos. La producción mundial es de aproximadamente 4 millones de toneladas por año (**TOLLS et al., 2000**).

LAS es una mezcla de compuestos lineales de 10 a 14 átomos de carbono. Uno de los componentes representativos en la formulación del detergente doméstico es el LAS de cadena de 12 átomos carbono, pues presenta propiedades físicas, químicas y toxicológicas intermedias entre los componentes del mismo de cadena corta C10, C11 y los de cadena larga c13 y c14 (**GONZALES-MAZO, 1998; KRUGER & FIELD, 1995**).

### 2.3. Composición de los Detergentes en el Perú

El principal componente en la mezcla que conforma un detergente es el agente tensoactivo o también llamado surfactante, así como algunos aditivos. Entre los agentes tensoactivos utilizados, el C12 LAS es el más común para la remoción de la grasa proveniente de la suciedad de la ropa. Los aditivos añadidos al detergente favorecen la remoción de las grasas y suciedad así como también mejoran la calidad del blanco obtenido después del lavado. En base a los ingredientes declarados en la envoltura de los productos comerciales. (Tabla 4).

Tabla 4. Composición de algunos detergentes comerciales en el Perú.

|                     | Surfactantes LAS | Cosurfactantes | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Blanqueador óptico |
|---------------------|------------------|----------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| <b>Ña pancha</b>    | X                | X              | X                               |                                 | X                  |
| <b>Ariel</b>        | X                | X              |                                 | X                               | X                  |
| <b>Ace</b>          | X                | X              |                                 |                                 | X                  |
| <b>Magia Blanca</b> | X                | X              |                                 | X                               | X                  |

Fuente: Elaborado por los autores. 2011.

## 2.4. Aspectos Ambientales

- **Biodegradación**

Las mezclas de LAS pueden ser degradados al 50% en condiciones aeróbicas, como es el caso de las aguas de río, en aproximadamente 2 días. En este caso se considera que la fracción a degradar preferentemente son las de cadenas cortas C10, C11; las de cadena más larga se degradan en un tiempo mayor. En el caso de ambientes anóxicos (<0.1 mg/L de Oxígeno disuelto) que puede ocurrir en tratamientos con digestores de lodos activados, aguas subterráneas contaminadas con aguas residuales y en sedimentos de los ríos o lagos (zonas profundas llamadas subóxicas) no se produce biodegradación aparente en un periodo de 2 días (KRUGER *et al.*, 1998).

Cuando se encuentra en ambientes con bajo contenido de oxígeno disuelto (1 mg/L) sólo se produce una biodegradación parcial y selectiva del LAS (sólo los componentes de cadena carbonada menor a 12).

Es importante conocer que los componentes del LAS de cadena larga se encuentran principalmente distribuidos en el sedimento por tener mayor afinidad a éste. Para el caso específico de LAS de 12 átomos de cadena carbonada (C12 LAS), el proceso de

biodegradación a 35 °C, en la interfase sedimento agua, para una concentración inicial de 0.1 mg/L, es según la Tabla 5, es:

**Tabla 5. Biodegradación del LAS**

| <b>Condiciones Ambientales</b> | <b>Mineralización a CO<sub>2</sub></b> |  |
|--------------------------------|--|--|
|                                | <b>%</b>                               | <b>Tiempo</b>  |
| <b>Aeróbicas</b>               | 14<br>41<br>7.5                        | Después de 5 días<br>Después de 42 días<br>de la concentración inicial<br>permanece luego de 42 días |
| <b>Anaeróbicas</b>             | 26<br>52<br>20                         | Después de 5 días<br>Después de 42 días<br>de la concentración inicial<br>permanece luego de 42 días |

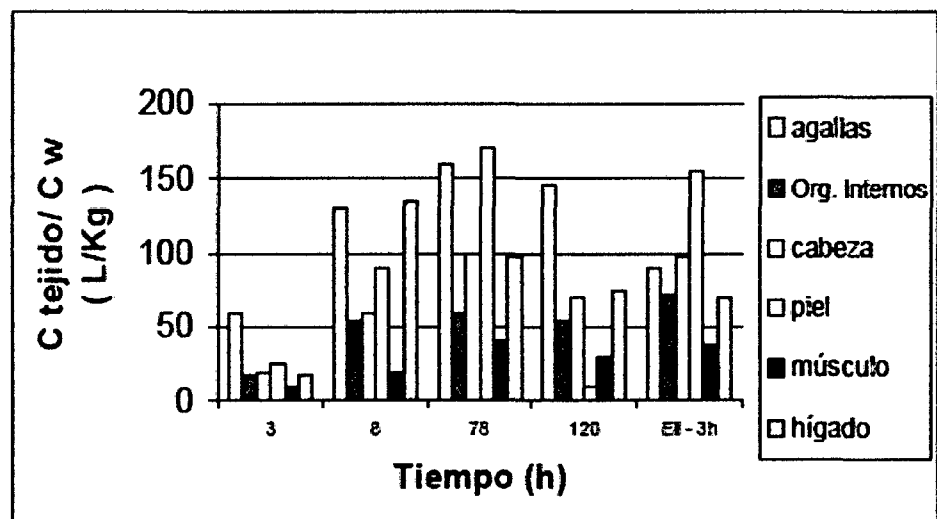
**Fuente:** VISITACIÓN, 2004. Degradación fotocatalítica de detergentes en efluentes domésticos. PUCP. Lima – Perú.

Al comparar las referencias de la tabla anterior, se observa que la biodegradación de C12 LAS es más eficiente en condiciones aeróbicas, quedando sólo 7.5% remanente luego de 42 días. Las bajas temperaturas influyen en el proceso de biodegradación inhibiendo a las bacterias que actúan en el proceso (**KAREL VERSCHUEREN, 1996**).

La biodegradabilidad de los detergentes domésticos es muy variable (**TEMARA et al., 2001**). Dependiendo de su estructura química, pueden ser fácilmente descompuestos o difíciles de utilizar por las bacterias.

- **Bioconcentración**

En algunos estudios realizados sobre la exposición de dos especies de peces, como *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” y el *Pimephales promeleas* “fathead minnow”, a concentraciones cercanas a 1 mg/L de la mezcla de C10 a C13 de LAS, se encontró que la concentración de estos componentes en el hígado y en otros órganos internos se incrementó rápidamente (músculo y agallas). Asimismo, se observó que al exponer los peces a LAS, éste alcanzaba una concentración máxima en el organismo a unas 72 horas de exposición luego del cual ya no existe un incremento significativo (Figura 1) (TOLLS *et al.*, 2000).



**Figura 1.** Distribución de las moléculas de LAS en los tejidos de *Oncorhynchus mykiss* en relación con la concentración presente en el agua.

La piel, el hígado y las agallas son los principales lugares donde existe una fuerte **Bioconcentración** incluso después de una



eliminación de 3 horas en agua sin LAS; el músculo por el contrario, no bioconcentra significativamente.

- **Toxicidad**

El LAS presenta un nivel tóxico en agua de 0.1 a 100 mg/L y en sedimento de 200 mg/kg. Se encontró que la concentración tóxica efectiva, con respecto a la concentración ambiental en el agua, para algas de agua fresca, invertebrados y peces es de 10 a 1000 veces mayor (TABOR & BARBER, 1996).

La toxicidad aguda, expresado en CL<sub>50</sub> del LAS para algunas especies dulceacuícolas, según KAREL VERSCHUEREN (1996). (Tabla 6).

**Tabla 6.** Concentración letal media (LC<sub>50</sub>) del LAS sobre algunas especies Dulce - acuícolas

| <b>ESPECIE</b>       | <b>TIEMPO (días)</b> | <b>CL<sub>50</sub> (mg/L)</b> |
|----------------------|----------------------|-------------------------------|
| <i>Ceriodaphnia</i>  | 7                    | 20                            |
| <i>Daphnia pulex</i> | 2                    | 20                            |
| <i>Daphnia pulex</i> | 2                    | 7 - 49                        |
| <i>Rita rita</i>     | 4                    | 6.9 – 7.2                     |

**Fuente:** VISITACIÓN, 2004. Degradación fotocatalítica de detergentes en efluentes domésticos. PUCP. Lima – Perú.

- **Distribución en cuerpos de agua**

Estudios realizados en el río Mississippi (USA) han encontrado que la concentración de la mezcla de LAS en el agua varía entre 0.1 a 28.2  $\mu\text{g/L}$ , y en muestras de sedimentos alcanza valores desde 0.01 a 20  $\text{mg/L}$ . Estos valores corresponden a los efluentes municipales de una población de 67 371 000 habitantes que en promedio consume 2.6  $\text{g/día}$  considerando además que han pasado por sistemas de tratamiento físico, químico y biológico (TABOR & BARBER, 1996).

Estudios realizados en el agua del litoral de la Bahía de Cádiz (España), proveniente de efluentes domésticos sin tratamiento de una población de 100 000 habitantes, se encontró 1500  $\mu\text{g/L}$  de LAS y en el sedimento de 3 a 10  $\mu\text{g/L}$  de este tensoactivo (GONZALES-MAZO, 1998).

Estudios realizados en el agua de la Laguna Bay de Filipinas, que recibe efluentes domésticos de una población de 2 000 000 de habitantes, se encontró 1.2 a 7.3  $\mu\text{g/L}$  de LAS (EICHHORN *et al.*, 2001).

Al comparar las concentraciones de LAS en un ambiente litoral mediterráneo, de baja temperatura promedio, bahía de Cádiz, con un ambiente tropical de temperatura promedio alta, laguna Bay, se

observa que a pesar de soportar una mayor población la laguna Bay, presenta un menor contenido de LAS en el cuerpo de agua debido a una mayor actividad microbiana que mejora la biodegradación del LAS. También se considera que la población presente en la bahía de Cádiz tiene elevados valores de consumo *per capita* de detergente 4 g/día.

- **Consumo de detergente**

El consumo mundial de detergentes, se ha incrementado directamente con la población. El consumo *per capita* de detergentes se incrementa en un 80% (TOLLS *et al.*, 2000; KRUGER *et al.*, 1998, TOLLS *et al.*, 1997; ONU, 2010). (Tabla 7)

**Tabla 7. Consumo mundial de LAS.**

| <b>Año</b>    | <b>Consumo (ton)</b> | <b>Población en millones</b> | <b>Consumo <i>per capita</i> aproximado (g/día)</b> |
|---------------|----------------------|------------------------------|---|
| Antes de 1965 | 0                    | 3000                         | 0   |
| 1987          | $1.8 \times 10^6$    | 5000                         | 1.0   |
| 2000          | $4.0 \times 10^6$    | 6080                         | 1.8   |

**Fuente:** VISITACIÓN, 2004. Degradación fotocatalítica de detergentes en efluentes domésticos. PUCP. Lima – Perú.

A nivel nacional, el consumo de detergentes también ha aumentado en los últimos 8 años (INEI, 2000). (Tabla 8)

**Tabla 8. Consumo nacional de detergentes**

| <b>Año</b> | <b>Consumo (ton)</b> | <b>Población en millones</b> | <b>Consumo per capita aproximado (g/día)</b> |
|------------|----------------------|------------------------------|--|
| 1996       | 64904                | 24                           | 7.9  |
| 1997       | 74859                |                              |  |
| 1998       | 68286                |                              |  |
| 1999       | 79245                | 26                           | 8.4  |
| 2000       | 78119                |                              |  |
| 2001       | 81707                |                              |  |

**Fuente:** INEI. 2000.

**Sobre el consumo local**, poco o nada se ha escrito, sin embargo, podemos estimar cálculos para la ciudad de Iquitos, considerando que tiene 110 000 familias y un promedio de 5 miembros por familia, haciendo un total de 550 000 habitantes, y considerando el consumo per cápita nacional de 8.4 g/día, se tiene que, la población de Iquitos consume 4 620 kg de detergente/día; 138 600 kg de detergente/mes; y 1 663 200 kg de detergente/año. A esta cantidad, la añadimos, los consumos de las ciudades de Pucallpa, Contamana, Requena, Yurimaguas, y otros pueblos más pequeños, cuyas aguas que pasan por sus riberas contribuyen a la contaminación de las aguas del río Amazonas.

## 2.5. Bioensayos de Toxicidad

Los bioensayos son experimentos, normalmente llevados a cabo en el laboratorio, donde los efectos tóxicos originados por determinados contaminantes, son medidos bajo condiciones controladas (**MARTINEZ, 2000**). Estas pruebas son realizadas sobre un tejido vivo, organismo o grupo de organismos, que son usados como agentes para determinar la potencia de cualquier sustancia fisiológicamente activa o de actividad desconocida (**REISH & OSHIDA, 1987**), permitiendo comparar la toxicidad de diferentes compuestos y conocer la sensibilidad de las diversas especies, para determinar los mecanismos de los efectos de las sustancias ensayadas (**ALCAZAR, 1988**).

Los efectos pueden manifestarse a diferentes niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Por tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo. Dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico, y su relación con el ciclo de vida del organismo; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico (**USGS, 2000**).

En los ensayos de toxicidad aguda se evalúa la concentración del tóxico (conocido o desconocido) que es capaz de matar o inmovilizar el

50% de la población (CL<sub>50</sub>) en 96 h. por tanto (**PAGGI & PAGGI, 1999**), la mortalidad es uno de los parámetros más utilizados en estudios de toxicidad aguda porque, a pesar de presentar algunas limitaciones, ha demostrado ser sencillo de interpretar y fácil de medir (**IANNACONE, 1996**).

Si un test de toxicidad aguda no detecta efecto alguno de mortandad o inmovilización esto no siempre significa que el agua analizada no contenga sustancia alguna capaz de producir otro tipo de daño. Para estos casos se utilizan los test de toxicidad crónica en los que la evaluación se basa en la capacidad reproductiva o el crecimiento de los individuos. Es posible, entonces, con estas técnicas, dar en pocas horas una respuesta sobre la incidencia de efluentes domésticos, industriales, mineros u otros, en un ambiente acuático (**PAGGI & PAGGI, 1999**).

**Las técnicas y las condiciones en que se realizan los bioensayos pueden variar de un laboratorio a otro**, sin embargo, con algunas especies se ha logrado llegar a una estandarización internacional de protocolos y técnicas para llevarlos a cabo. Mundialmente, se encuentran reconocidas varias organizaciones que han desarrollado guías de aplicación de bioensayos; como, por ejemplo, la OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) en Europa y la EPA (Environmental Protection Agency) en Estados Unidos. (**OECD, 1993; US EPA, 1981**).

La posibilidad de estandarizar estos métodos hace que los resultados obtenidos tras el cumplimiento de algunos requerimientos específicos, sean comparables, repetibles y confiables. También son métodos comparativamente más rápidos y de menor costo que otros métodos químicos y biológicos (**SANCHEZ et al., 2000**).

Los resultados de los bioensayos pueden ser modificados por parámetros físicos como la temperatura y el nivel de oxígeno; y parámetros químicos como el pH y la Dureza del agua (**MALAGRINO & ALMEIDA, 1987**).

## **2.6. Parámetros Físico – Químicos como Factores Modificantes**

Algunos factores modifican el potencial tóxico de los surfactantes, entre ellos, su estructura molecular, la dureza del agua, la temperatura, concentración de oxígeno disuelto, entre otros (**ROCHA et al., 1985; LEWIS, 1992**).

- **Temperatura**

Los peces son animales cuya temperatura corporal depende de los cambios de temperatura del agua, siendo **dependientes y sensibles** a ésta. El rango óptimo de temperatura para el cultivo de Gamitana, Paco y Boquichico fluctúa entre 25 a 30°C. Temperatura demasiado alta o baja puede ocasionar estrés (malestar) en los

peces, que reducen su crecimiento y quedan susceptibles a enfermedades.

Los **cambios de temperatura** afectan directamente al pez; mientras mayor sea la temperatura, mayor será su actividad y, por ende, mayor consumo de oxígeno y mayor la necesidad en alimentos (**IIAP, 2006**).

Una elevación de la temperatura, implica un aumento del metabolismo de los peces (según las especies) y una mayor permeabilidad en las branquias, lo que facilita la penetración de tóxicos (según la composición), pero también, activa los procesos de desintoxicación y excreción, compensando el efecto anterior.

La temperatura promedio en la Amazonía Peruana oscila entre 25 y 27 °C, propicias para el desarrollo de la vida acuática, con limitadas variaciones a través del año, oscilaciones diurnas mucho más pronunciadas que las anuales (**PLUSPETROL – UNAP, 1997**).

La determinación de la influencia de la temperatura en la toxicidad del LAS en el organismo *Mugil platanus*, donde los organismos fueron sometidos a medición de consumo de oxígeno en respirómetros. Los resultados demostraron que el consumo de oxígeno aumenta en función a la concentración del LAS, especialmente a partir de la concentración 2.5 mg/L de LAS, y también en función del aumento de la temperatura, concluyendo

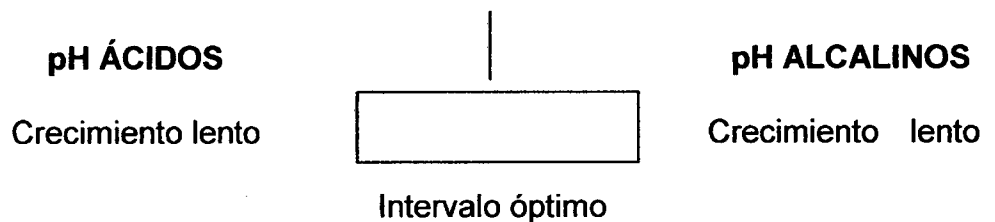


que con un aumento de la temperatura ocurre también un aumento de la toxicidad del surfactante (**BARBIERI et al., 2000**).

El incremento de la temperatura reduce la solubilidad de oxígeno en agua y por lo tanto, elevaría la velocidad metabólica (demanda de oxígeno) del pez, lo que limita la capacidad de transporte de oxígeno en la sangre. Pero, en un estudio realizado con la especie *Mystus vittatus*, la CL<sub>50</sub> jugó la toxicidad más alta en los meses más fríos, cuando las temperaturas eran muy bajas. El resultado indica que la toxicidad puede ocurrir independientemente de las temperaturas altas o bajas (**MISHRA et al., 2011**).

- **Potencial de Hidrógeno (pH)**

Indica si el agua es **ácida o alcalina**. Su medida oscila entre 0 a 14, siendo 7 el punto neutral. El pH promedio de las aguas saludables, oscila entre 6.0 a 6.5, demostrando un estado óptimo del ecosistema, tanto desde el punto de vista de la actividad fotosintética como de la degradación biológica (**PLUSPETROL – UNAP, 1997**).



**Fuente:** IIAP, 2006. Cultivando Peces Amazónicos

- **Oxígeno disuelto**

Es el **elemento más importante en el agua** para los peces, cuya presencia da la calidad biológica al agua de crianza. La presencia de este gas disuelto en el agua está determinada por el intercambio de gases con la atmósfera y con el aporte de las plantas a través del proceso de fotosíntesis (IIAP, 2006).

Es bueno conocer cómo se comportan la Gamitana, el Paco y el Boquichico frente a las variaciones del oxígeno disuelto del agua de cultivo (Tabla 9)

**Tabla 9.** *Comportamiento del Paco y Gamitana, frente a variaciones de Oxígeno disuelto*

| <b>Concentración O<sub>2</sub> mg/L</b> | <b>Comportamiento</b>  |
|---|------------------------|
| 0.3 a 0.4                               | Muere                  |
| 1.0 a 2.0                               | Sufre                  |
| 2.5 a 3.0                               | Apenas adecuado        |
| 3.5 a 4.0                               | Moderadamente adecuado |
| 5.0 a 6.0                               | Adecuado               |
| > 7.0                                   | Muy adecuado           |

**Fuente:** IIAP, 2006. Cultivando peces Amazónicos

El oxígeno se encuentra disuelto en agua, debido a la presión del vapor saturado y la temperatura a la que se encuentra el agua. La concentración saludable y el estándar de calidad típica de O<sub>2</sub> es de 3 a 5 mg/L; en agua dulce de río, el oxígeno disuelto no deberá bajar de 80% de saturación (**RAMOS et al., 2003**)

Una disminución de la concentración de oxígeno disuelto acelera los movimientos respiratorios entre los peces, favoreciendo la penetración de sustancias tóxicas.

En un estudio realizado por **ESPINA et al., 1986**, utilizando a la especie *Ctenopharyngodon idella* (Carpa herbívora), menciona que la permanente aireación permitió concentraciones de oxígeno de 5.1 a 5.5 mg/L en el agua con detergente y de 5.8 mg/L en el agua sin detergente (Testigo). Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas puesto que, sí hubo mortalidad en el ensayo realizado.

- **Dióxido de Carbono**

Es el producto final de la respiración de los seres vivos (Flora y Fauna).

- **Alcalinidad**

Referida como la cantidad y tipo de compuestos que colectivamente llevan al pH hacia el lado alcalino de la neutralidad, es el sistema de equilibrio o mecanismo de compensación (buffer) en las aguas dulces. Los registros de pH tienen una explicación en los valores de alcalinidad, cuya presencia, si bien no exagerada, se considera importante en el mantenimiento de condiciones de acidez apropiada (**PLUSPETROL – UNAP, 1997**).

Las propiedades físico – químicas del agua de disolución como dureza, alcalinidad - debida a bicarbonatos - cantidad total de sólidos disueltos y salinidad, pueden, también, afectar el efecto del tóxico como los niveles críticos.

- **Nitrógeno Amoniacal**

Es un **producto de la excreción** de los peces y de la **descomposición** de la materia orgánica. El amonio no ionizado (**NH<sub>3</sub>** forma gaseosa) y primer producto de excreción de los peces es tóxico.

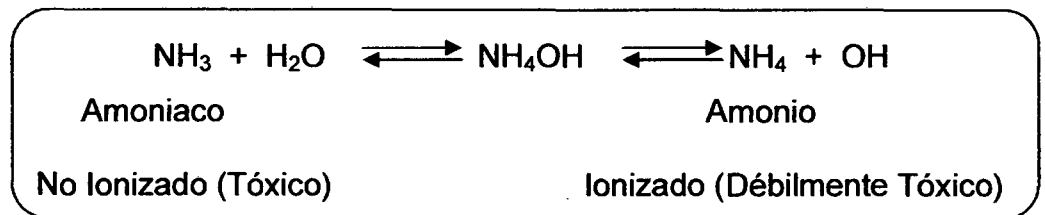
A continuación, se presentan las características de la Toxicidad del nitrógeno amoniacal en peces según IIAP, 2006. (Tabla 10).

**Tabla 10.** Niveles de Toxicidad de Nitrógeno Amoniacal en Peces

| TOXICIDAD             | NH <sub>3</sub> mg/L | NH <sub>4</sub> mg/L |
|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Óptimo                | 0.00                 | 0.00 – 0.4           |
| Aceptable             | 0.006                | 1.0                  |
| Aceptable por 15 días | 0.025                | 1.6                  |
| Mortalidad Total      | 0.08                 | 3.0                  |

**Fuente:** IIAP, 2006. Cultivando Peces Amazónicos.

El Nitrógeno amoniacal está presente en los ecosistemas acuáticos como NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y como NH<sub>4</sub>OH, siendo éste último altamente tóxico para los peces (PLUSPETROL – UNAP, 1997).



- **Dureza**

Está gobernada por el contenido de calcio y magnesio combinado con bicarbonatos y carbonatos es una evaluación de la calidad de los ingredientes del agua. En el caso de las fuentes de agua en la Selva Amazónica, se puede considerar estas aguas como blandas, en la mayoría de los casos (PLUSPETROL – UNAP. 1997).

### **Clasificación de la Dureza (mg/l) según ORTIZ (2010)**

0 – 75 Blanda

75 – 150 Moderadamente dura

150 – 300 Dura

Mayor a 300 Muy dura

Los mejores niveles de alcalinidad total y dureza total para acuicultura están entre 20 y 300 mg/l (ORTIZ, 2010).

La adsorción del LAS en la materia orgánica suspendida, disminuye la toxicidad de los surfactantes, ya que las bacterias solo utilizan compuestos que están en solución. Dependiendo de la concentración de  $\text{Ca}^{++}$ , el LAS puede ser solubilizado o precipitado, causando una disminución en la biodisponibilidad para los organismos acuáticos y consecuentemente una disminución de la toxicidad (VERGE *et al.*, 2001).

#### **2.7. Efectos de los detergentes (Surfactante) en el medio acuático**

Dentro de los principales problemas que ocasionan los Surfactantes, podemos mencionar los siguientes:

- **Espuma**

En las plantas de tratamiento de agua provoca problemas de operación, afecta la sedimentación primaria, ya que, engloba partículas, haciendo que la sedimentación sea más lenta, dificulta la dilución del oxígeno atmosférico y la superficie del agua por la formación de una película aislante, causa contaminación visual (CUNHA *et al.*, 2000) y recubre las superficies de trabajo con sedimentos que contienen altas concentraciones de surfactantes, grasas, proteínas y lodos (CASTRO & CHUNGA, 1985).

- **Toxicidad en la Vida Acuática**

No es posible dar un valor límite de toxicidad, debido a que la sensibilidad de cada organismo varía con relación a la especie, tamaño, tipo de detergente (Surfactante) y otros factores físicos del medio ambiente, ocasionando variación en el comportamiento de los organismos de ensayo.

ESPINA *et al.*, 1986, menciona que durante el bioensayo de toxicidad crónica realizada con la especie *Ctenopharyngodon idella* (Carpa herbívora), los peces asimilaron mayor cantidad de alimento al aumentar la concentración del detergente, sin embargo, la Tasa de asimilación es 30% menor que la de los peces testigos y no hubo mortalidad.

- **Eutrofización**

Al ingresar grandes cantidades de detergentes (el 50% en peso son fosfatos), los cuales son excelentes nutrientes para las plantas, y éstos sumados con los nutrientes ya existentes en un cuerpo de agua, se acelera el proceso de eutrofización. Si hay un excesivo crecimiento de las plantas acuáticas, éstas tienden a cubrir la superficie del cuerpo de agua, impidiendo el libre intercambio de oxígeno y Bióxido de carbono; al morir estas plantas, se descomponen en el lago consumiendo el oxígeno presente en éste, al cabo de un tiempo ya no existe oxígeno disponible y la descomposición tiene que hacerse de forma anaeróbica, dando como consecuencia productos secundarios como metano, amoníaco, sulfuro de hidrógeno y otros compuestos que le confieren al cuerpo de agua un olor desagradable.

A demás, menciona otro factor importante que se debe tomar en cuenta, es que, los peces, presentes en el cuerpo de agua, también necesitan oxígeno disuelto en el agua para poder respirar y si éste se consumió con la degradación de las plantas muertas, entonces también los peces morirán. (**CASTRO & CHUNGA, 1985**).

Muchos estudios han demostrado que la presencia de detergentes y surfactantes pueden causar serios disturbios ecológicos, afectando organismos acuáticos, incluyendo a los peces (**BARBIERI *et al.*, 2000**).



### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. Lugar de Ejecución del Estudio**

Los bioensayos se realizaron en una vivienda, ubicada en la Urbanización "César Calvo de Araujo" perteneciente al distrito de San Juan, **provincia de Maynas, de la región Loreto - Perú**. El indicado lugar, contó con un amplio espacio, con luz natural, bien ventilado, cubierto con un toldo blanco, bajo el cual se llevó a cabo el presente trabajo de investigación.

#### **3.2. Ecología y Clima**

La ciudad de Iquitos, capital de la región Loreto y de la Amazonía Peruana, ecológicamente, se ubica en la zona climática: Bosque Húmedo Tropical (bh – T) de acuerdo a la clasificación del mapa ecológico del Perú (**INRENA, 1995**). Esta zona climática se caracteriza por estar cubierto por bosque tropical muy denso, debido a la alta precipitación pluvial, comprendida entre 3 000 a 4 000 mm., y una temperatura media anual mayor de 24° C.

#### **3.3. Red Hidrográfica**

Esta zona tropical, está inmersa dentro de la Gran Cuenca Hidrográfica del Río Amazonas, que, en conjunto, lo constituyen: riachuelos,

quebradas, lagunas, lagos y ríos (**SENAMHI, 2011, revisado el 05 de Marzo del 2011**); la influencia del río Amazonas, así como de sus tributarios, en la vida del poblador amazónico, es fundamental, ya que, de su riqueza ictiológica, obtiene el alimento necesario para el sustento de su familia, y los recursos económicos que le provee la pesca para abastecer a los mercados de las principales ciudades selváticas, en especial a la ciudad de Iquitos (**IIAP, 2000**). De ahí, la necesidad imprescindible de proteger sus aguas de la contaminación por diferentes agentes

#### **3.4. Materiales y Equipos utilizados**

- Dos (02) **artesas o estanques de madera** de forma rectangular (1.50 m de largo x 0.50 m de ancho x 0.40 m de alto) y forradas interiormente con plástico, para la recepción de los alevinos en el lugar experimental.
- Tres (03) **peceras de vidrio**, cada una de: 1.50 m de largo x 0.40 m de ancho y 0.40 m de alto, sin tapa, divididas en cinco (05) espacios para instalar las unidades experimentales.
- Detergente “Magia Blanca”.
- Laboratorio portátil La Motte AQ2 – Fresh Water.
- Balanza analítica.
- 04 Baldes.
- Frascos de vidrio de 1 lt de capacidad.
- Motor de oxígeno para peceras o Aireador.

- Cámara digital SONY de 10.1 Megapíxeles.
- Cronómetro.
- Pipetas.
- Vaso de precipitado de 1lt.
- Agitador de vidrio.
- Libreta de anotaciones.
- Resaltador.
- Lápiz.
- Borrador.
- Tajador.
- Alimento balanceado para peces.
- Laptop.
- Impresora.
- 01 Millar de papel Bond.

### **3.5. Componentes del estudio**

#### **3.5.1. Selección de Alevinos de “Paco” y “Gamitana”**

Los Bioensayos se realizaron con alevinos de *Piaractus brachypomus* y *Colossoma macropomum* (Ver anexo 2 - fotos 2 y 3), los que se obtuvieron de los estanques de crianza para investigación y comercialización del Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana - IIAP, ubicado en el km 4.5 de la carretera Iquitos – Nauta.

**Descripción de la especie *Piaractus brachypomus* - Paco:**

El pez "Paco", comparte la misma distribución geográfica (hábitat y nicho ecológico) con la Gamitana. Tiene similitud de forma con la Gamitana, de la que difiere en su patrón de coloración, presentando un color gris oscuro en el dorso y blanquecino en los costados, con la parte inferior de la cabeza, región de la garganta y parte anterior del vientre de color anaranjado. Este patrón de coloración se mantiene en los alevinos, juveniles y adultos, en los cuales se atenúa este color, según el tipo de agua donde vive. (IIAP, 2000).

Es una especie que soporta el manipuleo en las operaciones de cultivo. Tiene el mismo comportamiento reproductivo que la Gamitana, se reproduce al inicio de la creciente de los ríos, entre los meses de octubre a diciembre, pudiendo prolongarse hasta marzo. También requiere de la administración de extractos hormonales para inducir el desove en ambientes controlados. Cada hembra produce 100,000 óvulos por kilogramo de peso. (IIAP, 2000).

Se utiliza en el consumo humano, tanto al estado fresco, como seco salado. Su contenido de proteína es de 17.7%. (IIAP, 2000).

**Taxonomía:**

|            |   |                 |
|------------|---|-----------------|
| Reino      | : | Animalia        |
| Phyllum    | : | Chordata        |
| Subphyllum | : | Vertebrata      |
| Clase      | : | Actinopterygii  |
| Orden      | : | Characiformes   |
| Familia    | : | Serrasalminidae |
| Género     | : | Piaractus       |
| Especie    | : | brachypomus     |

**Descripción de la especie *Colossoma macropomum* -**

**Gamitana:**

La Gamitana habita los cuerpos de agua de la Amazonía y de la Orinoquia. Los adultos realizan migraciones laterales y longitudinales; en el primer caso, desde la planicie de inundación hacia el canal principal; en el segundo, a lo largo del canal principal. Realiza, además, otra migración corta, de carácter reproductivo, hacia las áreas de mezcla de aguas en la confluencia de los ríos. Las larvas inician su fase de alimentación en los remansos de los ríos, en zonas con abundante vegetación en proceso de descomposición, que propicia una alta productividad de microorganismos planctónicos. (IIAP, 2000).

En su ambiente natural vive la mayor parte del tiempo en cuerpos de agua lénticos o estancados de aguas negras, con pH ácido, cubiertos de vegetación. Sin embargo, también se le encuentra en ambientes de aguas blancas y claras, como ocurre en la parte media y alta del Huallaga. La Gamitana es uno de los peces de escama más grandes de la cuenca amazónica, solo superada por el Paiche, *Arapaima gigas*. Puede llegar a pesar hasta 30 kg. El cuerpo es comprimido, con una coloración negruzca en el dorso y verde oscuro a amarillento en la parte ventral, patrón de coloración que puede variar en función del tipo de agua donde se desarrolla. (IIAP, 2000).

Tiene un régimen alimenticio omnívoro. Presenta dientes molariformes adaptados para triturar frutos y semillas, aunque también consume zooplancton, como lo demuestra la presencia de numerosas y finas branquiespinas que le facilitan la filtración de micro organismos. Consume también insectos acuáticos y peces pequeños. (IIAP, 2000).

Es un pez dócil y resistente al manipuleo, soporta bajos niveles de oxígeno disuelto por periodos cortos, pero en exposiciones prolongadas desarrollan una expansión del labio inferior, que les permite captar el oxígeno disuelto de la película superficial del agua. (IIAP, 2000).

Alcanza su madurez sexual a los cuatro años, con una longitud estándar de 55 cm. Se reproduce al inicio de la creciente de los ríos, que corresponde a los meses de Octubre a Diciembre. Es una especie muy fecunda llegando a producir, cada hembra, 100,000 óvulos por cada kilogramo de peso corporal. (IIAP, 2000).

Es una de las especies de mayor preferencia en el mercado regional, alcanzando un elevado precio, particularmente en el periodo de aguas altas. Por esta razón, las poblaciones naturales próximas a las grandes ciudades han sido afectadas por las pesquerías. Se consume tanto como producto fresco y seco salado. Su contenido de proteína es de 18.4%. (IIAP, 2000).

**Taxonomía:**

|            |   |                |
|------------|---|----------------|
| Reino      | : | Animalia       |
| Phyllum    | : | Chordata       |
| Subphyllum | : | Vertebrata     |
| Clase      | : | Actinopterygii |
| Orden      | : | Characiformes  |
| Familia    | : | Serrasalmidae  |
| Género     | : | Colossoma      |
| Especie    | : | macropomum     |

### **3.5.2. Fuente de Agua utilizada**

La fuente de agua utilizada en las fases del experimento fue la que se recibe en los domicilios a través de la red de agua potable. Para esta operación, se receiptó el agua, cinco (05) días antes de la recepción de los alevinos, con el fin de oxigenar al líquido y liberar su contenido de cloro.

### **3.5.3. Aclimatación de los Alevinos**

En el periodo de aclimatación se emplearon alevinos de 4 cm de longitud y 4 g de peso promedio, los peces fueron colocados por dos semanas hasta la realización de los bioensayos en dos artesas o estanques de forma rectangular, construido con armazón de madera (listones y tablas) y forrados interiormente con plástico. Las dimensiones para cada artesa, fueron de 0.40 m de alto x 1.50 m de largo x 0.50 m de ancho y con un volumen de 0.30 m<sup>3</sup>.

Previo al inicio de la aclimatación, se realizó la limpieza y desinfección del estanque, asimismo fue limpiado (sifoneado) diariamente para eliminar los residuos de heces que se depositan en el fondo.

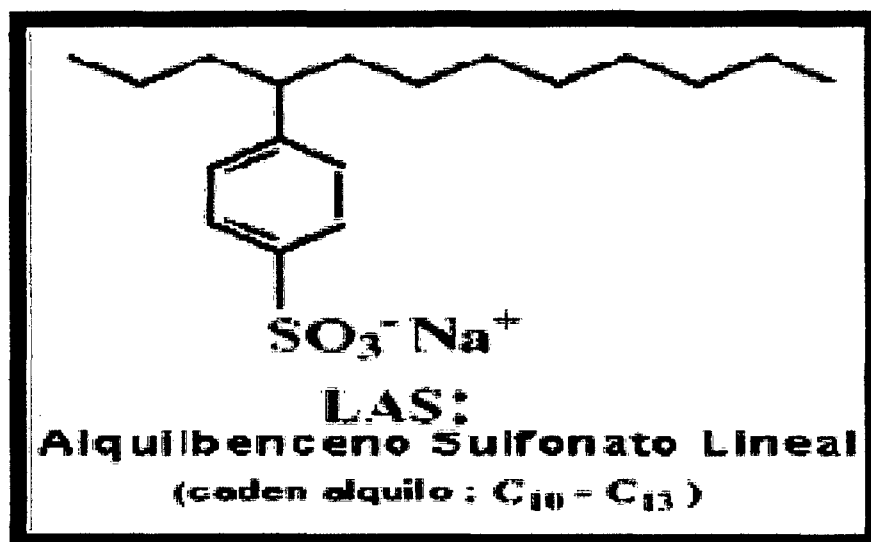


Seguidamente, los alevinos fueron alimentados con ración balanceada al 28% de proteína *ad libitum*, suspendiendo la misma, 12 horas antes de efectuarse los bioensayos para evitar que las excretas producidas y el proceso de digestión de los peces interfieran con los resultados del experimento.

En este mismo periodo se midió la temperatura con el termómetro de mercurio, siendo el rango de temperatura  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ , el oxígeno disuelto fue de 4 mg/L, el pH fue de 6.5 y la dureza fue de 20 mg de  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ .

#### **3.5.4. Elección del Detergente Evaluado**

El detergente seleccionado a través de una encuesta realizada a 50 familias en la ciudad de Iquitos, fue “Magia Blanca”, cuyo componente principal es el Alquil Aril Sulfonato de Sodio (AASS), que pertenece al surfactante aniónico lineal - LAS, que es el de mayor uso en la elaboración del producto a nivel mundial (SALAGER, 2002). (Figura 2).



**Figura 2.** Estructura Química del Surfactante Lineal (LAS)

De acuerdo a lo mencionado por IANNACONE (1996); LEÓN (2006), se consideró una solución madre al 0.09 % con 1g de detergente en 1 L de agua, se homogenizó en una Pera de decantación, a partir de esta solución stock, por medio de diluciones, se prepararon las concentraciones empleadas en los bioensayos.

En la **tabla 11** se describen las concentraciones finales del detergente obtenidas para la realización de los bioensayos y los volúmenes de solución utilizada para obtener dichas diluciones.

**Tabla 11.** Concentraciones del detergente preparadas a partir de una solución madre de 1000 mg/L.

| <b>Volumen de la solución de trabajo (ml)</b> | <b>Volumen de H<sub>2</sub>O reconstituida (ml)</b> |
|---|---|
| 2.5   | 9997.5  |
| 5   | 9995  |
| 10  | 9990  |
| 20  | 9980  |

**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

### **3.6. Elección de los Niveles de Concentración del Detergente**

Para calcular las **concentraciones de la sustancia** que se empleó en los bioensayos, se tomó como referencia lo mencionado por **LEÓN (2006)**, donde realizó un ensayo toxicológico con alevinos de la especie *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972), cuyas concentraciones abarcaron rangos entre 1.5 a 40.5 mg/L. Por lo que, en base a esas concentraciones, se eligieron las siguientes: (Tabla 12).

**Tabla 12:** Concentraciones del detergente empleado para los Bioensayos.

| <b>Detergente</b>   | <b>CONCENTRACIÓN (mg/L)</b> |           |           |           |
|---------------------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|
|                     | <b>C1</b>                   | <b>C2</b> | <b>C3</b> | <b>C4</b> |
| <b>MAGIA BLANCA</b> | 2.5                         | 5         | 10        | 20        |

**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

### 3.7. Diseño Experimental de la Investigación

El diseño experimental utilizado para el presente trabajo fue el: Diseño Completamente Aleatorio (DCA), por ser el que mejor se adapta a las condiciones del experimento.

Es útil para estudios de métodos y técnicas de trabajo en laboratorio, estudios de invernadero y experimentos con animales, asimismo, es conveniente, cuando la variabilidad está uniformemente distribuida en el material experimental o unidades experimentales, hecho que es la base para poder hallar válidamente, en el análisis estadístico, una variancia común para todas las muestras de los tratamientos en estudio.

En la siguiente tabla se muestra el análisis de variancia a las que han sido sometidas las unidades experimentales. (Tabla 13).

**Tabla 13.** Análisis de Variancia del DCA.

| <b>Fuente de Variabilidad</b> | <b>GL</b>       | <b>Suma de Cuadrados SC</b> | <b>Cuadrados Medios CM</b> |
|-------------------------------|-----------------|-----------------------------|----------------------------|
| <b>Entre tratamientos</b>     | <b>(t - 1)</b>  | <b>SC de Tratamientos</b>   | <b>CM de tratamientos</b>  |
| <b>Dentro de Tratamiento</b>  | <b>t(r - 1)</b> | <b>SC del Error</b>         | <b>CM del Error</b>        |
| <b>Total</b>                  | <b>tr - 1</b>   | <b>SC del Total</b>         |                            |







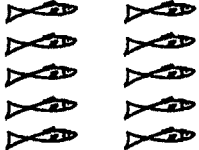
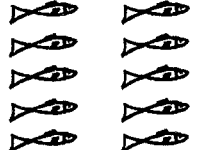
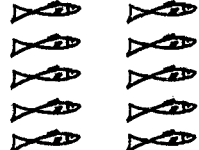
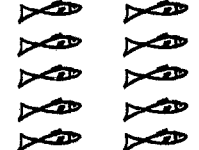
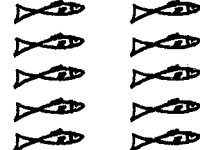















**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

Este diseño permitió analizar los resultados o parámetros que se obtuvieron del experimento, producto de la prueba de cuatro (04) concentraciones del detergente doméstico y un (01) testigo o control, haciendo un total de cinco (05) tratamientos o bioensayos, en dos (02) especies ictiológicas, y en tres (03) repeticiones.(Figura 2)

La observación, con la respectiva toma de datos, se realizó durante un periodo de 96 horas de exposición de los alevinos en cada medio de concentración. Para **cada tratamiento**, unidad experimental o medio de concentración, se **utilizaron 10 especímenes**

Primero se realizó el bioensayo con Paco y posteriormente con Gamitana. En el control no debe producirse más de un 10% de organismos muertos, ya que esto invalidará el ensayo (**SANCHEZ & VERA, 2001**). El empleo de alevinos de Paco y de Gamitana, se sustenta, en que están en la etapa de mayor riesgo frente a agentes tóxicos o depredados por otros peces de mayor tamaño, de esta manera, se puede evaluar en corto tiempo, el efecto que produce el detergente.

Figura 3: Diagrama del Diseño Experimental de la Investigación

| Preparación de las [ ]s y posteriores diluciones | <br>Solución madre (1000 mg/L) del detergente. |  | Detergente "MAGIA BLANCA"<br><br>Preparación de las diluciones |  | <i>H<sub>2</sub>O Reposada</i><br>Medio de dilución  |
|--|---|--|---|--|--|
| Concentraciones (mg/L)                           | Control (H <sub>2</sub> O Reposada)   | <br>2.5 (mg/L) | <br>5 (mg/L)   | <br>10 (mg/L) | <br>20 (mg/L) |
| Nº Peces Con 30 días de nacidos                  |    |                |    |               |               |
| Replica 1 10 L                                   |    |                |    |               |               |
| Réplica 2 10 L                                   |   |               |   |              |              |
| Réplica 3 10 L                                   |    |              |    |             |             |

### 3.8. Condiciones de los Bioensayos

Se utilizó un laboratorio portátil de la marca "LAMOTTE" para medir los parámetros físicos y químicos, se tomaron los valores de temperatura, pH, amoniaco, dióxido de carbono, alcalinidad, dureza y oxígeno disuelto de las unidades experimentales (acuario), para la medición de los parámetros químicos se utilizó la técnica de titulación y colorimetría; el control fue diario y se empleó el instrumental antes mencionado. No hubo renovación de agua durante el bioensayo, tampoco se les dio alimento y la respuesta de los organismos evaluados fue la Muerte, esto según la EPA (revisado el 05 de Marzo 2011).

Las condiciones de la Prueba de Toxicidad aplicadas en el estudio fueron:

- **Organismos de Prueba:** *Piaractus brachypomus* y *Colossoma macropomum*.
- **Tipo de Prueba:** Estática, sin renovación de la solución y sin recambio de agua.
- **Suministro de Alimento:** Sin alimentación.
- **Duración:** 96 horas.
- **Aireación:** constante.
- **Agua de dilución:** Agua dulce reposada.
- **Dureza Total:** 20 mg de  $\text{CaCO}_3$
- **Temperatura:**  $27\pm 1^\circ\text{C}$  para el Paco y  $32\pm 1^\circ\text{C}$  para la Gamitana.
- **Luz:** 11 horas de luz: 13 horas de oscuridad.

- **Número de especímenes por Acuario:** 10 organismos.
- **Número de réplicas por tratamiento:** 03 repeticiones.
- **Número de especímenes por tratamiento:** 30 organismos.
- **Número de concentraciones de Prueba:** 04 concentraciones.
- **Respuesta:** Muerte de los organismos evaluados.
- **Criterio de aceptabilidad de la Prueba:** Un 90% de sobrevivencia en los controles.

### 3.9. Cálculo de la Concentración letal Media (CL<sub>50</sub>)

Para el cálculo de la CL<sub>50</sub> a 96 horas de exposición se empleó el programa PROBIT (versión 1.5) de la **US EPA**. Dicho programa computarizado permite estimar la CL<sub>50</sub> ajustando los datos de mortalidad mediante una regresión PROBIT entre una variable dependiente limitada de 0 a 1 (Porcentaje de mortalidad) y una variable independiente (concentración del tóxico evaluado). Entonces, el porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit, esta transformación permite el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit 0.5, corresponderá a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población (**CASTILLO, 2004**).



### **3.10. Análisis de la Sensibilidad**

El análisis de sensibilidad es una parte integral en los bioensayos, donde se emplean organismos vivos usados en diferentes condiciones o hábitats (suelo y agua) empleando dos o más especímenes, frente a la frecuencia de exposición (Concentraciones) de un tóxico de referencia (**CASTILLO, 2004**).

El propósito del análisis de la sensibilidad es evaluar la respuesta en base al porcentaje de mortalidad frente a las concentraciones utilizadas, al finalizar el bioensayo de 96 horas.

### **3.11. Análisis Estadístico**

Se plantearon las hipótesis de trabajo:

Hipótesis nula =  $H_0$ : no existe impacto del detergente sobre las especies Paco y Gamitana.

Hipótesis alternativa =  $H_a$ : Existe impacto del detergente sobre las especies Paco y Gamitana.

Se realizó un Análisis de Varianza (ANVA) de una vía con el propósito de analizar las diferencias entre las concentraciones del detergente aplicado y entre las repeticiones. La significancia fue verificada usando el estadístico "Fisher" con la Tabla de valores del ANVA ( $p = 0.05$ ).

#### IV. RESULTADOS

##### 4.1. Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>) del detergente doméstico “Magia Blanca”, con ambas especies de alevinos expuestos: *Piaractus brachypomus* Paco y *Colossoma macropomum* Gamitana.

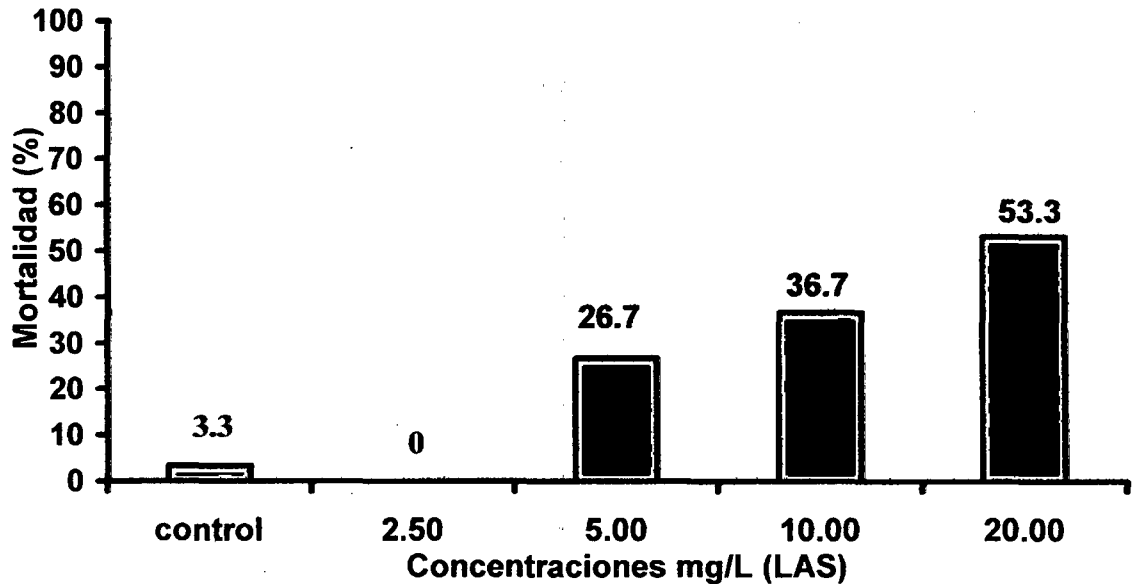
Se realizaron los bioensayos con 03 réplicas para el tóxico de referencia, usando un grupo control y 04 concentraciones diferentes (2.5, 5, 10 y 20 mg/L) que fueron evaluados sobre los peces Paco y Gamitana tras un periodo de 96 horas. Los resultados se muestran en porcentajes de mortalidad en las Tablas 12 y 13, así como, en los Gráficos 2 y 3.

En el bioensayo realizado al Paco, a 96 horas del experimento se obtuvo como resultados cero (0) muertes en la concentración 2,5 mg/L; 8 muertes (26,7%) en la concentración de 5 mg/L; 11 muertes (36,7%) en la concentración de 10 mg/L y 16 muertes (53,3%) en la concentración 20 mg/L (Tabla 14 y Figura 4).

**Tabla 14.** Porcentaje de mortalidad de las tres réplicas realizados para el Paco con el tóxico de referencia (LAS).

| N° DE REPLICAS | CONTROL  | CONCENTRACIONES mg/L<br>(Detergente MAGIA BLANCA) – PACO |          |           |           |
|----------------|----------|--|----------|-----------|-----------|
|                |          | 2.5  | 5        | 10        | 20        |
| 1              | 1        | 0  | 2        | 3         | 5         |
| 2              | 0        | 0  | 3        | 4         | 5         |
| 3              | 0        | 0  | 3        | 4         | 6         |
| <b>TOTAL</b>   | <b>1</b> | <b>0</b>   | <b>8</b> | <b>11</b> | <b>16</b> |
| % Mortalidad   | 3.3      | 0  | 26.7     | 36.7      | 53.3      |

**Fuente:** Anotaciones de los autores, 2011.



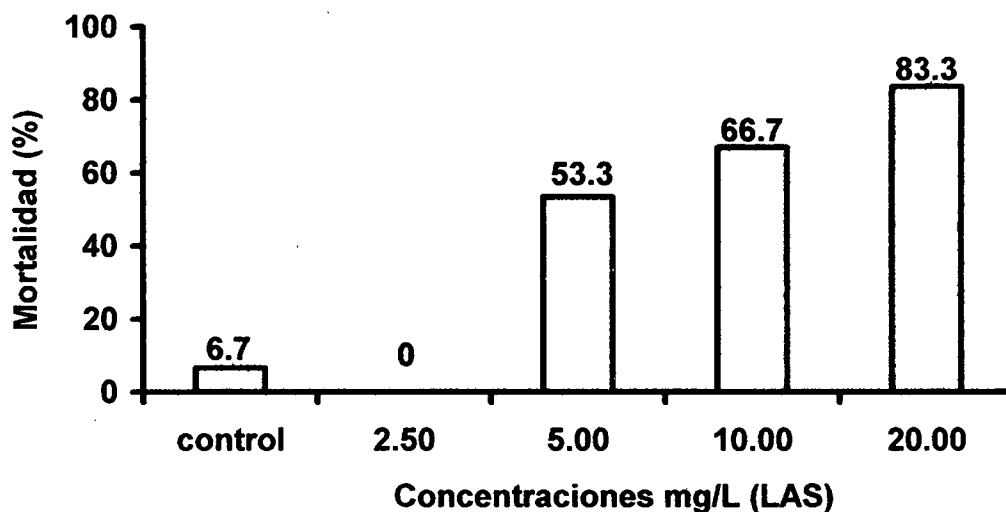
**Figura 4.** Promedio de los porcentaje de mortalidad del Bioensayo del Paco con la sustancia de referencia (LAS).

En el bioensayo realizado a la Gamitana, a 96 horas del experimento se obtuvo como resultados cero (0) muertes en la concentración 2,5 mg/L al igual que en el Paco; sin embargo en la concentración de 5 mg/L se observó 16 muertes (53.3 %); 20 muertes (66,7 %) en la concentración de 10 mg/L y 25 muertes (83,3%) en la concentración 20 mg/L (Tabla 15 y Gráfico 3).

**Tabla 15.** Porcentaje de mortalidad de las tres replicas realizados para la Gamitana con el toxico de referencia (LAS).

| N° DE REPLICA | CONTROL  | CONCENTRACIONES mg/L (Detergente MAGIA BLANCA) – GAMITANA |           |           |           |
|---------------|----------|---|-----------|-----------|-----------|
|               |          | 2.5   | 5         | 10        | 20        |
| 1             | 1        | 0   | 5         | 6         | 8         |
| 2             | 1        | 0   | 6         | 7         | 8         |
| 3             | 0        | 0   | 5         | 7         | 9         |
| <b>TOTAL</b>  | <b>2</b> | <b>0</b>  | <b>16</b> | <b>20</b> | <b>25</b> |
| % Mortalidad  | 6.7      | 0   | 53.3      | 66.7      | 83.3      |

**Fuente:** Anotaciones de los autores, 2011.



**Figura 5.** Promedio de los porcentaje de mortalidad del Bioensayo de la Gamitana con el tóxico de referencia (LAS).

Se pueden apreciar los resultados de la  $CL_{50-96h}$  del detergente empleado obtenidos durante el análisis con el PROBIT, para los peces Paco y Gamitana, respectivamente (Tabla 16 y 17).

**Tabla 16.** Resultados de la  $CL_{50-96h}$ , obtenidos mediante el análisis PROBIT para el Paco.

| N° DE REPLICA   | $CL_{50-96h}$    |
|-----------------|------------------|
| 1               | 20 mg/L          |
| 2               | 20 mg/L          |
| 3               | 14.1 mg/L        |
| <b>PROMEDIO</b> | <b>18.1 mg/L</b> |

**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

**Tabla 17.** Resultados de la  $CL_{50-96h}$ , obtenidos mediante el análisis PROBIT para la Gamitana.

| <b>N° DE REPLICA</b> | <b><math>CL_{50-96h}</math></b> |
|----------------------|---------------------------------|
| 1                    | 5 mg/L                          |
| 2                    | 5 mg/L                          |
| 3                    | 4.5 mg/L                        |
| <b>PROMEDIO</b>      | <b>4.8 mg/L</b>                 |

**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

Para el Paco, el valor de la Concentración Letal al 50% fue de 18.1 mg/L. Para la Gamitana, el valor de la concentración Letal al 50% fue de 4.8 mg/L.

Al comparar los valores de mortalidad entre el control y los tratamientos tanto para el Paco como para la Gamitana mediante el análisis de Varianza (ANVA). Se encontró diferencias significativas (Para Paco:  $F=57.125$ ,  $GL=4; 10$ ,  $P=0.000195$ ; para Gamitana:  $F=153.5$ ,  $GL=4; 10$ ,  $P=0.0000000063$ ) (Tabla 18 y 19).

**Tabla 18.** Análisis de Varianza con la especie Paco

| <b>Fuente de Variabilidad</b> | <b>GL</b> | <b>Suma de Cuadrados SC</b> | <b>Cuadrados Medios CM</b> | <b>F</b> | <b>P = 0.05</b> |
|-------------------------------|-----------|-----------------------------|----------------------------|----------|-----------------|
| <b>Entre tratamientos</b>     | 4         | 60.933                      | 15.233                     | 57.125   | 0.00000075      |
| <b>Dentro de muestras</b>     | 10        | 2.667                       | 0.267                      |          |                 |
| <b>Total</b>                  | 14        | 63.600                      |                            |          |                 |

**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

**Tabla 19.** Análisis de Varianza con la especie Gamitana

| <b>Fuente de Variabilidad</b> | <b>GL</b> | <b>Suma de Cuadrados SC</b> | <b>Cuadrados Medios CM</b> | <b>F</b> | <b>P = 0.05</b> |
|-------------------------------|-----------|-----------------------------|----------------------------|----------|-----------------|
| <b>Entre tratamientos</b>     | 4         | 163.733                     | 40.933                     | 153.5    | 0.0000000063    |
| <b>Dentro de muestras</b>     | 10        | 2.667                       | 0.267                      |          |                 |
| <b>Total</b>                  | 14        | 166.400                     |                            |          |                 |

**Fuente:** Anotaciones de los autores. 2011.

Al realizar una comparación Post Hoc mediante la prueba de Tukey y Scheffé se encontró igualdad entre el control y T1 ( $P > 0.05$ ) así como en T2 y T3; las demás comparaciones presentan diferencias ( $P < 0.05$ ); obteniendo la siguiente razón:  $C = T1 < T2 = T3 < T4$ . En el anexo 03 se muestran las comparaciones entre Tukey y Scheffé para ambas especies.

#### **4.2. Evaluación de los Parámetros Físicos y Químicos del Agua: Antes y Durante la realización de los bioensayos.**

Los parámetros registrados antes de los bioensayos, para el paco, presentó una Temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  y para la Gamitana fue de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , el pH en ambos bioensayos fue de 5.5 presentando una ligera acidez, el oxígeno disuelto fue de 3 mg/L en el paco y 2 mg/L en la Gamitana. (Tabla 20)

**Tabla 20.** Parámetros de calidad de agua antes de la fase experimental con los peces “Paco” y “Gamitana”.

| Especie  | T°        | pH  | OD (mg/L) | CO <sub>2</sub> (mg/L) | Amoniaco | Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L) | Alcalinidad |
|----------|-----------|-----|-----------|------------------------|----------|----------------------------------|-------------|
| Paco     | 27 ± 1 °C | 5.5 | 3         | 3                      | 1.5      | 20                               | 8           |
| Gamitana | 28 ± 1 °C | 5.5 | 2         | 5                      | 2        | 25                               | 8           |

**Fuente:** Anotaciones de los autores, 2011.

Durante la fase experimental para ambas especies de peces empleados, el pH fue de 6.5, el cual se mantuvo constante durante la realización de los bioensayos, la temperatura para el Paco estuvo en el rango de 27±1°C y para la Gamitana estuvo en el rango de 30±1°C, debido a que el bioensayo realizado con el Paco se realizó en días templados y con presencia de lluvia a diferencia de la Gamitana que fue realizado en días de intenso calor, y el oxígeno disuelto fue variado, comprendiendo rangos entre 2 - 4 mg/L<sup>-1</sup>. (Tablas 21 y 22).

**Tabla 21.** Parámetros de calidad de agua durante la fase experimental con el “Paco”

| N° | T °C | pH  | OD (mg/L) | CO <sub>2</sub> (mg/L) | Amoniaco | Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L) | Alcalinidad (mg CO <sub>3</sub> /L) |
|----|------|-----|-----------|------------------------|----------|----------------------------------|-------------------------------------|
| T0 | 27   | 6.5 | 3.3       | 1                      | 1        | 14                               | 10                                  |
| T1 | 27   | 6.5 | 3.2       | 1                      | 1        | 13                               | 10                                  |
| T2 | 27   | 6.5 | 3.2       | 1.5                    | 1        | 13                               | 11                                  |
| T3 | 27   | 6.5 | 3.2       | 1.5                    | 1.5      | 12                               | 12                                  |

|    |    |     |     |     |     |    |    |
|----|----|-----|-----|-----|-----|----|----|
| T4 | 27 | 6.5 | 3.3 | 1.5 | 1.5 | 14 | 15 |
|----|----|-----|-----|-----|-----|----|----|

Fuente: Anotaciones de los Autores, 2011.

**T0 = Control**                      **T = Temperatura.**  
**T1 = 2.5 mg/L**                    **OD = Oxígeno Disuelto.**  
**T2 = 5mg/L**                        **CO<sub>2</sub> = Dióxido de Carbono.**  
**T3 = 10 mg/L**  
**T4 = 20 mg/L**

**Tabla 22.** Parámetros de calidad de agua durante la fase experimental con la "Gamitana"

| N° | T °C | pH  | OD (mg/L) | CO <sub>2</sub> (mg/L) | Amoniaco | Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L) | Alcalinidad (mg CO <sub>3</sub> /L) |
|----|------|-----|-----------|------------------------|----------|----------------------------------|-------------------------------------|
| T0 | 31   | 6.5 | 3         | 1                      | 1.5      | 16.3                             | 11                                  |
| T1 | 30   | 6.5 | 3.1       | 2                      | 2        | 15.2                             | 11.7                                |
| T2 | 30   | 6.5 | 3         | 2.3                    | 2        | 15                               | 12.7                                |
| T3 | 30   | 6.5 | 3         | 2.6                    | 2        | 14.9                             | 13.3                                |
| T4 | 30   | 6.5 | 3.2       | 3.2                    | 2.3      | 16                               | 17.9                                |

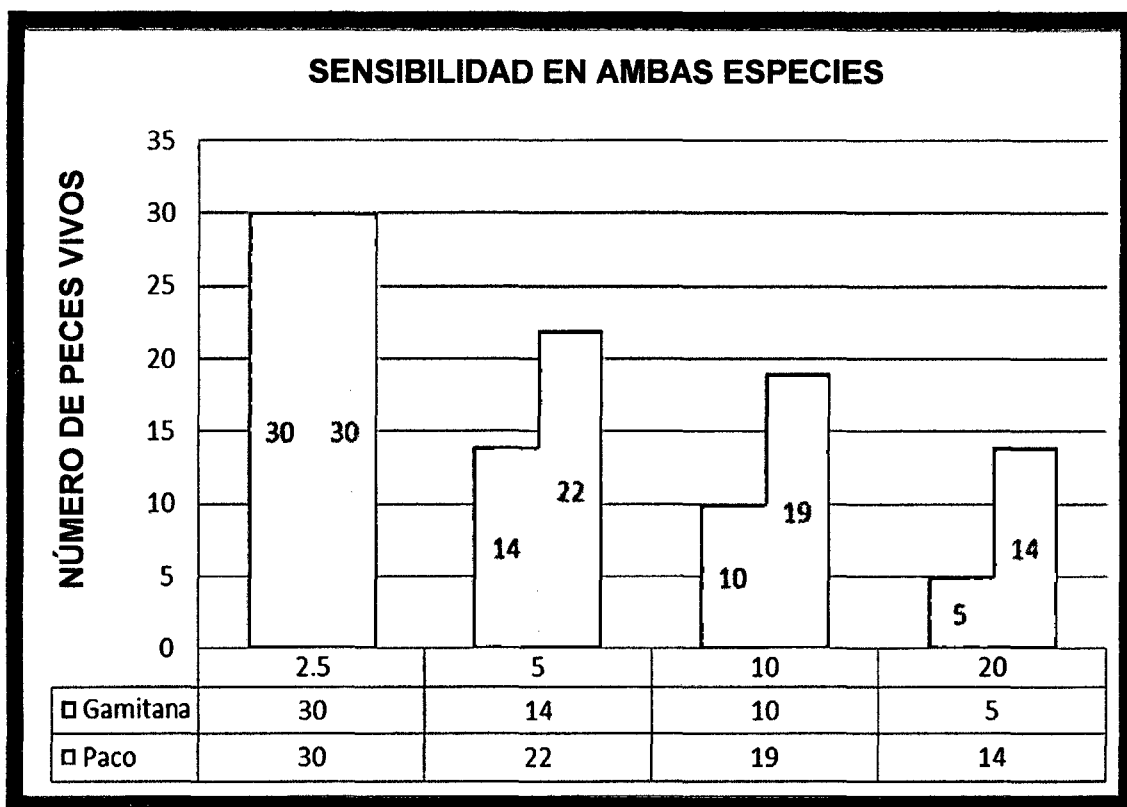
Anotaciones de los Autores, 2011.

**T0 = Control**                      **T = Temperatura.**  
**T1 = 2.5 mg/L**                    **OD = Oxígeno Disuelto.**  
**T2 = 5mg/L**                        **CO<sub>2</sub> = Dióxido de Carbono.**  
**T3 = 10 mg/L**  
**T4 = 20 mg/L**



#### 4.3. Sensibilidad de ambas especies por la acción que ejerce el detergente "Magia Blanca".

El análisis de sensibilidad se basa en determinar cuál de las dos especies tuvo un mayor y/o menor índice de sobrevivencia frente a la sustancia empleada (Detergente "Magia Blanca"), en base a estos datos, podemos determinar cuál de las dos especies fue la más sensible (Figura 6).



**Figura 6.** Análisis de la sensibilidad de ambas especies frente al detergente "Magia Blanca".

La gráfica nos muestra que para la Gamitana, su índice de sobrevivencia es menor que la del Paco en las concentraciones 5, 10 y 20 mg/L (14, 10 y 5 individuos vivos), esto indica que tuvo un mayor número de individuos muertos (16, 20 y 25); y que, para el Paco, su índice de sobrevivencia es

mayor que la de la Gamitana en las concentraciones 5, 10 y 20 mg/L (22, 19 y 14 individuos vivos), esto indica que tuvo un menor número de individuos muertos (8, 11 y 16), por lo tanto, la Gamitana es más sensible que el Paco.

#### **4.4. Alteraciones de las características físicas externas e internas de los peces por acción del detergente doméstico.**

Las **alteraciones físicas externas** que presentaron los peces durante el desarrollo del bioensayo fueron (ver fotos 6, 7 y 8):

- Pérdida de las aletas terminal, dorsal, lateral y anal.
- Pérdida de la mitad del cuerpo del pez producto del Canibalismo.
- En algunos individuos se pudo apreciar pérdida de los ojos.

No se realizaron las evaluaciones de las partes internas de los peces muertos en ambas especies, debido a que los especímenes, murieron de manera directa, mediante la agresión y posterior canibalismo producto del efecto del detergente en el comportamiento de los peces "Paco" y "Gamitana", siendo que en la mayor concentración hubo un alto número de peces muertos por ataques.

## V. DISCUSIÓN

Con respecto a los resultados obtenidos y a la revisión bibliográfica, se coincide con lo mencionado por **LEON (2006)**; respecto a la concentración de toxicidad (1.5 a 40.6 mg/L), ya que, en los peces Paco y Gamitana, la  $CL_{50}$  están dentro del rango mencionado por dicho autor.

En cuanto a los resultados mencionados por **ESPINA et al. (1986)**, que tuvo un rango de concentración de 3 a 12 mg/L y que no mostró mortalidad, no coincide porque en el presente bioensayo, si se obtuvo muertes en ambas especies a concentraciones menores a 12 mg/L, posiblemente, debido a que no se suministró alimento durante el bioensayo.

En las concentraciones de 10 y 20 mg/L, para ambas especies, se pudo apreciar abundante espuma, la cual era generada por la bomba de aireación, y esto coincide con lo mencionado por **CUNHA et al. (2000)**, ya que la espuma dificulta la dilución del oxígeno atmosférico y la superficie del agua.

El resultado en cuanto a temperatura coincide con lo mencionado por **BARBIERI et al. (2000)**, donde refiere que, al elevarse este parámetro también aumenta la toxicidad del surfactante. Esto se puede corroborar con los resultados de la Gamitana en donde la temperatura se mantuvo en  $30 \pm 1$  °C y produciendo la muerte del 50% de la Población muestral a una concentración baja ( $CL_{50}$  de 4.8 mg/L), a diferencia del bioensayo realizado con el Paco, cuya temperatura se mantuvo constante a 27 °C produciendo la muerte de la mitad de la Población

muestral a una concentración más alta ( $CL_{50}$  de 18.1 mg/L). Del mismo modo, coincidimos por lo mencionado por **MISHRA et al. (2011)** donde refieren que los resultados de los bioensayos de toxicidad pueden ocurrir independientemente de las temperaturas altas o bajas.

El resultado obtenido del pH ambas especies está en el rango de las aguas saludables (6.0 – 6.5), de acuerdo a lo mencionado por **PLUSPETROL – UNAP, 1997**.

Para el oxígeno disuelto, el resultado está en el rango de una buena calidad de agua (3 – 5 mg/L), de acuerdo a lo mencionado por **RAMOS et al. 2003**, asimismo, se coincide con lo mencionado por **ESPINA et al. (1986)**, donde las diferencias de oxígeno disuelto no fueron significativas, puesto que, también hubo mortalidad en el presente ensayo realizado.

En cuanto a la Dureza, está catalogada como Agua Blanda (0 – 75 mg/L), de acuerdo a la clasificación de **ORTIZ, 2010**.

En mención a lo que refiere **RODRIGUEZ & ESCLAPES (2005)**, al término del presente bioensayo de toxicidad aguda, no todos los peces murieron al culminar el experimento, por lo que sería recomendable evaluarlos a través de un bioensayo de toxicidad crónica con el fin de determinar los efectos no observables (alteraciones en el órgano reproductivo, alteraciones físicas durante el crecimiento de sus crías, entre otros) a corto plazo.

## VI. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos mediante los bioensayos de toxicidad aguda, muestran que la mortalidad presenta una relación directa con la concentración de exposición.
- La Concentración Letal Media del detergente para el Paco fue de 18.1 mg/L al culminar las 96 horas de exposición.
- La Concentración Letal Media del detergente para la Gamitana fue de 4.7 mg/L al culminar las 96 horas de exposición.
- En la concentración de 2.5 mg/L, los especímenes se mantuvieron estables y no presentaron agresividad durante el bioensayo, sin embargo; en ambas especies, en la concentración de 5 mg/L, el detergente empieza a causar cambios en su comportamiento expresado en agresividad y fue mayor conforme se incrementaba la concentración.
- La temperatura para el bioensayo en la Gamitana fue mayor a diferencia del bioensayo practicado en el paco, debido a las condiciones meteorológicas.
- El pH se mantuvo estable durante la ejecución de los bioensayos con ambas especies.

- En cuanto a la Dureza, está catalogada como Agua Blanda para ambas especies.
- El resultado obtenido del oxígeno disuelto, nos muestra que el agua es de buena calidad.
- En cuanto al Nitrógeno Amoniacal, nuestros resultados están catalogados como Aceptable (1.0 a 1.5 mg/L) para el Paco y Aceptable por 15 días (1.5 a 2.3 mg/L) para la Gamitana, de acuerdo a lo mencionado por IIAP (2006), la presencia de una elevada concentración de Amoniaco en el caso de la Gamitana se debe a que las especies que sobrevivieron el bioensayo, se alimentaban de otros peces de la misma especie (Canibalismo), produciendo heces, elevando dicho parámetro.
- La especie *Colossoma macropomum* Gamitana, presentó mayor sensibilidad al detergente.
- La toxicidad se manifestó en forma directa por acción de la sustancia en el comportamiento a través de la agresividad y que conllevó al canibalismo.

## VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto de otros contaminantes importantes del agua, sobre todo aquellos cuyo efecto aún no ha sido documentado.
- Los análisis fisicoquímicos que se realizan en muestras de agua, deben ser complementadas con pruebas biológicas como en el caso de los bioensayos de toxicidad, para así tener un diagnóstico más real de los efectos que las actividades antropogénicas ocasionen en el medio ambiente.
- Implementar una normativa que regule el contenido de LAS que debe tener un efluente, para poder ingresar a un cuerpo de agua. Para la ciudad de Iquitos, esta recomendación sería favorable si es que contáramos con una planta de tratamiento de efluentes.
- Evaluar el contenido de detergentes en los efluentes que son descargados en los ríos Nanay, Itaya y Amazonas para poder estimar la concentración real con la que se vierten en los ríos.
- Realizar una evaluación a través de bioensayos de toxicidad crónica, con el fin de determinar los efectos no observables a corto plazo, en caso las muertes no lleguen al 100% al culminar el experimento.

## VIII. RESUMEN

El uso de agentes contaminantes en organismos vivos bajo condiciones de laboratorio se ha incrementado en estos últimos tiempos, debido a la brevedad con que se obtiene la información sobre las dosis letales ( $CL_{50}$ ) que afectan negativamente a los organismos vivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad aguda del detergente **Magia Blanca** cuyo componente activo biodegradable es el Alquil Aril Sulfonato de Sodio (AASS) sobre las especies de peces *Piaractus brachipomus* Paco (Cuvier, 1818) y *Colossoma macropomum* Gamitana (Cuvier, 1818) (PISCIS, CHARACIFORMES), mediante la realización de bioensayos de 96 horas de duración.

Estos bioensayos fueron de tipo estático, sin renovación del medio y cuyo diseño experimental estuvo enmarcado en: 4 concentraciones del detergente más un control, 3 repeticiones y un total de 150 peces por cada bioensayo, los cuales presentaron una talla promedio de 3.5 cm. La concentración letal media ( $CL_{50}$ ) es un parámetro de gran importancia toxicológica; y nos indica la concentración del tóxico que es capaz de producir la muerte al 50% de los individuos expuestos a la prueba.

Se reporta que el valor de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) a 96 horas de exposición para el Paco fue en promedio 18.1 mg/L de LAS, y para la Gamitana fue de 4.8 mg/L de LAS existiendo diferencia significativa entre el porcentaje de



mortalidad del detergente evaluado en las dos especies de peces empleados. Cabe mencionar que la muerte de los peces se dio por acción directa del detergente ocasionando agresividad en el comportamiento y por ende canibalismo.

Estos resultados nos indican que el detergente es más tóxico para *Colossoma macropomum* Gamitana, en comparación con *Piaractus brachypomus* Paco.

**PALABRAS CLAVES:** Toxicidad aguda, CL<sub>50</sub>, detergente, bioensayos, *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus*.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAYO, M. & J. IANNACONE. 2002.** Ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, diesel 2 y diesel 6 con dos subespecies de *Brachionus plicatilis* Müller 1786 (Rotifera: Monogononta). *Gayana* 66: 45-58.
- ALCAZAR, F. 1988.** Bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos marinos del Pacífico Sudeste. En: Documento guía del Curso Regional CPPS/PNUMA/COI. Cartagena: editores. 162 p.
- ALVAREZ, G.; MEDINA, G.; SÁNCHEZ, G. 1999.** Efecto del detergente biodegradable (Alquil sulfonato de sodio) en el consumo de oxígeno y tasa de filtración del bivalvo *Semimytilus algosus*. *Rev. Per. Biol.* 6:68-74.
- BANCO INTERAMERICANO DE DESARROLLO (BID). 2002.** Recursos Mundiales 2002. La guía mundial del planeta, Editorial Ecoespaña, Madrid, Pag. 105 – 121.
- BARBIERI, E.; NGAN, P. V. & V. GOMES. 2000.** Efeito do LAS-C12 no metabolismo de rotina de tainhas em função da temperatura em três salinidades. In: *Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI*. Rima Editora: São Carlos. Pag. 293 – 308.
- BERNA J. L.; J. FERRER; A. MORENO; D. PRATS & F. RUIZ BEVIA. 1989.**  
The Fate of LAS in the Environment. *Tenside Surf. Det.* 26(2):101 -107 pp.

**CASTILLO, G. 2004.** Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas: Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. IMTA. 1ra Edición. México. 189 pp.

**CASTRO, M. & C. CHUNGA. 1985.** El problema de los Detergentes en el reuso de Aguas Residuales tratadas en Lagunas de Estabilización. Lima – Perú. 31 pp.

**CÓDIGO DEL MEDIO AMBIENTE Y LOS RECURSOS NATURALES,** Capítulo I, artículo 1°, Inciso 5. Decreto legislativo N° 613. Lima – Perú, 1990.

**CRDI.** [http://www.idrc.ca/braco/ev-1-201-1-DO\\_TOPIC.html](http://www.idrc.ca/braco/ev-1-201-1-DO_TOPIC.html). Revisado el 05 de Abril del 2011.

**CUNHA, C. P.; LOBATO, N. & S. DIAS. 2000.** Problemática dos tensioactivos na industria de produção de detergentes em Portugal. Instituto Superior da Universidade Técnica de Lisboa. Apostila. 25 pp.

**EICHHORN, P.; FLAVIER, M.; PAJE, M. & T. KNEPPER. 2001.** The Science of the Total Environment 269, 75 – 85.

**EPA.** <http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/index.htm> 05 de Marzo, 2011.

**ESPINA, S.; DIAZ, F.; ROSAS, C. & I. ROSAS. 1986.** Influencia del detergente sobre el balance energético de *Ctenopharyngodon idella* a través de un

Bioensayo Crónico. UNAM. México D.F. Contaminación Ambiental 2, 35 – 37.

**GAMERO B. 1991.** Determinación de la Concentración Letal (CL<sub>50</sub>) al 50% de Cadmio. Bioensayos en *Poecilia reticulata* (Guppys). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú. Pag.15 – 146.

**GONZALES-MAZO FORJA, J.M. 1998.** Environmental Science and Technology, 32, 1636 – 1641.

**IANNACONE, J. 1996.** Bioensayo para determinar el contenido de Metales Contaminantes en el Agua Dulce con el empleo de *Chironomus* sp. (Diptera: Chironomidae) y *Moina macrocarpa* (Crustácea: Cladóceras). Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae en la UNALM. Lima – Perú. Pag. 2 – 71.

**IANNACONE, J. & L. ALVARIÑO. 1998.** Ecotoxicidad aguda del zinc sobre el “Guppy” *Poecilia reticulata*. *Wiñay Yachay* 2(3): 67-74.

**IANNACONE, J.; ALVARIÑO, L. & W. DALE. 1998.** Pruebas ecotoxicológicas como una herramienta para la evaluación del impacto ambiental. *Boletín de Lima* (Perú) 113: 53-68.

**IANNACONE, J.; ALVARIÑO, L. & A. GUTIERREZ. 1999.** Cinco ensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados en el agua dulce. Boletín de la Sociedad Química del Perú 65: 30-45.

**IANNACONE, J & L. ALVARIÑO. 2002.** Evaluación del riesgo ambiental del insecticida cartap en bioensayos con tres invertebrados. *Agric. Téc.* 62: 366-374.

**IANNACONE, J.; CABALLERO, C. & L. ALVARIÑO. 2002a.** Empleo del caracol de agua dulce *Physa venustula* Gould como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgos ambientales por plaguicidas. *Agric. Téc.* 62: 212-225.

**IIAP. 2000.** Cultivo y procesamiento de peces nativos: Una propuesta productiva para la Amazonía Peruana. PEA. Iquitos – Perú. Pag. 1 – 10.

**IIAP. 2006.** Cultivando peces amazónicos. 2da Edición. San Martín – Perú. 200 p.

**INEI PERÚ. 2000.** Sistema Nacional de Estadística “Perú Compendio Estadístico 2000”, Edit. INEI, Pág. 61, 82, 297 – 298.

**INRENA. 1995.** Mapa Ecológico del Perú – Guía explicativa. Edit. INRENA pag 133

**KAREL VERSCHUEREN.** 1996. Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 3rd Edition, Van Norstrand Reinhold, New York, 902 – 903.

**KRUGER, C & J. FIELD.** 1995. Analytical Chemistry, 67, 3363 – 3366.

**KRUGER, C.; RADAKOVIC, K.; SAWYER, T.; BARBER, L.; SMITH, R. & J. FIELD.** 1998. Environmental Science and Technology 32, 3954 – 3961.

**LAM, P.** 1996. Sublethal effects of cadmium on the energetic of a tropical freshwater snail, *Brotia hainanensis* (brto, 1872). *Environ. Toxicol. Water Qual.* 11: 4345-349.

**LEON, M.** 2006. Efecto ecotoxicológico de los detergentes biodegradables en la trucha “Arco iris” *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), en el centro piscícola “El Ingenio” – Huancayo. Tesis para optar el grado de Biólogo con mención en Hidrobiología y Pesquería en la UNMSM. Huancayo – Perú. Pag. 1 – 42.

**LEWIS, M. A.** 1992. The effects of mixtures and other environmental modifying factors on the toxicities of surfactantes to freshwater and marine life. **Water Res.**, v. 26, n. 8, 1013-1023 p.

**LEY GENERAL DE AGUAS. D.S. N° 261 – 69 – AP.**

<http://www.cepes.org.pe/legisla/aguas/reglamentos/ds-261-69-ap.html>. Revisado el 03 de Enero 2011.

**MALAGRINO, W. & A. ALMEIDA. 1987.** Estudio comparativo de acao tóxica de um detergente biodegradável sobre *Poecilia reticulata* e *Poecilia vivipara* (Pises: Poecilidade). Revista DAR.148 (47): 86-91.

**MANAHAN, S. 1994.** Environmental Chemistry, 6th Edition New York, 195 – 196.

**MARTINEZ, R. 2000.** Desarrollo de Bioensayos Toxicológicos y su aplicación en programas de monitoreo de la calidad de pozos y tomas de agua del municipio de Aguascalientes. Santiago de Querétaro: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. p. 1-60.

**MISHRA, A.; TRIPATHI, C.; DWIVEDI, A. & V. DUBEY. 2011.** Acute toxicity and behavioral response of freshwater fish, *Mystus vittatus* exposed to pulp mill effluent. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology. Vol. 3 (6), 167 – 172 pp.

**OECD. 1993.** Guidelines for the testing of chemicals organization for economic cooperation and developments.

**ONU, [www.onu.org/Agenda/días/otros.htm](http://www.onu.org/Agenda/días/otros.htm)** Revisado el 19 de Diciembre del 2010.

- ORTIZ, J. 2010.** Parámetros Físicoquímicos del Agua. *mvz.unipaz.edu.co/textos/lecturas/.../parametros-fisicoquimicos-del-agua.pdf*. Revisado el 16 de Enero del 2011.
- PAGGI, J. & D. PAGGI. 1999.** *Daphnia magna*, el “canario” de las aguas. Santa Fe: CONICET. p. 1-15.
- PLUSPETROL – UNAP. 1997.** Estudio Hidrobiológico del Río Corrientes – Informe Limnológico Físico – Químico. Loreto – Perú.
- POPULATION INFORMATION PROGRAM. 1998.** Soluciones para un Mundo con escasez de agua. Maryland – USA. <http://info.k4health.org/cgi-bin/pr/sendto.pl>. Revisado el 27 de febrero del 2011.
- PRODUCE. 2002.** Manual de Crianza de Truchas en ambientes controlados. Ministerio de La Producción- Huancayo. 79 pp.
- RAMOS R.; SEPÚLVEDA R. & F. VILLALOBOS. 2003.** El Agua en el Medio Ambiente. Muestreo y Análisis. Primera Edición. Impreso en México. 181 pp.
- REISH, D. & P. OSHIDA. 1987.** Manual of methods in aquatic environment research. Part 10 – Short-term static bioassays. Edición. Roma: FAO. 62 p.



**ROCHA, A.; PEREIRA, N. & W. MALAGRINO. 1985.** Efeitos de baixas concentrações de detergentes aniônicos sobre o hábito de escavação de *Vela mactroides* (BORN, 1778), Bivalvia, Veneridae. **Revista DAE**, v. 45, n. 142, 313-315 pag.

**RODRÍGUEZ, J. & M. ESCLAPÉS. 1995.** Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. Venezuela. 109 pp.

**SALAGER, J. 2002.** Surfactantes: Tipos y usos. Facultad de Ingeniería. Universidad Los Angeles – Venezuela. Cuaderno FIRP S300 – A. 2da Edición. 53 pp.

**SÁNCHEZ, P; PABLOS, M; VALDOVINOS, C; BAY-SCHMITH, E; TARAZONA, J. & A. LARRAIN. 2000.** Los bioensayos como instrumentos legales en la gestión medioambiental. Madrid: Secretaría General Técnica. 25 pp.

**SANCHEZ, G. & G. VERA. 2001.** Manual Introductorio de Ecotoxicología Acuática. Informe Instituto del Mar del Perú, N° 161 – Junio. 40 pp.

**TABOR, CH. & H. BARBER. 1996.** Environmental Science and Technology 30: 161 – 171.

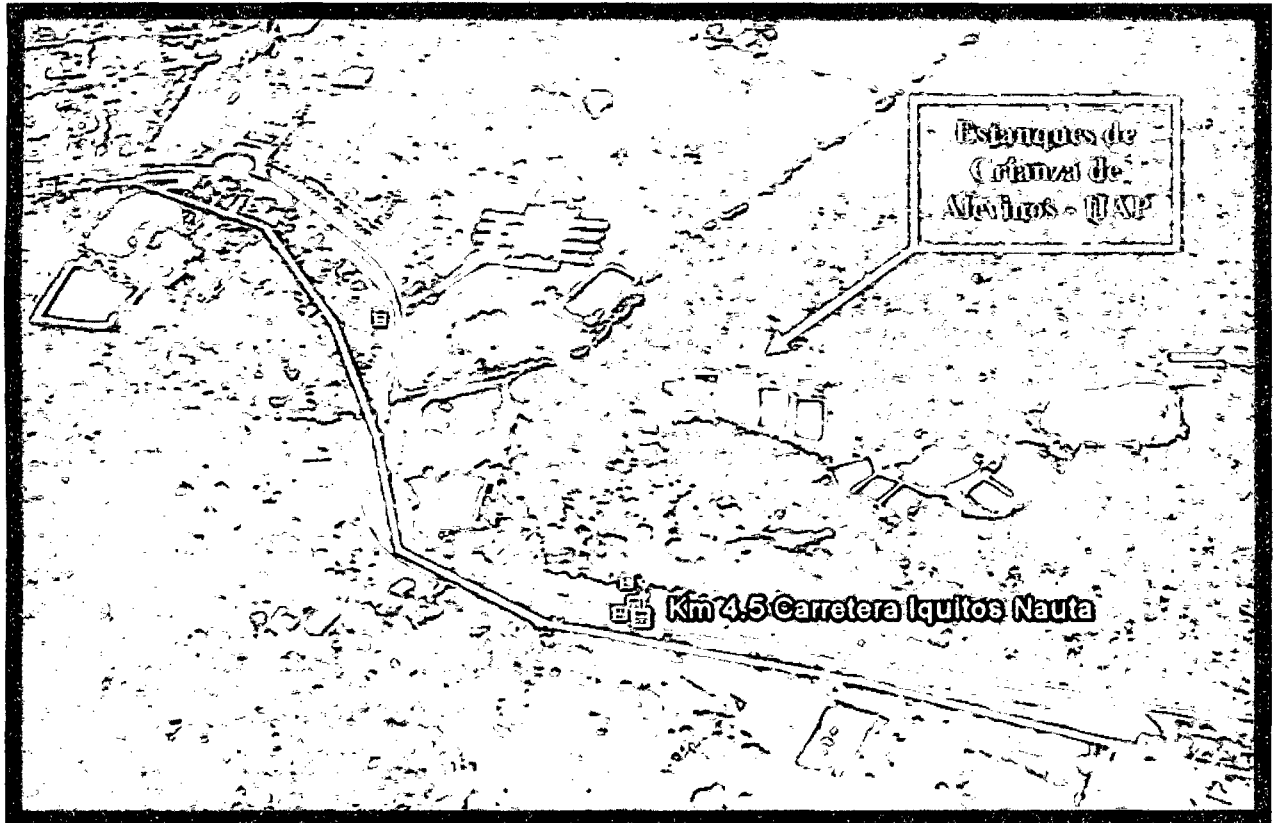
- TEMARA, A.; CARR, G.; WEBB, S.; VERSTEEG, D.; FEIJTEL, T. 2001.** Marine risk assessment: linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in the North Sea. *Mar. pollut. Bull.* 42:635-642.
- TOLLS, J.; HALLER, M.; THIJSSSEN, M. & D. SJIM. 1997.** Environmental Science Technology 31: 3426 – 3431.
- TOLLS, J.; HALLER, M.; SIENEN, W.; SJIM, D.T. 2000.** Environmental Science and Technology 34, 304 – 310.
- US EPA. 1981.** Effluent toxicity screening test using *Daphnia* and mysid shrimp. Environmental monitoring and support laboratory, U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati: Ohio. Pag.1 – 49.
- USGS. 2000.** Science for a changing world. Biomonitoring of environmental status and trends (BEST) Program: Selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems. USA: Schmitt CJ, Dethloff GM Editors. 81 p.
- VERGE, C; MORENO, A; BRAVO, J. & J. BERNA. 2001.** Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS). *Chemosphere*, V. 44, p. 1749-1757.

**VISITACIÓN, L. 2004.** Degradación fotocatalítica de detergentes en efluentes domésticos. Tesis para optar el Grado de Magister en Química. PUCP. Lima – Perú. Pag. 1 – 74.

**YING, G.G.; WILLIAMS, B.; KOOKANA, R. 2002.** Environmental fate of Alkylphenol ethoxylates- a review. *Environ. Int.* 28:215-226.

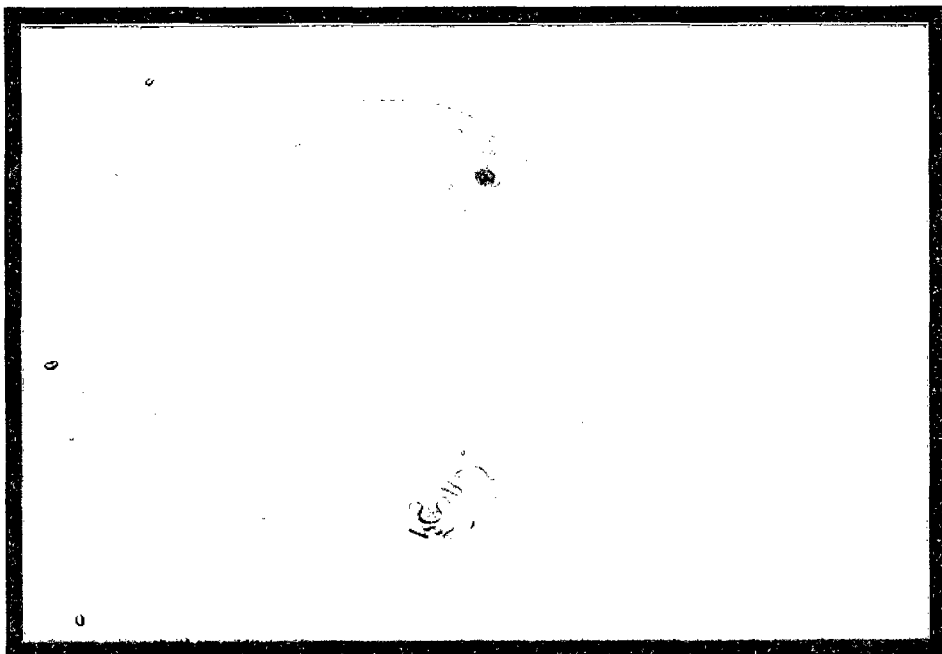
# **ANEXOS**

**ANEXO 1:** Ubicación de la Instalación donde fue conseguida las especies para el bioensayo



**Foto N° 01.** Ubicación del IIAP – QUISTOCOCHA. Km 4.5 de la Carretera Iquitos – Nauta.

**ANEXO 2:** galería Fotográfica



**Foto N°2.** Alevinos de *Piaractus brachypomus* - Paco.



Foto N°3. Alevinos de *Colossoma macropomum* - Gamitana.

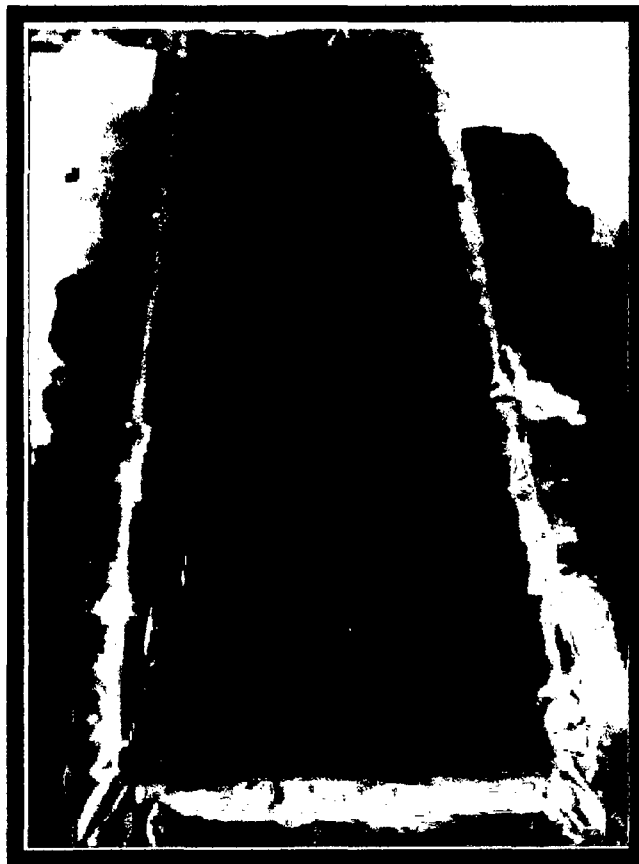
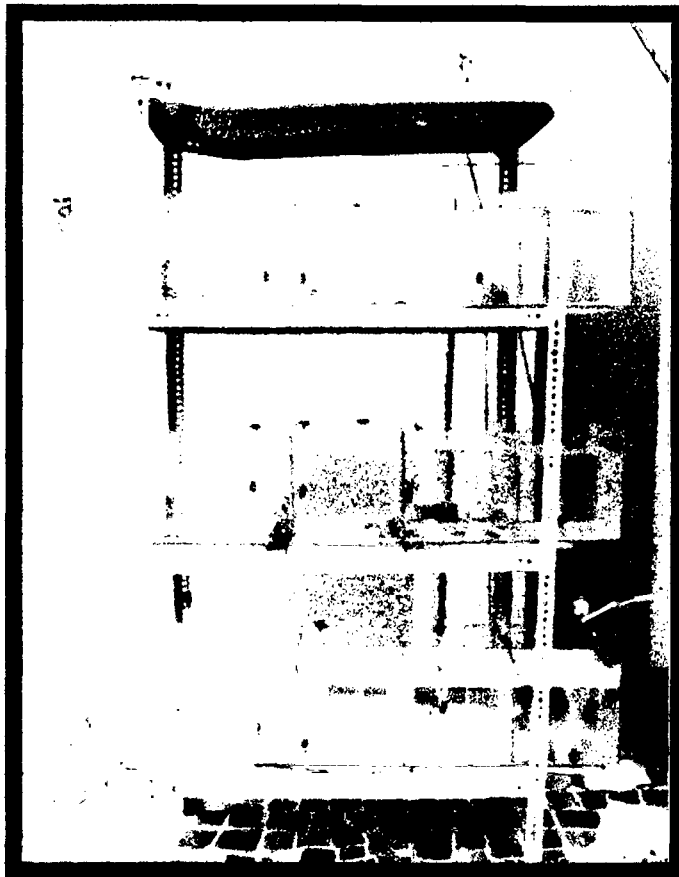
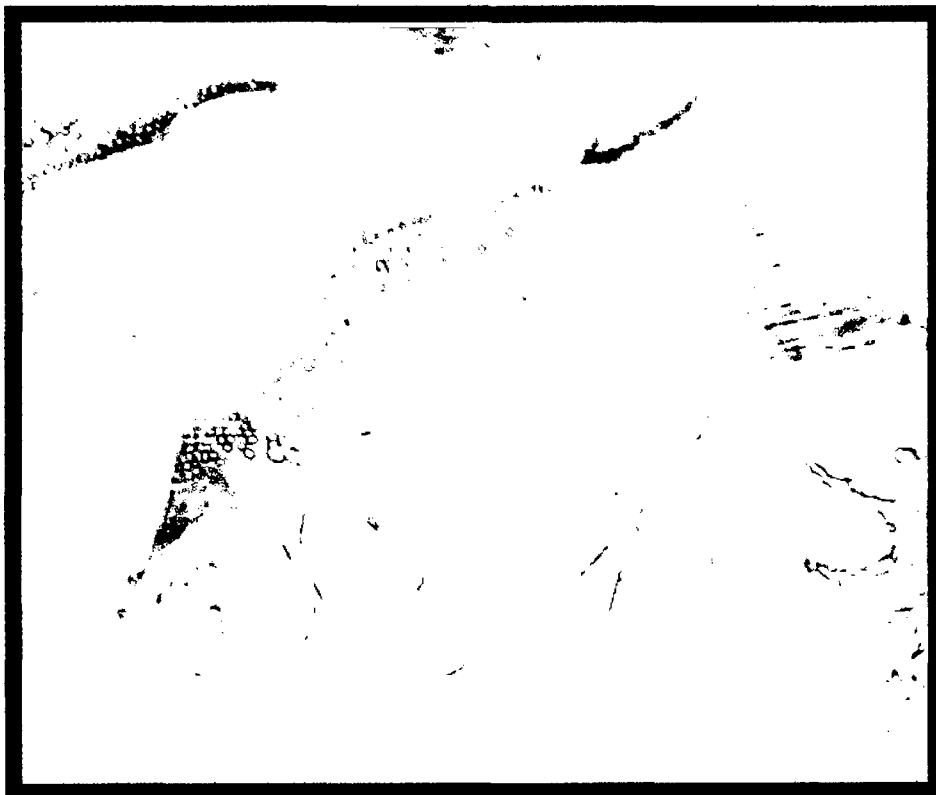


Foto N°4. Estanque de Aclimatación de alevinos



**FotoN°5.** Unidades experimentales de los Bioensayos de toxicidad



**Foto N°6.** Perdida de la parte ocular del pez - Gamitana



**Foto N°7.** Muerte ocasionada por agresión entre especies producto del detergente – Paco. Pérdida de la mitad del cuerpo del pez.



**Foto N°8.** Pérdida de la aleta perianal; laceraciones en las aletas terminal y dorsal; y pérdida de la parte ocular del pez – Gamitana.



**ANEXO 3: Comparación de los resultados de las pruebas Tukey y Scheffé para la  
ambas especies**

**Comparación de las pruebas con la Gamitana.**

|         |         | TUKEY       |             |             |             |      |
|---------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|         |         | Control     | T1          | T2          | T3          | T4   |
| SCHEFFÉ | Control |             | <b>.539</b> | .000        | .000        | .000 |
|         | T1      | <b>.655</b> |             | .000        | .000        | .000 |
|         | T2      | .000        | .000        |             | <b>.061</b> | .000 |
|         | T3      | .000        | .000        | <b>.109</b> |             | .018 |
|         | T4      | .000        | .000        | .001        | .037        |      |

Fuente: Anotaciones de los autores. 2011.

**Comparación de las pruebas con el Paco.**

|         |         | TUKEY       |             |             |             |      |
|---------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|         |         | Control     | T1          | T2          | T3          | T4   |
| SCHEFFÉ | Control |             | <b>.928</b> | .002        | .000        | .000 |
|         | T1      | <b>.956</b> |             | .001        | .000        | .000 |
|         | T2      | .004        | .002        |             | <b>.200</b> | .001 |
|         | T3      | .000        | .000        | <b>.301</b> |             | .018 |
|         | T4      | .000        | .000        | .002        | .037        |      |

## GLOSARIO

**Bioensayos:** Experimentos que investigan el papel de sustancias en un contexto biológico, ecológico y/o evolutivo.

**Biota:** Conjunto de especies de animales, plantas y otros organismos que ocupa un área o lugar determinado.

**Concentración letal:** es aquella a la cual una sustancia en su límite máximo produce la muerte.

**Concentración letal media (CL<sub>50</sub>):** es la concentración de una sustancia que causa el 50 % de la mortalidad a un grupo de organismos durante un período de experimentación.

**Contaminante:** introducción en un medio cualquiera de un contaminante, es decir, la introducción de cualquier sustancia o forma de energía con potencial para provocar daños, irreversibles o no, en el medio inicial.

**Contaminación ambiental:** la presencia en el ambiente de cualquier agente (físico, químico o biológico) o bien de una combinación de varios agentes en lugares, formas y concentraciones tales que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o para el bienestar de la población, o que puedan ser perjudiciales para la vida vegetal o animal, o impidan el uso normal de las propiedades y lugares de recreación y goce de los mismos.

**Dosis:** Cantidad de sustancia que se absorbe en 24 horas expresada con relación a kilogramos de peso corporal.

**Dureza:** Concentración en el agua de sales de calcio y magnesio. Se suele expresar en mg/l de carbonato de Calcio.

**Efecto:** Alteraciones bioquímicas, morfológicas, o fisiológicas producidas por la exposición a sustancias químicas, que dependen de la toxicidad y las dosis.

**Fitoplancton:** conjunto de los organismos acuáticos autótrofos, que tienen capacidad fotosintética y que viven dispersos en el agua.

**Intoxicación:** Conjunto de perturbaciones fisiopatológicas y/o anatomopatológicas producido por los diversos principios activos.

**Muerte:** un pez es considerado muerto si no se observa algún movimiento en sus opérculos, branquias y si no responde cuando la aleta caudal es tocada.

**Prueba estática:** es la prueba efectuada para evaluar la CL50 en donde la solución en donde se encuentran los peces (agua) no es cambiada durante el experimento.

**Respuesta:** Es la proporción de los problemas que manifiesta un determinado efecto definido.

**Replica:** Batería de ensayo que contiene un número especificado de organismos en una concentración dilución de muestra definida o de agua de dilución como control.

**Toxicidad:** una medida usada para medir el grado tóxico ó venenoso de algunos elementos.

**Toxicología:** La toxicología es la ciencia que estudia el origen, naturaleza y propiedades de los tóxicos, su comportamiento cinético y sus efectos sobre los organismos vivos, las manifestaciones clínicas de la intoxicación la detección y cuantificación del TOXÓN, los procedimientos adecuados de prevención y tratamiento y las implicaciones médico-legales. **Toxicología ambiental:** Rama que estudia los efectos tóxicos producidos por los contaminantes ambientales sobre la atmósfera, sobre el agua, y el suelo, y también el efecto de los residuos tóxicos de los alimentos.

**Tóxico:** Es cualquier sustancia que puede producir algún efecto sobre un ser vivo y alterar su equilibrio dinámico u homeóstasis.

**Xenobiotico:** Lo que es extraño a la vida, toda sustancia ajena a un ser vivo, tales como agentes benignos, los inactivos y los nocivos y excluye las hormonas y las vitaminas.