

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE INGENIERÍA
INGENIERÍA QUÍMICA, PETROQUÍMICA, AMBIENTAL Y
ALIMENTOS



PROYECTO DE GRADO
DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DE TRES
DETERGENTES DOMÉSTICOS A TRAVÉS DE
BIOENSAYOS EN TRUCHA ARCOÍRIS

(Oncorhynchus mykiss)

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTADO POR:

SEVERO LEO CHAMBI BUTRON

TUTOR: ING. SANTIAGO MORALES MALDONADO, Ph. D.

La Paz – Bolivia



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE INGENIERIA**



LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS AUTORIZA EL USO DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO SI LOS PROPÓSITOS SON ESTRICTAMENTE ACADÉMICOS.

LICENCIA DE USO

El usuario está autorizado a:

- a) Visualizar el documento mediante el uso de un ordenador o dispositivo móvil.
- b) Copiar, almacenar o imprimir si ha de ser de uso exclusivamente personal y privado.
- c) Copiar textualmente parte(s) de su contenido mencionando la fuente y/o haciendo la cita o referencia correspondiente en apego a las normas de redacción e investigación.

El usuario no puede publicar, distribuir o realizar emisión o exhibición alguna de este material, sin la autorización correspondiente.

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS. EL USO NO AUTORIZADO DE LOS CONTENIDOS PUBLICADOS EN ESTE SITIO DERIVARA EN EL INICIO DE ACCIONES LEGALES CONTEMPLADAS EN LA LEY DE DERECHOS DE AUTOR.

DEDICATORIA

A mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Rolando Irahola Frias por su apoyo, a través de los laboratorios del Centro Piscícola de Tiquina. Y al Ing. Santiago Morales Maldonado por su apoyo y orientación como tutor.

RESUMEN

La contaminación de cuerpos de agua provoca serios problemas ambientales como la muerte de organismos acuáticos y otros que dependen de estos. En general la contaminación se debe a factores externos, uno de los más relevantes son las aguas residuales domésticas, las cuales pueden tener un efecto mortal por la toxicidad de los residuos que contienen.

En el presente Proyecto de Grado se ha realizado la determinación de la toxicidad de tres detergentes domésticos utilizando como organismo de prueba: trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). El lugar de realización del mismo fue en instalaciones del Centro Piscícola de Tiquina.

El experimento consistió en someter a grupos de alevines de trucha a diferentes concentraciones de detergente durante un periodo de 48 horas. Y con los datos de mortalidad de cada grupo se procedió a calcular la concentración letal media (CL_{50}) del detergente.

En una primera instancia se determinó la sensibilidad de los alevines a los detergentes mediante pruebas preliminares, con el fin de conocer el rango certero de concentración de los detergentes a usarse. Con el rango de concentraciones halladas se procedió a las pruebas experimentales para cada detergente. Y con la data obtenida se calculó el CL_{50} , utilizando para ello el método Probit. Los resultados fueron: 4,8 mg/L para el primer detergente, 16,1 mg/L para el segundo, y 23,9 mg/L para el tercero.

ABSTRACT

The contamination of bodies of water causes serious environmental problems such as the death of aquatic organisms and others that depend on them. In general, the contamination is due to external factors, one of the most relevant is domestic wastewater, which can have a deadly effect due to the toxicity of the waste they contain.

In the present Degree Project, the determination of the toxicity of three domestic detergents has been carried out using as test organism: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The place of realization of it was in facilities of the Centro Piscícola de Tiquina.

The experiment consisted in subjecting groups of trout fingerlings to different concentrations of detergent during a period of 48 hours. And with the mortality data of each group we proceeded to calculate the mean lethal concentration (LC_{50}) of the detergent.

In the first instance, the sensitivity of the fry to the detergents was determined by means of preliminary tests, in order to know the precise concentration range of the detergents to be used. With the range of concentrations found, experimental tests were carried out for each detergent. And with the obtained data, the LC_{50} was calculated, using the Probit method. The results were: 4.8 mg / L for the first detergent, 16.1 mg / L for the second, and 23.9 mg / L for the third.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ANTECEDENTES.....	1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	2
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	2
1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS	2
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.4.1. JUSTIFICACIÓN TÉCNICA	2
1.4.2. JUSTIFICACIÓN SOCIAL.....	3
1.4.3. JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA.....	3
1.4.4. JUSTIFICACIÓN AMBIENTAL.....	3
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. TOXICOLOGÍA	4
2.1.1. BIOENSAYOS	5
2.1.2. CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL ₅₀)	6
2.1.3. MÉTODO PROBIT	8
2.2. DETERGENTES.....	10
2.2.1. CLASIFICACIÓN	11
2.2.2. EFECTOS AL MEDIO AMBIENTE.....	12
2.2.3. DETERGENTES EN BOLIVIA	14
2.3. TRUCHA ARCOÍRIS.....	14
2.3.1. HABITAT.....	14
2.3.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	15
2.3.3. REPRODUCCIÓN	16
2.3.4. IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	16
3. METODOLOGÍA.....	18

3.1. PRIMER OBJETIVO	18
3.2. SEGUNDO, TERCER Y CUARTO OBJETIVO	21
4. RESULTADOS.....	24
4.1. RESULTADOS DE PRIMER DETERGENTE	24
4.2. RESULTADOS DE SEGUNDO DETERGENTE	27
4.3. RESULTADOS DE TERCER DETERGENTE	31
4.4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
5.1. CONCLUSIONES	39
5.2. RECOMENDACIONES.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1 - MÉTODO ANOVA DE UN FACTOR USANDO MICROSOFT EXCEL	48
Anexo N° 2 - MÉTODO PROBIT, DETERMINACIÓN DE CL ₅₀ USANDO HOJA DE CÁLCULO PROGRAMADO EN EXCEL ALPHA(2010).....	52
Anexo N° 3 - MÉTODO PROBIT, DETERMINACIÓN DE CL ₅₀ USANDO HOJA DE CÁLCULO PROGRAMADO EN EXCEL MORALES(2013).....	55
Anexo N° 4 - CENTRO PISCÍCOLA DE TIQUINA	58
Anexo N° 5 - DESCRIPCIÓN DE DETERGENTES UTILIZADOS.....	59
Anexo N° 6 - DOSIER FOTOGRÁFICO	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 - Agua con eutrofización.....	13
Figura N° 2 - Aguas residuales con espuma	14
Figura N° 3 - Trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	15

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 - Curva de relación dosis respuesta.....	8
Gráfico N° 2 - Curva de relación dosis-respuesta de primer detergente	25
Gráfico N° 3 - Regresión lineal de primer detergente.....	26
Gráfico N° 4 - Curva de relación dosis-respuesta de segundo detergente	29
Gráfico N° 5 - Regresión lineal de segundo detergente.....	30
Gráfico N° 6 - Curva de relación dosis-respuesta de tercer detergente	33
Gráfico N° 7 - Regresión lineal de tercer detergente.....	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 - Mediciones de agua en acuarios sin detergente.....	18
Tabla N° 2 - Características de alevín.....	19
Tabla N° 3 - Concentraciones de detergente para cada acuario en prueba preliminar.....	20
Tabla N° 4 - Conteo de muertes en prueba preliminar.....	20
Tabla N° 5 - Concentración de detergente en acuario para cada réplica.....	22
Tabla N° 6 - Mediciones de agua de acuarios antes de pruebas definitivas	23
Tabla N° 7 - Mortalidad de primer detergente	24
Tabla N° 8 - Resumen de mortalidad de primer detergente.....	25
Tabla N° 9 - Datos de ingreso de primer detergente para ANOVA.....	26
Tabla N° 10 - Análisis de varianza de primer detergente	27
Tabla N° 11 - Mortalidad de segundo detergente	28
Tabla N° 12 - Resumen de mortalidad segundo detergente	29
Tabla N° 13 - Datos de ingreso de segundo detergente para ANOVA.....	31
Tabla N° 14 - Análisis de varianza de segundo detergente	31
Tabla N° 15 - Mortalidad de tercer detergente	32
Tabla N° 16 - Resumen de mortalidad tercer detergente	33
Tabla N° 17 - Datos de ingreso de segundo detergente para ANOVA.....	35
Tabla N° 18 - Análisis de varianza de tercer detergente.....	35
Tabla N° 19 - Resumen ANOVA de los tres detergentes	36
Tabla N° 20 - Comparativa de CL ₅₀ por software.....	37

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES

La contaminación del agua es la presencia de sustancias u organismos a extraños a este, lo que impide su utilización para propósitos determinados (Arellano & Guzman). Entre los principales tóxicos que ocasionan daño a los peces están: iones metálicos, detergentes, amoníaco, hidrocarburos, cloro, plaguicidas, bifenilos policlorados, efluentes de plantas de papel y cianuros (Peña et al., 2002). Dirigiendo nuestra atención a los detergentes: productos químicos comerciales de uso doméstico para limpieza. Estos, que después de haber sido usados terminan en las alcantarillas y después en cuerpos de agua. Existe evidencia científica de que pueden ser perjudiciales a la biota acuática. La exposición de detergentes a organismos acuáticos puede causarles problemas, como alteraciones en su respiración (Álvarez & Medina); en un ecosistema acuático la diversidad se ve afectada, reduciéndola de sobremanera a altas concentraciones (Perez & Roldan); pueden disminuir los niveles oxígeno en el agua, causando problemas respiratorios en los peces (Peña, et al., 2002). Por tanto, no hay duda de que los detergentes son agentes contaminantes de cuerpos de agua y de la fauna acuática, pero lo que no se conoce con certeza es cuánto daño podría hacer, ya que cada especie, cada ecosistema, reacciona diferente a otro.

La toxicología, definida como el estudio de los efectos perjudiciales de sustancias químicas a organismos vivos (Zakrzewski, 2002), tiene métodos para determinar la toxicología de sustancias. Las pruebas de bioensayo son una buena forma de conocer la toxicidad de agentes químicos, estos se basan en experimentos en organismos de prueba bajo condiciones específicas y controladas. Una de las formas de determinar la toxicidad es hallando el CL_{50} : concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima afecta al 50% de los organismos de ensayo. (Castillo, 2004)

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La toxicidad de detergentes domésticos (usados en nuestro país) sobre especies acuáticas es el problema identificado. Es de conocimiento popular que las aguas servidas de origen doméstico contaminan los cuerpos de agua a los que son descargados: ríos, lagos, agua subterránea, pero lo que no se conoce es en que magnitud lo hace. Una de las sustancias características de las aguas residuales domésticas son los productos de limpieza; los detergentes, estos son uno de los principales contaminantes acuáticos debido a su uso masivo y cotidiano. Lo que no se desconoce es que tan dañino pueden ser estos químicos a la fauna acuática, en especial a peces que forman parte de la dieta en nuestra región. Es posible que los detergentes causen serios impactos ambientales, pudiendo ser tóxicos para peces y otros animales, lo que su vez provocaría problemas como: pérdidas económicas a la industria de la piscicultura, deterioro de ecosistemas acuáticos, detrimento de la calidad de agua, posible vulnerabilidad por la salud pública por el consumo de peces intoxicados, etc.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la toxicidad de tres detergentes domésticos a través de bioensayos en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar la sensibilidad de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante pruebas preliminares.
- ❖ Determinar la concentración letal media CL_{50} del detergente doméstico 1 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).
- ❖ Determinar la concentración letal media CL_{50} del detergente doméstico 2 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).
- ❖ Determinar la concentración letal media CL_{50} del detergente doméstico 3 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

1.4. JUSTIFICACIÓN

1.4.1. JUSTIFICACIÓN TÉCNICA

Obtención de datos técnicos tóxico-ambientales es la justificación técnica del presente proyecto de grado. Obtener información técnica, en el campo de la

toxicología ambiental en Bolivia, es complicado y difícil, o simplemente no existe. Es por ello, que el trabajo que se pretende realizar es una modesta contribución a la ciencia que se hace dentro de nuestras fronteras.

1.4.2. JUSTIFICACIÓN SOCIAL

El proyecto se justifica desde el punto de vista social porque podrá ser un aporte de investigación de la Universidad a las actividades que realiza la sociedad como la pesca y acuicultura, investigación que puede ser de utilidad a personas, comunidades y empresas que se dediquen a ese rubro. También busca ser una información ambiental de interés a instituciones públicas como privadas en la temática de toxicología de detergentes en nuestro país.

1.4.3. JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA

Desde la perspectiva económica el proyecto persigue ser una aportación investigativa a todo aquel que desarrolla actividades económicas con relación a la piscicultura y pesca. Dichas actividades podrían verse perjudicadas por la toxicidad de detergentes en especies comerciales como la trucha, lo que hace que la presente investigación sea una referencia y una herramienta informativa para la toma de decisiones.

1.4.4. JUSTIFICACIÓN AMBIENTAL

La justificación ambiental del presente, será por el estudio que se realizará por conocer el impacto ambiental que causaría los detergentes en la fauna acuática, más específicamente conocer la toxicidad del detergente sobre una especie acuática: trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*.

Es necesario investigar, pesquisar y estudiar la toxicología de sustancias que se utilizan en nuestro medio, como lo son los productos de limpieza, y como estos podrían causar daño a nuestros ecosistemas acuáticos; como estos incluso podrían causar problemas de salud pública. Este tipo de investigaciones podrían ayudar a autoridades ambientales tanto nacionales como locales a tomar medidas de prevención y mitigación, desarrollar programas de educación ambiental, promover medidas de mejoramiento ambiental, etc.

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. TOXICOLOGÍA

“La toxicología es el estudio de los efectos adversos de agentes químicos y físicos, o biológicos sobre organismos vivos y el ecosistema, incluyendo la prevención y la mejora de tales efectos adversos” (Woolley, 2008, p.7). Por su lado a la toxicología ambiental le concierne los escenarios de exposición de compuestos químicos en el medio ambiente (Phillip, et al., 2000), esto puede causar una confusión porque a veces es tomado como sinónimo de la ecotoxicología. Esta última se define como el estudio de los efectos de químicos y sustancias naturales sobre organismos en un ecosistema (Wexler, 2000). Y si bien la hay una similitud de conceptos, hay una clara diferencia entre ellos: el objeto de estudio, en toxicología ambiental el estudio es más enfocado a los humanos. La toxicología ambiental es el estudio de compuestos químicos dentro del medio ambiente y los efectos que puede causar a humanos y poblaciones (Woolley, 2008), así mismo, Phillip, et al. (2000) hace mucho más claro su definición: “rama de la toxicología que se encarga de estudiar la exposición biológica (más específicamente la humana) a químicos que son básicamente contaminantes del medio ambiente, de los alimentos, o del agua”.

No importando la rama o disciplina, en toxicología en general se maneja un léxico propio. A continuación, se describe algunos conceptos¹ más relevantes.

- ❖ Exposición. Es el contacto de una población o individuo con un agente químico o físico
- ❖ Dosis. Cantidad total de tóxico administrado a un organismo en un intervalo de tiempo.
- ❖ Ruta de exposición. Es el camino que sigue un agente químico en el ambiente desde el lugar donde se emite hasta que llega a establecer contacto con la población o individuo expuesto
- ❖ Vía de exposición. Es el mecanismo por medio del cual el tóxico entra en el organismo. Estas pueden ser: la ingestión, la respiración y el contacto cutáneo

¹ Conceptos extraídos de (Peña et al., 2002) y (Morales, 2014)

- ❖ Tiempo de exposición. Hace referencia a la toxicidad de una sustancia de acuerdo al periodo de exposición: aguda, generalmente una dosis única, efecto en corta duración; subcrónica, de duración intermedia y más de una dosis; crónica, varias dosis, larga duración en hacer efecto.
- ❖ Respuesta tóxica. También llamado efecto tóxico es la desviación del funcionamiento normal del organismo que ha sido producida por la exposición a sustancias tóxicas.

La toxicología es una ciencia que busca entre otras cosas, conocer la toxicidad de agentes químicos que se nos rodean para tomar medidas de seguridad a quienes lo usan. Es una obligación moral que medicamentos, pesticidas, aditivos alimenticios, productos de limpieza, etc. sean lo más seguro posible para los consumidores y usuarios (Woolley, 2008). La forma de determinar cuán dañino es una sustancia cualquiera es conociendo la toxicidad de esta. La toxicidad es el efecto dañino provocado por un compuesto a un mecanismo biológico (Zaror, 2000). Cuantificar o cualificar ese efecto dañino en forma experimental mediante pruebas en laboratorio con animales es la manera en que se lo realiza. Dichas pruebas son denominadas bioensayos o ensayos biológicos.

2.1.1. BIOENSAYOS

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico para determinar los efectos de agentes físicos o químicos sobre organismos de prueba, bajo condiciones controladas, tales efectos como mal desarrollo, cambios morfológicos, cambios fisiológicos, muerte entre otros (Castillo, 2004). El objetivo en sí de estas herramientas es predecir el comportamiento de químicos en ecosistemas, determinando los efectos en situaciones en que fueron expuestos (Woolley, 2008); este tipo de estudios pueden medir los efectos crónicos o agudos, un ejemplo de ello es la mortalidad de una especie debido a la exposición de un químico específico (Mihelcic & Beth, 2012).

Realizar bioensayos en un laboratorio es una tarea que tiene sus complicaciones. Se deberá tener control de las variables que puedan afectar el resultado. Sin embargo, existen ciertos criterios que debe cumplir cualquier

test con animales de prueba según la metodología estándar, en Castillo (2004). Estos pueden ser:

- ❖ Provisión de servicios necesarios (agua, luz, gas y otros).
- ❖ Herramientas y materiales adecuadas para las pruebas.
- ❖ Alta disponibilidad y abundancia de la especie.
- ❖ Adaptabilidad de los organismos de prueba a laboratorio y fácil manipulación de los mismos.
- ❖ Sujetos de prueba de importancia comercial.

Lo anterior se aplica para casi cualquier test de toxicidad en animales, aunque, existirá otros criterios más específicos que dependerán del sujeto elegido y el objetivo del test. Así, un test agudo como el CL_{50} tendrá sus propios requerimientos, que no variaran mucho de las líneas mencionadas.

Otro aspecto importante acerca de los bioensayos es la ética² en la investigación con animales de laboratorio; una tendencia que va en aumento en las investigaciones con seres vivos. Desde los años setenta hasta la actualidad se viene acrecentado la defensa de los animales a toda forma de pruebas que se hace sobre ellos, alegando que deben buscarse nuevos métodos y formas de experimentación; buscando reducir el sufrimiento y la muerte innecesaria (Rowan, 1983). Ante esta problemática, la moderna investigación en toxicología viene utilizando tres conceptos que pueden ser usados para cualquier tipo de pruebas con animales, estas son las tres R's: *reducir*, el número de animales; *refinar*, los métodos y formas de experimentación; y *reemplazar*, los animales por metodologías alternativas (Woolley, 2008).

2.1.2. CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL_{50})

También conocido como LD_{50} (siglas en inglés: Lethal Dose), es una forma de conocer cuán tóxico es una sustancia para un animal en particular. Una definición más precisa y simple es: el CL_{50} es la cantidad de una sustancia administrada en una dosis a un grupo de animales, que provoca la mortalidad del 50% de ellos. (Rowan, 1983).

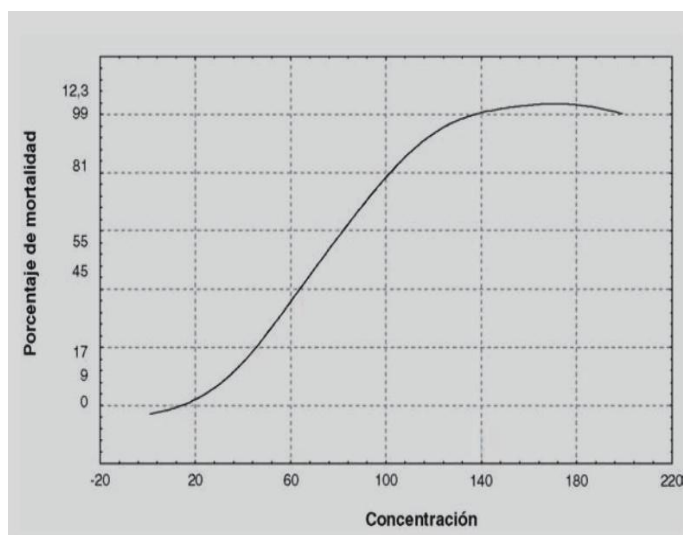
² Para ahondar en más detalle sobre el tema ver Pardo (2005) y Ofarrill, et al. (2010)

El CL_{50} es una herramienta útil para conocer la toxicidad de sustancias. Con ella se puede saber efecto que produce a un ecosistema; cuánto daño puede causar a la vida silvestre, un ejemplo de ello es el estudio de Villamarin, et al. (2013) en el que determina el CL_{50} de efluentes industriales en peces estuarinos (*Gambusia affinis*), demostrando que son letales en cortos periodos de tiempo. En el sector de la minería, Alves & Rietzler (2015), confirman el daño provocado por la toxicidad de arsenio a fauna edáfica en suelos de entornos mineros en Mina Gérias, Brasil. El conocimiento de LD_{50} también se extrapola al campo de los plaguicidas, como se lo ve en el trabajo de Pellanda, et al. (2015), en esta evalúa la toxicidad de un aceite esencial sobre ácaros, corroborando el efecto negativo de fecundidad de estas. Otro caso interesante es de Beltrán, et al. (2015), prueba que un extracto de raíces de una planta (*Heliopsis longipes*) puede usarse como plaguicida de 100% de efectividad sobre una plaga de importancia económica.

Otra forma de utilizar el dato de CL_{50} se la describe en Torre, et al. (2004), donde nos habla sobre métodos para clasificar sustancias tóxicas y calcular el riesgo ambiental que supondría la liberación de tóxicos al ambiente, todo a partir del valor de la concentración letal media de una sustancia en una especie en particular. En resumen la aplicabilidad del CL_{50} abarca temas como: investigación académica, toxicidad de insecticidas, evaluaciones toxico-ambientales, normas ambientales sobre tóxicos y otros.

En general cualquier sustancia es considerada como tóxica y entonces salta la cuestión: en qué cantidad puede ser dañino o a qué nivel es aceptable. La relación dosis-respuesta es la base para comprender a que niveles de exposición son seguras una sustancia (Phillip, et al., 2000). Y dicha relación es la variación de efectos producidos a diferentes dosis (Peña, et al., 2002). En nuestro caso el CL_{50} proviene de la relación de la mortalidad de individuos de grupos, cada uno de ellos expuestos a una diferente dosis de tóxico, de tal forma que la gráfica de mortalidad versus dosis tiene la siguiente forma:

Gráfico N° 1 - Curva de relación dosis respuesta



Fuente: Castillo (2004)

Del gráfico se puede apreciar que existe una relación en la mortalidad directamente proporcional al nivel de dosis aplicado; a mayor concentración de tóxico mayor es el porcentaje de muertes. La curva presenta una forma casi parabólica, muy frecuente en ensayos de mortalidad. Cuando se quiere encontrar una ecuación matemática de dicha curva, es necesario el uso de métodos estadísticos. Debido a las características propias en la que es generado este tipo de gráficos, y los fines para los que es estudiado, es frecuente el uso del método Probit.

2.1.3. MÉTODO PROBIT

El método Probit³ es una herramienta estadística que se usa en general para ensayos biológicos de mortalidad por tóxicos; es muy frecuente el manejo de este método en la determinación del CL_{50} . Este análisis es un tipo de regresión lineal que utiliza los datos de relación dosis-respuesta, y así poder analizarla con más facilidad.

³ La información sobre el método fue extractada de Alpha Raj (2010), Finney (1952) y Morales (2013).

Hallar el valor de CL_{50} requiere hacer del análisis Probit. Y para ello puede hacerse de dos maneras: haciendo un cálculo manual del mismo o usando un paquete informático.

Probit es la función cuantil asociada con la distribución normal estándar y es calculada por la siguiente integral:

$$P = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{Y-5} e^{-\frac{1}{2}u^2} du$$

Para los fines prácticos de un ensayo de mortalidad, los pasos a seguir para determinar el CL_{50} de a partir de datos de mortalidad a diferentes concentraciones son los siguientes.

En un bioensayo se cuenta con la siguiente información:

- Concentración de la sustancia o dosis (d).
- Número de individuos vivos (n).
- Número de organismos muertos o afectados (r).
- Porcentaje de efecto (p).

La relación dosis respuesta viene representada por una gráfica p vs d

Donde p el dada por la ecuación:

$$p = \frac{r}{n} * 100\%$$

Entonces se la transforma la curva a una forma lineal. Para ello, se aplica logaritmo a la dosis

$$X = \log(d)$$

y se transforma p en unidades Probit. Para la transformación a unidades Probit, se utiliza la inversa de la función de distribución normal.

De esa forma se obtiene las unidades Probit. Luego se suma 5

$$Y = Z + 5$$

Quedando al final dos variables Y y X. Cuya representación gráfica es de forma lineal

$$Y = a + bX$$

Donde a y b serán hallados por regresión lineal.

Entonces, si

$$Y = 5$$

Reemplazado en la ecuación lineal quedará

$$X = \frac{5 - a}{b} = \log(d)$$

d corresponderá a CL_{50} . Quedando:

$$CL_{50} = 10^{\frac{5-a}{b}}$$

Como se mencionó, en el tratamiento de datos generados por bioensayos pueden ser utilizados programas informáticos, cuya finalidad de los mismos es facilitar la tarea del investigador. Los programas pueden ser comerciales como de libre distribución, en la internet pueden encontrarse algunos libres como el de Alpha Raj, 2010, una hoja de cálculo programada para determinar CL_{50} y también existe el de Morales S., 2013.

2.2. DETERGENTES

Un detergente es producto sintético producido por un proceso de sulfonación cuya materia prima es el lineal alquil benceno, hidróxido de sodio y otros compuestos químicos, que le dan características especiales como el aroma, biodegradabilidad y otros. Tienen la función principal de disminuir la tensión superficial del agua (Zago & Del Pino, 2001). En general todos detergentes cumplen la tarea de limpieza de objetos como la ropa, y la forma en que lo hacen es reduciendo la tensión que naturalmente posee el agua, dejando así fluir el agua con mucha más facilidad,

logrando quitar la suciedad. Vienen en diferentes presentaciones, líquido, pastilla y en polvo, esta última la más utilizada.

2.2.1. CLASIFICACIÓN

Los detergentes tienen una variada clasificación acorde a su aplicación, pero de acuerdo a su estructura molecular o más precisamente a su forma de disociarse en el agua, se clasifica en: surfactantes aniónicos, básicamente son sales de sodio de ácidos grasos, son los detergentes en polvo comunes para lavar ropa; surfactantes noiónicos, como su nombre lo indica no se ioniza en agua; y, surfactantes catiónicos, compuestos nitrogenados, de costo alto en su producción (Salager, 2002). Conviene subrayar que, si la clasificación anterior es importante, es más importante resaltar la clasificación de acuerdo al impacto que producen al medio ambiente, en ese entendido podemos clasificarlos como: detergentes biodegradables y no biodegradables.

La biodegradabilidad es la susceptibilidad o una sustancia química de ser descompuesta por microorganismos (Incotec, 2011). Los detergentes biodegradables tienen una mayor capacidad de biodegradar a diferencia de los comunes, esto lo hace más amigable con el medio ambiente. Los primeros detergentes que se usaron presentaban ese problema, luego con en las últimas décadas se mejoró la formulación química llegando a ser mucho más biodegradables que sus antecesores (Zago & Del Pino, 2001). Esa mejora fue gracias a las leyes que surgieron en 1965 en Estados Unidos y Europa, que prohibían el uso de componente químicos contaminantes e incentivar el uso compuestos biodegradables.

Ramirez (2006), muestra que un detergente biodegradable es aquel de formulación basada en sulfonatos de alquil lineales, lo que lo hace digerible para las bacterias en cuerpos de agua; y los no biodegradables son aquellos que tienen como agente el sulfonato de alquibenceno (cadenas ramificadas). Los detergentes no biodegradables por otro lado tienen características similares pero diferentes a los que sí lo son, son en general derivados de petróleo, más económicos, de mayor cantidad en porcentaje de fosfatos.

2.2.2. EFECTOS AL MEDIO AMBIENTE

Al ser los detergentes de amplio uso y de fácil acceso, lo que los convierte en uno de los principales contaminantes del agua. Y su principal vía de desecho a cuerpos de agua son por las alcantarillas, debido al masivo consumo de estos por casi cualquier persona. En este entendido los detergentes son un contaminante de consideración, y los efectos que ocasionan al medio ambiente son de relevancia, tanto que existen estudios al respecto. Los impactos que causan son: eutrofización, toxicidad a ecosistemas y formación de espumas.

La toxicidad a ecosistemas es provocada por la falta o la escasa biodegradabilidad que presentan los detergentes. Pérez & Roldán (1978), encontraron que en los ríos donde las concentraciones de estos químicos son mayores la biodiversidad es mucho menor. Si bien existen aquellos que son biodegradables, Alvarez & Medina (1999) muestran que aun así los efectos negativos son de consideración en moluscos, porque causan problemas de respiración. Por otra parte, cabe la posibilidad de que el daño a ecosistemas por toxicidad de los componentes de un detergente sea mayor por uno de ellos y menor de otros. Sin embargo, UC-Peraza & Delegado-Blass (2012) afirman que toxicidad es mayor en el detergente en conjunto que la acción aislada de un componente. En consecuencia, de cualquier forma, la fauna acuática si es afectada por la toxicidad de los detergentes, algunos organismos más que otros, porque la respuesta de cada especie y ecosistema es diferente que en otro. Si no se cuenta con los datos necesarios como parámetros físicos, químicos, biológicos, procesos bioquímicos y otros no es posible tener un entero entendimiento del efecto que producen los detergentes (Cserhádi, 2002)

La eutrofización por otra parte es el incremento y enriquecimiento de nutrientes en cuerpos de agua (Mihelci & Beth, 2012), y los detergentes juegan un papel importante en ella. Las aguas residuales domésticas e industriales contienen gran cantidad de nutrientes por la presencia de toda clase de materia orgánica e inorgánica, entre una de ellas, los detergentes. Los ríos y lagos que reciben aguas residuales son muy proclives a desarrollar

eutrofización debido a la presencia de compuestos secundarios de detergentes en base a fosforo, cuyos compuestos del mismo son en esencia los principales nutrientes que disparan el desarrollo de las algas (da Silva & Bilk, 2005).

Figura N° 1 - Agua con eutrofización



Fuente: obtenido en www.iagua.es

Finalmente, en relación a la generación de espuma, es también una consecuencia negativa causado por descargas de aguas residuales con detergentes. Ramirez (2006) muestra que la espuma que se produce impide la aireación normal del agua, provocando dificultad en los procesos en plantas de tratamiento de aguas.

Figura N° 2 - Aguas residuales con espuma



Fuente: obtenido en www.iagua.es

2.2.3. DETERGENTES EN BOLIVIA

A nivel mundial Estados Unidos, Europa, Japón representan los primeros lugares en producción y venta de detergentes de acuerdo al artículo de Culshaw F. (agosto 2018), así mismo los mayores consumidores de la región son Brasil, México, Argentina y Colombia. En definitiva, el consumo de detergentes a lo largo y ancho del planeta es abismal, porque ya en 1980 la producción mundial era aproximadamente de 25 millones de toneladas (Salager, 2002). En contraste, en el panorama nacional el consumo de detergente actual es de 32 kilos anual por familia en promedio: algo así como 80000 toneladas/año, según el reporte de Ibargüen (octubre 2018).

2.3. TRUCHA ARCOÍRIS

2.3.1. HABITAT

*Oncorhynchus mykiss*⁴ o también conocido como trucha arcoíris o simplemente trucha, es una especie de pez resistente a variados tipos de ambientes, pudiendo ocupar diferentes hábitats como ríos y lagos. Esta especie puede tolerar rango de temperatura de 0 a 27 °C, pero el óptimo para su desarrollo es de 21°C. La maduración es influenciada por la disponibilidad de comida y la temperatura, un trucha llega a madurar a los 3 a 4 años y

⁴ Hábitat de la especie, Información extractada de CAB International (noviembre 2018)

puede llegar a vivir hasta 11 años. Se alimentan de crustáceos, larvas de insectos, otros invertebrados acuáticos y algas.

El árbol taxonómico:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Clase: Actinopterygii

Orden: Salmoniformes

Familia: Salmonidae

Género: *Oncorhynchus*

Especie: *Oncorhynchus mykiss*

2.3.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Sus características⁵ físicas varían según la edad, sexo y hábitat. Pero en general son de cuerpo alargado, liso y esbelto, color plateado azulado con manchas pequeñas grises, oscura en el dorso y el vientre casi blanco. Usualmente llegan a medir de 30 a 40 cm en promedio.

Figura N° 3 - Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)



Fuente: Obtenido en www.pixabay.com

⁵ Información extractada de FAO (enero 2006)

2.3.3. REPRODUCCIÓN

La reproducción⁶ de esta especie, la hembra se une al macho en posición paralela para la copula. En el desove los huevos están cubiertos de una nube blanquecina. Las hembras pueden llegar a producir 2000 huevos por kilogramo de peso. El diámetro de los huevos va desde los 3 a 7 mm. El desove sucede en los meses de primavera; entre agosto y octubre.

En acuicultura, las truchas no desovan naturalmente en piscifactorías, es este caso se lo hace de forma artificial, usando huevos de una prole seleccionado de alta calidad. En general se usan un macho y tres hembras para generar los huevos, a los cuales se los trata con iodo para evitarles cualquier enfermedad. Para la obtención de los huevos, se presiona el vientre de la hembra para su expulsión; también existe instrumental que inserta aire a presión en la cavidad del pez para expeler todos los huevos. Los huevos son incubados en recipientes especiales, por las que pasa un flujo constante de agua, el cual debe estar a 8 a 10 °C. La eclosión se da en 10 a 20 días, aunque depende mucho de la temperatura.

Luego de la eclosión se mantiene a los alevines en reposo por unos 30 días antes de recibir alimento, después de ese periodo se empieza a dar alimento en varias veces al día. Después se inicia el acondicionamiento y aclimatación, para el desarrollo óptimo de los peces, en ocasiones es necesario la clasificación por tamaño, porque unos se desarrollan mejor que otros. Al final pasaran alrededor de 6 a 10 meses para esta listos para consumo.

2.3.4. IMPORTANCIA ECONÓMICA

La industria pesquera y acuicultura actualmente produce alrededor de 171 millones de toneladas a nivel global (Terram, 2019). El consumo per cápita mundial ha aumentado de 9,9 kg en la década de 1960 a 19,7 kg en 2013, con estimaciones de que seguirá aumentando (FAO, 2018). En Latinoamérica el consumo per cápita actual de pescado es de 9,8 kg anual, pero se prevé que aumente en los próximos años (Noticias ONU, julio 2018). En ese

⁶ Información extractada de Ridolfi, K. (enero 2014)

entendido, no cabe duda de que el comercio de peces representa una fuente significativa de ingresos económicos, empleo, seguridad alimentaria y nutrición.

En 2015 la producción de trucha mundial fue de 759 mil Toneladas, con perspectivas de seguir creciendo (PromPeru, 2018). Los principales países productores de trucha son Turquía, Chile, Noruega e Irán (Portafolio, marzo 2014) En la región los mayores productores de este pez son Chile, Perú y Colombia (Portafolio, marzo 2014). En definitiva, es claro la importancia económica de la acuicultura de trucha en la región. En nuestro país el consumo de peces y mariscos es muy pequeña comparada con los países vecinos, no obstante, la tendencia es de aumento, prueba de ello el valor de compras subió de \$ 8 millones en 2013 a \$ 12 millones en 2017, según el reporte (Villa, M., mayo 2018)



CAPITULO 3

3. METODOLOGÍA

El presente proyecto de grado se realizó en el Centro Piscícola de Tiquina⁷, ubicado en la localidad de Tiquina, departamento de La Paz. El periodo de realización fue de diciembre de 2018 a marzo de 2019.

3.1. PRIMER OBJETIVO

El primer objetivo: Determinar la sensibilidad de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante pruebas preliminares. Para el cumplimiento de este objetivo se realizó los siguientes procedimientos.

1) ACONDICIONAMIENTO DE ESTANQUES

El espacio utilizado fue un ambiente, de dimensiones: 10x11 metros, con la instalación de acuarios de 57x90x145 centímetros (ver anexo 6, fotografía N° 2). Se hizo las diligencias necesarias para acondicionar este ambiente, así mismo se armó el sistema aireador para abastecer de oxígeno a los alevines durante las pruebas.

2) ACONDICIONAMIENTO FÍSICO-QUÍMICAS DEL MEDIO ACUÁTICO

Con el fin de verificar un ambiente óptimo para los peces, se hizo la medición de: temperatura, oxígeno disuelto y PH del agua en los acuarios antes de poner los alevines en contacto con este. Se verificó que el agua de todos los acuarios a utilizar cumpliera con las mismas condiciones. Se instaló un motor aireador por cada acuario para mantener la oxigenación del agua. Las mediciones eran de similar magnitud por lo que en la siguiente tabla se muestra sus valores promedios:

Tabla N° 1 - Mediciones de agua en acuarios sin detergente

Temperatura promedio de ambiente [°C]	11,1
Temperatura promedio de agua de acuario [°C]	13,2
PH promedio	8,2
Oxígeno disuelto promedio [mg/L]	6,3

Fuente: elaboración propia

⁷ Para conocer más detalles del Centro Piscícola de Tiquina, ver anexo 3.

3) OBTENCIÓN Y SELECCIÓN DE ALEVINES DE TRUCHA

La obtención de alevines de trucha fue en la misma institución. Se utilizó baldes especiales para el traslado de los alevines desde las jaulas (ver anexo 6) hasta los acuarios. Se utilizaron 50 alevines para este primer objetivo, procurando que todos fueran sanos y de igual constitución física.

4) CARACTERIZACIÓN DE LOS ALEVINES

Se hizo la medición del tamaño y el peso de un alevín representativo, así como la descripción física (ver anexo 6, fotografías 15, 16 y 17). Las mediciones se muestran en la siguiente tabla:

Tabla N° 2 - Características de alevín

Longitud promedio [cm]	7,8
Ancho promedio [cm]	1,5
Altura promedio [cm]	2,5
Peso promedio [gr]	10
Edad [meses]	3
Color	Lomo plateado, vientre blanquecino, aletas oscura con pigmentación amarilla

Fuente: elaboración propia

5) ACLIMATACIÓN DE LOS ALEVINES

Se ingresaron los 50 alevines en cinco acuarios: 10 por cada acuario. Dejándolos unas horas para monitorear la reacción de los mismos. No hubo anomalía en el comportamiento, ni se observó posibilidad de muerte.

6) PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Se utilizaron cinco acuarios, el primero como blanco⁸ y los cuatro restantes para prueba, se prepararon 4 soluciones concentradas de detergente en agua en 500 mL:

⁸ Se entiende como blanco a la concentración que no tiene detergente. Es decir, solo es agua sin detergente.

una a 0,2 gr/L , la segunda a 2 gr/L, la tercera a 10 gr/L y la cuarta a 20 gr/L . De tal forma que, al incluir las cuatro soluciones a sus respectivos acuarios, formaron por dilución a 100 L las siguientes concentraciones: 1mg/L, 10 mg/L y 15 mg/L, 20 mg/L. Ver la siguiente tabla resumen.

Tabla N° 3 - Concentraciones de detergente para cada acuario en prueba preliminar

Acuario	Número de alevines en el acuario	Concentración de detergente en el acuario [mg/L]
1er acuario	10	Blanco
2do acuario	10	1
3er acuario	10	10
4to acuario	10	15
5to acuario	10	20

Fuente: elaboración propia

7) OBSERVACIÓN Y TOMA DE DATOS

Se procedió al registro de muertes de los alevines luego de un tiempo de exposición de 48 horas. Con lo realizado se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla N° 4 - Conteo de muertes en prueba preliminar

Acuario	Número de muertes
1er acuario	0
2do acuario	1
3er acuario	6
4to acuario	10
5to acuario	10

Fuente: elaboración propia

Haciendo una estimación con los datos obtenidos, la concentración letal media puede ubicarse alrededor de la concentración del 3er acuario: a 10 mg/L. En vista de ello el rango de concentración a trabajarse fue de : 1 mg/L , 10 mg/L, 15 mg/L y 20 mg/L .

3.2. SEGUNDO, TERCER Y CUARTO OBJETIVO

El segundo objetivo, determinar la concentración letal media CL_{50} del detergente doméstico 1 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*); el tercer objetivo, determinar la concentración letal media CL_{50} del detergente doméstico 2 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*); el cuarto objetivo, determinar la concentración letal media CL_{50} del detergente doméstico 3 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Al ser los tres objetivos iguales en metodología, pero diferente en el uso de detergente, los procedimientos utilizados son los mismos para cada detergente, no obstante, la variación se ve en los resultados obtenidos. A continuación, se explica el procedimiento usado.

1) PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Con el rango de concentración hallado, se pasó a la preparación de soluciones concentradas, para luego obtener las concentraciones deseadas por dilución en los acuarios. Se utilizaron 15 acuarios; tres réplicas por concentración. Ver la siguiente tabla:

Tabla N° 5 - Concentración de detergente en acuario para cada réplica

	Acuario	Número de alevines en el acuario	Concentración de detergente en el acuario [mg/L]
1ra réplica	1er acuario	10	Blanco
	2do acuario	10	Blanco
	3er acuario	10	Blanco
2da réplica	1er acuario	10	1
	2do acuario	10	1
	3er acuario	10	1
3ra réplica	1er acuario	10	10
	2do acuario	10	10
	3er acuario	10	10
4ta réplica	1er acuario	10	15
	2do acuario	10	15
	3er acuario	10	15
5ta réplica	1er acuario	10	20
	2do acuario	10	20
	3er acuario	10	20

Fuente: elaboración propia

2) TRANSFERENCIA DE LOS ALEVINES

Se verificó que el agua de cada acuario cumpla uniformidad en los parámetros físico-químicos, ver tabla la siguiente tabla de mediciones:

Tabla N° 6 - Mediciones de agua de acuarios antes de pruebas definitivas

Temperatura promedio de ambiente [°C]	11,1
Temperatura promedio de agua de acuario [°C]	13,2
PH promedio	8,2
Oxígeno disuelto promedio [mg/L]	6,3

Fuente: elaboración propia

Después, se procedió al contacto de los alevines con las soluciones de detergente.

3) TOMA DE DATOS Y MONITOREO DE LA MORTALIDAD

Luego del contacto de los alevines con los detergentes, se ha monitoreado durante 48 horas, en los cuales se ha registrado las muertes de cada acuario. Para ver la mortalidad de cada acuario ir a la sección 4. Resultado.

4) EVALUACIÓN DE RESULTADOS

No hubo ninguna anomalía en los resultados de mortalidad, con lo que no hubo necesidad de repetir la experimentación.

5) ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

En cuanto a los cálculos de estadísticos con la data obtenida, se empleó la hoja de cálculo: Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis, para la determinación del CL 50. Paralelamente se recurrió a las herramientas estadísticas de Microsoft Excel para el cálculo de Anova. La metodología de uso de los dos anteriores se puede ver en los anexos 1 y 2. Los resultados del análisis estadístico pueden verse en la sección 4. Resultado.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DE PRIMER DETERGENTE

El recuento de las muertes en consonancia con las concentraciones de las disoluciones para el primer detergente usado fue el siguiente:

Tabla N° 7 - Mortalidad de primer detergente

	Acuario	Número de alevines en el acuario	Concentración de detergente en el acuario [mg/L]	Número de muertes	Mortalidad promedio
1ra réplica	1er acuario	10	Blanco	0	0,0
	2do acuario	10	Blanco	0	
	3er acuario	10	Blanco	0	
2da réplica	1er acuario	10	1	0	1,0
	2do acuario	10	1	2	
	3er acuario	10	1	1	
3ra réplica	1er acuario	10	10	5	5,3
	2do acuario	10	10	6	
	3er acuario	10	10	5	
4ta réplica	1er acuario	10	15	9	9,7
	2do acuario	10	15	10	
	3er acuario	10	15	10	
5ta réplica	1er acuario	10	20	10	10,0
	2do acuario	10	20	10	
	3er acuario	10	20	10	

Fuente: elaboración propia

La siguiente tabla resume muestra el porcentaje de mortalidad a las diferentes concentraciones.

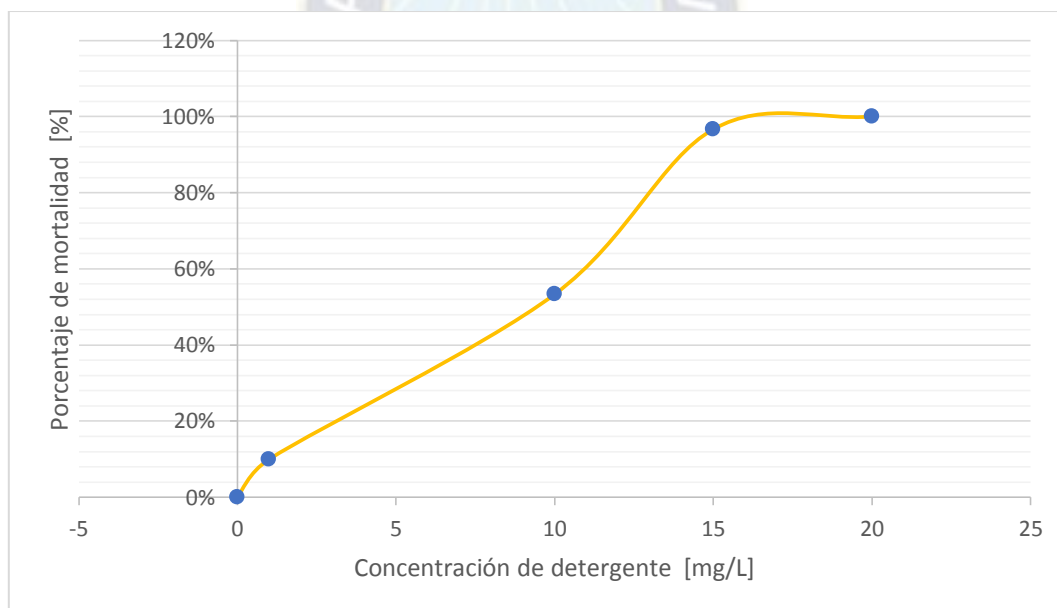
Tabla N° 8 - Resumen de mortalidad de primer detergente

concentración [mg/L]	Mortalidad	Porcentaje de mortalidad
0	0,0	0%
1	1,0	10%
10	5,3	53%
15	9,7	97%
20	10,0	100%

Fuente: elaboración propia

Con la anterior tabla se elabora la curva de dosis respuesta

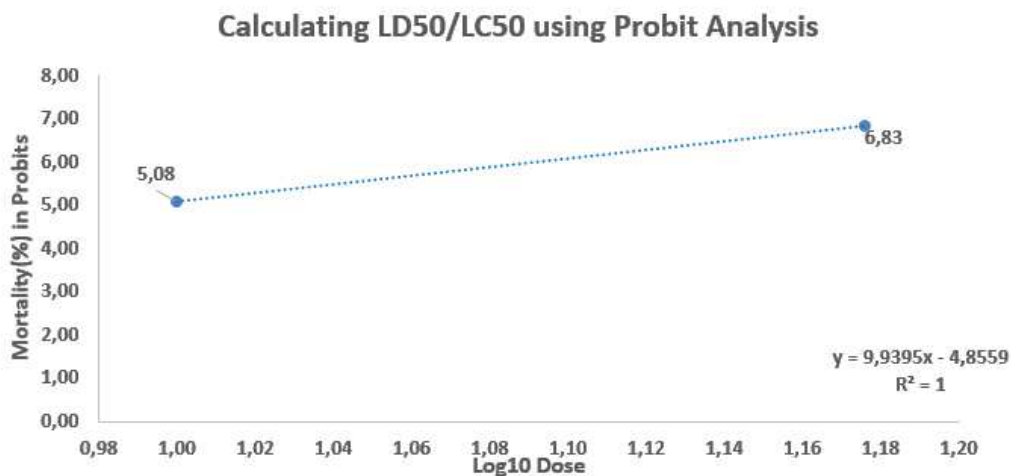
Gráfico N° 2 - Curva de relación dosis-respuesta de primer detergente



Fuente: elaboración propia

El siguiente gráfico presenta la regresión lineal producto del análisis PROBIT, empleando el programa: Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis.

Gráfico N° 3 - Regresión lineal de primer detergente



Fuente: obtenido de la hoja de cálculo *Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis*

El CL₅₀ (48 horas) conseguido para el primer detergente fue de:

$$CL_{50} = 4,8 \text{ mg/L}$$

Por último el análisis ANOVA, utilizando como datos de ingreso la tabla resumen de mortalidad a continuación.

Tabla N° 9 - Datos de ingreso de primer detergente para ANOVA

	Tratamientos				
	Mortalidad para la concentración 0 mg/L	Mortalidad para la concentración 1 mg/L	Mortalidad para la concentración 10 mg/L	Mortalidad para la concentración 15 mg/L	Mortalidad para la concentración 20 mg/L
Observaciones	0	0	5	9	10
	0	2	6	10	10
	0	1	5	10	10

Fuente: elaboración propia

Tabla N° 10 - Análisis de varianza de primer detergente

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	173,4	4	43,35	216,75	8,678E-06	5,19216777
Dentro de los grupos	1	5	0,2			
Total	174,4	9				

Fuente: Herramientas Estadísticas de Microsoft Excel

4.2. RESULTADOS DE SEGUNDO DETERGENTE

El recuento de las muertes en consonancia con las concentraciones de las disoluciones para el 2do detergente usado fue el siguiente:



Tabla N° 11 - Mortalidad de segundo detergente

	Acuario	Número de alevines en el acuario	Concentración de detergente en el acuario [mg/L]	Número de muertes	Mortalidad promedio
1ra réplica	1er acuario	10	Blanco	0	0,0
	2do acuario	10	Blanco	0	
	3er acuario	10	Blanco	0	
2da réplica	1er acuario	10	1	0	0,7
	2do acuario	10	1	1	
	3er acuario	10	1	1	
3ra réplica	1er acuario	10	10	2	2,7
	2do acuario	10	10	3	
	3er acuario	10	10	3	
4ta réplica	1er acuario	10	15	5	4,7
	2do acuario	10	15	5	
	3er acuario	10	15	4	
5ta réplica	1er acuario	10	20	7	6,7
	2do acuario	10	20	7	
	3er acuario	10	20	6	

Fuente: elaboración propia

La siguiente tabla muestra el porcentaje de mortalidad a las diferentes concentraciones.

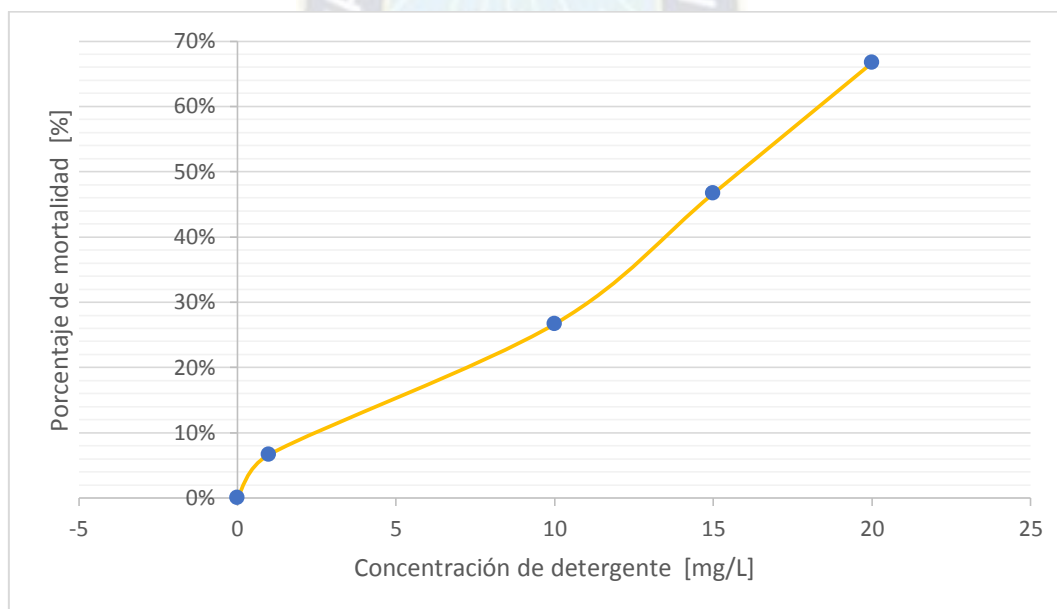
Tabla N° 12 - Resumen de mortalidad segundo detergente

concentración [mg/L]	Mortalidad	Porcentaje de mortalidad
0	0,0	0%
1	0,7	7%
10	2,7	27%
15	4,7	47%
20	6,7	67%

Fuente: elaboración propia

Con la anterior tabla se elabora la curva de dosis respuesta

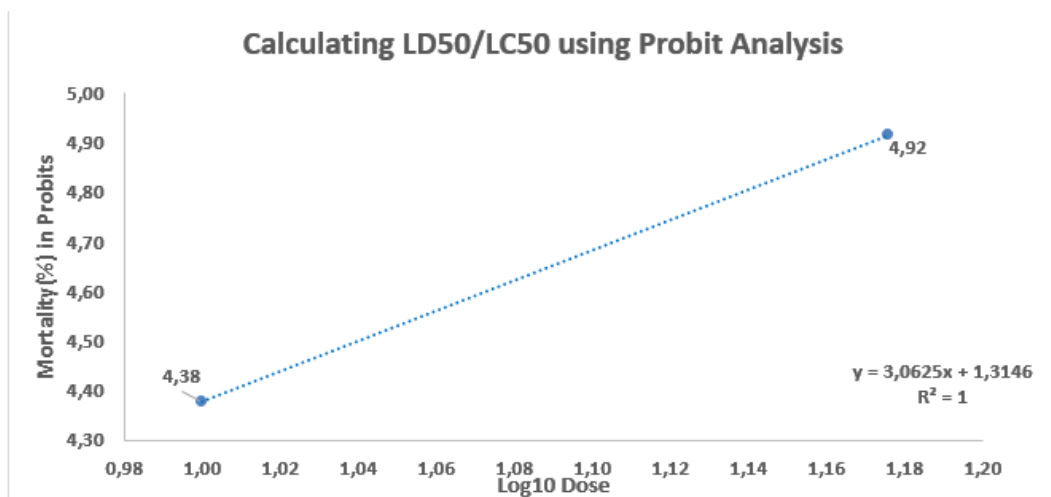
Gráfico N° 4 - Curva de relación dosis-respuesta de segundo detergente



Fuente: elaboración propia

El siguiente gráfico presenta la regresión lineal producto del análisis PROBIT, empleando el programa: Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis.

Gráfico N° 5 - Regresión lineal de segundo detergente



Fuente: obtenido de la hoja de cálculo *Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis*

El CL₅₀ (48 horas) conseguido para el 2do detergente fue de:

$$CL_{50} = 16,1 \text{ mg/L}$$

Por último el análisis ANOVA, utilizando como datos de ingreso la tabla resumen de mortalidad a continuación.

Tabla N° 13 - Datos de ingreso de segundo detergente para ANOVA

	Tratamientos				
	Mortalidad para la concentración 0 mg/L	Mortalidad para la concentración 1 mg/L	Mortalidad para la concentración 10 mg/L	Mortalidad para la concentración 15 mg/L	Mortalidad para la concentración 20 mg/L
Observaciones	0	0	2	5	7
	0	1	3	5	7
	0	1	3	4	6

Fuente: elaboración propia

Tabla N° 14 - Análisis de varianza de segundo detergente

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	55	4	13,75	68,75	0,00014724	5,19216777
Dentro de los grupos	1	5	0,2			
Total	56	9				

Fuente: Herramientas Estadísticas de Microsoft Excel

4.3. RESULTADOS DE TERCER DETERGENTE

El recuento de las muertes en consonancia con las concentraciones de las disoluciones para el 3er detergente usado fue el siguiente:

Tabla N° 15 - Mortalidad de tercer detergente

	Acuario	Número de alevines en el acuario	Concentración de detergente en el acuario [mg/L]	Número de muertes	Mortalidad promedio
1ra réplica	1er acuario	10	Blanco	0	0,0
	2do acuario	10	Blanco	0	
	3er acuario	10	Blanco	0	
2da réplica	1er acuario	10	1	0	0,0
	2do acuario	10	1	0	
	3er acuario	10	1	0	
3ra réplica	1er acuario	10	10	1	1,3
	2do acuario	10	10	2	
	3er acuario	10	10	1	
4ta réplica	1er acuario	10	15	3	3,3
	2do acuario	10	15	3	
	3er acuario	10	15	4	
5ta réplica	1er acuario	10	20	5	5,3
	2do acuario	10	20	5	
	3er acuario	10	20	6	

Fuente: elaboración propia

La siguiente tabla muestra el porcentaje de mortalidad a las diferentes concentraciones.

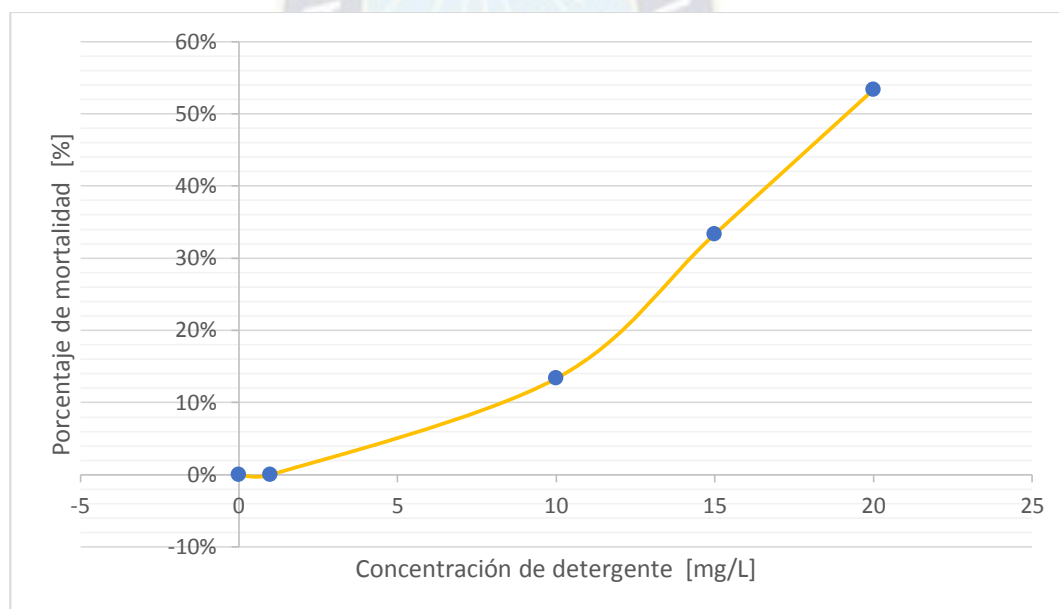
Tabla N° 16 - Resumen de mortalidad tercer detergente

concentración [mg/L]	Mortalidad	Porcentaje de mortalidad
0	0,0	0%
1	0,0	0%
10	1,3	13%
15	3,3	33%
20	5,3	53%

Fuente: elaboración propia

Con la anterior tabla se elabora la curva de dosis respuesta

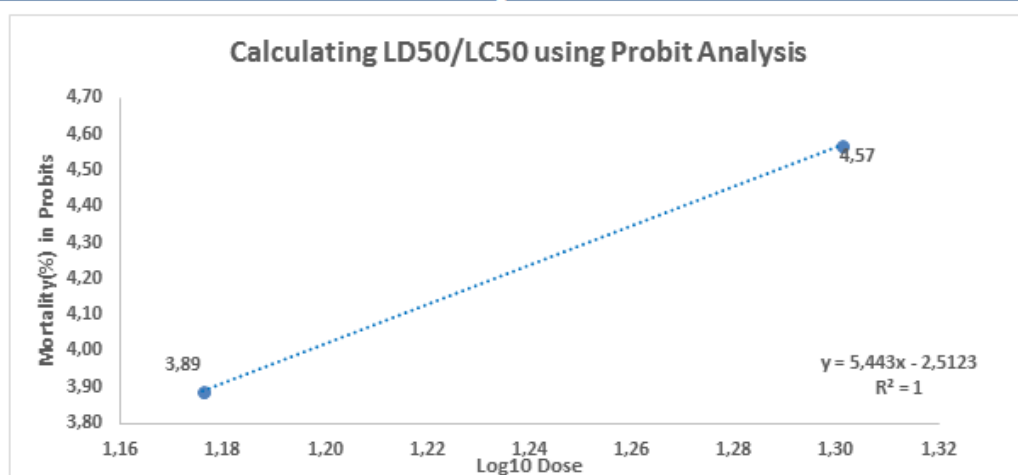
Gráfico N° 6 - Curva de relación dosis-respuesta de tercer detergente



Fuente: elaboración propia

El siguiente gráfico presenta la regresión lineal producto del análisis PROBIT, empleando el programa: Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis.

Gráfico N° 7 - Regresión lineal de tercer detergente



Fuente: obtenido de la hoja de cálculo *Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis*

El CL₅₀ (48 horas) conseguido para el 3er detergente fue de:

$$CL_{50} = 23,9 \text{ mg/L}$$

Por último el análisis ANOVA, utilizando como datos de ingreso la tabla resumen de mortalidad a continuación.

Tabla N° 17 - Datos de ingreso de segundo detergente para ANOVA

	Tratamientos				
	Mortalidad para la concentración 0 mg/L	Mortalidad para la concentración 1 mg/L	Mortalidad para la concentración 10 mg/L	Mortalidad para la concentración 15 mg/L	Mortalidad para la concentración 20 mg/L
Observaciones	0	0	1	3	5
	0	0	2	3	5
	0	0	1	4	6

Fuente: elaboración propia

Tabla N° 18 - Análisis de varianza de tercer detergente

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	45,4	4	11,35	37,83333333	0,00062564	5,19216777
Dentro de los grupos	1,5	5	0,3			
Total	46,9	9				

Fuente: Herramientas Estadísticas de Microsoft Excel

4.4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis ANOVA refleja que tan significativo son los efectos de distintos tratamientos a una unidad experimental, vale decir, en el contexto del objetivo principal del presente trabajo: que tan significativo son los efectos a distintas concentraciones de detergente a grupos de peces de igual especie. Con el ANOVA se puede conocer si una concentración de detergente tiene o no el mismo efecto que otra concentración de detergente; saber si provoca la misma mortalidad o no. Conforme con los datos de F(critico) y F(calculado) se puede inferir si hay diferencia entre las respuestas de los alevines a las diferentes concentraciones. En la siguiente tabla se lo resume.

Tabla N° 19 - Resumen ANOVA de los tres detergentes

Detergente	F(crítico)	F(Calculado)	¿ F(crítico) mayor F(calculado) ?	Inferencia
Primer detergente	216,75	5,19	Si	Existe diferencia entre las respuestas a las distintas concentraciones
Segundo detergente	68,75	5,19	Si	Existe diferencia entre las respuestas a las distintas concentraciones
Tercer detergente	37,83	5,19	Si	Existe diferencia entre las respuestas a las distintas concentraciones

Fuente: elaboración propia

Con respecto a las concentraciones letales medias halladas, se hizo paralelamente una comparación de resultados con otra hoja de cálculo, se usó la de Morales⁹ (2013), con el propósito de verificar y comparar los resultados; conocer si varía el resultado usando otro paquete informático. Los resultados son casi iguales, lo que confirma que independientemente del software que se use los resultados no deben variar. Sin embargo, la razón por la que no coinciden los valores puede deberse a la

⁹ La hoja de cálculo que se menciona es similar al de Alpha (2010). Es una hoja de cálculo didáctica para determinar la concentración de CL₅₀. Puede verse como usarlo en el Anexo N°3

rigurosidad de programación de las hojas de cálculo. Ver la siguiente tabla comparativa de resultados.

Tabla N° 20 - Comparativa de CL_{50} por software

Detergente	Programa	
	Alpha Raj	Morales S.
Primer	4,8	4,5
Segundo	16,1	16,1
Tercer	23,9	22,9

Fuente: elaboración propia

Se pudo colectar investigaciones más relacionadas con el tema del presente proyecto, y estos muestran resultados similares a los de la tabla anterior. Iannacone & Alvaríño (2002), determinaron los DL50 de un detergente doméstico en tres diferentes especies de caracoles, los cuales son: 201, 71 y 82 mg/L. Otra investigación que también usaron al caracol como organismo de prueba fue la de Insua, D. et al. (2010) en la que las dosis letales medias eran de 45, 108, 195 y 263 mg/L, para cuatro diferentes detergentes. En la investigación de UC-Peraza & Delegado-Blass (2012), empleó a *Laeonereis culveri* (un anélido) donde se obtuvo 12, 13, 13 y 14 mg/L como DL50 de cuatro diferentes detergentes. Y por último Castiglioni & Collins (2010) determinó el CL_{50} de un detergente en un crustáceo de agua dulce, *Daphnia magna*, cuyo valor era equivalente a 1 mg/L. Es de notar que, si bien las investigaciones anteriores usan un organismo diferente a la trucha arcoíris, los valores de CL_{50} son próximos a los encontrados para la trucha; los valores se encuentran en un rango de 1 a 300 mg/L, haciendo énfasis en la unidad que tienen. Es decir, se podría aseverar de cierta manera que especies acuáticas como caracoles, anélidos y truchas presentan un CL_{50} de detergente casi análogos.

La toxicidad de los detergentes en especies acuáticas dependerá mucho de aspectos como su composición química, dosis, tiempo, vía de exposición, condiciones ambientales, etc. Por ejemplo, se ha comprobado que detergentes no fosfatados

pueden tener un impacto ambiental mayor que aquellos que si (Castro, 2012). Otro ejemplo es el de Ríos (2014), en el que comprueba que la biodegradabilidad es más significativa a menores concentraciones, lo que haría que un detergente provoque menor toxicidad. La información de los detergentes usados en este trabajo (ver anexo 5) junto con los CL_{50} de los mismos, nos evidencia dos datos importantes: el primer detergente con la mayor toxicidad de los tres (CL_{50} 4,8) es biodegradable, según la leyenda de su envoltura, el segundo dato importante es que el tercer detergente con la menor toxicidad de los tres (CL_{50} 23,9) no presenta ninguna información ambiental como la biodegradabilidad. Existen normativas ambientales como el caso de Colombia, en el que se establece una serie de procedimientos y requisitos para que un detergente posea un sello ambiental (Incontec, 2011), lo que haría más fácil la identificación de un detergente amigable para el medio ambiente, porque las frases, etiquetas, eslóganes y otros sobre detergentes ecológicos y/o biodegradables pueden ser solamente una estrategia comercial (Terra, febrero 2013).



CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- ❖ Las pruebas preliminares dieron un óptimo resultado. Se obtuvo el rango ideal de concentraciones para trabajar para las pruebas definitivas. Dicho rango fue de 0, 1, 10, 15 y 20 mg/L
- ❖ El CL_{50} determinado del primer detergente en alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) tiene el valor 4,8 [miligramos de detergente / litro de agua]
- ❖ El CL_{50} determinado del segundo detergente en alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) tiene el valor 16,1 [miligramos de detergente / litro de agua]
- ❖ El CL_{50} determinado del tercer detergente en alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) tiene el valor 23,9 [miligramos de detergente / litro de agua]
- ❖ El primer detergente demostró ser más tóxico de los tres usados, debido a su valor inferior de concentración.
- ❖ El tercer detergente es el menos dañino de los tres usados, los alevines de trucha pueden sobrevivir a una mayor dosis en comparación del primer y segundo detergente.
- ❖ La diferenciación de toxicidad de los detergentes demuestra que existe aquellos que son menos y más dañinos a la biota. Pero, se debe notar que la unidad de los CL_{50} hallados se encuentra en miligramos por litro y se encuentran entre 1 y 25 mg/L, valores pequeños para agentes de limpieza de uso cotidiano. Lo que lleva a concluir que aún hay mejoras por hacer en la elaboración de estos, con el fin de disminuir aún más su toxicidad.
- ❖ En el análisis ANOVA se vio que para todos los detergentes las respuestas de los alevines a las concentraciones de detergentes sometidas, son

diferentes. En consecuencia, el uso y los resultados de esta herramienta estadística respalda los datos obtenidos del presente trabajo.

- ❖ La necesidad de uso de agentes de limpieza es inevitable. Pero no por eso el uso de detergentes debe ser indiscriminado, debe hacerse de forma moderada, y en lo posible utilizar aquellos de formulaciones de rápida biodegradabilidad.
- ❖ De acuerdo al contraste de información sobre CL_{50} de la trucha arcoíris y otras especies acuáticas, como caracoles, crustáceos y anélidos, puede afirmarse que la concentración letal media de estos se encuentra alrededor de 300 mg/L.

5.2. RECOMENDACIONES

- ❖ La nueva tendencia en investigación con animales utiliza las tres R's (ver sección 2.1.1), se sugiere usar estos principios éticos, de respeto hacia la vida cuando se utilice organismos para experimentación.
- ❖ Debe procurarse en todo momento seguir las mismas condiciones físico-químicas para no alterar de sobremanera los resultados.
- ❖ En bioensayos todos los animales a utilizarse deben ser iguales entre sí, es decir deben de tener las mismas características físicas; todos deben estar en igualdad de condiciones.
- ❖ El presente trabajo empleo detergentes más populares y de mayor consumo en el mercado nacional. En investigaciones de similar perfil se sugiere el uso de detergentes de mayor demanda y distribución.
- ❖ El manejo de alevines de trucha requiere de mucho cuidado y condiciones adecuadas. Es recomendable emular las condiciones de crianza o mejorarlas cuando se quiera realizar bioensayos con estos animales.
- ❖ En el mercado existen una gran variedad de detergentes para el uso doméstico. Se recomienda elegir aquellos que sean más biodegradables y amigables para el medio ambiente.
- ❖ Determinar el impacto ambiental de detergentes requiere de estudios holísticos e integrales. Las pruebas experimentales son la mejor forma de conocerlos, para identificar productos de limpieza que pueden ser dañinos para el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Aarne, P., Morgan, S., & Heine, L. (2010). Introduction to Environmental Engineering (3rd ed., pp. 342-400). Stamford, USA: Cengage Learning
- ABI (junio 2018). Prevén construir plantas de tratamiento de aguas residuales para descontaminar el Titicaca. La Razón. Recuperado de: http://www.la-razon.com/sociedad/Preven-tratamiento-residuales-descontaminar-Titicaca_0_2970302966.html
- Acha Darío, Heredia Carlos, Fernandez Pablo, Espinoza Maria-Elena, Point David, Guedron Stephane, Groleau Alexis, Amouroux David, Nuñez Javier, Lora Gonzalo & Lazzaro Xavier, 2016. Nuevas luces sobre la eutrofización del Lago Titicaca, perspectivas de remediación y monitoreo. Research Gate. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/304583713>
- AFP (junio 2018). La Contaminación es el principal problema del lago Titicaca. El Debate. Recuperado de: <https://www.debate.com.mx/mundo/contaminacion-lago-titicaca-problema-sobrepasa-cambio-climatico-20180605-0285.html>
- Alpha Raj, 2010. Calculation of LD₅₀ or LC₅₀ using Probit Analysis. (1ra versión) [Hoja de calculo de Excel], India. Obtenido de: <http://probitanalysis.wordpress.com/>
- Álvarez Guillermo, Medina Graciela, 1999. Efecto del detergente biodegradable (Aquil Sulfonato de Sodio) en el consumo de oxígeno y tasa de filtración del Bivalvo *Semimytilus algosus*. Rev. Peru. Biol. 6(1). pp. 68-74. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/8301/7226>
- Alves, R. y Rietzler, C. (2015). Efeitos Tóxicos de Arsênio Em *Eisenia andrei* em Exposição a solos do entorno de Minerações de Ouro. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 39(3), 682-691. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180240404006>
- Arellano, J. y Guzmán, J. (2011). Ingeniería Ambiental (1ra ed. , pp. 19-32,107-119). México DF, México: Alfaomega Grupo Editor
- Beltrán, M., Cerna, E., Delgado, J. y Ochoa, Y. (2015). Evaluación de la actividad insecticida de *heioptis longipes* (A. Gray) S.F. Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioziidae). Investigación y Ciencia, 23(66), 12-15. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67446014002>
- CAB International (noviembre 2018). *Oncorhynchus mykiss* (rain trout). Disponible en: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/71813>

- Canavos, G. (1988). *PROBABILIDAD Y ESTADÍSTICA Aplicaciones y métodos* (1st ed. , pp. 401-426) México DF, México: Editorial McGraw-Hill
- Castiglioni, M. y Collins, P. (2010). Efecto de un detergente biodegradable en agua en la reproducción de *Daphnia Magna*. *The Biologist*, 8(1), 43-53. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3989993>
- Castillo Morales, Gabriela, 2004. *Ensayo Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas*, México – Canada: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, pp. 17-64.
- Castro, J. (2012). *Determinación cuantitativa del impacto ambiental en México por el uso doméstico de los detergentes en polvo fofatados y libres de fosfatos mediante la herramienta de análisis de ciclo de vida (tesis de maestría)*. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. México
- Chura Cruz, R., & Mollocondo Hualpa, H. (2009). Desarrollo de la acuicultura en el Lago Titicaca (Perú). *AquaTIC*, (31), 6-19. Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49422781002>> ISSN 1578-4541
- Cserhádi Tibor, Forgacs Esther & Oros Gyula, 2002. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment International* 28(2002), pp. 337-348. Disponible en: <http://www.elsevier.com/locate/envint>
- Culshaw, F. (agosto 2018). *Cómo es el mercado de productos de limpieza en Uruguay*. Disponible en: http://www.elobservador.com.uy/nota/como-es-el-mercado-deproductos-de-limpieza-en-uruguay2018823510?_e_pi_=7
- da Silva, T. y Bilk, A. (2005). *Determinação de fosfato e propriedades analíticas em detergentes em pó*. Recuperado de: <http://repositorio.pgsskroton.com.br/bitstream/123456789/2244/1/Determina%C3%A7%C3%A3o%20de%20fosfato%20e%20propriedades.pdf>
- Devore, Y. (2016). *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences* (9th ed. , pp. 409-436) Boston, USA: Editorial CENGAGE Learning
- FAO (2018). *El estado mundial de la pezca y la acuicultura*. Recuperado de: <http://www.fao.org/publications/sofia/es/>
- FAO (enero 2006). *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en
- Finney, D. J. (1952). *A Statistical Tretment of The Sigmoid Response Curve* (2nd ed. , pp. 1-47) London, Inland: Editorial Cambridge at the University Press

- Florero, G. (octubre 2015). El negocio de detergentes mueve alrededor de \$1,2 billones en el país. Disponible en: <https://www.larepublica.co/empresas/el-negocio-de-detergentes-mueve-alrededor-de-12-billones-en-el-pais-2310291>
- Fontúrbel Rada, Francisco. (2005). Physicochemical and biological indicators of the eutrophication process at Titikaka Lake (Bolivia). *Ecología Aplicada*, 4(1-2), 135-141. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172622162005000100018&lng=es&tlng=en.
- Gavira, J. (enero 2013). Eutrofización: causas y efectos. Disponible en: <http://triplenlace.com/2012/09/27/autrofizacion-causas-y-efectos/amp>
- Gomes, C. y da Silva, W. (2017). Uso de fosfato nos detergentes em pó comerciais no Brasil: aspectos ambientais e de saúde e de saúde pública. Recuperado de: <https://www.saneamentobasico.com.br/wp-content/uploads/2018/11/VI-055.pdf>
- Graham, R., y Katherine, A. (2004). The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic Toxicologic*, 68 (1), 368 - 392. Disponible en: http://www.miljodirektoratet.no/PageFiles/25046/Horing20131162_vedlegg_Aquatic_toxicology.pdf
- Health Food Chain Safety and Environment (October, 2018). Effect of detergents on the environment. Recuperado de: <https://www.health.belgium.be/en/effect-detergents-environment#article>
- Iannacone José, Alvaríño Lorena, 2002. Efecto Del Detergente Doméstico Alquil Aril Sulfonato De Sodio Lineal (LAS) Sobre La Mortalidad De Tres Caracoles Dulceacuícolas En El Perú. *Ecología Aplicada*: 1(1), pp. 81-87. Disponible en: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/eau/article/view/234/230>
- Iburgüen Erika (octubre de 2018). Cada hogar usa un promedio de 32 kilos de detergente al año. *La Razon*. Recuperado de: http://m.la-razon.com/suplementos/financiero/hogar-promedio-kilos-detergente-ano_0_1872412861.html#
- Icontec (2011). Etiquetas Ambientales tipo I Sello Ambiental Colombiano. Criterio para productos limpiadores institucionales industriales y para uso doméstico.. Recuperado de:

http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/Otros/NTC/2002/NTC_5131_2002.pdf

- Insua, D., et al. (2010). Evaluación ecotoxicológica de detergentes comerciales y naturales, como criterio de contaminación Ambiental. REDVET, 11(3B), 1-9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63613140045>
- Johnson, R. (2018). Probability and Statistics for Engineers (9th ed. , pp. 386-424) Harlow, England: Editorial Pearson Education
- Kogawa, A., Gamberini, B., Domingos, L. y Nunes, R. (2017). Synthetic detergents: 100 years of history. Saudi Pharmaceutical Journal, 25, 934-938. Disponible en: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
- Lakatos, V. y de Oliveria, W. (2001). Polifosfatos em detergentes em pó comerciais. Quim. Nova, 24(5), 700-708. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v24n5/a19v24n5.pdf>
- Manahan, S. (2003). Toxicological Chemistry and Biochemistry (3rd ed. , pp. 59-66,134-154) Florida, USA: Editorial Lewis Publishers
- Marquez, F. (2002). Introducción a la Toxicología Ambiental (1ra ed. , pp. 18-53,63-65,83-86) Concepción , Chile: Editorial Universidad de Concepción
- Mihelcic, J. y Beth, J. (2012). INGENIERÍA Ambiental: fundamentos, sustentabilidad, diseño (1ra ed. , pp. 215-258,309-353). México DF, México: Alfaomega Grupo Editor
- Ministerio de Producción (2014). Manual de Crianza de Trucha en ambientes convencionales. Recuperado de: http://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/manual_trucha.pdf
- Morales, S. (2014). Toxicología Ambiental y Salud Pública (1ra ed. , pp. 53-59,70-92,96-112,120-122) La Paz, Bolivia: Editorial autor
- Morales, S. (2013). CL₅₀ Probit. (1ra versión) [Hoja de cálculo de Excel], La Paz, Bolivia.
- Noticias ONU (julio 2018). Los latinoamericanos comerán cada vez más pescado. Disponible en: <http://www.news.un.org/es/story/2018/07/1437452>
- Ofarrill, A., Ofarrill , A. y Henández, R. (2010). La responsabilidad ética en la investigación científica con animales de laboratorio. Revista Electrónica de Veterinaria, 11(1), 1-5. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63613103004>

- Pardo, A. (2005). Ética de la experimentación animal. Directrices legales y éticas. Asociación Española de Bioética y Ética, 16(3), 393-417. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=87512622006>
- Pellanda, L., Bolsoni, H., Vidal, A., Stinguel, P. y Rodrigues, W. (2015). Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de Erva-de-Santa-Maria sobre o Ácaro-Rajado. Revista Caatinga , 28(1), 160-166. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237138297017>
- Peña Carlos, Carter Dean & Ayala-Fierro Felix, 2002. Toxicología Ambiental- Evaluación de riesgos y Restauración Ambiental. Universidad de Arizona, EEUU, pp. 151-156
- Perdomo, D., & Castellanos, K., & González-Estopiñán, M., & Perea-Ganchou, F. (2013). Efecto de la estrategia alimenticia en el desempeño productivo de la trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). Revista Científica, XXIII (4), 341-349. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95926991006>
- Pérez Gonzalo, Roldán Gabriel, 1978. Niveles de Contaminación por Detergentes y su Influencia en las Comunidades Bénticas del Rio Rionegro. Actualidades Biológicas 7(24), pp. 27-36. Disponible en: <https://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio/article/view/330441/20786756>
- Phillip, L., Robert, C. y Stephen, M. (2000). PRINCIPLES OF TOXICOLOGY Environmental and Industrial Applications (2nd ed. , pp. 3-56) New York, USA: Editorial John Wiley & Sons, Inc.
- Philp, R. (2013). ECOSYSTEMS AND HUMAN HEALTH Toxicology and Environmental Hazards (3rd ed. , pp. 87-125) Boca Raton, USA: Editorial CRC Press
- Portafolio (marzo 2014). Trucha un caso de éxito del TLC con Estados Unidos. Disponible en: <http://www.portafolio.co/articulos/2014/trucha-caso-éxito-tlc-con-estados-unidos>
- PromPeru (2018). Informe Especializado- Oportunidades para la trucha en el mundo. Recuperado de: <http://www.siicex.gob.pe/documento/doc>
- Ramirez, J. (2006). Historia del jabón y los detergentes. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/aya/ramirez.pdf>
- Ridolfi, K. (enero 2014). *Oncorhynchus mykiss* Coast rainbow trout. Disponible en: https://animaldiversity.org/accounts/Oncorhynchus_mykiss/#geographic_range

- Ríos, F. (2014). Comportamiento ambiental de tensoactivos comerciales: biodegradabilidad, toxicidad y ozonización (tesis doctoral). Universidad de Granada. España
- Roma (enero 1994). Las pesquerías de aguas continentales frías en América Latina. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/008/t4675s/T4675S00.htm#TOC>
- Rowan, A. (1983). The LD₅₀ - The Beginning of the End. Recuperado de: https://animalstudiesrepository.org/cgi/viewcontent.cgi?article=1031&context=acwp_arte
- Salager, J. (2002). Surfactantes tipos y usos (2da ed., pp. 2-47). Merida, Venezuela: Universidad de los Andes
- Sullivan, P., Clark J., Agardy, F. y Rosenfeld, P. (2006). TOXIC LEGACY: Synthetic Toxins in the Food, Water and Air of American Cities (1st ed. , pp. 84,92,174,) California, USA: Editorial Academic Press
- Terra (febrero 2003). Detergentes. Disponible en: <http://www.terra.org/categorias/articulos/detergentes>
- Terram (enero 2019). Producción de pescado a nivel mundial fue de 171 millones de toneladas en 2016. Disponible en: <http://www.terram.cl/2018/07/produccion-mundial-de-pescado-en-2016-fue-de-171-millones>
- Torre, et al. (2004). Curso sobre Toxicología Ambiental y Seguridad Química. Recuperado de: <http://www.ritsq.org/wp-content/uploads/cd-toxamb/Documentos/10%20de%20la%20Torre%20FINAL.pdf>
- UC-Peraza, Delgado-Blas, 2012. Determinación de la Concentración Letal Media (CL₅₀) de cuatro Detergentes Domésticos Biodegradables en *Laonereis culveri* (Webster 1879) (Polychaeta: Annelida). Rev. Inte. Contam. Ambie. 28(2) pp. 137-144. Disponible en:
- Vallverdú, J. (2005). La evolución de la Toxicología: de los venenos a la evaluación de riesgos. Revista de Toxicología, 22 (3), 153- 161. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91922301> ISSN 0212-7113
- Villa, M. (mayo 2018). El consumo de pescados y mariscos aumenta en Bolivia. Disponible en: http://www.la-razon.com/economia/aumenta-pais-consumo-pescados-mariscos_0_2928307163.html
- Villamarín-Jiménez S, Chacón-Castro MF, Álvarez-León R. Pruebas de toxicidad aguda CL (I) 50 en peces estuarinos (*Gambusia affinis*) utilizando efluentes industriales a la Bahía de Cartagena, Colombia. Biosalud. 2013;12(2):24-39.

Disponible en:
[http://200.21.104.25/biosalud/downloads/Biosalud_12\(2\)_Completa.pdf#page=24](http://200.21.104.25/biosalud/downloads/Biosalud_12(2)_Completa.pdf#page=24)

- Villwock, W. (1992). Consecuencias de la intrusión de peces exóticos sobre las especies nativas del lago Titicaca. Recuperado de:
<http://ecologiaenbolivia.com/documents/Villwock23.pdf>
- Weiner, R. y Matthews, R. (2003). Environmental Engineering (4th ed., pp. 51-73,81-103). Burlington, USA: Butterworth Heinemann
- Wexler, P. (2000). Encyclopedia of Toxicology (2nd ed. , pp. 526-530,661-665,739-742) Bethesda, USA: Editorial Academic Press
- Woolley, A. (2008). A GUIDE PRACTICAL TOXICOLOGY Evaluation, Prediction, and Risk (2nd ed. , pp. 1-88,213-227,385-400) New York, USA: Editorial Informa Healthcare
- Zago, G. y Del Pino, J. (2001). Trabalhando a Química dos Sabões e Detergentes. Recuperado de:
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/arquivos/File/AIQ_2011/saboes_ufrgs.pdf
- Zakrzewski Sigmund, 2002. Environmental Toxicology. New York, EEUU: Oxford University Press, pp. 61-69.
- Zaror, C. (2000). Introducción a la Ingeniería Ambiental para la Industria de Procesos (1ra ed., pp. 103-114,127-139). Concepción , Chile: Universidad de Concepción

ANEXOS

Anexo N° 1 - MÉTODO ANOVA DE UN FACTOR USANDO MICROSOFT EXCEL

El análisis de varianza o ANOVA de un factor se refiere a la comparación de dos o más tratamientos de un factor sobre alguna variable de respuesta. Esta técnica proporciona un procedimiento para conocer si existe variación en la respuesta debido a los tratamientos a unidades experimentales.

Sea:

	Tratamientos				
	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4	Trat n
observaciones	Y11	Y12	Y13	Y14	Y1n
	Y21	Y22	Y23	Y24	Y2n
	Y31	Y32	Y33	Y34	Y3n
	Yn1	Yn2	Yn3	Yn4	Ynn

Donde N es el número de observaciones totales

K es el número de tratamientos

STC es la suma total de cuadrados

SCTR es la suma de cuadrados de los tratamientos

Ym promedio de las observaciones

F estadístico de comparación

Entonces:

$$STC = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (Y_{ij} - Y_m)^2$$

$$SCTR = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (Y_i - Y_m)^2$$

$$F = \left(\frac{\frac{SCTR}{K-1}}{\frac{STC}{N-K}} \right)$$

Así, el F calculado por la última ecuación será utilizado para comparar con su homólogo teórico, el cual se lo puede obtener de tablas estadísticas. Por lo que, si F calculado es mayor a F crítico, se afirma que las observaciones debidas a los tratamientos son diferentes entre sí, en caso de que F crítico sea mayor, se deduce que no hay diferencia de entre los tratamientos con respecto a efecto que producen. A continuación, se muestra los pasos a seguir para realizar el ANOVA de un factor en Microsoft Excel 2016

PASO N°1 – Ir a Datos en la cinta de opciones, clic en Análisis de Datos

The screenshot shows the Microsoft Excel 2016 interface. The 'Datos' (Data) ribbon is active, displaying various data analysis tools. A data table is visible in the worksheet, representing the ANOVA data. The table has columns for treatments (trat 1, trat 2, trat 3, trat 4) and rows for observations (observaciones). The data values are as follows:

	tratamientos			
	trat 1	trat 2	trat 3	trat 4
1				
2				
3	4,0	20,0	45,1	60,0
4	5,0	20,9	45,9	60,5
5	5,0	21,0	46,0	60,9
6	6,0	22,0	47,0	61,0
7	4,5	21,1	45,0	61,5
8	5,1	20,9	46,7	61,9
9	5,0	21,5	46,1	62,0
10	6,0	21,0	47,0	61,0
11				
12				

PASO N°2 – Seleccionar Análisis de varianza de un factor y aceptar

The screenshot shows the Excel interface with the 'Datos' ribbon active. The 'Análisis de datos' dialog box is open, displaying a list of analysis functions. The function 'Análisis de varianza de un factor' is highlighted. The spreadsheet data is as follows:

	tratamientos			
	trat 1	trat 2	trat 3	trat4
1				
2				
3	4,0	20,0	45,1	60,0
4	5,0	20,9	45,9	60,5
5	5,0	21,0	46,0	60,9
6	6,0	22,0	47,0	61,0
7	4,5	21,1	45,0	61,5
8	5,1	20,9	46,7	61,9
9	5,0	21,5	46,1	62,0
10	6,0	21,0	47,0	61,0

PASO N°3 – En el cuadro de Rango de entrada seleccionar todo el rango de observaciones de la tabla. Fijar el valor de alfa y seleccionar la celda para el Rango de salida. Y click en aceptar.

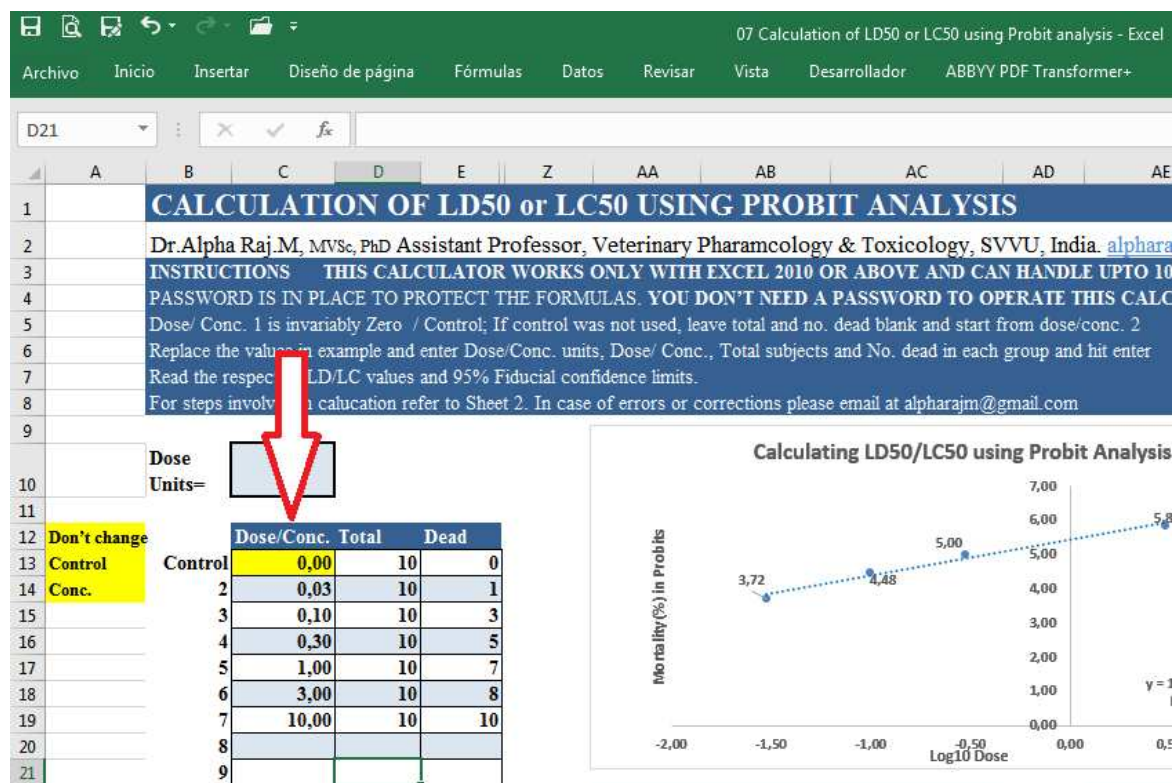
The screenshot shows the 'Análisis de varianza de un factor' dialog box with the following settings:

- Entrada:**
 - Rango de entrada:
 - Agrupado por: Columnas Filas
 - Rótulos en la primera fila
 - Alfa:
- Opciones de salida:**
 - Rango de salida:
 - En una hoja nueva:
 - En un libro nuevo

Anexo N° 2 - MÉTODO PROBIT, DETERMINACIÓN DE CL_{50} USANDO HOJA DE CÁLCULO PROGRAMADO EN EXCEL ALPHA(2010)

A continuación, se describe los pasos para usar la hoja de cálculo en Excel de: Alpha Raj, 2010. Calculation of LD_{50} or LC_{50} using Probit Analysis. (1ra versión) [Hoja de cálculo de Excel], India.

PASO N°1 – Insertamos las correspondientes concentraciones usadas en los bioensayos



The screenshot shows an Excel spreadsheet with the following content:

07 Calculation of LD50 or LC50 using Probit analysis - Excel

Archivo Inicio Insertar Diseño de página Fórmulas Datos Revisar Vista Desarrollador ABBYY PDF Transformer+

D21

CALCULATION OF LD50 or LC50 USING PROBIT ANALYSIS

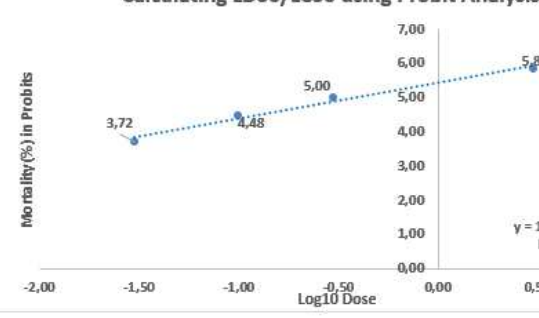
Dr. Alpha Raj, M, MVSc, PhD Assistant Professor, Veterinary Pharamcology & Toxicology, SVVU, India. alpharajm@gmail.com

INSTRUCTIONS THIS CALCULATOR WORKS ONLY WITH EXCEL 2010 OR ABOVE AND CAN HANDLE UPTO 10
 PASSWORD IS IN PLACE TO PROTECT THE FORMULAS. YOU DON'T NEED A PASSWORD TO OPERATE THIS CALC
 Dose/ Conc. 1 is invariably Zero / Control; If control was not used, leave total and no. dead blank and start from dose/conc. 2
 Replace the values in example and enter Dose/Conc. units, Dose/ Conc., Total subjects and No. dead in each group and hit enter
 Read the respective LD/LC values and 95% Fiducial confidence limits.
 For steps involving calculation refer to Sheet 2. In case of errors or corrections please email at alpharajm@gmail.com

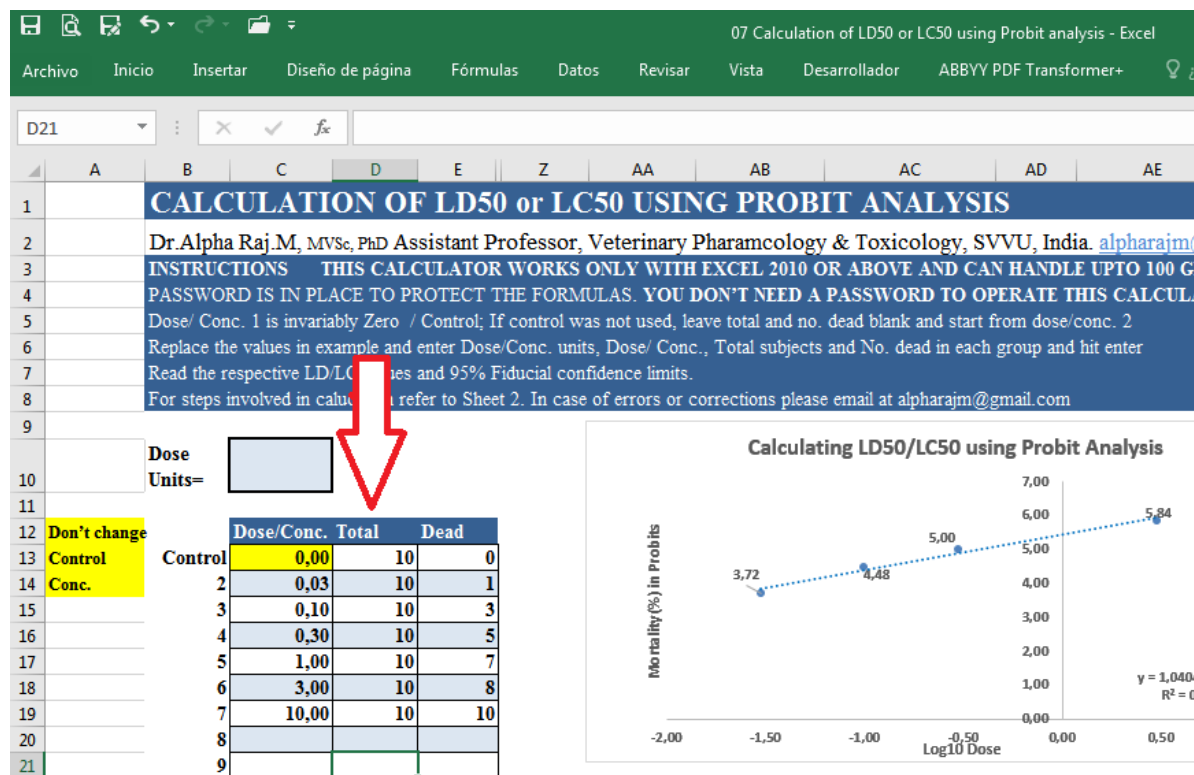
Dose Units=

Don't change	Dose/Conc.	Total	Dead
Control	0,00	10	0
Conc.	2 0,03	10	1
	3 0,10	10	3
	4 0,30	10	5
	5 1,00	10	7
	6 3,00	10	8
	7 10,00	10	10
	8		
	9		

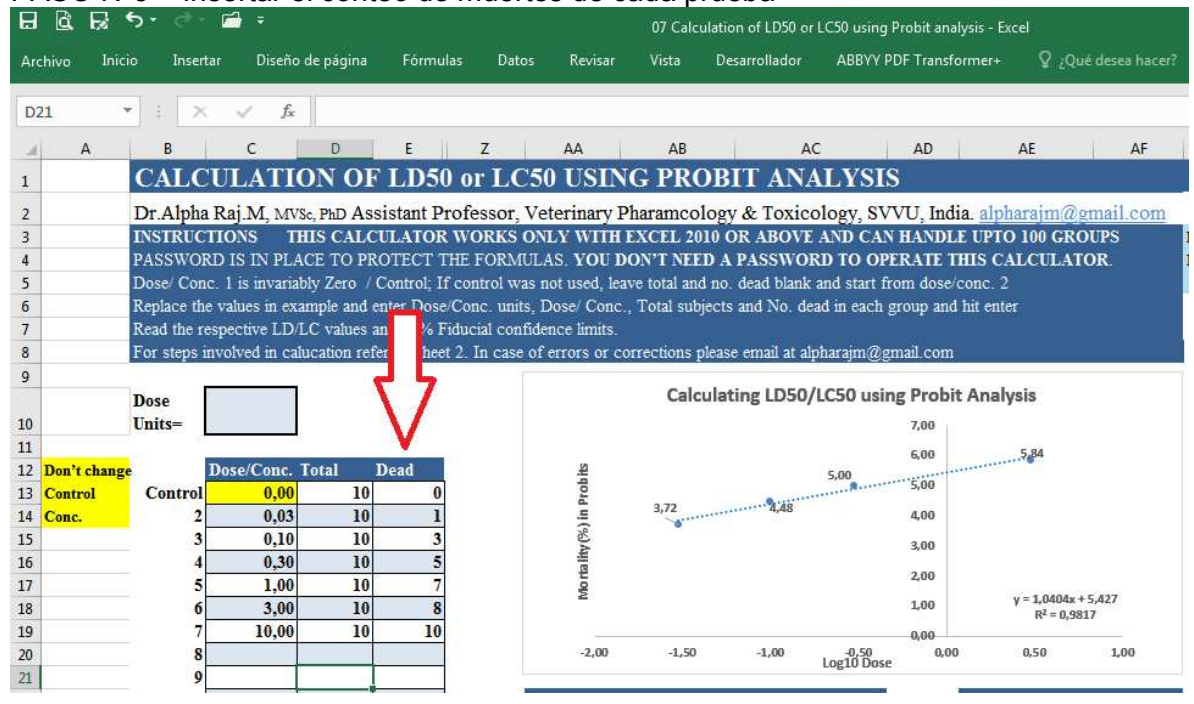
Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis



PASO N°2 – Insertar el número de organismos utilizado para cada concentración.



PASO N°3 – Insertar el conteo de muertes de cada prueba



PASO N°4 – Se generará la gráfica correspondiente de Y vs X

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dose/Conc.	Total	Dead
Control	10	0
2	10	1
3	10	3
4	10	5
5	10	7
6	10	8
7	10	10

Graph Data Points (approximate):

Log10 Dose	Mortality (%) in Probits
-1,50	3,72
-1,00	4,48
-0,50	5,00
0,50	5,84

Regression Equation: $y = 1,0404x + 5,427$
 $R^2 = 0,9817$

PASO N°5 – Se generará en una tabla el valor de CL₅₀.

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD/LC (%)	LD/LC	95% Fiducial CI Lower	95% Fiducial CI Upper
LD46	0,298	0,135	0,658
LD47	0,315	0,142	0,695
LD48	0,332	0,150	0,735
LD49	0,351	0,159	0,776
LD50	0,371	0,168	0,820
LD51	0,392	0,177	0,866
LD52	0,414	0,187	0,915
LD53	0,437	0,198	0,966
LD54	0,462	0,209	1,021
LD55	0,488	0,221	1,079
LD56	0,516	0,233	1,140
LD57	0,545	0,247	1,205

Graph Data Points (approximate):

Log10 Dose	Mortality (%) in Probits
-1,50	3,72
-1,00	4,48
-0,50	5,00
0,50	5,84

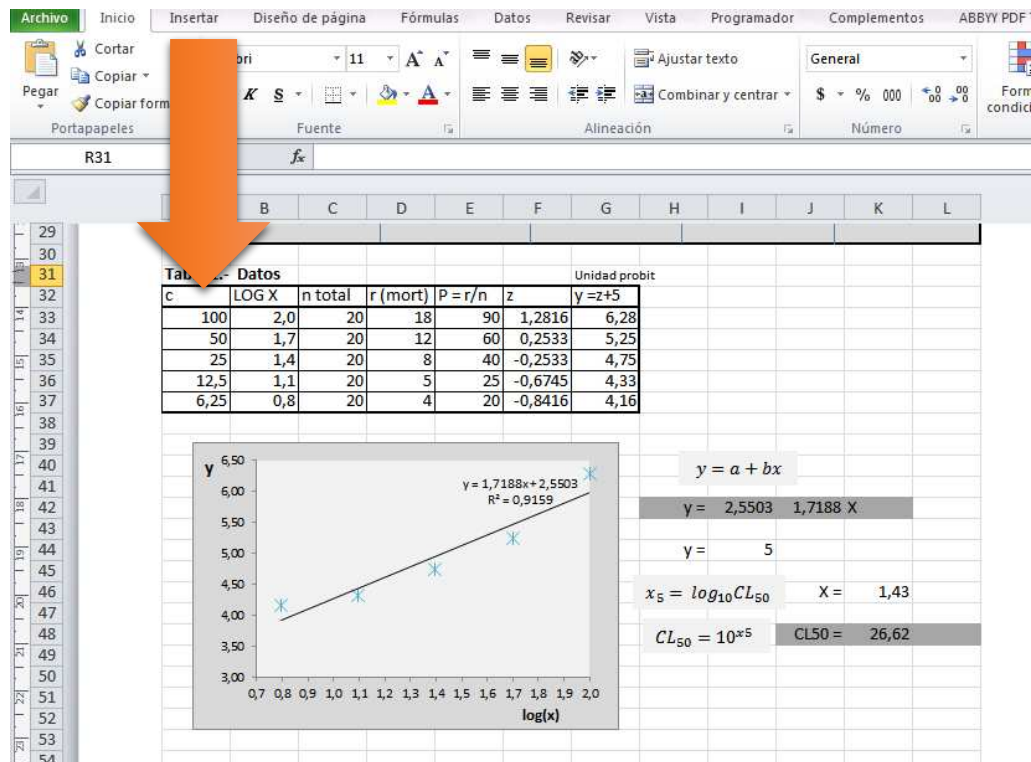
Regression Equation: $y = 1,0404x + 5,427$
 $R^2 = 0,9817$

Curve Fitting: Slope = 1,060

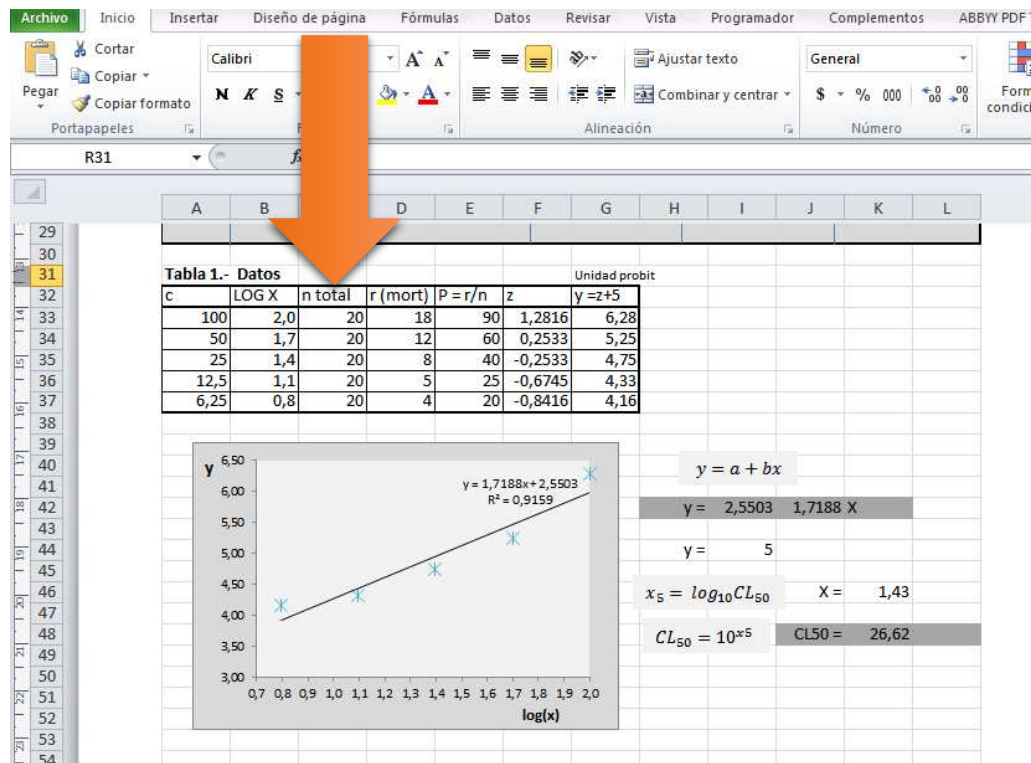
Anexo N° 3 - MÉTODO PROBIT, DETERMINACIÓN DE CL_{50} USANDO HOJA DE CÁLCULO PROGRAMADO EN EXCEL MORALES(2013)

A continuación, se describe los pasos para usar la hoja de cálculo en Excel de: Morales, S. (2013). CL_{50} Probit. (1ra versión) [Hoja de cálculo de Excel], La Paz, Bolivia.

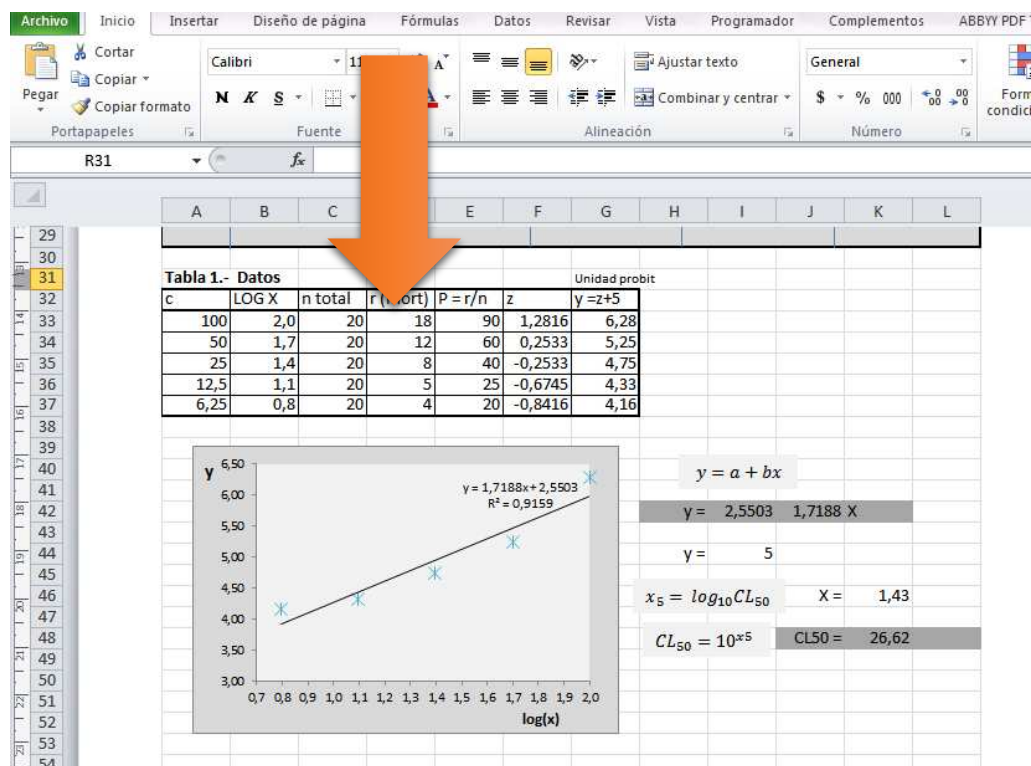
PASO N°1 – Ingresar los datos de concentración, independientemente de la unidad que tengan.



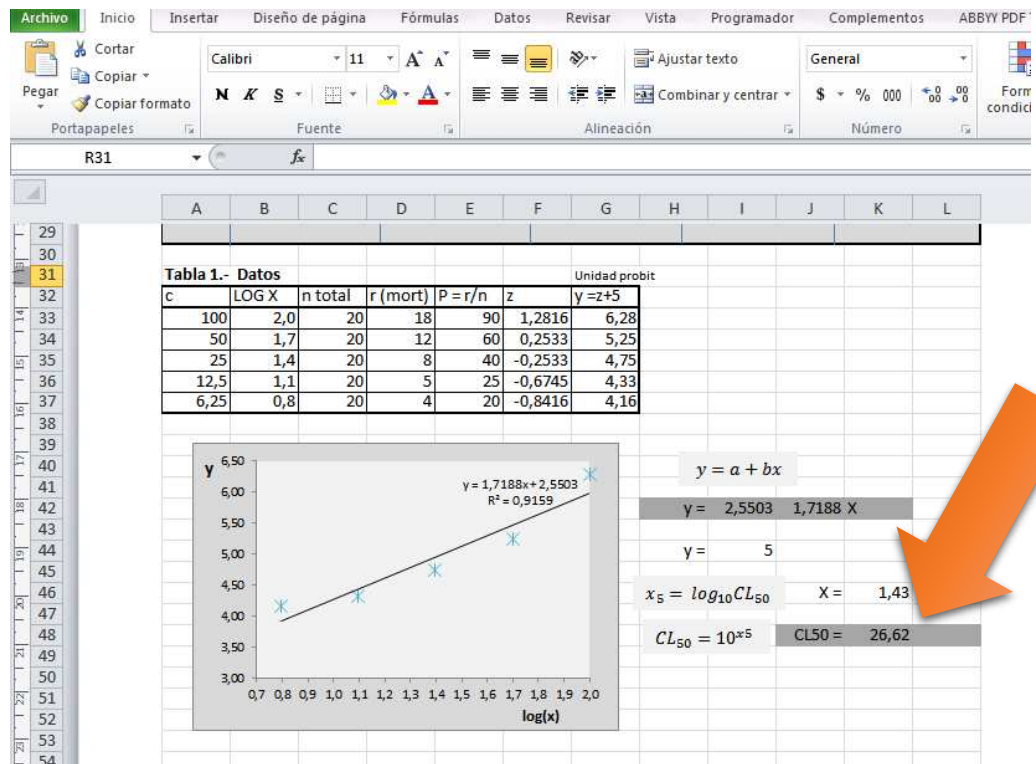
PASO N°2 – Ingresar los datos de individuos vivos al inicio del experimento.



PASO N°3 – Ingresar los de mortalidad de los individuos después de la prueba.



PASO N°4 – El valor de CL_{50} se generará automáticamente, las unidades serán iguales a las ingresadas en la concentración.



Anexo N° 4 - CENTRO PISCÍCOLA DE TIQUINA



Fuente: Google Earth

Ubicado en el departamento de La Paz, provincia Manco Kapac, en la localidad de Tiquina, se encuentra a 100 kilómetros de la ciudad de La Paz. Coordenadas geográficas: 16°12'0" Sur, 68°55'0" Oeste. Altitud del sitio 3844 m.s.n.m. Con temperatura promedio anual de 13 °C y precipitación anual media de 700 mm.

La institución depende del Ministerio de Desarrollo Rural y Tierra. Y que forma parte de la IPD-PACU (Institución Pública Desconcentrada de Pesca y Acuicultura). Reactivada en 2014, es encargada de la venta de alevines de trucha de calidad certificada, venta de carne de trucha, también cumple la función de institución de formación técnica en acuicultura en trucha.

Para la crianza de truchas en la institución, existen ambientes e instalaciones especializados para las diferentes etapas de su crecimiento. Existen tinajas, piscinas de cemento y jaulas de red para las truchas en sus distintos tamaños y edades.

La institución cuenta con infraestructura adecuada para las distintas operaciones de producción de carne de trucha: recepción de materia prima, corte y eviscerado, lavado y limpieza, empaquetado, almacenamiento y distribución. Así mismo posee laboratorios con equipamiento adecuado para investigaciones, análisis de aguas y otros. También cuenta con instalaciones para albergar a investigadores, tesisistas, cursillistas y universitarios.

Anexo N° 5 - DESCRIPCIÓN DE DETERGENTES UTILIZADOS

DETERGENTE 1

Información Ambiental: Tensoactivos biodegradables. 80 % biodegradabilidad min,

Presentación: detergente en polvo de 150 gramos

Composición química¹⁰: Agentes coadyuvantes, agente tensoactivo (alquil aril sulfonato de sodio), secuestrantes de iones, agua, blanqueador óptico, enzimas, perfume, agente de antirredeposición, colorantes.

DETERGENTE 2

Información Ambiental: No

Presentación: detergente en polvo de 150 gramos

Composición química: Aditivos de proceso, coadyuvantes de limpieza, agentes tensoactivos (ingrediente básico)), agentes enzimáticos y abrillantadores ópticos, agentes estéticos (perfume y colorantes)

DETERGENTE 3

Información Ambiental: No

Presentación: detergente en polvo de 150 gramos

Composición química: Dodecil benzeno sulfonato (ingrediente básico), agentes auxiliares, auxiliares de procesamiento, agentes dispersantes, sistema de enzima, perfumes, blanqueadores y aditivos.

¹⁰ La información de la composición química de los detergentes fue extraída de los envases que los contenían.

Anexo N° 6 - DOSIER FOTOGRÁFICO

Fotografía N° 1 - Ambiente y acuarios de laboratorio



Fotografía N° 2 - Acuario para alevines



Fotografía N°3 - Medidor de volumen



Fotografía N°4 - Materiales de laboratorio, piseta, termómetro y frasco de muestras



Fotografía N°5 - Materiales de laboratorio. Vaso de precipitados, vidrio reloj, pipeta aforada, probeta y propipeta



Fotografía N°6 - Equipo de análisis de aguas. Espectrofotómetro multiparamétrico



Fotografía N°7 - Balanza digital



Fotografía N°8 - Oxigenador de agua



Fotografía N°9 - Sacando alevines del criadero



Fotografía N°10 - Toma de muestra de agua de criadero de alevin



Fotografía N°11 - Sistema de acuario. Diez alevines en 100 L de agua con su aireador.



Fotografía N°12 - Tomando muestra de agua de acuario con solución de detergente para su análisis



Fotografía N°13 - Preparando soluciones de detergente a diferentes concentraciones



Fotografía N°14 - Analizando muestras de agua colectadas



Fotografía N°15 - Midiendo dimensiones de pez



Fotografía N°16 - pesando alevines



Fotografía N°17 - Muestra de alevines usados en

