



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias e Ingeniería

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL₅₀)
DE LOS SULFONATOS DE ALQUILBENCENO DE SODIO LINEAL
(LAS) EN *Laeonereis culveri* (POLYCHAETA).**

TESIS

Como requisito para la obtención
del título de:

INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTA

Russell Giovanni Uc Peraza

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Víctor Hugo Delgado Blas

Chetumal, Quintana Roo, México, Julio 2009.



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias e Ingeniería

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité de tesis del programa de licenciatura y aprobada como requisito para obtener el grado de:

LICENCIADO EN INGENIERÍA AMBIENTAL

COMITÉ DE TESIS

Director de Tesis:

Dr. Víctor Hugo Delgado Blas

Asesores Propietarios:

Biól. Laura Patricia Flores Castillo

M. C. José Martín Rivero Rodríguez

Asesores Suplentes:

Ecol. Mar. María. Del Rosario Hernández

Ing. José Luis Guevara Franco

Chetumal, Quintana Roo, México, Julio 2009.

Dedico estas páginas de esfuerzo y trabajo:

A Dios

Que me dio la vida y fuerza para seguir adelante y hacer realidad mi sueño.

“Mi todo”

A mis padres:

Eumelia Peraza Muñoz y Francisco Uc Yam.

“Los amo”

A mis hermanos(as):

Jenny, Maribel, Hitler y Francisco.

“Mi motivación”

A mi tío:

Leopoldo.

“Lo máximo”

A mi novia y amiga:

Ingrid.

“Mi corazón”

Y todas aquellas personas que me apoyaron y creyeron en mi capacidad para lograr esta meta.

Quiero agradecer a las personas que me apoyaron durante la realización de este trabajo. En especial a mi amigo y director de tesis Dr. Víctor Hugo Delgado Blas, que con su apoyo, paciencia, confianza y enseñanzas me guió durante el desarrollo de esta tesis.

A mis asesores Biól. Laura Patricia Flores Castillo y M.C. José Martín Rivero Rodríguez y también a los asesores suplentes Ing. José Luis Guevara Franco y Ecol. Mar. María del Rosario Hernández que me apoyaron en todo momento y por el tiempo brindado en la revisión de este trabajo de tesis y por las correcciones realizadas.

A mis maestros sus enseñanzas y dedicación que me brindaron durante todo el proceso de mi formación en la Universidad de Quintana Roo.

Al M.C. Daniel Hernández Portilla quien me ayudó y asesoró en la parte química.

Al Ing. Daniel Jiménez Franco que me proporcionó la sustancia activa (LAS) de los detergentes para realizar la curva de calibración y para la determinación de SAAM.

Al M.C. Tito Libio Pérez Vivar que me ayudó en la parte estadística.

A la M.E. Patricia Fragoso Servon por su tiempo y asesoría brindada.

Al M.C. Oscar Días Días que me ayudó en la identificación de la especie de prueba.

A los compañeros que participaron en el trabajo de campo. Al P.I.A. Sergio Morentín Ocejo, I.A. Aníbal Adán Bravo Medrano y M.C. José Gabriel Kuk Dzul.

La I.A. Isaura Guadalupe Flota Canto por su amistad y su gran e incondicional apoyo que me brindo en todo momento en la realización de esta tesis.

La I.A. Cristina del Socorro Tuz Hamilton por su amistad y su apoyo brindado.

Al I.A. Vítor Tun Pool por su amistad, apoyo y que siempre creyó en mí.

Este trabajo fue financiado en la Convocatoria 2009 “Apoyo a la titulación”, de la División de Ciencias e Ingeniería bajo el proyecto UQROO/DCI/PI/08/08 Variación espacio-temporal de poliquetos bénticos y parámetros fisicoquímicos en X´cachel-X´cachelito, Quintana Roo y UQROO/DCI/PI/05/07 Evaluación de poliquetos y dos especies de vegetación en la degradación de la materia orgánica en aguas residuales y en sedimentos contaminados en la Bahía de Chetumal Quintana Roo.

ÍNDICE GENERAL	Página
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
ÍNDICE GENERAL	III
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE ANEXOS	IX
RESUMEN	1
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	
1. Introducción.....	3
1.1. Antecedentes.....	8
1.2. Justificación.....	12
1.3. Objetivos.....	13
1.3.1. Objetivo general.....	13
1.3.2. Objetivos particulares.....	13
1.4. Hipótesis.....	13
1.5. Área de colecta.....	14
CAPÍTULO II. TOXICOLOGÍA ACUÁTICA	
2.1. Evaluación de la toxicidad acuática.....	16
2.2. Pruebas de toxicidad.....	19
CAPÍTULO III. SULFONATO DE ALQUILBENCENO DE SODIO LINEAL (LAS)	
3.1. Desarrollo histórico de los detergentes.....	22
3.2. Características generales y clasificación de los tensoactivos.....	25
3.3. Formulación de los detergentes; tensoactivos y componentes complementarios.....	28
3.4. Consumo y aplicación.....	29

3.5. Propiedades físicas y químicas.....	30
3.6. Efectos del LAS en organismos acuáticos.....	32

CAPÍTULO IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Método de campo.....	35
4.2. Laboratorio.....	35
4.2.1. Selección, identificación y aclimatación de los organismos.....	35
4.2.2. Preparación del sedimento.....	36
4.2.3. Preparación del agua salina.....	37
4.2.4. Preparación de la solución madre.....	37
4.2.5. Preparación del bioensayo.....	37
4.2.6. Preparación de las disoluciones de prueba.....	38
4.2.7. Realización de las pruebas de toxicidad.....	38
4.2.8. Parámetros físico-químicos.....	39
4.3. Calculo de la concentración letal media (CL ₅₀).....	39
4.4. Estimación del grado de toxicidad.....	39
4.5. Análisis estadístico.....	40
4.6. Estimación del riesgo ecológico (RE).....	40

CAPÍTULO V. RESULTADOS

5.1. Evaluación de los efectos.....	42
5.1.1. Bioensayo con el detergente ROMA [®]	42
5.1.2. Bioensayo con el detergente FOCA [®]	44
5.1.3. Bioensayo con el detergente PURO SOL [®]	46
5.1.4. Bioensayo con el detergente BLANCA NIEVES [®]	48
5.2. Grado de toxicidad.....	50
5.3. Resultados del análisis estadístico.....	51
5.4. Calculo del riesgo ambiental de los detergentes con el ingrediente activo LAS.....	55

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN.....	56
------------------------------------	-----------

CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES.....	62
CAPÍTULO VIII. RECOMENDACIONES.....	64
CAPÍTULO IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
CAPÍTULO X. ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. Ejemplo de tensoactivos aniónicos.....	4
Figura 2. Localización geográfica de la bahía y ubicación del sitio de colecta....	15
Figura 3. Estructura típica de los jabones.....	22
Figura 4. Evolución de la venta de jabones y tensoactivos sintéticos.....	23
Figura 5. Molécula de dodecil éster sulfato de sodio.....	25
Figura 6. Componentes en la formulación de un detergente.....	28
Figura 7. Efecto de la posición del anillo bencénico a medida que la longitud de la cadena de carbono aumenta.....	30
Figura 8. Representación de una micela.....	31
Figura 14. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente ROMA [®] y estimación de la CL ₅₀ a 48 h en <i>Laeonereis culveri</i>	42
Figura 15. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente ROMA [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h <i>Laeonereis culveri</i>	43
Figura 16. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente FOCA [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h en <i>Laeonereis culveri</i>	44
Figura 17. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente FOCA [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h <i>Laeonereis culveri</i>	45
Figura 18. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente PURO SOL [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h <i>Laeonereis culveri</i>	46
Figura 19. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente PURO SOL [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h <i>Laeonereis culveri</i>	47
Figura 20. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente BLANCA NIEVES [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h <i>Laeonereis culveri</i>	48
Figura 21. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente BLANCA NIEVES [®] y estimación de la CL ₅₀ 48 h <i>Laeonereis culveri</i>	49
Figura 22. Normalidad de la variable dependiente y elipse de confianza del 95 %.....	52
Figura 23. Distribución normal de la variable dependiente clasificada por diferentes niveles de concentración.....	52

Figura 24. Distribución normal de la variable dependiente clasificada por tipo de marcas de detergentes.....	53
Figura 25. Relación entre la marca de detergente y la mortalidad.....	53
Figura 26. Relación general entre la concentración y la mortalidad en los cuatro detergentes.....	54
Figura 27. Perfil vertical del tensoactivo aniónico LAS en el Caño de Sancti Petri, España.....	60

ÍNDICE DE TABLAS	Página
Tabla 1. Respuestas de toxicidad de diversos bioensayos expuestos a detergentes de tipo LAS.....	10
Tabla 2. Ejemplos de la disponibilidad de métodos estandarizados para evaluar la toxicidad acuática.....	18
Tabla 3. Grupos principales de tensoactivos.....	27
Tabla 4. Principales propiedades físicas y químicas del LAS.....	30
Tabla 5. Clasificación de toxicidad basada en Unidades de Toxicidad.....	39
Tabla 6. Valores PEC para LAS en diferentes medios.....	41
Tabla 9. Resultados de toxicidad del detergente ROMA [®]	42
Tabla 12. Resultados de toxicidad del detergente FOCA [®]	44
Tabla 15. Resultados de toxicidad del detergente PURO SOL [®]	46
Tabla 18. Resultados de toxicidad del detergente BLANCA NIEVES [®]	48
Tabla 19. Clasificación tóxica de los detergentes de tipo LAS en <i>Laeonereis culveri</i>	50
Tabla 20. Estadística descriptiva de la variable dependiente.....	51
Tabla 21. Riesgo ambiental de los detergentes como cociente de riesgo en sedimento (RQ).....	55
Tabla 22. Riesgo ambiental del LAS como cociente de riesgo (RQ).....	55

ÍNDICE DE ANEXOS	Página
FIGURAS	
Figura 9. Esquemmatización de la cámara de bioensayo.....	73
Figura 10. Esquemmatización de la primera cámara de bioensayo con el detergente ROMA®	74
Figura 11. Esquemmatización de la segunda cámara de bioensayo con el detergente FOCA®	75
Figura 12. Esquemmatización de la tercera cámara de bioensayo con el detergente PURO SOL®	76
Figura 13. Esquemmatización de la cuarta cámara de bioensayo con el detergente BLANCA NIEVES®	77
Figura 28. Detergente biodegradable ROMA®	86
Figura 29. Detergente biodegradable FOCA®	87
Figura 30. Detergente biodegradable PURO SOL®	88
Figura 31. Detergente biodegradable BLANCA NIEVES®	89
Figura 32. Especie de prueba.....	90
TABLAS	
Tabla 7. Mortalidad <i>Laeonereis culveri</i> con el detergente ROMA® a 48 h.....	78
Tabla 8. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente ROMA®	79
Tabla 10. Mortalidad <i>Laeonereis culveri</i> con el detergente FOCA® a 48 h.....	80
Tabla 11. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente FOCA®	81
Tabla 13. Mortalidad <i>Laeonereis culveri</i> con el detergente PURO SOL® a 48 h	82
Tabla 14. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente PURO SOL®	83
Tabla 16. Mortalidad <i>Laeonereis culveri</i> con el detergente BLANCA NIEVES® a 48 h.....	84
Tabla 17. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente BLANCA NIEVES®	85

RESUMEN

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL₅₀) DE
LOS SULFONATOS DE ALQUILBENCENO DE SODIO LINEAL (LAS)
EN *Laeonereis culveri* (POLYCHAETA).

RESUMEN

Los tensoactivos aniónicos LAS, son los más usados en una variedad de propósitos pero principalmente en detergentes comerciales y productos de limpieza de uso doméstico. Debido a su extenso uso, los LAS son constituyentes comunes en efluentes municipales y en los correspondientes medios marinos y de agua dulce que los reciben. Éstos pueden causar problemas de toxicidad en la biota acuática. Los estudios hechos sobre su comportamiento en el medio acuático son numerosos; sin embargo, el LAS en el ambiente acuático ha sido objeto de pocos estudios enfocados a su toxicidad, por lo tanto, en el presente estudio se determinó experimentalmente la toxicidad de cuatro formulaciones de detergentes domésticos biodegradables (ROMA[®], FOCA[®], PURO-SOL[®] y BLANCA NIEVES[®]), con el ingrediente activo LAS, empleando a *Laeonereis culveri* como organismo de prueba. La colecta de esta especie de poliquetos se realizó en la Bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. En el laboratorio se seleccionaron, identificaron y aclimataron por dos días previos a los bioensayos. La toxicidad aguda se determinó por medio de bioensayos de tipo estático a 48 h en condiciones de laboratorio, para efecto de evaluación de la toxicidad se determinó la concentración letal media (CL₅₀) del detergente e ingrediente activo (LAS) con sus intervalos de confianza al 95 % utilizando el método Probit mediante análisis gráfico. Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que *Laeonereis culveri* al ser expuesto a los detergentes domésticos biodegradables, presentó el siguiente orden de sensibilidad, de acuerdo a los valores medidos de la CL₅₀-48 h: FOCA[®] (Detergente: 59.56; LAS: 12.88 en ppm) > BLANCA NIEVES[®] (Detergente: 70.79; LAS: 13.03 en ppm) > ROMA[®] (Detergente: 89.12; LAS: 13.48 en ppm) > PURO SOL[®] (Detergente: 91.83; LAS: 14.12 en ppm). En cuanto al grado de toxicidad de los cuatro detergentes evaluados y de acuerdo a la clasificación en Unidades de Toxicidad, se obtuvo una escala de toxicidad, que va de ligeramente tóxico a moderadamente tóxico. Al aplicar el análisis ANOVA se encontraron diferencias significativas (p<0.05) con respecto a la toxicidad de las cuatro formulaciones de detergentes y con respecto a los diferentes niveles de concentración utilizados sobre

Laonereis culveri. El cociente de riesgo (RQ) en todos los casos fue superior a 1, lo cual indica que existe una probabilidad de que los detergentes biodegradables ocasionen daño a los organismos que habitan en el sedimento y por consiguiente al ecosistema entero. Se propone a esta especie de poliquetos como herramienta para la evaluación de riesgos ambientales por detergentes domésticos de tipo LAS.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación de los ecosistemas acuáticos es ocasionada por las actividades antropogénicas que constituyen uno de los problemas de mayor trascendencia en nuestros tiempos. Debido al continuo desarrollo urbano, agrícola e industrial las zonas costeras, ríos, bahías, lagunas y mares, se han visto amenazados ante la introducción de sustancias potencialmente tóxicas para la biota acuática, como los detergentes.

Los detergentes domésticos, se encuentran entre los contaminantes de naturaleza orgánica de mayor trascendencia a nivel mundial. Se menciona que los detergentes con un alto contenido en agua pueden provocar formación de espuma, toxicidad para la vida acuática y crecimiento inmoderado de la flora acuática por el aporte de fosfatos (SEMARNAT, 2001), provocando en algunos acuíferos eutrofización.

Las causas del impacto al ambiente por detergentes se deben principalmente al aporte continuo de aguas residuales domésticas e industriales que contienen altas concentraciones de tales productos, esto es debido a la ausencia de un eficiente tratamiento de las aguas residuales que afectan y deterioran la calidad del agua de los cuerpos receptores, ocasionando un daño severo a la fauna y flora del sistema acuático que recibe el impacto de la descarga.

Los detergentes ocasionan varios impactos sobre el ambiente (Sánchez, 2007): elevan la alcalinidad de las aguas residuales, alcanzando un pH superior a 12 debido a la sosa o potasa. Aportan altos niveles de “tripolifosfato de sodio”, uno de los principales aditivos de los detergentes. Hasta 1970, un detergente típico de lavandería contenía un 50% de tripolifosfato de sodio, desde entonces, muchos fabricantes han reducido el porcentaje de éste en su formulación. La principal problemática que tienen los tripolifosfatos es que, una vez desechado el detergente, los fosfatos pueden interactuar con el ambiente acuático, pues constituyen un elemento nutritivo de algas y plantas acuáticas y provocan la eutrofización de las aguas naturales.

Otro inconveniente de los detergentes es la producción de espuma, que viene determinada por el tipo de tensoactivo que contienen. Los tensoactivos aniónicos producen abundante espuma, los tensoactivos catiónicos producen cantidades limitadas de espuma y los tensoactivo no iónicos casi no producen espuma. Además, la formación de espuma es complementada con aditivos espumantes que se agregan en la formulación. Es importante

indicar que la formación de espuma de un detergente no tiene nada que ver con su eficacia de limpieza. En el ecosistema acuático, la espuma ocasiona interferencia entre el proceso de mezcla del oxígeno atmosférico con el agua, causando una disminución del oxígeno disuelto. También, inhibe la oxidación biológica y química, ocasionando aguas muy contaminadas con valores bajos de DBO. Este fenómeno es debido, entre otras causas, a que en presencia de detergentes las bacterias se ven rodeadas de una película del mismo que las aíslan del medio y evita su actividad. En las plantas de tratamiento provoca problemas de operación y recubre las superficies de trabajo con sedimentos que contiene altas concentraciones de detergentes, grasas, proteínas y lodos; afecta la sedimentación primaria ya que engloba partículas, haciendo que la sedimentación sea más lenta (Pérez, 1999). En el suelo ocasiona modificaciones de su permeabilidad, pH y procesos bioquímicos.

La biodegradabilidad de los detergentes domésticos es muy variable, dependiendo de su estructura química, pueden ser fácilmente descompuestos o difíciles de utilizar por las bacterias. Los fabricados con base en sulfonato de alquilbenceno de sodio ramificado (ABS) no son biodegradables por su composición molecular ramificada y por la adhesión de los anillos bencénicos a los átomos terciarios de carbono de los grupos de cadena ramificada (Fig. 1a) en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Los fabricados con base en sulfonato de alquilbenceno de sodio lineal (LAS) son biodegradables en condiciones aeróbicas, pero resistentes a la actividad bacteriana anaeróbica (Fig. 1b) (Iannacone y Alvariño, 2002). Según León *et al.* (2001), la biodegradabilidad del LAS inicia en condiciones aeróbicas y continua en condiciones anaeróbicas, aunque en esta última parte disminuye su biodisponibilidad para la biodegradación.

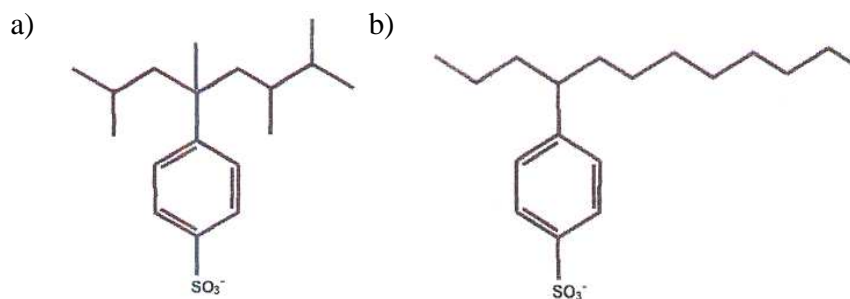


Figura 1. Ejemplo de tensoactivos aniónicos: a) sulfonato de alquilbenceno de sodio ramificado (ABS); b) sulfonato de alquilbenceno de sodio lineal (LAS) (Nimer, 2007).

En América y Europa, desde fines de los sesentas los detergentes del tipo ABS fueron reemplazados con detergentes de tipo LAS (Iannacone y Alvariño, 2002). Esto debido a los problemas que ocasionaban por su baja biodegradabilidad.

Los tensoactivos son una importante fuente de compuestos químicos de origen sintético que pueden contaminar diversos ecosistemas. Se estimó que el consumo de tensoactivos en 1998 fue de 18.000 toneladas en todo el mundo, distribuidos por un 23% de consumo en Europa, 28% en E.U.A., 32% en Canadá, 9% en Asia y Sudamérica y 8% en otras regiones (Del Valle, 2006). Por otro lado, la estimación per cápita arroja que en América Latina se consumen 4,3 Kg de productos para lavar la ropa por habitante/año, comparados con 5.5 Kg en los E.U.A. y 8.4 Kg en Europa (Muñoz, 2007).

Actualmente entre los tensoactivos más utilizados están los aniónicos LAS o ácido dodecilbenceno sulfónico lineal, ya que comprenden más del 40% de todos los tensoactivos utilizados (Scout y Jones, 2000), el resto son no iónicos, catiónicos y anfóteros. Las distintas aplicaciones del LAS representan un 70% en detergentes para lavado de ropa, un 15% para lavado manual de vajillas, un 12% para uso industrial y un 3% en productos de limpieza doméstica (Nimer, 2007). Por ello, la elección de los detergentes de tipo LAS como contaminante de objeto de estudio se basa en la dispersión que éste puede tener en los ecosistemas, tanto terrestres como acuáticos propiciando efectos de deterioro del ambiente, a consecuencia de los altos niveles de producción global, su bajo costo y utilización antrópica.

En el ecosistema acuático, los contaminantes pueden presentar interacciones complejas tanto físicas, como biológicas y químicas que influyen en su concentración y en el impacto potencial en los organismos. Los contaminantes pueden producir una gran variedad de efectos en los organismos, los cuales, aunque actúan a nivel individual, pueden ser reconocidos y evaluados a nivel celular, subcelular, de población y de comunidad, mediante métodos biológicos apropiados para cada uno de estos niveles (Salazar, 1998).

La ecotoxicología es la ciencia que describe y predice el comportamiento de las sustancias en el ambiente y las respuestas biológicas del sistema para así, finalmente evaluar el riesgo asociado con estas emisiones (Delvalls y Conradi, 2000). Los bioensayos ecotoxicológicos en el laboratorio son una herramienta esencial, ya que con un determinado organismo biológico y el uso de controles se puede predecir el efecto de las sustancias químicas tóxicas (Iannacone *et al.*, 2003).

La evaluación de riesgo ambiental es un proceso de asignación de magnitudes, rangos y probabilidades a los efectos adversos que pueden derivar del uso de sustancias químicas. Los riesgos ecológicos por lo general son juzgados basándose en el efecto sobre los organismos o la comunidad de poblaciones y en los valores finales, como la concentración letal media (CL₅₀), calculados a partir de bioensayos ecotoxicológicos. Los ensayos de toxicidad son modificados por variables como factores físicos y químicos, tiempo de exposición, agente químico y disponibilidad, demostrando que muchas especies de organismos son útiles para evaluar la ecotoxicidad del agua, suelo, afluentes y sedimentos; entre ellos las bacterias, algas, plantas acuáticas, crustáceos, insectos, moluscos, peces (Iannacone y Alvariño, 2002) y poliquetos.

Los poliquetos son un componente importante, a menudo predominante de la biota marina y estuarina. En ambientes bénticos, comprenden entre el 30 y el 75 % de todas las especies de macroinvertebrados (APHA, 1992). Poseen gran importancia en los estudios de contaminación y además han sido utilizados como organismos indicadores de contaminación (Horta, 1982). Estos organismos son importantes no solo para determinar si una zona esta contaminada, si no también el grado de contaminación. Los poliquetos se han convertido en organismos indicadores experimentales útiles en la medición de efectos agudos, crónicos y subletales, de diversos contaminantes (Salazar *et al.*, 1988). También, la razón por la que son objeto de estudio en el presente trabajo es por su importancia ecológica, ya que estos organismos son vitales para la estructura, producción, dinámica y salud del bentos y del ambiente marino. Además ayudan a la deposición, descomposición, incorporación y recambio de materia orgánica en el lecho marino, contribuyendo al reciclaje de nutrientes en la columna de agua (Báez y Ardila, 2003).

Desde el punto de vista de balance energético, constituyen una fuente de alimento valiosa para muchos organismos marinos pues participan significativamente de la cadena alimentaria de poblaciones bentónicas, y constituyen con un 80 % del alimento ingerido por algunas especies de peces de importancia económica (Amaral y Migotto, 1980).

Aun cuando la importancia ecológica de este organismo sea grande, en México es escaso el conocimiento en el uso en pruebas ecotoxicológicas, ya que esta área del conocimiento es relativamente reciente en nuestro país.

En el presente trabajo se utilizó la especie *Laeonereis culveri* (Webster, 1879) de la familia Nereididae que es una de las más importantes de la clase Polychaeta, debido a su gran diversidad y abundancia en prácticamente todos los fondos marinos de poca profundidad y debido a sus características morfológicas son los más usados como indicadores de contaminación (De León, 1997). De igual manera, el motivo de su elección como organismo de prueba es dado por su importancia ecológica, su alta sensibilidad, su tipo de alimentación, abundancia y su distribución geográfica en la Bahía de Chetumal, Quintana Roo. Así mismo, forman parte de la dieta de peces de importancia económica, macroinvertebrados bentófagos de la región, los cuales son relativamente fáciles de muestrear.

Con este estudio se pretende contribuir a un mayor conocimiento sobre el impacto de los detergentes de tipo LAS en el medio acuático, determinando la CL_{50} , el grado de toxicidad y el riesgo ecológico mediante bioensayos ecotoxicológicos, particularmente con poliquetos, a fin de que las instituciones encargadas cuenten con la información y adopten medidas de previsión pertinentes para el cuidado de la calidad del agua y la vida acuática de la Bahía de Chetumal, Quintana Roo.

1.1 Antecedentes.

El incremento de la actividad antropogénica sobre la tierra y con ésto, la industrialización y la alta demanda de diversos compuestos químicos sintéticos ha acelerado la entrada de compuestos tóxicos al ambiente, contaminando los hábitats acuáticos y terrestres (Sánchez, 2007). Por ello, se ha recurrido a estudios ecotoxicológicos para determinar los límites de perturbación de los ecosistemas, utilizando organismos indicadores como una herramienta importante para evaluar los impactos al ambiente, entre los que se encuentran los poliquetos.

Los poliquetos anélidos son organismos de prueba que han sido usados desde la década pasada en bioensayos marinos para determinar la calidad del agua y sedimento contaminados. Pero no fue sino hasta 1950 que se les dio la debida importancia y después de 1960 se extendió su uso como organismos de prueba en estudios ecotoxicológicos. Entre éstos organismos se encuentran los de la familia Nereididae que son utilizados para determinar la toxicidad de diferentes contaminantes tales como: sustancias xenobióticas y metales pesados. El primer estudio fue emprendido por Raymont y Shields (1963), quienes investigaron los efectos del cobre y cromo en *Nereis virens* en relación con un posible asentamiento de un reactor atómico en el Reino Unido. Seguidamente, Reish (1966, 1970) estudio los efectos de varias concentraciones de nutrientes, cloruros y oxígeno disuelto en cuatro especies de poliquetos los cuales fueron usados como indicadores de diversos grados de contaminación. Simmers *et al.* (1984) estudiaron el tiempo letal en que *Nereis virens* es afectada por los metales: Cd, As, Cr, Ni, Pb, Zn y Cu en los sedimentos removidos por el dragado. Los sedimentos contaminados resultaron ser tóxicos para *Nereis virens* hasta los 14 días. La dilución en el sedimento mostró absorción de Cd y Cu, pero no presentaron bioacumulación de As, Cr, Ni, Pb y Zn. Otro estudio fue realizado por Goerke (1984) con *Nereis diversicolor* y *Nereis virens* para medir la acumulación, bioconcentración y cinética de eliminación de los contaminantes persistentes. En este caso se utilizaron bifenilos policlorados (PCBc) que fueron introducidos a través del agua y los alimentos. La dosificación oral a través de los alimentos produjo una alta eficiencia de eliminación, la cual puede ser debida a la excreción o transformación bioquímica. *Nereis virens* hasta ahora ha

sido utilizado con éxito para medir la eliminación y metabolización de PCBc (Persoone *et al.*, 1984).

Con respecto a los bioensayos con detergentes, han llevado a cabo estudios con un detergente de tipo no iónico a largo plazo indicando inhibición del crecimiento para varias especies marinas, entre las que se encuentran los poliquetos *Capitella capitata* y *Scolelepis fuliginosa* (Foret, 1972); también se ha observado que los detergentes afectaron la reproducción de estas especies, ya que los experimentos demostraron una reducción de la fecundidad. También causan una desaparición progresiva de la especie, y de esta manera destruyen un eslabón de la cadena alimenticia. Finalmente alteran al ecosistema por trastornar su equilibrio, con todas las consecuencias implícitas. Entre las especies de poliquetos utilizadas en los bioensayos con detergentes están: *Ophryotrocha labroniga*; *Ophryotrocha pueriles* y *Sabellaria spinulosa* (Persoone *et al.*, 1984).

La sensibilidad de los organismos acuáticos muestra importantes variaciones de acuerdo a la especie considerada y el tipo de tensoactivo, *Daphnia magna* (pulga de agua) es el crustáceo más sensible a los tensoactivos y el más utilizado (Sánchez, 2007). En la Tabla 1 se describen los valores de las pruebas de toxicidad aguda que se han hecho con detergentes de tipo LAS utilizando diferentes organismos acuáticos.

Es importante mencionar que estudios hechos en el Departamento de Biología de la Universidad de Long Beach en Estados Unidos (Persoone *et al.*, 1984) han utilizado diferentes especies de poliquetos en estudios de toxicidad con metales, hidrocarburos, nutrientes, detergentes y otros compuestos tóxicos, expuestos a pruebas con experimentos de tipo estático y con la solución renovada en algunos casos, determinando como valor de juicio la concentración letal media (CL₅₀) a 96 h, tomando en cuenta que estas especies son habitantes de agua, especialmente de bahías, estuarios y puertos. Estos tóxicos que han sido examinados son el reflejo de las áreas de interés en el ambiente.

Tabla 1. Respuestas de toxicidad de diversos bioensayos expuestos a detergentes de tipo LAS (Iannacone y Alvariano, 2002).

Organismos biológicos	CL₅₀ (mg/L)	Referencias
Partículas submitocondriales de bovinos* (12 h)	0,6	Argese <i>et al.</i> (1997)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (pez: salmoniformes) (96 h)	13,89	León (2006)
<i>Lepomis macrochirus</i> (pez: perciformes) (96 h)	3	Argese <i>et al.</i> (1997)
<i>Daphnia magna</i> (invertebrado: cladocero) (48 h)	2,3	Argese <i>et al.</i> (1997)
<i>Ceriodaphnia dubia</i> (invertebrado: cladocero) (48h)	1,5	Morgan y Oude (1993)
<i>Daphnia magna</i> (invertebrado: cladocero) (48 h)	4-8,5	Pettersson <i>et al.</i> (2000)
<i>Selenastrum capricornutum</i> (microalga: chlorophyta) (96h)	29	Argese <i>et al.</i> (1997)
<i>Microscysti</i> sp. (microalga: chlorophyta) (96 h)	0,09	Lewis (1986)
<i>Melanoides tuberculata</i> (molusco: mesogastropoda) (48h)	201,97	Iannacone y Alvariano (2002)
<i>Physa venustula</i> (molusco: basommatophora) (48 h)	71,41	Iannacone y Alvariano (2002)
<i>Heleobia cumingii</i> (molusco: mesogastropoda) (48 h)	82,93	Iannacone y Alvariano (2002)

*= No es organismo biológico, sino un componente celular.

La Bahía de Chetumal, Quintana Roo ha sido lugar de varios estudios sobre la calidad del agua ó dirigidos al área biológica, pero pocos se han enfocado a estudiar la ecotoxicología con detergentes. En un estudio realizado de septiembre de 1993 a junio de 1994, se llevó a cabo un monitoreo mensual de las aguas residuales que llegan a la Bahía de Chetumal a través de la red pluvial sin tratamiento, observándose que las concentraciones promedio registradas para detergentes presentaron los valores más altos en los puntos de descarga y a 1 m de distancia, concluyendo que los detergentes son una fuente importante de ortofosfatos al

área (Ortiz y Sáenz, 1996). Los valores promedios de los ortofosfatos ($190 \mu\text{g/L}$ y mínimo $9\mu\text{g/L}$) y detergentes (máximo 2.86 mg/L y mínimo 0.06 mg/L) durante el ciclo de muestreo y casi en su totalidad sobrepasaron el máximo permisible establecido en los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (Pérez, 1999).

1.2 Justificación.

Actualmente, la Bahía de Chetumal es un cuerpo receptor de aguas residuales, afectado por el río Hondo, la zona urbana de Subteniente López, la ciudad de Chetumal, Calderitas y sus alrededores. Hay evidencias de descargas directas e indirectas en estas áreas de la bahía. El impacto al ambiente se debe al crecimiento demográfico de la ciudad de Chetumal, por el cual es una de las principales fuentes de descargas de aguas residuales urbanas y agro-industriales que contienen un alto contenido de detergentes, lo cual representa un problema muy grave debido a que los organismos del medio acuático son seriamente dañados a ciertos niveles de toxicidad, ya que son muy sensibles a sustancias químicas tóxicas.

La contaminación por detergentes, en especial los de tipo LAS, representan un peligro potencial para el sistema acuático que es el primero en recibir el impacto de las descargas con dicho contaminante, debido a la ausencia de un eficiente sistema de tratamiento de aguas residuales y por la dispersión que éste puede llegar a tener a consecuencia de los altos niveles de producción global y utilización antrópica.

Además, en la actualidad se cuenta con poca bibliografía especializada sobre el impacto de los detergentes de tipo LAS sobre los recursos hídricos, siendo los bioensayos de toxicidad un complemento ideal para la generación de información toxicológica que nos permita controlar y prevenir la contaminación, de tal manera que se proteja al cuerpo receptor y por consiguiente se sigan manteniendo los procesos naturales. Prueba de ello, son los estudios realizados por Álvarez *et al.* (1999) y Iannacone *et al.* (2002) que han desarrollado pruebas sobre la toxicidad de los detergentes de tipo LAS con moluscos de agua dulce del Perú. Ambos estudios destacan el riesgo ambiental de los detergentes y los consideran como sustancias potencialmente peligrosas para los ecosistemas acuáticos. Por ello, la importancia de determinar la toxicidad de cuatro detergentes domésticos de tipo LAS (ROMA[®], FOCA[®], PURO-SOL[®] y BLANCA NIEVES[®]), empleando a *Laeonereis culveri* como un organismo de prueba, el cual nos permitirá obtener más información sobre los niveles tóxicos de los detergentes de tipo LAS para nuestra región geográfica. También, que sirva como herramienta para la evaluación de riesgos ambientales por detergentes al medio acuático de la Bahía de Chetumal, Q. Roo.

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo general.

- ❖ Contribuir al conocimiento ecotoxicológico de cuatro detergentes domésticos de tipo LAS con *Leaonereis culveri*.

1.3.2 Objetivos particulares.

- ❖ Determinar la concentración letal media (CL₅₀) del tensoactivo aniónico LAS de cuatro formulaciones comerciales (ROMA[®], FOCA[®], PURO SOL[®] y BLANCA NIEVES[®]), en *Laeonereis culveri* a 48 h.
- ❖ Determinar la toxicidad de las cuatro formulaciones comerciales con el ingrediente activo LAS.
- ❖ Determinar el riesgo ecológico de las cuatro formulaciones comerciales con el ingrediente activo LAS.

1.4 Hipótesis.

- ❖ La mayoría de los detergentes domésticos de tipo LAS son tóxicos para *Laeonereis culveri*.

1.5 Área de colecta.

La Bahía de Chetumal se localiza en la parte sur del estado de Quintana Roo, Península de Yucatán, entre los 17°53' y 18°52' de longitud Norte y los 87°51' y 88°23' de longitud Oeste (Cano y Flores, 1990). Presenta aproximadamente 67 km de largo y 20 km en su parte más ancha, con un área cercana a 1100 km² (Delgado y Chavira, 1984), y es una de las bahías cerradas más grandes con que cuenta México (Fig. 2). Está formada por dos porciones, una más cercana al mar separada por los cayos de Belice, de mayor salinidad; la otra porción es de poca profundidad y de salinidad variable, se extiende 48 km al NE volviéndose angosta hacia al norte, donde desemboca el río Kik (Rosado *et al.*, 2002). Marcando la frontera entre México y Belice, el río Hondo desemboca en la bahía. La presencia de éste y de zonas inundables que la rodean le da a la bahía características estuarinas y que podría considerarse un sistema hipohalino (cuerpo de agua cuya salinidad es tan reducida como la del agua dulce). Además, por su escasa profundidad (3.28 m promedio), el movimiento de masas de agua se determina, principalmente por los vientos alisios predominantes del E y SE con una velocidad de 3 m/s promedio (Rosado *et al.*, 2002).

El tipo de clima en la zona es Aw(X')i, que corresponde a un calido subhúmedo, con lluvias en verano y parte en invierno. La oscilación térmica es menor de 5 °C y en el mes menos cálido corresponde a enero, en tanto que el de mayor temperatura fluctúa entre abril y mayo (Pérez, 1999). La bahía presenta bajas salinidades (2-26 ‰) y temperaturas de 25 a 32 °C, los valores de oxígeno disuelto son cercanos a 6.19 mg/L y el pH se ubican entre 6.3 y 9.3 con un promedio de 7.64 (Sánchez, 2007).



Figura 2. Localización geográfica de la bahía y ubicación del sitio de colecta.

CAPÍTULO II
TOXICOLOGÍA ACUÁTICA

II. TOXICOLOGÍA ACUÁTICA

2.1 Evaluación de la toxicidad acuática.

La evaluación del impacto de una sustancia química para la salud humana es muy importante pero la comprensión de su impacto en ecosistemas enteros así como de sus partes resulta primordial, por ello, la importancia de la toxicología ambiental en el estudio de los efectos de la sustancias tóxicas que se encuentran en ambientes naturales y ambientes contruidos por el hombre (Duffus, 1983).

La ecotoxicología es la rama de la toxicología, incluida en la ecología que se encarga de estudiar las consecuencias ecológicas de la contaminación de los medios naturales de un ecosistema provocadas por contaminantes naturales o sintéticos. La cual se define como una ciencia que estudia los efectos tóxicos de sustancias químicas y agentes físicos sobre los organismos vivos, especialmente sobre poblaciones y comunidades dentro de ecosistemas definidos. También incluye el estudio de las vías de transferencia de estos agentes y sus interacciones con el ambiente (Sánchez, 2006), uno de los ambientes donde los factores ambientales adversos inciden de manera más directa es en el acuático.

La toxicología acuática tiene entre sus objetivos principales evaluar el efecto de los tóxicos en diversas poblaciones y comunidades de plantas y animales que habitan en los medios de agua dulce y salada. Debido a que los productos químicos pueden aparecer en el medio natural cuando son eliminados, es necesaria la evaluación del potencial efecto tóxico sobre el ambiente. El ambiente marino y de agua dulce está formado por complejos ecosistemas como mares, ríos, lagos, pantanos y estuarios. Cada uno de estos ecosistemas contiene una biota única representada por miles de especies que a menudo están expuestas a gran variedad de tóxicos procedentes en muchos casos de procesos derivados de la actividad humana. Como consecuencia, pueden producirse toxicidad y daños irreversibles en el ambiente como la pérdida de la biodiversidad.

Las pruebas de toxicidad acuática se han llevado a cabo cada vez con más frecuencia desde los años 60 debido a las numerosas regulaciones medioambientales que se han promulgado y que requieren su uso. Otra razón para ello es el incremento de la disponibilidad de métodos estandarizados (Tabla 2) donde se dispone una gama de organismos de prueba

para determinar la calidad de las aguas y la toxicidad de sustancias xenobióticas. Esto debido a la enorme cantidad de compuestos sintetizados principalmente en las últimas décadas, que constituye una seria amenaza potencial para todos los seres vivos por el desconocimiento que se tiene acerca de sus características tóxicas.

En nuestro país la toxicología y la ecotoxicología son áreas de conocimiento de desarrollo relativamente recientes que presentan un rezago considerable, careciéndose de una normatividad en la eliminación de descargas basadas en criterios biológicos, en comparación con países desarrollados como Estados Unidos y la Unión Europea que cuentan con información documentada para su legislación.

Los estudios ecotoxicológicos que se han llevado a cabo con diferentes especies acuáticas constituyen la única forma de determinar el grado de toxicidad de efluentes y compuestos químicos aislados, ya que las pruebas físicas y químicas no resultan suficientes para la valoración de los efectos potenciales sobre la vida acuática y terrestre, así que la aplicación de métodos biológicos apropiados garantiza la conservación de los ecosistemas, como también nos permite incorporarlos como criterios en el establecimiento de normas ambientales.

Tabla 2. Ejemplos de la disponibilidad de métodos estandarizados para evaluar la toxicidad acuática (Sánchez, 2006).

APHA ^a	ASTM ^b	USEPA ^c	USEPA TSCA ^d	USEPA FIFRA ^e	OCED ^f
Ensayos de toxicidad: • Protozoos • <i>Daphnia</i> • Anélidos • Crustáceos • Insectos acuáticos • Peces • Algas • Plantas vasculares • Bacterias -bioluminiscentes Muestreo de campo	Ensayos de toxicidad: • Anfibios • Invertebrados • Peces • Rotíferos • Moluscos • Microalgas Microcosmos Bioconcentración Teratogénesis Muestreo de campo	Ensayos de toxicidad en agua dulce: • <i>Ceriodaphnia dubia</i> • <i>Daphnia pulex</i> • Trucha arcoiris • <i>Selenastrum capricornutum</i> Agua salada: • <i>Mysidopsis bahia</i> • <i>Cyprinodon variegatus</i> • <i>Menidia</i> sp. • <i>Arbacia punctulata</i> • <i>Champia parvula</i>	Ensayos de toxicidad en agua dulce: • Algas • Lentejas de agua • <i>Daphnia</i> • Peces (toxicidad y/o bioconcentración) Agua salada: • Algas • Peces (toxicidad) • Peces (bioconcentración) • Peces (primeras etapas de vida) • Ostras • Camarones	Ensayos de toxicidad en agua dulce: • Invertebrados • Peces (primeras etapas de vida) • Peces (ciclo celular) • <i>Daphnia</i> Agua salada: • Moluscos • Gambas (Decápodo) • Ostras • Peces (primeras etapas de vida) • Peces (ciclo celular)	Ensayos de toxicidad: • Algas • <i>Daphnia</i> (aguda) • Peces (aguda) • Peces (prolongada) • Peces (primeras etapas de vida) Bioacumulación

^aAmerican Public Health Association, American Public Works Association, Water Pollution Control Federation.

^bAmerican Society for Testing and Materials.

^cUS Environmental Protection Agency.

^dUS Environmental Protection Agency Toxic Substances Control Act.

^eUS Environmental Protection Agency Federal Insecticide, Fungicide, Rodenticide Act.

^fOrganization for Economic Co-operation and Development.

2.2 Pruebas de toxicidad.

Los estudios toxicológicos constituyen uno de los elementos de juicio más adecuados para la evaluación del riesgo potencial producido por contaminantes presentes en el ambiente. Para evaluar los efectos biológicos de sustancias tóxicas descargadas al ambiente acuático se han utilizado bioensayos de laboratorio (Sánchez, 2006). Un bioensayo se define como un experimento en el cual un tejido vivo, un organismo o grupos de ellos es empleado para determinar el potencial tóxico de una sustancia cualquiera de actividad desconocida (INPESCA, 2008).

Las pruebas de ecotoxicidad llevadas a cabo en el laboratorio con especies de agua dulce o salada se consideran relativamente precisas y fiables si nos basamos en la información de los resultados de toxicidad obtenidos de diferentes comparaciones. Además, realizar pruebas de ecotoxicidad en el laboratorio permite controlar diferentes parámetros tales como; oxígeno disuelto, temperatura, salinidad y pH. También, son una herramienta útil para monitorear la calidad del agua y dar alerta temprana sobre la descarga de contaminantes potencialmente dañinos.

La concentración de un contaminante tóxico justamente suficiente para matar un porcentaje (por ejemplo, 50%) de organismos de una especie determinada, en su ambiente natural y en un periodo de exposición puede estimarse con bastante precisión mediante ensayos de laboratorio debidamente realizados. Para ello, existen dos tipos básicos de pruebas de ecotoxicidad; la toxicidad aguda y la crónica. Pero el parámetro toxicológico más comúnmente empleado para evaluar el impacto ambiental de una sustancia es la toxicidad aguda (Peña *et al.*, 2001), ésta tiene la ventaja de ser relativamente sencilla, durar poco tiempo y ser económica. En cambio, los ensayos de toxicidad crónica o sub-letales son mucho más complejos y requieren mucho más tiempo para su realización y por esta razón no se llevan a cabo con frecuencia (Sánchez, 2006). Estos últimos no precisamente tienen que implicar la muerte de los organismos ensayados, sino evidenciar su respuesta de conducta, fecundidad, desarrollo y bioacumulación. Sus resultados se evalúan como CE50 (Concentración Efectiva), que es la concentración que provoca un efecto, en el 50% de los organismos evaluados.

En los bioensayos de toxicidad aguda se determina la concentración de efluentes o aguas receptoras y sustancias químicas tóxicas que producen un efecto desfavorable en un organismo de prueba durante un tiempo de exposición relativamente corto de 24 a 48 h en invertebrados o a 96 h en peces y los organismos se exponen en condiciones estáticas y de manera puntual al rango de condiciones a ensayar, en este tipo de prueba la respuesta es la mortalidad (León, 2006). Los resultados se expresan en valores de concentración letal media (CL50) que es la concentración tóxica que causa la muerte al 50% de organismos de prueba (Sánchez y Vera, 2001). El conocimiento de la toxicidad aguda de un residuo puede ser útil en la predicción y prevención de daño agudo a la vida acuática en las aguas colectoras así como en la regulación de las descargas de residuos tóxicos (APHA, 1992).

A menudo, las sustancias potencialmente tóxicas pueden encontrarse en concentraciones tan bajas o en condiciones ambientales tales que son indetectables con los métodos químicos convencionales. Pero la utilización de ensayos de toxicidad nos permiten establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y comparar la sensibilidad de una o más especies frente a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para el mismo tóxico. Es útil para la investigación básica de la toxicidad, establecer criterios o patrones de calidad de las aguas superficiales o de los efluentes, la evaluación del impacto ambiental y del riesgo ecológico, y el monitoreo de las condiciones acuáticas. La ventaja de estos métodos es que nos proporcionan información de la presencia en el agua de sustancias potencialmente tóxicas, es decir, de algún agente que pueda producir un efecto adverso en el sistema biológico, dañar su estructura o función o producir la muerte. A lo largo de los años, se han utilizado diferentes organismos en los bioensayos, desde bacterias hasta peces para realizar el control de calidad de las aguas (Sánchez, 2006).

El principio de los bioensayos se basa en la característica de los organismos para reaccionar a las condiciones ambientales, siendo importante determinar cuando tal respuesta queda fuera de los límites de la normalidad. Estas reacciones se pueden manifestar en 4 niveles de organización biológica: a) bioquímica y celular; b) individual, incluyendo a la integración de respuestas bioquímicas, fisiológicas y conductuales; c) poblacional, que

incluye alteraciones en la dinámica de poblaciones; y d) comunidades, resultando en cambios en su estructura y funcionamiento (Martínez, 1991).

Hay que tener en cuenta que los organismos empleados para los ensayos de toxicidad acuática deben presentar alta sensibilidad a los tóxicos, una amplia distribución geográfica y biología conocida, ya que al establecer las concentraciones seguras para ellos se espera extrapolar los resultados para proteger a todo el ecosistema, pero hay que tener en cuenta que las distintas especies presentan diferente sensibilidad frente a un amplio abanico de sustancias químicas.

CAPÍTULO III
SULFONATO DE ALQUILBENCENO DE
SODIO LINEAL (LAS)

III. SULFONATO DE ALQUILBENCENO DE SODIO LINEAL (LAS)

3.1 Desarrollo histórico de los detergentes.

El jabón es el agente de actividad superficial más antiguo desde el punto de vista práctico y económico, las primeras referencias datan de los Sumerios, 3000 a.C. (García, 1986). Se obtienen a partir del tratamiento de aceites o grasas (ésteres) con hidróxidos de metales alcalinos (Fig. 3). Sin embargo, debido a varios de sus inconvenientes, como la falta de resistencia a las aguas duras y saladas, la inestabilidad en soluciones ácidas y otros medios químicos y su baja solubilidad, especialmente en frío, se han desarrollado y utilizado sustitutos sintéticos (Maldonado, 1990).

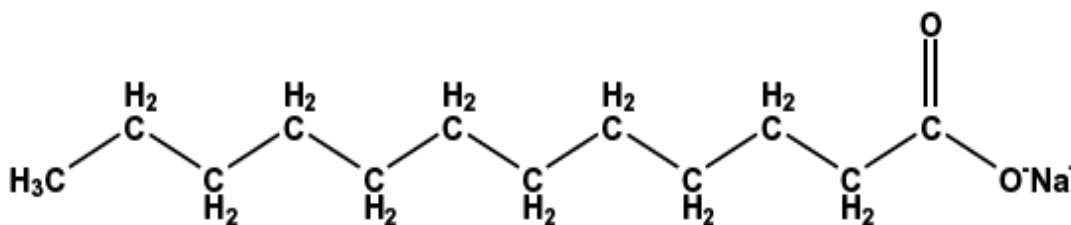


Figura 3. Estructura típica de los jabones (Nimer, 2007).

Pero no fue hasta 1917 que dos investigadores norteamericanos, Harkins y Langmuir, descubrieron casi simultáneamente que existía una clase de sustancias sintéticas equiparables a los jabones y dotadas asimismo de la propiedad de acumularse preferentemente en las superficies de las disoluciones y en una concentración mayor que en el seno de éstas. Se explicó el comportamiento de estas sustancias por su especial estructura molecular, compuesta por un grupo polar, con afinidad por el agua, y con otro grupo no polar con afinidad por las grasas. A estas sustancias se les dio el nombre de “agentes de superficie” y más tarde el de “tensoactivos” (Lechuga, 2005).

En 1928, H. Bertsch y colaboradores, utilizando un alcohol graso como materia prima, y mediante sulfatación, consiguieron la primera sustancia detergente sintética. El paso siguiente era encontrar materias primas o realizar el proceso para que fuera económicamente viable. Se asociaron diferentes compañías y desarrollaron un procedimiento para obtener

alcoholes grasos de materias primas renovables. El procedimiento fue la reducción catalítica con hidrógeno, bajo alta presión, de ésteres de ácidos grasos en alcoholes grasos. Lo cual, produjo el primer detergente formulado con sulfatos de alcoholes grasos, y fue introducido en el mercado por Henkel en Alemania en 1932 y por Procter & Gamble en USA en 1933. Posteriormente fueron apareciendo en el mercado otros productos semejantes. Por necesidades de mayor volumen de producción, aparecieron en el mercado los sulfonatos de alquilbenceno ramificados (ABS, Branched Alkylbenzene Sulphonate), el sulfonato de tetrapropilbenceno (TBS) que en 1950 satisfacía el 60% de la demanda de detergentes en el mercado mundial, pues presentaba unas propiedades deterativas muy buenas, aunque no exhibía un adecuado comportamiento en el ambiente. Una vez estudiado se comprobó que era debido a su falta de biodegradación y por ello, fue considerado como "alquilato duro" o no biodegradable. Sin embargo, en 1960, fue reemplazado por los LAS (Linear Alkylbenzene Sulphonate), el tensoactivo sintético de mayor producción mundial, debido a su biodegradabilidad (Kreienfeld y Stoll, 1997).

En la siguiente Figura 4 se pueden observar los resultados referentes a la evolución de ventas tanto de jabones como de tensoactivos sintéticos. Se evidencia un enorme aumento en la producción de los tensoactivos sintéticos. Los datos son procedentes de dos fuentes: la empresa estadounidense “*American Soap and detergent Association*” y la alemana “*Henkel & Cie*”, desde 1940 a 1972 (Chemistry & New Zealand, 2008).

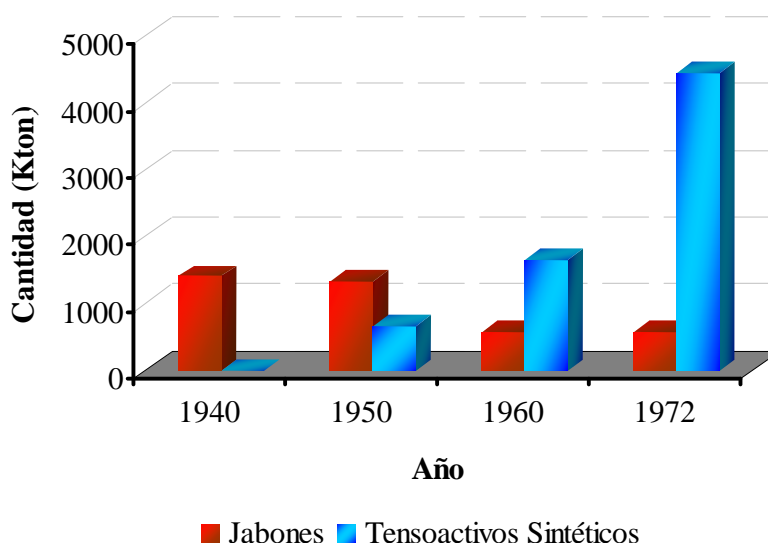


Figura 4. Evolución de la venta de jabones y tensoactivos sintéticos.

Basándose en estos valores se verifica que, inmediatamente después de la 2ª Guerra Mundial, se produce un aumento notable en la fabricación de tensoactivos sintéticos frente a la de jabones naturales, presentando estos últimos una tendencia de fabricación prácticamente constante. Actualmente los tensoactivos sintéticos son los más consumidos a nivel mundial.

3.2 Características generales y clasificación de los tensoactivos.

Los tensoactivos se incluyen dentro del grupo de compuestos anfífilos caracterizados por presentar en la misma molécula una parte hidrófoba (no polar) generalmente constituida por una cadena larga de ocho o más átomos de carbono, y una parte hidrófila (polar) que contiene heteroátomos tales como O, S, N y P, los cuales aparecen en grupos funcionales como alcohol, éter, éster, ácido, sulfonato, fosfato, amina, amida, etc. (Fig. 5).

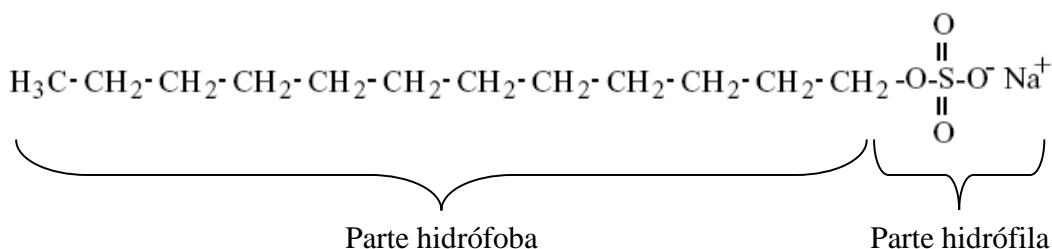


Figura 5. Molécula de dodecil éster sulfato de sodio (Salager y Fernández, 2004).

La parte hidrófila tiene afinidad por los solventes polares, particularmente el agua, mientras que la parte hidrófoba tiene afinidad por los solventes orgánicos, en particular los hidrocarburos, aceites o grasas; o simplemente es repelida por el agua.

La cadena alquímica (parte hidrófoba) esta constituida básicamente por 12 a 20 átomos de carbono y puede ser lineal o ramificada. Los grupos hidrófilos, pueden diferir bastante en su naturaleza química pudiendo ser no iónicos, iónicos (catiónicos o aniónicos) o anfóteros, lo que lleva a la clasificación de los tensoactivos en; aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros (Sánchez, 2006):

Tensoactivos aniónicos: Son los tensoactivos más utilizado en todo el mundo debido a sus características especiales, entre las que se encuentran su bajo costo de producción, su estabilidad en aguas duras, su excelente capacidad limpiadora en usos domésticos, sus diferentes aplicaciones en la industria y su elevada biodegradabilidad. Hoy en día entre los de mayor producción se encuentran los detergentes de tipo LAS, los jabones o sales de ácidos carboxílicos grasos y los espumantes como el lauril éster sulfato que representan alrededor del 55% de los tensoactivos producidos anualmente en el mundo. Se diferencian del resto por

la carga negativa de su parte polar (Véase en la Tabla 3 los principales grupos de tensoactivos aniónicos).

Tensoactivos catiónicos: Este tipo de sustancias están compuestas de una parte polar hidrófila cargada positivamente, normalmente una sal de amonio cuaternaria, amina o sal de fosfonio, unida a una zona hidrófoba que puede tener distinta naturaleza. Su uso es menos extendido, siendo utilizados principalmente en la industria textil como ablandadores de fibras, actuando sobre la fibra de algodón, adhiriéndose a ella y confiriéndole cierta lubricidad y suavidad, de aquí su utilización en formulaciones de productos suavizantes (principal aplicación). También a este tipo de compuestos se le atribuyen propiedades antibacterianas, por ello se usan en microbicidas y herbicidas. Además se usan como inhibidores de la corrosión, inhibidores de procesos de oxidación y como agentes dispersantes (Véase en la Tabla 3 los principales grupos de tensoactivos catiónicos).

Tensoactivos no iónicos: Este tipo de tensoactivos tienen una aplicación industrial algo mayor que la doméstica. Una gran parte de estos tensoactivos son alcoholes o fenoles etoxilados (lavaplatos, champús). En solución acuosa no forman iones, ya que su parte hidrofílica está formada por grupos polares no ionizados como: alcohol, tiol, éter o éster (Salager y Fernández, 2004). Este tipo de compuestos son menos sensibles a la dureza del agua que los tensoactivos aniónicos. (Véase en la Tabla 3 los principales grupos de tensoactivos no iónicos).

Tensoactivos anfóteros: Este tipo de compuestos poseen grupos funcionales que pueden ionizarse con carga negativa o positiva dependiendo de las condiciones del medio, por tanto pueden actuar como tensoactivos aniónicos o catiónicos. Pueden ser clasificados como: anfolitos y betainas. No se utilizan mucho como materia prima para los detergentes. Son compatibles con otros tipos de tensoactivos y presentan buenas propiedades espumantes y detergentes. Algunos proporcionan una excelente espumación y bajo nivel de irritabilidad cutánea y ocular, por lo que resultan muy apropiados en las formulaciones de champú. En general, los tensoactivos anfóteros son tan caros como los catiónicos y por esta razón su utilización se reduce a aplicaciones en sectores específicos como los productos cosméticos y en champús para bebés, donde su elevada biocompatibilidad y baja toxicidad son primordiales.

Tabla 3. Grupos principales de tensoactivos.

Tensoactivos	Grupos
Aniónicos	Jabones Sulfonato de alquilbenceno lineal Parafin sulfonatos Alfa Olefin sulfonatos Dialquil sulfosuccinatos Alquilsulfonatos Alquil polietter sulfatos
Catiónicos	Aminas grasas y sales Sales de amonio cuaternarias Aminas grasas polietoxiladas
No iónicos	Alquil fenoles polietoxilados Alcoholes grasos polietoxilados Ácidos grasos polietoxilados Alcanolaminas o condensados

3.3 Formulación de los detergentes; tensoactivos y componentes complementarios.

Hoy en día las formulaciones de los detergentes, tanto sólidos como líquidos, están constituidas generalmente por una gama de componentes que ayudan a mejorar el papel de los tensoactivos (contienen entre un 5-25% en peso de tensoactivo). En la Figura 6 se pueden observar los componentes en la formulación de un detergente.

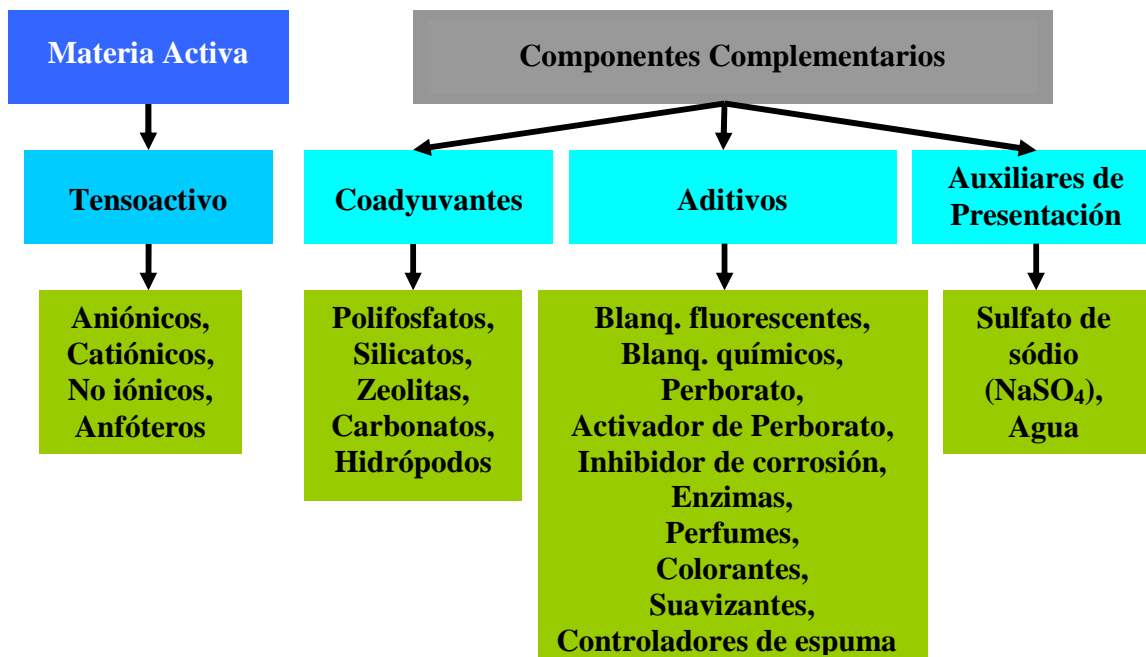


Figura 6. Componentes en la formulación de un detergente (Nimer, 2007).

Los compuestos presentes en la formulación de un detergente comercial suelen presentar efectos en la salud y riesgos ambientales en función de la cantidad empleada en su formulación específica y en su uso. En este contexto, están relacionados con problemas de eutrofización de las masas de agua, contaminación por compuestos clorados, elevación de alcalinidad/acidez de ambientes acuáticos, etc. De igual forma, pueden inducir problemas debido a su poder corrosivo. Actualmente, se encuentran en el mercado detergentes antibacterianos (que contienen agentes bactericidas). Un uso excesivo de estos detergentes permite que el agente bactericida llegue al agua, impactando sobre su microbiota y disminuyendo, por tanto, su capacidad para degradar el detergente.

3.4 Consumo y aplicación.

Los sulfonatos de alquilbenceno de sodio lineal (LAS) pertenecen a la familia de tensoactivos aniónicos. La materia prima para la fabricación de los LAS son los alquilbencenos lineales (LAB), los cuales son producidos industrialmente a través de procesos que difieren en su forma de alquilación del benceno (Lechuga, 2005).

El consumo mundial del LAS en el año 2005 fue de 2.5 millones de toneladas, habiendo una proyección de consumo de cerca de 3.4 millones de toneladas para el año 2010, cifras que ponen de manifiesto que el LAS es uno de los tensoactivos más utilizado en el mercado mundial de detergentes después del jabón (Nimer, 2007). Las razones del aumento tan espectacular de su consumo son las que se describen a continuación, también se cita su inconveniente (Perales, 2001):

- ❖ Poseen características generales de buen tensoactivo.
- ❖ Son muy versátiles, ya que se usan prácticamente en todos los tipos de detergentes domésticos e industriales.
- ❖ Son seguros en el medio ambiente a corto y largo plazo.
- ❖ Poseen elevada biodegradabilidad.
- ❖ Las materias primas requeridas para su síntesis resultan económicas.
- ❖ Fácilmente transportable, manipulable y almacenable.
- ❖ Su comportamiento en agua es bueno: para aguas con bajos niveles de dureza se comporta de forma similar al jabón, para aguas duras se comportan mejor.

Entre su inconveniente, se puede citar:

- ❖ Se obtiene a partir del petróleo.

Entre sus aplicaciones, es empleado en diversos tipos de formulaciones de detergentes que representan un 70% para lavado de ropa, un 15% para lavado manual de vajillas, un 12% para uso industrial e institucional (lavado de ropas y limpieza de superficies) y un 3% en productos de limpieza doméstica (Nimer, 2007). Así como también es empleado en plaguicidas agrícolas, en la preparación de emulsiones para fluidos lubricantes, y en el procesamiento de metales y flotación de minerales (Sánchez, 2007).

3.5 Propiedades físicas y químicas.

A continuación en la Tabla 4 se presentan las principales propiedades físicas y químicas del LAS.

Tabla 4. Principales propiedades físicas y químicas del LAS (Sánchez, 2007).

VARIABLE	VALOR
Nombre del compuesto y abreviatura	Sulfonato de Alquilbenceno de Sodio Lineal (LAS; LAS-Na)
Aspecto físico	Pasta blanca con contenido en agua
Peso molecular (g/mol)	342.4
Longitud media de la cadena alquil	11.8
Distribución de la cadena alquil	C10 (10-15%), C11 (25-35%), C12 (25-35%), C13 (15-30%), C14 (0-15%)
Presión de vapor a 25 °C (Pa)	$(3-7) \cdot 10^{-13}$, valor referido al homólogo C12
Punto de fusión (°C)	277
Punto de ebullición (°C)	637
Coefficiente de partición en octanol-agua (K_{ow})	3.32
Solubilidad en agua (g/L)	250
Densidad (Kg/L)	1.06
Viscosidad (centipoises a 25 °C)	En torno a 1000

Hay que tener en cuenta que la solubilidad del LAS va a depender de la longitud de la cadena alquímica y del proceso de fabricación. A medida que aumenta la longitud de la cadena de carbono unida al anillo bencénico disminuye la solubilidad en agua (Fig. 7).

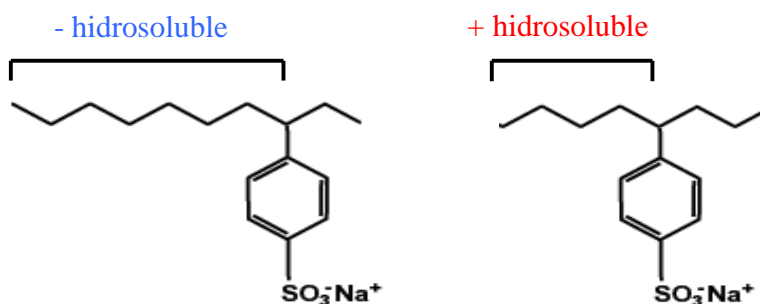


Figura 7. Efecto de la posición del anillo bencénico a medida que la longitud de la cadena de carbono aumenta.

Otra de las características de los LAS que señala Sánchez (2007), es la:

Concentración micelar crítica (CMC): Es la propiedad característica de sustancias con carácter anfipático, como es el caso del LAS. Este tipo de moléculas con regiones lipofílicas e hidrofílicas poseen un comportamiento particular cuando se encuentran en disolución, ya que cada zona de la molécula con diferente solubilidad trata de distribuirse en el medio (sea acuoso o no) de manera que las colas lipofílicas se agrupan entre sí, al igual que los grupos hidrofílicos. De esta manera, a partir de una determinada concentración se genera un conglomerado de estructura definida que recibe el nombre de ‘micela’ (Fig. 8). Estas micelas pueden tener geometría esférica (a bajas concentraciones) o elipsoidal (a altas concentraciones). Las propiedades especiales de las micelas les confieren un alto poder solubilizante de sustancias insolubles en fase acuosa, además de una importante capacidad de solubilización selectiva de diferentes especies químicas. Para la mezcla comercial de LAS, el valor de CMC varía de 160 a 400 $\mu\text{g/ml}$ (Nimer, 2007).

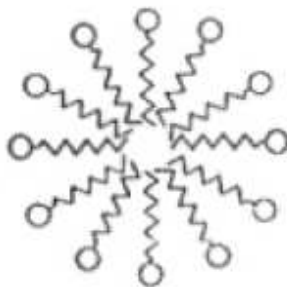


Figura 8. Representación de una micela (Maldonado, 1990).

3.6 Efectos del LAS en organismos acuáticos.

Actualmente el incremento en el consumo de LAS para la fabricación de detergentes, propicia un aumento de la frecuencia de incorporación de los mismos a las aguas de los vertidos domésticos e industriales, existiendo un peligro potencial de afectar negativamente la calidad de las aguas.

También está demostrado que la introducción de trazas de detergentes en ríos, lagos y embalses puede ser asimilada y acumulada por los organismos acuáticos residentes, convirtiendo a los detergentes en una de las fuentes de contaminación más agresivas de nuestros días (León, 2006).

En general el efecto tóxico de los detergentes en los organismos acuáticos es causado por la acción de agentes químicos a nivel de receptores celulares de las estructuras branquiales, que tienen como función principal el intercambio de oxígeno (Álvarez *et al.*, 1999).

Los tensoactivos aniónicos por si mismos presentan una marcada actividad biológica, ya sea mediante la unión con varios tipos de moléculas bioactivas como el almidón, las proteínas, los péptidos y el ADN o mediante la inserción en varios fragmentos celulares (i.e. membrana de fosfolípidos) produciendo perturbaciones en su funcionamiento (Sánchez, 2007).

El LAS en particular puede ser causante de varios efectos sobre las membranas celulares y proteínas debido a su actividad superficial (Schwuger y Bartnik, 1999). Además, se ha demostrado que la despolarización de la membrana celular por absorción de detergentes dificulta la eliminación hacia el medio extracelular de metabolitos tóxicos, lo cual puede llevar a los organismos al colapso (Hartmann, 1966).

El carácter anfifilo de los tensoactivos aniónicos facilita su acumulación en los organismos vivos. La parte cargada negativamente puede unirse a subestructuras moleculares cargadas positivamente por fuerzas electrostáticas, mientras que la parte hidrófoba puede unirse con las partes no polares de los órganos u organismos mediante fuerzas hidrófobas. La modificación de la estructura de las proteínas y el mal funcionamiento de las enzimas y de las membranas fosfolipídicas inducidas por los tensoactivos aniónicos causan síntomas tóxicos en órganos y organismos animales (Sánchez, 2007).

Entre los organismos más utilizados para investigar los efectos del LAS, se encuentran; algas, moluscos, invertebrados y sobre todo peces. Por citar un ejemplo, estos estudios han determinado que los detergentes potencian los efectos dañinos de otros contaminantes al remover la capa de mucosidad que cubre al pez, promoviendo el desarrollo de hongos y protozoarios patógenos (Malagriño y Almeida, 1987). Un ejemplo de ello, es el estudio hecho con la “trucha arco iris” *Oncorhynchus mykiss* que es una especie altamente sensible a la contaminación de su hábitat, ya que los detergentes producen en ellas necrosis y alteraciones en el funcionamiento de las branquias, lo que en altas concentraciones o exposiciones prolongadas causa la asfixia y muerte del pez (Wang y Huang, 1999). Además, se ha determinado que el LAS fácilmente es absorbido por las agallas y la superficie del cuerpo del pez y posteriormente es distribuido en la sangre, a los órganos y tejidos; la mayor parte de LAS se acumula en la vesícula biliar y hepatopancreas (IPCS, 2008).

También, se ha demostrado que la exposición del LAS en moluscos indica que el detergente aún siendo biodegradable, a tiempos cortos de exposición altera la tasa respiratoria e incrementa el consumo de oxígeno y velocidad de la tasa de filtración a medida que la concentración de detergente se incrementa. Esto es por que los agentes químicos causan irritación de los tejidos branquiales y dificultan sus funciones (Álvarez *et al.*, 1999). Los resultados observados indican que por exposición al detergente los tejidos branquiales realizan secreción de mucus en exceso. Esta secreción incrementaría el consumo de oxígeno (Colt y Armstrong 1981), en tanto que por la actividad de los cilios branquiales y por acumulación de detergente, aumentaría la velocidad de filtración, puesto que el volumen de alimento apto para los moluscos es en parte determinado por el volumen de agua transportada a través de sus branquias y en parte por la acumulación de partículas (Griffiths 1980).

Incluso estudios realizados a nivel subcelular indican que el LAS afecta las actividades enzimáticas de la catalasa (CAT), la fosfatasa ácida (AcP) y la alcalina (ALP). Un organismo en condiciones fisiológicas normales genera especies reactivas de oxígeno procedentes del metabolismo de compuestos xenobióticos. Estas especies son eliminadas por el sistema de defensa antioxidante, del cual forma parte la CAT, que facilita la eliminación de peróxido de hidrógeno. Una alteración en el sistema de defensas antioxidante puede llevar a la aparición de daño oxidativo, como por ejemplo la peroxidación lipídica. Las enzimas antioxidantes o de estrés oxidativo, como la catalasa, desempeñan un papel fundamental en la

homeostasis celular y la inducción de las mismas se refleja como una respuesta específica a contaminantes (Álvarez *et al.*, 2006). Las enzimas están implicadas en procesos de permeabilidad, crecimiento y diferenciación celular, síntesis de proteínas, absorción y transporte de nutrientes, maduración gonadal y esteroidogénesis (Ram y Sathyanesan, 1985). Según Blasco *et al.* (1999), en un estudio *in vitro* realizado con *R. philippinarum* (molusco) donde el organismo fue expuesto a una mezcla de homólogos de LAS (0–100 mg/L), se observó una fuerte inhibición de AcP tanto en la glándula digestiva como en las branquias. En peces, una concentración de 100 mg/L provocó una inhibición significativa de ALP en branquias e hígado de *Channa punctatus* y *Cyprinus Carpio*.

Por último, se considera que los tensoactivos aniónicos lineales son biodegradables en un 95% en condiciones aeróbicas (Berna *et al.*, 1989) pero son agresivos para los ecosistemas acuáticos al no ser degradados bajo condiciones anaeróbicas, existiendo la posibilidad de que se acumulen en los sedimentos (Wolf y Feijtel, 1998), por lo que se considera que el riesgo ambiental por la presencia de los detergentes en el ambiente acuático podría ser elevado.

CAPÍTULO IV
MATERIALES Y MÉTODOS

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Método de Campo.

Se realizaron muestreos en la Bahía de Chetumal con el propósito de recolectar organismos de *Laeonereis culveri*, sedimento y agua para aclimatarlos, y posteriormente para su utilización en los bioensayos con detergentes.

El biomonitoreo “Análisis de las comunidades de poliquetos béticos como biomonitores de enriquecimiento orgánico en la Bahía de Chetumal, Quintana Roo” (Delgado *et al.*, 2006), describe los sitios con mayor diversidad y abundancia de organismos, por lo tanto, con base en estos resultados se estableció el sitio de colecta de los organismos de prueba. La estación de muestreo se estableció frente al Congreso del Estado (18°29'33.98" LN - 88°17'36.59" LO) (Fig. 2) a 10 m de la línea de costa, en zona sin descarga de aguas residuales.

Para la colecta de los organismos vivos de las muestras de sedimento se utilizó un nucleador de PVC de 11 cm de diámetro y 25 cm de largo. Posteriormente la muestra se tamizó a través de una abertura de malla de 1 y 0.5 mm, y se extrajeron los organismos por medio de pipetas de plástico de 3 ml de capacidad de succión, con el fin de poder manipularlos fácilmente y evitar su fragmentación o estrés. Únicamente se recolectaron organismos pertenecientes a Nereididae y el resto del material biológico se regresó a su medio. Posteriormente, cada organismo fue colocado en un vial con agua del sitio de muestreo, con la finalidad de no saturar el vial y enrollarse con varios organismos y evitar estresarlos. Seguidamente, se colocaron en una nevera (sin hielo) para su transporte al laboratorio.

Así como también, con el nucleador se extrajo sedimento del sitio de muestreo y se transportó en bolsas de plástico para los bioensayos. Por último, se midió la salinidad del sitio de colecta para que en los bioensayos se mantuvieran a las mismas concentraciones, ya que fue el único parámetro controlado.

4.2 Laboratorio.

4.2.1 Selección, identificación y aclimatación de los organismos.

En el laboratorio se procedió a la selección de los organismos adultos que no fueron dañados (fragmentados, pálidos y con poco movimiento) durante la colecta y con un tamaño de aproximadamente de 15 a 20 mm. Se identificó a la especie de estudio mediante un estereoscopio y un microscopio óptico mediante las claves de González-Escalante y Salazar-Vallejo (2002); posteriormente se colocaron en peceras de vidrio (3 L de capacidad de agua) aireadas con sedimento y agua del sitio de muestreo, conservándolos a temperatura de laboratorio, ciclo de luz; oscuridad natural, donde se aclimataron por 2 días previos a los bioensayos. En el período del tratamiento y prueba, no se les proporcionó alimento a los organismos; sin embargo, los nereididos tienen la capacidad de consumir detritos presente en el sedimento.

Durante el periodo de aclimatación se midió la temperatura con un termómetro de mercurio, siendo el rango de temperatura de 25 ± 1 °C, el oxígeno disuelto se midió con un Oxímetro Analítico donde se obtuvo un rango de 10 ± 1 mg/L, el pH fue de 7.8 ± 0.1 y se midió con un potenciómetro, finalmente la salinidad se mantuvo constante en 10 ‰ y se midió con un refractómetro.

4.2.2 Preparación del sedimento.

Para la utilización del sedimento en las pruebas ecotoxicológicas, se tuvo que tamizar con una abertura de malla de 0.5 mm para extraer los posibles organismos que pudieran estar presentes en la muestra. Después de tamizada la muestra se procedió a darle un tiempo de 45 min. para su precipitación. Posteriormente, con un sifón se extrajo el agua excedente de la palangana para así extraer el sedimento. Por último, el sedimento colectado fue refrigerado a 4°C durante 48 h para evitar posibles reacciones de oxidación y reducción de bacterias, además para eliminar algún otro organismo no deseado para el estudio. Después se pesaron 1800 g de sedimento húmedo y se colocaron en seis bioensayos con sus tres réplicas (18 peceras en total). Cada pecera contenía 100 g de sedimento que equivale a 5 mm de espesor de sedimento, tratando que este grosor sea el mínimo a que puede estar expuesto un organismo en su medio natural, como también efectuar una búsqueda rápida de los organismos finalizando cada bioensayo. La capacidad de las peceras fue de 10 x 15 x 22 cm.

4.2.3 Preparación del agua salina.

Se utilizó agua de garrafón y sal marina “Oceanic” para preparar el agua de las peceras para los bioensayos. Esto con el objetivo de descartar cualquier posible tóxico.

La salinidad que se utilizó en los bioensayos fue de 10 ‰, la misma del sitio de muestreo.

4.2.4 Preparación de la solución madre.

Los detergentes que se utilizaron fueron: ROMA[®], FOCA[®], PURO-SOL[®] y BLANCA NIEVES[®]. En todos los casos el ingrediente activo de la mezcla compleja de los tensoactivos homólogos e isómeros es el sulfonato de alquilbenceno de sodio lineal, con una longitud media de la cadena alquil de C_{11.8}, que corresponde a los tensoactivos llamados blandos o LAS.

Para cada detergente se preparó una solución madre al 0.3% (3g) del producto en 1L de agua destilada. A partir de esta solución se prepararon las diferentes concentraciones nominales para los ensayos ecotoxicológicos. En la determinación de las concentraciones a utilizar, se realizó previamente una prueba exploratoria donde la concentración más alta (donde se detectó el 86.67% de mortalidad de los organismos expuestos) se multiplicó por un factor constante (0.5) para obtener las concentraciones uniformemente espaciadas dentro de una escala logarítmica, las cuales fueron: 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250 ppm (Anexos Fig. 9). Posteriormente, se llevó a cabo la determinación de las Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM) a la solución madre de cada detergente para obtener las equivalencias en LAS de las concentraciones utilizadas. El método de análisis que se utilizó fue el que establece la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-039-SCFI-2001.

4.2.5 Preparación del bioensayo.

En cada pecera con sedimento previamente pesado y volumen de agua salina graduada, se colocaron 10 organismos de *Laeonereis culveri* por cada réplica, tomados al azar, empleando un total de 180 organismos por cada cámara de bioensayo (Anexos Fig. 9), posteriormente se esperó un tiempo de 30 min. para que los organismos se introdujeran en el sedimento, después se procedió a diluir la solución tóxica en los bioensayos.

4.2.6 Preparación de las disoluciones de prueba.

Para obtener las concentraciones deseadas a la que fueron expuestos los organismos de prueba en cada cámara de bioensayo, se determinaron previamente las cantidades exactas a utilizar de agua salina y solución madre. Las cantidades exactas de volúmenes fueron: las tres réplicas del bioensayo 1 ocuparon 1989.59 ml de agua salina y se diluyeron 10.41 ml de la solución madre del detergente en cada una, obteniéndose la primera concentración deseada de 15.62 ppm; las tres réplicas del bioensayo 2 ocuparon 1979.17 ml de agua salina y se diluyeron 20.83 ml de la solución madre para obtener la segunda concentración deseada de 31.25 ppm; las tres réplicas del bioensayo 3 ocuparon 1958.33 ml de agua salina y se diluyeron 41.67 ml de la solución madre para obtener la tercera concentración deseada de 62.5 ppm; las tres réplicas del bioensayo 4 ocuparon 1916.67 ml de agua salina y se diluyeron 83.33 ml de la solución madre para obtener la cuarta concentración deseada de 125 ppm; las tres réplicas del bioensayo 5 ocuparon 1833.33 ml de agua salina y se diluyeron 166.37 ml de la solución madre para obtener la última concentración deseada de 250 ppm. Por cada cámara de bioensayo, se utilizó un control de tres réplicas sin detergente. Véase en Anexos las Figuras 10, 11, 12 y 13 donde se esquematizan las concentraciones de las cámaras de bioensayos que se llevaron a cabo. En todas las peceras se contó con un volumen total de 2 litros (agua salina más la disolución de prueba).

4.2.7 Realización de las pruebas de toxicidad.

En cada cámara de bioensayo se realizaron las lecturas de mortalidad a la 1, 2, 4, 8, 18, 24, 36 y 48 h de exposición. Se consideraron como organismos muertos a los organismos con coloración pálida, hinchados y que yacían inmóviles en la superficie del sedimento (APHA, 1992). Tan pronto como se detectaron los organismos muertos, fueron retirados.

Al término de cada prueba se tuvo que tamizar el sedimento de cada réplica para descartar cualquier posible organismo muerto que no se hubiera tomado en cuenta y ver si coincidía el número de organismos utilizados con los resultados de mortalidad más los organismos vivos encontrados.

La mortalidad resultante dentro de los grupos control no debe ser superior al 10 %, de lo contrario la prueba no es válida.

4.2.8 Parámetros físico-químicos.

Al inicio y término de los bioensayos se registraron en cada una de las réplicas del grupo control como también en los experimentales los siguientes parámetros: pH, temperatura, salinidad y oxígeno disuelto, por medio de un potenciómetro, termómetro de mercurio, refractómetro y oxímetro respectivamente.

4.3 Cálculo de la concentración letal media (CL₅₀).

Para el cálculo de la CL₅₀ y sus intervalos de confianza al 95% a 48 h de exposición a los detergentes de tipo LAS en *Laeonereis culveri*, se utilizó el método Probit mediante análisis gráfico (APHA, 1992). El procedimiento que se llevó a cabo fue el establecido mediante el protocolo aprobado por la normatividad nacional, a través de la Norma Mexicana NMX-AA-087-1995-SCFI. Los resultados obtenidos se graficaron mediante curvas de regresión Probit Empírico contra Log de la Concentración mediante el programa Microsoft Office Excel 2003, con sus respectivos límites de confianza.

4.4 Estimación del grado de toxicidad.

Siguiendo con el procedimiento de la Norma Mexicana NMX-AA-087-1995-SCFI como referencia para el cálculo de la toxicidad de los detergentes, se procedió a calcular las Unidades de Toxicidad aguda (UT), cuyo valor se calcula a partir de la CL₅₀, con la siguiente fórmula:

$$UT = (1 / CL_{50}) * 100$$

Posteriormente, para clasificar el grado de toxicidad de los detergentes se obtuvieron las Unidades de Toxicidad aguda (UT) de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 5. Clasificación de toxicidad basada en Unidades de Toxicidad (Saldaña *et al.*, 2002).

Clasificación	Toxicidad (UT)
Altamente tóxico	> 4
Tóxico	2 – 4
Moderadamente tóxico	1.33 – 1.99
Ligeramente tóxico	< 1.33

4.5 Análisis estadístico.

Para el análisis de los datos obtenidos de las pruebas de toxicidad aguda, se aplicó previamente un análisis exploratorio (estadística descriptiva), con la finalidad de conocer el comportamiento general de los datos. Posteriormente, se procedió a aplicar el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (marca de detergente y concentración de detergente), con un diseño de bloques completo al azar, con el propósito de analizar las diferencias entre las cuatro marcas de detergentes evaluados y las diferencias entre las concentraciones, considerando como variable de respuesta la mortalidad de *Laeonereis culveri* a 48 h de exposición a los detergentes de tipo LAS. El nivel de confianza considerado para este trabajo fue del 95%. Para ello, se procedió a formular las siguientes hipótesis de trabajo:

- Hipótesis nula = H_0 : No se encontró suficiente evidencia para demostrar que la mortalidad es diferente entre las marcas de detergentes.
- Hipótesis alterna = H_A : Existe diferencia significativa de la mortalidad entre las marcas de detergentes.
- Hipótesis nula = H_0 : No se encontró suficiente evidencia de la mortalidad entre las diferentes concentraciones de cada marca de detergente.
- Hipótesis alterna = H_A : Existe diferencia significativa de la mortalidad entre las diferentes concentraciones de cada marca de detergente.

Al denotarse diferencias estadísticas se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el paquete Statistica versión 5.5[®].

4.6 Estimación del riesgo ecológico (RE).

La caracterización del riesgo ecológico corresponde a la fase final del presente estudio, se realiza sobre la base de la integración de los datos de laboratorio y estimaciones teóricas de posibles efectos. El riesgo puede expresarse como la probabilidad de que un efecto adverso pueda ocurrir como resultado de la exposición a un determinado contaminante.

Para estimar el riesgo ecológico se utilizó el método recomendado por la APHA, el que consiste en dividir la concentración prevista en el ambiente (exposición), con la concentración que produce un efecto ambiental inaceptable (efecto) (León, 2006). El riesgo de detergentes en sistemas acuáticos es calculado como el cociente PEC/PNEC que es empleado como un indicador de riesgo y se trata de una expresión cualitativa del riesgo (Varela, 2005).

- ❖ **PEC (Concentración ambiental prevista).**- Concentración teórica de un tóxico al que es expuesto el ambiente. El procedimiento más comúnmente empleado para determinar la exposición es utilizando la química analítica, donde se obtienen las concentraciones del tóxico en los sustratos y los medios acuáticos. En los componentes biológicos del ecosistema cada sustancia tóxica presenta un diferente valor PEC (HERA, 2005) (Tabla 6).

Tabla 6. Valores PEC para LAS en diferentes medios (Sánchez, 2007).

MEDIOS	PEC
Medio acuático (mg/L)	0.047
Sedimentos (mg/Kg)	5.3

- ❖ **PNEC (Concentración ambiental sin efectos previstos).**- Concentración bajo la cual un efecto inaceptable no pareciera ocurrir. Para calcular el PNEC a partir del CL_{50} se utilizó el factor de incertidumbre 100 usado por la EPA para datos de toxicidad aguda ($LC_{50}/100$) (León, 2006).

Un cociente de riesgo ($RQ = PEC/PNEC$) mayor o igual a 1 indica que hay probabilidad que los detergentes causen daño en el ecosistema. La relación entre ambas se toma como una medida de la probabilidad de que ocurrirá un daño.

CAPÍTULO V
RESULTADOS

V. RESULTADOS

5.1 Evaluación de los efectos.

5.1.1 Bioensayo con el detergente ROMA®.

La prueba de toxicidad aguda nos permitió determinar la mortalidad en cada una de las concentraciones (Anexos Tabla 7) y las condiciones físico-químicas involucradas (Anexos Tabla 8). La CL₅₀ del detergente ROMA® para *Laonereis culveri* fue de 89.12 ppm, obteniéndose a 48 h de exposición (Fig. 14) con un intervalo de confianza al 95% de ± 16.92; igualmente se determinó la CL₅₀ del ingrediente activo LAS siendo de 13.48 ppm (Fig. 15) con un intervalo de confianza del 95% de ± 20.18. Registrándose en ambos casos una mortalidad del 76.67% en la mayor concentración (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados de toxicidad del detergente ROMA®.

Concentración de detergente en ppm	LAS en ppm	No. organismos expuestos por concentración	No. organismos muertos por concentración	% Mortalidad por concentración
250	37.5	30	23	76.67
125	18.75	30	21	70
62.5	9.37	30	16	53.33
31.25	4.69	30	3	10
15.62	2.34	30	1	3.33
Control	0	30	0	0

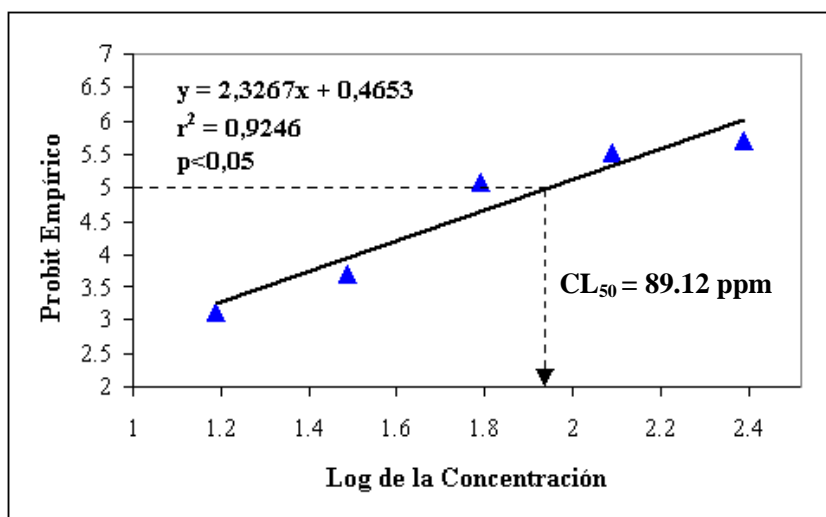


Figura 14. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente ROMA® y estimación de la CL₅₀ a 48 h en *Laonereis culveri*.

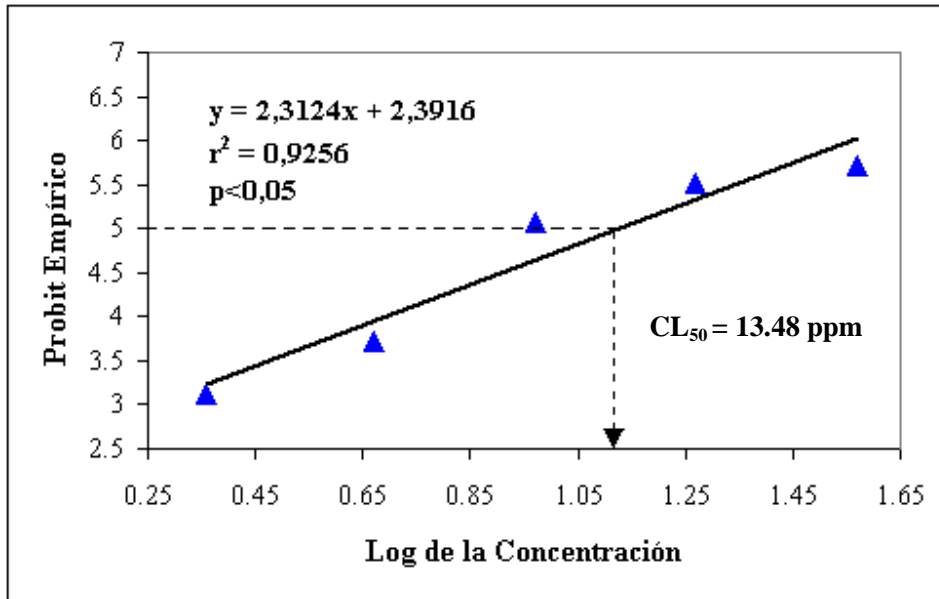


Figura 15. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente ROMA[®] y estimación de la CL_{50} 48 h *Laonereis culveri*.

5.1.2 Bioensayo con el detergente FOCA®.

La prueba de toxicidad aguda nos permitió determinar la mortalidad en cada una de las concentraciones (Anexos Tabla 10) y las condiciones físico-químicas involucradas (Anexos Tabla 11). La CL₅₀ del detergente FOCA® para *Laonereis culveri* fue de 59.56 ppm, obteniéndose a 48 h de exposición (Fig. 16) con un intervalo de confianza al 95% de ± 8.97; igualmente se determinó la CL₅₀ del ingrediente activo LAS siendo de 12.88 ppm (Fig. 17) con un intervalo de confianza del 95% de ± 3.25. Registrándose en ambos casos una mortalidad del 83.33% en la mayor concentración (Tabla 12).

Tabla 12. Resultados de toxicidad del detergente FOCA®.

Concentración de detergente en ppm	LAS en ppm	No. organismos expuestos por concentración	No. organismos muertos por concentración	% Mortalidad por concentración
250	55	30	25	83.33
125	27.5	30	22	73.33
62.5	13.75	30	17	56.67
31.25	6.87	30	10	33.33
15.62	3.43	30	4	13.33
Control	0	30	0	0

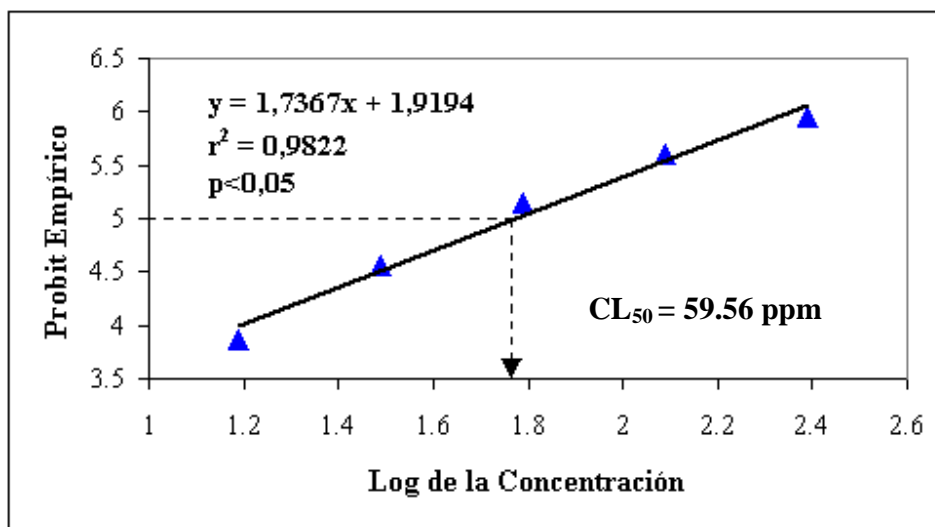


Figura 16. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente FOCA® y estimación de la CL₅₀ 48 h en *Laonereis culveri*.

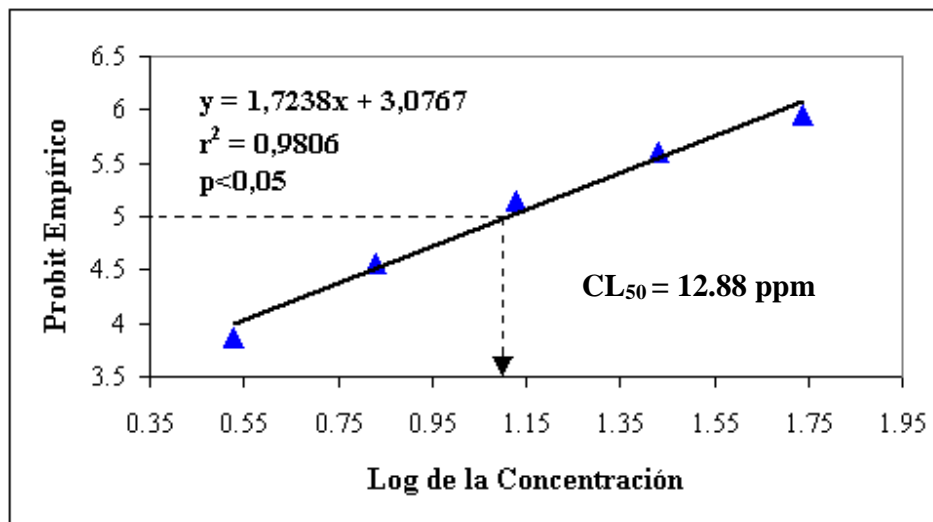


Figura 17. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente FOCA[®] y estimación de la CL_{50} 48 h *Laeonereis culveri*.

5.1.3 Bioensayo con el detergente PURO SOL®.

La prueba de toxicidad aguda nos permitió determinar la mortalidad en cada una de las concentraciones (Anexos Tabla 13) y las condiciones físico-químicas involucradas (Anexos Tabla 14). La CL₅₀ del detergente PURO SOL® para *Laonereis culveri* fue de 91.83 ppm, obteniéndose a 48 h de exposición (Fig. 18), con un intervalo de confianza al 95% de ± 14.61; igualmente se determinó la CL₅₀ del ingrediente activo LAS siendo de 14.12 ppm (Fig. 19) con un intervalo de confianza del 95% de ± 12.32. Registrándose en ambos casos una mortalidad del 73.33% en la mayor concentración (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados de toxicidad del detergente PURO SOL®.

Concentración de detergente en ppm	LAS en ppm	No. organismos expuestos por concentración	No. organismos muertos por concentración	% Mortalidad por concentración
250	38.2	30	22	73.33
125	19.1	30	20	66.67
62.5	9.55	30	16	53.33
31.25	4.78	30	4	13.33
15.62	2.38	30	1	3.33
Control	0	30	0	0

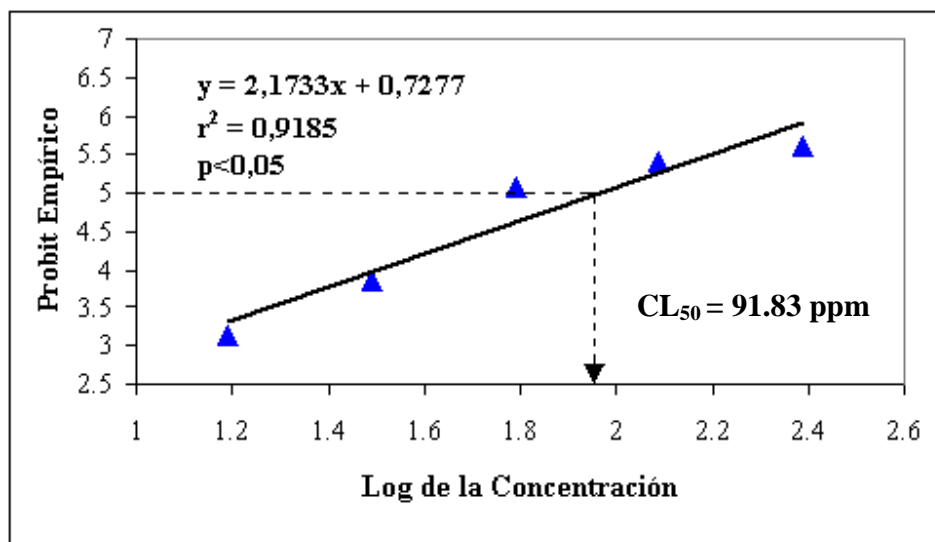


Figura 18. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente PURO SOL® y estimación de la CL₅₀ 48 h *Laonereis culveri*.

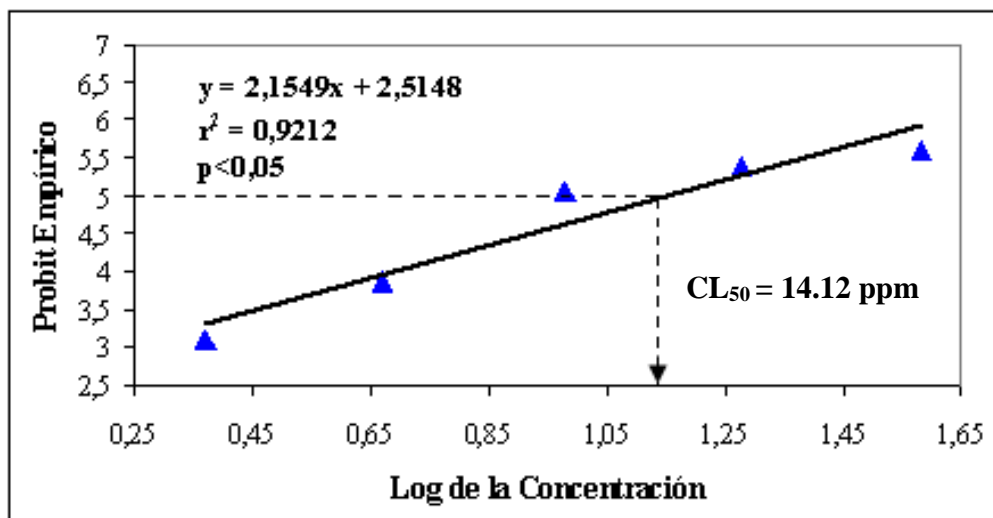


Figura 19. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente PURO SOL[®] y estimación de la CL₅₀ 48 h *Laonereis culveri*.

5.1.4 Bioensayo con el detergente BLANCA NIEVES®.

La prueba de toxicidad aguda nos permitió determinar la mortalidad en cada una de las concentraciones (Anexos Tabla 16) y las condiciones físico-químicas involucradas (Anexos Tabla 17). La CL₅₀ del detergente BLANCA NIEVES® para *Laonereis culveri* fue de 70.79 ppm, obteniéndose a 48 h de exposición (Fig. 20) con un intervalo de confianza al 95% de ± 9.96, igualmente se determinó la CL₅₀ del ingrediente activo LAS siendo de 13.03 ppm (Fig. 21) con un intervalo de confianza del 95% de ± 5.48 Registrándose en ambos casos una mortalidad del 80% en la mayor concentración (Tablas 18).

Tabla 18. Resultados de toxicidad del detergente BLANCA NIEVES®.

Concentración de detergente en ppm	LAS en ppm	No. Organismos expuestos por concentración	No. Organismos muertos por concentración	% Mortalidad por concentración
250	46	30	24	80
125	23	30	21	70
62.5	11.5	30	18	60
31.25	5.75	30	8	26.67
15.62	2.87	30	2	6.67
Control	0	30	0	0

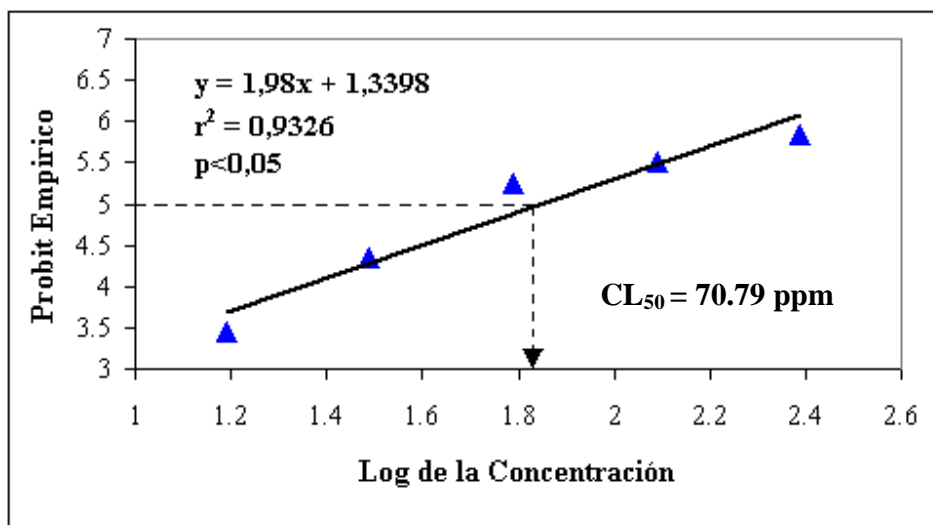


Figura 20. Probit Empírico contra Log de la Concentración del detergente BLANCA NIEVES® y estimación de la CL₅₀ 48 h *Laonereis culveri*.

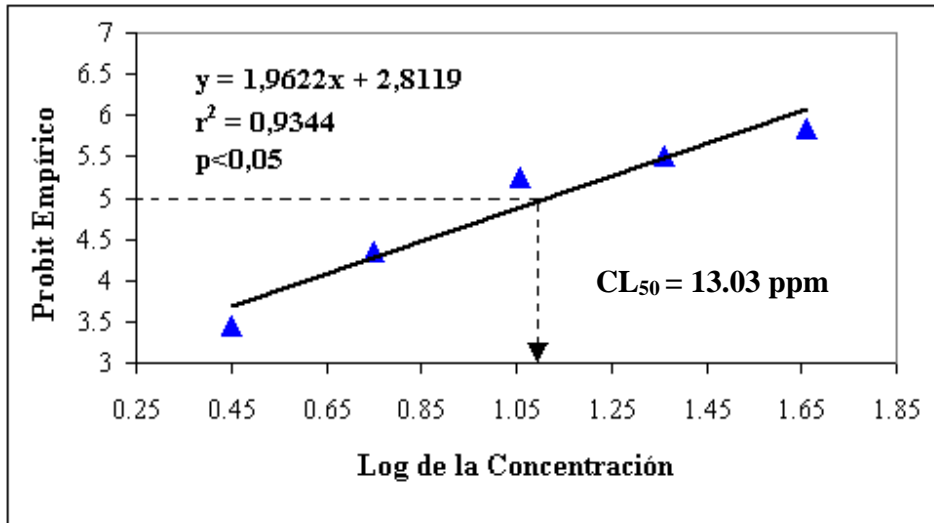


Figura 21. Probit Empírico contra Log de la Concentración del ingrediente activo LAS del detergente BLANCA NIEVES® y estimación de la CL_{50} 48 h *Laeonereis culveri*.

5.2 Grado de toxicidad.

En la estimación del grado de toxicidad de los cuatro detergentes de tipo LAS en *Laeonereis culveri*, se obtuvieron los resultados en Unidades de Toxicidad, a partir de los valores de la CL₅₀ del resultado de los bioensayos ecotoxicológicos a 48 h. A continuación en la siguiente Tabla 19 se puede ver la clasificación tóxica de los cuatro detergentes:

Tabla 19. Clasificación tóxica de los detergentes de tipo LAS en *Laeonereis culveri*.

Detergente	UT	Clasificación
ROMA [®]	1.12	Ligeramente tóxico
FOCA [®]	1.67	Moderadamente tóxico
PURO SOL [®]	1.08	Ligeramente tóxico
BLANCA NIEVES [®]	1.41	Moderadamente tóxico

En la Tabla 19 se puede observar la clasificación del grado de toxicidad de los detergentes, siendo el máximo grado para FOCA[®] y BLANCA NIEVES[®] en el rango de moderadamente tóxico (1.33 – 1.99), le sigue ROMA[®] y PURO SOL[®] que son ligeramente tóxicos (UT < 1.33), lo que significa que no se descarta que podrían ocasionar problemas de toxicidad a los organismos del sistema acuático, en especial a los que habitan en el sedimento.

5.3 Resultados del análisis estadístico.

Los resultados obtenidos del análisis exploratorio de los datos de mortalidad (variable dependiente) de las cuatro pruebas ecotoxicológicas se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 20. Estadística descriptiva de la variable dependiente.

Variable dependiente: Muertos	
Número de valores	72
Media	3.84
Limite de confiabilidad inferior 95%	3.09
Limite de confiabilidad superior 95%	4.6
Mediana	4.5
Mínimo	0
Máximo	9
Amplitud	9
Varianza	10.27
Dev. Std.	3.21
Error Std.	0.38

Al analizar los resultados obtenidos de la Tabla 20, se encontró que la variable dependiente número de organismos muertos presenta una distribución normal (Kolmogorov-Smirnov $d = 0.112$, $0.05 < p < 0.10$, Fig. 22). En cuanto al comportamiento normal de la variable dependiente con relación a los diferentes niveles de concentración y a las cuatro marcas de detergentes a los que fueron expuestos los organismos, los valores recaen dentro de la elipse de confianza del 95%. Esto confirma que los valores de la variable dependiente tienen una distribución normal (Fig. 23 y 24). La condición que se necesita para efectuar el tipo de análisis correcto; paramétrico o no paramétrico, es a partir del comportamiento de los datos, en nuestro caso se aplicó un ANOVA paramétrica debido a que nuestros datos se comportaron normales.

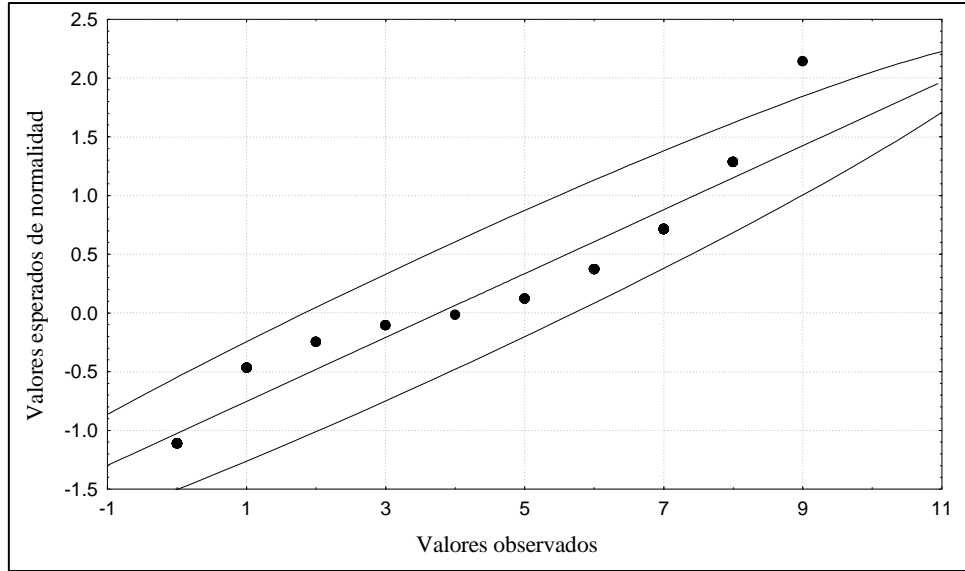


Figura 22. Normalidad de la variable dependiente y elipse de confianza del 95 %.

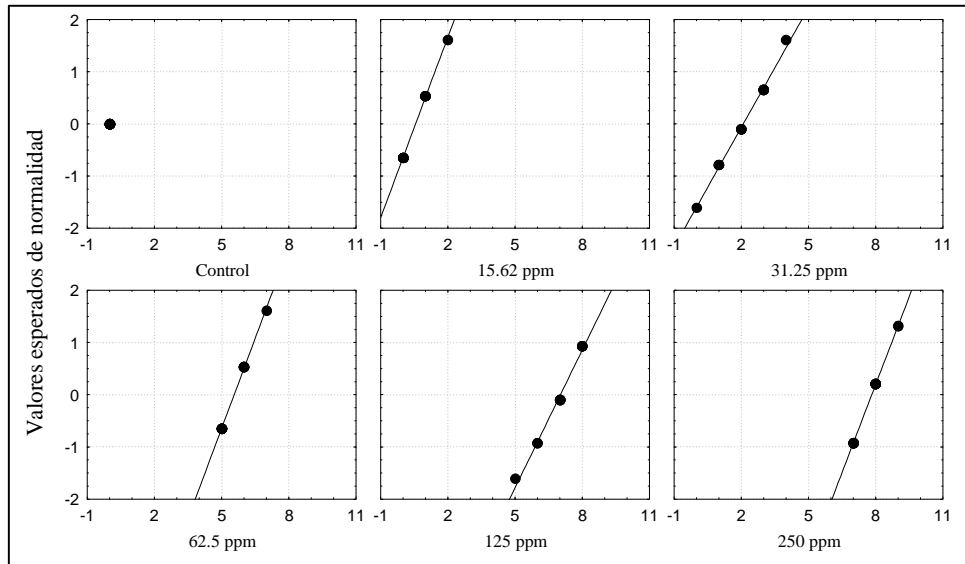


Figura 23. Distribución normal de la variable dependiente clasificada por diferentes niveles de concentración.

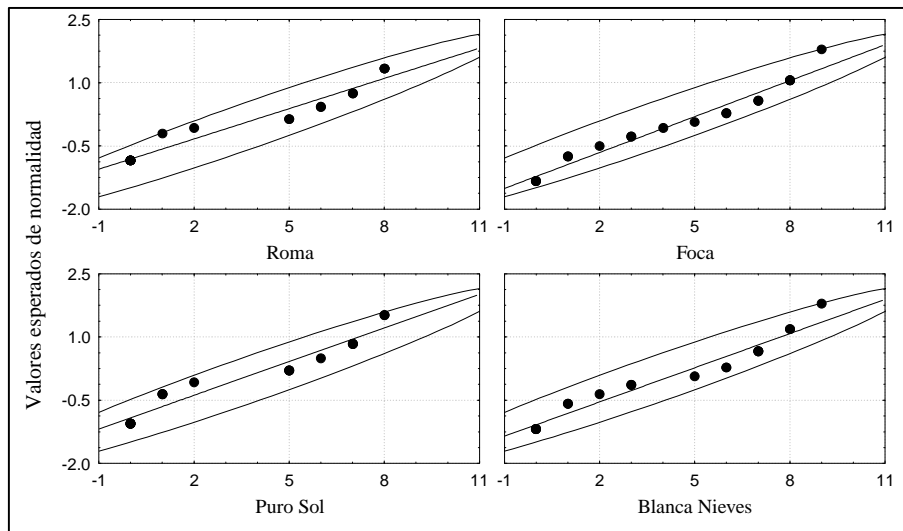


Figura 24. Distribución normal de la variable dependiente clasificada por tipo de marcas de detergentes.

Al aplicar la prueba de ANOVA, se encontraron diferencias significativas entre la mortalidad obtenida en las cuatro marcas de detergentes ($F = 6.4285$; $p < 0.05$) (Fig. 25). También, se logró analizar de forma general el comportamiento de las concentraciones en los cuatro detergentes, el análisis de varianza demostró que sí existen diferencias significativas entre la mortalidad de los diversos niveles de concentración ($F = 283.4342$; $p < 0.05$) (Fig. 26). Por último, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las repeticiones en los cuatro detergentes.

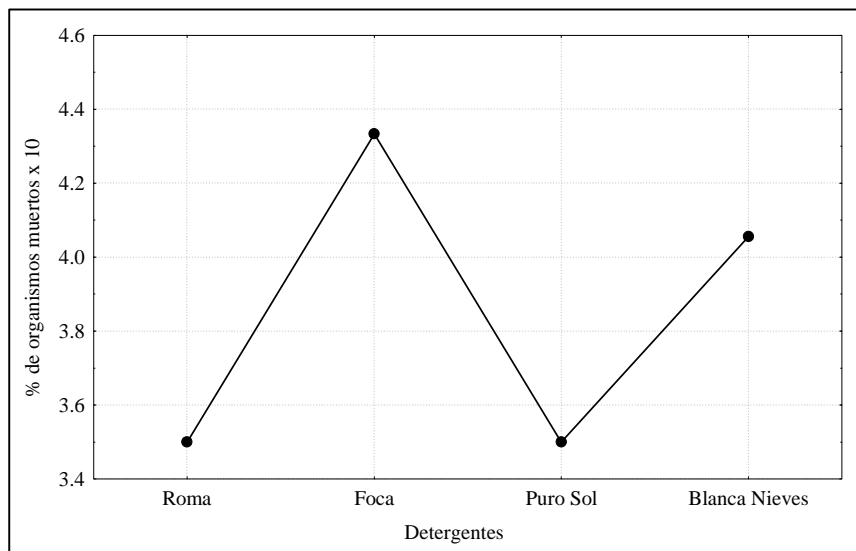


Figura 25. Relación entre la marca de detergente y la mortalidad.

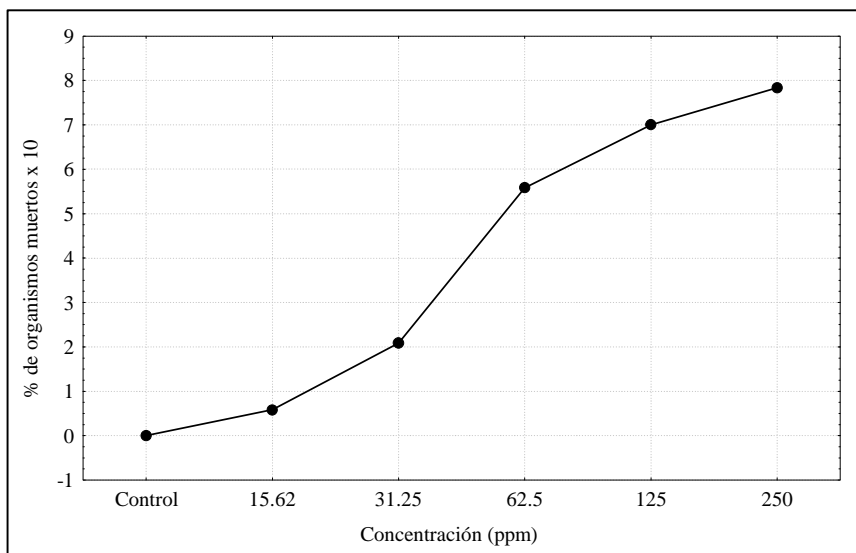


Figura 26. Relación general entre la concentración y la mortalidad en los cuatro detergentes.

5.4 Cálculo del riesgo ambiental de los detergentes con el ingrediente activo LAS.

En la estimación del riesgo integrando los datos de exposición obtenidos a través de los datos de monitoreo químico (PEC) y los datos de los efectos obtenidos por los bioensayos ecotoxicológicos llevados a cabo en el laboratorio (PNEC), se encontraron valores superiores del PEC que del PNEC por lo que el cociente de riesgo fue en todos los casos superior a 1 (Tabla 21).

Tabla 21. Riesgo ambiental de los detergentes como cociente de riesgo en sedimento (RQ).

Detergente	PEC	PNEC (CL ₅₀ /100)	RQ
ROMA [®]	5.3	0.8912	5.9
FOCA [®]	5.3	0.5956	8.8
PURO SOL [®]	5.3	0.9183	5.7
BLANCA NIEVES [®]	5.3	0.7079	7.4

PEC = Concentración ambientalmente prevista.

PNEC = Concentración observada.

En el caso del LAS (ingrediente activo de los detergentes biodegradables) se ha estudiado su toxicidad en diferentes ecosistemas obteniéndose una relación menor a la unidad, lo que indica un bajo índice de toxicidad ambiental (Tabla 22).

Tabla 22. Riesgo ambiental del LAS como cociente de riesgo (RQ) (Nimer, 2007).

Ecosistema	PEC	RQ
Agua (mg/L)	0.047	0.17
Sedimentos (mg/Kg)	5.3	0.65

CAPÍTULO VI
DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN

Los poliquetos como organismos de prueba, son útiles para realizar bioensayos ecotoxicológicos con detergentes aniónicos del grupo LAS, ya que estos organismos presentan alta sensibilidad a los contaminantes. Además, los poliquetos son un componente importante a menudo predominante de la biota marina y estuarina (APHA, 1992). También, poseen gran importancia en los estudios sobre aguas contaminadas, y han sido utilizados como organismos indicadores de contaminación (Horta, 1982). Debido a que son sedentarios y presentan poca movilidad, permiten evaluar diversos grados de perturbación y contaminación del fondo marino, dado que muchos de los contaminantes se precipitan al fondo donde viven estos organismos (Persoone *et al.*, 1984).

Actualmente existe poca bibliografía especializada del impacto de los detergentes sobre los recursos hídricos, siendo los bioensayos de toxicidad un complemento ideal en evaluaciones de impacto ambiental (Iannacone y Alvaríno, 1997). Entonces *Laeonereis culveri* al ser sensible a la contaminación, puede ser considerada como una especie adecuada para evaluar el efecto de los detergentes en la Bahía de Chetumal.

La evaluación de la toxicidad de las cuatro marcas de detergentes de tipo LAS (ROMA[®], FOCA[®], PURO SOL[®] y BLANCA NIEVES[®]) en *Laeonereis culveri*, ha resultado de gran interés, ya que los datos del presente estudio muestran que el grado de toxicidad de los detergentes va en una escala de ligeramente tóxico a moderadamente tóxico (Tabla 19), presentando el siguiente orden secuencial en Unidades de Toxicidad: FOCA[®] (1.67) > BLANCA NIEVES[®] (1.41) > ROMA[®] (1.12) > PURO SOL[®] (1.08). Lo anterior, significa que existe el riesgo de que estos detergentes causen efectos adversos a los organismos del sistema acuático, en especial a los organismos que habitan en el sedimento. Esto coincide con otros estudios ecotoxicológicos que se han realizado para medir el efecto de los detergentes que indican que los tensoactivos son ingredientes potencialmente peligrosos para la fauna acuática (Temara *et al.*, 2001), dado a que los detergentes están constituidos por tensoactivos de origen natural y/o sintético, agentes reforzadores, inhibidores de corrosión, agentes auxiliares, blanqueadores y perfumes (León, 2006). De todos los ingredientes los tensoactivos y los agentes reforzadores con polifosfatos son los más peligrosos, los primeros por ser

altamente tóxicos para organismos acuáticos (Pettersson *et al.*, 2000), debido a que su modo de acción es amplio, gracias a su carácter anfifílico y a sus propiedades de solubilización de membranas, disrupción endocrina, entre otras (Rondón-Barragán *et al.*, 2007) y los segundos por que los productos resultantes de su hidrólisis contienen fósforo, que se halla implicado en procesos de eutrofización de lagos y embalses (Varó, 1996).

La respuesta de toxicidad de los cuatro detergentes en términos de CL_{50} a 48 h de exposición en *Laeonereis culveri*, presentó una variación de 59.56 a 91.83 ppm. Si lo comparamos con el estudio realizado por Pettersson *et al.* (2000) donde determinaron la toxicidad aguda de 25 detergentes comerciales de tipo LAS, sobre el cladóceros *Daphnia magna* a 48 h de exposición, encontraron que la CL_{50} varió entre 4 a 85 ppm. En nuestro estudio solo dos (FOCA[®] y BLANCA NIEVES[®]) de los cuatro detergentes evaluados presentaron valores dentro del intervalo con este invertebrado. Finalmente *Laeonereis culveri* al ser comparado con otros estudios ecotoxicológicos realizados con algas, moluscos, invertebrados y peces por diversos autores (Tabla 1) sobre la toxicidad de los detergentes de tipo LAS a diferentes condiciones, muestra el siguiente orden de sensibilidad relativa: *Microcystis* sp. > *Ceriodaphnia dubia* > *Lepomis macrochirus* > *Daphnia magna* > *Oncorhynchus mykiss* > *Selenastrum Capricornutum* > *Laeonereis culveri* (éste estudio) > *Physa venustula* > *Heleobia cumingii* > *Melanoides tuberculata*. Se observa claramente que el resultado de este estudio, *Laeonereis culveri* resultó ser más sensible a comparación de los caracoles dulceacuícolas. Esto puede ser debido por la entrada fácil del tóxico a través del cuerpo suave de un poliqueto, en contraste al duro esqueleto de un crustáceo o a las conchas de un pelecípodo (Persoone *et al.*, 1984). De esta manera los poliquetos son más sensibles y los moluscos los más tolerables a los detergentes ya que posiblemente se deba a las diferencias tanto bioquímicas y fisiológicas del molusco (Iannacone y Alvariño, 2002). Así como también el hábito alimenticio de este organismo es un factor determinante para la ingestión y acumulación del tóxico, ya que *Laeonereis culveri* es considerado un organismo sedimentívoro superficial (De León, 1997), alimentándose del detritos o materia orgánica adherida a las partículas de arena que contienen dicho tóxico, ya que estos tienen la propiedad de adherirse a los compuestos orgánicos por su parte hidrófoba. También, a comparación con otros organismos *Laeonereis culveri*, mostró ser menos sensible a microalgas, invertebrados y

peces. Los resultados de sensibilidad dispares tienen que ver con las características fisiológicas de cada especie empleada en los bioensayos, la edad de los organismos de prueba y la estructura química de los detergentes empleados, sobre todo la longitud de la cadena de carbonos que presentan los tensoactivos que componen los detergentes, estando comprobado que cuanto más larga es la cadena de carbono más tóxico es el detergente, por ser más resistente a la biodegradación (León, 2006). Los resultados de sensibilidad dispares tienen que ver con las características fisiológicas de cada especie empleada en los bioensayos, la edad de los organismos de prueba y la estructura química de los detergentes empleados, sobre todo la longitud de la cadena de carbonos que presentan los tensoactivos que componen los detergentes, estando comprobado que cuanto más larga es la cadena de carbono más tóxico es el detergente, por ser más resistente a la biodegradación (León, 2006).

Durante los bioensayos, se observó una disminución en la mortalidad de los nereídidos después de las 24 h de exposición a los detergentes. Esta observación coincide con otros autores que han trabajado con otros grupos de organismos biológicos expuestos a detergentes de tipo LAS. Como es el caso de Buhl y Hamilton (2000) mencionando que la mayor mortalidad de peces ocurre en las primeras 24 h de exposición con los detergentes. Esto se debe a la alta biodegradabilidad aeróbica de los detergentes basados en tensoactivos aniónicos lineales, ya que la molécula LAS, presenta una alta biodegradabilidad aeróbica, degradándose con la carboxilación del grupo terminal metilo por medio de una serie de β -oxidaciones formando cadenas cortas de SPCs (Ácidos sulfofenilos) (Argese *et al.*, 1994). Este proceso parece ser el responsable para la marcada reducción de la surfactancia potencial de bioacumulación y toxicidad de la molécula LAS (Lewis, 1986). Además, su corto tiempo de vida media de aproximadamente de 1 a 3 semanas, podría disminuir el peligro de acumulación en la biota, en el agua y en el sedimento (Jensen, 1999). En general, los tensoactivos aniónicos de cadena lineal suelen presentar mayor toxicidad aguda que los de cadena ramificada, si bien esto se ve compensado por una mayor biodegradabilidad de los primeros (Kimerle y Swisher, 1977). Por último, existe una relación entre la biodegradabilidad y la toxicidad, por cuanto los productos más tóxicos resultan ser los más fácilmente biodegradables (Lechuga, 2005).

Los resultados de los bioensayos pueden ser modificados por parámetros físicos como la temperatura, la concentración de oxígeno y parámetros químicos como el pH (Malagrino y Almeida, 1987). En el presente estudio los niveles de temperatura, oxígeno y pH presentaron variaciones (25 ± 1 °C, el oxígeno disuelto fue de 5.96 a 9.16 mg/L y para el pH 7.01-8.55) y solamente se mantuvo constante la salinidad (10 ppm), debido a que fue el único parámetro controlado. Es probable que el efecto tóxico de los detergentes fuese influenciado por las concentraciones de oxígeno disuelto que disminuyeron durante los bioensayos. Se conoce que si los organismos tienen suficiente oxígeno disuelto posiblemente pueden tolerar el “estrés” (Kinne, 1971). Se ha señalado también que la CL_{50-96h} se duplica cuando la concentración de oxígeno disuelto pasa de 4 mg/L a 8 mg/L, y que la presencia de sales especialmente de calcio, disminuye la toxicidad de los contaminantes (Leynaud, 1979).

En el presente estudio, la mortandad obtenida fue contrastada con un ANOVA al 95% de confiabilidad, el cual, en todos los casos mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las cuatro marcas de detergentes y en los diferentes niveles de concentración. Esto significa que el comportamiento de la mortalidad de *Laeonereis culveri* al ser expuesto a los detergentes fue en cada caso disímil, esto puede ser presumible a la composición de la formulación de cada detergente y la ubicación del anillo bencénico del ingrediente activo (Buhl y Hamilton, 2000), por consiguiente no se descarta un efecto sinérgico. En el caso de las repeticiones no existieron diferencias significativas ($p > 0.05$). Comparando con otro estudio, Iannacone y Alvarino (2002) trabajaron con moluscos expuestos a tres marcas de detergentes de tipo LAS, y solo se obtuvieron diferencias significativas con respecto a las diferentes concentraciones. Esto podría deberse, al tipo de organismo de prueba utilizado, a las condiciones fisicoquímicas en las que fueron hechos los bioensayos y a la formulación de los detergentes utilizados, que de alguna manera podrían ser la causa por la que los resultados sean diferentes a los obtenidos en este estudio.

Los resultados de la CL_{50} de LAS que se obtuvieron en este estudio son menores a 14.12 ppm. Estos valores se compararon con las concentraciones de LAS que se encuentran en el ambiente natural, principalmente con los obtenidos por Lara *et al.* (2005) quienes determinaron el LAS en sedimentos costeros de la Bahía de Cádiz España, a una profundidad de 3 a 6 m, encontrando que a 20 m del vertido de aguas residuales urbanas sin tratamiento,

las concentraciones de LAS rebasaron los 80 mg/Kg. A comparación de un segundo punto de la Bahía de Cádiz en el que se reciben efluentes procedentes de una estación depuradora de aguas residuales, donde se reportan concentraciones máximas de 2.05 mg/Kg. Se puede observar que en los primeros centímetros del sedimento las máximas concentraciones de LAS alcanzan hasta 120 mg/Kg (Fig. 27); ésto se debe al carácter hidrófobo de los tensoactivos y, por tanto, a su afinidad por la fase sólida y una elevada tendencia a asociarse con la materia orgánica de la misma, una vez que son vertidos al medio, de igual manera se puede observar un acusado descenso en la profundidad, como consecuencia de su biodegradabilidad (Lara *et al.*, 2005).

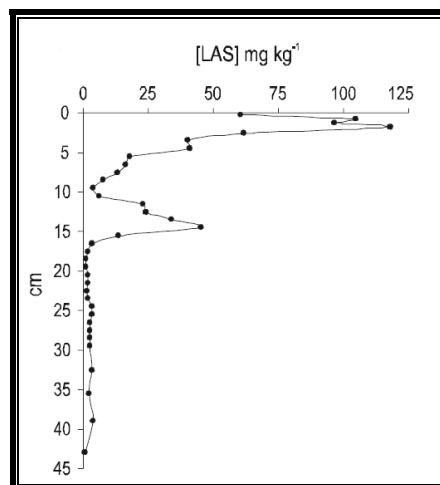


Figura 27. Perfil vertical del tensoactivo aniónico LAS en el Caño de Sancti Petri, España (Lara *et al.*, 2005).

Por lo tanto, las concentraciones letales de LAS que se obtuvieron en los bioensayos ecotoxicológicos con *Laeonereis culveri* a 48 h, son rebasadas por una gran diferencia en el medio natural, a nivel superficial, por el impacto de las descargas de aguas residuales sin tratamiento y por el amplio uso de los tensoactivos aniónicos de tipo LAS en la formulación de los detergentes de uso doméstico. Con esto, podemos deducir que si los organismos estudiados están siendo impactados en su medio natural por descargas de aguas residuales no tratadas, se puede estar presentado un deterioro tanto en la biomasa como en la diversidad de los organismos, ya que los detergentes perturban el desempeño de las poblaciones en un ambiente particular alterando la adecuación de los individuos al medio, lo que se refleja en impedimentos en el crecimiento o en el proceso reproductor (Espina *et al.*, 1986). De igual

manera, es necesario hacer notar que en el ambiente natural, a diferencia de las condiciones de laboratorio, existen toda clase de sustancias tóxicas que potenciarían el efecto sinérgico de los contaminantes.

La evaluación del riesgo ecológico de los detergentes corresponde a la fase final del presente estudio. Es evidente que la toxicidad de las cuatro marcas de detergentes en *Laonereis culveri* presentó en todos los casos un cociente de riesgo “RQ” superior a la unidad (1), lo que indica que hay probabilidad que causen daño a los organismos que habitan en el sedimento y por consecuencia al ecosistema entero por contaminación con detergentes biodegradables. Es importante mencionar que un estudio hecho por Van de Plassche *et al.* (1997) donde calculó el riesgo ecológico de los principales tensoactivos empleados en la elaboración de detergentes, incluyendo el tensoactivo aniónico LAS, determinó que el riesgo ecológico del LAS es bajo. Por lo tanto, se concluye que los detergentes biodegradables son más tóxicos que la acción aislada del ingrediente activo.

En la Norma Mexicana Técnica Ecológica NTE-CCA-030/91, se establece que los límites máximos permisibles de los parámetros de los contaminantes, para las descargas de aguas residuales provenientes de la industria de Jabones y detergentes a cuerpos receptores, son de 5.0 a 10.0 mg/L de SAMM. Al compararlo con nuestros resultados de la CL₅₀ de LAS de los detergentes evaluados, es claro que los valores son cercanos, por lo que nuestras leyes deberán ser más estrictas y establecer un margen de concentraciones seguras para proteger los sistemas acuáticos, siendo necesaria la ejecución de estudios como las pruebas crónicas o subletales para establecer los límites máximos permisibles de los detergentes, con criterios que deben estar referidos al cuidado del ecosistema acuático o consumo humano.

CAPÍTULO VII
CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

- ❖ Los bioensayos de ecotoxicidad aguda demostraron que *Laeonereis culveri* fue sensible a los detergentes de tipo LAS expuestos en un periodo de 48 h, la especie puede ser utilizada como herramienta para la evaluación de riesgos ambientales por detergentes domésticos y como indicador de la calidad del agua de la Bahía de Chetumal, Q. Roo.
- ❖ La CL₅₀ a 48 h hallada para las cuatro marcas de detergentes e ingrediente activo en *Laeonereis culveri* son: ROMA[®] (Detergente: 89.12; LAS: 13.48 en ppm), FOCA[®] (Detergente: 59.56; LAS: 12.88 en ppm), PURO SOL[®] (Detergente: 91.83; LAS: 14.12 en ppm) y BLANCA NIEVES[®] (Detergente: 70.79; LAS: 13.03 en ppm).
- ❖ El detergente que resultó ser más tóxico para *Laeonereis culveri* fue: FOCA[®] (Detergente: 59.56; LAS: 12.88 en ppm) seguido del BLANCA NIEVES[®] (Detergente: 70.79; LAS: 13.03 en ppm), a comparación de ROMA[®] (Detergente: 89.12; LAS: 13.48 en ppm) y PURO SOL[®] (Detergente: 91.83; LAS: 14.12 en ppm).
- ❖ Los detergentes de tipo LAS, aun siendo biodegradables presentaron un grado de toxicidad considerable, ya que se detectaron efectos adversos en los organismos de prueba al identificarse niveles de toxicidad de 1.08 hasta 1.67 (UT).
- ❖ Con los resultados obtenidos de la CL₅₀ a 48 h con ayuda de los bioensayos ecotoxicológicos, se concluye que las cuatro marca de detergentes son tóxicos para *Laeonereis culveri*.
- ❖ El comportamiento de la mortalidad de *Laeonereis culveri* en las cuatro marcas de detergentes y en los diferentes niveles de concentración a los que fueron expuestos, mostraron diferencias significativas al aplicar el análisis estadístico ANOVA ($p < 0.05$), es decir, que el comportamiento de la mortalidad fue diferente en cada tratamiento y en los diferentes niveles de concentración, esto puede ser presumible a un efecto sinérgico de la formulación complementaria junto con el ingrediente activo, de igual forma no se descarta la intervención de los parámetros físico-químicos en la toxicidad de los detergentes.

- ❖ Las cuatro marcas de detergente presentaron un cociente de riesgo (RQ) mayor a 1, lo cual indica que existe una probabilidad de que los detergentes biodegradables ocasionen daño a los organismos que habitan en el sedimento.

- ❖ Los detergentes biodegradables representan un peligro para la vida acuática, ya que si estos son vertidos a un cuerpo de agua tienen la probabilidad de que causen daño, particularmente en aquellas zonas donde se descargan aguas jabonosas, como es el caso de la zona litoral urbana de la ciudad de Chetumal en la que se han detectado descargas clandestinas de aguas jabonosas.

CAPÍTULO VIII
RECOMENDACIONES

VIII. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar bioensayos de tipo crónico o subletal, para conocer más sobre los efectos de los detergentes de tipo LAS sobre sistemas (nervioso, respiratorio, inmune, circulatorio y excretor), órganos, biomasa, crecimiento, comportamiento, reproducción y bioacumulación.
- ❖ Se recomienda el empleo de *Laeonereis culveri* en bioensayos de ecotoxicidad debido a su fácil manejo, su sensibilidad y por ser una especie de gran importancia ecológica.
- ❖ Utilizar organismos de prueba de gran importancia ecológica de la Bahía de Chetumal como: especies de peces, crustáceos, moluscos y plantas acuáticas en los bioensayos, con la finalidad de generar más información ecotoxicológica del mismo tóxico evaluado para nuestra región geográfica.
- ❖ Evaluar el efecto de otros contaminantes del agua, de preferencia aquellos de uso común en las actividades agrícolas de la región, sobre todo aquellos cuyo efecto no ha sido documentado (fertilizantes, plaguicidas organoclorados, herbicidas, hidrocarburos y aceites).
- ❖ Se recomienda incorporar a las Normas Mexicanas estudios ecotoxicológicos para complementar la información físico-química, ya que los límites permisibles de los parámetros físico-químicos con que éstas se basan no son completamente seguros para que los contaminantes que se descarguen a cuerpos receptores no causen daño alguno al ecosistema. Así mismo, detectar las descargas más contaminantes con apoyo a estas herramientas biológicas, generar información técnica suficiente para establecer valores de límites permisibles para la gran variedad de descargas que son vertidas en el sistema acuático y poder plantear medidas de saneamiento, lo cual nos llevará a controlar la contaminación, proteger y conservar la calidad del agua y vida acuática de los cuerpos receptores.

- ❖ Se recomienda monitorear y clausurar las descargas de aguas negras que están conectadas a las descargas pluviales que dan a la Bahía de Chetumal, procedentes de la zona urbana o conectarlas a una red de tratamiento de aguas residuales, ya que es una fuente importante de aguas jabonosas, la cual representa un riesgo tóxico a la vida acuática.

CAPÍTULO IX
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez G., Medina G. y 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.
- Álvarez D., Sáez M., Blasco J., Gómez P. y González M., (2006). Actividades enzimáticas de las fosfatasa ácida y alcalina y la catalasa en *Ruditapes philippinarum* como biomarcadores del estrés generado por tensoactivos aniónicos (c11-las) y no iónicos (npeo2.8). Rev. Cienc. Mar. 32:447-455.
- Amaral C. y Mittogo A., (1980). Importancia de dos anelideos poliquetos na alimentação da macrofauna demersal e epibentónica da região de Ubatuba. Boletín Instituto Oceanográfico, São Paulo 29(2):31-35.
- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION), AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION), (1992). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Edición 17. México: Editorial Diaz de Santos, S. A.
- Argese E., Marcomini A., Miana P., Bettiol C. y Perin G., (1994). Submitochondrial particle response to linear alkylbenzene sulfonates, nonylphenol polyethoxilates and their biodegradation derivatives. Environ. Toxicol. Chem. 13:737-742.
- Báez S. y Ardila N., (2003). Poliquetos (Annelida: Polychaeta) del Mar Caribe colombiano. Biota Colombiana 4(1):89-109.
- Berna J., Ferrer J., Moreno A., Prats D. y Ruiz F., (1989). The fate of LAS in the environment. Tenside Surf. Det. 26(2):101-107.
- Blasco J., González M. y Sarasquete C., (1999). Linear alkylbenzene sulphonates (LAS) and bioaccumulation of heavy metals (Cu and Pb) in *Ruditapes philippinarum*. Toxicol. Environ. Chem. 71:447-456.
- Buhl K. y Hamilton S., (2000). Acute toxicity of fire-control chemicals, nitrogenous chemicals, and surfactants to rainbow trout. American Fisheries Society. 129:408-418.
- Cano G. y Flores R., (1990). Variaciones nictemareales de bacterias coliformes en la Bahía de Chetumal, Q. Roo. Oficina Coordinadora de Programas contra la Contaminación del Mar. Armada de México. 11va Zona Militar. Chetumal, Q. Roo, México. 14 p.
- Colt J. y Armstrong D., (1981). Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and Molluscs. In: Allen and Kinney eds. Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture. pp. 34-47.

- Chemistry & New Zealand, (2008). (En línea) disponible en Kiwi Web <http://www.chemistry.co.nz/deterghistory.htm> (15 de septiembre 2008).
- Delgado J. y Chavira D., (1984). Estudios preliminares de la Bahía de Chetumal, Q. Roo. Acciones de Convenio de la Secretaría de Desarrollo y Ecología-Secretaría de Marina. Archivo Delegación SEDUE, Chetumal, Q. Roo, México, 21 p.
- Delvalls T. y Conradi M., (2000). Advances in marine ecotoxicology: laboratory tests versus field assessment data on sediment quality studies. *Ciencias Marinas*. 26:39-64.
- De León J. A., (1997). Nereididos (Polychaeta: Nereidae) de los litorales mexicanos: sistemática, biogeografía y alimentación. Tesis doctoral. Nuevo León: Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas y División de Estudios de Postgrado. pp. 1-5.
- Del Valle E. M., (2006). Determinación de sulfonatos de alquilbenceno lineales (LAS) en biosólidos y suelos tratados con biosólidos. Tesis de Licenciatura. Chile: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.
- Delgado V. H., Kuk J. G., Hernández H. A., González J. L. y Ávila J. C., (2006). Análisis de las comunidades de poliquetos bénticos como biomonitores de enriquecimiento orgánico en la Bahía de Chetumal, Quintana Roo. Universidad de Quintana Roo. División de Ciencias e Ingeniería.
- Duffus J. H., (1983). Toxicología ambiental. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. pp. 1-73.
- Espina S., Díaz F., Rosas C. y Rosas I., (1986). Influencia del detergente sobre el balance energético de *Ctenopharyngodon idella* a través de un bioensayo crónico. *Contam. Ambient.* 2:25-37.
- Foret J. P., (1972). Etude des effects à long terme de vuelques detergents (issus de la petroleochimie) sur la sequence de developpement de deux especes de Polychetes sèdentaires: *Scoelepis fuliginosa* et *Capitella capitata*. In Persoone G., Jaspers E. and Claus C. (Eds). *Ecotoxicological testing for the marine environment*. State University Ghent and Inst. Mar. Scient., Res., Bredene, Belgium. 2(2):91.
- García J., (1986). Tensioactivos y detergencia. Dossat, S.A. Madrid. España.
- Goerke H., (1984). Testing the fate of xenobiotics in *Nereis diversicolor* and *Nereis virens* (Polychaeta). En: *Ecotoxicological testing for the marine environment*. Persoone G., Jaspers E. y Claus C. (Eds). State University Ghent and Inst. Mar. Scient., Res., Bredene, Belgium. 2:53-66.

- González L. y Salazar S., (2002). A new estuarine species, *Nereis garwoodi* (Polychaeta: Nereididae), from Bahía Chetumal, Mexican Caribbean coast. *Rev. de Biol. Trop.* 51(1):155-164.
- Griffiths R. J., (1980). Filtration, respiration and assimilation in the black mussel *Choromytilus meridionalis*. *Marine Ecology Prog. Ser.* 3:63-70.
- Hartmann L., (1966). Effects of surfactants on soil bacteria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 6(1):219.
- HERA (Human and Environmental Risk Assessment), (2005). LAS: linear alkylbenzene sulphonate. CAS Techn. Report. No. 68411-30-3. 75 pp.
- Horta G. J., (1982). Descripción de algunas especies se poliquetos bénticos de Isla Verde, Veracruz. Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. pp. 3-4.
- Iannacone J. y Alvariano L., (1997). Ecotoxicidad aguda del zinc sobre el “guppy” *Poecilia reticulata*. *Wiñay Yachay.* 2(3):63-73.
- Iannacone J. y Alvariano L., (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):81-87.
- Iannacone J., Salazar C. y Alvariano L., (2003). Variabilidad del ensayo ecotoxicológico con *Chironomus calligraphus goeldi* (Diptera: Chironomidae) para evaluar cadmio, mercurio y plomo. *Ecología Aplicada,* 2(1):103-110.
- INPESCA (Instituto de Investigación Pesquera), (2008). Centro de Estudios y Gestión Ambiental. (En línea) disponible en http://www.inpesca.cl/estudios_ambientales.htm. (14 de Mayo de 2008).
- IPCS (International Programme on Chemical Safety), (2008). Environmental health criteria 169- linear alkylbenzene sulfonates and related compounds. (En línea) disponible en www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc169.htm. (08 de Julio de 2008).
- Jensen J., (1999). Fate and effects of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) in the terrestrial environment. *Sci. Total Environ.* 226:93-111.
- Kinne O., (1971). *Marine ecology.* Vol. 1, Part. 2. Wiley Intersciencie, Londres. pp. 821-874.
- Kimerle R. A. y Swisher D. R., (1977). Reduction aquatic toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by biodegradation. *Water Research* 11:225-233.
- Kreienfeld G. y Stoll G., (1997). Surfactants in consumer products and raw material. situation-a brief survey. *Alkyl Polyglycosides.* pp. 225-233.

- Lara P., Gómez P., Petrovic M., Barceló D. y González M., (2005). Distribución de contaminantes orgánicos en sedimentos costeros de la Bahía de Cádiz (España). *Ciencias Marinas*. 31:203-212.
- Leynaud G., (1979). Efectos tóxicos de la polución sobre la fauna piscícola. En: *La contaminación de las aguas continentales sobre la biocenosis acuática*. (P. Pesson Ed.). Ediciones Mundiales Prensa, Madrid. pp. 159-174.
- León V. M., González M. E. y Forja J. M., (2001). Vertical distribution profiles of LAS and their long-chain intermediate degradation products on coastal marine sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 2171-2178.
- Lechuga V. M., (2005). Biodegradación y toxicidad de tensioactivos comerciales. Tesis Doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de Ciencias. Departamento de Ingeniería Química. pp. 21-50
- León L. 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 de Licenciatura. Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Ciencias Biológicas. pp. 3-44.
- Lewis M. A., (1986). Comparison of the effects of surfactants on freshwater phytoplankton communities in experimental enclosure and on algal population growth in the laboratory. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 5:319-332.
- Malagrino W. y Almeida A., (1987). Estudio comparativo de acao tóxica de um detergente biodegradável sobre *Poecilia reticulata* e *Poecilia vivípara* (Pises: Poecilidade). *Revista DAR*. 148(47):86-91.
- Maldonado M. F., (1990). Contribución al estudio del efecto hidrófobo en la proteína colagenita mediante su interacción con sustancias tensioactivas. Tesis Doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de Química. Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia. pp. 3-10.
- Martinez J. F., (1991). Importancia de los bioensayos en la evaluación de la toxicidad acuática. *Univ.: Ciencia y Tecnología*. 1(4):37-44.
- Morgan E. C. y Oude N. T., (1993). Detergents. pp. 130-154. En: *Handbook of Ecotoxicology*. P. Calow (ed.).
- Muñoz de Malajovich M. A., (2007). Biotecnología y vida cotidiana; manual de trabajos prácticos de biotecnología. Limpiando la ropa con enzimas. *ArgenBio*. 1(1): 2-43.

- Nimer L. M., (2007). Estudio del comportamiento ambiental del sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS) en una parcela agrícola de la Vega de Granada. Tesis Doctoral. Granada: Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Departamento de Química Analítica. pp. 9-59.
- Ortiz M. C. y Sáez J. R., (1996). Detergentes domésticos como factor contaminante en la zona urbana de la Bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. *AVICENNIA*, 4(5):65-75.
- Peña C., Carter E. y Ayala F., (2001). Toxicología ambiental: evaluación de riesgos y restauración ambiental. A Basic Research and Training Program At the College of Pharmacy. The University of Arizona Publications. 203 p.
- Persoone G., Jaspers E. y Claus C. (Eds), (1984). Ecotoxicological testing for the marine environment. State University Ghent and Inst. Mar. Scient., Res., Bredene, Belgium. Vol. 2.
- Pérez G. R., (1999). Estudio y análisis de la polución marina en la Bahía de Chetumal, por medio de la evaluación de técnicas para la determinación de ortofosfatos. Tesis de licenciatura. Quintana Roo: Universidad de Quintana Roo. División de Ciencias e Ingeniería. pp. 3-28.
- Perales J. A., (2001). Variabilidad de la biodegradación y toxicidad de compuestos xenobióticos en el medio marino. Aplicación a lineal alquilbenceno sulfonatos en aguas del golfo de Cádiz. Tesis doctoral. Cádiz: Universidad de Cádiz. Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente. pp. 10-56.
- Pettersson A., Adamsson M. y Dave G., (2000). Toxicity and detoxification of swedish detergents and sostener products. *Chemosphere*. 41:1611-1620.
- Raymont J. y Shields J. (1963). Toxicity of copper and chromium in the marine environment. *Inter. Air Water Pollut.* 7:435-443.
- Reish D. J., (1966). Relationship of polychaetes to varying dissolved oxygen concentrations. p. 199-216. Third international conf. water pollut. Res., Munish 3. 367 p.
- Reish D. J., (1970). The effects of varying concentrations of nutrients, chlorinity, and dissolved oxygen on polychaetous annelids. *Water Res.* 4:74-735.
- Ram R. N. y Sathyanesan A. G., (1985). Mercuric chloride, cythion and ammonium sulphate induced changes in the brain, liver and ovarian alkaline phosphatase content in the fish *Channa punctatus*. *Environ. Ecol.* 3: 263-268.

- Rosado J. F., Romero M. R. y De Jesús N. A. (Eds), (2002). Contribuciones de la ciencia al manejo costero integrado de la Bahía de Chetumal y su área de influencia. Chetumal, Q. Roo, México. Editorial Universidad de Quintana Roo. 205 p.
- Rondón I. S., Ramírez W. F. y Eslava P. R., (2007). Evaluación de los efectos tóxicos y concentración letal 50 del surfactante Cosmoflux 411F sobre juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Rev. Col. Cienc. Pec. 20: 431-446.
- Salazar S. I., De León J. A. y Salaices P. H., (1988). Poliquetos (Annelida: Polychaeta) de México. México, Editorial Universidad Autónoma de Baja California Sur. pp. 2-27.
- Salazar S. P., (1998). Cambios en la estructura de la comunidad del macrobentos y su relación con contaminantes orgánicos en sedimentos de la Bahía de Chetumal, Quintana Roo. Tesis de Maestría. Yucatán: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Mérida. Departamento de Recursos del Mar. pp. 1-3.
- Saldaña P. F., Alcocer V. H., Lerdo de Tejada B. A. y Gómez M. A., (2002). Calidad del agua en colectores de la ciudad de Puebla y la aplicación de análisis de toxicidad. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México 27 al 31 de Octubre, 2002.
- Sánchez G. y Vera G., (2001). Manual introductorio de ecotoxicología acuática. Informe Instituto del Mar del Perú, No. 161- Junio. 40 p.
- Salager J. y Fernández A., (2004). Surfactantes; generalidades y materias primas. Cuaderno FIRP N° 301PP. Ed. Laboratorio FIRP, Universidad de Los ANDES. Venezuela, Mérida. 23 p.
- Sánchez M. L., (2006). Influencia del contraión en las propiedades biológicas de tensioactivos aniónicos derivados de la N^ω-N^ε-dioctanoil lisina: citotoxicidad y ecotoxicidad in vitro. Tesis doctoral. España: Universidad de Barcelona. Facultad de Farmacia. Departamento de Fisiología. pp. 3-42.
- Sánchez P. M., (2007). Efectos biológicos de los sulfonatos de alquilbenceno lineales (LAS) en suelo agrícola: biotransformación y estudios de biodiversidad. Tesis Doctoral. Granada: Universidad de Granada. Facultan de Ciencias. Departamento de Microbiología. pp. 8-31.
- Sánchez N. E., (2007). Análisis de espacio-temporal de las concentraciones de metales pesados (Cd, Cu, Fe, Pb y Zn), en columnas de agua, sedimento y en microalgas *batophoras spp.* y *bostrychia spp.* en la Bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. Tesis de Licenciatura. Quintana Roo: Universidad de Quintana Roo. División de Ciencias e Ingeniería. 15 p.

- Scout M. J. y Jones M. N., (2000). The biodegradation of surfactants in the environment. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomenbranes*. 1508:235-251.
- Schwuger M. J. y Bartnik F. G., (1999). Interaction of anionic surfactants with proteins, enzymes and membranes. In Gloxhuber C. Ed. *Anionic Surfactants-Biochemistry, Toxicology, Dermatology*, Marcel Dekker, New York, USA. pp. 1-49
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales), (2001). Norma Mexicana NMX-AA-039-SCFI-2001, Análisis de aguas-método para la determinación de sustancias activas al azul de metileno (SAAM), aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas-Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-039-1980). *Diario Oficial de la Federación*, 17 de abril de 2001.
- Simmers J. W., Rhett R. G. y Lee C. R., (1984). Application of a wetland animal bioassay for determining toxic metal uptake from dredged material. En: *Ecotoxicological testing for the marine environment*. Persoone G., Jaspers E. y Claus C. (Eds). State University Ghent and Inst. Mar. Scient., Res., Bredene, Belgium. 2:457-464.
- Temara A., Carr G., Webb S., Versteeg D. y Feijtel T., (2001). Marine Risk Assessment: Linear Alkylbenzene sulfonates (LAS) in the North Sea. *Marine Poll. Bull.* 8(4):635-642.
- Varó P., (1996). Contribución al estudio sobre el comportamiento ambiental y degradación de jabones. Tesis doctoral en Ingeniería Química. España. Universidad de Alicante. 282 pp.
- Van De Plassche E., De Bruijn J. y Feijtel T., (1997). Risk assessment of four major surfactant groups in the Netherlands. *Tenside. Surf. Det.* 34(4):242-249.
- Varela R. A., (2005). Determinación del nivel de toxicidad aguda del fungicida carbendazim y el herbicida 2,4 d mediante bioensayos con *Galaxias maculatus*. Tesis de Licenciatura. Chile. Universidad Católica de Temuco. pp. 28-29.
- Wang D. Y. y Huang B. Q., (1999). TBT (Tributyltin) toxicity to the visual and olfactory functions of tigerperch (*Terapon jarbua forsskal*). *Zoological Studies* 38(2):189-195.
- Webster H. E., (1879). Annelida Chaetopoda of the Virginian coast. *Trans. Albany Inst., New York*, 9:202-269.
- Wolf W. y Feijtel T., (1998). Terrestrial risk assessment for linear alkyl benzene sulfonate (LAS) in sludge-amended soils. *Chemosphere* 36(6):1319-1343.

CAPÍTULO X
ANEXOS

Anexo 1. Cámaras de bioensayo.

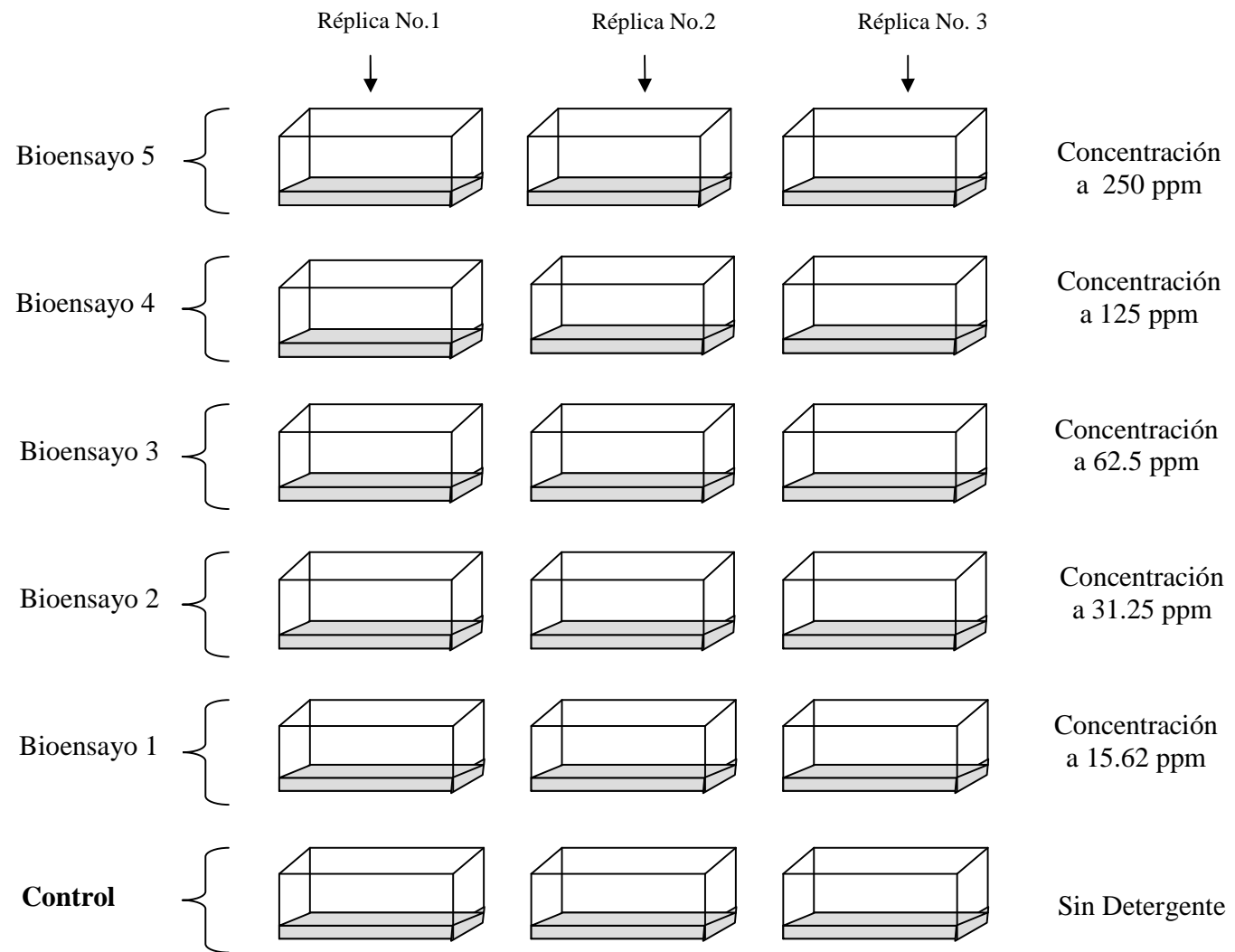


Figura 9. Esquematización de la cámara de bioensayo.

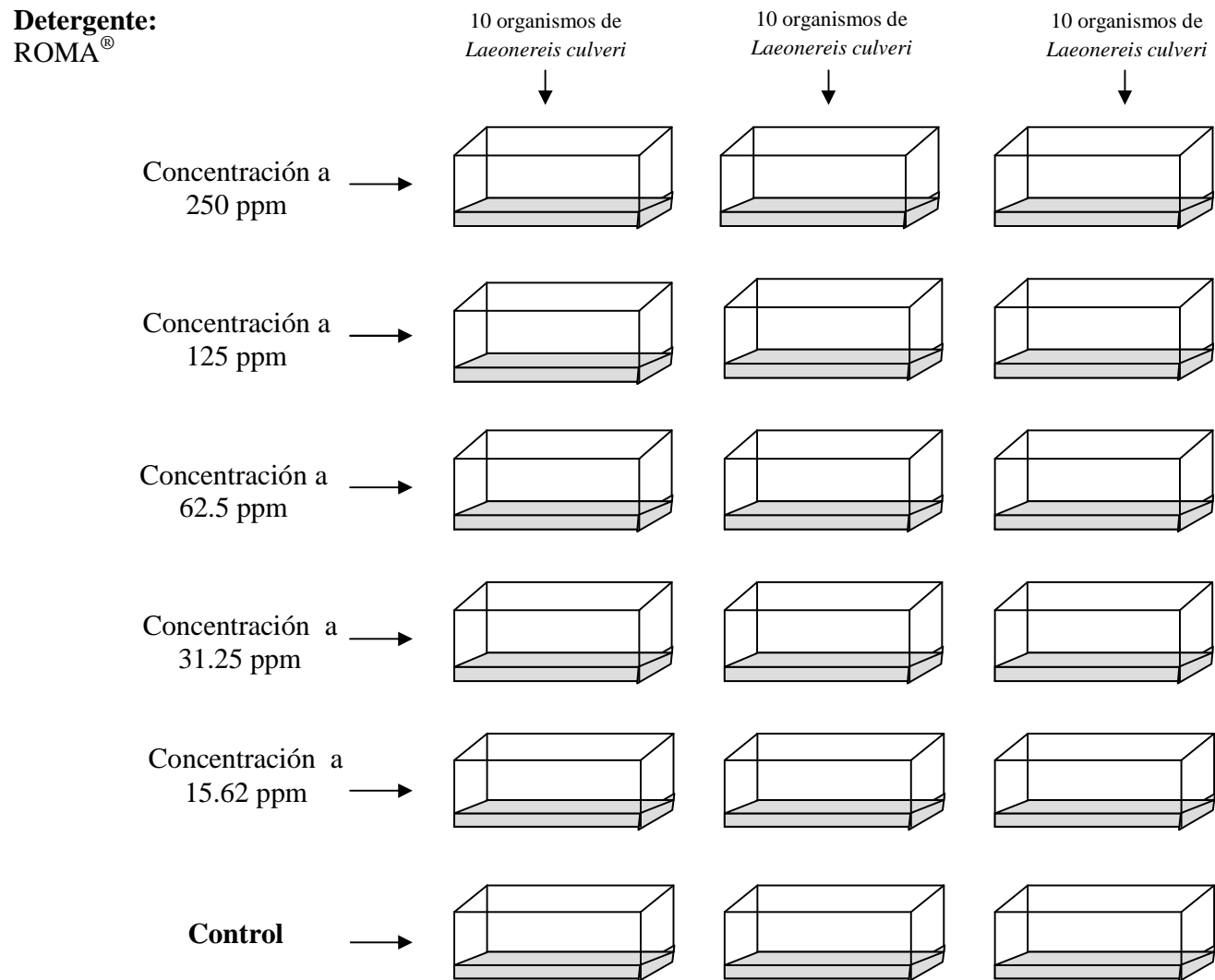


Figura 10. Esquematización de la primera cámara de bioensayo con el detergente ROMA[®].

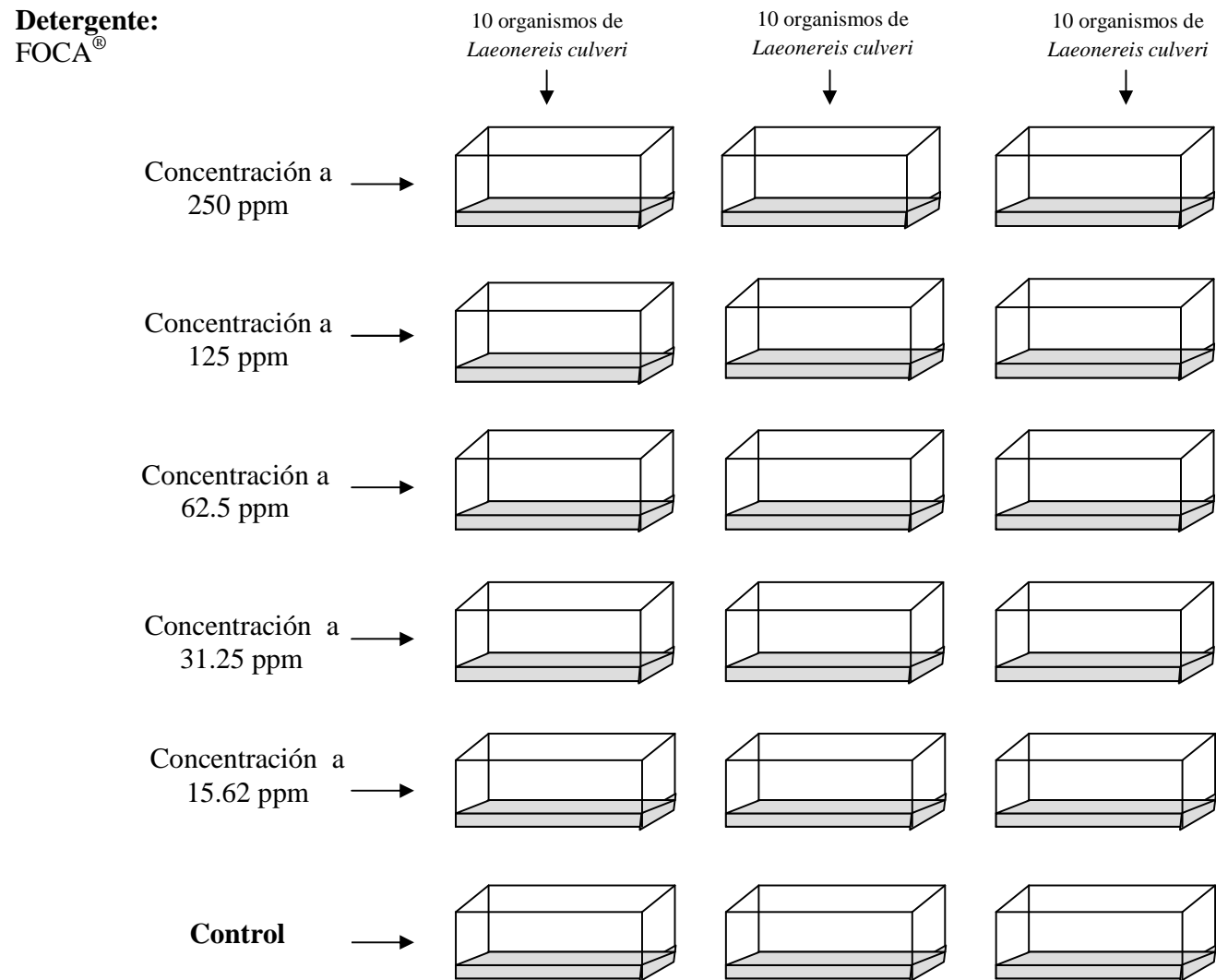


Figura 11. Esquematización de la segunda cámara de bioensayo con el detergente FOCA[®].

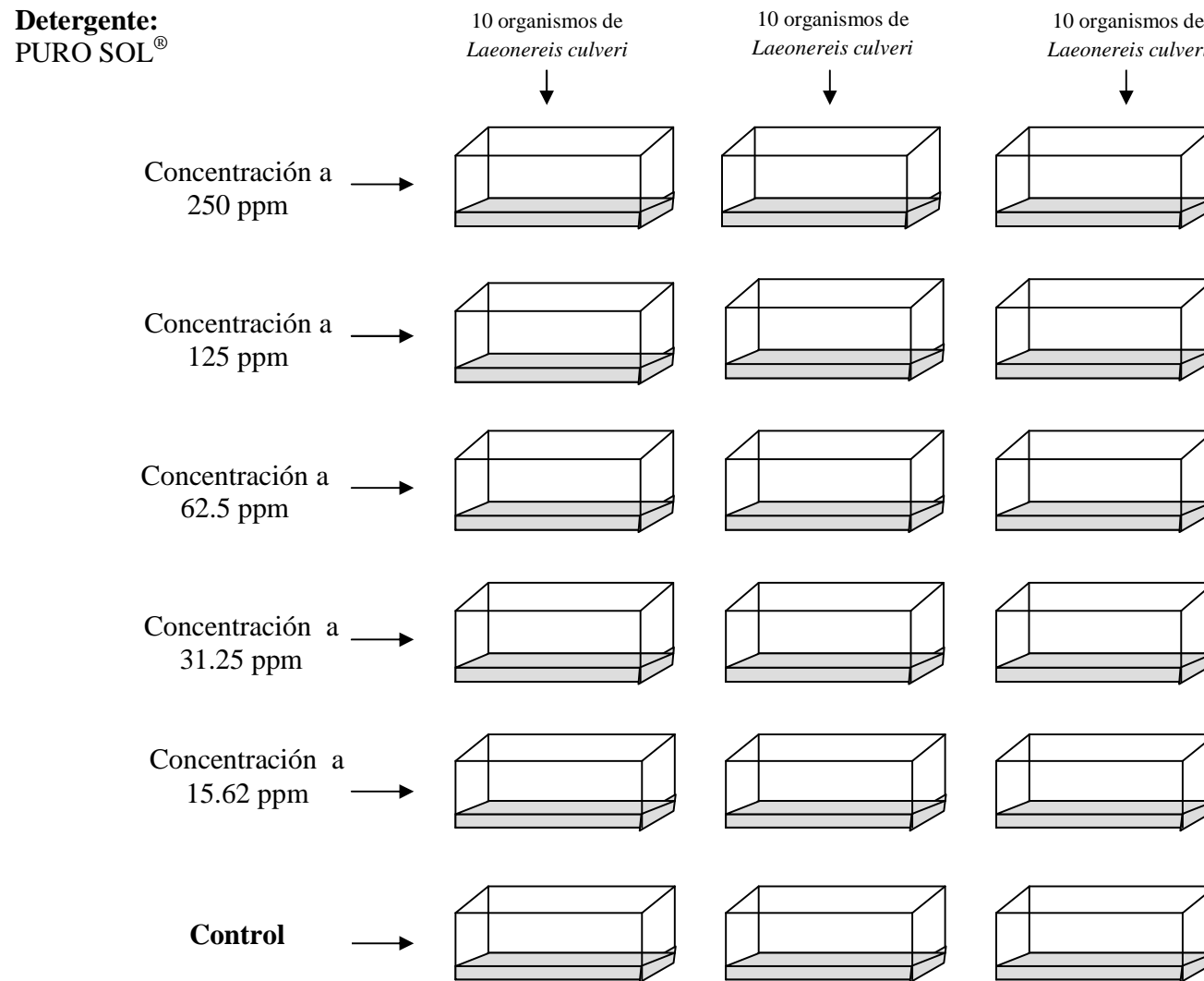


Figura 12. Esquematización de la tercera cámara de bioensayo con el detergente PURO SOL®.

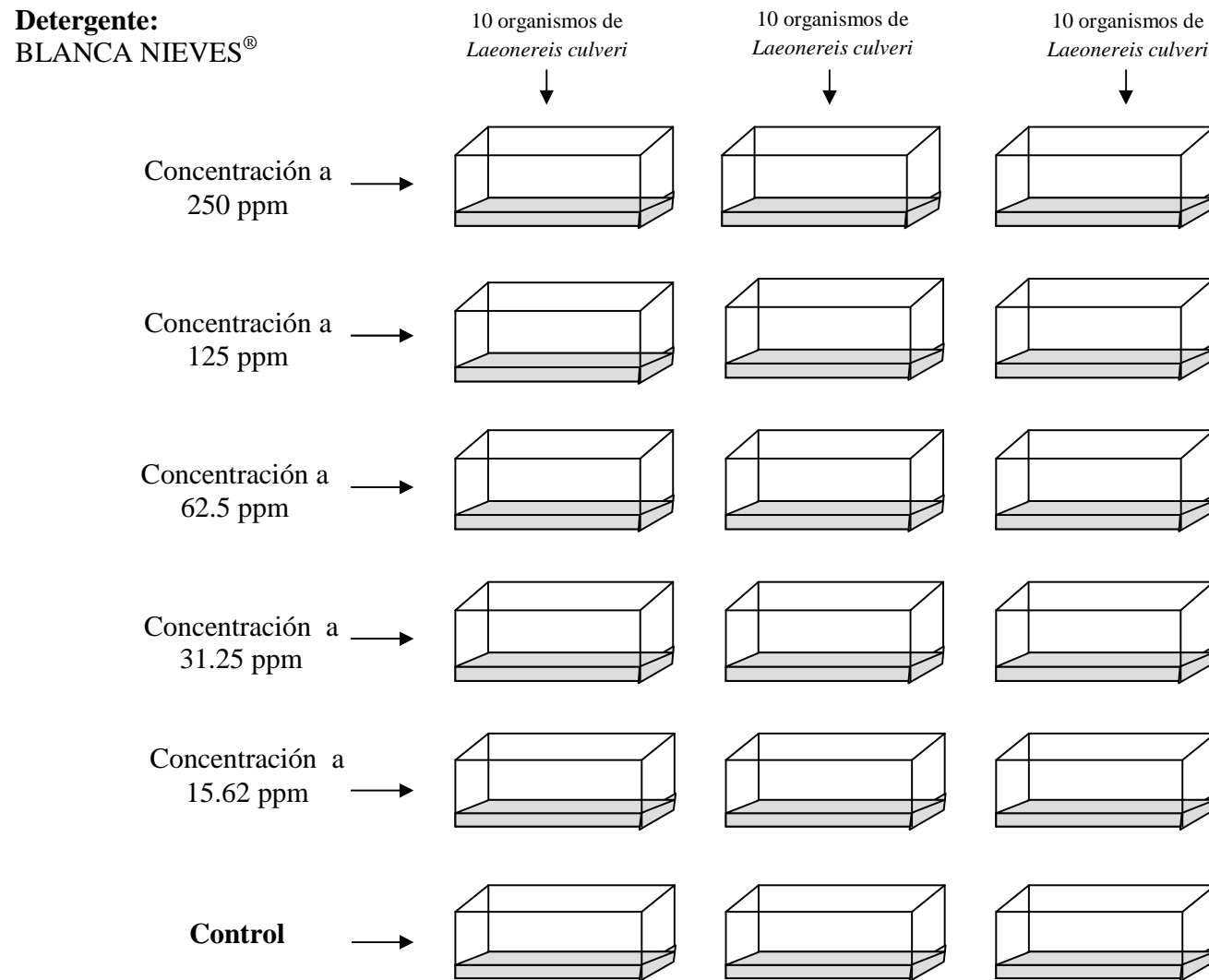


Figura 13. Esquemización de la cuarta cámara de bioensayo con el detergente BLANCA NIEVES®.

Anexo 2. Resultados

Tabla 7. Mortalidad *Laonereis culveri* con el detergente ROMA® a 48 h.

Réplicas	Tiempo de exposición									Muertos	Vivos	Total
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h			
Control												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 1												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	9	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 2												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	8	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	9	10
Bioensayo 3												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	1	2	1	1	5	5	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	1	2	1	2	6	4	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	2	1	1	1	5	5	10
Bioensayo 4												
Réplica No.1	0	0	0	0	2	2	1	1	2	8	2	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	1	1	1	2	6	4	10
Réplica No.3	0	0	0	0	3	2	0	1	1	7	3	10
Bioensayo 5												
Réplica No.1	0	0	0	0	3	2	1	0	2	8	2	10
Réplica No.2	0	0	0	0	2	1	1	1	2	7	3	10
Réplica No.3	0	0	0	0	2	2	1	1	2	8	2	10

Tabla 8. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente ROMA®.

Réplicas	Salinidad (ppm)		Temperatura (°C)		Oxígeno Disuelto (mg/L)		pH	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Control								
Réplica No.1	10	10	25.1	25.4	8.43	8.40	8.25	7.92
Réplica No.2	10	10	25.1	25.3	8.37	8.39	8.25	7.98
Réplica No.3	10	10	25.2	25.7	8.35	8.25	8.18	7.95
Bioensayo 1								
Réplica No.1	10	10	25.2	25.3	8.35	8.19	8.18	7.94
Réplica No.2	10	10	25.1	25.4	8.43	7.98	8.19	7.87
Réplica No.3	10	10	25.2	25.1	8.37	8.10	8.20	7.89
Bioensayo 2								
Réplica No.1	10	10	25.1	25.4	7.99	7.79	7.99	7.90
Réplica No.2	10	10	25.1	25.5	8.20	7.91	8.01	7.83
Réplica No.3	10	10	25.2	25.6	8.10	7.40	8.15	7.79
Bioensayo 3								
Réplica No.1	10	10	25.2	25.6	7.93	7.15	8.06	7.61
Réplica No.2	10	10	25.3	25.5	7.99	7.19	8.10	7.20
Réplica No.3	10	10	25.1	25.6	8.20	7.02	8.07	7.45
Bioensayo 4								
Réplica No.1	10	10	25.2	25.4	7.77	7.14	8.01	7.56
Réplica No.2	10	10	25.2	25.3	7.36	7.05	8.28	7.43
Réplica No.3	10	10	25.3	25.7	8.01	7.15	8.07	7.58
Bioensayo 5								
Réplica No.1	10	10	25.3	25.3	7.68	7.02	8.02	7.24
Réplica No.2	10	10	25.2	25.2	7.10	7.08	8.15	7.35
Réplica No.3	10	10	25.1	25.5	7.59	6.97	8.10	7.17

Tabla 10. Mortalidad *Laeonereis culveri* con el detergente FOCA® a 48 h.

Réplicas	Tiempo de exposición									Muertos	Vivos	Total
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h			
Control												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 1												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	9	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	9	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 2												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	7	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	1	2	0	1	4	6	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	2	1	1	0	4	6	10
Bioensayo 3												
Réplica No.1	0	0	0	0	1	1	1	3	0	6	4	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	2	2	0	1	5	5	10
Réplica No.3	0	0	0	0	1	2	1	2	0	6	4	10
Bioensayo 4												
Réplica No.1	0	0	0	0	1	2	1	2	1	7	3	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	2	2	1	1	7	3	10
Réplica No.3	0	0	0	0	2	3	1	1	1	8	2	10
Bioensayo 5												
Réplica No.1	0	0	0	0	2	2	1	2	2	9	1	10
Réplica No.2	0	0	0	0	3	1	1	2	1	8	2	10
Réplica No.3	0	0	0	0	2	2	1	1	2	8	2	10

Tabla 11. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente FOCA®.

Réplicas	Salinidad (ppm)		Temperatura (°C)		Oxígeno Disuelto (mg/L)		pH	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Control								
Réplica No.1	10	10	25.3	26.2	8.93	8.65	8.69	7.85
Réplica No.2	10	10	25.2	26.4	8.90	8.60	8.42	7.84
Réplica No.3	10	10	25.3	26.2	8.80	8.67	8.38	7.86
Bioensayo 1								
Réplica No.1	10	10	25.3	26.6	8.86	8.06	8.42	7.68
Réplica No.2	10	10	25.4	26.7	8.76	8.05	8.51	7.69
Réplica No.3	10	10	25.3	26.6	8.80	8.09	8.36	7.69
Bioensayo 2								
Réplica No.1	10	10	25.5	26.8	8.82	7.94	8.20	7.62
Réplica No.2	10	10	25.3	26.8	8.80	7.70	8.32	7.58
Réplica No.3	10	10	25.4	26.9	8.90	7.71	8.40	7.61
Bioensayo 3								
Réplica No.1	10	10	25.5	26.8	8.90	6.93	8.32	7.47
Réplica No.2	10	10	25.4	26.8	8.80	6.98	8.40	7.49
Réplica No.3	10	10	25.4	26.9	8.90	6.95	8.16	7.38
Bioensayo 4								
Réplica No.1	10	10	25.5	26.9	8.32	6.77	8.03	7.29
Réplica No.2	10	10	25.4	26.8	8.90	6.15	8.25	7.31
Réplica No.3	10	10	25.6	26.9	8.90	6.36	8.20	7.28
Bioensayo 5								
Réplica No.1	10	10	25.3	26.8	8.46	5.96	8.16	7.19
Réplica No.2	10	10	25.6	26.7	8.32	6.10	8.25	7.21
Réplica No.3	10	10	25.4	26.5	8.36	6.18	8.28	7.24

Tabla 13. Mortalidad *Laeonereis culveri* con el detergente PURO SOL® a 48 h.

Réplicas	Tiempo de exposición									Muertos	Vivos	Total
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h			
Control												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 1												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	9	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 2												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	9	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	8	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	9	10
Bioensayo 3												
Réplica No.1	0	0	0	0	1	2	0	1	1	5	5	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	2	2	0	1	6	4	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	2	1	1	1	5	5	10
Bioensayo 4												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	2	2	3	1	8	2	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	1	1	0	2	5	5	10
Réplica No.3	0	0	0	0	1	2	2	1	1	7	3	10
Bioensayo 5												
Réplica No.1	0	0	0	0	1	2	1	2	1	7	2	10
Réplica No.2	0	0	0	0	2	1	1	1	2	7	3	10
Réplica No.3	0	0	0	0	2	1	1	2	2	8	2	10

Tabla 14. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente PURO SOL®.

Réplicas	Salinidad (ppm)		Temperatura (°C)		Oxígeno Disuelto (mg/L)		pH	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Control								
Réplica No.1	10	10	25.4	25.2	8.89	9.18	8.21	7.82
Réplica No.2	10	10	25.3	25.2	9.26	9.00	8.22	7.83
Réplica No.3	10	10	25.4	25.3	9.11	8.90	8.18	7.82
Bioensayo 1								
Réplica No.1	10	10	25.3	25.4	9.16	8.99	8.21	7.71
Réplica No.2	10	10	25.6	25.5	8.70	8.64	8.10	7.71
Réplica No.3	10	10	25.4	25.5	8.80	8.72	8.18	7.69
Bioensayo 2								
Réplica No.1	10	10	25.7	25.6	8.40	8.44	8.20	7.62
Réplica No.2	10	10	25.5	25.7	8.59	8.14	8.20	7.64
Réplica No.3	10	10	25.5	25.8	8.85	8.17	8.21	7.67
Bioensayo 3								
Réplica No.1	10	10	25.6	25.6	8.55	7.31	8.22	7.49
Réplica No.2	10	10	25.7	25.8	8.20	7.24	8.18	7.52
Réplica No.3	10	10	25.6	25.7	8.90	7.27	8.20	7.52
Bioensayos 4								
Réplica No.1	10	10	25.7	26.4	8.36	6.66	8.20	7.41
Réplica No.2	10	10	25.9	26.7	8.26	6.60	8.28	7.45
Réplica No.3	10	10	25.7	26.5	8.32	6.84	8.17	7.45
Bioensayo 5								
Réplica No.1	10	10	25.8	26.8	8.25	6.31	8.20	7.40
Réplica No.2	10	10	25.7	26.7	8.30	6.40	8.24	7.43
Réplica No.3	10	10	25.8	26.5	8.20	6.60	8.11	7.42

Tabla 16. Mortalidad *Laonereis culveri* con el detergente BLANCA NIEVES® a 48 h.

Réplicas	Tiempo de exposición									Muertos	Vivos	Total
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h			
Control												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 1												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	9	10
Réplica No.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Bioensayo 2												
Réplica No.1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	2	8	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	1	1	1	0	4	6	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	1	1	0	1	3	7	10
Bioensayo 3												
Réplica No.1	0	0	0	0	0	2	2	0	1	5	5	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	1	2	1	1	7	3	10
Réplica No.3	0	0	0	0	0	0	1	3	2	6	4	10
Bioensayo 4												
Réplica No.1	0	0	0	1	0	2	2	2	0	7	3	10
Réplica No.2	0	0	0	0	1	1	3	2	1	8	2	10
Réplica No.3	0	0	1	0	1	1	2	0	1	6	2	10
Bioensayo 5												
Réplica No.1	0	0	1	0	1	2	1	0	2	7	3	10
Réplica No.2	0	1	2	1	1	0	2	2	0	9	1	10
Réplica No.3	0	0	1	0	2	1	1	2	1	8	2	10

Tabla 17. Parámetros físico-químicos de la prueba de toxicidad con el detergente BLANCA NIEVES®.

Réplicas	Salinidad (ppm)		Temperatura (°C)		Oxígeno Disuelto (mg/L)		pH	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Control								
Réplica No.1	10	10	25.1	25.6	8.91	8.15	8.70	7.80
Réplica No.2	10	10	25.1	25.5	8.95	8.38	8.45	7.81
Réplica No.3	10	10	25.1	25.6	8.93	8.20	8.46	7.80
Bioensayo 1								
Réplica No.1	10	10	25.2	25.9	8.40	8.01	8.24	7.45
Réplica No.2	10	10	25.1	25.7	8.24	8.12	8.35	7.42
Réplica No.3	10	10	25.1	25.8	8.19	8.04	8.55	7.45
Bioensayo 2								
Réplica No.1	10	10	25.4	25.7	8.34	7.94	8.40	7.29
Réplica No.2	10	10	25.4	25.7	8.36	7.96	8.35	7.31
Réplica No.3	10	10	25.1	25.6	8.46	8.09	8.40	7.31
Bioensayo 3								
Réplica No.1	10	10	25.4	25.8	8.25	7.40	8.27	7.19
Réplica No.2	10	10	25.2	25.7	8.50	7.50	8.32	7.16
Réplica No.3	10	10	25.4	25.9	8.35	7.39	8.30	7.18
Bioensayo 4								
Réplica No.1	10	10	25.3	25.9	8.18	7.20	8.13	7.09
Réplica No.2	10	10	25.4	25.8	8.15	7.31	8.19	7.12
Réplica No.3	10	10	25.4	25.9	8.09	7.22	8.10	7.05
Bioensayo 5								
Réplica No.1	10	10	25.6	25.9	8.18	6.86	8.09	7.01
Réplica No.2	10	10	25.3	26	8.20	7.01	8.20	7.05
Réplica No.3	10	10	25.4	26.1	8.10	7.10	8.14	7.02

Anexo 3. Detergentes utilizados en los bioensayos.

Figura 28. Detergente biodegradable ROMA®.

Ingredientes principales del ROMA®:

- Agentes de limpieza (Tensoactivo Aniónico Lineal).
- Suavizadores de agua (Fosfatos y Silicato de Sodio).
- Agente antirredesitante (C.M.C.).
- Aditivos (Blanqueadores y Perfume).



Figura 29. Detergente biodegradable FOCA[®].

Ingredientes principales del FOCA[®]:

- Agentes de limpieza (Tensoactivo Aniónico Lineal y Enzima Proteolítica).
- Suavizadores de agua (Fosfatos y Silicato de Sodio).
- Agente antirredesitante (C.M.C.).
- Aditivos (Blanqueadores y Perfume).



Figura 30. Detergente biodegradable PURO SOL[®].

Ingredientes principales del PURO SOL[®]:

- Agentes de limpieza (Tensoactivo Aniónico Lineal).
- Enzimas (Proteasa y Amilasa).
- Suavizadores de agua (Fosfatos y Silicato de Sodio).
- Aditivos (Blanqueadores y Perfume).



Figura 31. Detergente biodegradable BLANCA NIEVES®.

Ingredientes principales del BLANCA NIEVES®:

- Agentes de limpieza (Tensoactivo Aniónico Lineal).
- Suavizadores de agua (Silicato de Sodio, Carbonato, Sulfato y Tripolifosfato).
- Agente antirredepositante (C.M.C.).
- Aditivo (Perfume).

Anexo 4. Organismo utilizado en los biensayos.**Figura 32.** Especie de prueba.**Taxonomía:**

Reino	Animal
Phylum	Annelida
Clase	Polychaeta
Orden	Phyllodocida
Familia	Nereididae
Género	Nereis
Espécie	<i>Laeonereis culveri</i> (Webster, 1879)