

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

UNIDAD AZCAPOTZALCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERÍA

TOXICIDAD Y BIODEGRADABILIDAD DE  
DETERGENTES COMERCIALES Y DE SU  
TENSOACTIVO BASE

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS E INGENIERÍA AMBIENTALES

PRESENTA:

I.Q. ALMA ROSA CALVO LEON

ASESORA:

DRA. CLEMENTINA RITA RAMÍREZ CORTINA

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO DE 2016

## *Dedicatorias*

Quiero dedicar este trabajo primeramente a mi familia por su apoyo incondicional para que yo incursionara este proyecto que me ha dejado muchas satisfacciones, gracias por su amor.

A mi mami y hermana por ser siempre mi roca, mi fortaleza en los momentos de duda, por siempre estar ahí a pesar de la distancia, siempre juntas tomadas de la mano, nunca tuve miedo porque sabía que estaban ahí, las amo.

Al Ing. Gerardo A. García Jarquin, por ser más que un novio para mí, ser mi amigo y compañero en este proyecto por motivarme siempre, por levantarme el ánimo cuando sentí caer, por armarse de paciencia, por estar siempre cuando lo necesite, te amo.

## *Agradecimientos*

En primer lugar quiero agradecer a mi asesora de tesis, la Dra. Clementina R. Ramírez Cortina, por todo el apoyo brindado, por su valiosa amistad, por todo lo que me enseñó durante y después del proyecto, por creer en mí.

A los miembros del jurado, la M. en C. María Rita Valladares Rodríguez, al M. en C. Erasmo Flores Valverde y al Dr. Víctor M. Luna Pabello, por sus valiosos comentarios y observaciones a mi proyecto.

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Azcapotzalco, y al Posgrado Ciencias e Ingeniería Ambientales por brindarme las herramientas para incursionar en la maestría.

Al Departamento de Energía por prestarme los recursos necesarios para mi etapa experimental.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me otorgó y así darme la oportunidad de estudiar una maestría.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyt) por el apoyo que me otorgó para el proceso de titulación de la maestría.

A la M. en C. Jacqueline Alexander por todas sus enseñanzas y consejos.

A la Ing. Maritza Garay R; por ser mi compañera y amiga.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la toxicidad y la biodegradabilidad de tres diferentes detergentes comerciales que tienen amplio uso en el mercado y que indican un contenido de detergente activo de sulfonato aniónico lineal (LAS) y de dodecilbencen sulfonato de sodio (DBSS).

La toxicidad se evaluó mediante pruebas de fitotoxicidad en semillas de lechuga var. *Butter crunch* y mediante pruebas de inhibición del consumo de oxígeno de lodos activados. La biodegradabilidad se determina mediante la relación  $DBO_5/DQO$  y con pruebas de DBO por el método de respirometría en períodos de 10 días. Se emplearon estándares de LAS y DBSS grado reactivo y se incluyeron dos muestras de DBSS grado industrial, además de las tres muestras comerciales. Se separa el detergente activo de los aditivos en las muestras comerciales y también se analizaron en cuanto a su toxicidad y biodegradabilidad. En total se analizaron 15 muestras.

Las pruebas con los tensoactivos grado reactivo LAS y DBSS, muestran una mayor toxicidad por parte del DBSS, tanto en las semillas de lechuga como en los microorganismos de los lodos activados. Además el LAS resultó tener una constante de biodegradabilidad más alta,  $0,22\text{ d}^{-1}$  con respecto a  $0,15\text{ d}^{-1}$  del DBSS, estos resultados fueron posteriores a un período de adaptación de 4 días.

Considerando el criterio de biodegradabilidad en función  $DBO_5/DQO$  las muestras de detergentes comerciales resultaron muy poco degradables con valores de 0,03 a 0,10 estos resultados se explican con las pruebas de respirometría que indican la necesidad de un período de 3 a 4 días para la adaptación de los microorganismos, por lo que hasta el 5 día se inicia la biodegradación de los detergentes.

En cuanto a la toxicidad de los detergentes comerciales, identificados como D3, D4 y D5 se encontró que las muestras D5 y D4 a bajas concentraciones de 2,7 mg/L a 7,5 mg/L respectivamente, inhiben en un 50% el consumo de oxígeno en los lodos activados. Las pruebas de fitotoxicidad mostraron que la concentración de inhibición media  $IC_{50}$  en el crecimiento de la radícula varió de 1,8 mg/L, 6,1 mg/L y 10,4 mg/L para el D5, D3 y D4 respectivamente. Asimismo los valores de  $IC_{50}$  para los tensoactivos y aditivos de los

detergentes (T3, T4, T5, A3, A4 y A5) dieron concentraciones entre 1,6 y 6,5 mg/L, estas muestras resultaron ser más tóxicas a las semillas que los detergentes grado reactivo.

Como conclusión general se confirma que los tres detergentes comerciales con tensoactivos aniónicos resultan tóxicos a las semillas de lechuga var. *Butter crunch* y a los microorganismos de los lodos activados, y se consideran poco biodegradables, con la necesidad de adaptación de microorganismos.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the toxicity and biodegradability of three different commercial detergents, which are widely used in the market. The main active ingredients in many of these commercial detergents are Linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and Sodium dodecylbenzene sulfonate (DBSS).

Phytotoxicity tests using lettuce seeds (*Lactuca sativa* L., cv. Buttercrunch) and Activated Sludge Respiration Inhibition tests were carried out to evaluate the toxicity of these detergents. Meanwhile, biodegradability was measured using BOD<sub>5</sub>/COD ratio and manometric respirometry test (BOD<sub>10</sub>). Fifteen samples were analyzed including LAS standards, reagent grade DBSS sample, two industrial grade DBSS samples, and three commercial samples. The active detergent was separated from the other additives in the commercial samples, when toxicity and biodegradability tests were performed.

The toxicity test results showed that the DBSS samples were more toxic than the reagent grade LAS samples, toward the lettuce seeds and the microorganisms in activated sludge. Moreover, after a four days adaptation period, the LAS sample had a higher biodegradability constant, 0.22 d<sup>-1</sup> than the DBSS sample (0.15 d<sup>-1</sup>).

According to the biodegradability criteria using BOD<sub>5</sub>/COD ratio, all the studied commercial detergents were considered not readily biodegradable with BOD<sub>5</sub>/COD values ranging from 0.03 to 0.10. However, the respirometry tests results indicated that microorganisms needed 3 to 4 days to acclimatize to the detergent, as only after this adaptation period (5th day onwards) was biodegradation observed with detergent samples.

The toxicity test results of the commercial detergents, identified as D3, D4, and D5, showed that samples D5 and D4 at low concentrations of 2.7 mg/L to 7.5 mg/L, respectively, caused inhibition of 50% of the oxygen consumption of activated sludge organisms (IC<sub>50</sub>). The phytotoxicity tests results showed varied mean inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) in the radicle

growth of 1.8 mg/L, 6.1 mg/L and 10.4 mg/L for D5, D3 and D4 respectively. Additionally,  $IC_{50}$  values of surfactants and detergents additives (T3, T4, T5, A3, A4 and A5) were between 1.6 and 6.5 mg/L, these samples were more toxic to the lettuce seeds than the reagent grade detergents.

In conclusion, the three commercial detergents with anionic surfactants resulted toxic to the lettuce seeds (*Lactuca sativa* L., cv. Buttercrunch) and the microorganisms of the activated sludge, and are not considered readily biodegradable, since microorganisms needed to be pre-adapted to samples.

# Tabla de contenido

<i>Dedicatorias</i> .....	2
<i>Agradecimientos</i> .....	3
<b>RESUMEN</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>Índice de Tablas</b> .....	10
<b>Índice de Ilustraciones</b> .....	10
<b>Índice de Imágenes</b> .....	10
<b>Índice de Gráficas</b> .....	11
<b>Tabla de Abreviaciones Y Símbolos Usados</b> .....	12
<b>I. Introducción</b> .....	14
<b>Justificación</b> .....	16
<b>HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>Objetivo general</b> .....	17
<b>Objetivos específicos</b> .....	17
<b>II. Marco teórico</b> .....	18
<b>II.1. Detergentes</b> .....	18
<b>II.2. Agentes tensoactivos</b> .....	19
<b>II.3. Toxicología</b> .....	24
<b>II.3.1. Métodos de evaluación de la toxicidad</b> .....	26
<b>II.4. Biodegradabilidad</b> .....	29
<b>II.4.1. Concepto de biodisponibilidad</b> .....	31
<b>II.4.2. Rutas de biodegradación</b> .....	31
<b>II.4.3. Métodos de evaluación de la biodegradabilidad</b> .....	32
<b>II.4.4. Biodegradabilidad aerobia mediante la relación DBO5/DQO</b> .....	33
<b>III. Estado del Arte</b> .....	34
<b>III.1. Estudios de Biodegradabilidad de los detergentes</b> .....	35
<b>III.2. Toxicidad de los detergentes</b> .....	39
<b>III.2.1. Fitotoxicidad en semillas de Lechuga (<i>lactuca sativa</i>)</b> .....	40
<b>III.2.2. Toxicidad en Lodos activados</b> .....	41
<b>IV. Metodología</b> .....	44

IV. 1. Pruebas de Fitotoxicidad .....	47
IV. 2. Pruebas de Toxicidad en Lodos Activados .....	48
IV. 3. Demanda Química de Oxígeno .....	50
IV. 4. Demanda Bioquímica de Oxígeno .....	51
IV. 5. Pruebas de DBO con el método Respirométrico.....	53
V. Resultados y Discusión.....	54
V.1. Extracción e identificación de los tensoactivos.....	54
V.1.2. Análisis espectrofotométrico.....	55
V.2. Pruebas de toxicidad.....	58
V.2.1. Toxicidad en semillas de lechuga .....	58
V.2.2. Toxicidad en Lodos Activados - Método de pruebas de respirometría .....	64
V.3. Pruebas de Biodegradabilidad.....	69
V.3.1. Demanda Química de Oxígeno .....	70
V.3.2. Demanda Bioquímica de Oxígeno .....	72
V.4. Pruebas de DBO Método Respirométrico .....	78
VI. Conclusiones.....	92
V.II. Referencias.....	94
Anexo 1.- Curva de calibración de DQO- Método Colorimétrico.....	105
Anexo 2.-Carta Control-Valoración de germinación de la semilla Lactuca sativa .....	107
Anexo 3.-Carta Control-Tóxico de referencia prueba de fitotoxicidad.....	108
Anexo 4.- Carta Control de fitotoxicidad- tensoactivo base LAS .....	109
Anexo 5.-Carta Control fitotoxicidad- tensoactivo base DBSS.....	110
Anexo 6. Carta Control fitotoxicidad- Tensoactivo 1 .....	111
Anexo 7.- Carta Control fitotoxicidad- Aditivos 1.....	112
Anexo 8.- Carta Control de fitotoxicidad-Tensoactivo 2 .....	113
Anexo 9.-Carta Control fitotoxicidad- Aditivos 2.....	114
Anexo 10.- Carta Control fitotoxicidad-Detergente comercial 3 .....	115
Anexo 12.- Carta Control fitotoxicidad-Aditivos 3.....	117
Anexo 13.- Carta Control fitotoxicidad-Detergente comercial 4 .....	118
Anexo 14.- Carta Control fitotoxicidad -Tensoactivo separado 4 .....	119
Anexo 15.- Carta Control fitotoxicidad-Aditivos 4.....	120
Anexo 16.- Carta Control fitotoxicidad-Detergente comercial 5 .....	121



<b>Anexo 18.- Carta Control fitotoxicidad-Aditivos 5</b> .....	123
<b>Anexo 19.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 1 con tres diluciones</b> .....	124
<b>Anexo 20.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 2 con tres diluciones</b> .....	125
<b>Anexo 21.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 3 con tres diluciones</b> .....	126
<b>Anexo 22.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 4 con tres diluciones</b> .....	127
<b>Anexo 23.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 5 con tres diluciones</b> .....	128
<b>Anexo 24.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 1 con tres diluciones</b> .....	129
<b>Anexo 25.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 2 con tres diluciones</b> .....	130
<b>Anexo 26.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 3 con tres diluciones</b> .....	131
<b>Anexo 27.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 4 con tres diluciones</b> .....	132
<b>Anexo 28.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 5 con dos diluciones</b> .....	133
<b>Anexo 29.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 1 con tres diluciones</b> .....	134
<b>Anexo 30.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 2 con tres diluciones</b> .....	135
<b>Anexo 31.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 3 con tres diluciones</b> .....	136
<b>Anexo 32.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 4 con tres diluciones</b> .....	137
<b>Anexo 33.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 5 con dos diluciones</b> .....	138

## Índice de Tablas

Tabla 1.-Desarrollo histórico de los productos de limpieza (Lechuga, 2005) .....	21
Tabla 2.-Agentes químicos empleados para la limpieza en la industria (Adaptado de Lechuga, 2005) .....	23
Tabla 3.- Ventajas y Desventajas de los tensoactivos LAS (Perales, 2001): .....	24
Tabla 4.- Comparación de la relación DBO <sub>5</sub> /DQO y métodos respirométricos.....	33
Tabla 5.- Descripción de las muestras.....	45
Tabla 6.- Resultados análisis Gravimétrico de la extracción de tensoactivos en los detergentes comerciales .....	58
Tabla 7.- Resumen de resultados de Índice de Inhibición en semillas de lechuga .....	63
Tabla 8. Concentración de inhibición en mg/L para el LAS y DBSS .....	65
Tabla 9.- Resultados de toxicidad.....	69
Tabla 10. Resultados de las pruebas de DQO Detergentes comerciales .....	71
Tabla 11. Resultados de las pruebas de DQO Tensoactivos separado.....	71
Tabla 12. Resultados de las pruebas de DQO Aditivos.....	72
Tabla 13. Resultados de DBO <sub>5</sub> - Solución concentración 500 mg/l .....	73
Tabla 14.- Comparación de resultados de toxicidad y biodegradabilidad .....	77
Tabla 15. Cálculo de K y L <sub>0</sub> de la solución de Glucosa .....	81
Tabla 16. Volúmen de las muestras en el equipo Hach Respirometric.....	81
Tabla 17. Calculo de la K Y L <sub>0</sub> para cada una de las muestras.....	85

## Índice de Ilustraciones

Ilustración 1.-Estructura básica de un tensoactivo (Dorado. 1996).....	22
Ilustración 2.- Estructura molecular de los Sulfonatos Aniónicos Lineales (LAS) Dorado.1996.....	22
Ilustración 3.- Esquema de la plantula de Lactuca sativa al finalizar el período de exposicion .....	28
Ilustración 4.- Proceso de Biodegradación de LAS (Adaptado de Rebello.2014) .....	36
Ilustración 5. Diagrama del proceso experimental .....	46
Ilustración 6. Diagrama de las pruebas de toxicidad: en semillas de lechuga Lactuca sativa var. <i>Butter crunch</i> .....	47
Ilustración 7. Diagrama de las pruebas de toxicidad en Lodos Activados .....	50

## Índice de Imágenes

Imagen 1.- Germinación de las semillas <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Buettercruch</i> .....	29
Imagen 2.-Botellas Winkler con muestra .....	52
Imagen 3. Equipo de DBO Track.....	53
Imagen 4. Proceso de separación del tensoactivo del detergente comercial .....	54
Imagen 5.-Valoración de la germinación de la semilla.....	59
Imagen 6.- Germinación de la semillas con el Cl Zn <sub>2</sub> .....	59
Imagen 7.-Germinación de la semilla con el tensoactivo LAS.....	60
Imagen 8.-Equipo para pruebas de respirometría Lodos Activados .....	64

## Índice de Gráficas

Gráfica 1. Análisis espectrofotométrico en la región ultravioleta-visible de los diferentes detergentes en su formulación comercial. De acuerdo a sus etiquetas: Detergente 1: dodecilbencen sulfonato de sodio, Detergente 2: dodecilbencen sulfonato, Detergente 3: tensoactivo aniónico, Detergente 4: Alquil aril sulfonato de sodio, Detergente 5: dodecil bencen sulfonato de sodio.....	55
Gráfica 2. Análisis espectrofotométrico en la región ultravioleta-visible de los diferentes detergentes en su formulación comercial y su respectivo tensoactivo ; a) , b) y e) representan a los detergentes 1, 2 y 5 respectivamente detergente dodecilbencen sulfonato de sodio y tensoactivo separado, c) detergente aniónico 3 y su tensoactivo separado , el d) detergente 4 Alquil aril sulfonato de sodio y su tensoactivo.....	57
Gráfica 3. Curva de dosis-respuesta para el $ZnCl_2$ .....	60
Gráfica 4. Resultados de la $IC_{50}$ muestra 1 .....	61
Gráfica 5. Resultados de la $IC_{50}$ muestra 3 .....	61
Gráfica 6. Resultados de la $IC_{50}$ muestra 4 .....	62
Gráfica 7. Resultados de la $IC_{50}$ muestra 5 .....	62
Gráfica 8. Resultados pruebas de toxicidad Tensoactivo LAS grado reactivo con tres diluciones ..	66
Gráfica 9. Resultados pruebas de toxicidad Tensoactivo DBSS grado reactivo con tres diluciones.	66
Gráfica 10. Resultados de $IC_{50}$ . LAS, DBSS y Aditivos 1-5 por por el método de respirometría en lodos activados.....	68
Gráfica 11. Resultados de $IC_{50}$ . LAS, DBSS y Tensoactivos 1-5 por por el método de respirometría en lodos activados.....	68
Gráfica 12. Resultados de $IC_{50}$ . LAS, DBSS y Detergentes 1-5 por el método de respirometría en lodos activados.....	68
Gráfica 13. Resultados de biodegradabilidad de los Detergentes .....	75
Gráfica 14. Resultados de biodegradabilidad para los Tensoactivos separados .....	76
Gráfica 15. Resultados de biodegradabilidad para los Aditivos.....	76
Gráfica 16. DBO registrada por el equipo Hach durante los días de prueba. Glucosa .....	79
Gráfica 17. DBO registrada por el equipo Hach cada 24 horas. Glucosa .....	79
Gráfica 18. Solución de Glucosa, siembra de 15 ml .....	80
Gráfica 19. Solución de Glucosa, siembra de 30 ml .....	80
Gráfica 20. Solución de Glucosa, siembra de 45 ml .....	80
Gráfica 21. DBO registrada por el equipo Hach Respirometric en 10 días de prueba, LAS, DBSS, Detergente comercial 4 y Detergente comercial 5 .....	82
Gráfica 22. Registro de resultados cada 24 horas, LAS. DBSS, Detergente comercial 4 y Detergente comercial 5 .....	82
Gráfica 23. LAS siembra de 15 ml.....	83
Gráfica 24. LAS siembra de 10 ml.....	83
Gráfica 25. DBSS , siembra de 10 ml .....	84
Gráfica 26. Detergente comercial 4, siembra de 50 ml .....	84
Gráfica 27. Detergente comercial 5, siembra de 50 ml.....	84

Gráfica 28. DBO registrada por el equipo Hach Respiriometric en 10 días de prueba, Tensoactivos 4 y 5, Aditivos 4 y 5 primer prueba con 500 mg/L .....	86
Gráfica 29. DBO registrada por el equipo Hach Respiriometric en 10 días de prueba, Tensoactivos 4 y 5 (250 mg/L), Aditivos 4 y 5 (100 mg/L) segunda prueba .....	86
Gráfica 30. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Tensoactivo 4 con y sin inóculo solución de 500 mg/L .....	87
Gráfica 31. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Tensoactivo 4 con y sin inóculo en la segunda solución de 250 mg/L .....	87
Gráfica 32. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Tensoactivo 5 con y sin inóculo solución de 500 mg/L .....	88
Gráfica 33. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Tensoactivo 5 con y sin inóculo solución 250 mg/L .....	88
Gráfica 34. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Aditivos 4 con y sin inóculo solución 500 mg/L .....	89
Gráfica 35. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Aditivos 4 con y sin inóculo solución 100 mg/L .....	89
Gráfica 36. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Aditivos 5 con y sin inóculo solución de 500mg/L .....	90
Gráfica 37. DBO reportada por el equipo Hach Respiriometric para el Aditivos 5 con y sin inóculo solución de 100 mg/L .....	90
Gráfica 38. Tensoactivo 4 concentración de 250 mg/L, siembra de 25 ml .....	91
Gráfica 39. Tensoactivo 5 concentración de 250 mg/L, siembra de 25 ml .....	91

## Tabla de Abreviaciones Y Símbolos Usados

AASS	Alquilaril sulfonato de sodio
ABS	Alquil Benceno Sulfonatos
APHA	America Public Health Association
CL <sub>50</sub>	Concentración letal media
CE <sub>50</sub>	Concentración de Inhibición letal media
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DBO <sub>5</sub>	Demanda Bioquímica de Oxígeno prueba que se realiza en 5 días
DBO <sub>T</sub>	Demanda Bioquímica de Oxígeno total o ultima
DBSS	Dodecil bencen Sulfonato de sodio

DQO	Demanda Química de Oxígeno
EC <sub>50</sub>	Concentración eficaz media
ICI	Índice de inhibición de la capacidad
II	Índice de Inhibición
ISO	International Organization for Standardization
I%	El porcentaje de Inhibición
K	Constante de oxidación
LAS	Sulfonato Aniónico Lineal
OCDE	Environment Directorate organization for economic co-operation and development
OD	Oxígeno disuelto
PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
Q.P	Químicamente Puro
R	Tasa de consumo de oxígeno
R <sub>c</sub>	Tasa de consumo de oxígeno del control
R <sub>s</sub>	Tasa de consumo de oxígeno de la sustancia de prueba a la concentración
SAAM	Sustancias Activas al Azul de metileno
SDS	Lauril sulfato de sodio
Var.	Variedad
USEPA	US Environmental Protection Agency
$\lambda$	Longitud de onda

## I. Introducción

En México como otras partes del mundo, se enfrenta la problemática de la contaminación en el agua, aire y suelo; para minimizar el impacto que afecte a las generaciones futuras, se realizan un sin número de estudios alrededor del mundo sobre los diferentes contaminantes y que hacer para mitigar sus impactos en el ambiente.

La contaminación en las aguas ocasionadas por actividades antropogénicas constituye uno de los problemas de mayor trascendencia en nuestros tiempos. Los detergentes domésticos se hallan entre los contaminantes de naturaleza orgánica de gran magnitud a nivel mundial.

Los detergentes están formados por sustancias tensoactivas que son moléculas con una parte hidrofílica y otra hidrofóbica, que tienen la propiedad de influir en la tensión superficial. Estos tensoactivos se encuentran aplicados en numerosos campos tecnológicos. Entre éstas destacan: formulaciones de detergentes, productos de higiene corporal, cosméticos, aplicaciones alimentarias, pinturas y barnices, aplicaciones agrícolas, farmacéuticas, emulsiones de asfalto, tratamiento de cueros y/o flotación de minerales. De acuerdo al Censo Económico del 2010, se reporta para la fabricación de detergentes líquidos y en polvo de uso doméstico una producción de aproximadamente de 1'500 millones de pesos (INEGI, 2014).

Los tensoactivos constituyen, por volumen, uno de los principales compuestos xenobióticos presentes en las aguas residuales urbanas. A pesar del gran número de aplicaciones y de las numerosas ventajas que presentan los tensoactivos tanto en el ámbito industrial como económico y sanitario, desde un punto de vista ambiental, éstos son considerados como un importante contaminante del medio acuático. Una vez utilizados, estos compuestos llegan a las estaciones depuradoras a través de las aguas residuales urbanas e industriales y en determinados casos son vertidos directamente a las aguas superficiales.

Se considera a las formulaciones de detergentes comerciales como la causa de varios impactos sobre el ambiente como es la eutrofización, debido a los altos niveles de fósforo procedentes del tripolifosfato, principal ingrediente de las formulaciones detergentes (Lechuga. 2005), también problemas de espuma en aguas residuales al disminuir la tensión

superficial (Romero.1996), ocasionando interferencia en el proceso de intercambio del oxígeno disuelto.

Actualmente, la normatividad existente en México sobre aguas residuales como la NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales, no menciona que la concentración de los detergentes debe ser reducida antes de ser descargada en cuerpos acuáticos y terrestres receptores. Para verificar la calidad de los detergentes en México, estos son analizados de acuerdo a la NOM-002-SCFI-1993 para, productos pre envasados, contenido neto, tolerancia y métodos de verificación y de acuerdo a la NOM-050-SCFI-1994 (Información comercial, disposiciones generales para productos), las pruebas aplicadas son: contenido neto, eficiencia de lavado, veracidad del etiquetado, blancura, conservación de la tela y rendimiento, dentro de esta información falta mencionar si el detergente es biodegradable y tóxico (Polaco, 2012).

Si tenemos en cuenta que los tensoactivos aniónicos son la base lavante de la mayor parte de los detergentes (textiles, lavavajillas manuales, limpiadores en general, geles del baño, shampoos, etc.) y que los tensoactivos catiónicos se aplican fundamentalmente en suavizantes (también en pequeñas cantidades en desinfectantes y en shampoos acondicionadores), se puede afirmar que se consume más tensoactivo en suavizar que en lavar (Bailón, 2003).

Actualmente son numerosas las investigaciones orientadas a la obtención de nuevos tensoactivos, la razón más importante es que las principales clases de tensoactivos tradicionales tales como los etoxilados o los alquilbenceno sulfonatos, a pesar de presentar una excelente actuación como tensoactivo, presenta en algunos casos baja biodegradabilidad y un alto potencial de toxicidad acuática (Holmberg, 2001).

El presente estudio se enfoca al análisis de la biodegradabilidad y toxicidad de tres detergentes comerciales y del tensoactivo base que contienen; resultó importante valorar su biodegradabilidad evaluando la respuesta de degradación de los microorganismos en presencia de las diferentes composiciones químicas de las muestras mediante el análisis de la DBO requerida a los cinco días así como la DQO de la materia oxidable presente, con el fin de poder correlacionar la  $DBO_5/DQO$  para determinar el porcentaje de biodegradabilidad, mediante pruebas de DBO por respirometría se pudo obtener la DBO última de los detergentes y del tensoactivo base así como sus constantes de degradación

lo que nos permite estudiar el comportamiento de los microorganismos para degradar las diferentes muestras en períodos más largos de incubación. La toxicidad de los detergentes comerciales y del tensoactivo base fue evaluada en semillas de lechuga *Lactuca sativa*, esta prueba se eligió por la alta sensibilidad de la semilla dentro de un período corto de incubación que permite observar su respuesta ante el tóxico a diferentes concentraciones. Además, se valoró la repuesta de los lodos activados de una planta de tratamiento de agua residual doméstica a los diferentes detergentes comerciales y tensoactivos base estudiados, mediante la tasa de respiración de los lodos; con esta prueba se busca representar las condiciones de una planta de tratamiento biológico de agua residual doméstica y proporciona información de efectos inhibitorios o estimulantes de los detergentes en los lodos activados.

## Justificación

La biodegradabilidad de los detergentes domésticos es muy variable, ya que depende de la estructura química del ingrediente activo o tensoactivo base. Los detergentes fabricados con el sulfonato aniónico lineal (LAS) son biodegradables en condiciones aeróbicas pero resistentes en condiciones anaeróbicas. Al tomar en cuenta que actualmente en el Valle de México el 90 por ciento del agua residual no recibe tratamiento y que su destino final la lleva a zonas agrícolas en el Valle del Mezquital. Hgo., resulta importante evaluar el impacto que pueden llegar a ocasionar los detergentes presentes en el agua residual, en cuanto a su toxicidad y a su tasa de biodegradabilidad.

Diversos autores consideran que el riesgo ambiental por la presencia de los detergentes en el medio acuático podría ser elevado, uno de los principales problemas en el estudio del impacto de los detergentes en el medio ambiente es su monitoreo, principalmente porque después de ser descargados en las aguas residuales, es difícil encontrar trazas de sus componentes, por lo tanto, para este estudio se consideró conveniente investigar la toxicidad y la biodegradabilidad de tres detergentes comerciales de uso común y de su tensoactivo base, sulfonato aniónico lineal y dodecibencen sulfonato de sodio.



## HIPÓTESIS

- Los detergentes comerciales con el tensoactivo aniónico y sus diferentes aditivos, resultan tóxicos al medio ambiente y presentan baja biodegradabilidad.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Evaluar la toxicidad y la biodegradabilidad de los tensoactivos aniónicos y de tres detergentes comerciales.

### Objetivos específicos

- Determinar la biodegradabilidad de los tensoactivos (detergente puro) mediante la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno total y la constante de oxidación y con la relación  $DBO_5/DQO$ .
- Determinar el grado de toxicidad de los tensoactivos y de los detergentes comerciales, por el método respirométrico con lodos activados.
- Evaluar la toxicidad aguda en semillas de lechuga de los tensoactivos y los detergentes comerciales.

## II. Marco teórico

### II.1. Detergentes.

En la década de los años cincuenta el uso del jabón quedó desplazado por los detergentes sintéticos como consecuencia de las ventajas que éstos ofrecían en el proceso de limpieza (Dorado, 1996). El mayor problema asociado a la utilización del jabón es la precipitación en aguas duras, por la presencia de cationes metálicos en disolución, principalmente calcio y magnesio, que hacen perder al jabón sus propiedades limpiadoras por la aparición de un precipitado. Los detergentes sintéticos actúan sin problemas en las aguas duras, porque aunque reaccionen con los cationes metálicos presentes en ellas, forman compuestos solubles evitando la precipitación.

Un detergente, se define como toda sustancia o mezcla que contenga tensioactivos, modificadores de la tensión superficial del agua, que se utilizan en procesos de lavado y limpieza. Las formulaciones comerciales de detergentes se componen de mezclas complejas de tensoactivos con otros aditivos como son: álcalis, secuestrantes de iones, dispersantes, oxidantes, blanqueadores, colorantes, perfumes y otros. Los detergentes comerciales pueden adoptar cualquier forma (líquido, polvos, pasta, barra, pastilla, formas moldeadas, etc.) y ser comercializados para uso doméstico, institucional o industrial.

Tensoactivo es toda sustancia orgánica o mezcla utilizada en los detergentes que tiene propiedades tensoactivas y que consta de uno o varios grupos hidrófilos y de uno o varios grupos hidrófobos cuyas características y tamaño permiten la disminución de la tensión superficial del agua, la formación de monocapas de esparcimiento o de adsorción en la interfase agua/aire, la formación de emulsiones y/o microemulsiones o micelas y la adsorción en la interfase agua/sólido (Reglamento CE,2008).

De todos los ingredientes que constituyen la formulación comercial del detergente, los tensoactivos y los agentes reforzadores con polifosfatos resultan ser más peligrosos, los primeros por ser altamente tóxicos para organismos acuáticos (Pettersen et al., 2000) y los segundos porque los productos resultantes de su hidrólisis contienen fósforo, que se halla implicado en procesos de eutrofización de lagos y embalses (Varó, 1996).

## II.2. Agentes tensoactivos

Son las sustancias que poseen la característica de modificar la tensión superficial del agua mediante la promoción de los fenómenos de adsorción, son conocidas como agentes de superficie o tensoactivos, en general los tensoactivos son sinónimos del detergente puro (Perales, 2001)

En función del carácter iónico del grupo hidrófilico, los tensoactivos se dividen en cuatro grandes familias: Aniónico, cuando presentan una carga eléctrica negativa, catiónicos, cuando es positiva, anfóteros, cuando presentan propiedades aniónicas o catiónicas según el pH del medio y no-iónicos cuando aún presentando una ionicidad ésta no está definida netamente como negativa o positiva.

Los tensoactivos, también conocidos como agentes de superficie, constituyen un amplio grupo de compuestos químicos con un gran número de aplicaciones debido a sus propiedades de solubilidad, detergencia, resistencia a la dureza del agua, así como emulsionantes, dispersantes y humectantes.

Las propiedades de adsorción en superficies y de asociaciones moleculares determinan fenómenos relacionados con la aplicación de los agentes tensoactivos como son:

- Formación de espuma. La disminución de la tensión superficial entre un líquido y el aire hace que la superficie del líquido pueda deformarse con extrema facilidad y provocar la inclusión de multitud de burbujas de aire (Hedreul, 2001).
- Formación de emulsiones. Micro emulsiones y liposomas: cuando dos líquidos inmiscibles entre sí se encuentran en presencia de tensoactivos, uno de ellos, por efecto de la disminución drástica de la tensión interfacial, puede dividirse, mediante acción mecánica, en partículas de pequeño tamaño, Este sistema de dos fases dividido en pequeñas gotitas (fase dispersa) inmersas en otra fase (fase continua) se denomina emulsión.
- Solubilización. Si la cantidad de tensoactivo es suficientemente elevada, pueden llegarse a solubilizar de forma completa sustancias normalmente inmiscibles entre

sí. En perfumería, esta propiedad es fundamental para hacer que los perfumes (aceites esenciales) puedan estabilizarse en multitud de productos comerciales que deben estar perfumados, como son los cosméticos, detergentes, plásticos y otros objetos en general (Edwards, 1994; Frieberg, 1999).

- Detergencia. Los tensoactivos pueden hacer que partículas de suciedad dejen de adherirse a las superficies que “ensucian”, gracias a la modificación del equilibrio de tensiones interfaciales del sistema formado por el substrato (lo que está sucio), la suciedad y el baño de lavado (donde está disuelto el tensoactivo) por esta razón, los tensoactivos son el componente principal de los detergentes (Drachev, 1994; Prieto, 1996; Verma, 1998).
- Transferencia de oxígeno y otros gases. Otro de los efectos de los tensoactivos es la modificación de la transferencia de oxígeno al agua, y de cualquier gas en general, lo que propicia la generación de espuma. Además la presencia de pequeñas cantidades del tensoactivo en agua afecta la transferencia de oxígeno en las agallas de los peces lo que ocasiona su muerte. Esta es una razón por la cual es importante que los tensoactivos se degraden antes de llegar a los cuerpos de agua.

En la tabla 1 se muestra el desarrollo histórico de los productos de limpieza desde el año 3000 a.C Hasta la actualidad.

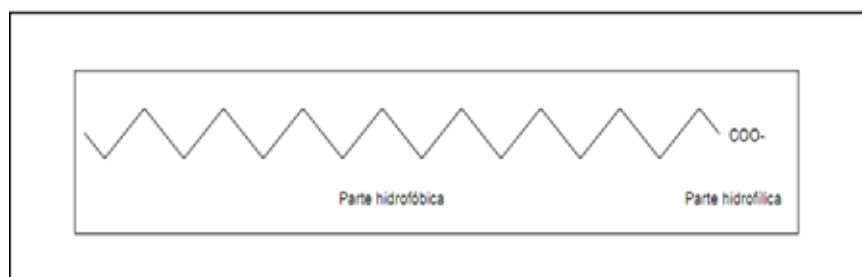
**Tabla 1.-Desarrollo histórico de los productos de limpieza (Lechuga, 2005)**

Época y Hechos cronológicos	Observaciones
<b>ERA ANTES DE CRISTO</b> Año 3000. en Sumeria	Tablilla Sumeria de arcilla donde se habla de “ azufre jabonoso” “
Año 2 500. en Mesopotamia	Placa de arcilla con descripción de la fabricación de jabón( aceite + hierba jabonosa)
Año 1500. en Egipto	Grabados y papiros, Descripción (aceites animales+ vegetales+sales)
Año 600	Introducción en Europa
<b>ERA CRISTIANA</b> <b>Primera Generación de Detergentes</b> Imperio Romano	Extractos de cenizas+grasas para ungüentos
Año 800. Almonas, Andalucía	Fabricación con aceite de oliva y el álcalis obtenido de las cenizas de combuistón de los almarjos (solanácea de las marismas de Guadalquivir)
Año 1000. Marsella y Venecia	Centros del negocio de fabricación de jabón período ( siglos IX-XIV)
Año 1300. Fundación de Gremios Europeos	Desarrollo importante de la fabricación del jabón
Año 1791 . Descubrimiento de LEBLANC	Método Leblanc para la preparación del carbonato sódico Inicio de la Industria Química
Año.1799 . Aportación de TENNAnT	Obtención del cloruro de cal que permitía obtener $CaCl_2$ para blanqueamiento del algodón, composición de grasas y reacciones en fabricación de jabón
Año 1823. Trabajos de CHEVREUL	Inicio de nuevas industrias, repercusión en el incremento exponencial de la población europea
<b><u>Segunda Generación de detergentes</u></b> Año 1917 . Descubrimientos de HARKINS Y LANGMUIR	Sustancias sintéticas equiparables a los jabones
Año 1925 . En Alemania después de la 1° Guerra Mundial	Tensoactividad del Alquilaril sulfonatos y butilnaftalen sulfonatos sódicos.No precipitan en aguas duras actúan en medios ácidos
Año 1928 . Hidrogenación y posterior sulfatación del grupo carboxilo	Obtención de alcoholes grasos sulfatados
Año 1930 . Condensación de ácidos grasos	Desarrollo de tensoactivos no iónicos
<b><u>Tercera generación de detergentes</u></b> Año 1950- 1980	Fabricación de mersolatos,desarrollo de los aditivos, principios de la Química y Física Interfacial
Año 2000- actualidad	Desarrollo de detergentes biodegradables

Los tensoactivos aniónicos lineales con base en los alquil benceno sulfonatos (ABS) o sulfonato aniónico lineal (LAS) son la materia prima más empleada en la fabricación de los diferentes tipos de detergentes que se usan actualmente (Berna et al., 1995).

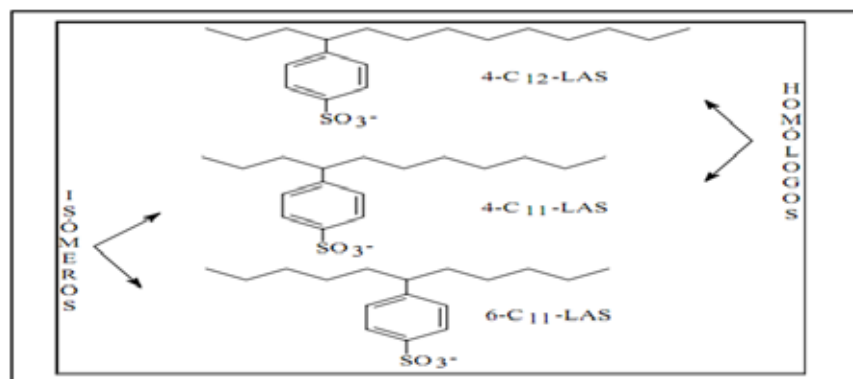
El dodecilbencen sulfonato de sodio ( $C_{12}H_{25}C_6H_4-SO_3Na$ ) tiene la propiedad de hacer al detergente duro (no biodegradable, un contaminante persistente) o blando (biodegradable), dependiendo del tipo de ramificaciones que tenga.

La estructura básica de un tensoactivo puede esquematizarse tal como se muestra en la Ilustración 1, donde la parte hidrofóbica es una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, mientras que la parte hidrofílica es un grupo iónico o un grupo fuertemente polar.



**Ilustración 1.-Estructura básica de un tensoactivo (Dorado. 1996)**

Las formulaciones comerciales de sulfonato aniónico lineal (LAS) están constituidas por conjuntos de homólogos en los que la longitud de la cadena alquílica unida al grupo fenilo oscila entre  $C_{10}$  y  $C_{14}$  (Ilustración 2), el porcentaje en que los homólogos se encuentran en las formulaciones de los sulfonato aniónico lineal (LAS) es variable dependiendo de la aplicación que se quiera hacer del mismo.



**Ilustración 2.- Estructura molecular de los Sulfonatos Aniónicos Lineales (LAS) Dorado.1996**

En la tabla 2 se hace mención de los agentes químicos más empleados en la industria para la limpieza, así como sus características.

**Tabla 2.-Agentes químicos empleados para la limpieza en la industria (Adaptado de Lechuga, 2005)**

<b>Tensoactivos</b>		<b>Características</b>
<b>Aniónicos</b>	Alquilbenzol-sulfonato Alquilsulfato Alquiloietilsulfato	Espumas / Biodegradabilidad
<b>Catiónicos</b>	Trialkilbenzilamonio Halogenado Alquilpiridio halogenado	Incompatibilidad con aniónicos Presencia de cloro / biodegradabilidad
<b>No iónicos</b>	Alquilfenoloxietilenado	Productos tóxicos en la biodegradación

Al producto tensoactivo se le exigen una serie de condiciones óptimas de comportamiento en cuanto a precio, acción a baja temperatura, máximo rendimiento para distintas superficies y suciedades, no toxicidad, no irritabilidad, no alteración del medio ambiente, desarrollo de la función en tiempo corto, etc.

El sulfonato aniónico lineal (LAS) es uno de los tensoactivos más utilizados en la fabricación de detergentes comerciales, las ventajas y desventajas de su uso se muestran en la Tabla 3 (Perales, 2001):

**Tabla 3.- Ventajas y Desventajas de los tensoactivos LAS (Perales, 2001):**

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poseen características generales de buen tensoactivo (poder dispersante, poder emulsionante, reducción de la tensión superficial, capacidad de mojado).</li> <li>• Son muy versátiles, ya que se usan prácticamente en todos los tipos de detergentes domésticos e industriales.</li> <li>• Son seguros en el medio ambiente a corto y largo plazo.</li> <li>• Poseen elevada biodegradabilidad</li> <li>• Las materias primas requeridas para su síntesis resultan económicas</li> <li>• Su comportamiento en agua es bueno: para aguas con bajos niveles de dureza se comporta de forma similar al jabón, para aguas duras se comporta mejor.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presentan menores valores de detergencia para superficies grasas que los alquilpoliglucosidos y que los nonilfenol polietoxilados</li> <li>• Se obtiene a partir del petróleo</li> </ul>

### II.3. Toxicología

El desarrollo rápido de la toxicología y de la ecotoxicología apareció a partir de los años 1960 al mismo tiempo que la toxicología experimental se ha beneficiado de los avances de la química analítica, que actualmente permiten medir concentraciones del orden de partes por millón (Sánchez, 2009).

Se reconoce que las sustancias químicas tienen efectos químicos, físicos y biológicos sobre el ambiente y los seres vivos, que estos efectos pueden ser directos o indirectos y que además, muchas veces, son el resultado de exposición crónica a concentraciones muy bajas por lo cual no pueden detectarse de inmediato o por los métodos usuales (Albert, 2008).



Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas, estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos.

La ecotoxicología estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, los bioensayos ecotoxicológicos en el laboratorio son una herramienta esencial, ya que con un determinado organismo y el uso de testigos se puede predecir el efecto de las sustancias químicas tóxicas (Iannacone et al., 2003), los estudios ecotoxicológicos que se han realizado para medir el efecto de los detergentes muestran que los tensoactivos son los ingredientes potencialmente más peligrosos para la fauna acuática (Temara et al., 2001).

Las pruebas de fitotoxicidad pueden estar justificadas en la evaluación ambiental de las sustancias tóxicas y efluentes complejos, que pueden ser prácticamente no tóxicos para peces, crustáceos y dáfidos pero pueden herir o matar a la vegetación acuática cuando se liberan en las aguas receptoras (Ashton et al., 1981, Berry 1984, Gersich et al., 1986). En el agua las especies sumergidas parecieran ser más sensibles a la toxicidad de los contaminantes y/o menos capaces de competir con especies más tolerantes de plantas emergentes (Dickman et al., 1983), por lo tanto los efluentes podrían tener implicaciones importantes en la riqueza y la distribución de las especies de plantas en un cuerpo de agua que reciba descargas de aguas contaminantes, el impacto sólo puede demostrarse mediante pruebas adecuadas de fitotoxicidad.

Diversos informes sugieren que los efectos letales de tóxicos en las plantas pueden tener efectos ecológicos y económicos significativos (Altieri y Letourneau 1982, Freemark y Boutin, 1994) incluso los efectos subletales pueden tener importancia. Además, las plantas tienen una alta capacidad de bioconcentración y bioconversión (Krstich y Schwartz 1990, Ribeyre y Boudou, 1990) con implicaciones potencialmente adversas para los organismos más arriba en la cadena alimentaria.

La sensibilidad de un organismo de prueba a sustancias tóxicas es un tema complejo, ya que implica los tipos de sustancias tóxicas, las condiciones ambientales, los métodos de prueba y otros factores, algunos estudios han demostrado que la sensibilidad de las plantas y otros grupos de organismos varía ampliamente según los tóxicos; al evaluar la sensibilidad de la planta a los tóxicos es más complicado por la comparación de diferentes métodos de

ensayo, Rastsch y Johndro (1986), suspendieron semillas de lechuga en una solución de ensayo y las colocaron sobre un papel de filtro en una caja Petri, informaron que los valores de  $IC_{50}$  en los métodos de ensayo estaban dentro del mismo orden de magnitud para el fluoruro de sodio y herbicidas, diferían por un orden de magnitud para el cloruro de cadmio y el herbicida 2,4 - d, y por dos órdenes de magnitud para el nitrato de plata. Los resultados indican que el método de prueba es sensible para todas las sustancias tóxicas evaluadas.

En las pruebas de fitotoxicidad se definen como:

- **Compuesto tóxico:** sustancia capaz de dañar un sistema biológico, interfiriendo su funcionamiento normal o provocando su muerte. Sin embargo, esta definición por si misma podría extenderse a cualquier sustancia, ya que todas las sustancias poseen la capacidad de dañar un sistema biológico, si la dosis es suficientemente alta.
- **Concentración letal media ( $CL_{50}$ ):** concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio que se espera que mate el 50% de las semillas de una población bajo el conjunto de condiciones definidas.
- **Concentración de Inhibición letal media ( $CE_{50}$ ):** concentración estadísticamente derivada de una sustancia química en la que, según se puede pronosticar, causa un efecto no letal definido del 50% de una población dada de semillas bajo un conjunto definido de condiciones experimentales
- **Tóxico de referencia:** se refiere a un compuesto químico orgánico o inorgánico, con el cual se pretende medir la exactitud de los resultados obtenidos dentro de las pruebas toxicológicas de laboratorio. Aunque en la literatura se mencionan muchos compuestos, la USEPA (1994) recomienda como tóxicos de referencia las siguientes sustancias: cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), cloruro de cadmio ( $CdCl_2$ ), sulfato de cobre ( $CuSO_4$ ); otras agencias como Environment Canadá recomiendan Zinc ( $Zn^{+2}$ ) como toxico de referencia inorgánica y fenol para sustancias orgánicas.

### II.3.1. Métodos de evaluación de la toxicidad

Existen diferentes métodos para evaluar los efectos de compuestos contaminantes sobre la flora del suelo, tal es el caso de el test de prueba 208 de la OECD que evalúa la toxicidad considerando la emergencia de una plántula y el crecimiento de la misma frente a un tóxico

en el suelo o matriz adecuada, por periodos de evaluación de 14 - 21 días después de la aparición de un 50% de plantas en el semillero en el grupo control, así como también las ISO 11269 que consta de las partes 1 y 2 que determinan el método para la medición de la inhibición de crecimiento de las raíces y los efectos de suelo contaminado en la aparición y el crecimiento inicial de las plantas superiores respectivamente.

Los bioensayos en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) son ideales para pruebas de fitotoxicidad. Para determinar si la sensibilidad del cultivo es la adecuada, es necesario, previo a iniciar las pruebas rutinarias, evaluar la respuesta de las semillas ante la exposición al tóxico de referencia. La concentración en la cual se produce la muerte del 50% de la población (CL<sub>50</sub>/CE<sub>50</sub>) deberá encontrarse dentro del intervalo previamente establecido, con estos datos se inicia la construcción de la carta control, que deberá completarse con la información generada en nuevas evaluaciones (Bulus et al., 2006) .

***Lactuca sativa*** : es una planta herbácea donde sus principales características son los tallos, hojas verdes prolongadas redonda y crujiente que forma un cogollo compacto se van haciendo variedades más resistentes que pueden cultivarse en lugares de clima frío o templado. Dentro de su taxonomía se identifican:

-Raíz: es la primera de las partes embrionarias que se desarrolla durante la germinación de la semilla; se distingue primero con una porción poco diferenciada la radícula, con una cubierta en su punta la coleorhiza, esto forma la raíz en su parte inicial.

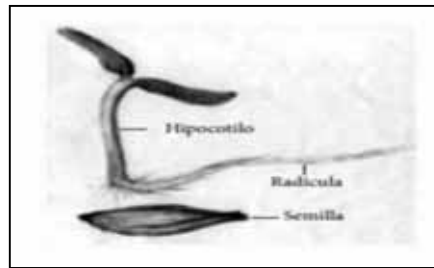
-Hojas: órgano de las plantas especializado en la fotosíntesis que crece en las ramas o el tallo generalmente de color verde, ligera, plana y delgada, y que puede tener diversas formas dependiendo de la especie.

-Tallo: éste tiene una formación cilíndrica y ramificada de poca longitud debido a la parte genética de la especie.

-Semillas: es la pepita cuyo nombre es espermatofitas las cuales están provistas con todo el material genético que debe emplear el desarrollo de una planta.

El manejo de las semillas es importante como fuente de transporte para la reproducción de las plantas. La semilla representa una planta en miniatura (embrión) que a su vez se divide en epicótilo e hipocotilo. El epicótilo formará todas las partes inferiores de tallo y las raíces.

El embrión se rodea de alimento almacenado y de una cubierta envolvente final denominada envoltura seminal, ver Ilustración 3 (Pinto, 2009).



**Ilustración 3.- Esquema de la plántula de Lactuca sativa al finalizar el período de exposición**

Con la germinación de la planta se da el rompimiento de la envoltura seminal, por medio de factores ajenos a la planta, como lo es la humedad y la temperatura; las cuales generan un espacio adecuado para su germinación tal como se muestra en la Imagen1. La semilla sirve como recipiente de almacenamiento del embrión en su inicio. De igual forma el epicótilo crece en forma ascendente, por fuera del suelo, con el objetivo de dar forma a la planta en su parte exterior con su tallo y hojas, al mismo tiempo se presenta el crecimiento del epicótilo en la parte superior; de igual forma sucede en la parte inferior con el hipocotilo desarrollándose a profundidad y reproduciendo así las raíces de esta planta (Sánchez, 2009). Para llegar a la formación de la planta el embrión debe pasar las siguientes fases:

1. Fase de hidratación: la absorción de agua es el primer paso de la germinación, sin el cual el proceso no puede darse. Durante esta fase se produce intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forma la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria.
2. Fase de germinación: en ella se producen las transformaciones metabólicas, necesarias para el correcto desarrollo de la plántula, en esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse.
3. Fase de crecimiento: es la última fase de la germinación y se asocia con la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible), esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria.



**Imagen 1.- Germinación de las semillas  
*Lactuca sativa* var. Buettercruch**

La duración de cada una de estas fases depende de ciertas propiedades de las semillas, como su contenido en compuestos hidratables y la permeabilidad de las cubiertas al agua y al oxígeno. Estas fases también están afectadas por las condiciones del medio, como el nivel de humedad, las características y composición del sustrato, temperaturas, etc.

#### **II.4. Biodegradabilidad**

La eliminación de tensoactivos del medio ambiente acuático puede ocurrir mediante procesos abióticos tales como adsorción, hidrólisis y fotólisis, la conversión total de la materia orgánica en productos inorgánicos es debida a procesos de biodegradación microbiana (Swisher, 1987).

El aumento en el consumo de detergentes en los años 50 coincidió con la aparición de espuma persistente en los ríos. Como resultado se puso de manifiesto que uno de los principales responsables de la espuma observada en los ríos era el tetrapropileno sulfonato sódico, tensoactivo muy empleado en la formulación de detergentes en esa década (Lechuga, 2005). Debido a su compleja estructura molecular ramificada, no era descompuesto con facilidad, es decir, no era biodegradable.

La biodegradación puede definirse como “la destrucción de un compuesto químico por la acción biológica de microorganismos vivos” (Swisher, 1987). Para el caso de los tensoactivos como moléculas a degradar, estos organismos son los microorganismos vivos presentes en los diversos medios que reciben las aguas residuales, que son capaces de alimentarse de una gran variedad de compuestos orgánicos.

Del concepto de biodegradación se deduce el de biodegradabilidad, que se puede definir como “la susceptibilidad de una sustancia a la degradación biológica”, (Lechuga, 2005).

**Biodegradabilidad primaria:** se entiende por una oxidación o modificación de la molécula del tensoactivo, de forma que vayan desapareciendo sus propiedades tensoactivas, o bien no pueda detectarse la molécula por medios analíticos específicos.

**Biodegradabilidad final o mineralización:** se considera la destrucción de una molécula de un compuesto químico, de forma que se convierta toda ella en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O sales inorgánicas y otros productos asociados al metabolismo normal de las bacterias.

En los ensayos de biodegradación se realiza el análisis del tensoactivo por métodos específicos, con lo que se obtienen datos sobre la Biodegradabilidad primaria, o bien se realizan determinaciones de tipo no específico (como el oxígeno disuelto, la demanda química de oxígeno, la demanda biológica de oxígeno, el carbono orgánico total), con lo que se obtiene información sobre la Biodegradabilidad total del tensoactivo ensayado (Lechuga, 2005).

**Biodegradabilidad ambientalmente aceptable:** es un tipo de biodegradabilidad primaria en la que los metabolitos resultantes del proceso de biodegradación son ambientalmente inocuos, es decir, presentan una baja ecotoxicidad.

En estos casos pueden utilizarse experimentos biológicos junto a los experimentos de biodegradación para demostrar si el proceso de biodegradación tiene como resultado la aparición de metabolitos más o menos tóxicos que el producto original. Para el ejemplo de los tensoactivos, los cuales en general presentan una toxicidad significativa hacia organismos acuáticos como peces, algas, invertebrados, etc. Hay trabajos (Kimerle, 1977; Manzano, 1999) que muestran como a lo largo de la biodegradación se dan procesos de aumento como de disminución de la toxicidad, dependiendo del compuesto ensayado.

Estos tres tipos de biodegradabilidad se pueden llevar a cabo bajo diferentes niveles ambientales de oxígeno:

- Condiciones aerobias: el flujo de oxígeno excede a la demanda que la actividad bacteriológica pueda requerir.
- Condiciones anaerobias: se pueden distinguir a su vez dos tipos de situaciones, condiciones anóxicas, cuando la velocidad de consumo de oxígeno excede a la velocidad de difusión; y condiciones estrictamente anaerobias, cuando hay ausencia total de oxígeno.

#### II.4.1. Concepto de biodisponibilidad

La degradación de un compuesto orgánico en el medio ambiente puede llevarse a cabo por vía química a través de diversos procesos como fotólisis, hidrólisis, etc; o por vía microbiológica (Biodegradación). La conversión total de la materia orgánica en productos inorgánicos es debida principalmente a procesos de biodegradación microbiana (Swisher, 1987) y para que ocurra se deben propiciar dos circunstancias: la existencia de una microbiota adecuada, capaz de biodegradar al compuesto y en segundo lugar que este esté biodisponible, es decir, que sea accesible a la microbiota y así ella pueda llevar a cabo su biodegradación.

La biodisponibilidad de un compuesto en un determinado sistema, a su vez, es determinada por distintos fenómenos (retención-solubilización, formación de coloides, transporte, transformación) que pueda sufrir dicho compuesto en el sistema. Esta serie de fenómenos vienen determinados por las propiedades fisicoquímicas del compuesto y del sistema, de ellas dependerá el que prepondere uno de ellos sobre los demás.

En el caso de los tensoactivos estudiados, en un suelo agrícola, su biodisponibilidad está determinada principalmente por la relación entre los fenómenos de transporte y retención, siendo despreciables los fenómenos de transformación o formación de coloides, (Rodríguez, 2013), dichos fenómenos se modulan de forma que el tiempo de residencia en la capa arable (zona de mayor densidad de microbiota) es adecuado a la cinética de biodegradación, dando lugar así a la mayor accesibilidad del tensoactivo para ser biodegradado por los microorganismos.

#### II.4.2. Rutas de biodegradación

Los mecanismos determinados como principales responsables de la ruptura de una molécula orgánica:  $\omega$ -oxidación,  $\beta$ -oxidación y oxidación aromática (Swisher, 1987). De acuerdo con (Lechuga, 2005) el mecanismo de  $\omega$ -oxidación es el que interviene en la biodegradación de las moléculas de hidrocarburos de alto peso molecular, y como producto final da lugar a una molécula de ácido graso. La  $\beta$ -oxidación consiste en un acortamiento de la cadena hidrocarbonada en dos unidades, con liberación de un radical acetato. Sucesivas etapas de  $\beta$ -oxidación provocan la total conversión de la molécula original en  $\text{CO}_2$ , agua y biomasa. En el mecanismo de oxidación aromática el resultado es la

producción de un compuesto del tipo ácido-acetoadípico, que se ve sometido posteriormente al mecanismo de  $\beta$ -oxidación hasta su total biodegradación, generando grupos acetato y succinato. En moléculas de tensoactivo con grupos especiales, paralelamente o posteriormente a los mecanismos mencionados, también tienen lugar procesos de hidrólisis, desulfonación, desulfatación

#### II.4.3. Métodos de evaluación de la biodegradabilidad

Para evaluar la biodegradabilidad de un compuesto se han diseñado una serie de pruebas, las cuales buscan cuantificar el grado de persistencia de estructuras químicas en ambientes naturales o industriales. En el esquema establecido por el Programa de Evaluación de Productos Químicos de la OECD, la biodegradabilidad de una sustancia se determina utilizando tres niveles sucesivos de ensayo: las pruebas de biodegradabilidad inmediata, de biodegradabilidad intrínseca y de simulación (OECD, 1992). La selección de una prueba se lleva a cabo considerando las propiedades fisicoquímicas de la sustancia. Los compuestos volátiles deben evaluarse en sistemas cerrados y preferiblemente mediante la concentración de  $O_2$  disuelto (i.e., prueba 301 D). La biodegradación de los compuestos poco solubles en agua no deberá cuantificarse mediante el consumo de COD (i.e., evitar las pruebas 301 A y E), mientras que deberán preferirse los ensayos respirométricos para los compuestos adsorbibles (Vázquez, 2004).

La OCDE ha normalizado varias pruebas de biodegradabilidad inmediata, el principio general de estas pruebas es la incubación aerobia estática, o por lote, de una cantidad reducida de biomasa en un medio mineral, a pH neutro y a una temperatura entre 20 y 25 °C. Se basan en el seguimiento de parámetros directos y no específicos a la molécula que se estudia, como el Carbono Orgánico Disuelto (COD), o bien de parámetros indirectos correlacionados con la mineralización de la molécula, como la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) o la producción de  $CO_2$ . La sustancia en estudio se añade a una concentración definida, como única fuente de carbono y energía. El inóculo consiste en una población microbiana natural que no haya sido expuesta al compuesto de prueba.



#### II.4.4. Biodegradabilidad aerobia mediante la relación DBO<sub>5</sub>/DQO

La biodegradabilidad de un agua residual puede ser estimada por medio de la relación DBO<sub>5</sub>/DQO (Ponznyak, et al., 2006; Wohlers, et al., 2009). A partir de este índice se puede definir si las sustancias a depurar son fácilmente biodegradables o si presentan características que determinen su elevada toxicidad y/o recalcitrancia para los microorganismos responsables de llevar a cabo el proceso de depuración (Alexander, 2012).

Esta evaluación de la biodegradabilidad se basa en determinar la Demanda Bioquímica de Oxígeno prueba que se realiza en 5 días (DBO<sub>5</sub>) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO). Al obtener el cociente resultante DBO<sub>5</sub>/DQO, proporciona la información sobre la biodegradabilidad de los compuestos a evaluar (Polaco, 2012). El cociente tiene un parámetro del 0 al 1; los resultados cercanos a la unidad indicarán biodegradabilidad, valores menores a 0,5 no son considerados biodegradables.

Como se mencionó anteriormente existen diferentes pruebas normalizadas para determinar la biodegradabilidad de un compuesto basadas en sus características fisicoquímicas, en el presente trabajo se evaluó la biodegradabilidad de las muestras mediante la relación DBO<sub>5</sub>/DQO, en la tabla 4 se compara las generalidades de este método con respecto a los métodos respirométrico:

**Tabla 4.- Comparación de la relación DBO<sub>5</sub>/DQO y métodos respirométricos.**

Relación DBO <sub>5</sub> /DQO	Métodos respirométricos
<ul style="list-style-type: none"><li>- Puede aplicarse a una gran variedad de compuestos, debido a que se basa en el seguimiento de parámetros indirectos (DBO).</li><li>- Para la DBO<sub>5</sub>, el tiempo estandarizado de incubación de la muestra es de cinco días. La DQO se determina en 3 horas. La DBO determina el oxígeno consumido por los microorganismos para</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- La selección de la prueba depende las características fisicoquímicas del compuesto (solubilidad, adsorción y volatilidad)</li><li>- Periodos de prueba más largos de 10 a 28 días, medición continua por los respirometros.</li><li>- Límite de biodegradación exigido es una disminución del 70%</li></ul>

<p>degradar un compuesto; por lo cual es método que depende de la actividad microbiana y de la adaptación de los microorganismos al tóxico. El consumo de oxígeno puede continuar por más tiempo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- El inóculo utilizado debe ser proveniente del efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales.</li> <li>- No es posible poner grandes cantidades de muestra ya que además del material orgánico digerible, se requiere oxígeno para el metabolismo de las bacterias y la solubilidad del oxígeno en el agua es bastante limitada.</li> <li>- La DQO determina el oxígeno necesario para oxidar el compuesto. En la determinación de DQO todo el material orgánico, biodegradable y no biodegradable, es químicamente oxidado por el dicromato de potasio en medio ácido en la presencia de un catalizador.</li> </ul>	<p>cuando se monitorea el COD, y del 60% de la Demanda Teórica de O<sub>2</sub> (ThO<sub>2</sub>) o de la Producción teórica de CO<sub>2</sub>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Es necesario considerar con un rango específico de concentración del compuesto a evaluar de acuerdo a la prueba seleccionada.</li> <li>- Periodos de adaptación “ventana de los 10-14 días”, de acuerdo a la prueba seleccionada.</li> <li>- A mayor concentración de inóculo (microorganismos) menor variabilidad de los resultados.</li> <li>- El inóculo se puede derivar de una variedad de fuentes: lodo activado; efluentes de aguas residuales.</li> <li>- En algunos casos es necesario el pre acondicionamiento del inóculo a las condiciones de la prueba.</li> <li>- (Sin cloro); las aguas superficiales y los suelos; o de una mezcla de estos</li> </ul>
---	---

### III. Estado del Arte

Históricamente, la contaminación de los agentes tensoactivos en el medio ambiente surgió del cambio en la utilización de detergentes a base de jabón a tensoactivos sintéticos. Hasta 1960 los principales agentes tensoactivos utilizados en detergencia eran de propileno tetrámero benceno sulfonato, PT benceno. Fue en esta época cuando algunos problemas comenzaron a surgir en el tratamiento de aguas residuales así como la formación de espuma en los ríos. El PT benceno se estaba descargando en sistemas de agua y se

encontró que era resistente a la biodegradación por bacterias debido a lo ramificado de la cadena (Scott y Jones, 2000). La prohibición de este tensoactivo no biodegradable forzó el cambio a productos más biodegradables, tensoactivos como el alquilo de cadena lineal (LAS) fueron la solución a la problemática presentada, lo que los convirtió en uno de los principales tensoactivos aniónicos en uso de las diferentes formulaciones comerciales de detergentes en el mercado.

La descarga de los tensoactivos se considera la causa de diversos problemas ambientales si estos persisten largo tiempo en el ambiente, lo que conduce también a la acumulación de sustancias potencialmente tóxicas o de otro modo perjudiciales; ciertas clases de tensoactivos pueden estar presentes en concentraciones suficientes para constituir problemas de toxicidad para los organismos acuáticos (Ankley y Burkhard 1992), incluso entre 0,4 y 40 mg / L (Abel, 1974).

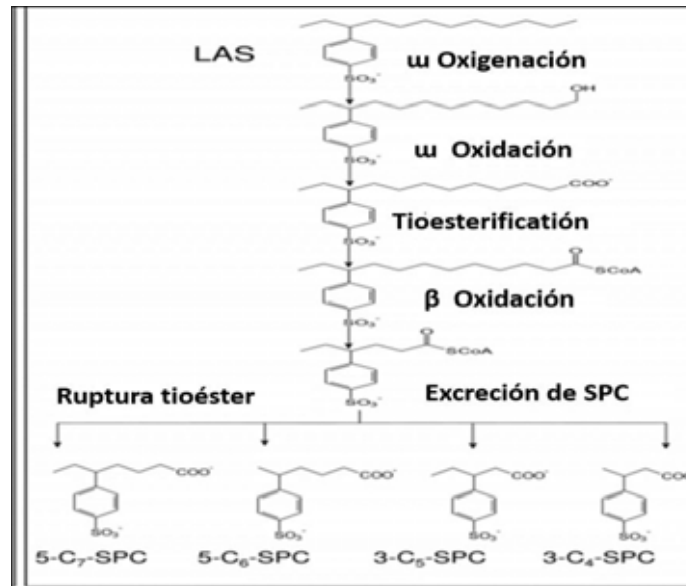
Resulta de interés para este estudio la evaluación del tensoactivo LAS de cadena lineal en relación con el DBSS con una cadena ramificada, con respecto a su análisis de biodegradabilidad y toxicidad en su grado reactivo así como en su presencia en diferentes formulaciones comerciales que contienen diversos aditivos .

### III.1. Estudios de Biodegradabilidad de los detergentes

La degradación de los tensoactivo sulfonato aniónico lineal (LAS) ha sido evaluada por diversos autores (Huddleston y Allred, 1963; Swisher, 1963) que indican que el proceso se inicia con la oxigenación de un grupo metilo terminal de la cadena alquílica, y la conversión del alcohol a un grupo carboxílico  $\omega$ -oxidación, originando los ácidos sulfofenil carboxílicos como intermediarios de biodegradación. Posteriormente a la  $\omega$ -oxidación, ocurren etapas sucesivas de  $\beta$ -oxidación que van promoviendo la fragmentación de la cadena alquílica eliminando 2 carbonos a la vez, resultando un SPC (sulfophenylcarboxylic acids) de cadena más corta, para que finalmente se origine la ruptura del anillo bencénico.

Otros autores (Heinze y Britton, 1994; Karsaand y Porte, 1995) concluyen que la biodegradación completa de LAS se consuma con la desulfonación de la molécula con total mineralización del compuesto en  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y la incorporación de estas sustancias a la biomasa del ecosistema.

Según el modelo de reacciones de biodegradación del LAS propuesta por (Thomas y White, 1989) y construida por Huddleston y Allerd (1963) Swisher 1963, Asok 2011; estas reacciones comienzan en la cadena terminal de alquilo con una omega-oxidación y es seguida por sucesivas rupturas de fragmentos C<sub>2</sub> (b-oxidación), tal como se muestra en la Ilustración 4 (Rebello, 2014).



**Ilustración 4.- Proceso de Biodegradación de LAS  
(Adaptado de Rebello.2014)**

De acuerdo al análisis de la biodegradación de los tensoactivos en aguas residuales, en plantas de tratamiento, y en el receptor final, se tiene que la biodegradación es principalmente el resultado de la acción bacteriana y de los microorganismos que pudieran estar presentes, siendo como requisito la readaptación o aclimatación a las estructuras químicas específicas propias de los diferentes tensoactivos (Swisher,1963). Otro factor de importancia es la resistencia de algunos de los componentes a ser degradados, este hecho que se relaciona con la distancia entre el grupo sulfonato y el final de la cadena, y puede ser el factor importante que rige la tasa de degradación.

A fin de evaluar la biodegradabilidad del detergente base dodecílbenzen sulfonato de sodio (DBSS) se han realizado diversos estudios, mediante la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) en pruebas de respirometría, DBO en pruebas yodométricas y pruebas de Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM), empleando agua residual doméstica como inóculo y el surfactante antes mencionado, dando como resultado que en condiciones óptimas la DBO mostró que el detergente es biodegradable en agua residual

de origen doméstico a diferentes concentraciones, reportando una tasa promedio de degradación de  $0,23 \text{ d}^{-1}$  (Gutiérrez, 2012).

En pruebas realizadas a cinco detergentes comerciales ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$  y  $D_5$ ) de uso común en México en base a su relación  $\text{DBO}_5/\text{DQO}$  (Polanco, 2012), dieron como resultado, para la muestra de tensoactivo no iónico ( $D_5$ = nonilfenol) una menor biodegradabilidad, con una relación  $\text{DBO}_5/\text{DQO}=0,1$ . El cual se procesó para separar al tensoactivo a efecto de sustituirlo, con métodos de intercambio de iones y línea de vacío; confirmando la presencia del tensoactivo en las muestras separadas por espectroscopía de luz ultravioleta e infrarroja; para las pruebas de biodegradabilidad aerobia rápida se emplearon las pruebas estándar OECD-301 A, los resultados indicaron que el detergente  $D_5$  con una composición de ABS y nonilfenol no puede considerarse como fácilmente biodegradable debido a que después de 28 días de prueba no se alcanzó el 70 % de degradación del compuesto, el cual es establecido por la OECD, como recomendación de este estudio para aumentar la biodegradabilidad del detergente evaluado se aconseja la sustitución del nonilfenol por sacarosa y al ABS por sulfatos de alcoholes lineales que son más biodegradables .

En otros ensayos de biodegradabilidad de diferentes bases de detergentes presentes con mayor frecuencia en formulaciones de productos de limpieza en el mercado, como son: dodecibenceno sulfonato de sodio (ABS), lauril sulfato de sodio (SDS) y nonilfenol etoxilado con 10 moles de óxido de etileno; en pruebas por biodegradación primaria con inóculos de población bacteriana de lodos activados, concluyeron que las sustancias “altamente biodegradables” se determinan solo por métodos de análisis que reflejen cambios estructurales, y no por aquellas que presenten condiciones estrictas de degradación (Itria y de Tulio, 2002).

Trabajos previos sobre las capacidades biodegradativas de poblaciones microbianas ambientales en compuestos tensoactivos aniónicos, consideraron la adaptación de los microorganismos al sustrato degradable y la influencia de algún elemento tóxico, en un período de adaptación inferior a 20 días, reportando la biodegradación del detergente como independiente de la biomasa presente así como la influencia de la presencia de elementos tóxicos, como el fenol a concentraciones de hasta 100 mg/L que no afectaron el proceso de biodegradación (Fortunato et al., 1998).

Un estudio de la biodegradación aeróbica de sulfonatos de alquilbenceno lineales (LAS) en agua de mar a concentraciones del mismo orden (1 mg/L) que las detectadas en las aguas

costeras influenciadas por efluentes de aguas residuales; a diferentes temperaturas, con y sin la adición de un inóculo adaptado a la presencia del sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS). Se concluyó que la degradación del tensoactivo depende de la concentración del sustrato inicial, a la presencia y la densidad de microorganismos adaptados al LAS, a la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y a la biodisponibilidad del compuesto (León et al., 2004).

Algunos autores (León et al., 2004; Qing et al., 2005 y Olusola y Oso, 2009) consideran que la biodegradación primaria implica la desaparición de LAS como una molécula y su transformación en diversos compuestos intermedios de degradación. Asimismo una baja biodegradación puede estar relacionada con una alta concentración de tensoactivo que puede inhibir o reducir la actividad microbiana presentando una fase inicial de adaptación de la flora bacteriana presente en el medio durante el cual la concentración del tensoactivo no varía apreciablemente con el tiempo, seguida de una disminución brusca y rápida en la concentración del sustrato, y luego una fase en la que la degradación es más lenta hasta que el compuesto finalmente desaparece.

La biodegradabilidad y toxicidad pueden correlacionarse en estudios de degradación de diferentes tensoactivos no iónicos comerciales, Lechuga M en 2005, analizó de acuerdo a la NORMA-UNE-55-844-91, que se refiere a un análisis simplificado, basado en la formación de un complejo coloreado entre el tensoactivo no iónico y el reactivo yodo-yoduro, los perfiles de biodegradación para los tensoactivos alcoholes grasos etoxilados, nonilfenolpolietoxilado y el sulfonato aniónico lineal (LAS). Aplicó el modelo de Monod para sustancias que soportan el crecimiento de microorganismos en concentraciones de 25 mg/L para alcoholes grasos etoxilados, nonilfenol polietoxilado y hasta 50 mg/L para el sulfonato aniónico lineal (LAS). Determinó las velocidades específicas de crecimiento y la constante de saturación. Para las pruebas de toxicidad aplicó el ensayo de Lumistox que utiliza las bacterias marinas luminiscentes de la cepa *Vibrio fischeri*, los resultados arrojaron que de los alcoholes grasos etoxilados el más tóxico es el Findet 1214N/16, al presentar el menor valor de  $CL_{50}$  1,25 mg/L, pues se trata de un tensoactivo que produce una inhibición de la bioluminiscencia de las bacterias del 50%, de modo que concluye que la toxicidad de los alcoholes grasos etoxilados depende de la estructura del tensoactivo que va disminuyendo con el tamaño de la cadena carbonada y etoxilada, estableciendo una correlación entre la toxicidad y el balance hidrófilo-lipófilo de los tensoactivos. Resulta importante mencionar

que derivado de esta correlación de toxicidad con la biodegradabilidad se puede concluir que los productos mas tóxicos resultan ser los más fácilmente biodegradables.

### III.2. Toxicidad de los detergentes

Los estudios toxicológicos que se han realizado para medir el efecto de los detergentes muestran que los tensoactivos son los ingredientes potencialmente más peligrosos para la fauna acuática (Temara et al., 2001). Se considera a los tensoactivos como biodegradables en un 95 % en condiciones aeróbicas (Berna et al., 1989) pero agresivos para los ecosistemas acuáticos al no ser degradados bajo condiciones anaeróbicas ante la posibilidad de que se acumulen en los sedimentos (De Wolf y Feijtel, 1998).

El efecto toxicológico reportado por León , en el 2006, para los ingredientes activos de dos detergentes comerciales biodegradables como son: dodecibencen sulfonato de sodio (DBSS) y del alquilaril sulfonato de sodio (AASS), empleando la trucha arco iris como herramienta de evaluación; encontró una concentración letal media ( $CL_{50}$ ) a 96 horas de exposición, en promedio, 13,91 mg/L y 13,86 mg/L para DBSS y AASS respectivamente.

En otras pruebas de toxicidad en cuatro detergentes domésticos biodegradables en organismos de prueba como *Laenoneris culveri* (webster 1879) (*polychaeta: annelida*), utilizando el método Probit para la determinación de la  $CL_{50}$  del ingrediente activo sulfonato aniónico lineal (LAS) obtuvieron un cociente de riesgo mayor a 1 lo que indica que existe cierta probabilidad de que los detergentes biodegradables ocasionen daño a los organismos que viven en el sedimento y por consiguiente al ecosistema entero (Peraza, 2012).

Un estudio publicado por Iannacone y Alvaríño en el 2002 sobre la ecotoxicología del surfactante aniónico (LAS), alquilarilsulfonato de sodio lineal, usando como organismos de prueba tres caracoles dulceacuícolas *Melanoides tuberculata*, *Physa venustula* y *Heleobia cumingii*, reportan una concentración letal media ( $CL_{50}$ ) a 48h de exposición respectivamente: *M.tuberculata* 201,07 mg/L; *P. venustula* 71,41 mg/L y *H. cumingii* 82,93 mg/L. Además no se encontraron diferencias en la toxicidad sobre los caracoles de tres formulaciones de detergentes comerciales de uso doméstico.

### III.2.1. Fitotoxicidad en semillas de Lechuga (*Lactuca sativa*)

Para determinar el efecto de diferentes compuestos en agua a través de ensayos de fitotoxicidad se emplearon semillas de lechuga, escarola y achicoria, donde se encontró que las semillas de lechuga presentaron más sensibilidad a los tóxicos probados. Los resultados de la prueba de toxicidad se expresan como la concentración del tóxico que afecta o inhibe al cincuenta por ciento de la población de estudio y se expresa como  $IC_{50}$ ; en muestras complejas la  $IC_{50}$  es el porcentaje en volumen de muestra necesaria para causar el efecto al cincuenta 50% de la población (Bowers et al., 1989). Para el cálculo de la  $IC_{50}$  a partir de los valores de dosis-respuesta se utiliza el método Probit (Baud-Grasset et al., 1993).

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) es una prueba estática de toxicidad aguda en el que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas en el proceso de germinación de las semillas, es importante destacar que durante el período de germinación y los primeros días de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos (Serrano, 2012).

Considerando que el LAS puede entrar en el entorno agrícola por varias vías, como el riego con aguas residuales o por modificación del suelo agrícola por lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, resulta importante evaluar el riesgo ecotóxico generado por la presencia del tensoactivo en suelos agrícolas; diversos estudios con este objeto de investigación sugieren que la germinación de la semilla es menos sensible que el crecimiento de la plántula; la cubierta de la semilla es una barrera entre el embrión y su entorno inmediato que lo protege contra la toxicidad; sin embargo, altas concentraciones de LAS (10 - 20 mg/L) ocasionan inhibición en la germinación de la semilla, además, el LAS puede aumentar el riesgo potencial de toxicidad por la presencia de otros contaminantes tóxicos (Wang, 2011).

Un detergente de lavandería con tensoactivos aniónicos (LAS) se utilizó para probar sus efectos sobre el crecimiento de las plantas a través del agua de riego. En el experimento se cultivaron lechuga y okra sembradas en macetas y regadas con agua destilada con diferentes concentraciones de detergente: baja concentración de 0,1 g/L; concentración normal de 1,0 g/L y alta concentración de 5,0 g/L y se usó agua destilada sin detergente



como control, por un período de prueba de tres meses en un invernadero. Los resultados muestran que más de 1,0 g/L de detergente para la ropa puede inhibir el crecimiento de plantas y la aplicación de alta concentración de aguas grises con detergente puede agravar la salinidad del suelo (Sawadogo et al., 2004).

En otros estudios se evaluó el efecto fitotóxico de lixiviados acuosos de cuatro productos utilizados como impermeabilizantes de depósitos de agua potable, empleando la variedad de la semilla *Black Seeded Simpsons* (BSS) se ensayó con una muestra pura y cuatro diluciones de cada lixiviado. Los resultados muestran que solamente uno de los lixiviados resultó tóxico en un 87% de inhibición de la prolongación de la raíz del vegetal, mientras que el IC<sub>50</sub> de la inhibición es producido por un 24% de la muestra. La toxicidad significativa obtenida en las diferentes dosis hace pensar en un efecto resultante de la interacción de una o mas sustancias presentes en la muestra: efectos aditivos, sinérgicos, de potenciación o antagónicos (Rodríguez et al., 2006).

Por otra parte, la respuesta evaluada en la semilla *Lactuca sativa* en presencia de soluciones de fenol a diferente pH. El valor de la IC<sub>50</sub> proporciona información acerca del posible efecto de los contaminantes en las comunidades vegetales cercanas a las margenes de cuerpos de agua contaminados así como también en zonas agrícolas por el riego de agua residual, el estudio realizado por Sánchez en el 2009 reportó un IC<sub>50</sub> de 182 mg/L de fenol para *Lactuca sativa* en un período de incubación de 5 días.

Un estudio para evaluar la toxicidad en lodos activados de un sistema de tratamiento que recibe aguas residuales de 135 industrias, mediante bioensayos con semillas de lechuga *Lactuca sativa* determinó la inhibición de la elongación de la raíz y estableció la relación entre la toxicidad con diversos parámetros fisicoquímicos: DQO, DBO<sub>5</sub>, SST, N-total y N-NH<sub>3</sub>. Se trabajó con diversas muestras: a la salida de los clarificadores primarios, del licor de mezclado y a la salida de clarificadores secundarios, los resultados indican que pueden permanecer en el agua sustancias capaces de producir toxicidad a un después del tratamiento (García, 2005).

### III.2.2. Toxicidad en Lodos activados

La prueba de inhibición de la respiración de lodos activados es un importante sistema de prueba bacteriana para determinar la toxicidad de los compuestos químicos en bacterias. El período de exposición recomendado en los protocolos de la OCDE 209 e ISO 8192 son

de 30 y 180 min, Cornelia et al., (2003) desarrollaron una versión modificada de la prueba que permitió un período de incubación prolongado de 27h para mejorar las posibilidades de respuesta. El sistema de prueba con el tiempo de incubación prolongado se evaluó por el compuesto de referencia recomendado 3,5-diclorofenol y mostró una  $EC_{50}$  de 6,3 mg/L con un coeficiente de variación de 12,7%.

Estudios realizados sobre la influencia del tensoactivo aniónico (LAS) sobre la actividad de la microbiota de los lodos activados (Coello et al., 1998) revelan que la tasa de respiración específica es el parámetro más sencillo y rápido para el control rutinario de la actividad de los lodos activados.

Scott y Jones, (2000) revisaron diversos trabajos de investigación sobre el destino y la persistencia de los tensoactivos en lodos modificadores de suelos (biosólidos), los estudios mas completos fueron Holt y Schwartz, (1989), Holt y Bernstein (1992) y Waters y Matthijs, (1989). Estos estudios abarcaron 51 campos en 24 explotaciones agrícolas situadas en la región del Támesis al sur de Inglaterra. Los sitios de muestreo incluyen: diferentes tipos de suelo (arcilla, limo, arcilla-limosa, franco arenoso y franco arcilloso) y uso agrícola o de pastoreo; lodos de composiciones y origen diferentes con distribuciones homólogas del tensoactivo LAS, Holt y Schwartz, (1989) concluyeron que la degradación del tensoactivo LAS fue principalmente impulsado por los microorganismos, considerando todos los factores: el tipo de suelo, uso de la tierra agrícola, método de aplicación y si un suelo había sido arado o no, estos factores no tuvieron ningún efecto sobre las tasas de degradación. Lo que demuestra que para llevarse a cabo la biodegradación completa de los tensoactivos se requiere un consorcio de bacterias debido a las limitadas capacidades metabólicas de microorganismos individuales (Ginkel, 1996).

En evaluaciones hechas a las descargas de aguas residuales generadas por la industria de productos farmacéuticos, cuyo contenido orgánico es poco biodegradable al contener materia inhibitoria, se realizaron pruebas en lodos activados midiendo su actividad respiratoria, valorando la inhibición debida al formol, en concentraciones de 90,180 y 360 mg/L reportando una  $EC_{50}$  de 113 mg/L; pruebas realizadas con estreptomicina mostraron que la actividad del lodo se reduce al 50 % cuando la concentración de estreptomicina es de 19 mg/L, asimismo, las concentraciones menores a 10 mg/L no afectaron a los microorganismos estudiados. De acuerdo a la variabilidad de sus resultados con respecto a otros estudios el autor concluye que el sistema presenta una sensibilidad aceptable para

ser utilizado en la determinación de la toxicidad que pueda provocar la estreptomicina (Quesada et al., 2001).

Los compuestos tóxicos presentes en aguas residuales municipales o aguas residuales industriales pueden inhibir la actividad biológica de los lodos activados, Surerus et al., (2014) realizaron diversos estudios para evaluar el índice de inhibición de la capacidad (ICI) de lodos activados en presencia de sustancias tóxicas. El lodo activado se obtuvo a partir de plantas de tratamiento de agua residual de origen industrial y municipal, y también fue producido sintéticamente, se realizaron mediciones respirométricas continuas que se llevaron a cabo en un reactor, utilizando el perfil de tasa de captación de oxígeno para evaluar el impacto de las sustancias tóxicas, tales como el cobre disuelto, fenol, alquilbenceno sulfonato de sodio y amoxicilina, en lodo activado. Los resultados indican que ICI es una herramienta eficiente para cuantificar la capacidad de la intoxicación. El lodo activado de la industria farmacéutica mostró una mayor resistencia que el lodo procedente de otras fuentes, ya que las sustancias tóxicas están comúnmente presentes en el sistema de tratamiento biológico. El rango de ICI fue de 58 - 81% en comparación con el efluente sintético sin sustancias tóxicas.

Oliveira et al., (2007) estudiaron la eficiencia del tratamiento de los efluentes industriales, después del tratamiento biológico por lodos activados en tanques de aireación. Evaluaron a través de pruebas de respirometría en la planta de tratamiento de aguas residuales Cetrel's-(DAP), las muestras del efluente del tanque de homogenización antes del tratamiento y del efluente después de tratamiento. En veinte bioensayos realizados, los datos mostraron que no existe diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) en la actividad de la respiración de los lodos entre los tanques de aireación estudiados. Con respecto a la tasa específica de absorción de oxígeno hubo una reducción media del 70,8% entre las pruebas realizadas con los efluentes antes y después del tratamiento. Los resultados demostraron que las pruebas de respirometría pueden evaluar con éxito la eficiencia del proceso de lodos activados y, por tanto, ser adoptado como herramienta para el monitoreo de la planta Cetrel's-DAP.

## IV. Metodología

En este capítulo se presentan los principales materiales, reactivos y equipos de acuerdo a los métodos utilizados en el presente trabajo.

En este estudio se utilizaron como estándares para identificar los tensoactivos de los detergentes comerciales: sulfonato aniónico lineal (LAS) y el dodecibencen sulfonato de sodio (DBSS) en grado reactivo, empleando el método analítico espectrofotométrico en la región ultravioleta-visible a diferentes longitudes de onda.

Se analizaron dos muestras de tensoactivo concentrado grado industrial con diferente presentación, en escamas y en pasta, denominándolos detergente D1 y D2 respectivamente.

Se seleccionaron tres formulaciones de detergentes comerciales de amplio consumo doméstico. Estos detergentes se trataron mediante una extracción con alcohol etílico para separar el tensoactivo base, de tal forma que para cada detergente se analizaron tres muestras: el detergente en su formulación comercial, el tensoactivo base extraído y los aditivos. Las características de las muestras utilizadas para esta prueba se detallan en la Tabla 5.

Para las pruebas de toxicidad se seleccionaron como organismos de prueba a las semillas de lechuga *Lactuca sativa*, debido a que es una prueba estática de toxicidad aguda (5 días de exposición) en el que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la elongación de la radícula.

Se evaluó también la toxicidad de las muestras con pruebas de respirometría en lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, con la prueba 209 de la OECD, se determinan los valores de la concentración media en la que se produce el 50% de inhibición de la respiración de los microorganismos ( $IC_{50}$ ). Esta prueba intenta representar las condiciones de una planta de tratamiento biológico de agua residual doméstica. Proporciona información de efectos inhibitorios o estimulantes en los lodos activados.

Tabla 5.- Descripción de las muestras

Muestras	Características indicadas en la etiqueta del producto
<b>Base LAS</b>	LAS Grado reactivo, Peso molecular 288,38. Para uso de laboratorio
<b>Base DBSS</b>	DBSS Grado reactivo, 80% pureza, Peso molecular 348,5.
<b>Muestra 1</b>	<b>Detergente 1.</b> Muestra concentrada DBSS (dodecilbencen sulfonato de sodio), grado industrial, con presentación en escamas, 93,6 % pureza.
	<b>Tensoactivo 1.</b> Extracto de DBSS, obtenida mediante extracción con alcohol etílico para separar el tensoactivo
	<b>Aditivos 1.</b> Impurezas presentes en la muestra
<b>Muestra 2</b>	<b>Detergente 2.</b> Muestra concentrada DBSS (dodecilbencen sulfonato de sodio), grado industrial, con presentación en pasta.
	<b>Tensoactivo 2.</b> Extracto de DBSS, obtenida mediante extracción con alcohol etílico para separar el tensoactivo
	<b>Aditivos 2.</b> Impurezas presentes en la muestra
<b>Muestra 3</b>	<b>Detergente 3.</b> Muestra comercial, Etiquetado: sulfato de sodio, carbonato de sodio, tensoactivo aniónico, silicato de sodio, agua, polímero, fragancia, enzimas, abrillantador óptico y colorante azul.
	<b>Tensoactivo 3.</b> Extracto de tensoactivo base, preparado mediante extracción con alcohol etílico para separar el tensoactivo.
	<b>Aditivos 3.</b> Aditivos presentes en la muestra
<b>Muestra 4</b>	<b>Detergente 4.</b> Muestra comercial, Etiquetado: sulfato de sodio, Alquil aril sulfato de sodio (ingrediente activo), perfume y pigmento.
	<b>Tensoactivo 4.</b> Extracto del tensoactivo base, preparado mediante extracción con alcohol etílico para separar el tensoactivo.
	<b>Aditivos 4.</b> Aditivos presentes en la muestra
<b>Muestra 5</b>	<b>Detergente 5.</b> Muestra comercial, Etiquetado: dodecilbencen sulfonato de sodio, tripolifosfato de sodio, sulfato de sodio, intensificadores de limpieza, supresor de espuma, agentes antiderrapantes, abrillantadores ópticos, enzimas y perfume.
	<b>Tensoactivo 5.</b> Extracto del tensoactivo base, preparado mediante extracción con alcohol etílico para separar el tensoactivo
	<b>Aditivos 5.</b> Aditivos presentes en la muestra

Un resumen del desarrollo experimental se presenta en la ilustración 5

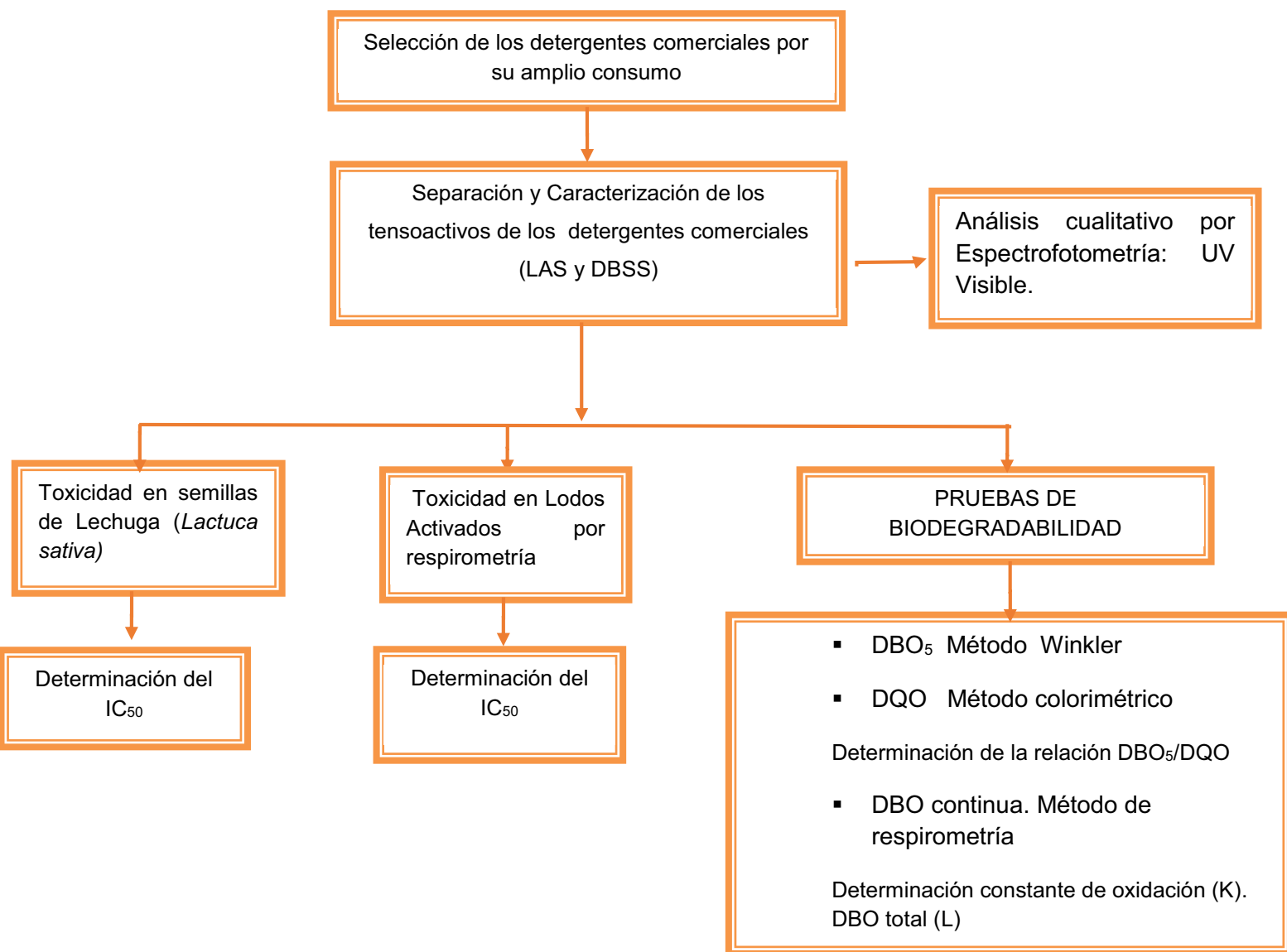
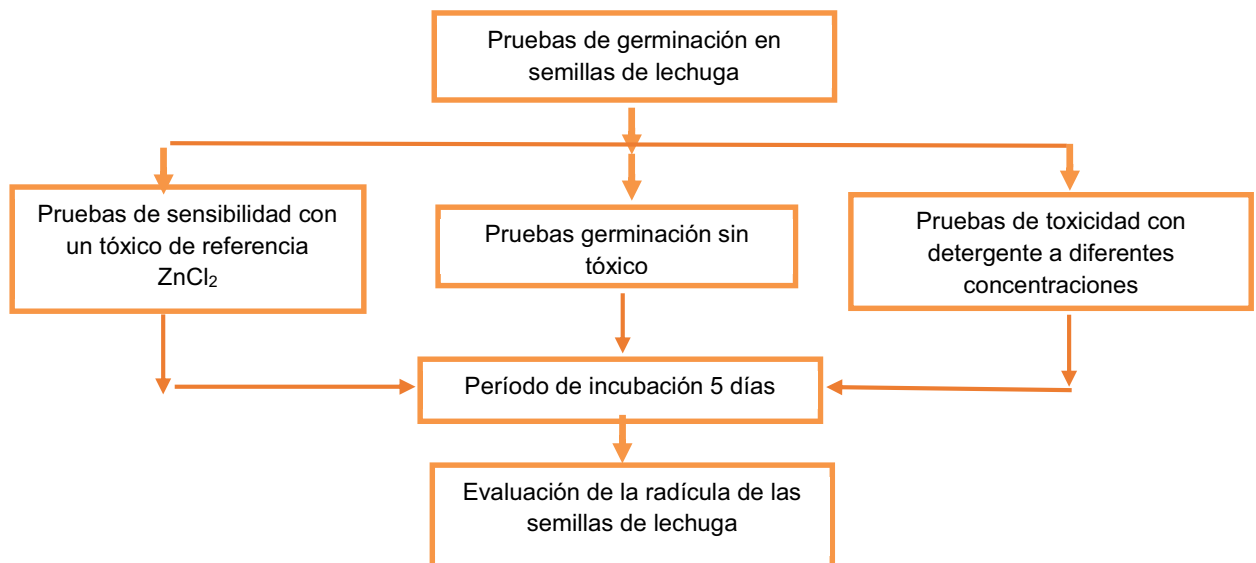


Ilustración 5. Diagrama del proceso experimental

#### IV. 1. Pruebas de Fitotoxicidad

Las pruebas de fitotoxicidad de los detergentes se hicieron en semillas de lechuga *Lactuca sativa var. Butter crunch*, iniciando con la caracterización de las condiciones de germinación del lote de semillas, evaluando la respuesta frente a la luz (fotoblastismo positivo o negativo: germinación en presencia o ausencia de luz) y la temperatura óptima de germinación. Para la valoración de esta prueba es necesaria la preparación de agua dura reconstituida de acuerdo a la técnica APHA, 1998 citada en Castillo (2004) misma que sirve como solución nutritiva para la semilla.

Por otra parte, también se prueba la respuesta de las semillas a un tóxico de referencia, en este caso se usó  $ZnCl_2$ . Una vez comprobado que las semillas son aptas para las pruebas de fitotoxicidad se procede a evaluar la toxicidad de las muestras de detergentes, valorando la germinación de la semilla en períodos de incubación de cinco días a una temperatura de  $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , en ausencia de luz a un total de 20 semillas en cada caja, en presencia del detergente que es objeto de estudio. Al final del período de incubación se mide crecimiento de la radícula y se calcula el por ciento de inhibición que presenta la semilla, finalmente con el análisis de resultados se realiza la construcción de la gráfica dosis-respuesta para cada concentración de detergentes, con el método estadístico Probit se calcula la concentración que produce el 50% de inhibición ( $IC_{50}$ ). En la ilustración 6 se presenta el diagrama del proceso experimental para las pruebas de toxicidad aguda en semillas de lechuga.



**Ilustración 6. Diagrama de las pruebas de toxicidad: en semillas de lechuga *Lactuca sativa var. Butter crunch***

## IV. 2. Pruebas de Toxicidad en Lodos Activados

Otra evaluación de la toxicidad de las muestras de detergentes se realizó en lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de agua residual doméstica con proceso de lodos activados. De acuerdo a la prueba 209 de la OECD. Las pruebas consisten en poner en contacto a los microorganismos con diferentes concentraciones del tóxico bajo condiciones controladas de oxígeno disuelto, con la finalidad de evaluar el efecto de esta sustancia tóxica, midiendo valores de la concentración media en la que se produce el 50% de inhibición de la respiración de los microorganismos ( $IC_{50}$ ).

Este método intenta representar las condiciones de una planta de tratamiento biológico de agua residual doméstica. Proporciona información de efectos inhibitorios o estimulantes de lodos activados. Se aplica en agua, agua residual, compuestos químicos puros y mezclas de compuestos químicos. Las sustancias a evaluar deben ser solubles (ISO 8192:2007).

En presencia de sustancias fácilmente biodegradables, los lodos activados consumen oxígeno a una mayor tasa que en su ausencia, dependiendo de la concentración de microorganismos. La adición de una concentración tóxica de la muestra da como resultado una disminución de la tasa de consumo de oxígeno. El porcentaje de inhibición del consumo de oxígeno se estima comparándolo con la tasa de un control sin material de prueba.

La tasa de respiración de un lodo activado alimentado con una cantidad estándar de agua residual sintética, se determina después de un tiempo de contacto de 30 minutos, o de hasta tres horas, con un medidor de oxígeno disuelto marca comercial de HANNA modelo HI 2400.

La medición de la tasa de respiración del lodo activado se realiza utilizando varias concentraciones de la sustancia prueba y en condiciones idénticas de tiempo de contacto, temperatura, cantidad de inóculo. El efecto inhibitorio de la sustancia, a una determinada concentración, se expresa como porcentaje de la media de las tasas de respiración de dos muestras control sin tóxico. El valor de  $IC_{50}$  se calculó mediante determinaciones realizadas a diferentes concentraciones (Yoshioka et al., 1986, OECD 2010).

En la ilustración 7 se presenta el desarrollo experimental de las pruebas de toxicidad en lodos activados.



Criterios de calidad: las pruebas son aceptables cuando los resultados de las muestras de control difieren una de la otra en menos del 15% y el valor de IC<sub>50</sub> (30 minutos) del tóxico está dentro de los límites aceptados.

Expresión de resultados: el cálculo de la tasa de consumo de oxígeno para cada dilución de la muestra se obtiene de la parte lineal de las gráficas de concentración de oxígeno contra el tiempo.

La tasa de consumo de oxígeno, R se expresa en miligramos por litro por hora.

$$R = [(p1-p2)/\Delta t]*60$$

Donde:

p1: es la concentración de oxígeno al inicio de la sección lineal (mg/l)

p2: es la concentración de oxígeno al final de la sección lineal (mg/l)

$\Delta t$ : es el intervalo de tiempo entre estas dos mediciones, en minutos

La tasa de respiración específica R<sub>S</sub> es expresada como la cantidad de oxígeno consumido por peso seco de lodo por hora.

$$R_S = R/pss$$

Donde pss es la concentración de sólidos suspendidos en la dilución de la muestra, en g/L,

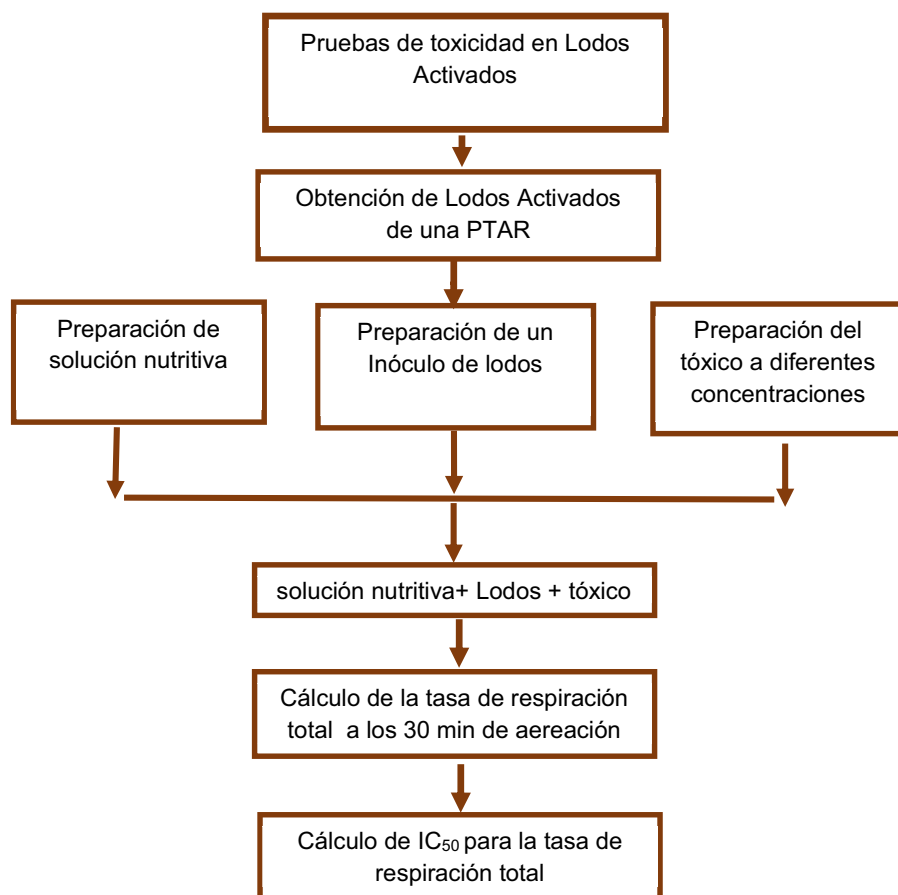
El porcentaje de inhibición I, del consumo total de oxígeno está dado por:

$$I = \left[ 1 - \left( \frac{R_T}{R_B} \right) \right] \times 100\%$$

R<sub>T</sub>: tasa de respiración total

R<sub>B</sub>: se refiere al blanco control

Los valores de IC<sub>50</sub> se obtuvieron con el método estadístico Probit.



**Ilustración 7. Diagrama de las pruebas de toxicidad en Lodos Activados**

#### IV. 3. Demanda Química de Oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO) se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte, se expresa en mg/L.

En este trabajo se aplica el método de la Técnica de reflujo cerrado, Método colorimétrico 5220 D de los métodos estándar (APHA, 2005). La determinación más general para la DQO, es con Dicromato potásio en exceso, en medio ácido, en presencia de sulfato de plata que actúa como agente catalizador y de sulfato de mercurio adicionado para remover la interferencia de los cloruros. El dicromato oxida la materia orgánica y la inorgánica presentes en la muestra, reduciéndose de  $\text{Cr}^{+6}$  a  $\text{Cr}^{+3}$ . El ensayo se realiza a  $150^{\circ}\text{C}$ , a reflujo total durante 2 horas en termoreactores de marcas HANNA y HACH. Después de la

digestión, el dicromato de potasio remanente se determina espectrofotométricamente a 600 nm.

Se calibró el espectrofotómetro con una solución estándar de DQO de ftalato ácido de potasio (KHP) y se procedió a realizar los análisis de DQO de las muestras de los detergentes comerciales, tensoactivos separado y sus aditivos.

Para el análisis de DQO de las muestras se tomó una alícuota de 2,5 ml por tubo, de soluciones previamente preparadas con concentraciones alrededor de 100 mg/L. Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

#### IV. 4. Demanda Bioquímica de Oxígeno

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es una prueba empírica usada para la determinación de los requerimientos de oxígeno para la degradación de la materia orgánica por microorganismos en las aguas residuales municipales, industriales, etc. Se incuba la muestra por cinco días a 20°C en la obscuridad. La disminución de la concentración de oxígeno disuelto (OD) durante el período de incubación, produce una medida de la DBO<sub>5</sub> o demanda bioquímica de oxígeno a los cinco días.

El principio del método yodométrico consiste en aplicar una muestra de solución de detergente en una botella Winkler para DBO (Imagen 3) con una solución de nutrientes saturada de oxígeno disuelto y adicionar un inóculo de microorganismos. Esta prueba se realiza por triplicado, se incuban dos botellas por cada muestra y a la tercera se le mide el consumo de oxígeno disuelto inicial (OD<sub>i</sub>) y después de incubar por 5 días se mide el consumo de oxígeno disuelto final (OD<sub>F</sub>) de las botellas incubadas, se reporta un promedio de los dos valores, la prueba corresponde al método Yodométrico de la Azida modificada (sección 4500-O C) de los métodos estándar (APHA, 2005).



Imagen 2.-Botellas Winkler con muestra

Cálculos de la  $DBO_5$  con el método Yodométrico

La fórmula empleada para los ensayos de  $DBO_5$  por el método yodométrico en una muestra con agua residual es la siguiente:

$$DBO_5 \left( \frac{mg}{l} \right) = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

Donde:

$D_1$ : oxígeno disuelto de la muestra inmediatamente después de la preparación  
 $D_2$ : oxígeno disuelto de la muestra después de los 5 días de incubación a  $20^\circ C$   
 P: fracción decimal volumétrica de la muestra utilizada

Para evaluar la precisión del método se realizan análisis de la  $DBO_5$  con una solución estándar de DBO de glucosa y ácido glutámico con una  $DBO_5$  de  $198 \pm 30$  mg/L.

Para el caso del análisis de los de detergentes se emplea como inóculo una cantidad de agua residual la fórmula es la siguiente:

$$DBO_5 \left( \frac{mg}{l} \right) = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)}{P} * f$$

Donde:

$D_1$ : oxígeno disuelto de la muestra inmediatamente después de la preparación  
 $D_2$ : oxígeno disuelto de la muestra después de los 5 días de incubación a  $20^\circ C$   
 $B_1$ : oxígeno disuelto del inóculo control antes de la incubación  
 $B_2$ : oxígeno disuelto del inóculo de control después de los 5 días de incubación a  $20^\circ C$   
 f: proporción del inóculo en la muestra al del inóculo del control  
 P: fracción decimal volumétrica de la muestra utilizada

#### IV. 5. Pruebas de DBO con el método Respirométrico

La biodegradabilidad es un parámetro determinante en el comportamiento ambiental de las sustancias químicas y una propiedad deseable de los productos que se liberan en grandes cantidades al medio natural, tales como detergentes, pesticidas, residuos orgánicos, etc.

Mediante el proceso de biodegradación los microorganismos transforman compuestos orgánicos, la mayoría de las veces en productos menos tóxicos que los compuestos originales. La biodegradación puede ser “primaria” y conducir a simples alteraciones estructurales del compuesto, o bien implicar su conversión a productos inorgánicos de bajo peso molecular y constituyentes celulares, en cuyo caso se denomina “biodegradación última” o mineralización (Vázquez, 2004).

Para su evaluación se han diseñado una serie de pruebas las cuales pueden cuantificar el grado de persistencia de estructuras químicas en ambientes naturales. En el presente trabajo se realizaron pruebas de DBO con el método respirométrico de la sección 5210 D Métodos estándar (APHA,2005). Se utilizó un sistema BODTrak (Imagen 3) que consiste en medir la presión en un sistema cerrado: los microorganismos que se encuentran en la muestra consumen oxígeno y generan CO<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub> se absorbe con KOH creando una presión negativa que puede leerse directamente como valor de DBO mg/L, la muestra es agitada constantemente.

En el caso de las muestras de detergentes se aplicó un inóculo de agua residual doméstica con la muestra en solución y agua de dilución con nutrientes. También se hicieron pruebas con la solución estándar de DBO de glucosa y ácido glutámico.



Imagen 3. Equipo de DBO Track

**Preparación del inóculo:** para el inóculo se tom agua residual del afluente de la PTAR El Rosario misma que contiene una población mixta de microorganismos, el agua residual se filtra y se mantiene con aereación y agitación constante durante un período de dos horas. Se colocan 50 ml del inóculo a cada botella del sistema de BODTrak. Se adiciona la muestra problema y se ajusta a un volumen de 300 ml con agua de nutrientes. Las pruebas se hacen por duplicado con dos testigos sin contaminante por un período de diez días. Los resultados permiten conocer los valores de DBO en tiempo real y se puede calcular la constante de oxidación.

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico.

## V. Resultados y Discusión

### V.1. Extracción e identificación de los tensoactivos

Para la selección de los detergentes a evaluar se emplearon los siguientes criterios: su amplio uso comercial y por la composición reportada en la etiqueta que contenga el tensoactivo base de dodecil bencen sulfonato de sodio. La separación de los tensoactivos se realizó mediante extracción con alcohol etílico (Gutiérrez,2012), de esta forma se separa el tensoactivo base en la fase alcohólica y los aditivos en la fase sólida. Este proceso se aplica para cada uno de los detergentes comerciales de manera que se tienen tres muestras a estudiar por cada detergente: la primera con la formulación comercial, la segunda con el tensoactivo base y la tercera con los aditivos como se indica en la tabla 4. El desarrollo se ejemplifica en la imagen 4 en donde se recibe el tensoactivo disuelto en alcohol para su posterior evaporación.

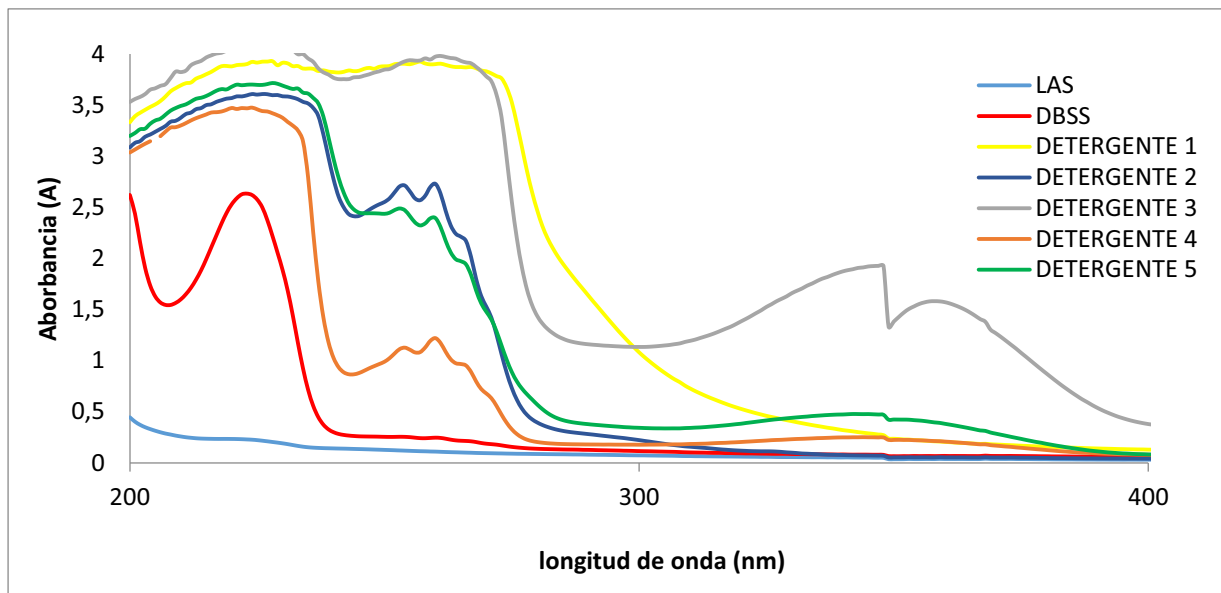


Imagen 4. Proceso de separación del tensoactivo del detergente comercial

### V.1.2. Análisis espectrofotométrico

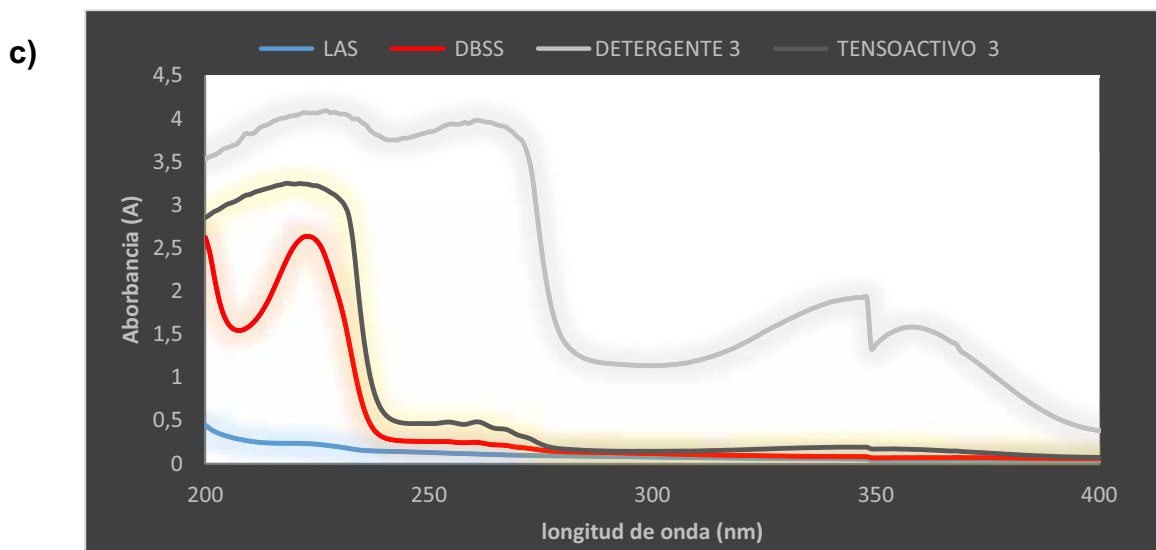
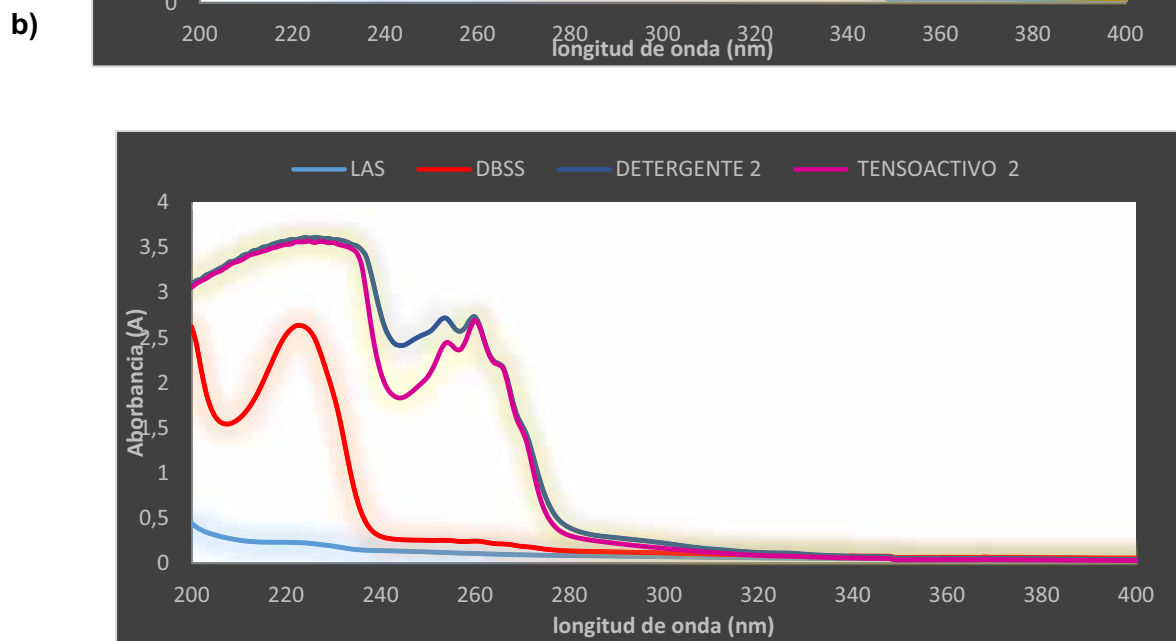
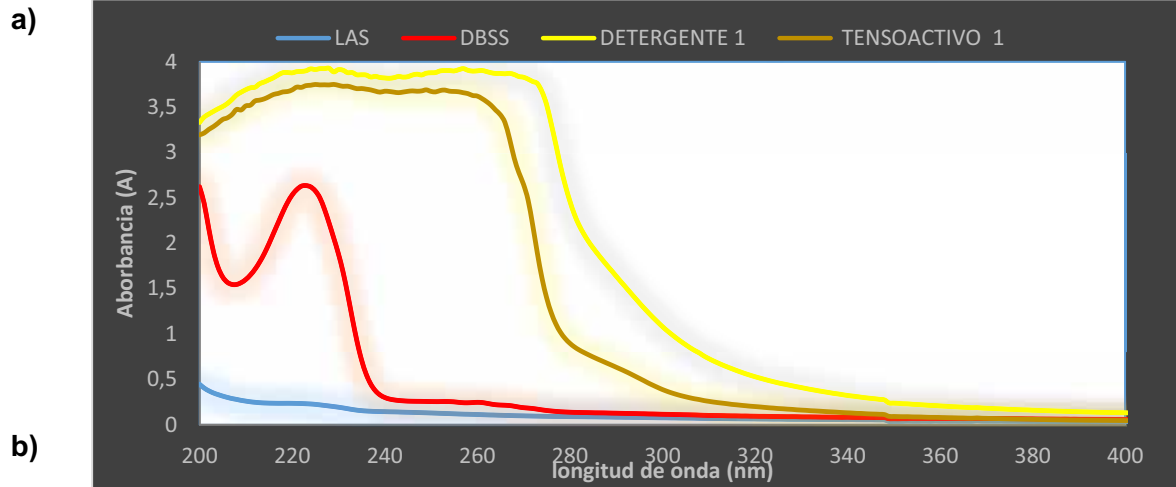
Con el fin de identificar el tensoactivo base de cada muestra se utilizaron tensoactivos grado analítico LAS y DBSS.

Los espectros obtenidos de cada una de las muestras evaluadas se presentan en la gráfica 1, los resultados de espectrofotometría UV-VIS muestran que la formulación de los detergentes comerciales empleados en este estudio corresponde al espectro que pertenece al dodecibencen sulfonato de sodio DBSS.



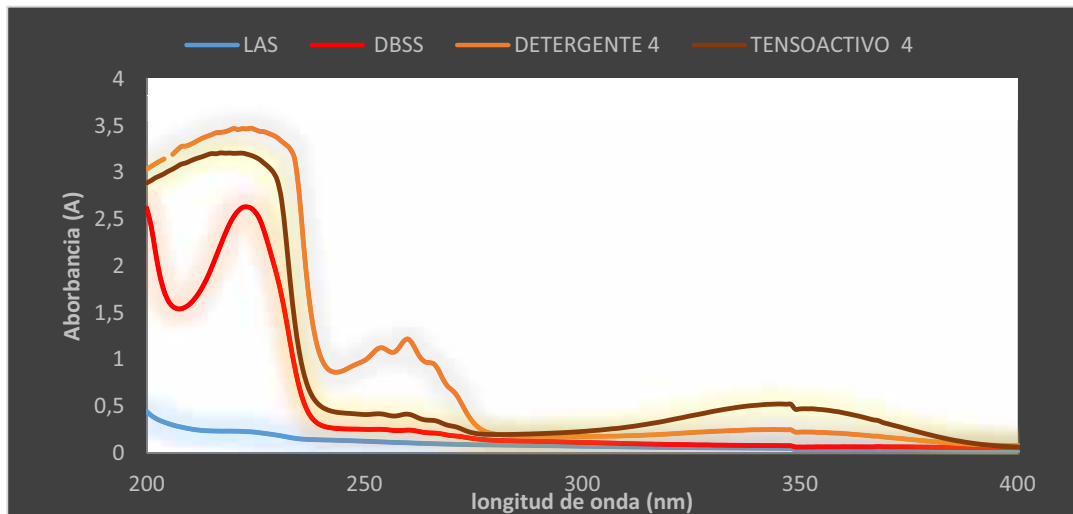
**Gráfica 1. Análisis espectrofotométrico en la región ultravioleta-visible de los diferentes detergentes en su formulación comercial. De acuerdo a sus etiquetas: Detergente 1: dodecibencen sulfonato de sodio, Detergente 2: dodecibencen sulfonato, Detergente 3: tensoactivo aniónico, Detergente 4: Alquil aril sulfonato de sodio, Detergente 5: dodecil bencen sulfonato de sodio.**

Consecutivamente se analizó cada una de las muestras de detergente comercial con su respectiva fase separada o tensoactivo, así como los estándares DBSS y LAS para corroborar su presencia activa en las muestras, gráfica 2.

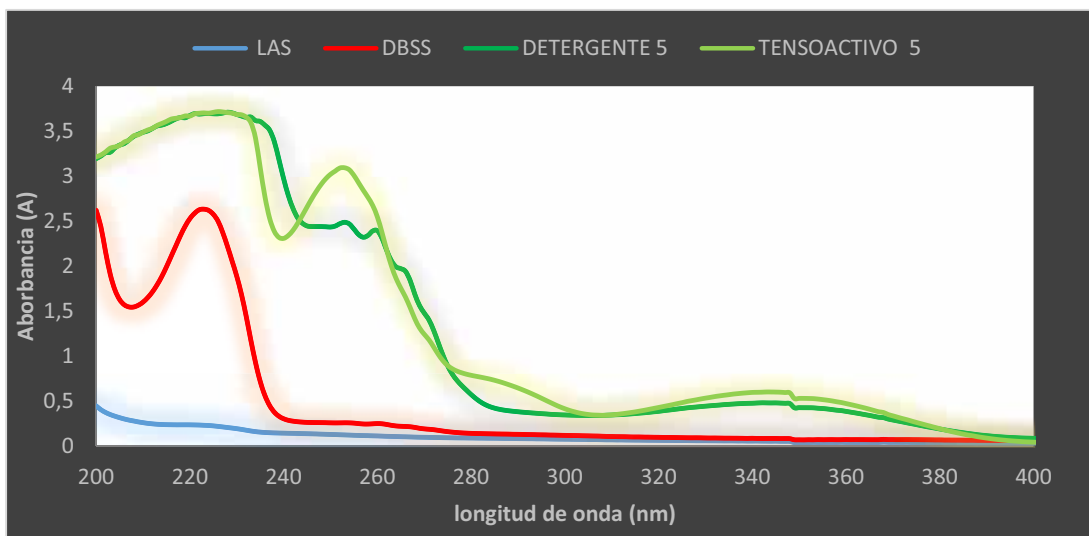




d)



e)



**Gráfica 2. Análisis espectrofotométrico en la región ultravioleta-visible de los diferentes detergentes en su formulación comercial y su respectivo tensoactivo ; a) , b) y e) representan a los detergentes 1, 2 y 5 respectivamente detergente dodecibencen sulfonato de sodio y tensoactivo separado, c) detergente aniónico 3 y su tensoactivo separado, el d) detergente 4 Alquil aril sulfonato de sodio y su tensoactivo**

Los resultados de espectrofotometría UV-VIS de las muestras Detergente 1, 2, 3, 4 y 5 indican que la formulación corresponde al espectro formado por el dodecibencen sulfonato de sodio DBSS. Este resultado corresponde a lo presentado en la etiqueta en las muestras a excepción de la muestra 4 que dice contener Alquil aril sulfonato de sodio (LAS) con sus diferentes aditivos de donde se observa similitud con el espectro del DBSS.

Posterior al análisis en espectrofotometría, se analizó mediante gravimetría, la extracción de los diferentes tensoactivos en las muestras de detergentes comerciales, obteniéndose con esto los porcentajes de extracción de tensoactivo y aditivos tal como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6.- Resultados análisis Gravimétrico de la extracción de tensoactivos en los detergentes comerciales**

MUESTRA	Peso muestra (g)	Extracción Tensoactivo				% Aditivos	% tensoactivo
		Vaso Peso inicial (g)	Vaso Peso final (g)	Tensoactivo (g)			
<b>DETERGENTE 3</b>	5.042	61.7418	62.4258	0.684	86.43	13.57	
<b>DETERGENTE 4</b>	5.0007	62.3223	65.1697	2.8474	43.05	56.95	
<b>DETERGENTE 5</b>	5.0442	29.7951	30.3464	0.5513	89.07	10.93	

De acuerdo a los resultados obtenidos se obtuvo un mayor porcentaje de contenido de tensoactivo en el detergente comercial 4 con un 56,95 %, obteniéndose una menor porcentaje en el detergente 5 de tan solo el 10,93 % lo que muestra una variabilidad en la formulación de los detergentes estudiados.

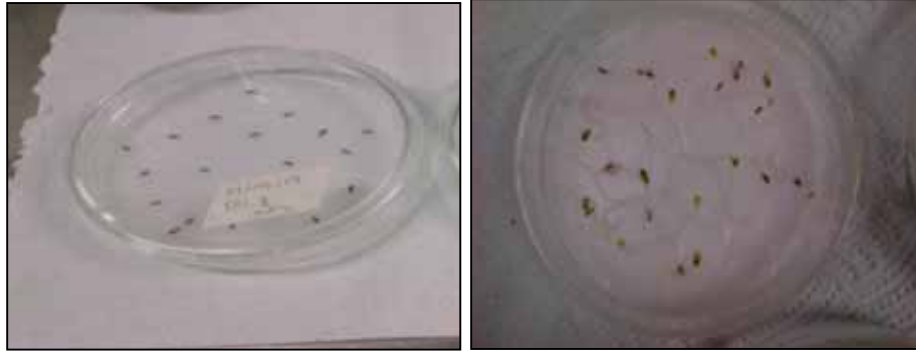
## V.2. Pruebas de toxicidad

### V.2.1. Toxicidad en semillas de lechuga

#### Selección de las semillas

En este ensayo se usaron semillas de lechuga *Lactuca sativa var. Butter crunch*, procurando que sean semillas sin curar (sin fungicida o plaguicidas), con buen poder de germinación y baja variabilidad en la elongación de la radícula e hipocotilo.

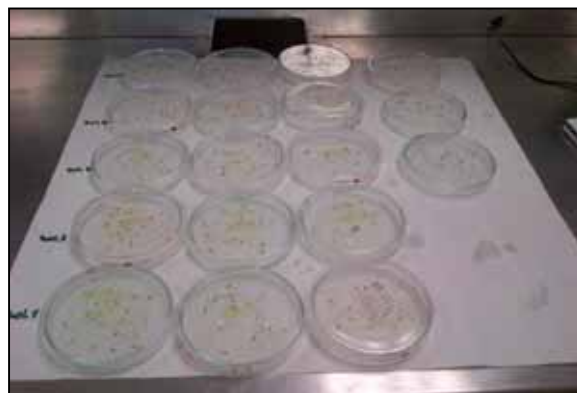
Se sembraron tres placas con agua dura reconstituida dejándose germinar por un período de 5 días a 20° C, obteniendo una respuesta de germinación de la semilla de 91,75% (imagen 5), de acuerdo a la literatura es viable utilizar esta variedad de semillas que presenten más de 90% en su germinación (Castillo, 2004), los resultados de estas pruebas se presentan en la carta control del Anexo 2.



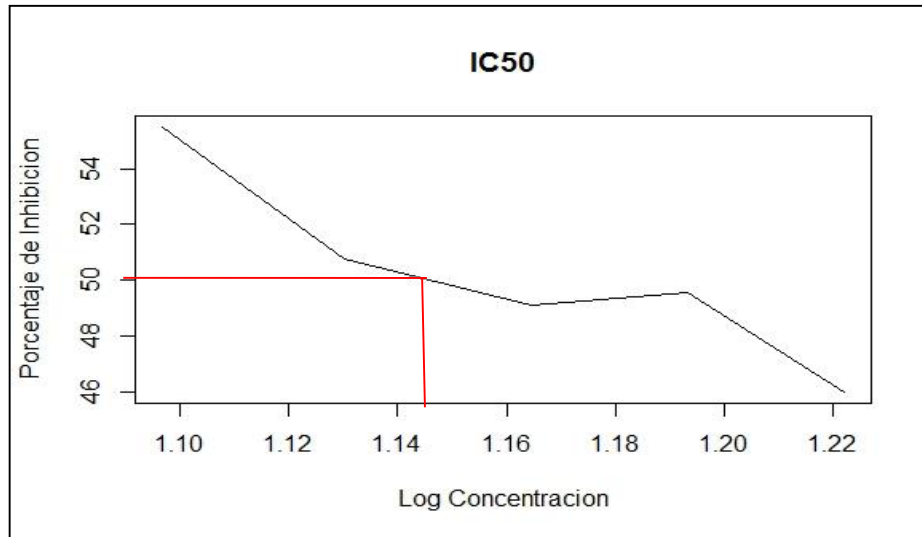
**Imagen 5.-Valoración de la germinación de la semilla**

#### Tóxico de referencia

Para el caso del control positivo, se utilizó cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ) como tóxico de referencia, se valoró la germinación de la semilla usando un factor de dilución de 0,3 utilizando diluciones crecientes de: 1, 3, 10, 30 y 100%; tal como se presenta en la imagen 6, arrojando un intervalo de crecimiento entre el 1 y 3 %, bajo este resultado se resembró el tóxico en las semillas se obtuvo de acuerdo al método Probit una  $IC_{50}$  de 13,50 mg/L lo cual demuestra que la semilla si responde al tóxico de referencia; de acuerdo a la literatura para el caso del mismo tóxico en semillas de lechuga variedad prestine cabeza de mantequilla se reporta una  $IC_{50}$  de 24,48 mg  $Zn^{+2}/L$  (Bohórquez, 2007). El anexo 3 presenta la carta control de la prueba.



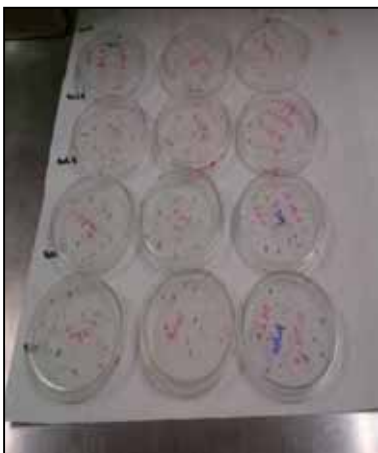
**Imagen 6.- Germinación de la semillas con el  $Cl Zn_2$**



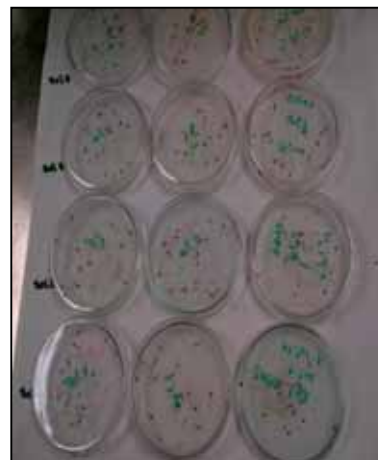
**Gráfica 3. Curva de dosis-respuesta para el  $ZnCl_2$**

Pruebas de toxicidad con detergentes

Las pruebas de toxicidad con detergentes se iniciaron valorando la semilla en presencia de los tensoactivos DBSS y LAS grado reactivo (imagen 7 y 8); primeramente se sembró con diluciones crecientes de 1, 3, 10, 30 y 100 %; las cuales mostraron una inhibición total en el rango 10, 30 y 100 % efecto similar fueron observados por (Wang et al., 2011); nuevamente se resembró la semilla *Lactuca sativa* var. *Butter crunch* bajo el intervalo de concentración del 1 y 3% con Alquil aril sulfonato de sodio (LAS) y dodecibencen sulfonato de sodio (DBSS) arrojando una  $CI_{50}$  de 15,62 mg/L y 5,0 mg/L respectivamente los resultados fueron obtenidos mediante el método Probit. Cartas control en anexo 4 y 5. Estos resultados muestran que el DBSS es más tóxico que el LAS para las semillas de lechuga.

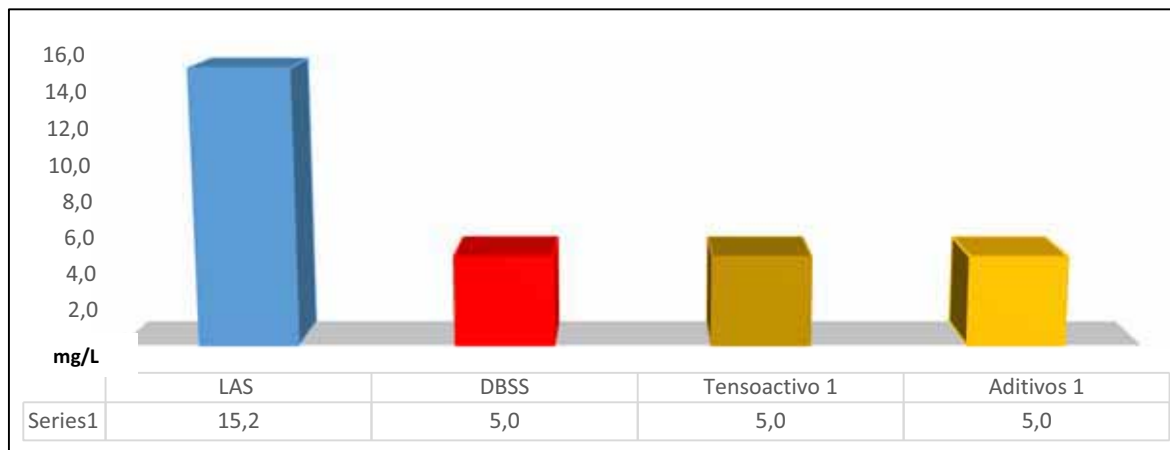


**Imagen 7.-Germinación de la semilla con el tensoactivo LAS**



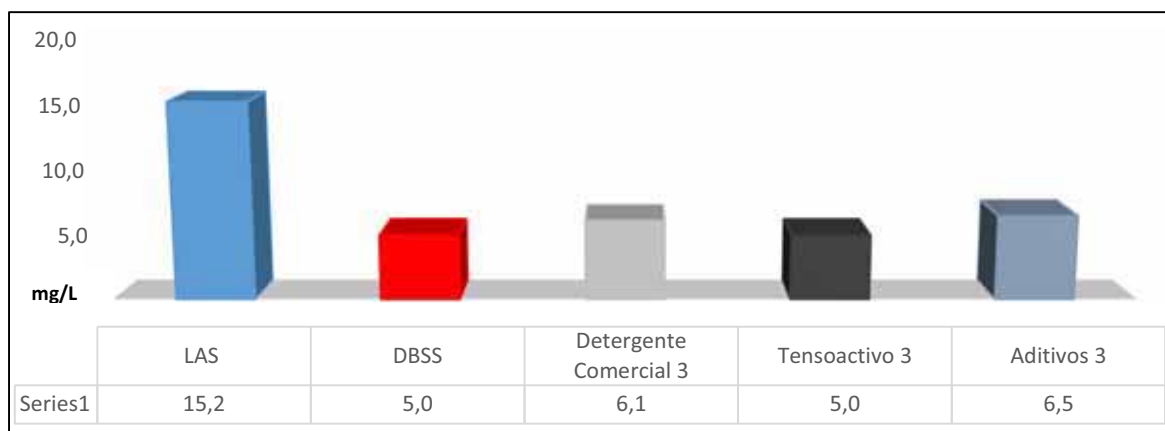
**Imagen 8.-Germinación de la semilla con el tensoactivo DBSS**

Si siguiendo el mismo procedimiento de siembra con diversas diluciones se realizaron las pruebas de toxicidad con las muestras de los detergentes grado industrial (Detergentes 1 y 2) y en los de formulación comercial (Detergentes 3, 4 y 5), incluyendo el tensoactivo separado y los aditivos en los detergentes comerciales. Los resultados de toxicidad se presentan en las gráficas 4, 5, 6 y 7 con su respectivo  $IC_{50}$ , concentración que inhibe al 50% de las semillas, donde los valores más bajos representan una mayor toxicidad.



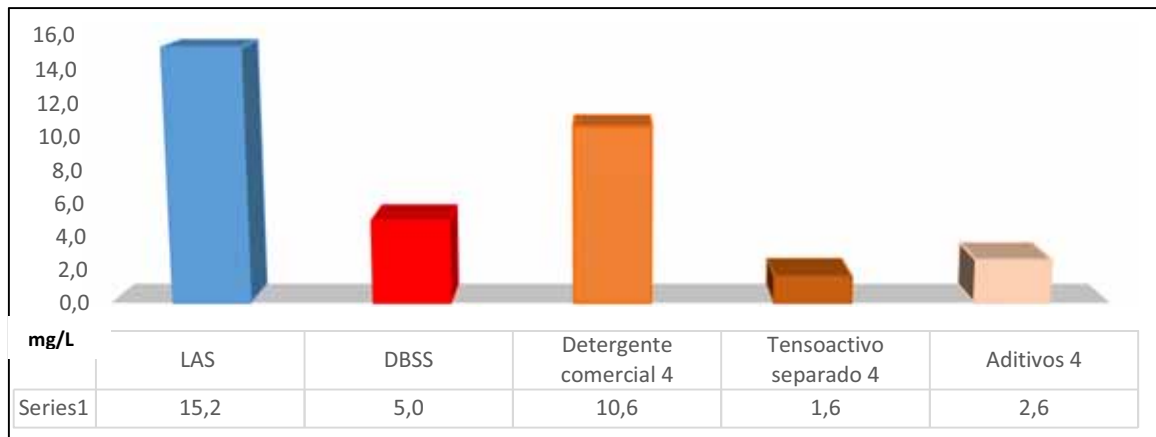
**Gráfica 4. Resultados de la  $IC_{50}$  muestra 1**

La gráfica 5 confirma que el detergente 1 con grado industrial con 93,6% de pureza de acuerdo a la etiqueta, contiene al tensoactivo DBSS.



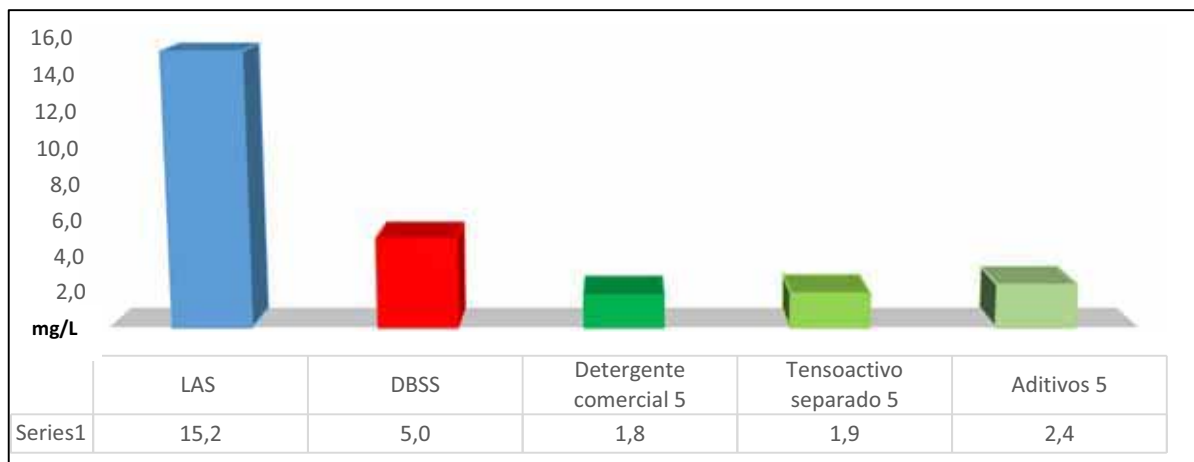
**Gráfica 5. Resultados de la  $IC_{50}$  muestra 3**

En la gráfica 6 los resultados de IC<sub>50</sub> del detergente comercial 3 que de acuerdo a la etiqueta contiene un tensoactivo aniónico presenta una toxicidad similar al DBSS.



**Gráfica 6. Resultados de la IC<sub>50</sub> muestra 4**

Los resultados del detergente 4 el cual muestra en su etiqueta que contiene Alquil aril sulfonato de sodio presenta mayor toxicidad en la fases separadas: tensoactivo 4 y aditivos 4.



**Gráfica 7. Resultados de la IC<sub>50</sub> muestra 5**

El detergente 5 que reporta en su etiqueta el contenido de DBSS presenta valores en las tres muestras mucho más tóxicos que el DBSS grado reactivo. Esta muestra presentó los valores más tóxicos, para las semillas de lechuga, en su formulación comercial, tensoactivo separado y aditivos en comparación a todas las muestras estudiadas.

En cuanto a las pruebas con el detergente 2 que corresponden a una muestra de detergente concentrada grado industrial, los resultados de fitotoxicidad fueron positivos favoreciendo el crecimiento de la radícula, en lugar de inhibirlo, por lo cual no se reporta un valor de IC<sub>50</sub> las cartas control se presentan en los anexos 8 y 9.

Dado que el valor de la IC<sub>50</sub> tiene una relación inversa con la inhibición, se puede expresar el resultado en términos de un Índice de Inhibición (II) basado en el valor inverso del IC<sub>50</sub> (Estrada et al, 2001), en este caso a mayor índice de inhibición se tiene mayor toxicidad, en la tabla 7 se presenta un resumen de los resultados en función del índice de inhibición.

**Tabla 7.- Resumen de resultados de Índice de Inhibición en semillas de lechuga**

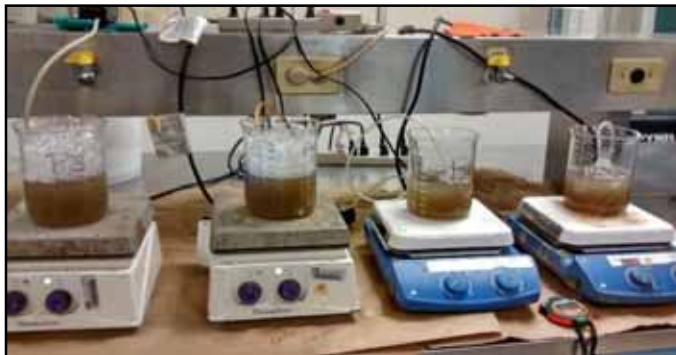
<b>Tipo de muestra</b>	<b>Muestra</b>	<b>Índice de Inhibición (II)</b>
<b>Grado reactivo</b>	LAS	6,57
	DBSS	20,1
<b>Grado industrial</b>	Tensoactivo 1	20,1
	Aditivos 1	20,1
	Tensoactivo 2	Efecto positivo
	Aditivos 2	Efecto positivo
<b>Detergente comercial</b>	Detergente 3	16,32
	Tensoactivo 3	20,1
	Aditivos 3	15,39
	Detergente 4	9,44
	Tensoactivo 4	63,17
	Aditivos 4	38,24
	<b>Detergente 5</b>	<b>55,09</b>
	Tensoactivo 5	52,46
	Aditivos 5	41,65

### V.2.2. Toxicidad en Lodos Activados - Método de pruebas de respirometría

Este método sirve para evaluar el efecto que una sustancia objeto de ensayo tiene sobre los microorganismos (lodos activados), donde se mide la tasa de respiración en condiciones controladas y en presencia de diferentes concentraciones del tóxico.

La velocidad de respiración responde rápidamente a la presencia de inhibidores, y la medición de este parámetro tiene la ventaja de ser rápida y simple. Sin embargo, no todos los inhibidores afectan los procesos de respiración de la bacteria. Una célula puede incluso consumir oxígeno después de haber perdido su capacidad de crecer y dividirse, es decir estar activa pero no viable. La pérdida de la respiración significa la muerte de la célula y, por tanto, puede ser una medida de la toxicidad aguda (Quesada, 2001).

Las pruebas de toxicidad en lodos activados se realizaron con diluciones de una concentración de 500 mg/L.



**Imagen 8.-Equipo para pruebas de respirometría Lodos Activados**

En esta sección se presentan los resultados experimentales de las pruebas de toxicidad de los detergentes en lodos activados, todas las pruebas cumplen con los criterios de las normas mencionadas en la metodología referente a que los resultados de las muestras de control difieran una de la otra en menos del 15%. Las muestras fueron evaluadas por un período de 30 min para cada una de sus diluciones, con agitación y aireación constante; con lectura de un blanco al inicio de la prueba y otro blanco final. De tal manera que para cada muestra se probaron diferentes concentraciones para obtener una gráfica de dosis-respuesta con el porcentaje de inhibición de la respiración de los lodos activados contra el



logaritmo de la concentración, que permita estimar la concentración que inhibe el 50% de la respiración de los lodos activados ( $IC_{50}$ ).

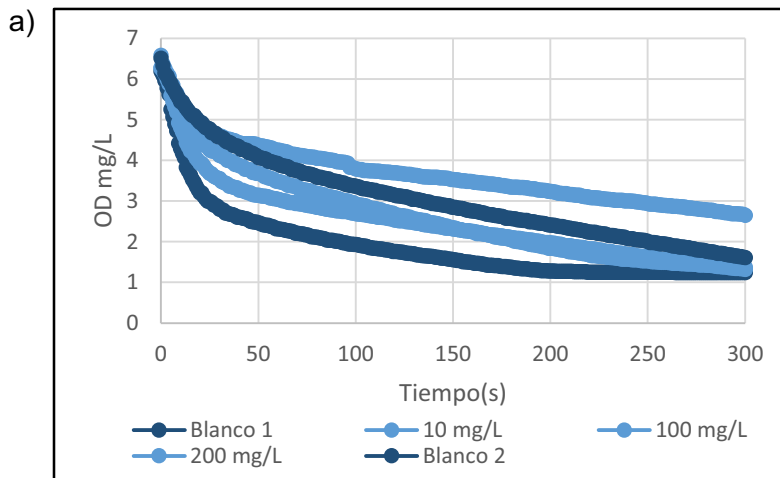
Pruebas de respirometría con LAS y DBSS

Las pruebas de respirometría se iniciaron con el LAS y DBSS grado analítico los resultados de LAS se muestran en las gráfico 8 y 9 que contienen a) variación de la concentración de oxígeno disuelto de cada prueba con concentraciones del tensoactivo 10, 100 y 200 mg/L. Y b) la curva de dosis-respuesta para obtener el porcentaje de inhibición en función del logaritmo de la concentración.

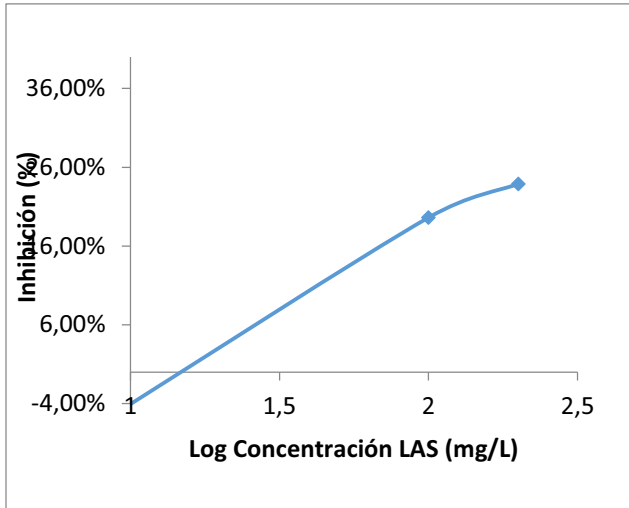
Al comparar los valores de concentración de LAS y DBSS, que inhiben un mismo porcentaje de respiración de los lodos, se tienen los valores de la tabla 8, los resultados muestran una mayor toxicidad del DBSS que del LAS para los microorganismos presentes en los lodos activados con pruebas de 30 minutos de aereación. Para lograr una curva de dosis-respuesta que incluya el  $IC_{50}$  se presentaron problemas de formación de espuma por la aereación constante de las muestras, por lo cual se calcula la respuesta aproximada con método estadístico Probit para los valores de  $IC_{50}$ .

**Tabla 8. Concentración de inhibición en mg/L para el LAS y DBSS**

Muestra	$IC_{10}$	$IC_{20}$	$IC_{30}$	$IC_{50}$ estimado
LAS	42,65	107,15	---	635
DBSS	38,01	97,72	141,25	213

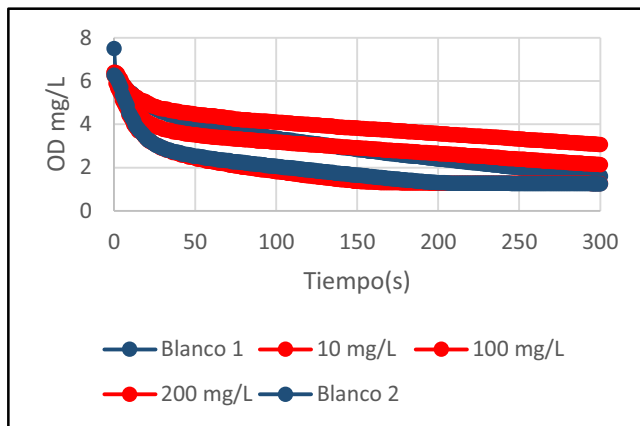


b)

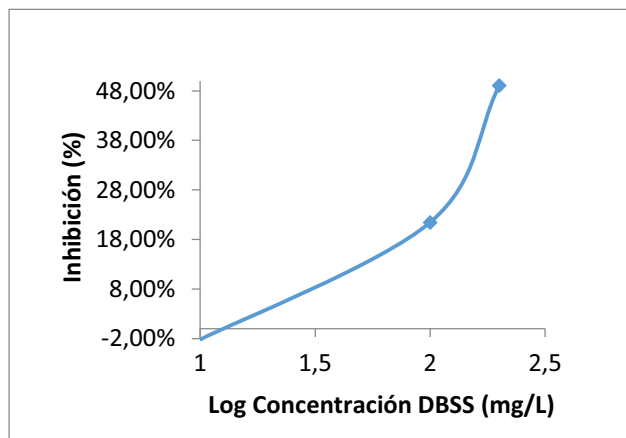


Gráfica 8. Resultados pruebas de toxicidad Tensioactivo LAS grado reactivo con tres diluciones

a)



b)



Gráfica 9. Resultados pruebas de toxicidad Tensioactivo DBSS grado reactivo con tres diluciones

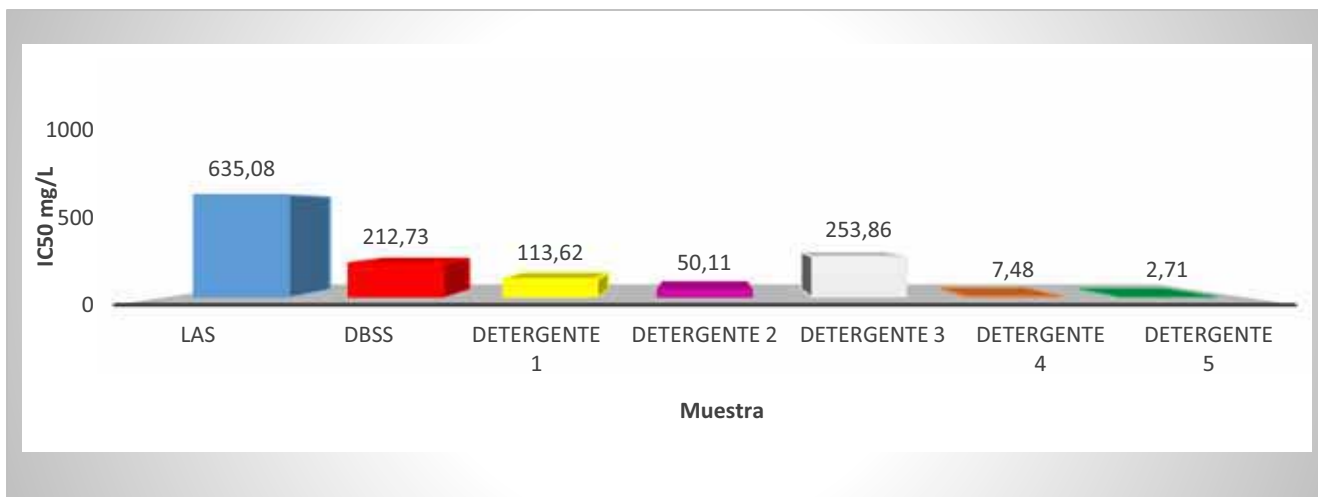
#### Pruebas de respirometría con detergentes grado industrial

Las muestras 1 y 2 que corresponden a los detergentes grado industrial (concentrados) son materia prima para la fabricación de productos de limpieza, los valores  $IC_{50}$  estimados para el detergente 1 es de 113,62 mg/L y de 56,92 mg/L para el detergente 2, por lo cual resulta más tóxico el detergente 2 que el detergente 1 en las pruebas de respirometría con lodos activados. Los resultados experimentales de la tasa de consumo de oxígeno se presentan en el anexo 19 y 20.

#### Pruebas de respirometría con detergentes comerciales

Las pruebas de respirometría en lodos activados con las muestras 3, 4 y 5 de detergentes comerciales se hicieron también para el tensoactivo y aditivos separados los resultados se muestran en los anexos 26, 27, 28, 31, 32 y 33. Con fines de comparación se presenta en la gráfica 10 los resultados estimados de  $IC_{50}$  los cuales muestran mayor toxicidad en las muestras de detergentes comerciales 4 y 5 lo que indica que a bajas concentraciones, de 2,71 mg/L para la muestra 5 y de 7,48 mg/L para la muestra 4, inhiben el 50% de la respiración de la población de los microorganismos presentes en los lodos activados. Este problema se puede presentar en el tratamiento biológico de las plantas de tratamiento de aguas residuales originado por la presencia de detergentes comerciales debido a su amplio consumo, en el caso del detergente 3 sus resultados indican que es necesaria una concentración más alta, 254 mg/L, para causar el mismo efecto.

Los resultados del gráfico 11 indican una mayor toxicidad del tensoactivo 4 con respecto a las muestras 3 y 5, sin embargo son necesarias concentraciones del orden de 200 a 500 mg/L para inhibir la respiración del 50% de la población de los microorganismos presentes en los lodos activados. Los resultados de los aditivos presentados en el gráfico 11 muestran mayor toxicidad de la muestra 3 en comparación con los aditivos 4 y 5. Con valores de 75, 3 mg/L a 360 mg/L.



Gráfica 12. Resultados de IC50. LAS, DBSS y Detergentes 1-5 por el método de respirometría en lodos activados



Gráfica 11. Resultados de IC50. LAS, DBSS y Tensioactivos 1-5 por por el método de respirometría en lodos activados



Gráfica 10. Resultados de IC50. LAS, DBSS y Aditivos 1-5 por por el método de respirometría en lodos activados

### V.2.3 Análisis de resultados de toxicidad en semillas de lechuga y toxicidad en lodos

La comparación de los resultados de toxicidad de los detergentes comerciales así como de los tensoactivos y aditivos separados, evaluados en semillas de lechuga y en lodos activados se presentan en la tabla 9, resultando altamente tóxico para las semillas así como para los lodos activados el detergente comercial 5, en el caso de los tensoactivos fue la muestra 3 la que tuvo un comportamiento de toxicidad similar, sin embargo los aditivos presentaron una toxicidad mayor en lodos y menor en las semillas ( Aditivos 3 y 5) y menor toxicidad en lodos y mayor en semillas Aditivos 4.

**Tabla 9.- Resultados de toxicidad**

Muestra	Toxicidad Lodos	Fitotoxicidad semillas
Detergente 3	-	-
Tensoactivo 3	+	+
Aditivos 3	+	-
Detergente 4	+	-
Tensoactivo 4	-	+
Aditivos 4	-	+
Detergente 5	+	+
Tensoactivo 5	-	+
Aditivos 5	+	-

- = menos tóxico, + = más tóxico

### V.3. Pruebas de Biodegradabilidad

Los procesos de biodegradación comprenden dos categorías: biodegradación primaria y biodegradación última o mineralización. Durante la biodegradación primaria se producen alteraciones estructurales discretas en la molécula original, lo que hace que ésta pierda sus propiedades fisicoquímicas características. Durante la biodegradación última o total, la sustancia química es metabolizada por los microorganismos como fuente de carbono y energía siendo completamente transformada en compuestos inorgánicos (Itria, 2002). Existen varias pruebas para evaluar la biodegradabilidad, en este estudio fue utilizada como medida de la biodegradabilidad de las muestras la relación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno prueba que se realiza en 5 días ( $DBO_5$ ) y la Demanda Química de Oxígeno. Al

obtener el cociente de esta relación  $DBO_5/DQO$  y lo que proporciona información sobre la biodegradabilidad de los compuestos.

Otra prueba para determinar la demanda bioquímica de oxígeno es a través del método respirométrico el cual consiste en medir la presión en un sistema cerrado: los microorganismos que se encuentran en la muestra consumen oxígeno y generan  $CO_2$ . El  $CO_2$  se absorbe con  $KOH$  creando una presión negativa que puede leerse directamente como valor de  $DBO$  mg/L, la muestra se agita constantemente y mantenida a temperatura de  $20^\circ C$ , los resultados obtenidos en el equipo de  $BODTrak$  son similares a lo que ocurre en un ambiente natural. Esta prueba resulta de importancia porque permite estimar la biodegradación última ( $DBO_{Total}$  o  $L_0$ ) de las muestras evaluadas así como la constante cinética de degradación por día ( $K_L$ ) con los resultados obtenidos en los 10 días de duración de la prueba.

### V.3.1. Demanda Química de Oxígeno

La demanda química de oxígeno ( $DQO$ ) se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno necesario para oxidar el contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte. Se expresa en mg/L.

#### Resultados de los Detergentes comerciales

De acuerdo con la tabla 10 los valores de  $DQO$  de cada muestra de detergente, expresan que la muestra con menor cantidad de materia oxidable es el Detergente 5 y la de mayor corresponde al Detergente 4. Esta prueba solo cuantifica la materia oxidable que posee un compuesto, debemos tener en cuenta que no toda la materia oxidable es biodegradable.

**Tabla 10. Resultados de las pruebas de DQO Detergentes comerciales**

Tipo	Muestra	Absorbancia	DQO mg/L	DQO promedio mg/L	mg DQO/g Detergente
Grado industrial	Detergente 1	0,074	174,3	175	1748,5
		0,074	175,8		
		0,074	174,4		
	Detergente 2	0,096	227,9	229	2285,6
		0,097	229,5		
0,096		228,3			
Formulación comercial	Detergente 3	0,057	133,1	122	1216,0
		0,051	118,5		
		0,048	113,2		
	Detergente 4	0,090	213,7	214	2136,4
		0,090	213,6		
		0,090	213,6		
	Detergente 5	0,035	82,1	84	840,7
		0,037	85,1		
		0,037	85,1		

Para el caso de los Tensoactivos separados tabla 11, con respecto a su DQO obtenida tenemos a Tensoactivo 5 con menor materia oxidable y Tensoactivo 3 con una mayor DQO.

**Tabla 11. Resultados de las pruebas de DQO Tensoactivos separado**

Tipo	Muestra	Absorbancia	DQO mg/L	DQO promedio mg/L	mg DQO/g Tensoactivo
Grado industrial	Tensoactivo 1	0,072	170,9	172	1719,7
		0,074	173,6		
		0,073	171,4		
	Tensoactivo 2	0,070	165,9	167	1665,1
		0,070	166,0		
0,071		167,6			
Formulación comercial	Tensoactivo 3	0,099	235,0	233	2333,2
		0,098	231,8		
		0,098	233,1		
	Tensoactivo 4	0,088	208,3	209	2092,2
		0,089	209,7		
		0,089	209,7		
	Tensoactivo 5	0,078	184,3	185	1848,9
		0,078	184,6		
		0,079	185,7		

Considerando los aditivos, tabla 12, extraídos de las muestras de los detergentes comerciales pudimos valorar la DQO lo que arrojó que en el caso de la muestra 3 resultaron menores con respecto a las muestras 4 y 5 con mayor materia oxidable.

**Tabla 12. Resultados de las pruebas de DQO Aditivos**

Tipo	Muestra	Absorbancia	DQO mg/L	DQO promedio mg/L	mg DQO/g Tensoactivo
Grado industrial	ADITIVOS 1	0,066	156,3	145	50,3
		0,058	136,4		
		0,061	142,4		
	ADITIVOS 2	0,060	141,9	135	1349,6
		0,051	120,6		
		0,061	142,4		
Formulación comercial	ADITIVOS 3	0,010	21,6	22	216,4
		0,010	21,6		
		0,010	21,7		
	ADITIVOS 4	0,014	29,9	31	314,4
		0,014	29,9		
		0,016	34,5		
	ADITIVOS 5	0,028	65,0	64	642,1
		0,029	67,4		
		0,026	60,2		

Al hablar de los detergentes comerciales, que son los de mayor bpor su amplio uso, podemos utilizar los valores de DQO para estimar su biodegradabilidad con la relación  $DBO_5/DQO$ . Este grupo tiene una formulación comercial que incluyen los tensoactivos aniónicos y los aditivos, se encuentran en las aguas residuales domésticas y resultan ser los más importantes en los objetivos planteados en este estudio.

En cuanto a las muestras de los tensoactivos grado industrial, son la base para la producción de limpieza y su presencia se limita a las aguas residuales de este tipo de industria.

### V.3.2. Demanda Bioquímica de Oxígeno

Para la realización de estas pruebas se prepara una solución estándar del Detergente de cada una de las muestras con una concentración de 500 mg/L, con la cual se realiza una dilución para una concentración de 100 mg/L, se realizan pruebas previas de  $DBO_5$ , con diferentes combinaciones de inóculo (agua residual de la Planta del Rosario), una siembra se realiza con 3 ml y otra de 5 ml esto para evaluar el comportamiento de los detergentes



en los microorganismos presentes en el agua. En los resultados obtenidos se observa que el inóculo no debe ser menor a 5 ml.

Las primeras pruebas realizadas a los tensoactivos separados se siembran en dos diferentes volúmenes de muestra 5 y 10 ml pero con la misma combinación de inóculo que la prueba anterior; las mismas combinaciones de muestra son utilizadas para los aditivos. A fin de valorar el aumento o disminución de su demanda de oxígeno con los diferentes volúmenes de muestras sembrada.

Se realiza una última prueba de la Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días (DBO<sub>5</sub>) con un volumen final de 20 ml de cada una de las muestras y 5 ml de inóculo, permitiéndolo observar que los resultados se encuentran en un rango de 34 - 45 mg/L (tabla 11) mínimamente mayor a la demanda de consumo del inóculo de 24 mg/L, dicho hecho se explica de acuerdo a la literatura (Swisher, 1963) por la etapa de adaptación en que son sometidos los microorganismos presentes en el inóculo que deben aclimatarse a la estructura química propia de cada una de las muestras la etapa transcurre en un período de 2 - 4 días después de la siembra; la relación del resultado obtenido DBO<sub>5</sub>/DQO nos permite determinar grado de biodegradabilidad. Para este caso las muestras presentan baja biodegradabilidad dado que los resultados cercanos a la unidad indicaran biodegradabilidad al 100% y valores menores a 0,5 no son considerados biodegradables. Resultados presentados en las gráficas 13, 14 y 15.

En la misma siembra de DBO<sub>5</sub> se valoró la solución estándar de Glucosa y Ácido Glutámico, reportada en los métodos estándar (APHA, 2005) a una concentración de 150 mg/L con una demanda de DBO<sub>5</sub> de 198 ± 30 mg/L esto como estándar de referencia para las pruebas realizadas a las distintas muestras. Los resultados se presentan en la tabla 13.

**Tabla 13. Resultados de DBO<sub>5</sub> - Solución concentración 500 mg/l**

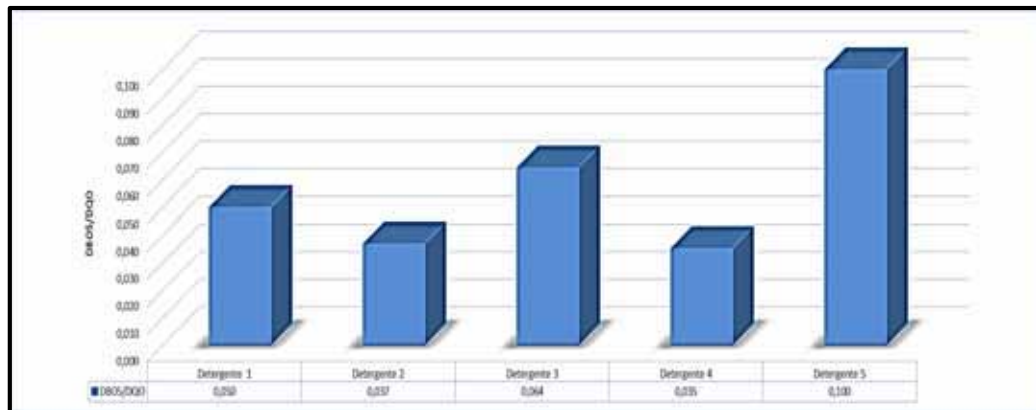
Muestra	OD INICIAL	OD FINAL	Oxígeno Consumido	DBO <sub>5</sub> mg/L	DBO <sub>5</sub> mg/L Promedio	mg DQO/g muestra
<b>Blanco</b>	6.4	6.2	0.2		0.2	----
		6.2	0.2			
<b>3 ml Inóculo</b>	6	5.8	0.2	20.0	30.0	----
		5.6	0.4	40.0		
<b>3 ml Inóculo + 3ml Glucosa</b>	6.2	4.2	2	180.0	175.0	----

		4.1	2.1	170.0		
<b>5 ml Inóculo</b>	6	5.6	0.4	24.0	24.0	-----
		5.6	0.4	24.0		
<b>5 inóculo + 20 ml muestra</b>						
<b>Detergente 1</b>	6.4	3.2	3.2	42.0	43.5	87
		3	3.4	45.0		
<b>Detergente 2</b>	6.4	3.2	3.2	42.0	42.0	84
		3.2	3.2	42.0		
<b>Detergente 3</b>	6.2	3.4	2.8	36.0	39.0	78
		3	3.2	42.0		
<b>Detergente 4</b>	6.5	3.6	2.9	37.5	37.5	75
		3.6	2.9	37.5		
<b>Detergente 5</b>	6.4	3.2	3.2	42.0	42.0	84
		3.2	3.2	42.0		
<b>Tensoactivo 1</b>	6.4	3.4	3	39.0	36.0	72
		3.8	2.6	33.0		
<b>Tensoactivo 2</b>	6.4	3	3.4	45.0	45.0	90
		3	3.4	45.0		
<b>Tensoactivo 3</b>	6.6	3.8	2.8	36.0	42.0	84
		3	3.6	48.0		
<b>Tensoactivo 4</b>	6.4	3.8	2.6	33.0	39.0	78
		3	3.4	45.0		
<b>Tensoactivo 5</b>	6.4	3.2	3.2	42.0	43.5	87
		3	3.4	45.0		
<b>Aditivos 1</b>	6.5	3.2	3.3	43.5	45.0	90
		3	3.5	46.5		
<b>Aditivos 2</b>	6.7	3	3.7	49.5	48.0	96
		3.2	3.5	46.5		
<b>Aditivos 3</b>	6.2	3.2	3	39.0	37.5	75
		3.4	2.8	36.0		
<b>Aditivos 4</b>	6.4	3.6	2.8	36.0	37.5	75
		3.4	3	39.0		
<b>Aditivos 5</b>	6.6	3.8	2.8	36.0	34.5	69
		4	2.6	33.0		

### Resultados de biodegradabilidad de los Detergentes comerciales

De acuerdo al análisis de los resultados para los detergentes comerciales gráfica 13, el detergente 5 tiene la relación más alta de  $DBO_5/DQO$  tal como lo indica la literatura (Lechuga, 2015) que existe una relación entre la biodegradabilidad y la toxicidad dado que los productos más tóxicos resultan ser los de mayor biodegradación comparando con los demás detergentes.

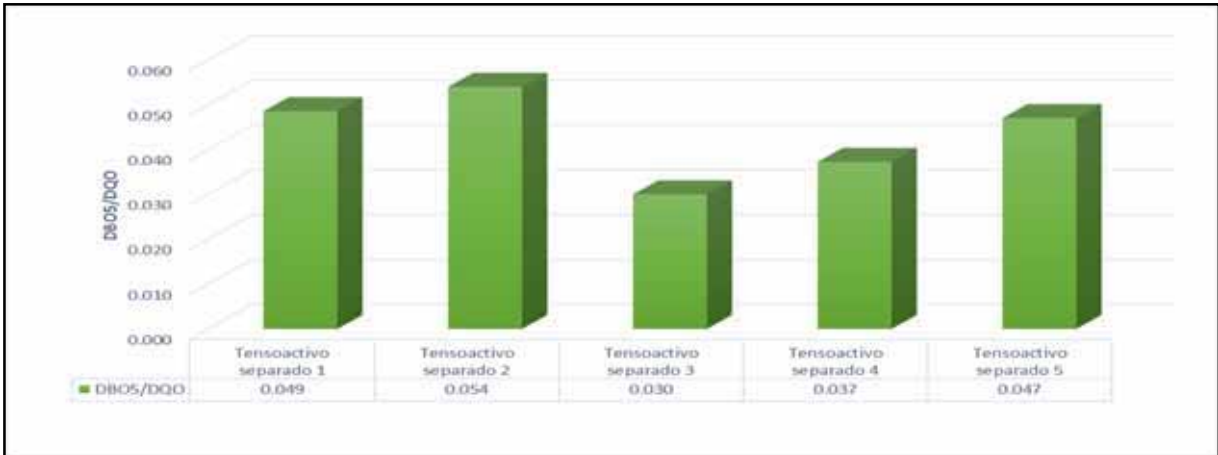
Para el caso de los detergentes 3 y 4 con menos concentración de  $DBO_5$  y una menor  $DQO$ , lo que indica poca materia susceptible a la biodegradabilidad, de 6 y 3 % de la  $DQO$  respectivamente.



**Gráfica 13. Resultados de biodegradabilidad de los Detergentes**

### Resultados de biodegradabilidad de los Tensoactivos separados

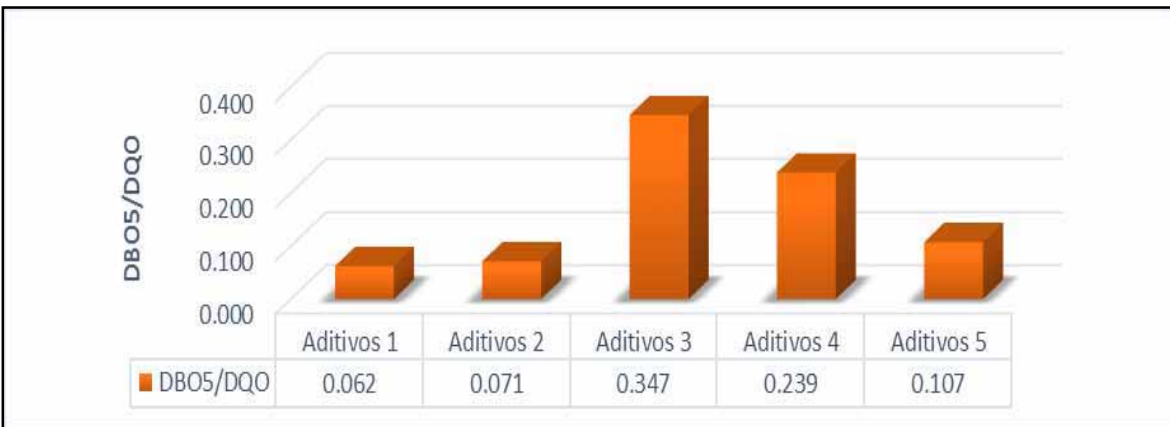
Los resultados de la relación  $DBO_5/DQO$  de los tensoactivos separados de las muestras comerciales, presentados en la gráfica 14, indican que el tensoactivo 5 muestra mayor relación de biodegradación con respecto a las muestras 3 y 4 de menor valor.



**Gráfica 14. Resultados de biodegradabilidad para los Tensoactivos separados**

Resultados de biodegradabilidad de los Aditivos separados

Considerando que los resultados de DQO para las muestras de los aditivos dieron valores muy bajos del orden de 216 – 642 mg/g y sus DBO<sub>5</sub> de 69 – 75mg/g, las relaciones de DBO<sub>5</sub>/DQO son de 0,1 a 0,3. El análisis de DBO<sub>5</sub> de los aditivos de las formulaciones comerciales resultaron tóxicos al inóculo.



**Gráfica 15. Resultados de biodegradabilidad para los Aditivos**

Otro posible efecto de inhibición presente en el proceso de biodegradación primaria implica la desaparición de los tensoactivos aniónicos como una molécula y su transformación en diversos intermedios de degradación (León, 2004) los cuales resultarían tóxicos a los microorganismos durante el período de incubación (5 días) que se requieren para esta prueba. Resulta de importancia hacer este análisis por un período de tiempo más largo,

hasta de 10 días, que permita conocer el comportamiento de la DBO día con día. Para esto se realizaron pruebas de DBO por el método respirometría.

Se corroboran los estudios que indican que la biodegradación aeróbica de tensoactivos aniónicos, que ésta varía de acuerdo a varios factores como son: la concentración del sustrato inicial, la presencia y la densidad de microorganismos adaptados, de la disponibilidad de nutrientes, la disponibilidad de oxígeno, de la temperatura y en la biodisponibilidad del compuesto así como la longitud de cadena y posición del anillo de benceno (León, 2004; Litz et al., 1987; Schoberl et al, 1988; Knaebel et al., 1990).

Análisis de resultados de Toxicidad y Biodegradabilidad de los detergentes comerciales

Las comparaciones entre los resultados de las pruebas de toxicidad en lodos y de biodegradabilidad (DBO<sub>5</sub>/DQO), se presentan en la tabla 14, de donde se puede observar que de las muestras comerciales D3, D4 y D5 resulta el D5 con mayor toxicidad y el único que presentan más biodegradabilidad con respecto a las otras muestras.

En el caso de los tensoactivos resulto ser el más tóxico el T3 y el menos biodegradable, las muestras T4 y T5 presentaron ambas menor toxicidad y baja biodegradabilidad; sin embargo los aditivos AD3 y AD5 resultaron más tóxicos y más biodegradables.

**Tabla 14.- Comparación de resultados de toxicidad y biodegradabilidad**

Muestra	Toxicidad Lodos	Biodegradabilidad
Detergente 3	-	-B
Detergente 4	+	-B
Detergente 5	+	+B
Tensoactivo 3	+	-B
Tensoactivo 4	-	-B
Tensoactivo 5	-	-B
Aditivos 3	+	+B
Aditivos 4	-	+B
Aditivos 5	+	+B

- = menor, + = mayor, -B = menos biodegradable, +B = más biodegradable

#### V.4. Pruebas de DBO Método Respirométrico

El método respirométrico implica medir la cantidad de oxígeno consumido durante la conversión de la materia orgánica en la muestra, bajo condiciones controladas de temperatura constante, presión y agitación.

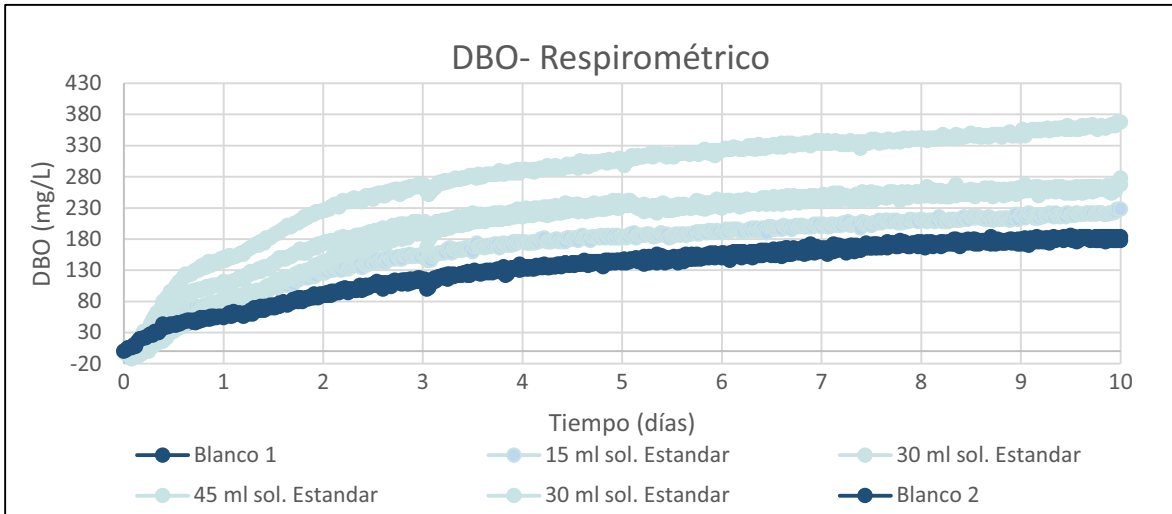
En el respirométero manométrico el oxígeno tomado se relaciona con un cambio de presión causado por el consumo de oxígeno a volumen constante mediante el remplazo continuo del oxígeno consumido por los microorganismos.

Para la validación de estas pruebas se realiza una corrida con una solución de Glucosa de 150 mg/L, misma que se siembra en el equipo Hach Respirometric a diferentes volúmenes por un período de 10 días a 20 °C; para posteriormente analizar sus resultados mediante el método de Thomas para estimar la constante de biodegradación (K) y la demanda bioquímica de oxígeno total (DBO<sub>T</sub> ó L<sub>0</sub>). Basado en en la función:  $L_T = L_0 e^{kt}$ , donde L<sub>T</sub> es la demanda de oxígeno al tiempo t, L<sub>0</sub> es la concentración máxima de materia orgánica biodegradable, k es la constante de biodegradación y t es el tiempo L<sub>0</sub> se determina entonces usando el método de Thomas que ajusta los datos obtenidos a una recta de forma:

$$\left(\frac{t^{1/3}}{y}\right) = (L_0 K)^{-1/3} + \left(\frac{K^{2/3}}{6L_0^{1/3}}\right).$$

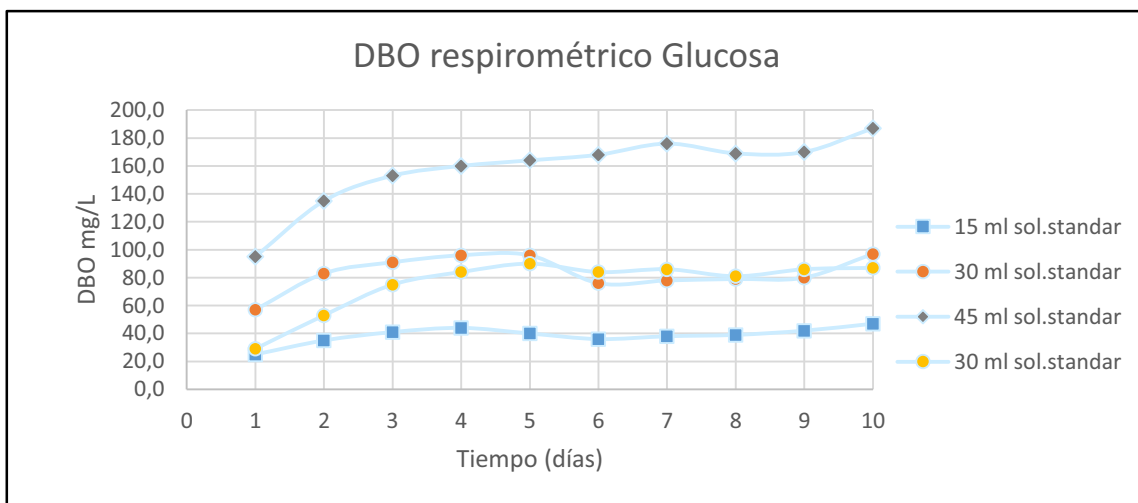
Donde t es el tiempo, y es la DBO en mg/L al tiempo t, la ecuación anterior es la ecuación de una recta, donde:  $\frac{(1)}{L_0 k^{1/3}}$  es la ordenada al origen (B) y  $\frac{K^{2/3}}{6L_0^{1/3}}$  es la pendiente de la recta (A) por substitución  $K=2.61(B/A)$  y  $L_0=1/[2.3 K(A^3)]$ . Graficando los datos experimentales obtenidos en el laboratorio (DBO como una función del tiempo) y con la aplicación del método se puede estimar la constante k y la DBO final (Ramalho, 1991).

Las lecturas reportadas, por el equipo Hach Respirimetric se muestran en la Gráfica 16, para la solución de Glucosa sembrada en diferentes volúmenes de 15, 30 y 45 ml así como dos blancos de inóculo para detectar alguna variabilidad en los resultados.



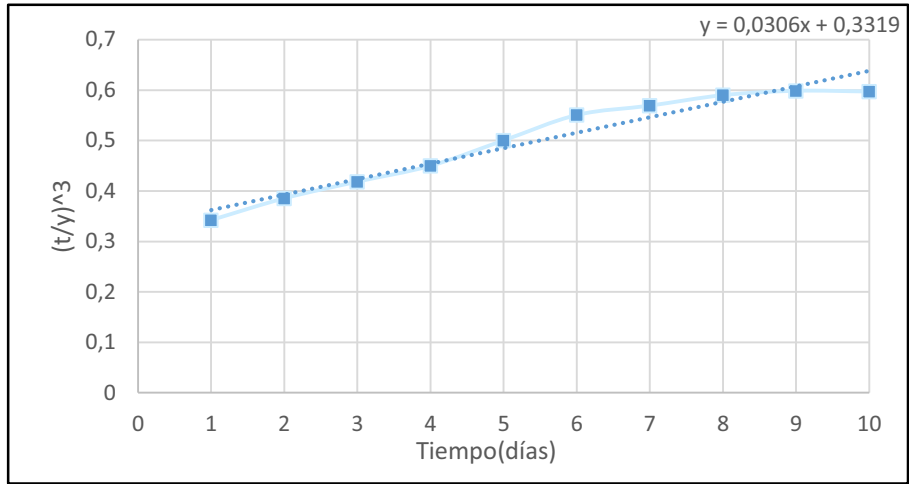
**Gráfica 16. DBO registrada por el equipo Hach durante los días de prueba. Glucosa**

Las lecturas del equipo registradas cada 24 horas (por día) se muestran en el gráfico 17, para cada volumen de muestra sembrada.

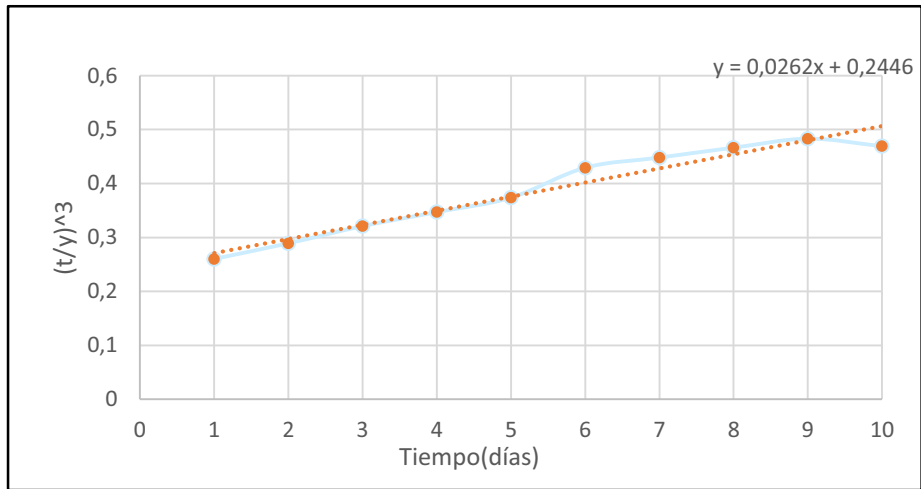


**Gráfica 17. DBO registrada por el equipo Hach cada 24 horas. Glucosa**

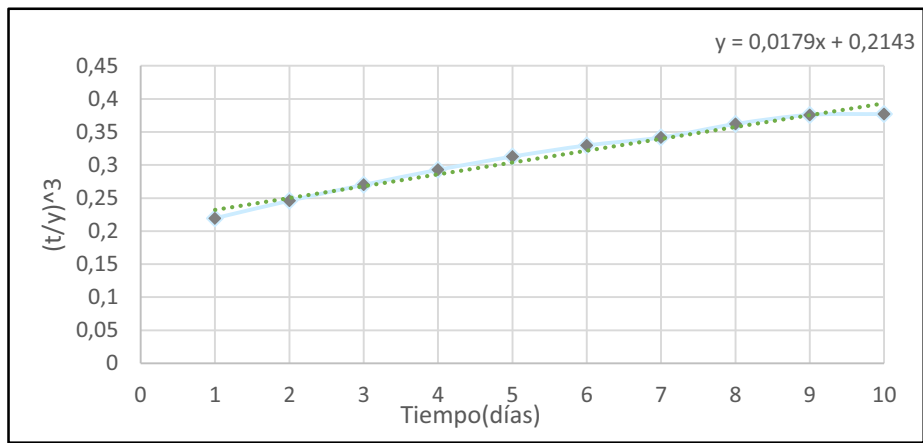
De acuerdo al método de Thomas los gráficos correspondientes a los diferentes volúmenes sembrados se presentan en las Gráficas 18, 19 y 20 respectivamente.



**Gráfica 18. Solución de Glucosa, siembra de 15 ml**



**Gráfica 19. Solución de Glucosa, siembra de 30 ml**



**Gráfica 20. Solución de Glucosa, siembra de 45 ml**



De acuerdo al método empleado las constantes de oxidación (K) y DBO total ( $L_0$ ) utilizando las lecturas del equipo respirométrico presentados en la tabla 15.

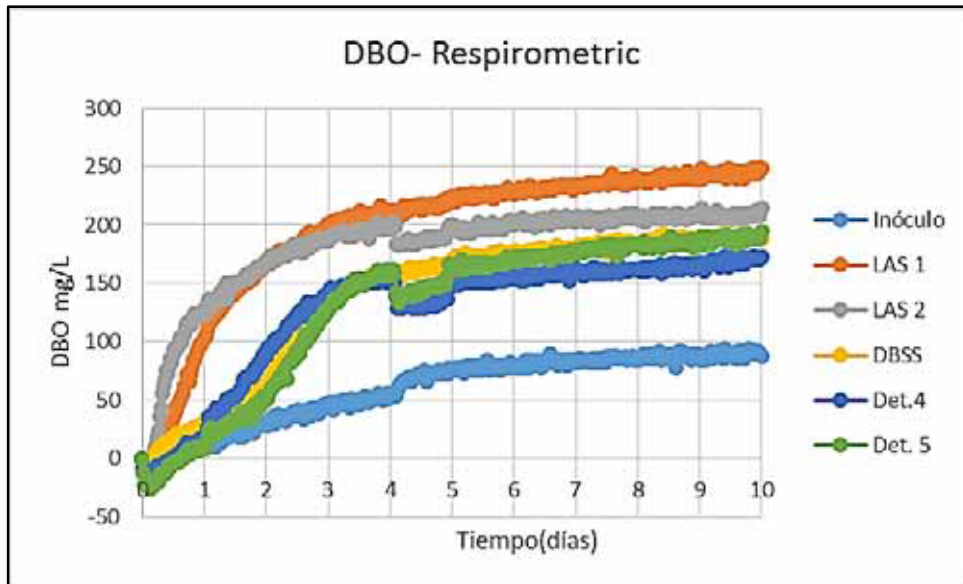
**Tabla 15. Cálculo de K y  $L_0$  de la solución de Glucosa**

Volumen de Glucosa	K ( $d^{-1}$ )	$L_0$ (mg/L)
15 ml	0.24	49.41
30 ml	0.27	106.27
45 ml	0.21	202.64

Después de valorar la solución estándar de Glucosa se procede a trabajar con las muestras de LAS y DBSS grado reactivo así como con los detergentes comerciales 4 y 5 seleccionados de las distintas muestras debido a que en su etiqueta contienen los tensoactivos LAS, DBSS respectivamente (Tabla 4) sembrados en frascos del equipo HACH Respirometric para su análisis en distintos volúmenes tal como se presenta en la tabla 16; los resultados de las lecturas del equipo por el método respirométrico se presentan en la gráfica 21.

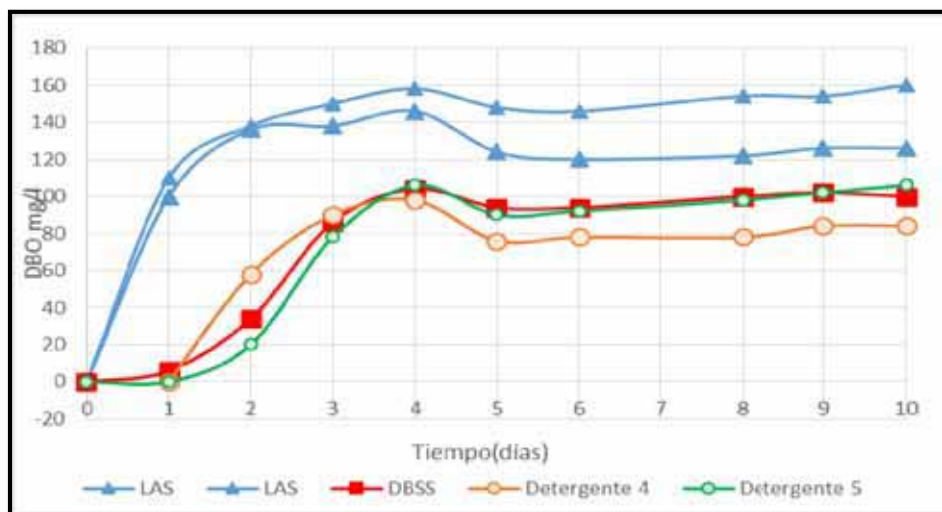
**Tabla 16. Volúmen de las muestras en el equipo Hach Respirometric**

Muestra	Vol. Agua de dilución	Vol. Inoculo ( Agua residual)	Vol. Muestra	Vol. Agua destilada	Vol. Total
Blanco	200	50	0	50	300
LAS	200	50	10	40	300
LAS	200	50	15	35	300
DBSS	200	50	10	40	300
Detergente 4	200	50	50	0	300
Detergente 5	200	50	50	0	300



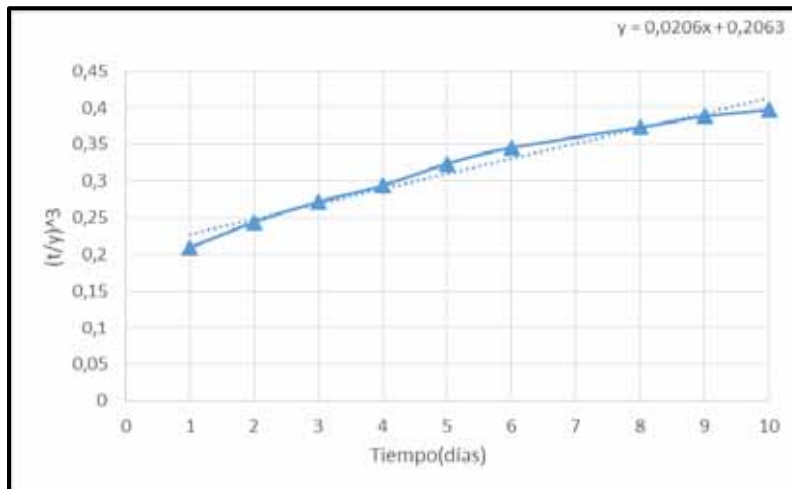
**Gráfica 21. DBO registrada por el equipo Hach Respiriometric en 10 días de prueba, LAS, DBSS, Detergente comercial 4 y Detergente comercial 5**

De acuerdo al análisis de las lecturas de DBO registradas cada 24 horas en un período total de 10 días gráfica 22, se concluye que los microorganismos tardan un período de 2 - 5 días para adaptarse a la substancia contaminante y comenzar a degradar, en este caso los detergentes comerciales preparados en soluciones estándar de 500 mg/L, de los resultados de este análisis se obtiene la constante de oxidación (K) de las muestras así como DBO última ( $L_0$ ) de acuerdo al método de Thomas.

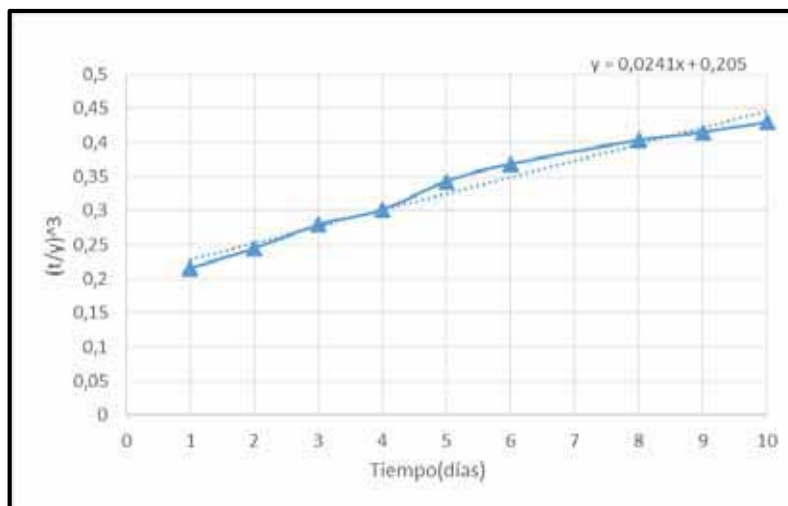


**Gráfica 22. Registro de resultados cada 24 horas, LAS, DBSS, Detergente comercial 4 y Detergente comercial 5**

Para el LAS se obtuvieron dos gráficas 23 y 24 de acuerdo a los dos volúmenes evaluados, ambas pruebas indican que es necesaria una adaptación del inóculo de 1 día para comenzar a degradar al contaminante.

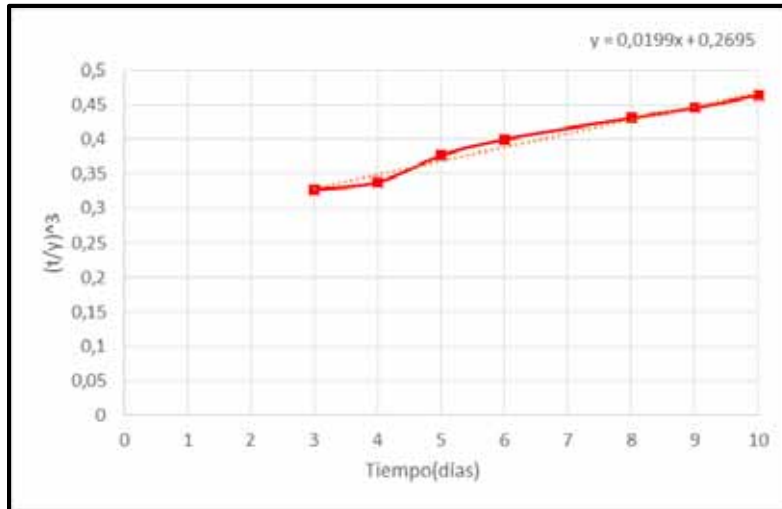


**Gráfica 23. LAS siembra de 15 ml**



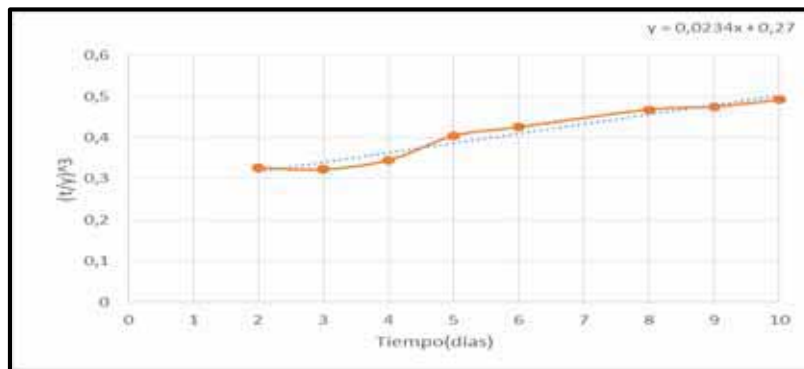
**Gráfica 24. LAS siembra de 10 ml**

Para el caso del DBSS se evaluó solo un volumen de muestra gráfica 25, en este caso el inóculo tardó 3 días para degradar al detergente grado reactivo.

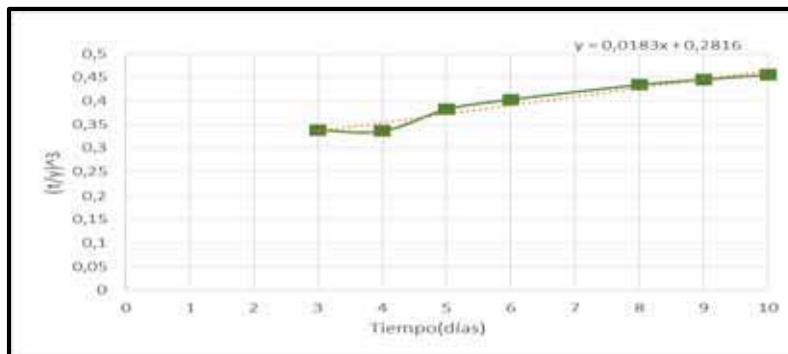


**Gráfica 25. DBSS, siembra de 10 ml**

Las muestras de detergentes comerciales 4 y 5 tarda 2 y 3 días para que se adapte el inóculo y comenzara a degradar al contaminante, las gráficas 26 y 27 muestra el análisis de resultados.



**Gráfica 26. Detergente comercial 4, siembra de 50 ml**



**Gráfica 27. Detergente comercial 5, siembra de 50 ml**

De acuerdo al método empleado las constantes de oxidación (K) y DBO última ( $L_0$ ) para cada una de las muestras evaluadas, utilizando los valores del equipo Respirométrico, se resumen en la tabla 17.

**Tabla 17. Cálculo de la K Y  $L_0$  para cada una de las muestras**

<b>Volúmen de muestra ml</b>	<b>Muestra</b>	<b>K (d<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>L_0</math> (mg/L)</b>
15	LAS	0.26	190
10	LAS	0.30	165
10	DBSS	0.19	115
50	Detergente 4	0.22	97
50	Detergente 5	0.17	114

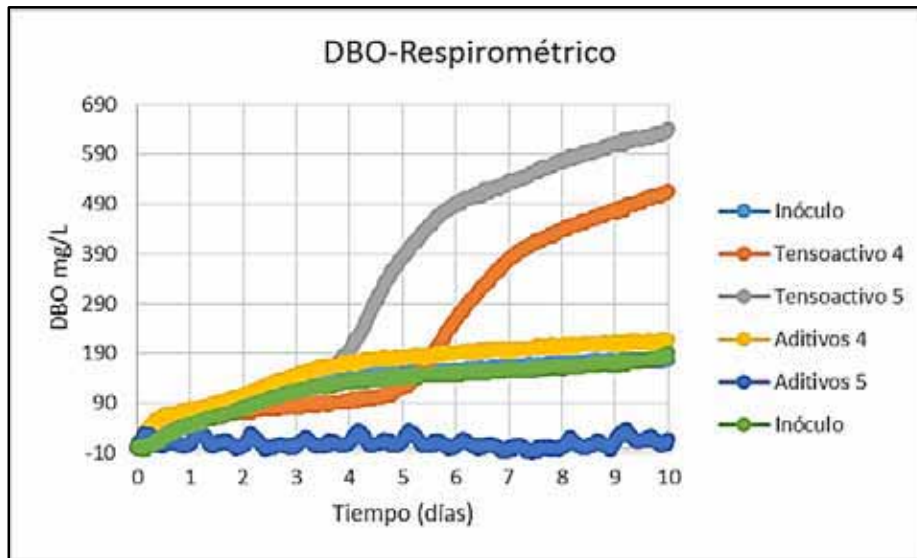
El análisis de resultados indica que el tensoactivo grado reactivo LAS es más biodegradable con una K promedio de  $0,28 \text{ d}^{-1}$ , respecto al DBSS con una K de  $0,19 \text{ d}^{-1}$ .

En el caso de las muestras comerciales 4 y 5 resulta más biodegradable la muestra 4 que la 5, con una K de  $0,22 \text{ d}^{-1}$  y de  $0,17 \text{ d}^{-1}$  respectivamente. Sin embargo, ambas muestras requirieron un período de adaptación de los microorganismos de 3 días. (Esto explica los bajos resultados de  $\text{DBO}_5$  con el método Winkler)

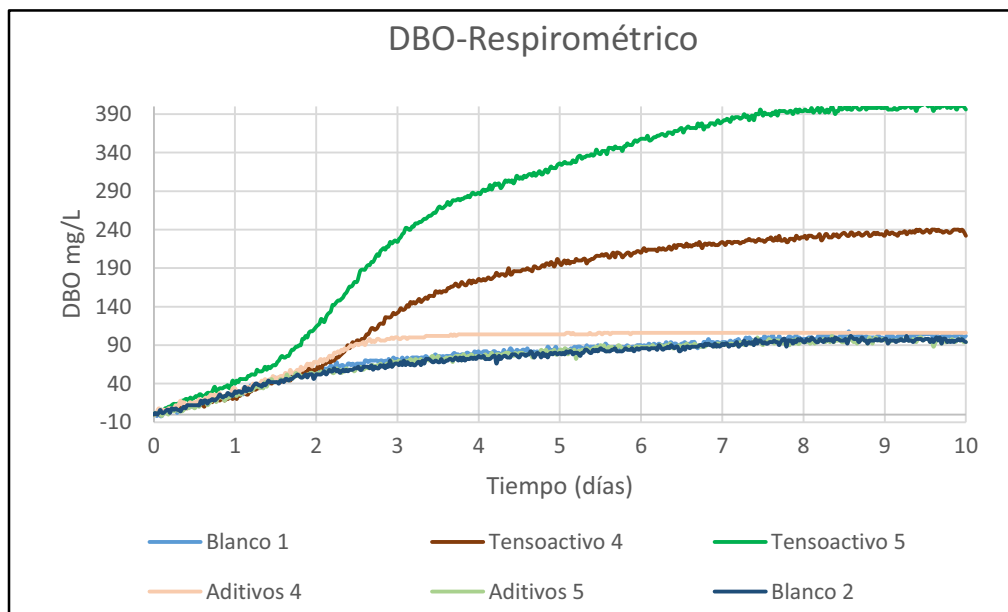
Pruebas de respirometría en tensoactivos y aditivos separados

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas a muestras comerciales 4 y 5 se procedió a valorar bajo el mismo método los tensoactivos separados de dichas muestras así como los aditivos con soluciones de concentración de 500 mg /L primer prueba y de menor concentración de acuerdo a la muestra en una segunda prueba (250 mg/L tensoactivos, 100 mg/L aditivos); con la finalidad de corroborar o descartar la posible inhibición que las muestras que pudieran causar a los microorganismos del inóculo utilizado

(Agua Residual PTAR Rosario) los resultados de las lecturas de DBO Respirimétrico se muestran en las gráficas 28 y 29 respectivamente.



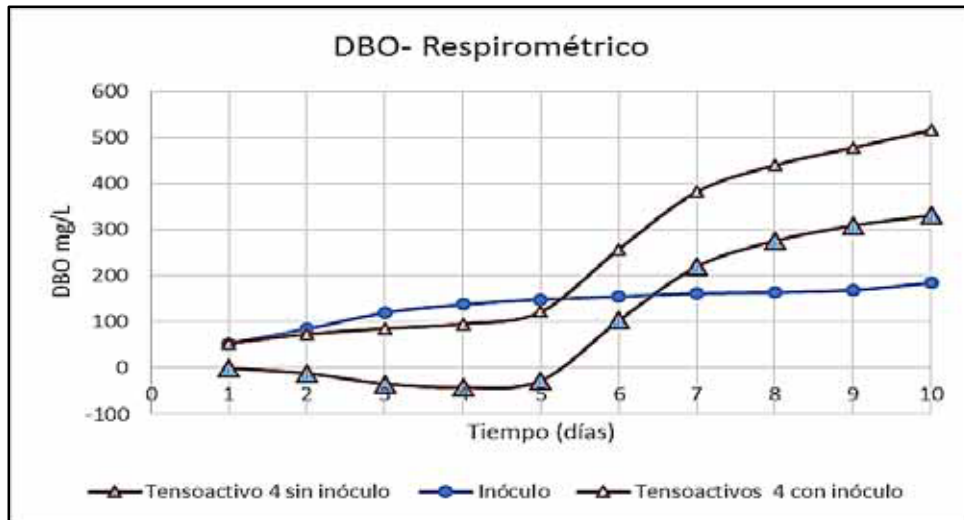
**Gráfica 28. DBO registrada por el equipo Hach Respirometric en 10 días de prueba, Tensoactivos 4 y 5, Aditivos 4 y 5 primer prueba con 500 mg/L**



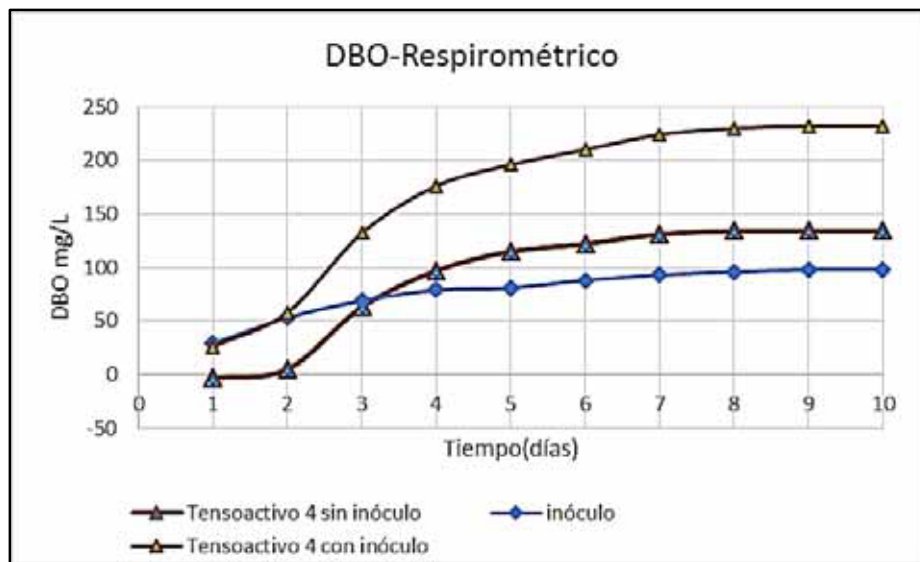
**Gráfica 29. DBO registrada por el equipo Hach Respirometric en 10 días de prueba, Tensoactivos 4 y 5 (250 mg/L), Aditivos 4 y 5 (100 mg/L) segunda prueba**

Para el análisis de las muestras se trabaja con las lecturas directas obtenidas por el equipo, en el estudio de los resultados se procedió a sustraer aritméticamente la DBO obtenida del inóculo con respecto a la DBO de la muestra evaluada esto con objeto de evaluar la

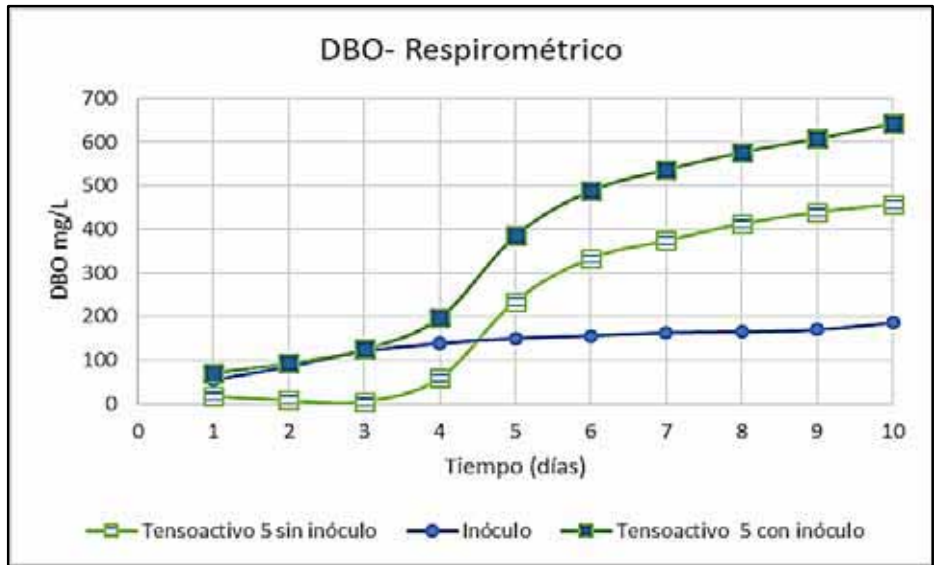
degradación de la muestra con y sin el inóculo sembrado, tal como se muestra en las gráficas 30 y 31 para el tensoactivo separado 4; 32 y 33 para el tensoactivo separado 5.



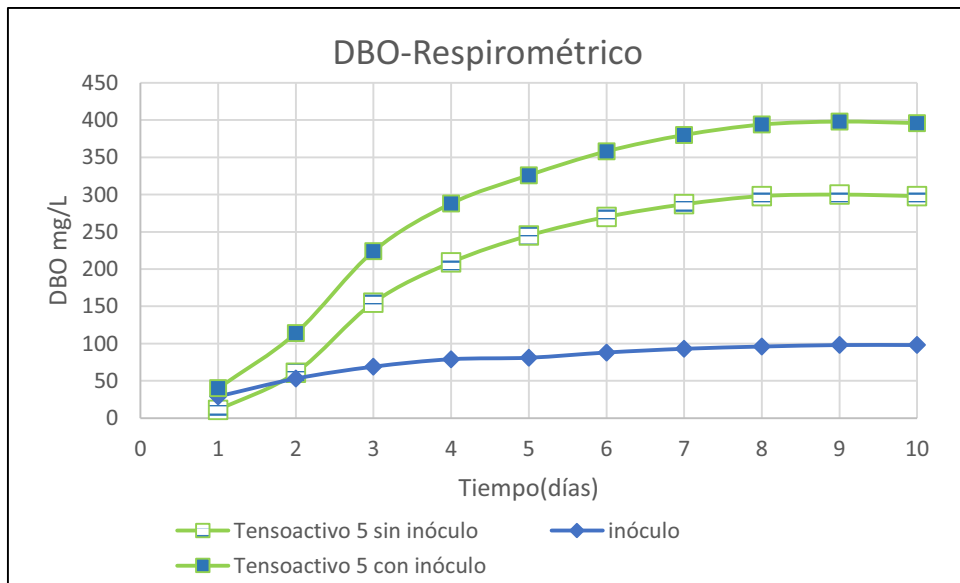
Gráfica 30. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Tensoactivo 4 con y sin inóculo solución de 500 mg/L



Gráfica 31. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Tensoactivo 4 con y sin inóculo en la segunda solución de 250 mg/L



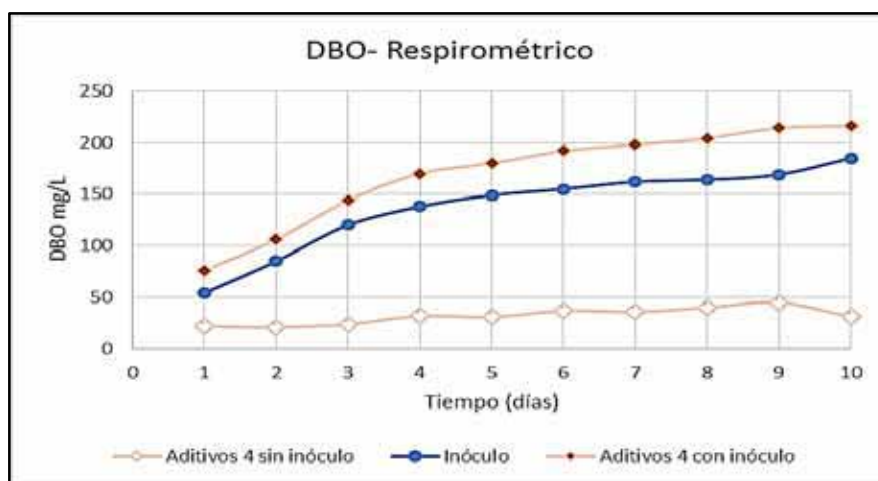
**Gráfica 32. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Tensoactivo 5 con y sin inóculo solución de 500 mg/L**



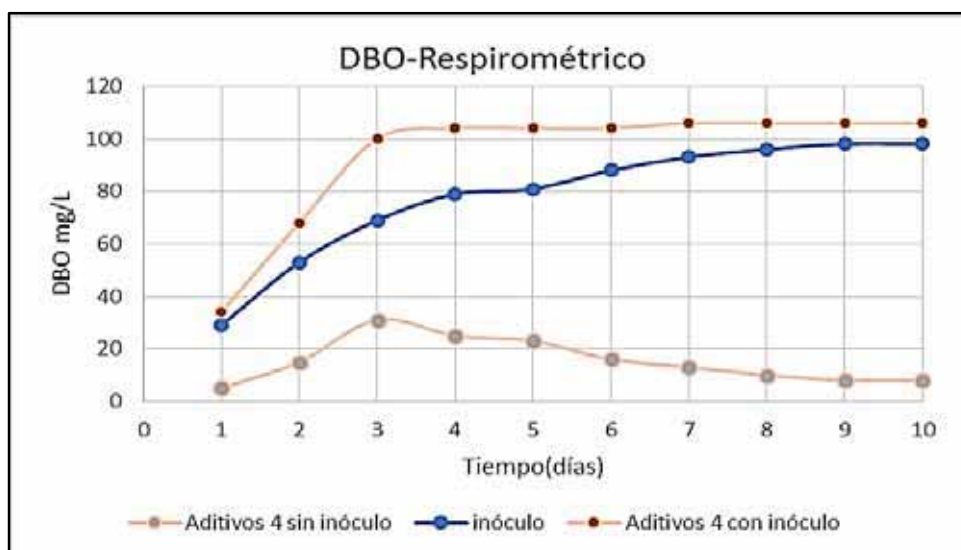
**Gráfica 33. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Tensoactivo 5 con y sin inóculo solución 250 mg/L**



El aditivo 4 la mejor degradación de la muestra se presentó en la primer prueba con una concentración de 500 mg/L tal como se muestra en el gráfico 34 debido a que no mostró inhibición del inóculo con una mínima diferencia de la demanda con respecto a la muestra, caso contrario para la segunda prueba realizada con una menor concentración de 100 mg/L, gráfico 35, donde la degradación alcanzó su punto máximo en el tercer día para posteriormente mantenerse constante.

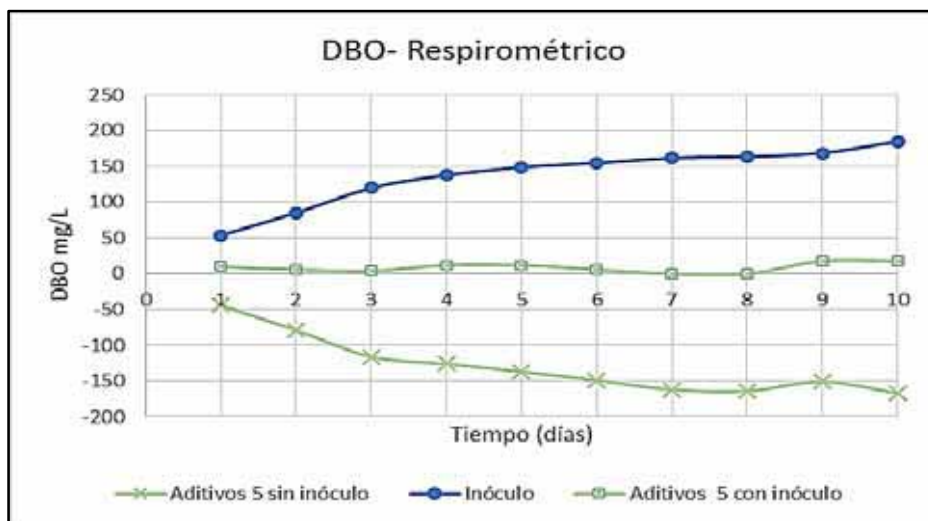


Gráfica 34. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Aditivos 4 con y sin inóculo solución 500 mg/L

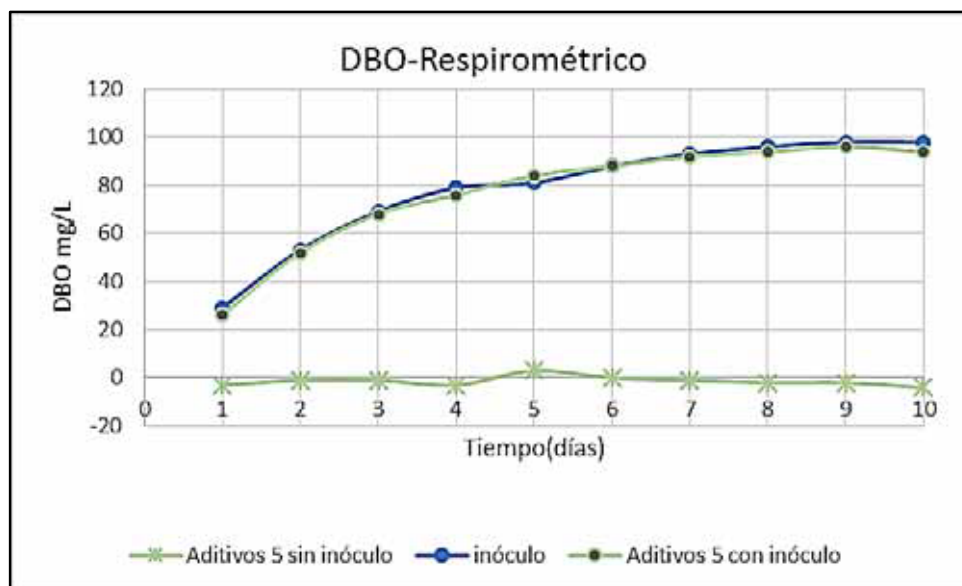


Gráfica 35. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Aditivos 4 con y sin inóculo solución 100 mg/L

Por el contrario el aditivo 5 durante la primer prueba con 500 mg/L concentración, gráfica 36, mostró una completa inhibición de los microorganismos presentes en el inóculo, siendo que con menor concentración 100 mg/L, gráfica 37, se mantuvo muy cerca a la demanda del inóculo no inhibiéndolo; lo que se concluye que los aditivos evaluados en ambas pruebas pueden considerarse como no fácilmente biodegradables.

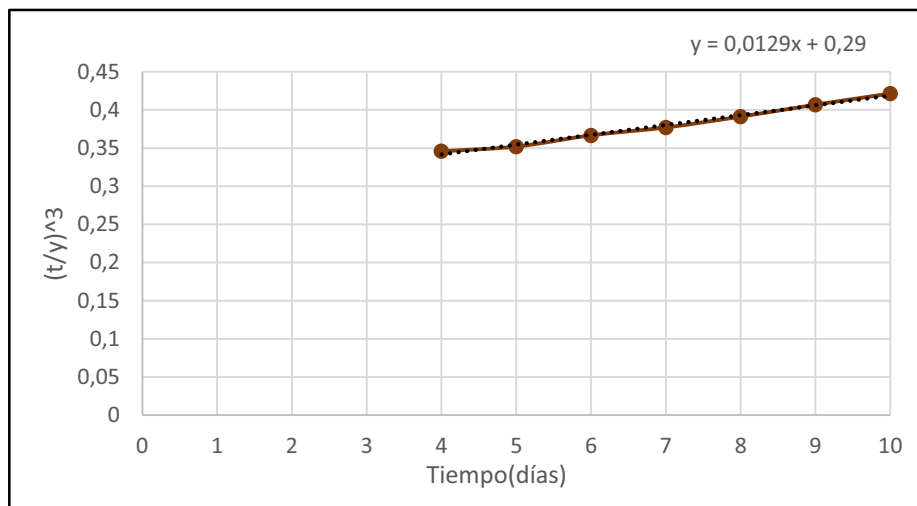


Gráfica 36. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Aditivos 5 con y sin inóculo solución de 500mg/L



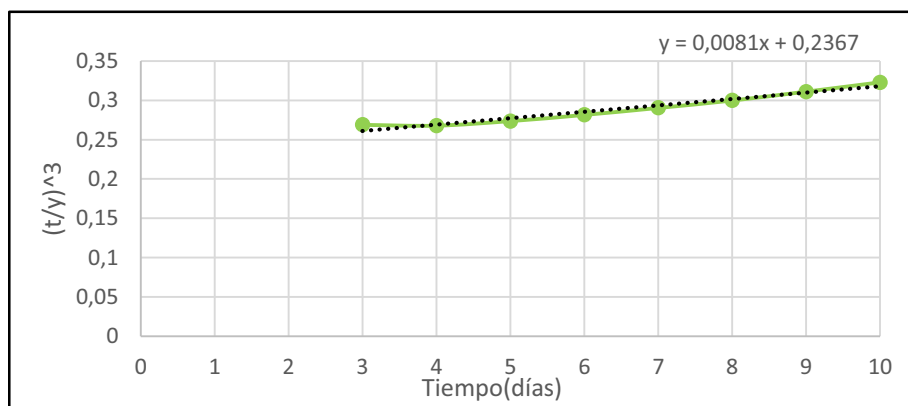
Gráfica 37. DBO reportada por el equipo Hach Respirometric para el Aditivos 5 con y sin inóculo solución de 100 mg/L

De acuerdo a los resultados de las pruebas realizadas para DBO por el método de respirometría, el tensoactivo separado 4 en una concentración de 500 mg/L el inóculo tardó un período de 5 días para adaptarse y comenzar a degradar la muestra, siendo que a una menor concentración de 250 mg/L el período de adaptación es de 24 h (1 día) aumentando la degradación de la muestra, se aplicó el método de Thomas para la segunda prueba resultado presentado en la gráfica 38, de donde se obtuvo una constante de oxidación de K de  $0,11 \text{ d}^{-1}$  y una  $L_0$  de 153 mg/L.



**Gráfica 38. Tensoactivo 4 concentración de 250 mg/L, siembra de 25 ml**

Para el caso del tensoactivo 5 los resultados mostraron que la muestra a una concentración de 500 mg/L la degradación se retrasó por adaptación del inóculo hasta el día 4 del período de la prueba, a una menor concentración 250 mg/L la adaptación es de tan solo 1 día; se aplicó el método de Thomas para la segunda prueba, gráfica 39, de donde se obtuvo una constante de oxidación de K de  $0,08 \text{ d}^{-1}$  y una  $L_0$  de 367 mg/L.



**Gráfica 39. Tensoactivo 5 concentración de 250 mg/L, siembra de 25 ml**

## VI. Conclusiones

Los resultados de esta tesis permiten derivar las siguientes conclusiones en cuanto a la toxicidad y biodegradabilidad de los detergentes de las muestras estudiadas:

- Para los tensoactivos grado reactivo LAS y DBSS se encontró que el DBSS es el más tóxico, tanto en el crecimiento de la radícula de las semillas de lechuga *Lactuca sativa var. Butter crunch*, como en las pruebas de respirometría en microorganismos de lodos activados, lo que indica que el DBSS puede llegar a afectar el proceso biológico de lodos activados en el tratamiento de agua residual.
- Los tensoactivos grado industrial, denominados D1 y D2, presentaron la estructura química del DBSS, con resultados muy similares a los tensoactivos grado reactivo en cuanto a toxicidad en semillas de lechuga y en lodos activados.
- El perfil cinético de la DBO con pruebas de respirometría muestra la necesidad de un período de adaptación de los microorganismos a los tensoactivos LAS y DBSS, a partir del cuarto día los resultados dan constantes de oxidación con valores de  $k$  0,23  $d^{-1}$  y  $k$  0,15  $d^{-1}$  para LAS y DBSS respectivamente, por lo tanto el LAS es más biodegradable que el DBSS, en su presentación grado reactivo.

Para los detergentes en su formulación comercial, denominados D3, D4 y D5, con sus respectivos tensoactivos T3, T4 y T5, y aditivos A3, A4 y A5, se tienen las siguientes conclusiones:

- Las pruebas de fitotoxicidad de los detergentes comerciales D3, D4 y D5 resultaron ser más tóxicos que los tensoactivos de cada uno T3, T4 y T5, lo cual indica que los aditivos que contienen son inhibidores del crecimiento de las semillas.
- La toxicidad en lodos activados fue importante para los detergentes D4 y D5 ya que a bajas concentraciones, de 2,71 a 7,48 mg/L respectivamente, inhiben el 50% de la respiración de la población de los microorganismos presentes en los lodos activados. Este problema se puede presentar en el tratamiento biológico de las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas originado por la presencia de detergentes comerciales debido a su amplio consumo. En cuanto al detergente

D3 resulta menos tóxico ya que es necesaria una concentración muy alta, de 254 mg/L, para causar el mismo efecto.

- Respecto a la biodegradabilidad de los detergentes comerciales las relaciones de DBO<sub>5</sub>/DQO resultaron bajas de 0,035 a 0,1, por lo que este parámetro demuestra que los detergentes comerciales estudiados no son biodegradables. Estos resultados se confirmaron con pruebas de DBO por respirometría durante un período de 10 días y la baja biodegradabilidad se explica por la necesidad de un período de adaptación de los microorganismos para iniciar la degradación del sustrato, este período es importante ya que va de 3 a 4 días.
- Las tasas de degradación para los detergentes D4 y D5 y sus tensoactivos T4 y T5, muestran que el período de adaptación está relacionado con la concentración del sustrato y puede variar de 1 a 4 días. Por otra parte, los aditivos A4 y A5 resultaron ser no biodegradables.

En general, se confirma que de acuerdo a las pruebas de toxicidad en semillas de lechuga *Lactuca sativa* var. *Butter crunch*, así como a las pruebas de velocidad de consumo de oxígeno en microorganismos de lodos activados y a las pruebas de biodegradabilidad aplicadas, los detergentes comerciales estudiados en esta tesis, con tensoactivos aniónicos y sus diferentes aditivos, resultan tóxicos al medio ambiente y presentan muy poca biodegradabilidad.

## V.II. Referencias

- Abel PD. (1974). Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. *J Fish Biol.* 6. pp 279-298
- Albert A.L. (2008). Curso básico de toxicología ambiental. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. 2 Edición. México.
- Altieri M.A; Letourneau D.K. (1982). Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop Protect.* 1. pp 405-430
- Alexander J.(2012). Estudio de la biodegradabilidad 2,5 Diclorofenol después del tratamiento con los procesos de oxidación avanzada de oazo y radiación ultravioleta. Tesis de Maestría.División de Ciencia Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma Metropolitana. México. pp 91
- Ankel GT; Burkhard LP. (1992). Identification of surfactants as toxicants in a primary effluent. *Environ Toxicol Chem.* 11. pp 1235- 1248
- Ashton F.M; Crafts A.S. (1981). Mode of Action of Herbicides.Wiley-Interscience. NY.
- Asok AK. (2011). Bioremediation of the anionic surfactant linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by *Pseudomonas* sp. Isolated from soil.PhD thesis.Mahatma Gandhi University Kottayam. India. 192
- American Public Health (APHA) (2005).Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater.United States of American. 21° Edition.Centennial Edition. AWWA
- Baud-Grasset.F; Baud-Grasset.S. y Safferman S.I. (1993). Evaluation of the Bioremediation of a Contaminated soil with Phytotoxicity Test.*Chemosphere.*26 (7). pp 1365-1374
- Bailón R. (2003). Ingeniería del conocimiento y Vigilancia Tecnológica Aplicada a la Investigación en el Campo de los tensoactivos. Desarrollo de

un Modelo Ciencimétrico Unificado.Tesis Doctoral. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Granada. España.

- Berna J.L; Cavalli; C. Renta. (1995). A life –Cycle Inventory for the Production of Linear Alkylbenzene Sulphonates in EUROPA. Tenside Surf. DET. 32 (2) pp 122-127
- Berry C.R. (1984). Toxicity of the herbicides diquat and endothall to gold fish. Environ.Pollut (Ser.A)34. pp 251-258
- Bohórquez P.e; Campos C.P. (2007). Evaluación de Lactuca sativa y selesnastrum capricornutum como indicadores de toxicidad en aguas. Bogotá. Colombia. Universitas Scientiarum. Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología.vol.2. pp 83-98
- Browsers.A.R;Gaddipati.p;Eckenfelder.W.W;Monsen.R.M.(1989).TREATMET of Toxic or Refractory Wastewaters with Hydrogen Peroxide.Wat.Sci.Tech.21. pp 477-486
- Bulus R.G.D; Díaz B.M.C; Pica G.Y.(2006). Aseguramiento y control de calidad de bioensayos .6.pp 132
- Castillo M.G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. estandarización. intercalibración. resultados y aplicaciones. México: IMTA. 4.pp 54.
- Coello O.M<sup>a</sup>.D. Sales M.D; Quiroga A.J.M<sup>a</sup>. (1998). Influencia del tensoactivo aniónico (LAS) sobre la actividad de los microbita de los lodos activados. Ingeniería del Agua. Vol.5 Num.4. pp 13-20.
- Cornelia G; Domogala G.Agnoli ;. Pagga U; Strotmann J.U.(2003). Evaluation and further development of the activated sludge respiration inhibition test.CHEMOSPHERE 52 pg. 143-149

- Dickman M., Prescott C; Kaiser K.L. (1983). Variations in the aquatic vegetation of the Welland River (Ontario, Canada) above and below an industrial waste discharge. *Great Lakes Res.* 9. pp 317-325
- Dorado. A.P. (1996). Detergentes. (1° Edición). Universidad Nacional de Educación a Distancia. Lerko Print. S.A. Madrid .España.
- De Wolf.W y Feijtel.T. (1988). Terrestrial risk assessment for linear alkyl benzene sulfonate (LAS) in sludge –amended soils. *Chemosphere* 36 (6) pp 1319-1343
- Drachev G., Semiletova I. y Kovarskii N. (1994). Detergency of non-ionic surfactants in hydrophobic washing compositions. *Colloid Journal* 56 (1) pp 34-35
- Edwards P. y Knepper T. (1999). Investigations on the metabolism of alkylpolyglucosides and their determination in waste water by means of liquid chromatography- electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 854: pp 221-232
- Estrada, C; Macarie, H; Takayuki, M; Rodriguez, R. y Poggi, H. (2001) Resistencia a la exposición al oxígeno de lodos anaerobios suspendidos. *Interciencia*, , 26 (11), 547-553.
- Fortunato. S. María; Rossi Susana Korolsonia y D'Aquino Miguel (1998). Eficiencia de la degradación microbiana de tensoactivos: Algunos Factores Condicionantes. Cátedra de Higiene y Sanidad. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.
- Freemark K; Boutin C. (1994). Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes; A review with special reference to North America. *Agric. Ecosyst. Environ*



- Frieberg S; Al-bawab. A.y Sandburg J. (1999). Phase behavior of a fragrance compound system: water/ phenethyl alcohol/laureth 4/glycerol. *Journal Surfactants Detergence* 2(2) : pp 159-165
- García G.V; Sánchez M.J.C; Pacheco S.V.F; Avila G.C.J; Pavon S.T y Guerrero G.P(2006). Respuestas de toxicidad de bioensayos empleados en la evaluación de aguas residuales de la industria . Facultad de Química . Universidad del Estado de México .Toluca .México. Congreso Internacional y Nacional de Ciencias Ambientales. Junio.Morelos. México.
- Ginkel G.C. (1996). Complete degradation of xenobiotic surfactants by consortia of aerobic microorganisms. *Biodegradatio*.7.pp 151-164
- Gutiérrez M.A.D. (2012). Evaluación de la biodegradabilidad del detergente base. Proyecto Terminal. División de Ciencias Básicas e Ingeniería. UAM Azcapozalco.
- Hedreul C. y Frens. G. (2001). Foam stability. *Colloids and surfaces A- Physicochemical and Engineering Aspect* 186(1-2) pp 73-82
- Heinze J.E y Britton L.N. (1994) Anaerobic Degradation. *Environmental Relevance. 3° World Conference on Detergent*.A.Cahn.AOCS. pp 235-239. Champaign. USA.
- Holmberg K. (2001). Natural surfactants. *Current Opinión in colloid & Interface Science* 6(2) pp 148-159
- Holt M.S y Bernstein S.L (1992). Linear alkylbenzenes in sewage sludges and sludge amended soils.*Water Res.*. 26. pp 613-624
- Holt M.S y Matthijs E.(1989). The concentrations and fate of linear alkylbenzene sulphonate in sludge amendedsoil. *Water Res.*. 23.pp 749-759
- Huddleston R.L. y Allred R.C. (1963). Microbial oxidation of sulfonated alkylbenzenes. *Dev.Ind.Microbial*. 4.pp 24-38.

- Iannacone J.A; Salazar C.N. y Alvarino L. (2003). Variabilidad del ensayo ecotoxicológico con *Chironomus calligraphus goeldi* (Diptera: Chironomidae) para evaluar cadmio, mercurio y plomo. *Ecol. Aplic.* 2. pp 103-110
- Iannacone J. y Alvarino L. (2002). Efecto del detergente doméstico alquilarsulfonato de sodio líneas (LAS) sobre la mortalidad de tres caracoles dulceacuícolas en el Perú. *Ecol. Aplic.* 1. pp 81-87
- Itria R.F. Luppi. L.I. & de Tullio L.A. (2002). Estudio comparativo de ensayos de biodegradabilidad. *J. de Desarrollo e Innovación* (4). pp 1-2
- ISO 8192 (2007). International Organization for Standardization. Water quality – Test for inhibition of oxygen consumption by active sludge for carbonaceous and ammonium oxidation. ISO
- Karsaand D.M. y Porte M.R. (1995). Biodegradability of surfactants. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hall. London. UK.
- Knaebel D.B; Federle T.W; Vestal JR. . (1990). Mineralization of linear alkylbenzene sulfonate LAS and linear alcohol ethoxylate Ž. ŽLAE in 11 contrasting soils. *Environ Toxicol Chem*;9: pp 981-988.
- Kimerle R.A. y Awisher R.D (1977). Reduction of aquatic toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by biodegradation. *Water Research* 11: pp 31-37
- Krstich M.A. and Schwartz O.J. (1990). Characterization of xenobiotic uptake utilizing an isolated root uptake test (IRUT) and a whole plant uptake test (WPUT) ATSM STP 1091. American Society for Testing and Materials. Philadelphia. pp 87-96
- Lechuga M.M. (2005). Biodegradación y toxicidad de tensoactivos comerciales. Tesis Doctoral. Facultad de ciencias. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

- León M.V; Gómez P.A. y González M.E. (2004). Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates in sweater. *Environ Sci. Technol.* 38. pp 2359-2367
- León L.M.A. (2006) .Efecto toxicológico de los detergentes biodegradables en la trucha “Arco Iris” *Oncorhynchus My kiss* (Walbaum. 1792). en el centro piscícola “EL Ingenio “- Huancayo .Tesis .Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos .Lima Perú
- Litz N. Doering HW y Thiele M. Blume H-P. (1987). The behaviour of linear alkylbenzenesulfonate in different soils: a comparison between field and laboratory studies. *Ecotoxicol Environ Saf*; 14:pp 103-116.
- Manzano M.A; Perales J.A. Sales. D y Quiroga J.M. (1999). The effect of temperatura on the biodegradation of nonylphenol polyethoxylate in river water. *Water Research.* 33(11) pp 2503-260
- Nishigaki. A.; C. Kuroiwa y M. Shibukawa. (2004). Characterization and Determination of Linear Alkylbenzenesulfonates in Enviromenral Water Samples by High- Performance Liquid Chromatography with a Hydrophilic Polymer Column and Electrospray Ionization Mass Spectrometric Detection. *Analyt. Scien.* 20: pp 143-147
- OECD 209 (2010). Guideline for testing of Chemicals “Activated Sludge. Respiration Inhibition Test (Carbon and Ammonium Oxidation)”
- OECD (1992). Guidelines for the Thesting of chemical. Organisation for Economic Cooperation and Devepeloment. París, Francia.
- Oliveira A.C; Araujo C.V.M; Nascimento B.R; Strotmann J.U. y Silva M.da E.(2007). Utilisation of Respirometry to Asses Organic Matter Reduction of Effluents from the Camacari Industrial Complex (BA. Brazil) *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal.* vol.50 pp 311-319

- Olusola A.Ojo y Oso A.B. (2009). Biodegradation of synthetic detergents in wastewater. *African Journal of Biotechnology*. 8 (6).pp1190-1109
- ÖZLEM KARAHAN (2010). Inhibition effect of linear alkylbenzene sulphonates on the biodegradation mechanisms of activated sludge. Istanbul Technical University. Environmental Engineering Department. *Maslak*. Istanbul. *Biosource Technology*. 101. pp 92-97.
- Perales. J.A. (2001). Variabilidad de la biodegradación y toxicidad de compuestos xenobios en el medio marino. Aplicación a lineal alquilbencenosulfonatos en aguas del golfo de Cádiz. Tesis doctoral. Departamento de Ingeniería Química Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente. Universidad de Cádiz
- Peraza R.G. y Delgado B.V.H (2012). Determinación de la concentración letal media CL<sub>50</sub> de cuatro detergentes domésticos biodegradables el *Laeonerisculveri* (WEBSTER 1989) (POLYCHAETA: ANELIDA). División de Ciencias e Ingeniería. Universidad de Quintana Roo .*Rev. Int. Cont. Amb.*
- Petterson A; Adamsson M. y Dave G. (2000). Toxicity and detoxification of Swedish detergents and sostener products. *Chemosphere* 41. 1611-1620
- Petersen. G.; D. Rasmussen. K. Maenpaa; T. Kallqvist; T. Madsen y J.V.K Kukkonen. (2003). Transport and fate of surfactants in the Aquatic Environment. Nordtest. NT Project N° 1570-02. NT Technreport.524.48
- Pinto V.L.C (2009). Determinación de inhibición media (CE<sub>50</sub>) de cromo para la semilla *Lactuca Sativa L.* Mediante ensayos de toxicidad en la ciudad de Bogotá. Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria.
- Polaco M. E. (2012). Biodegradabilidad e inducción a la biodegradabilidad de detergentes líquidos. Tesis de grado. Facultad de Química. Universidad Autónoma de México.

- Ponznyak T. Tapia R. , Vivero J y Chairez I.(2006). Effect of pH to the decomposition of aqueous phenol mixture by ozone.J.Mex.Chem.Soc. 50(1). Pp 28-35.
- Prieto N., Lilienthal W. y Tortorici P.(1996). Correlation between spray clearing detergency and dynamic surface tension of non-ionic surfactants. The journal of the American Oil Chemists´ Society 73(1) pp 9-13
- Quesada I. Jáureguil U. y Menéndez C. (2001). Empleo de la respirometría en la determinación de la inhibición provocada sobre lodos activados por sustancias tóxicas.Tecnología del Agua. 219. pp 28-33
- Qing Y; Zhang G; Kang B. y Zhao Y.(2005). Primary Aerobic Biodegradation of Cationic and Amphoteric Surfactants. Journal Surfactants and Detergents. 8.1. pp 55-58.
- Ramalho R.S. (1991). Tratamiento de aguas residuales. Barcelona: Reverte S.A de C.V
- Rebello S.. Asok K.A..Mundayoor S. y Jisha M.S. (2014) Surfactants: toxicity. remediantion and Green surfactants. Environ Chem Lett. 12. pp 275-287
- Reglamento (CE) 1336/2008. Clasificación. Etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008. Diario Oficial de la Union Europea.
- Ribeyre F. y Boudou A. (1990). Bioconcentration of mercury compounds in two aquatics plants (*Eldoea densa and Ludwigia natans*): Actions and interactions of four abiotic factors. ASTM STP 1091.American Society for Testing and Materials. Philadelphia. pp 97-113
- Rodríguez B.O. (2013). Tesis Doctoral: Comportamiento Ambiental de Contaminantes Químicos. Metodología analítica y estudios de modelización. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Departamento de Química Analítica. Granada. España.

- Rodríguez M.T., García M.M., Hernández P.N.M y Fernández N.M. (2006). Toxicidad aguda de lixiviados acuosos mediante un ensayo con *Lactuca sativa* L. .Hig.Sanid.Ambient.(6)170-172
- Romero J.A. (1996). Acuequímica. Presencia. Santa Fe de Bogotá.56
- Sánchez O.K.A; Sánchez M.L.M. (2009). Determinación de la concentración de inhibición media (CE<sub>50-120</sub>) del Bario. Hierro y Manganeso mediante bioensayos de toxicidad acuática sobre semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria.
- Sawyer C.N. MCCARTY. P.L.PARKINI. G.N. Química para ingeniería ambiental. Cuarta Edición : Mc Graw Hill
- Sawadogo B; Sou M; Hijikata N ; Sangare D; Maiga A.H. y Funamizu N.(2014). Journal of Arid Land Studies. 24. 1. pp 117-120
- Serrano V.W.A.(2006). Bioensayo semillas de lechuga. Ingeniería Sanitaria
- Schoberl P; Bock KJ; Huber L y Okologisch. (1988). Relevante daten von Tensiden in wasch- und reinigungs-mitteln. Tenside Surfact Deterg; 25:pp 86-98.
- Scott J.M y Jones M.N. (2000). The biodegradation of surfactants in the environment. Biochimica et Biophysica Acta 1508. pp 235-251
- Surerus V; Teixeira L.A.C.y Giordano G. (2014). Activated Sludge Inhibition Capacity Index.Brazilian Journal of Chemical Engineering. vol.31 pg. 385-392
- Swisher R.D. (1987). Surfactant biodegradation (2° Edición). Marcel-Dekker Inc. Nueva York. E.E.U.U.
- Swisher R.D. (1963). Transient intermediates in the biodegradation of LAS.Water Poll.Control Fed. 35; 1557-1564.

- Temara A., Carr G; Webb S; Versteeg D. y Feijtel T. (2001). Marine risk assessment: linear alkylbenzenesulfonates (LAS) in the North Sea. *Mar. Poll. Bull.* 8. 635-642
- Thomas O.R y White G.F.(1989). Metabolic pathway for the biodegradation of sodium dodecil sulfate by *Pseudomonas* sp.C12B.*Biotechnol Appl Biochem.* 11. pp 318-327
- Varó P. J. (1996). Contribución al estudio sobre el comportamiento ambiental y degradación de jabones. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. Alicante. España. 282
- Vázquez R.G.A. y Beltrán H.R.I. (2004). Pruebas Normalizadas para la Evaluación de la Biodegradabilidad de sustancias Químicas. *Interciencia.* vo. 29n°10 pp 568-573
- Verma S. y Kumar V.(1998). Relationship between oil-water interfacial tensión and oily soil removal in mixed surfactants system. *Journal of colloid and Interface Science* 207(1). pp 1-10
- Wang W. y Freemark K. (1995) The Use of Plants for Environmental Monitoring and Assessment. *Ecotoxicology and environmental safety.* 30. pp 289-301
- Waters J.; Holt M.S; Matthijs E.( 1989). Fate of LAS in sludge amended soils. *Tenside Surfactant Deter.* 26 . pp 129-135
- Wlohers J. Koh I.Wolfram T. y Wolfgang R.(2009). Application of air ionization device using an atmospheric pressure corona discharge process for water purification. *Water Air Soil Pollut*, 191,pp 101-114.
- Zhi Wang; Bangding Xiao; Lirong Song; Xingqiang Wu.; Junqian Zhang y Chunbo Wang (2011) effects of microcystin-Lr. linear alkylbenzene sulfonate and their mixture on lettuce (*lactuca sativa*) seeds and seedlings.*Ecotoxicology.* 20. pp 803-814.

- Yoshioka. Y; Nagase. H; Ose. Y. y Sato. T. (1986). Evaluation of the Test Method "Activated Sludge. Respiration Inhibition Test" Proposed by the OECD. Ecotoxicology and Environment al Safety. 12. pp 206-212

**Paginas consultadas**

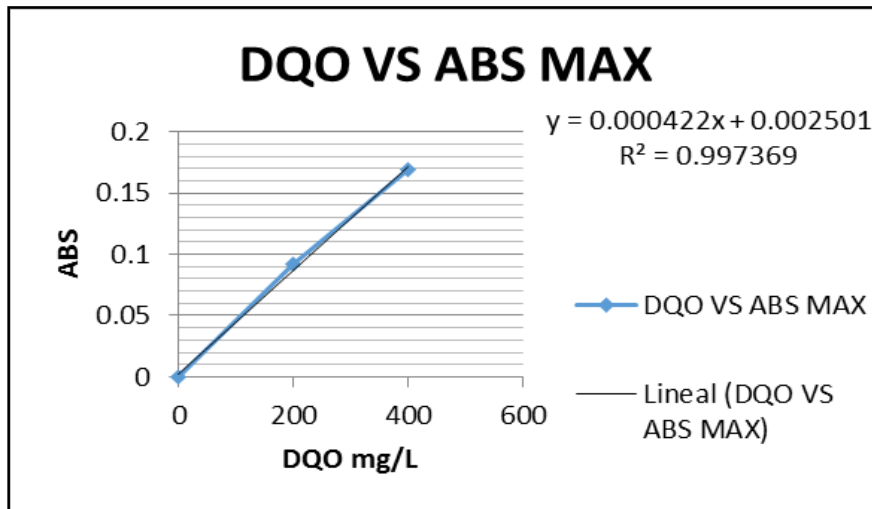
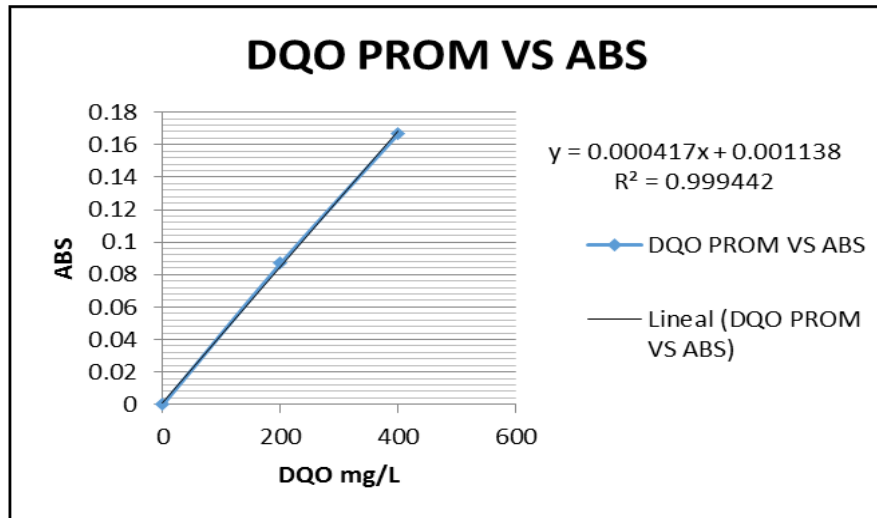
<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/proyectos/censos/ce2009/default.asp?s=est&c=14220.5> de marzo 2014 .11:40 pm



Anexo 1.- Curva de calibración de DQO- Método Colorimétrico

**5220 D Método colorimétrico reflujo cerrado.**

Se determinó la curva de calibración del estándar ftalato hidrogeno de potasio (KHP). Se prepararon 3 patrones de la solución que oscilaron entre 0 y 200 mg O<sub>2</sub>/L y se hicieron por duplicado. obteniéndose los siguientes resultados:



Se obtiene la recta de la pendiente de la gráfica con los promedios ya que el error pequeño que la gráfica con los valores máximos teniendo:

$$y = 0.000422x + 0.001138$$
$$R^2 = 0.999442$$

La ecuación de la recta sirve para obtener la concentración de DQO de las muestras a partir de la fórmula:

$$DQO \frac{mg}{l} = \frac{abs - b}{m}$$

Donde:

ABS= absorbancia de la muestra

b= ordenada al origen

m=pendiente

Anexo 2.-Carta Control-Valoración de germinación de la semilla Lactuca sativa

Prueba:	blanco																									fecha de inicio :	14/05/2014			
Muestra:	1																									fecha de terminación :	19/05/2014			
		longitud de la raíz																												
MUESTRA	CONCENTRACION																									DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL mm	% germinación	% inhibición
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20									
1	0	7.2	9.6	6	7.5	7.3	3.9	5.6	7.6	6.7	5.9	8.8	2.4	3.3	7.6	2	2.9	0.8	1.1	1.3					4.875		95	10		
2	0	6.9	7.4	8	8.5	7.6	8.4	7.5	7.6	8.9	7.6	9.7	4.7	5.7	2.2	6.2	1.9	2.1	1.3						5.61	4.87	90	10		
3	0	5.8	10.6	9.4	4.5	1.5	1.5	1.5	1	0.7	1.2	2.2	6.5	9.5	7.2	8.6	1.2	1.4	3.4	5.2					4.145		95	10		

Anexo 3.-Carta Control-Tóxico de referencia prueba de fitotoxicidad

Prueba:	cloruro de zinc																					fecha de inicio :	27/06/2014			
Muestra:	por triplicado																					fecha de terminación :	02/07/2014			
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	longitud de la raíz																				DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	%	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				germinación	inhibición
1	12.5	0.4	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.4	0.3	0.4	0.2	0.1	0.1	0	0	0	0	0	3.234834	0.2133333333	0.32374	95	55.4963
		0.4	0.3	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.1	0.5	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.1	0.3	0.2	0.4	0	4.284891	0.336842105		95	
		0.5	0.8	0.5	0.5	0.7	0.4	0.8	0.3	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0	4.263006	0.421052632		85	
2	13.5	0.3	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5	0.4	0.5	0.5	0.6	0.4	0.4	0.2	0.3	0.4	0.4	0	0.1	0.5	0.2	4.282161	0.39	0.35807	100	50.7774
		0.5	0.6	0.5	0.7	0.4	0.5	0.3	0.5	0.2	0.2	0.3	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0	4.068485	0.389473684		95	
		0.4	0.5	0.6	0.5	0.3	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0	4.087682	0.294736842		95	
3	14.6	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5	0.7	0.5	0.5	0.3	0.5	0.5	0.5	0.4	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0	4.057767	0.442105263	0.37008	90	49.1267
		0.3	0.2	0.4	0.3	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0	4.09043	0.273684211		90	
		0.6	0.5	0.4	0.5	0.5	0.3	0.5	0.4	0.3	0.5	0.4	0.5	0.4	0.2	0.2	0.2	0.4	0.3	0	0	3.853891	0.3944444444		100	
4	15.6	1	0.4	1.1	0.8	0.9	0.8	1	0.5	0.6	0.5	0.7	0.5	0.7	0.5	0.7	0.6	0.6	0.4	0.2	0.7	4.226183	0.66	0.36706	90	49.5418
		0.6	0.9	0.5	0.6	0.6	0.6	0.5	0.4	0.5	0.4	0.5	0.4	0.2	0.4	0	0.2	0.2	0	0	0	3.418423	0.441176471		85	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	
5	16.67	0.5	0.5	0.6	0.2	0.2	0.4	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0	0	3.871858	0.3	0.32018	95	45.9867
		0.6	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3	0.5	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0	0.1	4.083783	0.310526316		85	
		0.5	0.4	0.5	0.5	0.3	0.5	0.4	0.4	0.4	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0	0	0	0	3.435279	0.35		85	
blanco	sn	2.5	2.7	2.5	3	3.4	3.4	2.6	3	1.3	2	2	1.2	2	2.5	1	0.9	1.1	0	0	0	3.476335	2.182352941	0.72745	85	0
blanco	sn	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		75	
blanco	sn	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		90	

Anexo 4.- Carta Control de fitotoxicidad- tensoactivo base LAS

Prueba:	LAS																			fecha de inicio :	20/06/2014						
Muestra:																				fec ha de terminación :	25/06/2014						
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	longitud de la raíz																		DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18						19	20	
1	0.075	2.3	2.5	2	1.8	3	4.2	1.5	1.8	1.9	1.6	1	2.5	2.5	1.7	1.8	1.4	0.9	0.3	0	0.1	3.652898	1.9333333333	2.10278	100	29.9971	
		4.9	1.5	3.4	1.6	2.9	5	1.7	1.6	3.2	3.6	2.3	1.4	1.4	3.3	1.4	1	0.6	0	0	0	3.576118	2.4		85		
		1	2.7	2.4	2	4.7	4	1.4	2.8	1.1	3.5	2.4	3.2	2	0.5	2.1	2.2	1	0.5	0	0	0	3.515239		1.975		90
2	0.15	0.9	2.6	1.5	1.1	1.6	2.3	2	1.6	1.7	2	2	1.5	1.3	1.4	0.6	0.8	0.9	0.9	0	0	3.699344	1.4833333333	1.45414	90	51.5907	
		1.4	1.2	1.1	1.6	1.8	2.5	1.4	1.5	1.8	2	1.5	1.5	0.9	0.5	0.6	0.6	2	0.5	0	0	3.721776	1.3555555556		90		
		1.2	1.5	1	1.5	2.5	3	2	1.6	1.9	1.1	1.4	1.7	0.8	2	2	0.5	0.2	0	0	0	0	3.526411		1.523529412		85
3	0.225	1.5	1	1.2	1.8	1.5	1.5	1.8	1.3	1.6	2.1	1.2	1	0.6	1.5	0.2	1.2	0.1	0.1	0	0	3.753043	1.1777777778	1.38853	90	53.7749	
		1.2	0.9	1.1	2.1	1.8	0.9	1.6	0.8	0.9	1.7	1.6	0.6	2	1	1.8	0.7	0.1	0	0	0	0	3.545702		1.223529412		85
		1	5	1.7	2	1.5	1.4	2.8	1	1.3	3	2	1	0.6	0.4	0	0	0	0	0	0	0	3.056398		1.764285714		70
4	0.3	1.2	2.5	1.1	1.6	0.8	1.9	1	1.5	1.5	0.5	1.1	0.9	1	1.6	0.6	1	1	1	0.5	0.2	4.151374	1.125	1.21369	100	59.5954	
		3.2	3	1.1	1.8	1.5	1.6	2.1	1.6	1.6	1.2	1	1.5	1.2	1.4	2.2	0.2	0	0	0	0	0	3.333152		1.6375		80
		1.1	1.3	0.5	0.7	1.1	1.1	1	1.1	0.7	0.8	1	0.5	1.2	0.2	0	0	0	0	0	0	0	2.959665		0.878571429		70
blanco	sn	4	3.6	3	4.2	4.9	4	2.5	3.5	3.9	3	2.9	3	3.3	3	3	2.5	3.5	1.5	0.5	0	3.680573	3.517647059	3.00385	95	0	
blanco	sn	2	2.3	3.9	3	3	3	1.7	3.2	4	2.7	3.3	3.8	2.9	2.7	3.3	3	2.3	1.1	0.6	0.3	3.925854	2.605		100		
blanco	sn	3	2.5	4	3	2.5	3.2	3.7	3.5	3.1	3.9	2.1	3.1	4.5	3.3	2.7	3	0.6	0.3	0	0	3.606013	2.888888889		90		

Anexo 5.-Carta Control fitotoxicidad- tensoactivo base DBSS

Prueba:	DBSS																			fecha de inicio :	02/07/2014							
Muestra:																				fecha de terminación :	07/07/2014							
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	longitud de la raíz																				DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación		% inhibición	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20							
1	0.1668	2.3	2.5	2	1.8	3	4.2	1.5	1.8	1.9	1.6	1	2.5	2.5	1.7	1.8	1.4	0.9	0.3	0	0	3.649828	1.927777778	2.18965	90	23.9815		
		4.9	1.5	3.4	1.6	2.9	5	1.7	1.6	3.2	3.6	2.3	1.4	1.4	3.3	1.4	1	0.6	0	0	0	3.576118	2.4		85			
		1	2.7	2.4	2	4.7	4	2.8	1.1	3.5	2.4	3.2	2	0.5	2.1	2.2	1	0.5	0	0	0	3.553998	2.241176471		85			
2	0.3336	0.9	2.6	1.8	1.1	1.6	2.3	2	1.6	1.7	2	2	1.5	1.3	1.4	0.6	0.8	0.9	0.9	0	0	3.697374	1.5	1.45969	90	49.3235		
		1.4	1.2	1.1	1.6	1.8	2.5	1.4	1.5	1.8	2	1.5	1.5	0.9	0.5	0.6	0.6	2	0.5	0	0	3.721776	1.355555556		90			
		1.2	1.5	1	1.5	2.5	3	2	1.6	1.9	1.1	1.4	1.7	0.8	2	2	0.5	0.2	0	0	0	3.526411	1.523529412		85			
3	0.5004	1.5	1	1.2	1.8	1.5	1.5	1.8	1.3	1.6	2.1	1.2	1	0.6	1.5	0.2	1.2	0.1	0.1	0	0	3.753043	1.177777778	1.40674	90	51.162		
		1.2	0.9	1.1	2.1	1.8	0.9	1.6	0.8	0.9	1.7	1.6	0.6	2	1	1.8	0.7	0.1	0.1	0.1	0	3.970576	1.235294118		90			
		1	5	1.7	2	1.5	1.4	2.8	1.6	1.3	3	2	1	0.6	0.4	0	0	0	0	0	0	3.050925	1.807142857		70			
blanco	SN	4	3.6	3	4.2	4.9	4	2.5	3.5	3.9	3	2.9	3	3.3	3	3	2.5	3.5	1.5	0.5	0	3.680573	3.147368421	2.88042	95	0		
blanco	SN	2	2.3	3.9	3	3	3	1.7	3.2	4	2.7	3.3	3.8	2.9	2.7	3.3	3	2.3	1.1	0.6	0.3	3.925854	2.605		100			
blanco	SN	3	2.5	4	3	2.5	3.2	3.7	3.5	3.1	3.9	2.1	3.1	4.5	3.3	2.7	3	0.6	0.3	0	0	3.606013	2.888888889		90			

Anexo 6. Carta Control fitotoxicidad- Tensoactivo 1

																				fecha de inicio					
																				:	14/07/2014				
																				fecha de terminación :	19/07/2014				
																				longitud de la raíz					
CONCENTRACION mg/L																					DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	%	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				germinación	inhibición
0.1668	3.3	5.8	4.4	2.6	5	3.7	3.2	4.7	3.3	4.2	1.9	3.2	2.1	0.9	0.7	0.3	0.4	0	0	0	3.610	2.924	2.85034	85	-18.556
	3.8	2.9	2.3	1	4.6	2.4	5.1	3.3	3.7	4.2	4.4	2.2	2.7	1.9	0.6	1.1	0.7	0.3	0	0	3.762	2.622		90	
	3.5	4.4	5.1	4.4	2.4	2	2.5	5.1	3.3	4.6	3.1	2.5	3.3	3.9	3.1	1.8	0.5	0.7	0.9	0	3.825	3.005		95	
0.3336	2.3	2.8	2.5	1.8	1.8	4.4	1.5	1.7	4.5	2.4	1.1	0.5	0.8	0.5	0.5	0.3	0.3	0	0	0	3.635	1.747	2.44291	85	-1.6093
	2.9	5.9	2.5	1.8	2.4	5.6	2.4	2.8	3.2	4.4	1.4	2.4	2.5	1	1.5	0	0	0	0	0	3.292	2.847		75	
	2.3	4.1	2.6	3.3	2.3	2.1	3.4	2	3.2	3.2	2.7	3.6	3.3	2.3	2.6	2.8	3.6	4.2	0.5	0.6	3.886	2.735		100	
0.5004	1.9	3.3	2	3.6	4.7	2.6	3.4	3.8	4.9	3.6	1.7	1	2.1	0.4	0.3	0.5	0	0	0	0	3.463	2.488	1.19917	80	50.1224
	1.9	1.9	0.9	0.9	0.9	1.5	1.3	0.7	0.5	0.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.162	1.110		50	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0	
13.5	3.1	1.2	1.5	1.2	1.5	2	0.6	0.5	0.5	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.799	1.115	0.71795	65	50.1379
	1.5	2.1	1.1	1.5	2	1.2	1	1	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.775	1.038		65	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0	
Blanco	3.5	2.2	1.5	1.7	1.8	3.3	2.1	2.5	3.3	2	2	1.7	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	3.001	2.014	2.40422	70	0
	1.6	3.2	4.4	1.8	5.1	5	3.1	2.5	1.7	2	1.5	1.4	1.1	0.3	0.5	1	0.7	0	0	0	3.654	2.171		85	
	4.1	2.7	5.5	3.7	4	4.7	3.7	2.4	3.2	5.3	3.2	2.8	3.3	1.9	1.8	1.2	0.7	0.3	0	0	3.711	3.028		90	

Anexo 7.- Carta Control fitotoxicidad- Aditivos 1

																				fecha de inicio	14/07/2014						
Muestra:	Aditivos 1																			fecha de terminación :	19/07/2014						
	longitud de la raíz																										
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L																			DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
1	0.1668	4.3	3.1	2.4	3.3	4.8	3	3.7	3.1	4.6	4	4.1	2.8	3.4	2.1	1	0.3	0.3	0	0	0	3.506	2.959	2.487	85	-3.642	
		3.4	3.1	3.4	4.2	4.4	3.4	3	2.3	3.5	4.1	4	2.8	3.3	3.5	3.7	3	3.7	2.7	0.3	0	3.643	3.253		95		
		0.4	1.4	1.5	0.6	0.9	2	1.6	1.5	1.3	2.5	1	0.9	0.9	1.7	1	0.7	2	0.6	0	0	3.739	1.250		90		
2	0.3336	3.5	3.3	4.4	5.1	3.4	5.8	4.4	3.3	3.5	4.5	5	4.8	2.5	3.4	4.6	3.9	0	0	0	0	3.310	4.088	2.621	80	-9.212	
		2.4	2.4	3.8	3.3	2.5	2.9	3.9	4.9	2.9	4.6	3.1	2.4	2.5	4.3	3.1	3.8	3.7	0.6	0	0	3.563	2.550		90		
		2.4	1	1	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.006		1.225		20
3	0.5004	1.7	2.6	2.2	2.6	2.4	1.4	1.2	1.5	3.5	2.2	1.5	1.7	0.6	0.7	0.7	0.3	0.5	0	0	0	3.550	1.606	2.137	85	10.938	
		3.7	3	4.3	5.3	3	5.2	2.5	3.2	2.9	4	3.3	0.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.886		3.442		60
		2.5	0.5	1	1.9	2.5	1	2.4	2.1	1.9	1.2	0.8	0.5	0.5	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.989		1.364		70
ZnCl2	13.5	3.1	1.2	1.5	1.2	1.5	2	0.6	0.5	0.5	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.799	1.115	0.718	65	50.083	
		1.5	2.1	1.1	1.5	2	1.2	1	1	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.775	1.038		65		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0		
		3.5	2.2	1.5	1.7	1.8	3.3	2.1	2.5	3.3	2	2	1.7	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	3.001	2.014	2.400	70	0.000	
Blanco	sn	1.6	3.2	4.4	1.8	5.1	5	3.1	2.5	1.7	2	1.5	1.4	1.1	0.3	0.5	1	0.7	0	0	0	3.265	2.460		75		
		4.1	2.7	5.5	3.7	4	4.7	3.7	2.4	3.2	5.3	3.2	2.8	3.3	1.9	1.8	1.2	0.7	0.3	0	0	4.108	2.725		100		



Anexo 8.- Carta Control de fitotoxicidad-Tensoactivo 2

																				fecha de inicio	13/08/2014						
Muestra:	2																			fecha de terminación	18/07/2014						
		longitud de la raíz																									
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición	
1	0.1668	4	4.5	1.9	2.4	2.1	3.5	4.5	3.4	3.1	1.5	0.6	1.2	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	3.095	2.407	2.36433	70	1.65889
		2.4	4.7	3.9	4.4	3.1	3.4	4.9	3.2	3.2	3.6	2	3.4	1.6	3.5	1.5	0.5	0.6	0.9	0	0	3.699	2.822	90			
		2.7	1.5	2.8	3.5	2.1	2.7	1.9	1	0.7	0.6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.465	1.864		55	
2	0.3336	4.5	4.1	4	5	4.5	5.6	5	2.7	5.5	3.9	0.9	5.8	4.6	2.9	3.1	5.4	1.1	0.8	0	0	3.690	3.856	3.31852	90	-38.029	
		3.5	4.4	2.8	4.4	2.4	3.8	2.3	3	3.3	3.5	3	3.7	2	4.3	4.5	2.5	3.8	1.3	0	0	3.533	3.250		90		
		3.8	3	5.9	3.8	4.1	2.5	4	5.1	2.3	3	2.9	2.5	2.6	1	3.6	1	3.2	1.5	0.3	0.9	3.997	2.850		100		
3	0.5004	2.3	3.1	2	4.2	3.3	4.7	3.2	4.5	3.7	3.5	0.5	0.6	0.3	0	0	0	0	0	0	0	3.015	2.762	2.75703	65	-14.675	
		4.1	2.2	3.6	2.5	1.7	3.7	2	1.6	2.1	2.4	1.7	1	1.7	0.5	0.6	0.5	0	0	0	0	3.380	1.994		80		
		4.5	3.5	5	2.7	5.3	4.1	3.4	3.5	5	4.8	4	4.5	3.5	3.9	2.2	3.4	1.6	1.6	0.3	0	1.643	3.516		95		
ZnCl2	13.5	3.1	1.2	1.5	1.2	1.5	2	0.6	0.5	0.5	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.799	1.115	0.71795	65	50.1379	
		1.5	2.1	1.1	1.5	2	1.2	1	1	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.775	1.038		65		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0		
Blanco	sn	3.5	2.2	1.5	1.7	1.8	3.3	2.1	2.5	3.3	2	2	1.7	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	3.001	2.014	2.40422	70	0	
		1.6	3.2	4.4	1.8	5.1	5	3.1	2.5	1.7	2	1.5	1.4	1.1	0.3	0.5	1	0.7	0	0	0	3.654	2.171		85		
		4.1	2.7	5.5	3.7	4	4.7	3.7	2.4	3.2	5.3	3.2	2.8	3.3	1.9	1.8	1.2	0.7	0.3	0	0	3.711	3.028		90		

Anexo 9.-Carta Control fitotoxicidad- Aditivos 2

																				fecha de inicio :	13/08/2014						
Muestra:	Aditivos																			fec ha de terminación :	18/08/2014						
		longitud de la raíz																									
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición	
1	0.1668	5.7	3.5	3.8	4.8	5	4.8	4.4	3.8	2.1	4.1	2.5	2.4	3.1	4	1	1	0.9	1	0	0	3.667	3.217	3.612	90	-50.507	
		4.5	3.8	1.7	5.3	2.1	2.9	5	4.7	2.2	4.9	5	3.6	4.4	4.6	3.6	4.4	3.5	1.3	2.8	0	3.662	3.700		95		
		5.2	4.6	4.2	3.5	3.9	5.8	4.9	5.8	4.5	4.2	2.3	4.4	4.2	2.9	1.3	1	0	0	0	0	0	3.442		3.919		80
2	0.3336	3.8	5.3	3.5	4.6	4.3	5	5.2	5.1	4	2.6	2.4	9.7	1	0.5	0	0	0	0	0	0	3.552	4.071	2.881	70	-20.04	
		1	0.9	1.4	1.1	0.7	0.3	0.3	3.9	1.5	2.5	1.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.455		1.409		55
		4.7	4.6	4.1	6	3.1	2.8	3.9	3.4	4.5	1.7	1.1	0.7	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	3.122		3.162		65
3	0.5004	4	5.8	5	3.1	4.2	5.4	3.5	4.2	3.1	2.2	5	3	4	0.5	1.1	0.7	1.4	0.7	0	0	3.786	3.161	3.426	90	-42.775	
		3.5	4.3	4	5.8	5.5	3.8	2.1	4.6	3.8	2.7	2.6	4.1	4	2.3	3.8	0.3	1	0	0	0	0	3.553		3.424		85
		3.9	5.5	5.2	3	4.5	3.8	6	4.7	4.3	4.1	4.2	4.2	2.6	2.9	3.1	0.5	0.3	0	0	0	0	3.576		3.694		85
ZnCl2	13.5	3.1	1.2	1.5	1.2	1.5	2	0.6	0.5	0.5	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	0	0	0	0	0	2.799	1.115	0.718	65	50.0825	
		1.5	2.1	1.1	1.5	2	1.2	1	1	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	2.775		1.038		65
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0
Blanco	sn	3.5	2.2	1.5	1.7	1.8	3.3	2.1	2.5	3.3	2	2	1.7	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	3.001	2.014	2.400	70	0	
		1.6	3.2	4.4	1.8	5.1	5	3.1	2.5	1.7	2	1.5	1.4	1.1	0.3	0.5	1	0.7	0	0	0	0	3.265		2.460		75
		4.1	2.7	5.5	3.7	4	4.7	3.7	2.4	3.2	5.3	3.2	2.8	3.3	1.9	1.8	1.2	0.7	0.3	0	0	0	4.108		2.725		100

Anexo 10.- Carta Control fitotoxicidad-Detergente comercial 3

																				fecha de inicio :								
																				fec ha de terminación :								
																				longitud de la raíz								
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L																					DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación		% inhibición	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20							
1	0.1668	2.6	1.4	3.7	2.6	2.9	1.5	2.1	1.6	2.6	2.8	1.8	2.4	3.2	2.3	2.1	2.8	3.2	2.9	2.1	0	3.740	2.453	1.123	95	-39.674		
		1.4	1	1.1	1.1	0.6	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.333		0.917		35.294	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0	
2	0.3336	3.6	1.7	1.3	1.2	1.5	1.2	1.6	1.5	1.3	0.9	0.5	0.2	1.6	0	0	0	0	0	0	0	2.791	1.392	0.464	65	83.1921		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0			
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0	
3	0.5004	1.2	1.1	1.9	1.1	1.2	0.2	1	0.5	0.1	0.2	0.5	0.2	0.4	0	0	0	0	0	0	0	2.787	0.738	0.246	65	91.0853		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0			
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.273		0.000		93.75	
ZnCl2	13.5	0.9	1	1.3	0.6	0.5	0.2	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.527	0.686	1.316	35	52.3407		
		2.3	1.3	2.9	1.1	2.2	1.2	2	1.2	2.2	1.7	0.8	1.2	0.9	1	0.6	0	0	0	0	0	3.146	1.507		75			
		2.8	1.9	3.3	3	2	2.3	1.2	2.2	3.3	1.2	1.2	1.5	1.3	1.5	0.8	1	0.4	0.7	0	0	3.715	1.756		90			
Blanco	sn	4.6	1.2	3.6	3.9	3.2	2.2	1.5	2.5	4.5	2.2	2.9	4.5	3.3	1.9	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	3.762	2.467	2.761	90	0		
		4.7	4.6	1.5	3.8	5.7	5	3.7	3.4	4.6	2.8	2.5	3.5	2.7	3	3.6	1.8	1.8	0.9	0	0	3.633	3.311		90			
		3.7	3.4	2.6	2.1	3.8	3.7	4.3	3.1	2.5	2.7	0.7	2.6	0.8	3.2	1.7	0.7	1	0	0	0	3.525	2.506		85			

Anexo 11.- Carta Control fitotoxicidad-Tensoactivo separado 3

																				fecha de inicio :	05/09/2014						
																				fecha de terminación :	10/09/2014						
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	longitud de la raíz																		OS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
1	0.1668	1.1	1.3	0.5	2.4	1	0.9	0.5	0.3	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.159	0.900	0.561	50	79.6789
		1.5	1.2	0.5	0.5	0.7	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.329	0.783		30	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0	
2	0.3336	3.3	2.1	2	1.1	1	2.1	0.6	0.7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.047	1.544	0.681	45	75.3196
		0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.239	0.500		5	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0	
3	0.5004	5.5	2.9	3.2	1.5	6.1	4.2	2.9	3.5	3.3	2	1.7	2.5	2.9	2.3	3.9	1	0	0	0	0	0	3.413	3.088	2.074	80	24.9024
		4.1	6.3	4.9	4	4.2	3.9	3.4	6	1.8	1.4	3.5	1.7	0.7	0.5	0.6	0	0	0	0	0	0	3.466	3.133		75	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.000		0	
ZnCl2	13.5	0.9	1	1.3	0.6	0.5	0.2	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.527	0.686	1.316	35	52.3407
		2.3	1.3	2.9	1.1	2.2	1.2	2	1.2	2.2	1.7	0.8	1.2	0.9	1	0.6	0	0	0	0	0	0	3.146	1.507		75	
		2.8	1.9	3.3	3	2	2.3	1.2	2.2	3.3	1.2	1.2	1.5	1.3	1.5	0.8	1	0.4	0.7	0	0	0	3.715	1.756		90	
Blanco	sn	4.6	1.2	3.6	3.9	3.2	2.2	1.5	2.5	4.5	2.2	2.9	4.5	3.3	1.9	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	0	3.762	2.467	2.761	90	0
		4.7	4.6	1.5	3.8	5.7	5	3.7	3.4	4.6	2.8	2.5	3.5	2.7	3	3.6	1.8	1.8	0.9	0	0	0	3.633	3.311		90	
		3.7	3.4	2.6	2.1	3.8	3.7	4.3	3.1	2.5	2.7	0.7	2.6	0.8	3.2	1.7	0.7	1	0	0	0	3.525	2.506		85		

Anexo 12.- Carta Control fitotoxicidad-Aditivos 3

																				fecha de inicio	05/09/2014						
Muestra:	ADITIVOS																			fec ha de terminación :	10/09/2014						
		longitud de la raíz																									
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición	
1	0.1668	1.9	4.5	2.6	3.2	3	2.5	2.4	3.5	3.9	3.8	2	2.6	4	2.4	3.2	2.1	3.4	2.7	0.9	1	3.898	2.780	1.247	100	54.8509	
		0.7	1.1	0.9	2	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.161		0.960		25
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0
2	0.3336	1.7	2.8	1.4	2.2	1.2	1	1.2	1.5	1.1	1.9	1.7	4.5	0.7	1	0.9	0.2	0	0	0	0	3.391	1.563	0.521	80	81.1376	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0
3	0.5004	1.1	0.7	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.892	0.600	0.200	20	92.7568	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.273		0.000		0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000		0.000		0
ZnCl2	13.5	0.9	1	1.3	0.6	0.5	0.2	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.527	0.686	1.316	35	52.3407	
		2.3	1.3	2.9	1.1	2.2	1.2	2	1.2	2.2	1.7	0.8	1.2	0.9	1	0.6	0	0	0	0	0	3.146	1.507		75		
		2.8	1.9	3.3	3	2	2.3	1.2	2.2	3.3	1.2	1.2	1.5	1.3	1.5	0.8	1	0.4	0.7	0	0	3.715	1.756		90		
Blanco	sn	4.6	1.2	3.6	3.9	3.2	2.2	1.5	2.5	4.5	2.2	2.9	4.5	3.3	1.9	1.1	0.5	0.5	0.3	0	0	3.762	2.467	2.761	90	0	
		4.7	4.6	1.5	3.8	5.7	5	3.7	3.4	4.6	2.8	2.5	3.5	2.7	3	3.6	1.8	1.8	0.9	0	0	3.633	3.311		90		
		3.7	3.4	2.6	2.1	3.8	3.7	4.3	3.1	2.5	2.7	0.7	2.6	0.8	3.2	1.7	0.7	1	0	0	0	3.525	2.506		85		

Anexo 13.- Carta Control fitotoxicidad-Detergente comercial 4

																				fecha de inicio :	14/07/2014					
																				fecha de terminación :	19/07/2014					
		longitud de la raíz																								
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L																			DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18				19	20	% germinación	% inhibición
1	0.075	4.2	2.1	4.8	4.2	4.4	4	5.2	3.1	4	5.4	2.5	2.7	3.3	4	0.3	0.6	0.8	1.3	0	0	3.696	3.161	3.837	90	-9.4098
		5.7	5.1	5.5	4	4	3.6	4.6	3.5	5	3.8	5	5.3	5.1	5.5	4.5	3.5	0.5	0	0	0	3.476	4.365		85	
		4.1	4	5.1	2.1	4.7	4.5	5.2	4.7	4.3	5	2.8	5.7	4.5	4.3	4.9	1.1	3.5	4	1.2	0	3.648	3.984		90	
2	0.15	3.9	4.7	3.3	4.1	5.2	4.5	3.3	3	3.5	3	4	3.7	4.4	4	3.5	4	4.7	0.9	1	0.5	3.821	3.460	3.591	100	-2.3915
		4.7	5.3	5.5	3	5.9	3.5	1.5	5.6	5.5	1.8	2.3	2	3.5	5.5	6	2.5	2.2	1.2	0.7	0	3.894	3.589		95	
		4.6	5.2	4.5	4.4	6.5	5.5	5	3.7	5.2	4.2	3.6	3.9	4.4	1.5	1.3	1.5	1.2	0.8	0	0	3.738	3.722		90	
3	0.3	2.5	3	2.6	2.1	3	5.3	1.1	4	2.5	3	4	3.7	3.5	2.5	0.5	0	0	0	0	0	3.221	2.887	3.133	75	10.6498
		4	4	2.7	3	3.8	3.7	3.5	2.2	1.3	3	1.8	3.5	3.1	3.1	2.3	0.1	0.3	1	0	0	3.687	2.578		90	
		5	4.6	5.7	3.2	3.1	4.5	4.3	5.3	2.6	2.5	4.3	3.5	5.2	5	2	2.1	4	0	0	0	3.459	3.935		85	
ZnCl2	13.5	1.8	3	2.6	3.5	3.5	2.9	2.5	1.7	3	1.7	2.5	2.5	1.3	2.6	3	1	1.7	0	0	0	3.440	2.400	2.135	85	59.1113
		2.4	1.5	1.1	3	2.1	3.5	2.9	2.6	1.6	3.4	2.5	1.8	2	3	1.3	0.3	0.1	0.1	0	0	3.726	1.956		90	
		2.5	2	2.9	2.1	3.2	2.4	2.2	2.4	3	2.1	2	3.2	1.2	2	1	0.9	1.1	0.7	0	0	3.652	2.050		90	
		4.6	2.6	4	3.6	5.4	5.7	3	4.5	4.1	4.8	4.4	3	2.5	4.2	4	1.7	0.6	0	0	0	3.505	3.688	3.507	85	0
Blanco	sn	5	2.2	3.8	4.2	2.3	2.9	4.8	5.3	2.5	4	3.5	5.6	3.5	3.4	5.7	4.5	2.5	3.6	1.5	0	3.658	3.726		95	
		4	5	4.6	5	4	4	3	4.5	5	4.5	5.1	4	1	1	0.5	0.5	0.1	0.1	0	0	3.887	3.106		90	

Anexo 14.- Carta Control fitotoxicidad -Tensoactivo separado 4

Prueba:	LAS																			fecha de inicio :	14/07/2014					
Muestra:	COMERCIAL																			fecha de terminación :	19/07/2014					
		longitud de la raíz																								
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición
1	0.075	4.2	2.1	4.8	4.2	4.4	4	5.2	3.1	4	5.4	2.5	2.7	3.3	4	0.3	0.6	0.8	1.3	0	0	3.696	3.161	3.837	105.3	-108.41
		5.7	5.1	5.5	4	4	3.6	4.6	3.5	5	3.8	5	5.3	5.1	5.5	4.5	3.5	0.5	0	0	0	3.476	4.365		100.0	
		4.1	4	5.1	2.1	4.7	4.5	5.2	4.7	4.3	5	2.8	5.7	4.5	4.3	4.9	1.1	3.5	4	1.2	0	3.648	3.984		105.9	
2	0.15	3.9	4.7	3.3	4.1	5.2	4.5	3.3	3	3.5	3	4	3.7	4.4	4	3.5	4	4.7	0.9	1	0.5	3.821	3.460	3.591	120.0	-2.3915
		4.7	5.3	5.5	3	5.9	3.5	1.5	5.6	5.5	1.8	2.3	2	3.5	5.5	6	2.5	2.2	1.2	0.7	0	3.894	3.589		90.0	
		4.6	5.2	4.5	4.4	6.5	5.5	5	3.7	5.2	4.2	3.6	3.9	4.4	1.5	1.3	1.5	1.2	0.8	0	0	3.738	3.722		94.4	
3	0.3	2.5	3	2.6	2.1	3	5.3	1.1	4	2.5	3	4	3.7	3.5	2.5	0.5	0	0	0	0	0	3.221	2.887	3.133	133.3	10.6498
		4	4	2.7	3	3.8	3.7	3.5	2.2	1.3	3	1.8	3.5	3.1	3.1	2.3	0.1	0.3	1	0	0	3.687	2.578		106.7	
		5	4.6	5.7	3.2	3.1	4.5	4.3	5.3	2.6	2.5	4.3	3.5	5.2	5	2	2.1	4	0	0	0	3.459	3.935		87.5	
ZnCl2	13.5	1.8	3	2.6	3.5	3.5	2.9	2.5	1.7	3	1.7	2.5	2.5	1.3	2.6	3	1	1.7	0	0	0	3.440	2.400	2.135	85.0	59.1113
		2.4	1.5	1.1	3	2.1	3.5	2.9	2.6	1.6	3.4	2.5	1.8	2	3	1.3	0.3	0.1	0.1	0	0	3.726	1.956		90.0	
		2.5	2	2.9	2.1	3.2	2.4	2.2	2.4	3	2.1	2	3.2	1.2	2	1	0.9	1.1	0.7	0	0	3.652	2.050		90.0	
		4.6	2.6	4	3.6	5.4	5.7	3	4.5	4.1	4.8	4.4	3	2.5	4.2	4	1.7	0.6	0	0	0	3.505	3.688	3.507	85.0	0
Blanco	Sn	5	2.2	3.8	4.2	2.3	2.9	4.8	5.3	2.5	4	3.5	5.6	3.5	3.4	5.7	4.5	2.5	3.6	1.5	0	3.658	3.726		95.0	
		4	5	4.6	5	4	4	3	4.5	5	4.5	5.1	4	1	1	0.5	0.5	0.1	0.1	0	0	3.887	3.106		90.0	

Anexo 15.- Carta Control fitotoxicidad-Aditivos 4

																				fecha de inicio	01/09/2014					
<b>Muestra: Aditivos 4</b>																				fecha de terminación	06/09/2014					
MUESTRA	CONCENTRACION µg/L	longitud de la raíz																		DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	%	%		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18						19	20
1	0.075	3.9	5.2	2.6	4.9	3.1	4.3	2.6	5.9	5.2	3.8	5.1	4	4.9	4.3	4.7	4.3	4.3	3.1	1	0	3.592	4.063	3.793	95	31.044
		3.5	4	4.3	4.6	3.5	5.5	4.6	3.6	4.3	4.2	4.8	1.5	1.1	1.6	1.1	1	0.4	1	0	0	3.782	3.033		90	
		4.8	3.7	4.4	2.3	4.7	4.7	4.8	4.2	5	6	4.4	4.7	4.2	5.3	4.6	0.7	0	0	0	0	3.406	4.281		80	
2	0.15	3.5	5.1	3.2	3.5	3.6	5.9	5.7	3.9	5.3	5.7	3.5	4	3.8	4.6	4.7	5.7	2.1	1.8	3.5	0	3.591	4.163	3.611	95	34.3409
		3.8	4.2	5.9	2.2	4.2	3.3	4.4	4.8	3.8	4.2	2.6	4.5	1.8	3.6	0.8	0.8	0.6	0	0	0	3.594	3.265		85	
		4.3	4.4	4.9	3.9	2.7	3.6	5.5	4.8	4.7	3.3	6.3	1.5	1.2	3.3	1.7	0.7	1.1	0	0	0	3.635	3.406		85	
3	0.3	4.5	4.4	4	5.3	5.1	3.4	5.2	3.7	3.1	4.5	4.9	3.7	2.5	2.6	3.6	5.4	3.1	1.2	0.5	0	3.700	3.721	3.782	95	31.2387
		4.3	4	4.4	4.9	3.8	2.7	3.9	3.7	3.5	3.7	2.7	4	5.3	3	5.6	5	4.4	3.5	2.8	0	3.529	3.958		95	
		2.6	5.3	3	5.4	3.5	3.2	5.6	3.4	4.8	3.8	3.9	4.9	4.2	4.1	2.6	4	1.2	0.5	0	0	3.620	3.667		90	
ZnCl2	13.5	3.1	3.5	3.5	2	5.1	5.3	3.4	4	4.5	1.1	3.1	3.9	2.5	4	2.6	1.7	1.1	0.6	0	0	3.476	3.235	3.065	90	44.2709
		4.1	3.1	4.2	4	4.7	1.8	2.8	2.5	3.2	3.2	2.5	2.6	2.7	2.4	2.1	0	0	0	0	0	3.153	3.060		75	
		3.7	3.4	3.9	2.1	4.3	5.4	2.9	2.5	2.9	3.8	2.1	2.9	4.7	2.8	2.8	0.5	0.5	1	0	0	3.684	2.900		90	
		5.5	4.5	5.8	4.1	5.5	4.5	4.8	5.1	3.6	1.7	3.7	6.5	2.6	4.2	4	3.7	1.2	0.8	0	0	3.664	3.989	5.500	90	0
Blanco	sn	4.2	3.1	3.5	5.1	3.2	5.5	5.3	3.5	4.5	3.2	5.6	1.8	3.7	1.2	2	5.1	0	0	0	0	4.200	5.700		80	
		4.2	5.7	5.5	3.4	5.7	3.5	3.9	4.5	5.4	3.2	4.6	4.6	4.9	5.1	3.7	0.5	0	0	0	0	3.425	4.275		80	



Anexo 16.- Carta Control fitotoxicidad-Detergente comercial 5

																				fecha de inicio						
																				:	14/07/2014					
																				fec ha de						
																				terminacion :	19/07/2014					
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	longitud de la raíz																				DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20					
1	0.1668	3.3	2.3	4	3.2	5	4.4	2.5	3	3	4	3.6	1	1.7	0.5	0	0	0	0	0	3.068	2.964	3.449	105.3	1.64238	
		4.7	2.5	6.3	4	5.5	4	5.7	4	3.5	4	4.7	4	4.5	4.5	5	5.5	3	3.5	1	0	3.594		4.205		100.0
		5.5	3.2	4.2	5	3.5	6.5	3.5	1.2	3.7	3.3	5	2.7	2.5	1.9	0.8	2	1.5	1.2	0	0	3.749		3.178		105.9
2	0.3336	3.7	5.2	4.7	4.5	5	2.5	3.5	4	3.9	4.5	4.4	2.7	5.1	4	1.1	0.5	1.6	0	0	0	3.541	3.582	3.121	120.0	11.0104
		4.5	5.5	5.7	4.6	5.1	2.2	3.5	3	3.1	5.5	4.6	0.8	1.1	0.6	0.8	0.9	1	0.5	0	0	3.912	2.944		90.0	
		4	4.8	4.3	0.3	5	3.3	5.5	3.9	4.8	3.4	2.5	4.5	2.4	1.1	4.5	0.5	0.5	1	0.3	0.1	4.176	2.835		94.4	
3	0.5004	3.8	3	3	3.2	1.3	2.5	3.5	3.9	3.5	3	4.4	4.5	5	4.5	4.6	0.3	3.2	0	0	0	3.482	3.365	3.575	133.3	-1.9441
		4	5	3.8	5	4.5	5.2	2.2	4.9	4.5	5	3.7	2.5	4	4	1.5	1.3	0	0	0	0	3.396	3.819		106.7	
		3	6.5	5.3	3.1	4.5	2.5	4	3.4	4.5	5.5	4.5	1.5	3.5	2.1	1	1	4.3	0	0	0	3.594	3.541		87.5	
ZnCl2	13.5	1.8	3	2.6	3.5	3.5	2.9	2.5	1.7	3	1.7	2.5	2.5	1.3	2.6	3	1	1.7	0	0	0	3.440	2.400	2.135	85.0	59.1113
		2.4	1.5	1.1	3	2.1	3.5	2.9	2.6	1.6	3.4	2.5	1.8	2	3	1.3	0.3	0.1	0.1	0	0	3.726	1.956		90.0	
		2.5	2	2.9	2.1	3.2	2.4	2.2	2.4	3	2.1	2	3.2	1.2	2	1	0.9	1.1	0.7	0	0	3.652	2.050		90.0	
control negativo	sn	4.6	2.6	4	3.6	5.4	5.7	3	4.5	4.1	4.8	4.4	3	2.5	4.2	4	1.7	0.6	0	0	0	3.505	3.688	3.507	85.0	0
		5	2.2	3.8	4.2	2.3	2.9	4.8	5.3	2.5	4	3.5	5.6	3.5	3.4	5.7	4.5	2.5	3.6	1.5	0	3.658	3.726		95.0	
		4	5	4.6	5	4	4	3	4.5	5	4.5	5.1	4	1	1	0.5	0.5	0.1	0.1	0	0	3.887	3.106		90.0	

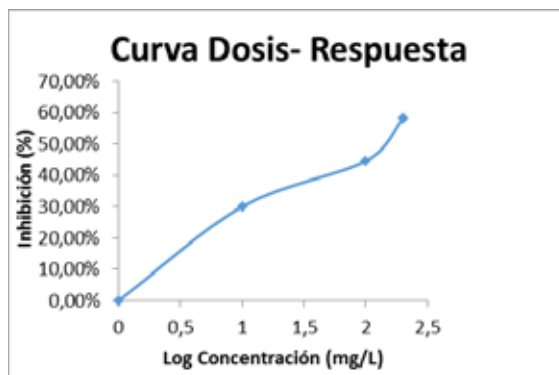
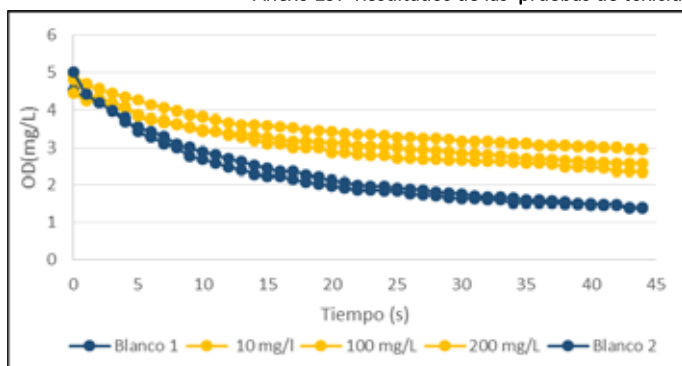
Anexo 17.- Carta Control fitotoxicidad-Tensoactivo separado 5

																		fecha de inicio	14/07/2014							
																		fec ha de terminación	19/07/2014							
		longitud de la raíz																								
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición
1	0.1668	4.1	4	3.7	4.3	3	2.8	3.7	3.6	3.7	3.6	3.5	2.2	3.6	2.7	3.1	0.5	0.7	0	0	0	3.413	3.106	2.858	85	18.4969
		3.3	4	3.7	2.7	3.7	2.5	2.8	3.3	4.1	2.3	2.5	3.2	1.8	3.2	2.9	2.9	3.3	2	0.3	0.6	3.887	2.755		100	
		2.5	4.4	3.2	2.7	2.5	2.5	1.8	3.3	4.1	2.2	3.2	3.3	1.5	2.8	0.7	0	0	0	0	0	0	3.165		2.713	
2	0.3336	4.4	4.5	3.5	3.1	3.7	3.6	3.3	3.8	4.5	3.3	1.9	4.4	2.6	3	1.3	2.6	0.9	0.3	0	0	3.640	3.039	3.079	90	12.1999
		4.9	3.6	2.6	1.9	4.7	2.1	4.6	3.3	3	2.5	4.1	3	2.1	1.2	1.9	2.5	0.5	0.9	0	0	3.684	2.744		90	
		3.9	4.1	4	3.5	4.3	3.1	3.8	4.5	2.7	2.8	4.4	3.6	3.2	1.2	2.7	0	0	0	0	0	3.178	3.453		75	
3	0.5004	3.9	4.1	3.5	3.5	2.9	2.6	2.9	0.4	2.8	3.2	1.9	3.4	3	0.5	0.7	0.4	0.5	0	0	0	3.584	2.365	2.188	85	-61.402
		2	3.1	2.4	2.7	2.3	2.6	2.3	2.5	2.1	2.3	2.2	2.9	0.5	0.2	0.3	0	0	0	0	0	3.166	2.027		75	
		2.2	3.8	3.9	4	2.5	0.8	4.1	2.8	1.4	1.5	2.5	1	0.6	1.1	0.4	0	0	0	0	0	3.258	2.173		75	
ZnCl2	13.5	1.8	3	2.6	3.5	3.5	2.9	2.5	1.7	3	1.7	2.5	2.5	1.3	2.6	3	1	1.7	0	0	0	3.440	2.400	2.135	85	59.889
		2.4	1.5	1.1	3	2.1	3.5	2.9	2.6	1.6	3.4	2.5	1.8	2	3	1.3	0.3	0.1	0.1	0	0	3.726	1.956		90	
		2.5	2	2.9	2.1	3.2	2.4	2.2	2.4	3	2.1	2	3.2	1.2	2	1	0.9	1.1	0.7	0	0	3.652	2.050		90	
control negativo		4.6	2.6	4	3.6	5.4	5.7	3	4.5	4.1	4.8	4.4	3	2.5	4.2	4	1.7	0.6	0	0	0	3.505	3.688	3.507	85	0
		5	2.2	3.8	4.2	2.3	2.9	4.8	5.3	2.5	4	3.5	5.6	3.5	3.4	5.7	4.5	2.5	3.6	1.5	0	3.658	3.726		95	
		4	5	4.6	5	4	4	3	4.5	5	4.5	5.1	4	1	1	0.5	0.5	0.1	0.1	0	0	3.887	3.106		90	

Anexo 18.- Carta Control fitotoxicidad-Aditivos 5

																				fecha de inicio :	29/08/2014					
<b>Muestra: Aditivos 4</b>																				fecha de terminacion :	03/09/2014					
		longitud de la raíz																								
MUESTRA	CONCENTRACION mg/L																			DS cm	PROMEDIO cm	PROMEDIO GENERAL cm	% germinación	% inhibición		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18						19	20
1	0.1668	2.6	4.4	4.2	1.7	1.5	2.7	4.2	2.6	5.4	1.5	2.6	2.4	2.2	1	0.9	0.5	0	0	0	0	3.396	2.525	3.115	80	-10.961
		4.5	3.8	5.5	4.5	4.1	4.2	2.9	3.3	3.6	2	4.1	1.9	3.3	1.7	3.7	0	0	0	0	0	3.225	3.540		75	
		3.6	2.7	5.1	3.7	4.2	4.5	2.5	4	2.9	5.7	4.9	1.1	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	3.255	3.279		70	
2	0.3336	2.2	3.4	2.1	3.5	2.8	1.2	0.7	0.4	0.9	0.4	0.3	0	0	0	0	0.8	0.4	0	0	0	2.477	1.736	2.494	55	11.1514
		3	5	4.5	4.1	5.4	5.1	2.1	4	3.6	5	3.2	4.5	1.3	3.5	0	0	0	0	0	0	3.185	3.879		70	
		1.8	1.2	3.1	2.9	2.5	2.9	1.9	2.1	2.7	0.5	3.2	1.2	0.9	0.6	0.5	0	0	0	0	0	3.186	1.867		75	
3	0.5004	3.9	4	4.6	4.3	2.8	4.6	4	1	1.3	1.7	2.1	3	1.5	2.1	1	0.6	0	0	0	0	3.434	2.656	2.587	80	7.82124
		4.5	4.3	3.3	4.3	5	3.7	4.2	2.1	5.3	4.7	5.2	2.5	3	3.4	1.9	1.4	0	0	0	0	3.377	3.675		80	
		0.9	1.2	2.5	2.2	1.1	1.5	2.5	1.2	2	1.2	0.9	1	0.4	0	0	0	0	0	0	0	2.769	1.431		65	
ZnCl2	13.5	4.8	2.7	5.2	3.2	4.4	4.3	3	3	4	2.2	2.2	3.1	1.9	2.6	0.7	2.2	1.1	0	0	0	3.515	2.976	2.288	85	58.4914
		0.9	0.7	2.8	2.2	3.1	1.9	1.5	1	0.5	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.243	1.540		50	
		3.7	2.2	3.1	2.3	2.3	2.2	2	1.3	4	4.3	4.2	1.1	2.6	1.5	2	0.3	0.5	0.3	0	0	3.542	2.347		85	
Blanco	sn	6.2	1.9	4.5	4.5	1.9	4	3.8	3	1.8	4	3	1.5	1.2	1	0.7	1.9	0.8	0	0	0	3.641	2.688	2.807	85	0
		4.1	4	3.2	3.7	2.6	1.6	3.8	4.2	2.9	3.8	4.5	3.7	3	3.1	0.5	0	0	0	0	0	3.206	3.247		75	
		1.6	2.5	2.9	5.2	3.5	1.9	2.1	2.5	2.7	1.6	2.3	4.4	1.1	0.5	0	0	0	0	0	0	3.077	2.486		70	

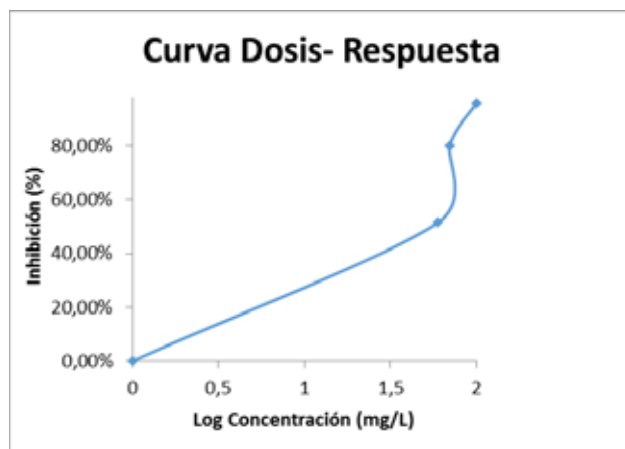
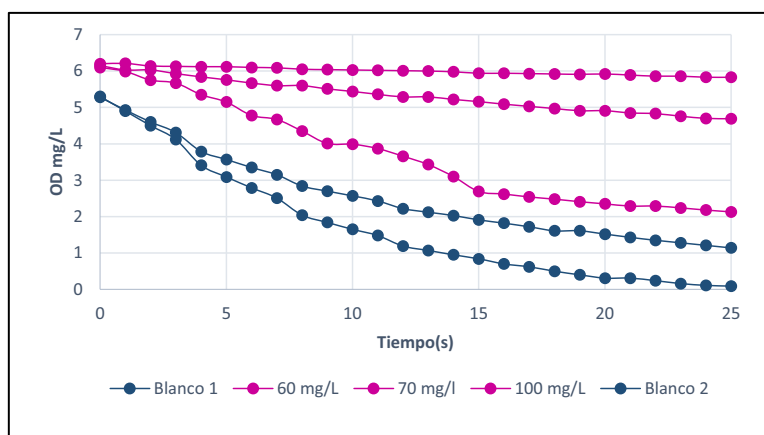
Anexo 19.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 1 con tres diluciones



Detergente comercial 1 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	30.10%
100	44.66%
200	58.25%

**IC50**    **113.62 mg/L**

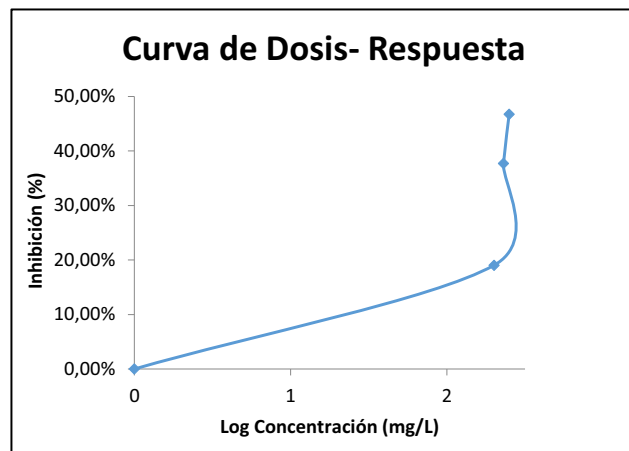
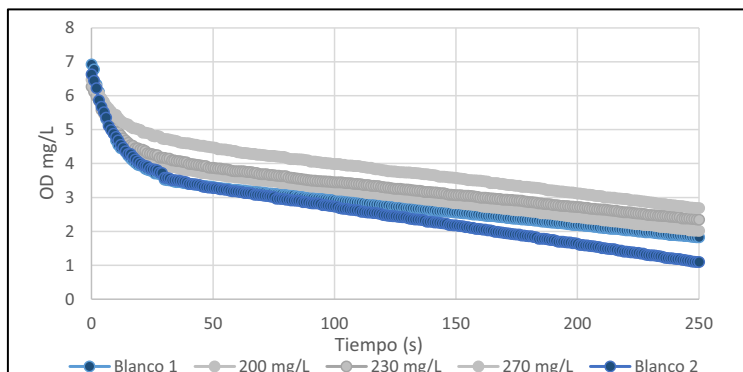
Anexo 20.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 2 con tres diluciones



Detergente comercial 2 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
60	51,53%
70	80,10%
100	95,92%

**IC50**      **56.92 mg/L**

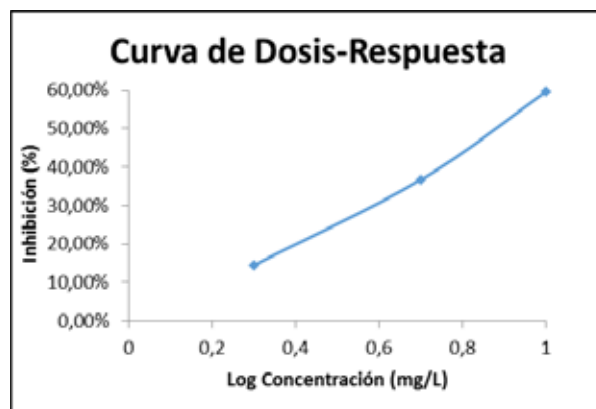
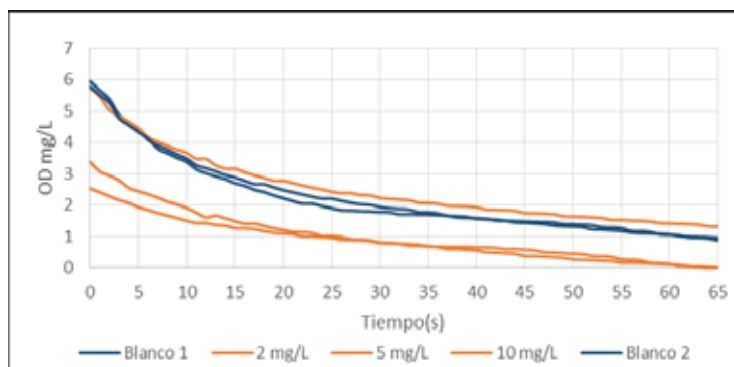
Anexo 21.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 3 con tres diluciones



Detergente comercial 3 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
200	19.03%
230	37.72%
250	46.71%

**IC50**      **253.86 mg/L**

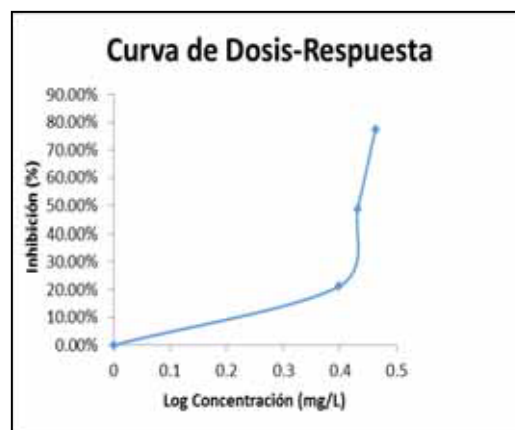
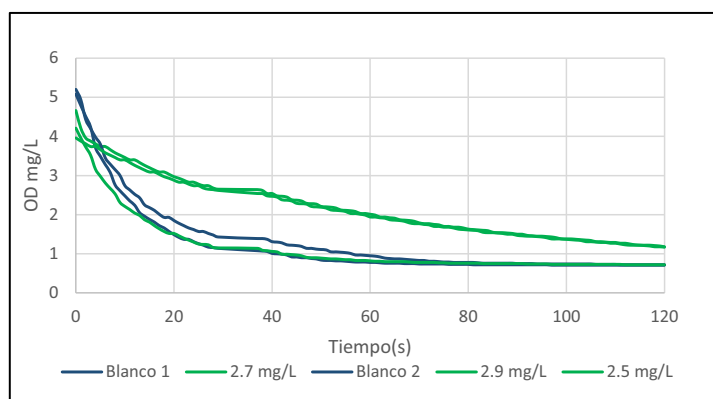
Anexo 22.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 4 con tres diluciones



Detergente comercial 4 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
2.5	14.48%
2.7	36.70%
2.9	59.60%

**IC50 7.48 mg/L**

Anexo 23.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Detergente 5 con tres diluciones

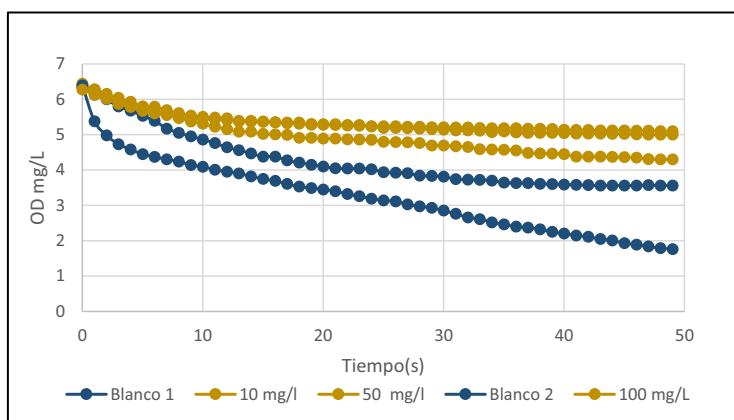


Detergente comercial 5 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
2.5	21.23%
2.7	48.85%
2.9	77.49%

**IC50 2.71 mg/L**

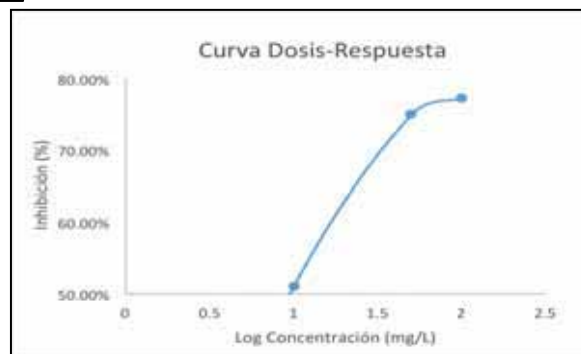


Anexo 24.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 1 con tres diluciones

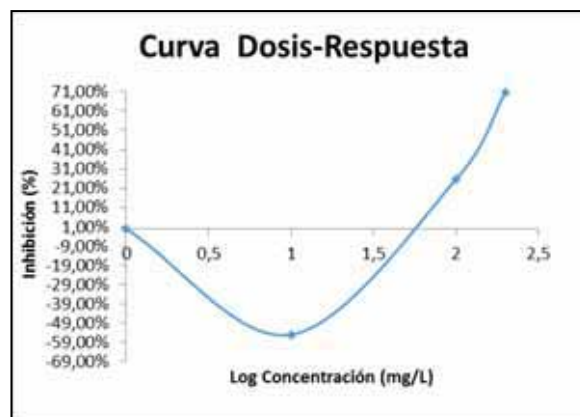
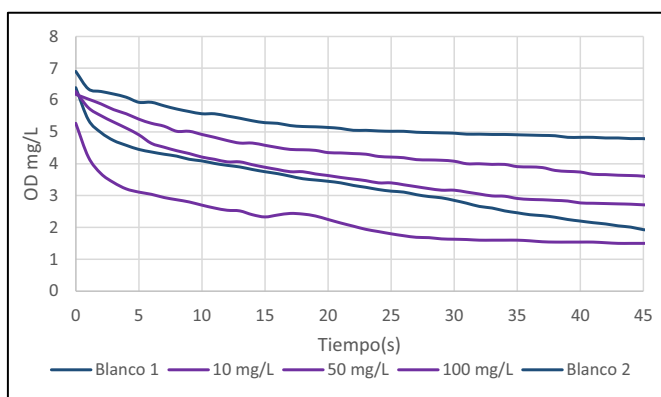


Tensoactivo separado 1 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	51.14%
50	75.00%
100	77.27%

**IC50**      **1.93 mg/L**



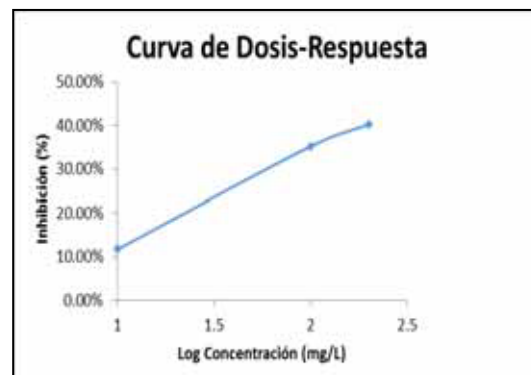
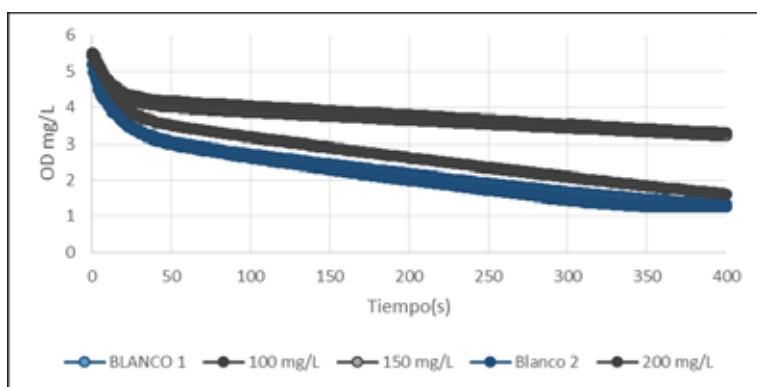
Anexo 25.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 2 con tres diluciones



Tensoactivo separado 2 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	-54.90%
50	25.49%
100	70.59%

**IC50 146.30 mg/L**

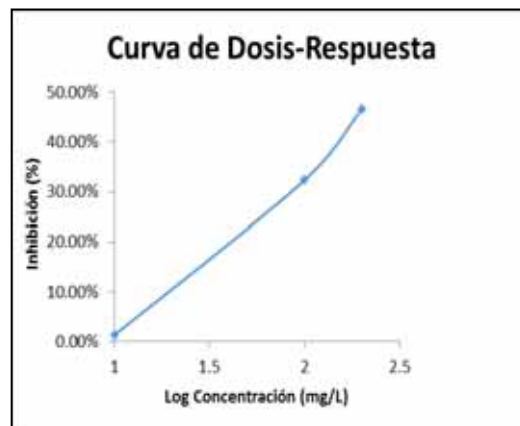
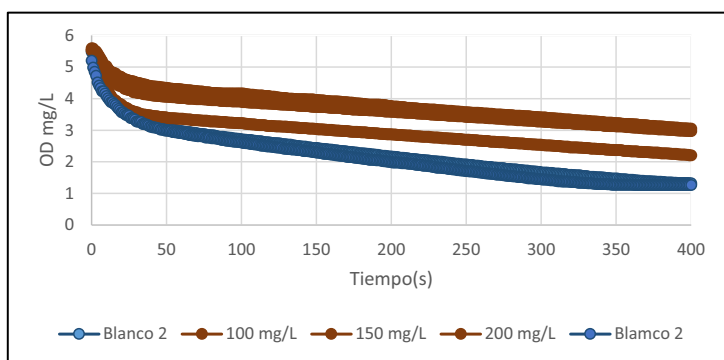
Anexo 26.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 3 con tres diluciones



Tensoactivo separado 3 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	11.73%
100	35.20%
200	40.22%

**IC50**      **380.23 mg/L**

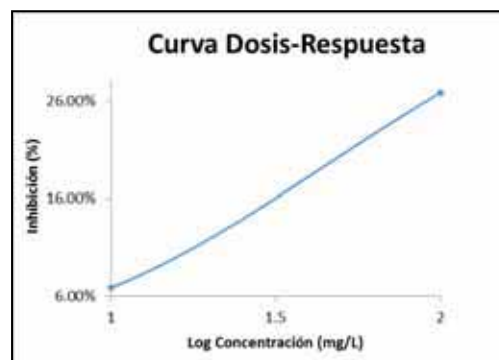
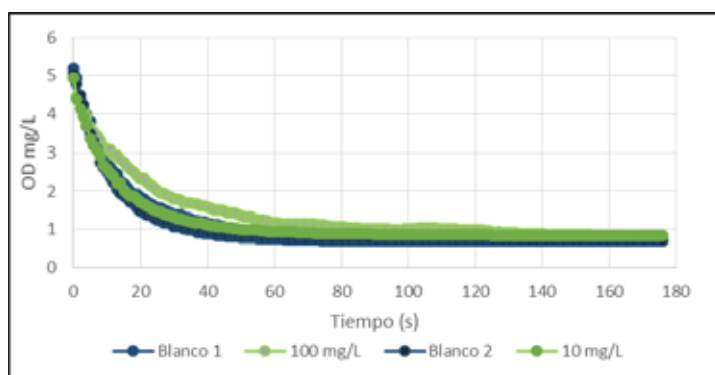
Anexo 27.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensoactivo 4 con tres diluciones



Tensoactivo separado 4 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
100	1.27%
150	32.32%
200	46.56%

**IC50 207.85 mg/L**

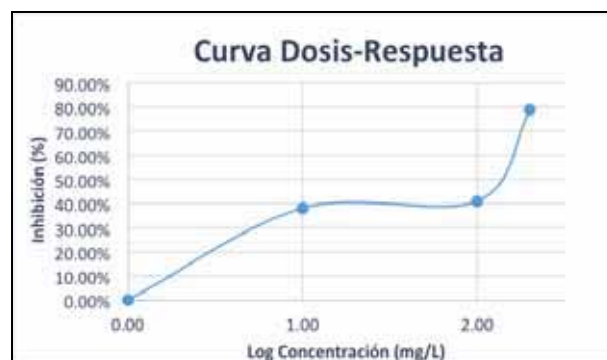
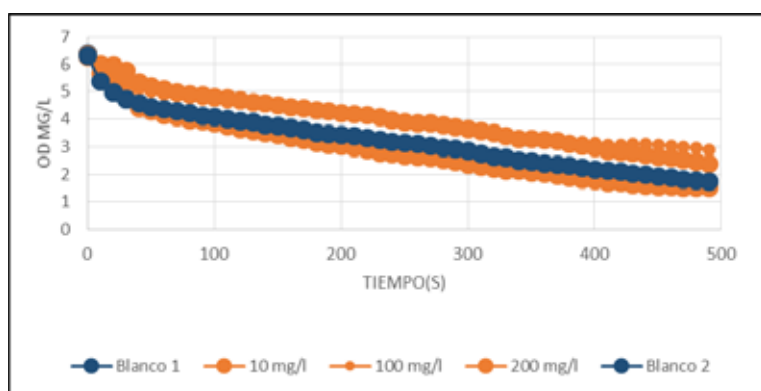
Anexo 28.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Tensioactivo 5 con dos diluciones



Tensioactivo separado 5 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	6.88%
100	26.81%

**IC50**      **517.71 mg/L**

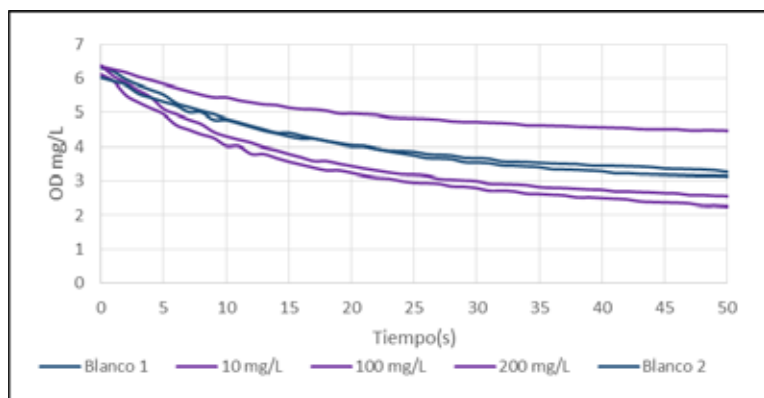
Anexo 29.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 1 con tres diluciones



Aditivos 1 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	38.18%
100	41.09%
200	78.91%

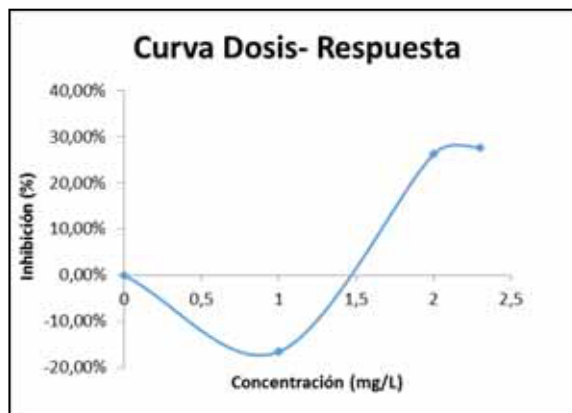
<b>IC50</b>	<b>116.4 mg/L</b>
-------------	-------------------

Anexo 30.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 2 con tres diluciones

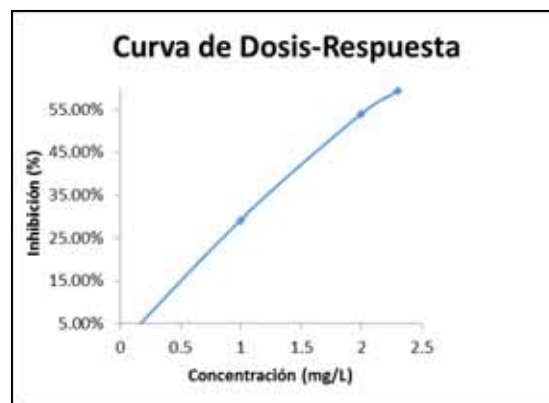
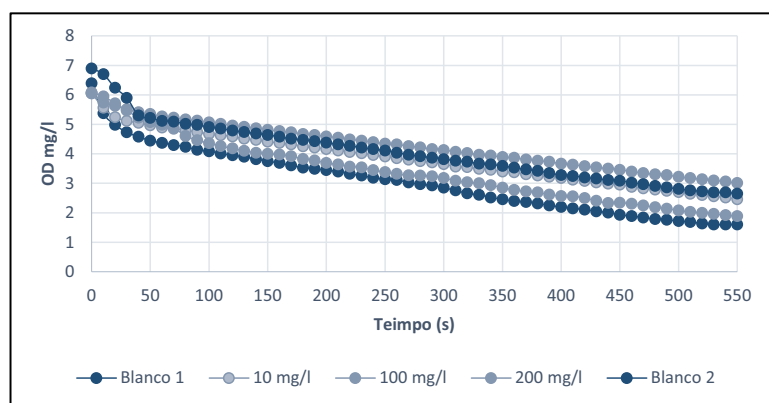


Aditivos 2 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	-16.61%
100	26.20%
200	27.68%

**IC50**      **360 mg/L**



Anexo 31.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 3 con tres diluciones

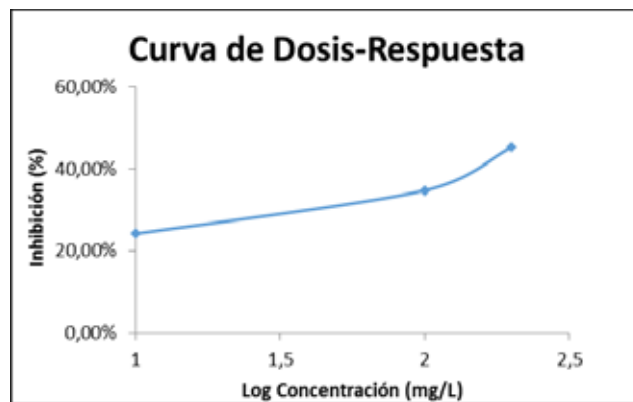
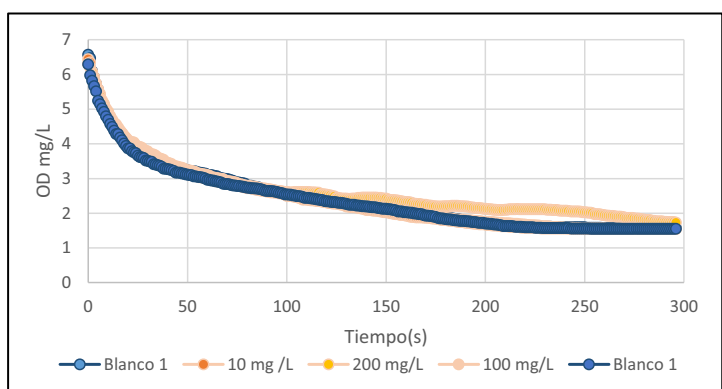


Aditivos 3 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	29.32%
100	54.14%
200	59.40%

**IC50      75.32 mg/L**



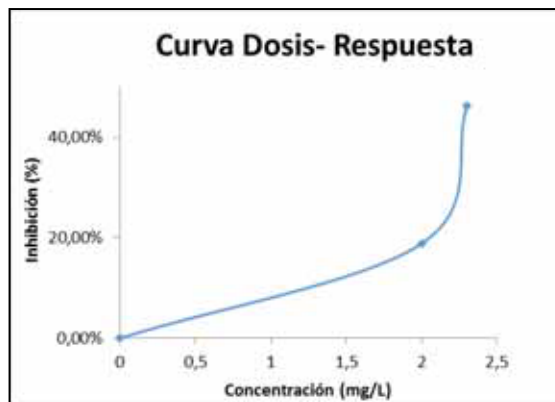
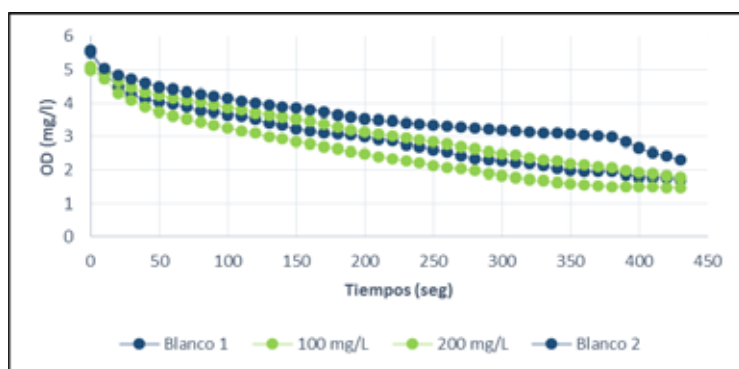
Anexo 32.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 4 con tres diluciones



Aditivos 4 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
10	24.21%
100	34.74%
200	45.26%

<b>IC50</b>	<b>560.20 mg/L</b>
-------------	--------------------

Anexo 33.- Resultados de las pruebas de toxicidad en Lodos activados del Aditivos 5 con dos diluciones



Aditivos 5 Conc. mg/L	% Inhibición
0	0.00%
100	18.86%
200	46.29%

IC50	217.06mg/L
------	------------