

Universidad Católica de Santa María

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y
Biotecnológicas.**

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica.



“EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN Y ECOTOXICIDAD EN SUELOS CONTAMINADOS POR EFLUENTES DE CURTIEMBRES EN LA ZONA DE RIO SECO – AREQUIPA UTILIZANDO EL BIOENSAYO DE ECOTOXICIDAD CON *EISENIA FOETIDA*”

Tesis presentada por el bachiller:

Medina Arias, Carlos Amador

Para optar el título profesional de

Ingeniero Biotecnólogo.

Asesor:

Mgter. Ing. Tejada Meza, Kevin

Arequipa - Perú.

2023

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 24 de Noviembre del 2022

Dictamen: 002862-C-EPIB-2022

Visto el borrador del expediente 002862, presentado por:

2014601021 - MEDINA ARIAS CARLOS AMADOR

Titulado:

**EVALUACION DE LA EXPOSICION Y ECOTOXICIDAD EN SUELOS CONTAMINADOS POR
EFLUENTES DE CURTIEMBRES EN LA ZONA DE RIO SECO - AREQUIPA UTILIZANDO EL
BIOENSAYO DE ECOTOXICIDAD CON EISENIA FOETIDA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**2346 - MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS
DICTAMINADOR**



**2781 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO
DICTAMINADOR**



**3320 - ALVARADO QUIROZ KENY DAVI
DICTAMINADOR**



AGADECIMIENTOS

A Dios por las oportunidades y poner en mi camino a todas las personas que me estiman.

A mis padres Fabiola y Pio por la confianza puesta en mí, la paciencia y ayuda en los buenos y malos momentos, por mostrarme que la constancia y perseverancia son el camino para lograr mis metas.

A toda mi familia por animarme y celebrar mis logros.

A Emil y Juan por apoyarme en partes cruciales para el desarrollo de esta investigación sin su ayuda no habría sido posible.

A mi asesor el Ing. Kevin Tejada por la guía constante, la motivación y por su disposición para ayudarme en todo momento.

Al Ing. Renzo Valero por sus enseñanzas, consejos, por todo el apoyo brindado a lo largo de esta etapa y por el ejemplo que es para mí.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPOTESIS	4
OBJETIVOS.....	5
TABLA DE VARIABLES E INDICADORES.....	6
CAPITULO I	
1 MARCO TEÓRICO... ..	7
1.1 Suelos.....	7
1.1.1 Componentes del suelo.....	8
1.1.2 Importancia de los suelos	9
1.1.3 Efecto de la contaminación en suelos.....	10
1.2 Lombrices / <i>Eisenia foetida</i>	12
1.2.1 Anatomía externa.....	14
1.2.2 Anatomía sistemática.....	14
1.3 Curtiembres.....	21
1.3.1 Situación de las curtiembres en la región	21
1.3.2 Proceso productivo en las curtiembres	22
1.3.3 Generación de residuos y aspectos ambientales	27
1.4 Marco legal en el Perú frente a la contaminación ambiental	34
1.5 Estándares internacionales para la evaluación de la contaminación.....	37
1.6 Bioensayos... ..	39
1.6.1 Generalidades y aplicabilidad.....	39
1.6.2 <i>Eisenia foetida</i> como bioindicador de suelos	41
1.6.3 Determinación de la toxicidad aguda en <i>Eisenia. Foetida</i> /ISO-11268... ..	42
1.6.4 Prueba de evasión a los contaminantes ISO 17512-1:2008.....	43
1.7 Muestreo de suelos contaminados.....	44
1.8 Evaluación de la exposición al riesgo ambiental	45
CAPITULO II	
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
2.1 Lugar de ejecución	47
2.2 Materiales.....	47
2.2.1 Material biológico.....	47
2.2.2 Material de laboratorio... ..	47
2.2.3 Insumos y reactivos... ..	47
2.2.4 Equipo e instrumentación... ..	48
2.3 Caracterización fisicoquímica del suelo.....	48
2.3.1 Zona de muestreo	48
2.3.2 Ubicación de puntos de monitoreo	51
2.3.3 Metodología del monitoreo de suelos... ..	53
2.3.4 Propiedades químicas de las muestras de suelos... ..	55
2.4 Organismo de prueba	58
2.4.1 Condiciones de mantenimiento	58
2.4.2 Alimento y frecuencia de alimentación	59

2.4.3	Preparación del sustrato artificial	60
2.4.4	Selección de los organismos de prueba	63
2.5	Evaluación de los efectos letales de muestras de suelos	64
2.5.1	Ensayo preliminar	64
2.5.2	Ensayos de toxicidad aguda.....	66
2.6	Evaluación de los efectos subletales de las muestras de suelos... ..	69
2.6.1	Ensayos de evasión	69
2.6.2	Análisis de datos	70
2.7	Evaluación de la exposición al riesgo ambiental	71
2.7.1	Concentración ambiental prevista (PEC)	71
2.7.2	Concentración prevista sin efecto (PNEC).....	72
2.7.3	Caracterización del riesgo ambiental.....	72
CAPITULO III		
3	RESULTADOS Y DICUSIONES	73
3.1	Caracterización de la zona	73
3.1.1	Propiedades químicas de las muestras de suelos	77
3.2	Evaluación de la ecotoxicidad de muestras de suelos.....	85
3.2.1	Ensayo preliminar.....	85
3.2.2	Ensayos de toxicidad aguda.....	86
3.3	Evaluación de los efectos subletales de la muestras de suelo... ..	93
3.3.1	Ensayos de evasión	93
3.3.2	Otros puntos finales	95
3.4	Evaluación de la exposición riesgo ambiental	101
CONCLUSIONES		103
RECOMENDACIONES		104
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		105
ANEXOS		115

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables e indicadores.....	6
Tabla 2. Estándares de calidad ambiental peruanos en suelos.....	36
Tabla 3. Puntos de reconocimiento del área.....	49
Tabla 4. Puntos de monitoreo.....	53
Tabla 5. Ensayos analíticos aplicados a las muestras de suelo.....	56
Tabla 6. Cantidad de suelo artificial empleado.....	61
Tabla 7. Cantidad de SA total usado en cada ensayo.....	62
Tabla 8. Propiedades químicas del Suelo Artificial.....	62
Tabla 9. Concentración de sulfuros en estaciones de monitoreo.....	78
Tabla 10. Concentración de metales en estaciones de monitoreo.....	78
Tabla 11. Resultados del ensayo preliminar.....	85
Tabla 12. Mortalidad en MSC-1.....	86
Tabla 13. Parámetros ecotoxicológicos MSC-1.....	87
Tabla 14. Mortalidad en MSC-2.....	88
Tabla 15. Parámetros ecotoxicológicos MSC-2.....	88
Tabla 16. Mortalidad en MSC-3.....	89
Tabla 17. Parámetros ecotoxicológicos MSC-3.....	90
Tabla 18. Evasión en MSC-1.....	93
Tabla 19. Variación del peso de la biomasa en MSC-1.....	96
Tabla 20. Variación del peso de la biomasa en MSC-2.....	97
Tabla 21. Variación del peso de la biomasa en MSC-3.....	98
Tabla 22. Evaluación del riesgo ambiental.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estratos y composición del suelo	8
Figura 2. <i>Eisenia foetida</i>	12
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Eisenia foetida</i>	13
Figura 4. Anatomía externa de <i>Eisenia foetida</i>	14
Figura 5. Sección transversal del cuerpo de la lombriz.....	15
Figura 6. Esquema del sistema digestivo.....	17
Figura 7. Partes del sistema reproductor.....	18
Figura 8. Posición de lombrices en fase de acoplamiento.....	18
Figura 9. Células receptoras del tegumento.....	20
Figura 10. Procesos productivos y contaminantes generados en cada etapa del proceso de curtido.....	29
Figura 11. Proceso general de evaluación del riesgo ambiental.....	45
Figura 12. Punto de interés en el mapa de cuadrantes de las Cartas Nacionales del Perú.....	50
Figura 13. Primer punto de monitoreo.....	51
Figura 14. Segundo punto de monitoreo	52
Figura 15. Tercer punto de monitoreo	52
Figura 16. Partición de muestras	55
Figura 17. Monitoreo de suelos	55
Figura 18. Vermicompostador	59
Figura 19. Componentes del suelo artificial.....	60
Figura 20. Suelo artificial	61
Figura 21. Preparación de los organismos de prueba	63
Figura 22. Ensayo preliminar	65
Figura 23. Unidades experimentales finales MSC-1, MSC-2 y MSC-3.....	67
Figura 24. Diagrama de flujo de los bioensayos de toxicidad aguda	68
Figura 25. Método de evaluación del riesgo ambiental.....	71
Figura 26. Ubicación de puntos de reconocimiento	73
Figura 27. Mapa de zonificación del área de interés	74
Figura 28. Zona impactada y viviendas	75
Figura 29. Carta nacional “33s” y área de interés.....	75
Figura 30. Hidrogeología en la zona impactada.....	76
Figura 31. Mapa de cobertura vegetal	77
Figura 32. Gráficos de comparación entre estaciones de monitoreo	81
Figura 33. Grafico dosis respuesta – Ensayo preliminar	85
Figura 34. Grafico dosis respuesta (mortalidad) – MSC-1.....	87
Figura 35. Grafico dosis respuesta (mortalidad) – MSC-2.....	89
Figura 36. Grafico dosis respuesta (mortalidad) – MSC-3.....	90
Figura 37. Gráfico de Evasión – Concentración.....	93
Figura 38. Comportamiento de enroscamiento corporal de <i>E. foetida</i> expuesta a suelos contaminados.....	95
Figura 39. Gráfico de Peso-Concentración MSC-1	96
Figura 40. Gráfico de Peso-Concentración MSC-2.....	97
Figura 41. Gráfico de Peso-Concentración MSC-3.....	98
Figura 42. Comparación de organismos en el control y organismos expuestos al suelo contaminado	100
Figura 43. Ubicación satelital del área contaminada.....	115
Figura 44. Ubicación de puntos de monitoreo.....	116

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Mapas.....	115
Anexo 2. Resultado del análisis de laboratorio... ..	117
Anexo 3. Cálculo de las concentraciones de metales a la DL ₅₀	121
Anexo 4. Análisis estadísticos de los ensayos de ecotoxicidad.....	123



LISTA DE ABREVIATURAS

PIRS: Parque Industrial Rio Seco.

NOEC: No observed effect concentration (Concentración más alta de efecto no observado).

LOEC: Lowest observed effect concentration (concentración más baja donde se observa efecto).

DL₅₀: Dosis letal media.

EC₅₀: Concentración efectiva media.

OECD: Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo

EPA: Environmental Protection Agency (Agencia de protección ambiental).

LC: Limite de confianza.

DBO₅: Demanda bioquímica de oxígeno.

DQO₅: Demanda química de oxígeno

OEFA: Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental.

ECA: Estándar de calidad ambiental.

LMP: Límite máximo permisible

MINAM: Ministerio del Ambiente.

ISO: Organización Internacional de Normalización

CCME: Canadian Council of Ministers of the Enviroment.

OMS: Organismo Mundial de la Salud.

SEIA: Sistema Nacional de Evaluación del Impacto Ambiental

ZEE: zonificación ecológica y económica.

ERA: Evaluación del riesgo ambiental.

CR: Coeficiente de riesgo ambiental.

PEC: Predicted Effect Concentration (Concentración ambiental prevista).

PNEC: Predicted No-Effect Concentration (Concentración ambiental prevista sin efecto).

LOC: Comparative critical level (Nivel crítico comparativo).

RESUMEN

Las industrias instaladas en el Parque Industrial Río Seco son muy importantes económicamente para la región Arequipa, sin embargo, es importante tener en cuenta los impactos al medio ambiente que pueden acarrear estos procesos cuando no se emplean buenas prácticas de responsabilidad ambiental por parte de los generadores y las autoridades. En esta investigación se realizó un análisis de la contaminación del suelo por efluentes industriales en la zona del Parque Industrial Río Seco en Cerro Colorado, identificando las concentraciones de metales y sulfuros del terreno para posteriormente llevar a cabo un biomonitoreo de 3 puntos específicos del área afectada y un control, evaluando el efecto tóxico letal empleando distintas concentraciones de suelo contaminado (control, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %) durante un periodo de 14 días en ensayos de toxicidad aguda sobre *Eisenia foetida*, dando como resultado una DL_{50} de 9.665 % ,16.554 % y 16.759 % para MSC-1, MSC-2 y MSC-3 respectivamente, además, se establecieron los efectos subletales de la exposición de los individuos a la contaminación, estos fueron cualitativos como comportamiento de enroscamiento, oscurecimiento y cuantitativos como la pérdida de peso y la evasión a la contaminación, en ambos se demostró una relación directamente proporcional entre el nivel de tratamiento y los parámetros. Para la evaluación de la exposición al riesgo ambiental se emplearon datos obtenidos de los ensayos de toxicidad aguda y del análisis químico de las muestras con ello determinó el coeficiente de riesgo ambiental (CR) dando como resultado la confirmación del riesgo para los metales analizados en esta investigación.

Palabras clave: Contaminación de suelos, *Eisenia foetida*, riesgo ambiental, toxicidad aguda, PIRS.

ABSTRACT

The industries located in the Rio Seco Industrial Park are very important economically for the Arequipa region; however, it is important to take into account the environmental impacts that these processes can have when good environmental responsibility practices are not employed by the generators and the authorities. In this research, an analysis of soil contamination by industrial effluents in the area of the Rio Seco Industrial Park in Cerro Colorado was carried out, identifying the concentrations of metals and sulfides in the soil to later carry out a biomonitoring of 3 specific points of the affected area and a control, evaluating the lethal toxic effect using different concentrations of contaminated soil (control, 5%, 10%, 15%, 15%, 20%, 25%) during a period of 14 days in acute toxicity tests on *Eisenia foetida*, resulting in a LD50 of 9.665 %, 16.554 % and 16.759 % for MSC-1, MSC-2 and MSC-3 respectively, in addition, the sublethal effects of exposure of individuals to contamination were established, these were qualitative as coiling behavior, darkening and quantitative as weight loss and avoidance to contamination, in both a directly proportional relationship between the level of treatment and the parameters was demonstrated. For the evaluation of exposure to environmental risk, data obtained from acute toxicity tests and chemical analysis of the samples were used to determine the environmental risk coefficient (CR), resulting in the confirmation of the risk for the metals analyzed in this research.

Keywords: Soil contamination, *Eisenia foetida*, environmental risk, acute toxicity, PIRS.

INTRODUCCIÓN.

El suelo es un cuerpo natural y dinámico que cubre la superficie de la tierra, se trata de un sistema abierto, bastante complejo, de carácter estructural. Este constituye uno de los recursos naturales más importantes, dado que realiza multitud de funciones, en las que destaca la producción de alimentos, además es clave para el sostén de la vida y juega un papel importante en el medio ambiente (1). Cuando se ve afectado por compuestos que alteran su equilibrio se denomina contaminación negativa que se entiende por la degradación de la calidad de este, asociado a la presencia de sustancias químicas y/o biológicas nocivas, que provocan cambios perjudiciales y reducen su empleo potencial (2).

En el Perú existen políticas desarrolladas por entes gubernamentales encargados de conservar y restaurar el medio ambiente deteriorado a causa de las actividades humanas que han afectado de forma directa o indirecta a la naturaleza, es el caso del MINAM y el Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental (OEFA) el cual es el órgano público técnico especializado, encargado de impulsar y promover el cumplimiento de la normativa ambiental en los agentes económicos y la mejora del Sistema Nacional de Gestión Ambiental de manera articulada, efectiva y transparente, con el fin de resguardar el equilibrio entre la inversión en actividades económicas y la protección ambiental y de esa manera contribuir al desarrollo sostenible del país (3).

Las curtiembres realizan la importante actividad industrial de convertir las pieles de los animales en cuero, estas se encuentran ubicadas principalmente en el Parque Industrial de Rio Seco, distrito de Cerro Colorado, provincia y departamento de Arequipa. Presentan dentro de su proceso productivo tres etapas: limpieza, curtido y acabado; en cada una de las cuales y según la actividad generan diferentes tipos y cantidades de contaminantes; a pesar de la existencia de un marco legal que promueve su control, manejo y mitigación ambiental; sin embargo, no se cumplen y tampoco existen mecanismos de control. Entre los metales pesados vertidos al ambiente como producto de la actividad industrial, está el cromo, que en su estado de Cr+3 constituye un microelemento esencial, pero en presencia de materia orgánica y condiciones ligeramente ácidas suele transformarse a Cr+6, considerado como un potente agente cancerígeno, y mutagénico en humanos. La industria de curtiembres contribuye

especialmente a la contaminación por cromo, al consumir aproximadamente el 32 % del cromo total mundial, que al ser vertido al ambiente suele acumularse en los sedimentos y/o transformarse en subproductos (4). Las lombrices de tierra, junto con otros organismos macro descomponedores, están entre los organismos más importantes del suelo debido a la capacidad de descomponer la materia orgánica, reciclamiento de nutrientes y formación de suelo, esta importante función puede ser afectada por la presencia de elementos químicos tóxicos en el suelo; es por ello, que son empleados en la evaluación de los efectos de contaminantes mediante bioensayos de toxicidad. Para ello se han desarrollado metodologías estandarizadas, las cuales se llevan a cabo para determinar los efectos agudos y crónicos en lombrices de tierra; estas pruebas evalúan la contaminación del suelo, a través de indicadores como mortalidad, reproducción u otra respuesta subletal en los organismos. Se ha encontrado que las lombrices de tierra son más sensibles a suelos recolectados en terreno que a suelos artificialmente contaminados, es por esto que el uso de suelos recolectados en terreno refleja, de mejor manera, la interacción entre los elementos del suelo con los organismos asociados a éste en condiciones naturales (5).

Los ensayos de ecotoxicidad representan una prueba para la evaluación de contaminantes utilizando organismos de prueba, así como una estrategia para la caracterización ecotoxicológica de suelos contaminados; se han desarrollado desde los años 80 y muchos de ellos se han basado en la prueba desarrollada en 1984 por la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD) (6). Los organismos puestos a prueba más utilizados para evaluar efectos agudos y crónicos de los compuestos tóxicos en suelos son: lombrices, enquitreidos, colémbolos y ácaros predadores (7). Se considera que las lombrices son organismos de prueba útiles para monitorear la toxicidad que provocan varios compuestos o xenobióticos, incluyendo metales pesados, plaguicidas, contaminantes orgánicos, mezclas complejas y desconocidas de contaminantes en suelos. Los efectos causados por compuestos en *E. foetida* y *E. andrei*, son relativamente bien conocidos, dado que se han realizado pruebas con estas lombrices por más de dos décadas. Dentro de los efectos que se pueden evidenciar en estos organismos se tiene: reducción de la población, enrollamiento del cuerpo, contracción longitudinal de los músculos, hinchazones, quemaduras, entre otros, estos efectos varían dependiendo del tipo de contaminante.

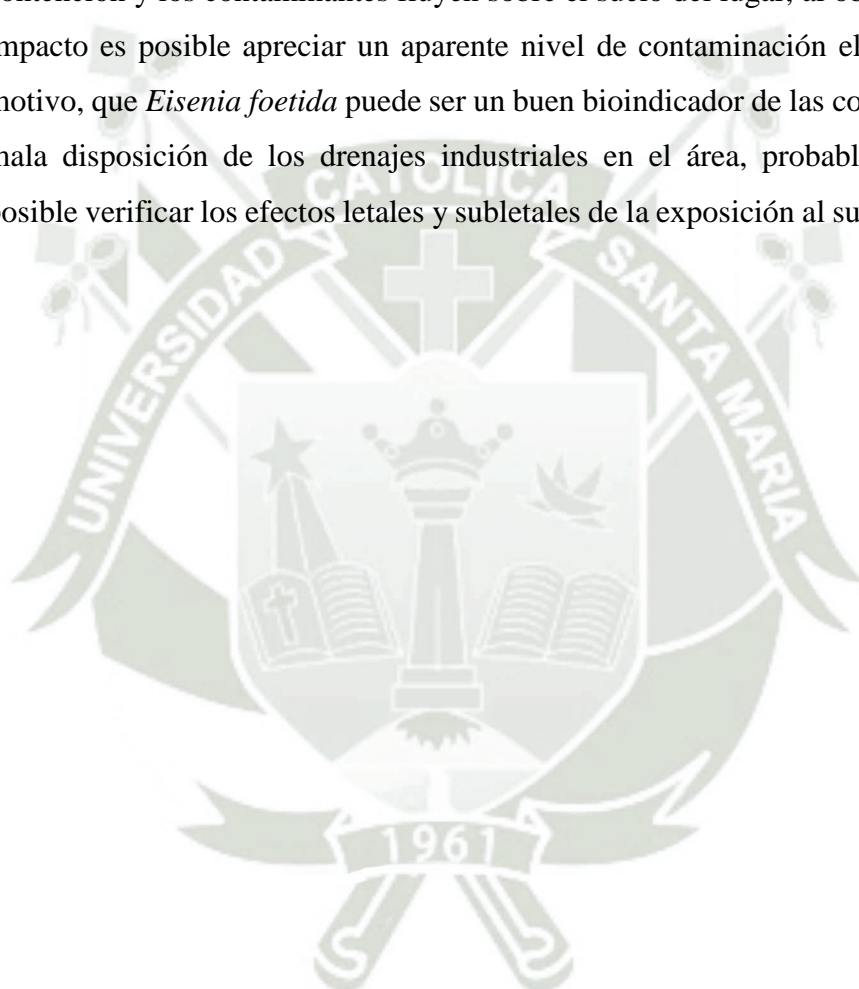
El objetivo de las pruebas de ecotoxicidad es determinar la DL_{50} , que es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, en un plazo definido, del 50 % de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. Además de otros parámetros como la concentración efectiva mediana (EC_{50}) que es la concentración de una sustancia en un medio ambiental que se espera que produzca un cierto efecto en el 50 % de los organismos de prueba, estos términos de deben confundirse ya que indican distintas respuestas (8). Otros parámetros analizados en este test son NOEC que es la concentración más alta de tóxico de las empleadas en un bioensayo que no causa un cambio estadísticamente significativo en el valor de la variable dependiente (mortalidad, alteraciones de la reproducción, cambios comportamentales, etc.) en la población al ser comparada con el control; y LOEC que es la concentración más baja de tóxico de las empleadas en un bioensayo que causa un efecto estadísticamente significativo en el valor de la variable dependiente al ser comparada con el control.

Para poder calcular los datos es necesario realizar un experimento con varios tratamientos diferentes: un control y varias concentraciones de tóxico con una replicación mínima de tres o superior; tras un periodo de tiempo (que dependerá de las concentraciones empleadas y la sensibilidad de la especie estudiada) se monitoriza el parámetro o parámetros estudiados. Con los datos obtenidos se realizan los análisis estadísticos pertinentes, siendo la variable dependiente la respuesta (mortalidad, alteraciones de la reproducción, cambios comportamentales, etc.) y la variable independiente la concentración de tóxico (9). Por último, es importante llevar a cabo la evaluación de la exposición al riesgo ambiental cuya finalidad es determinar la magnitud (actual o potencial) de la exposición a los contaminantes de preocupación considerando las vías principales a las que los receptores están expuestos, la información de exposición permite el cálculo del coeficiente de riesgo para determinar el nivel de significancia potencial de un riesgo ecológico de una sustancia (10).

El objetivo general del presente estudio fue determinar la exposición y ecotoxicidad de suelos contaminados por efluentes de industriales mediante el bioensayo de toxicidad con *Eisenia foetida*.

HIPÓTESIS.

Los efluentes proveniente del PIRS – Arequipa son liberados sin previo tratamiento a lagunas de oxidación en la zona, que actualmente están colapsadas en su capacidad de contención y los contaminantes fluyen sobre el suelo del lugar, al observar la zona de impacto es posible apreciar un aparente nivel de contaminación elevado, es por tal motivo, que *Eisenia foetida* puede ser un buen bioindicador de las consecuencias de la mala disposición de los drenajes industriales en el área, probablemente haciendo posible verificar los efectos letales y subletales de la exposición al suelo contaminado.



OBJETIVOS.

General:

- Determinar la exposición y ecotoxicidad de suelos contaminados por efluentes de curtiembres mediante el bioensayo de toxicidad con *Eisenia foetida*.

Específicos:

- Caracterizar fisicoquímicamente el suelo de la zona de estudio.
- Evaluar los efectos letales de la exposición al suelo contaminado por efluentes industriales sobre la *Eisenia foetida* determinando los valores de DL₅₀, LOEC y NOEC de los contaminantes encontrados en suelos.
- Identificar los efectos subletales de la exposición al suelo impactado por efluentes industriales.
- Estimar el riesgo ambiental empleando los datos obtenidos a partir de los bioensayos.

VARIABLES E INDICADORES.

En la **Tabla 1** se detallan las variables planteadas para la presente tesis.

Tabla 1. Variables e indicadores.

Variables independientes	Indicadores
Concentración de suelo contaminado en el medio artificial.	Gramos de suelo contaminado/gramos medio artificial.
Variables dependientes	Indicadores
Ensayo de evasión.	Conteo del bioindicador fuera del suelo afectado.
Efectos letales en el bioindicador <i>E. foetida</i> .	Mortalidad.
Efectos sub - letales en el bioindicador <i>E. foetida</i> .	Adelgazamiento. Oscurecimiento. Fraccionamiento. Lesiones superficiales.

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO.

1.1. Suelos.

El suelo es un cuerpo natural tridimensional, que forma parte de un ecosistema y que está en equilibrio con el medio ambiente. Por ello, su estudio debe iniciarse en el campo, observando de forma detallada y precisa, tanto el suelo en su conjunto, como el medio en el que se encuentra (11). Tiene como límite superior la atmósfera y un límite inferior difícil de ser definido. En términos generales, el suelo pasa de forma gradual en su límite inferior a roca dura o materiales saprolíticos (ver **Figura 1**) (12). Con frecuencia se considera que el suelo es un sistema abierto y dinámico, constituido por tres fases: sólida, líquida y gaseosa. La fase sólida está formada por los componentes inorgánicos como minerales y orgánicos que viene siendo la materia orgánica del suelo. Estas partículas sólidas dejan entre sí, una serie de huecos o poros, cámaras, galerías, grietas y otros, donde se hallan las fases líquida y gaseosa. La fase líquida del suelo está constituida principalmente por agua, que puede llevar en su seno sustancias disueltas o en suspensión y la fase gaseosa está formada por aire, constituyendo la atmósfera del suelo. De la misma forma, en el suelo se pueden encontrar raíces provenientes de la vegetación y diversos tipos de microorganismos que son parte del ecosistema natural (11).

Las interacciones entre las fases sólida y líquida adquieren especial relevancia al existir en la fase sólida partículas cargadas eléctricamente y de elevada superficie específica, estas partículas cargadas intervienen en los procesos de adsorción e intercambio iónico, los cuales, son fundamentales para la actuación del suelo como depurador natural, para la vida en el suelo y en concreto para la nutrición de las plantas. Las fases líquida y gaseosa se hallan en cambio constante, tanto en cantidad como en composición. La lluvia, el riego y las filtraciones incorporan agua al sistema, y la evapotranspiración constituye la principal vía de salida en condiciones en las que no haya pérdidas por percolación es así, como el aporte de agua diluye el contenido iónico de la fase líquida y la evapotranspiración concentra las soluciones del suelo (13).

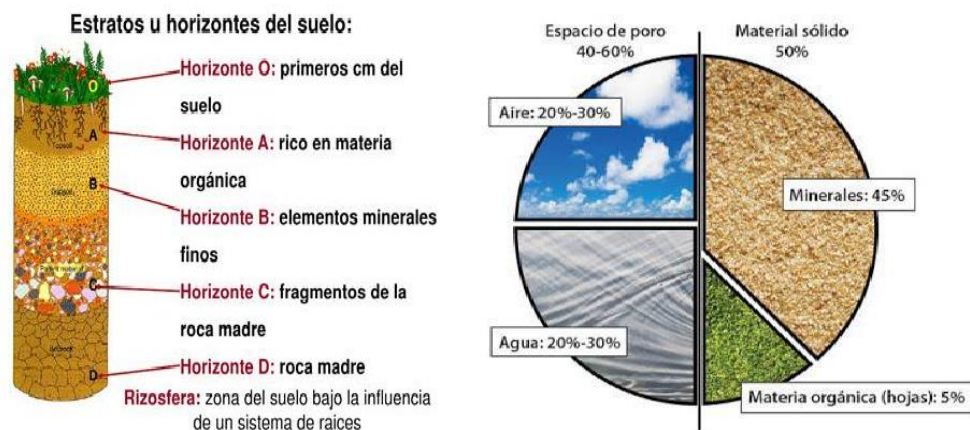


Figura 1. Estratos y composición del suelo. Tomado de Soubie (14).

1.1.1. Componentes del suelo.

Inorgánicos.

Los componentes inorgánicos del suelo como se mencionó anteriormente son los minerales, un mineral es un sólido natural inorgánico que presenta una estructura interna ordenada y una composición química definida (15), éstos varían de acuerdo con las condiciones de medio y el material parental. Por lo general los suelos tienen minerales diferentes, Los principales grupos de minerales primarios corresponden a silicatos, aunque también se presentan óxidos, hidróxidos, carbonatos, sulfatos, sulfuros y fosfatos.

El oxígeno es el principal componente de la materia mineral, con un peso que suele sobrepasar la mitad del total de los compuestos presentes. Otros elementos predominantes en la estructura del suelo son aluminio, hierro, potasio, calcio, magnesio y sodio. Todos los demás elementos que componen la parte mineral no sobrepasan el 5 % del peso total de suelo en términos generales. Los minerales más abundantes en el suelo son los aluminosilicatos y los óxidos de aluminio, silicio y hierro (16).

Orgánicos.

Los componentes orgánicos del suelo no se encuentran al momento de su formación, debido a que no están presentes en el material parental. La fuente de estos componentes es la materia orgánica proveniente de plantas, microorganismos y animales, esta materia orgánica presente en los suelos está compuesta por dos

componentes primero la materia orgánica fresca y segundo, el humus. La materia orgánica fresca (no humificada) es la materia prima para la formación de sustancias húmicas, y consiste en la biomasa vegetal y microbiana. Por otra parte, el humus es el producto resultante de la transformación de materiales primarios, generados por plantas y microorganismos, que han perdido sus características químicas; el humus constituye entre un 60 a un 80 % de la materia orgánica del suelo (17).

A pesar de ser la fracción menor de la composición del suelo, la materia orgánica es el componente fundamental que determina la calidad y productividad del suelo. La fertilidad, la disponibilidad de agua, la susceptibilidad a la erosión, la compactación, e incluso la resistencia de las plantas a los insectos y las enfermedades, dependen en gran medida de la materia orgánica del suelo. La materia orgánica del suelo es el elemento de enlace de las propiedades biológicas, químicas y físicas de un suelo, se asocia y cumple roles esenciales en numerosas funciones de este como el ciclo de los nutrientes, la retención de agua y el drenaje, el control de la erosión, la supresión de enfermedades y la remediación de la contaminación.

La materia orgánica del suelo afecta la calidad de este pues almacena y suministra los nutrientes para las plantas, estabiliza y mantiene las partículas del suelo en forma de agregados. También ayuda a minimizar la compactación del suelo, favorece la infiltración de agua, así como también, reduce el escurrimiento, por lo tanto, facilita el crecimiento de los cultivos mediante la mejora de la capacidad del suelo para almacenar agua. Finalmente la materia orgánica es la fuente de carbono y energía para los microorganismos del suelo que reciclan los nutrientes (18).

1.1.2. Importancia del suelo

El suelo juega un rol prioritario en la sostenibilidad de los ecosistemas tanto los naturales como agrarios en los que se constituye como un reservorio temporal del ciclo del agua a la que filtra y depura en su recorrido hacia los acuíferos. Otra función recae en servir de soporte a todos los seres vivos del ecosistema, vegetales y animales, a los que suministra el agua y los nutrientes que necesitan para el desarrollo completo de su ciclo vital. La calidad del suelo está relacionada con su capacidad para desarrollar estas funciones mencionadas en el ecosistema; estas dependen en gran medida del contenido en materia orgánica cuyo componente principal es el carbono

orgánico. En los ecosistemas naturales, mientras no exista una alteración de las condiciones ambientales, permanece constante el contenido en carbono orgánico del suelo, cada año la vegetación toma del suelo el agua y los nutrientes que necesita y junto con el CO₂ proveniente de la atmósfera a través del proceso de fotosíntesis generando de esta manera biomasa que termina por incorporarse al suelo donde en un proceso relativamente rápido evoluciona a humus por la intervención temprana de los microorganismos; cada año, este humus se mineraliza en una proporción que varía del 0,5 al 5 % según los ambientes, la acción de los microorganismos emite CO₂ a la atmósfera y libera en el suelo los nutrientes que son aprovechados de nuevo por la vegetación en un ciclo constante. En los ecosistemas naturales en equilibrio cada año se genera a partir de los restos orgánicos incorporados al suelo, la misma cantidad de humus que se mineraliza por la acción de los microorganismos (19). La intervención humana ha alterado los ciclos biogeoquímicos de los suelos con actividades productivas intensas como la ganadería y las prácticas agrícolas o forestales inadecuadas y la expansión de las ciudades ha provocado su contaminación. (20)

1.1.3. Efecto de la contaminación en suelos.

La contaminación del suelo supone una alteración de la capa superficial terrestre con sustancias químicas o biológicas que resultan ser perjudiciales para la vida en distintas medidas, estas sustancias ponen en grave peligro los ecosistemas y nuestra salud así como la de los organismos vivos que dependen de ellos; los principales tipos de contaminación del suelo son los siguientes:

Contaminación endógena o natural: La cual se trata del tipo de contaminación del suelo que se da de forma natural, ya que esta ocurre cuando la preceden fenómenos naturales que arrastran y filtran en el suelo elementos químicos naturales pero en concentraciones desproporcionadas que perturban la salud natural. Por ejemplo, lluvias ácidas o que arrastran materiales, como los metales pesados, y las erupciones volcánicas, etc.

Contaminación antrópica: Es el tipo de contaminación que producimos los humanos, se da cuando a través de las actividades humanas introducimos agentes contaminantes en la naturaleza.

Contaminación por sustancias químicas: Esta forma parte de la contaminación antrópica, ya que esta se presenta cuando productos químicos sintéticos o xenobióticos son introducidos en el medio ambiente. Es el caso de los pesticidas y plaguicidas, los hidrocarburos y solventes.

Contaminación del suelo por infiltración: El agua se infiltra entre la tierra mediante un proceso natural, pero resulta perjudicial cuando en ocasiones esta está contaminada y se deposita toda la contaminación del agua en el suelo.

Contaminación de la tierra por residuos: La acumulación de residuos sólidos, ya sean del hogar o grandes industrias, en un lugar puntual genera a su vez un nivel elevado de contaminación directa sobre el suelo que está expuesto, pues el proceso de degradación de los residuos por la exposición al ambiente y su lixiviación resulta ser perjudicial para los ecosistemas.

Todos estos tipos de contaminación tienen en común causar efectos negativos en la integridad de los suelos. La pérdida de calidad del terreno supone una serie de consecuencias, que van desde la desvalorización hasta la imposibilidad de uso del suelo para cultivar, construir o, albergar un ecosistema saludable.

Si no se emplean medidas correctivas según el tipo de contaminación las consecuencias pueden sufrirse de forma silenciosa, perjudicando constantemente a humanos o especies animales y vegetales.

Por otro lado, junto a un lógico deterioro del paisaje por el empobrecimiento del ecosistema, y a menudo una pérdida irreversible, la contaminación de la tierra supone pérdidas millonarias al impedir la explotación de ese entorno natural por parte de la población autóctona como lo son las dificultades para la agricultura y ganadería o de inversores industriales (21).

1.2. Lombrices / *Eisenia foetida*

La *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana) es una especie de lombriz de tierra del género *Eisenia*, perteneciente a la familia Lumbricidae, del orden de los haplotáxidos, perteneciente a su vez a la subclase de los oligoquetos. Algunas de sus características particulares son que su es color rojo oscuro, respiran por medio de su piel., poseen una longitud de aproximadamente 6 a 8 cm, de 3 a 5 milímetros de diámetro y pesa aproximadamente 1 gramo. Están dotadas de 5 corazones y 6 pares de riñones (ver **Figura 2**). Esta especie no soporta la luz solar, una lombriz expuesta a los rayos del sol muere en unos pocos minutos. El tiempo de vida es de aproximadamente 15 años y puede llegar a producir, bajo ciertas condiciones, hasta 1.300 lombrices al año. La lombriz es hermafrodita insuficiente (tiene ambos sexos, pero necesita aparearse para reproducirse). Estas lombrices, a 21°C tienen la máxima capacidad de reproducción, por lo tanto, se reproducirán más durante los meses cálidos, cuando la temperatura es inferior a 7°C, las lombrices no se reproducen, pero siguen produciendo abono, aunque en menor cantidad. En cuanto a su habitad está distribuida a nivel mundial suele vivir en ambientes húmedos, oscuros y se nutre de restos orgánicos ya sean vegetales o animales en descomposición, siendo un excelente recuperador de suelos (22).



Figura 2. *Eisenia foetida*. Tomado de Shutterstock (23).

En cuanto a su ciclo de vida, esta especie se reproduce una vez por semana mediante fecundación cruzada, de cada acoplamiento resultan 2 cocones o capullos (uno de cada consorte). Cada uno contiene de 2-4 lombrices. Los cocones son abandonados por los progenitores, permaneciendo en el medio de cultivo. Las lombrices se reproducen

prácticamente durante todo el año, aunque se observa un incremento de dicha tasa en los meses cálidos (ver **Figura 3**).

Las lombrices pequeñas o también llamadas juveniles permanecen en el cocón un tiempo variable que depende de la temperatura reinante. La óptima para su desarrollo son los 20-25°C, que se corresponden con una permanencia de entre 14 y 44 días (23 días de media). Los juveniles en el interior del cocón se nutren de las secreciones albuminoideas que contienen hasta su nacimiento.

Las lombrices son de desarrollo directo, no proporcionan larvas como ocurre con otros invertebrados, naciendo de los cocones pequeños animales parecidos a los padres, con los mismos hábitos alimentarios y similar dieta. Estos juveniles, son transparentes y de pocos milímetros de longitud pero al cabo de 50-65 días ya miden de 2 a 3 cm. Alcanzan la capacidad para reproducirse cuándo estos ejemplares posean clitelo es decir, engrosamiento en el tercio anterior del cuerpo (24).



Figura 3. Ciclo de vida de *Eisenia foetida*. Tomado de Lombricescalifornianas.cl (25).

Dado a la estrecha relación que mantienen estos organismos con el suelo, las lombrices son consideradas como indicadores del impacto en el uso del suelo y su fertilidad, se han establecido en modelos de toxicidad para determinar la contaminación ambiental, siendo *E. foetida* comúnmente usada.

Las lombrices son organismos mucho más sensibles a la contaminación que otros invertebrados, asimismo, han demostrado ser indicadores biológicos que permiten determinar adecuadamente la toxicidad y los posibles riesgos de los contaminantes en

el suelo, algunos de los efectos que se pueden evidenciar en estos organismos se tiene: reducción de la población, enrollamiento del cuerpo, contracción longitudinal de los músculos, hinchazones, quemaduras, entre otros (26).

1.2.1. Anatomía externa.

La especie *Eisenia foetida* son organismos segmentados, de forma cilíndrica y que carecen de ojos. Presentan sedas o quetas, las cuales son filamentos semejantes a los pelos, estos varían en formas y tamaños, la lombriz los emplea para remover y escarbar la tierra. Los segmentos de la mitad anterior del cuerpo se engrosan, por la presencia de grandes glándulas epidérmicas, las cuales secretan sustancias para el apareamiento y formación de capullo; esta zona es denominada clitelio y la aparición de esta estructura es un indicador la de adultez del organismo (27) (ver **Figura 4**).

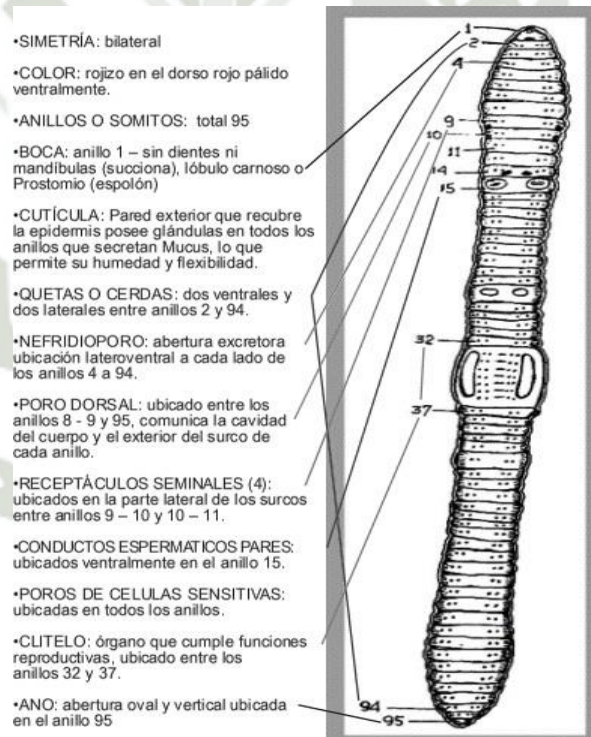


Figura 4. Anatomía externa de *Eisenia foetida*. Tomado de Agroflor (28).

1.2.2. Anatomía sistemática.

Pared del cuerpo y celoma.

La pared del cuerpo consta de un tegumento el cual cubre la epidermis, tiene células secretoras de moco y presenta sedas (pelos), posee una musculatura bien desarrollada,

compuesta por una capa externa de fibras circulares y otra interna de fibras longitudinales (ver **Figura 5**).

En general la pared está constituida de afuera hacia dentro por:

- Una cutícula, (lámina muy delgada, generalmente de color marrón brillante)
- Una epidermis, (epitelio simple con células glandulares que producen una secreción mucosa, también hay células glandulares que producen una secreción serosa).
- Capas musculares, (son dos, una circular externa y una longitudinal interna).
- Peritoneo, (es una capa más interna y limita exteriormente con el celoma de la lombriz).
- El celoma es una cavidad que contiene líquido celómico, se extiende a lo largo del animal y envuelve el canal alimenticio, está dividido en compartimentos por los septos, presentan poros los cuales permiten el flujo del líquido celomático para mantener la humedad del tegumento (29).

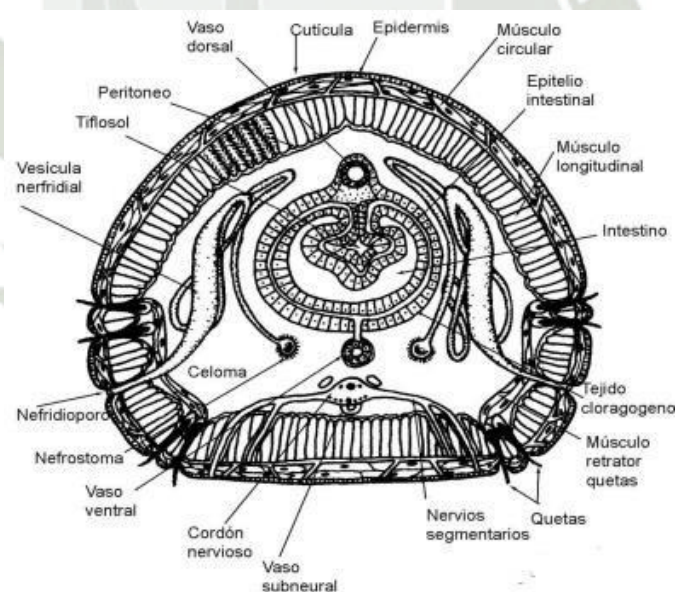


Figura 5. Sección transversal del cuerpo de la lombriz. Tomado de Pascal (30).

Sistema nervioso.

Este sistema nervioso es ganglionar. Posee un par de ganglios supraesofágicos, (cerebelo), de los que parte una cadena ganglionar además de un cordón nervioso central que posee derivaciones a células nerviosas de cada anillo, lo que le permite a

este organismo percibir sensaciones de tacto, humedad, temperatura y luminosidad, determinando reacciones del sistema muscular y modificando el comportamiento.

Los lumbrícidos presentan un ganglio cerebroide (cerebro) localizado antes de la faringe, y se conectan al ganglio subfaringeo a través de tejidos conectivos supraesofágicos y están relacionados por comisuras de unión ubicados en el tercer anillo. El ganglio subfaringeo, es el centro de control motor y reflejos vitales, a partir de este ganglio se extiende la cuerda nerviosa, conformado por dos cordones nerviosos ventrales unidos, que se encuentran debajo de los músculos de la pared del cuerpo. Por otro lado, el prostomio se encuentra inervado por el ganglio cerebroide. Si el ganglio subfaringeo se destruye, la lombriz no puede realizar movimiento alguno, mientras que si esto ocurre con el ganglio cerebroide, la capacidad motriz sigue normalmente, pero hay una pérdida de correlación entre el movimiento y las condiciones externas ambientales (31).

Sistema digestivo y nutrición.

La lombriz tiene un aparato digestivo relativamente complejo para un animal de su tipo. Los alimentos que generalmente consisten en materia orgánica en descomposición presente en los suelos entran por la boca, para luego pasar a la faringe que actúa como una bomba aspirante y posee glándulas, las cuales son capaces de producir una secreción salival, que contiene enzimas y mucus, posteriormente mediante el uso de músculos mueve el alimento al resto de este sistema.

Una vez que pasa el esófago que es de forma tubular, llega directo a un buche o receptáculo de comida, posteriormente a una molleja donde se separa la tierra de los nutrientes, siendo una especie de estómago su función es triturar las partículas alimenticias. Por último, tras separar la tierra de nutrientes pasa al intestino donde se realiza la digestión y absorción, allí se secretan enzimas como la que ayudan con a la degradación y asimilación de los nutrientes (ver **Figura 6**), los restos pasan a un largo intestino que desemboca en el ano, a través del cual saldrán las deposiciones que contienen la comida ya desprovista de lo que la lombriz necesita (32).

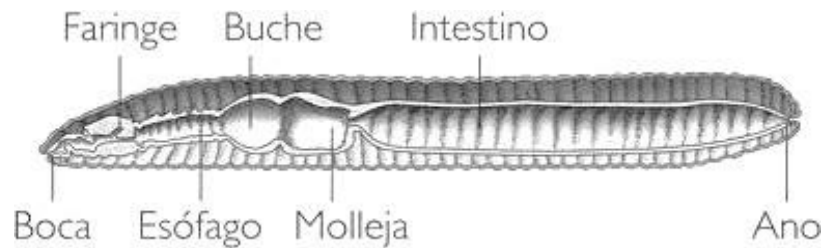


Figura 6. Esquema del Sistema Digestivo. Tomado de Dphuesca (33).

Sistema excretor.

El sistema excretor es metanefridial, estos organismos presentan dos tubos metanefridiales por cada segmento, excepto en los últimos extremos anterior y posterior. Los nefridios, son conductos intracelulares que atraviesan los septos y desembocan al exterior del cuerpo o en varias partes del aparato digestivo, éstos pueden ser cerrados o abiertos. Las lombrices pueden presentar diversas clases de nefridios como: exonefridios (abiertos al exterior), faríngeos (abiertos a la faringe) o enteronefridios (abren al intestino)

Las funciones principales de los nefridios son: filtración, reabsorción y transformación química. La filtración depende si el nefridio es abierto o cerrado, en el primer caso ésta se da en el nefrostoma, y si es cerrado a través de las paredes. La reabsorción, debido a que la orina es hipoosmótica, se da para las sustancias útiles como la glucosa y los aminoácidos, también se da con fosfatos, cloruros, sodio, potasio y agua. La orina en estos organismos está compuesta por restos proteicos, amoníaco y urea, los niveles de este último compuesto se ven influenciados por la dieta y las condiciones ambientales (32).

Sistema reproductivo.

La lombriz de tierra *Eisenia foetida* es hermafrodita, pero no se auto fecunda; para la reproducción se necesita la cópula de dos individuos distintos; cada organismo está dotado de un aparato genital masculino y de un aparato genital femenino. El aparato genital masculino está integrado por los testículos (2, 4, 6 pares), los cuales vienen a ser glándulas secretoras de esperma; su ubicación está en la parte anterior, muy cerca de la boca.

El aparato genital femenino es el que recibe el espermatozoides y lo retiene hasta el momento de la fecundación; este aparato está ubicado en la parte posterior del aparato genital masculino como se observa en la **Figura 7**.

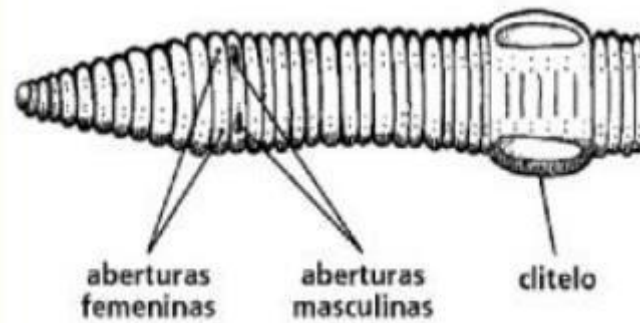


Figura 7. Partes del sistema reproductor. Tomado de García (34).

Este organismo vive aproximadamente 16 años, durante los cuales se acopla regularmente cada 7 días, si la temperatura y la humedad del medio son el adecuado, la Lombriz Roja alcanza su madurez sexual a los 3 meses de edad, como resultado del acoplamiento de dos lombrices, se producirán dos huevos o cápsulas (uno de cada lombriz) (ver **Figura 8**). Estas cápsulas se abrirán al cabo de 12 a 21 días, según la temperatura del medio donde se ubiquen y cada huevo o cápsula contiene de 2 a 21 pequeñas lombrices.

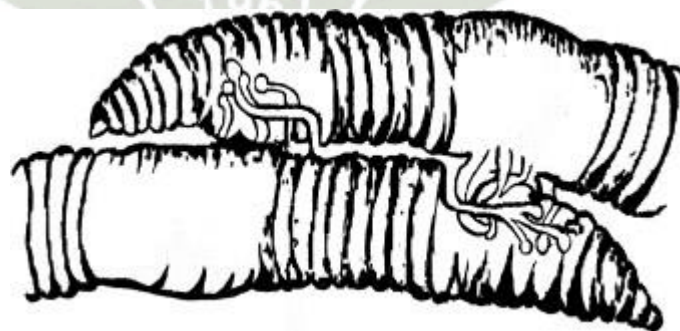


Figura 8. Posición de lombrices en fase de acoplamiento. Tomado de García (34).

Dos lombrices en fase de acoplamiento giran en sentido opuesto la una de la otra, de esta manera, puede contactar el aparato genital masculino de una con el aparato genital

femenino de la otra. Así, en cada acoplamiento, una lombriz recibe el espermatozoides de la otra y lo retiene en su propio aparato genital femenino hasta la fecundación (35).

La fecundación se efectúa a través del clitelium, cuyas glándulas producen el huevo o cápsula, éste tiene un color amarillo verdoso, con unas dimensiones aproximadas de 2-3 por 3-4 mm, no siendo por lo tanto redonda sino teniendo una forma parecida a una pera muy pequeña, redondeada por una parte y acuminada por la otra.

El capullo se forma a las 24 horas o días después de la cópula, allí se depositan los huevos. Su formación se genera por la acción glandular del clitelio, éste secreta tubos mucosos y un material envolvente resistente, formando el capullo. Posteriormente, por la contracción muscular éste se mueve hacia los poros femeninos donde se descargan los óvulos.

Continuando con la contracción muscular, el capullo se desplaza hasta las espermatecas, en donde es liberado el líquido seminal, fecundando los óvulos. Después de este proceso la lombriz libera el capullo ya que tiene todas las necesidades nutritivas que requiere el embrión al tener albúmina. Después salen las lombrices juveniles, a las cuales les toma varios meses en llegar a la madurez sexual, dependiendo de las condiciones del medio, por lo general puede ser entre 40 a 60 días. La madurez sexual, implica principalmente el desarrollo del clitelio, en donde ocurre el intercambio de espermatozoides (36).

Órganos sensoriales.

Los órganos sensoriales de estos organismos son simples y diseminados a lo largo del cuerpo del animal (ver **Figura 9**), no poseen ojos sin embargo el tegumento tiene consigo foto receptores en la pared interna de la epidermis, lo cuales permiten diferenciar la presencia o ausencia de luz. Esto es de vital importancia para su comportamiento ya que en el día generalmente se esconden y realizan excavaciones, mientras que en la noche salen a la superficie, así mismo, poseen órganos quimiorreceptores que les permite detectar y capturar el alimento, proveer de información sobre las condiciones ambientales y facilitar el proceso de reproducción (37).

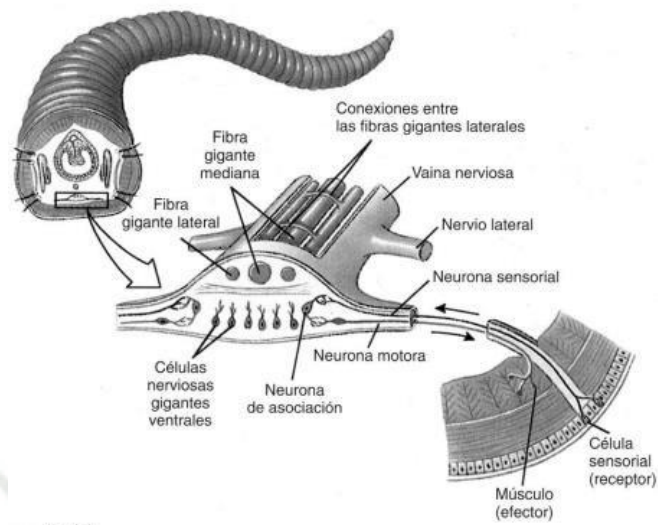


Figura 9. Células receptoras del tegumento. Tomado de Boulder (38).

1.3 Curtiembres.

1.3.1 Situación de las curtiembres en la región.

El Perú es el cuarto país en Latinoamérica productor de calzado después de Brasil, Argentina y Colombia, de este conglomerado Arequipa provee el 40 % del cuero de toda la demanda nacional, en otras ciudades como Trujillo y Lima también se desarrolla la industria de curtido.

En Arequipa se encuentran un promedio de 400 empresas de curtiembres (grandes, pequeñas y medianas), agrupadas en 60 asociaciones, entre otras empresas informales, a su vez, estas industrias generan efluentes que son descargados al ambiente con alto contenido de materia orgánica y concentraciones que pueden alcanzar niveles tóxicos de sustancias tales como el sulfuro y el cromo las cuales a corto o largo plazo podrían acarrear serias complicaciones en la salud de los habitantes y del entorno.

El gobierno regional de Arequipa dispuso 2 lagunas de oxidación para la captación de estos efluentes sin embargo, estas no cuentan con recubriendo de geomembrana por lo que muy probable que existan filtraciones a cuerpos de agua subterráneos y además desde hace tiempo han excedido su capacidad de contención y las aguas residuales discurren libremente impactando el suelo y cuerpos de agua en los alrededores.

Todas estas empresas se encuentran en el distrito de Cerro Colorado y representan un importante rubro para la ciudad, están localizadas específicamente al costado de la quebrada de Estaquillo, esta se ubica a lo largo de la penillanura de Arequipa y presenta 2 zonas diferenciadas la del desierto que nace en las laderas del lado este del complejo volcánico del Chachani y la de valle que desemboca en el distrito de Uchumayo, es en este valle donde se desarrollan actividades agropecuarias de las cuales se beneficia toda Arequipa y el país, algunos productos son de calidad de exportación y todos son fuente ingreso que contribuyen al progreso de los ciudadanos de la región (39).

El Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Negociaciones Comerciales Internacionales (MITINCI) recomienda a estas industrias que instalen plantas de tratamiento de aguas residuales comunes y plantas de reciclaje de cromo, sin embargo, las empresas no han puesto en marcha esta recomendación, por lo que está generando que se proliferen las empresas informales en diversas localidades vertiendo sus

efluentes sin un previo tratamiento, provocando que se eleven los niveles de contaminación de los ríos (40).

La situación se agrava debido a que las curtiembres que alguna vez estuvieron lejos de las zonas residenciales, ya que se encontraban en el centro de la ciudad pero ahora se encuentran rodeadas de casas, por lo tanto la zonificación del lugar ha cambiado y los efluentes ya mencionados causan malestar en la población debido a los malos olores y ser un foco infeccioso, además de la degradación del área donde se encuentran. Dada la problemática en el mal tratamiento de los efluentes industriales del PIRS es importante conocer el alcance de la contaminación además del impacto real que tiene sobre organismos vivos, así como poner en marcha planes de remediación ambiental y de tratamiento de los efluentes de forma inmediata para mitigar los impactos ambientales que vienen generando a diario debido al mal manejo de esta industria.

1.3.2 Proceso productivo en las curtiembres.

Es dominado curtido al proceso mediante el cual las pieles de los animales son transformadas en cuero, que se conserva a través del tiempo con características específicas de flexibilidad, resistencia y belleza. La piel histológicamente está constituida por tres partes: la epidermis (piel superficial), el cutis o corium (piel propia del cuero), y el subcutis (tejido conjuntivo situado debajo de la piel).

En las industrias del curtido se utilizan las pieles de los animales en bruto que se obtienen como subproducto de las industrias cárnicas, y que, de no ser por el curtido, habrían de ser depositarlas en botaderos, rellenos sanitarios o someterlas a incineración.

Las pieles que más comúnmente se utilizan son las de bovino, porcino y ovino, las cuales constituyen la principal materia prima del sector industrial del curtido.

Descripción del proceso.

En el proceso de curtido de cuero, tanto con sales de cromo como con agentes vegetales, se cumplen las siguientes etapas:

Etapas de ribera

- a. Recepción de la materia prima.
- b. Pre-tratamiento.

- c. Curado y desinfectado.
- d. Pelambre.
- e. Descarnado.

Etapas de curtido

- f. Desencalado.
- g. Desengrasado
- h. Piquelado.
- i. Curtido (al cromo)

Etapas de acabado

- j. Secado.
- k. Engrasado.
- l. Planchado y clasificación
- m. Almacenamiento

A continuación se describirá cada etapa del proceso de curtiembre:

- a. Recepción de la materia prima.** Las pieles crudas de los animales recién beneficiados tienen un gran contenido de humedad y pueden tener graves defectos debido a esto es que inicialmente es necesario realizar una inspección visual para asegurarse de que las pieles cumplan con los requisitos de calidad requeridos, de esta forma se evita su deterioro y productos finales que puedan presentar defectos.
Durante la etapa de recepción de las pieles se genera agua residual, proveniente del escurrido de la humedad contenida en las pieles y pieles rechazadas.

- b. Pre-tratamiento.** Las pieles son pesadas y también clasificadas por tamaño y por especie. A continuación se procede a cortar las partes del cuello, la cola y las extremidades. Estos trozos de pieles son lavadas para su rehidratación así como para reducir los residuos de sangre, excretas y otras suciedades contenidas. Para este lavado se utiliza hidróxido de sodio, hipoclorito de sodio y detergentes. Durante el desarrollo de esta etapa del proceso se emplea grandes cantidades de agua y sustancias químicas (hidróxido de sodio, hipoclorito de sodio y detergentes) para el lavado de la piel. Como

resultado, se generan aguas residuales, residuos sólidos orgánicos (recortes de piel) y envases vacíos de las sustancias aplicadas.

- c. Curado y desinfectado.** Las pieles en bruto se curan, salándolas o secándolas. El método más frecuente es el uso de sal en las dos formas siguientes: la salazón húmeda o el curado con sal muera. Durante esta operación se emplean grandes volúmenes de agua que arrastran consigo tierra y materia orgánica, así como residuos de sangre y estiércol. El curado con salmuera es un método más rápido y por ende, el más usado: en este proceso las pieles se colocan en grandes cubas que contienen desinfectantes (bicloruro de mercurio y ácido fénico), bactericidas como sulfato de sodio y ácido bórico además de una solución de sal próxima a la saturación. Se procede a agitar para mejorar el contacto de la piel con la solución. Después de pasar aproximadamente 16 horas en la cuba las pieles absorben por completo la sal. Para el desarrollo de esta actividad se requiere de agua, energía eléctrica para el agitador, sal y sustancias químicas (desinfectantes y bactericidas). Como resultado de la actividad se generan aguas residuales, residuos sólidos de piel y los envases vacíos de los productos químicos.
- d. Pelambre.** Una vez culminado el trabajo anterior las pieles escurridas pasan al proceso de pelambre donde se elimina la epidermis y el pelaje que las recubre, sumergiéndolas en soluciones de sulfuro de sodio y cal, para esto es necesario mantener una constante agitación. Es en esta etapa se produce al interior de la piel tratada un el desdoblamiento de las fibras a fibrillas que prepara el cuero para la posterior curtición. En este proceso se emplea un gran volumen de agua, cuyos efluentes poseen gran contenido de carga orgánica y un elevado pH de entre 11-12, debido a la presencia de la cal y sulfuro de sodio. Para el desarrollo de esta actividad se requiere de sustancias químicas y agua para la preparación de estas soluciones, por consiguiente, son generados efluentes de aguas residuales y envases vacíos de los productos químicos.
- e. Descarnado.** Antes de comenzar la etapa de curtido se procede al proceso de descarnado, donde se separan las grasas y carnazas que todavía pueden haber permanecido en la piel tras atravesar las etapas anteriores, estas se encuentran unidas a la parte interna de

la piel. Se procede a descarnar con máquinas especiales, logrando de esta forma eliminar los tejidos subcutáneos y adiposos adheridos a la piel, y con el fin de conseguir una correcta penetración de los productos químicos en las siguientes etapas del curtido. Luego son lavadas con abundante agua para eliminar los residuos que estén adheridos, y proceder posteriormente al desengrasado. Durante el desarrollo de esta etapa se consume energía eléctrica para el funcionamiento de las máquinas y agua para el lavado de la piel. Se generan residuos sólidos con un gran contenido de humedad, procedentes del descarnado (tejido subcutáneo y adiposo) y las aguas residuales.

- f. Desencalado.** Este es el proceso en el cual la piel es lavada para remover la cal y el sulfuro del proceso anterior, para ello se emplean importantes volúmenes de agua para evitar posibles interferencias en las etapas posteriores del curtido. Además se hace necesario utilizar sustancias químicas como ácidos orgánicos tamponados (sulfúrico, clorhídrico, láctico, fórmico, bórico) sales de amonio, bisulfito de sodio, peróxido de hidrógeno, azúcares y melazas. Inclusive, es empleado el ácido sulfofáltico para lograr la neutralización completa del agua y la piel. Es imprescindible realizar un correcto lavado de las pieles para su preparación para la siguiente etapa, estos lavados constantes demandarán el uso de grandes cantidades de agua además de la preparación de las soluciones de los productos químicos (ácidos) para la neutralización del agua y piel, generándose también en esta etapa un importante volumen de aguas residuales.
- g. Desengrasado.** En el desengrasado son empleados detergentes. En dependencia de las características de la piel se puede usar percloroetileno como solvente principal. Se preparan soluciones donde se sumerge la piel dejándola en reposo por un tiempo determinado dependiendo del origen de la piel. Las descargas líquidas que contienen materia orgánica, solvente y detergente son tratadas posteriormente. Para la limpieza de los poros de la piel y para la eliminación de las proteínas no estructuradas se utiliza cloruro de amonio, logrando homogeneidad, tesura y mayor elasticidad en la superficie del cuero en tratamiento.
- h. Piqueleado.** El proceso de piqueleado consiste principalmente en la preparación química de la piel para el proceso de curtido mediante la utilización de soluciones de ácido fórmico y ácido sulfúrico. Estos ácidos fuertes hacen un aporte de protones los

cuales se enlazan con el grupo carboxílico de los tejidos, esto con el objetivo de permitir una mejor difusión del curtiente en el interior de la piel, sin que se fije en las capas externas del colágeno, y de esta manera mejorar su conservación. En esta etapa se requiere el uso de sustancias químicas y agua para el preparado de las soluciones.

- i. Curtido.** El proceso de curtido a base de sales de cromo es el más empleado, pero el más contaminante por efecto tóxico de este elemento (Cr.). Este método permite estabilizar el colágeno de la piel mediante agentes curtientes minerales transformando la piel en cuero. En los curtidos minerales son comúnmente empleados diferentes tipos de sales de cromo en muy variadas proporciones. Antes de entrar al proceso de curtido se hace el escurrido de la piel para eliminar el mayor contenido de humedad. Para llevar a cabo este proceso la piel es introducida en una máquina denominada divisora. La acción del cromo trivalente en un medio ácido (ácido clorhídrico), permite convertir a la piel en cuero (material estable), impidiendo su degradación. El tiempo de duración del proceso de curtido es de 8 a 24 horas. El cromo que no es absorbido por el cuero puede ser reutilizado. Una vez secos los cueros se someten a distintos procesos de ablandamiento, quedando listos para su terminación o acabado final. Allí, se les aplican productos que en combinación con procesos mecánicos, hacen que el cuero sea más durable y resistente. En la etapa de curtido se prepara el cuero mediante dos procesos: el primero es el proceso mecánico de post-curtición, el cual le da un espesor específico y homogéneo al cuero y el segundo es el proceso húmedo de post – curtición, que es el neutralizado, recurtido, teñido y engrasado del cuero.
- j. Secado.** Esta etapa de trabajo depende enteramente del proceso anterior de curtición y de aquellas propiedades que se desea proporcionar a los cueros procesados. La velocidad del secado es muy importante: a velocidades muy rápidas la superficie exterior puede tender a secarse mientras las partes interiores se mantienen húmedas. El secado de los cueros se realiza, principalmente en los cueros de clase superior, según el procedimiento de la llamada desecación adhesiva, en la que se adhiere el cuero húmedo sobre platos de vidrio y se lo seca estirándolo.

- k. Engrasado.** El engrasado se realiza con el objetivo de evitar el cuarteamiento del cuero posterior al secado, el objetivo es convertirlo en suave, fuerte y flexible. Este proceso consiste en la impregnación del cuero con aceites emulsionados, los cuales son depositados en las fibras de cuero, fijándose y dando el acabado deseado. En el engrasado hay que distinguir entre un engrasado sencillo, engrasado a mano o en tinas. En toda esta serie de tratamientos se va elevando la cantidad de aceite emulsionado y con ello la impermeabilidad y la “calidad” del cuero. Durante el desarrollo de esta etapa se requiere de aceites engrasantes emulsionados (minerales y vegetales).
- l. Planchado y clasificación.** Se utilizarán distintas máquinas según el tipo de terminación que se desee dar al cuero. Éstas pueden ser rotativas, de mesa o de prensado, las cuales otorgan brillo o satinan el cuero. Una vez terminada la operación del planchado los cueros se clasifican por tamaño y por su calidad, pasando al área de almacenamiento.
- Para el desarrollo de esta actividad se requiere de vapor, generándose condensados de vapor durante toda la operación.
- m. Almacenamiento.** Los cueros serán almacenados de acuerdo con su tamaño, calidad y color, sobre una superficie plana, debe ser en un área ventilada y libre de humedad ambiental. Además, son cubiertos ya que es importante evitar la luz solar (41).

1.3.3 Generación de residuos y aspectos ambientales.

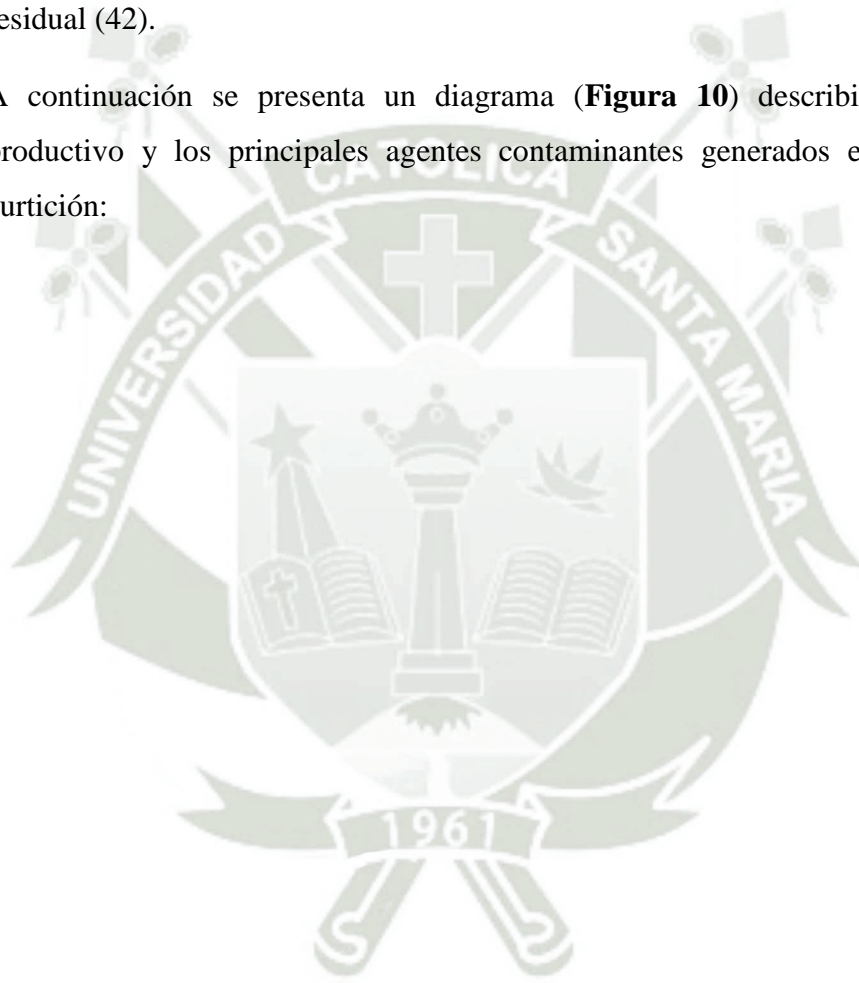
Comúnmente los desechos de curtiembre poseen un número de constituyentes en cantidades variables y pero altamente significativas, dependiendo de la materia prima, proceso y producto final que conllevan el procesamiento de las pieles. Algunos de los materiales que de forma común pueden aparecer en los desechos de curtiembre, incluyen entre otros: pelo, pedazos de piel y carne, sangre, estiércol, sales, sal común, sales de cromo y sulfuros entre otros (41).

Estos residuos, cuando se presentan producto del proceso de curtición, pueden descargarse en estado gaseoso, líquido, o sólido. Son de mayor significancia los desechos líquidos debido a la alta cantidad de generación que tienen. Sin embargo, los materiales gaseosos y sólidos son importantes en ciertas operaciones individuales y se

deben considerar para su disposición. Si la curtiembre cuenta con una planta de tratamiento de efluentes se generan aun así lodos una vez concluido el proceso de curtido (43).

Cuando se depuran los efluentes líquidos se produce una gran cantidad de lodo residual, es decir, aparece un nuevo residuo sólido, que anteriormente no existía por cuanto todos sus componentes eran evacuados en conjunto con el total del agua residual (42).

A continuación se presenta un diagrama (**Figura 10**) describiendo el proceso productivo y los principales agentes contaminantes generados en el proceso de curtición:



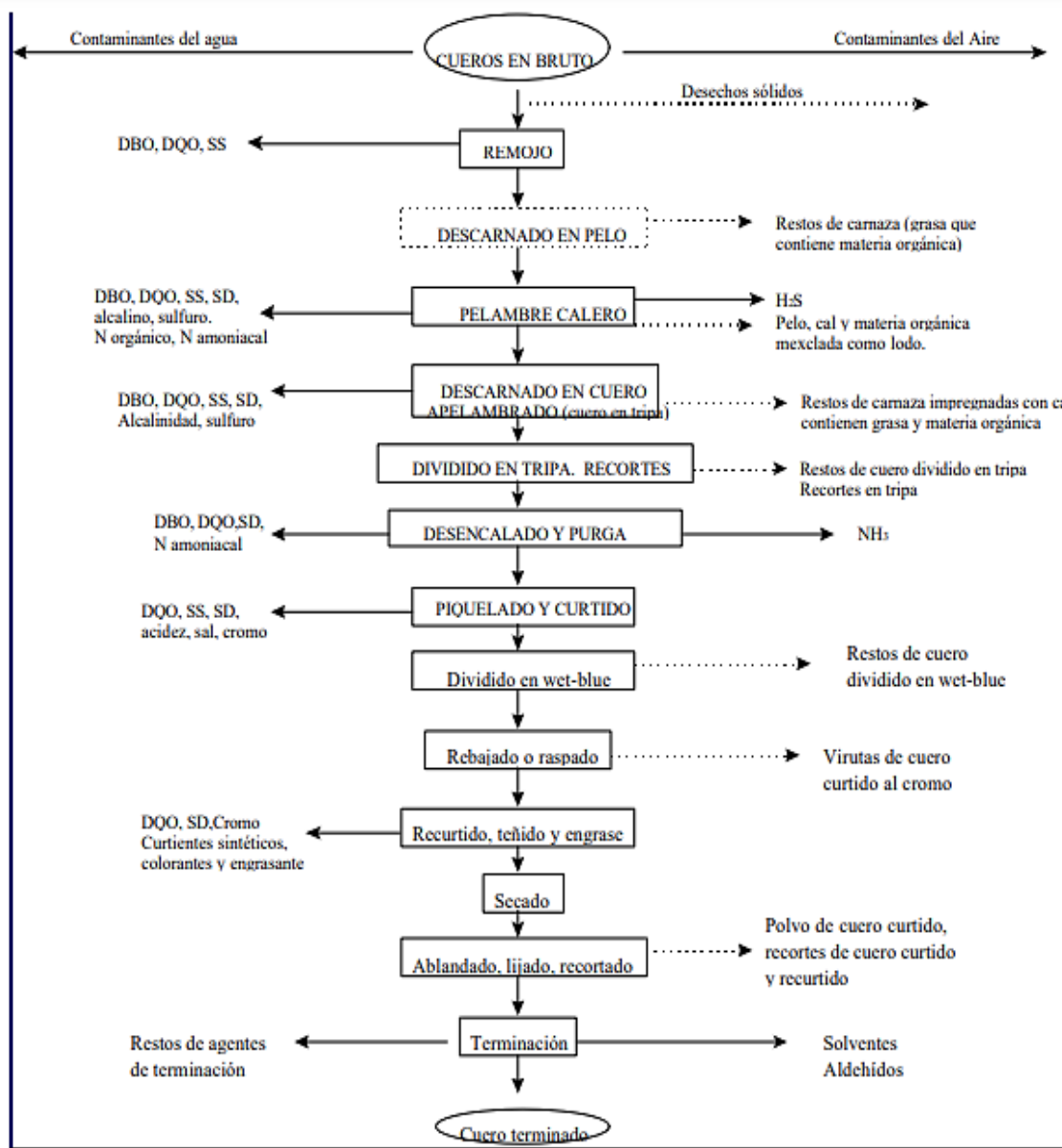


Figura 10. Procesos productivos y contaminantes generados en cada etapa del proceso de curtido. Tomado de Comisión Nacional del Medio Ambiente (43).

Los procesos más importantes para convertir una piel en cuero se efectúan en medios acuosos. Cada etapa del proceso va generando residuos industriales líquidos con distintos grados de contaminación, siendo la más importante en términos de carga orgánica expresada en DBO₅ (44).

Residuos líquidos

Debido a las características del proceso de curtición de pieles, para llevar a cabo un análisis adecuado de los residuos industriales generados, es idóneo separar los procesos en tres etapas: ribera, piquelado y curtición, y procesos de post curtición.

Ribera:

La fuerte carga contaminante generada tiene los siguientes orígenes:

- a) Suciedad adherida a las pieles por su cara exterior: Compuesta principalmente por tierra y estiércol adherido al pelo. Se eliminan en la primera etapa de remojo generando en los residuos industriales líquidos sólidos suspendidos y DBO₅.
- b) Componentes constitutivos del cuero propiamente: En general, esta corresponde a todos los componentes del cuero distintos del colágeno, es decir, proteínas no estructuradas y mucoproteínas, que se encuentran en la sangre y líquido linfático, debido a que desde el punto de vista de la curtición es indeseable, ya que son estructuras proteicas que interaccionan fuertemente con el cromo, generando cuerpos insolubles y que al quedar en el tejido interfibrilar hacen perder al cuero propiedades importantes como son la blandura, flexibilidad, elasticidad. Estos componentes proteicos no estructurados deben ser eliminados, de preferencia, en las primeras etapas de remojo, ya que justamente actúan degradando y solubilizando especialmente a las globulinas y mucoproteínas. La eliminación de estos componentes por solubilización en medio acuoso se traduce en un incremento de la DBO₅.
- c) Pelo: Es un componente del cuero en bruto, compuesto formado por queratina. Es química y bioquímicamente muy estable. Su destrucción en la etapa del pelambre se hace posible por la acción de grandes cantidades de compuestos como de sulfuro y cal, lo que produce un medio altamente alcalino. Esta destrucción con lleva a un drástico aumento de la DBO₅ en el efluente así como también, un importante aumento de los sólidos suspendidos.
- d) Grasas: Están presentes de forma abundantemente como tejido adiposo adherido en el lado carne del cuero. Durante el proceso de pelambre se saponifican de forma parcial en el medio básico, dando origen a una parte del valor del extracto etéreo del efluente total de curtiembre.
- e) Sulfuro: El sulfuro es un producto fundamental en el proceso de destrucción del pelo o pelambre. Se trata de un elemento muy tóxico en medio acuoso, principalmente por

su carácter reductor el cual provoca una drástica disminución del oxígeno disuelto en los cursos de agua y además cuando las soluciones acuosas que lo contienen bajan su pH del valor 10, se desprende ácido sulfhídrico gaseoso que al ser inhalado en ciertas concentraciones podría llegar a ser mortal. La presencia del sulfuro en el proceso de pelambre explica que este proceso por si solo sea responsable del 76 % de la toxicidad total del efluente.

- f) Cal: La cal apagada en polvo es un producto técnico de alta concentración en hidróxido cálcico, aproximadamente un 90 %. Se usa en la etapa ribera debido, principalmente, a su bajo costo y a su poca causticidad como álcali. Es muy poco soluble (1,29 gr/l a 20°C), en el proceso de curtido los baños se preparan siempre con un exceso de cal (10 gr/l y superiores) por lo tanto, cierta porción queda en suspensión, contribuyendo a elevar los valores de sólidos suspendidos en los efluentes. Es el único material usado por la curtiembre que da sólidos en suspensión, ya que la mayoría de las materias en suspensión provienen de las pieles empleadas.
- g) Alcalinidad: En sí misma el PH alcalino propia del baño de pelambre es un elemento de contaminación, ya que por su alto valor de pH debería ser neutralizada antes de su descarga.
- h) Salinidad: se genera principalmente en la etapa de remojo y corresponde a sal común proveniente de la etapa de conservación del cuero cerca del 60 % de la salinidad total del proceso de curtido y en menor proporción las otras etapas de la ribera con valores menores.
- i) Nitrógeno amoniacal: Un valor típico para efluente unificado de curtiembre es 70 mg/lit, también tiene su origen en la operación de ribera, siendo su principal fuente el sulfato de amonio usado durante el desencalado. También es recurrente la presencia de nitrógeno amoniacal en las fermentaciones anaeróbicas producto de la desnaturalización de proteínas presentes en la piel. Además, en los pelambres se forma amoniaco debido a la desamidación de la glutamina y la asparaguina presente en la estructura del colágeno.
- j) Tensoactivos: Estos productos son ampliamente usados en ribera, como humectantes y como agentes de limpieza de los cueros. Los más usados son alquilfenoles etoxilados. Estos productos dan altos valores de DQO₅ y, por lo tanto, toxicidad.

Piquelado y curtición: Estos procesos tienen una influencia relativamente importante en la toxicidad y salinidad de los efluentes producidos. Es importante saber que el proceso que contiene el grueso del cromo al cuero empleado en la curtición no representa mayor toxicidad dentro del efluente global, esto corrobora que las sales de cromo trivalente son de baja toxicidad. No obstante, el cromo es un elemento que podría resultar muy perjudicial si su estructura se ve alterada por procesos de oxidación y aparece su forma hexavalente, es debido a esto, que su regulación debe ser vigilada de cerca por los instrumentos gubernamentales y debería ser mandatorio a las industrias curtidoras aplicar tratamientos a los baños que los contienen. De ahí que se deba procurar confinar el uso del cromo a la menor cantidad de procesos posibles y reducir al máximo los volúmenes de agua.

Procesos post-curtición: Estos procesos son los que incluyen las operaciones en húmedo a partir del estado de wet-blue, después de la curtición al cromo, el cuero se escurre, rebaja y divide mecánicamente para obtener el “wet blue”, un producto cuyo nombre se debe al color azul verde del sulfato de cromo, los procesos de post – curtición son: lavado, neutralizado, recurtido, teñido y engrase, tienen una importancia relativamente baja dentro de la contaminación del efluente unificado de una curtiembre. Son de una toxicidad despreciable y de baja DBO₅ alrededor de 15 %, siendo únicamente destacables por su aporte a los sólidos suspendidos, los que provienen fundamentalmente de virutas remanentes del proceso de raspado (43).

Residuos sólidos.

En el proceso de curtición, el producto final, representa menos del 30 % del producto inicial, por lo tanto parte importante del producto inicial queda en el camino como residuo sólido. Estos pueden dividirse en tres grandes grupos:

- Residuos sin curtir, procedentes de la zona de ribera
 - Residuos curtidos cromo
 - Residuos de la planta depuradora de efluentes.
- a) Residuos sin curtir: Como por ejemplo recortes piel en bruto. Cuando la piel de los animales llega a la industria, se procede al recorte de algunas partes objetivo cuya curtición no tiene un valor relevante, estas son el cuello, cola y las extremidades. En el caso de pieles de ovinos, también se recorta la lana. Los restos de piel que se

desechan contienen carnazas, grasas, sangre y excrementos, que aportan la carga orgánica en los residuos de curtiembre (43).

- b) Residuos Curtidos: Como las rebajaduras de los cueros, que hayan sido divididos, caso del vacuno, o sin dividir (ovejas y cabras), necesitan ser igualados a un grosor determinado, cosa que se realiza en la máquina de rebajar y que da lugar a virutas de cuero estrechas y alargadas que en la mayoría de casos son desechadas.
- c) Lodos de plantas depuradoras: Los lodos que se producen en las plantas depuradoras de riles de curtiembre, y se encuentran en la siguiente relación, de cada 100 kilogramos de piel en bruto seca de vacuno contienen 35 kg de materia seca aproximadamente. En las estaciones depuradoras se encargan de transferir la contaminación de las aguas a los restos sólidos o lodos (43).



1.4 Marco legal en el Perú frente a la contaminación ambiental.

En el Perú el derecho a un ambiente adecuado y equilibrado para el desarrollo de la vida se encuentra recogido como un derecho fundamental en el numeral 22° del Artículo 2° de la Constitución Política. Asimismo, la Ley N° 28611 - Ley General del Ambiente, califica a este derecho como irrenunciable y señala que viene aparejado con el deber de conservar el ambiente. En ese sentido, el artículo 2.3° de Ley General del Ambiente señala que éste comprende a los elementos físicos, químicos y biológicos de origen natural o antropogénico que en forma individual o asociada, conforman el medio en el que se desarrolla la vida, siendo los factores que aseguran la salud individual y colectiva de las personas y la conservación de los recursos naturales, la diversidad biológica y el patrimonio cultural asociado a ellos, entre otros. El Derecho Ambiental es un instrumento de gestión que permite la aplicación de la Política Nacional Ambiental que no es sino el conjunto de lineamientos, objetivos, estrategias, metas, programas e instrumentos de carácter público; que tiene como propósito definir y orientar el accionar de las entidades de los gobiernos nacional, regional y local; del sector privado y de la sociedad civil, en materia de protección ambiental y conservación de los recursos naturales (45).

Siguiendo esta línea, en el Perú se define el concepto de “calidad ambiental” como el conjunto de características del medio ambiente, relacionado con la disponibilidad y facilidad de acceso a los recursos naturales y a la ausencia o presencia de agentes nocivos.

Asociados a este concepto, están los términos “estándar de calidad ambiental” y “límite máximo permisible”, estos son instrumentos de gestión ambiental cuyo objetivo es regular y proteger la salud pública y la calidad ambiental, permitiendo así, a la autoridad ambiental desarrollar acciones de control, seguimiento y fiscalización de los efectos causados por las actividades humanas.

Un Estándar de Calidad Ambiental (ECA) es la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos o biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa significativo para la salud de las personas ni al ambiente .

Un ECA es de observancia obligatoria para el diseño de normas legales, políticas públicas; y para el diseño y aplicación de otros instrumentos de gestión ambiental, así como para el otorgamiento de la certificación ambiental.

El numeral 31.4 de la Ley General del Ambiente establece que ninguna autoridad judicial o administrativa podrá hacer uso de los ECA, con el objeto de sancionar bajo forma alguna a personas naturales o jurídicas, debiendo basarse las sanciones, en el incumplimiento de obligaciones a cargo de las personas naturales o jurídicas, incluyendo aquellas contenidas en los instrumentos de gestión ambiental (46).

Los Límites Máximos Permisibles (LMP) son considerados “la concentración o grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos que caracterizan a un efluente o a una emisión, que al ser excedido puede causar daños a la salud, bienestar humano y al ambiente”. La característica más relevante de los LMP es que su cumplimiento es exigible legalmente; es decir, el titular de la actividad productiva que no cumpla con los mismos puede ser sancionado (45).

Es responsabilidad del Ministerio del Ambiente dirigir el proceso de elaboración y revisión de los ECA y LMP y, en coordinación con los sectores correspondientes, elaborar o encargar las propuestas de ECA y LMP para su aprobación, mediante Decreto Supremo. En otros, el MINAM deberá tomar en cuenta, para la elaboración de los ECA y LMP, las normas establecidas en la materia por la Organización Mundial de la Salud (OMS) o de las entidades de nivel internacional especializadas en temas ambientales (45).

Es así como, en el Decreto Supremo N° 011 -2017 MINAM se aprueban los Estándares de Calidad Ambiental para suelo, algunos de los cuales serán utilizados como referencia en esta investigación; los valores son expuestos en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Estándares de calidad ambiental peruanos en suelos. Tomado de MINAM (47).

Parámetros en mg/kg PS ⁽²⁾	Usos del Suelo ⁽¹⁾			Métodos de ensayo ^{(3) y (4)}
	Suelo Agrícola ⁽²⁾	Suelo Residencial/ Parques ⁽⁴⁾	Suelo Comercial ⁽³⁾ / Industrial/ Extractivo ⁽⁵⁾	
ORGÁNICOS				
Hidrocarburos aromáticos volátiles				
Benceno	0,03	0,03	0,03	EPA 8260 ⁽⁶⁾ EPA 8021
Tolueno	0,37	0,37	0,37	EPA 8260 EPA 8021
Etilbenceno	0,082	0,082	0,082	EPA 8260 EPA 8021
Xilenos ⁽¹²⁾	11	11	11	EPA 8260 EPA 8021
Hidrocarburos poliaromáticos				
Naftaleno	0,1	0,6	22	EPA 8260 EPA 8021 EPA 8270
Benzo(a) pireno	0,1	0,7	0,7	EPA 8270
Hidrocarburos de Petróleo				
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹³⁾ (C6-C10)	200	200	500	EPA 8015
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹³⁾ (>C10-C28)	1200	1200	5000	EPA 8015
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	3000	3000	6000	EPA 8015
Compuestos Organoclorados				
Bifenilos policlorados - PCB ⁽¹⁴⁾	0,5	1,3	33	EPA 8082 EPA 8270
Tetracloroetileno	0,1	0,2	0,5	EPA 8260
Tricloroetileno	0,01	0,01	0,01	EPA 8260
INORGÁNICOS				
Arsénico	50	50	140	EPA 3050 EPA 3051
Bario total ⁽¹⁵⁾	750	500	2 000	EPA 3050 EPA 3051
Cadmio	1,4	10	22	EPA 3050 EPA 3051
Cromo total	**	400	1 000	EPA 3050 EPA 3051
Cromo VI	0,4	0,4	1,4	EPA 3060/ EPA 7199 ó DIN EN 15192 ⁽¹⁶⁾
Mercurio	6,6	6,6	24	EPA 7471 EPA 6020 ó 200.8
Plomo	70	140	800	EPA 3050 EPA 3051
Cianuro Libre	0,9	0,9	8	EPA 9013 SEMWW-AWWA-WEF 4500 CN F ó ASTM D7237 y/o ISO 17690:2015

Junto a estas herramientas, se encuentra también un elemento muy importante en la gestión de la calidad ambiental en el Perú, que es la Evaluación de Impacto Ambiental. EIA es un proceso de análisis sistemático, reproducible e interdisciplinario de los impactos potenciales, tanto de una acción propuesta como de sus alternativas, en los atributos, físicos, biológicos, culturales y socioeconómicos. El Sistema Nacional de Evaluación del Impacto Ambiental (SEIA) fue creado por Ley N° 27446, y constituye un sistema de identificación, prevención, supervisión, control y corrección anticipada de los impactos ambientales negativos derivados de las acciones humanas (45).

1.5 Estándares internacionales para la evaluación de la contaminación.

Así como en el Perú, existen muchos otros países cuentan una legislación ambiental bien definida con el objetivo de salvaguardar la integridad de los recursos ambientales que poseen en sus territorios; debido a que en el vigente Decreto Supremo N° 011 - 2017 MINAM no están establecidos muchos de los elementos y/o compuestos, que en determinadas concentraciones, podrían resultar perjudiciales para el ecosistema del suelo, es fundamental tener estándares de referencia externos que puedan brindar información valiosa para de esta forma contrastar con los niveles de contaminación presentes en un sitio de interés.

Es así como un importante recurso de estándares de calidad ambiental es el “Canadian Council of Ministers of the Environment” es una organización intergubernamental en Canadá con miembros del gobierno federal, diez gobiernos provinciales y tres gobiernos territoriales.

La mayor parte del trabajo del CCME involucra temas interjurisdiccionales (por ejemplo, cambio climático, contaminación del aire, manejo de desechos, contaminantes en el agua y el suelo). Los miembros pueden proponer el desarrollo de estándares, orientación y objetivos ambientales consistentes a nivel nacional para apoyar el logro de objetivos comunes de calidad ambiental en todo el país. Las recomendaciones del CCME pueden ser adoptadas por las jurisdicciones miembros, pero no son vinculantes ya que el CCME no tiene autoridad para implementar o hacer cumplir la legislación.

El CCME desarrolla los estándares de calidad ambiental para todo Canadá, es así como se crearon las “Canadian Environmental Quality Guidelines (CEQGs)” que proporcionan objetivos basados en la ciencia para la calidad de los ecosistemas acuáticos y terrestres (48). Estas pautas se desarrollan para los receptores ecológicos y humanos que pueden estar expuestos a contaminantes a través de una variedad de vías asociadas con cuatro categorías de uso de la tierra. El suelo con contaminantes presentes en los niveles de referencia proporcionará un ecosistema funcional saludable capaz de sustentar los usos actuales y futuros probables del sitio por parte de los receptores ecológicos y los seres humanos, los estándares se encuentran en el siguiente sitio web <https://ccme.ca/en/summary-table>, donde además de encontrar

estándares de calidad ambiental para suelos también se encuentran los dirigidos a agua marina, agua para irrigación, agua subterránea y sedimentos.

Otra agencia internacional es la Agencia de Protección Ambiental (EPA) es una agencia ejecutiva independiente del gobierno federal de los Estados Unidos encargada de asuntos de protección ambiental.

La Agencia de Protección Ambiental fue creada con el propósito de proteger la salud de las personas y el medio ambiente. La EPA tiene por objetivo asegurar que los esfuerzos realizados a nivel nacional para reducir los riesgos medioambientales se basen en la mejor información científica disponible. Además, la EPA debe asegurar que las normas federales establecidas para proteger la salud y el medio ambiente se apliquen de forma justa y efectiva. La EPA tiene la responsabilidad de ejecutar y hacer cumplir la política ambiental y puede otorgar subvenciones para el desarrollo de proyectos para cumplir sus objetivos (49).

Esta agencia cuenta con una extensa base de datos de ecotoxicología denominada ECOTOX la cual es una fuente para localizar datos de toxicidad química única para la vida acuática, las plantas terrestres y la vida silvestre. ECOTOX fue creado y es mantenido por la División de Ecología y Toxicología de los Grandes Lagos del Centro de Toxicología Computacional y Exposición de la EPA.

ECOTOX integra tres bases de datos previamente independientes: ACQUIRE, PHYTOTOX y TERRETOX, en un sistema único que incluye datos de toxicidad derivados principalmente de la literatura revisada por pares, para la vida acuática, las plantas terrestres y la vida silvestre terrestre, respectivamente; la base de datos se encuentra en la siguiente dirección web <https://cfpub.epa.gov/ecotox/index.cfm> (50). Así como estas existen múltiples bases de datos y estándares de otros países aplicables en la identificación de contaminantes que pueden ser aplicadas en estudios ecotoxicológicos para determinar los niveles de contaminación.

1.6 Bioensayos.

1.6.1 Generalidades y aplicabilidad.

En ecotoxicología, un bioensayo o prueba de toxicidad es una técnica usada para la determinación de si un agente químico presente en el ambiente está en cantidades suficientemente altas para afectar de forma adversa algunos aspectos del espectro normal de actividades de animales y plantas. Los bioensayos en Ecotoxicología se llevan a cabo con la hipótesis de que los organismos probados son “claves” de organismos “superiores” presentes en un entorno natural.

La ciencia ecotoxicológica está centrada en el principio de que hay una relación directamente proporcional entre la reacción tóxica (la respuesta) y la cantidad de sustancia recibida (la dosis). Un supuesto importante de esta relación es que hay una dosis a la cual no ocurre respuesta, el segundo supuesto es que una vez ha sido alcanzada la dosis máxima cualquier incremento en concentración del compuesto a estudiar no resultará en un incremento del efecto.

El término toxicidad se refiere al potencial consubstancial de una sustancia para causar daño a los organismos expuestos a ella por un tiempo determinado. Los efectos tóxicos se clasifican en agudos y crónicos. Los efectos agudos suceden inmediatamente después de una sola exposición a la sustancia a concentraciones generalmente altas (muerte, parálisis, inhibición de crecimiento, etc.); los efectos crónicos se presentan después de un tiempo largo de exposición y proporcionan una respuesta subletal (cáncer, daño a los órganos, dificultad en la reproducción, etc.). Las pruebas de toxicidad aguda son relativamente simples, son de corta duración, además de contar con bases de datos para muchas sustancias y efluentes. Estas pruebas son frecuentemente usadas para una valoración de toxicidad rápida o para determinar la sensibilidad relativa de diferentes especies. Las pruebas de toxicidad crónica son más dificultosas de realizar y requieren más tiempo que las de toxicidad aguda; éstas son especialmente diseñadas para ciclos de vida de especies target o particulares con la finalidad de obtener información de teratogenicidad (capacidad de la sustancia para producir malformaciones en el organismo) (51).

Si una valoración de toxicidad de una sustancia cualquiera está basada en estudios en animales, el grado de daño a los humanos pueden ser extrapolado aplicando modelos

matemáticos basados en una amplia variedad de casos supuestos. Entonces la valoración de toxicidad provee solamente un estimado del daño al ser humano.

Con la inclusión de especies adicionales en los bioensayos se ha visto la necesidad de elaborar nuevos protocolos estandarizados para llevar a cabo las pruebas. Cuando se aumenta el número de especies probadas en la valoración de la toxicidad de una sustancia, se es capaz de formar una idea de su mecanismo de acción, biodegradabilidad, toxicidad específica para cada órgano y efectos potenciales tanto agudos como crónicos. Sabiendo que los estudios de ecotoxicidad se realizan usando los bioensayos, entonces se puede definir el papel de la Ecotoxicología en la valoración del riesgo ambiental.

Un objetivo importante de los bioensayos es valorar el impacto sobre los ecosistemas naturales y calcular los factores de riesgo. Las poblaciones naturales de plantas y animales son constantemente expuestas, sin excepción, a residuos tóxicos derivados de las actividades humanas tales como pesticidas, detergentes, metales pesados y de la transformación del petróleo, entre otras. Una atención importante para evaluar el riesgo al que se encuentra organismo al estar bajo exposición de un tóxico es valorar la concentración letal 50 que se define como la concentración a la cual muere el 50 % de la población (LC_{50}) o la concentración efectiva media que es la concentración a la que disminuye en un 50 % el efecto observado (EC_{50}) bajo las condiciones de laboratorio. Un análisis de riesgo ecotoxicológico puede realizarse por la extrapolación de datos de toxicidad aguda o crónica de pruebas con varias especies utilizando técnicas estadísticas estandarizadas.

Una de las principales metas de la Ecotoxicología es producir datos que puedan usarse para predecir la respuesta probable a un estrés ambiental

Otra aplicación de la Ecotoxicología es como herramienta en el seguimiento de los procesos de remediación y restauración de los sitios contaminados. De forma particular, la aceptación de la biorremediación como un tratamiento ambiental conveniente requiere la demostración de su eficacia, confiabilidad y predictibilidad, por lo tanto, pueden ser empleados en el monitoreo y control de las perturbaciones del ambiente, además se ha indicado que estos bioensayos se pueden emplear como indicadores para designar puntos clave o “hot spots” durante un programa de

monitoreo ambiental. Los bioensayos ecotoxicológicos son complementarios a los resultados de los parámetros físicos y químicos (52).

1.6.2 *Eisenia foetida* como bioindicador en suelos.

Como se ha mencionado los estudios ecotoxicológicos constituyen uno de los elementos de juicio más idóneos para la evaluación del riesgo ecológico potencial producido por contaminantes presentes en el ambiente.

Se considera que las lombrices de tierra son organismos de prueba útiles para monitorear la toxicidad que provocan varios compuestos o xenobióticos, entre esta amplia variedad de contaminantes se incluyen los metales pesados, plaguicidas, contaminantes orgánicos, mezclas complejas y desconocidas de contaminantes en suelos; siendo las especies comúnmente empleadas las de *E. foetida* y *E. andrei*, por su gran representatividad en los suelos, facilidad de cría y su amplia dispersión geográfica, con ciclos de vida cortos, un rango amplio de tolerancia a la temperatura y a la humedad y de fácil manejo, esto las califica para realizar las pruebas de ecotoxicidad en muchos países, las condiciones de estas pruebas son aceptadas internacionalmente, permitiendo la estandarización de los estudios y comparaciones en el ámbito internacional, dentro de los cuales, hay dos conjuntos de directrices, lo establecido por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) y lo propuesto por la Organización Internacional de Normalización (ISO), para la evaluación del riesgo ecológico del suelo contaminado, a través de la determinación de la toxicidad aguda de los productos químicos en las lombrices de tierra, y los efectos en su reproducción.

La presencia de contaminantes en el suelo altera las principales funciones fisiológicas de las lombrices, como la supervivencia, la nutrición, la inmunidad, el crecimiento y la reproducción; dichos efectos dependen de la matriz, el tiempo de exposición y los tipos y dosis de los contaminantes en el medio empleado.

Los contaminantes hidrofílicos entran al cuerpo de la lombriz predominantemente a través de la piel, mientras que las sustancias hidrófobas ingresan a través del tracto digestivo. Los contaminantes se acumulan en los tejidos de la lombriz de tierra, lo que puede ocasionar la rotura de tejidos y células, como la reducción progresiva de las

vellosidades intestinales y el tejido clorafogénico, estos efectos se expresan en la mortalidad de los organismos de prueba (53).

Los resultados de estas pruebas dan información sobre la relativa toxicidad de una sustancia o un conglomerado de sustancias para especies endémicas, permitiendo evaluaciones preliminares.

1.6.3 Determinación de la toxicidad aguda en *Eisenia foetida*/ISO 112681.

Esta parte de la norma ISO 11268 (54), específica uno de los métodos para evaluar la función de hábitat de los suelos y determinar la toxicidad aguda de los contaminantes y productos químicos del suelo para *Eisenia foetida*/*Eisenia andrei* por absorción dérmica y alimentaria.

Es aplicable a los suelos y a los materiales del suelo de calidad desconocida, por ejemplo, de sitios contaminados, suelos enmendados, suelos después de la remediación, sitios agrícolas u otros suelos contaminados, y materiales de desecho.

Los efectos de las sustancias se evalúan utilizando un suelo estándar, preferiblemente un sustrato de suelo artificial definido. En el caso de, suelos contaminados, los efectos sobre la supervivencia se determinan en el suelo de prueba y en un suelo de control. De acuerdo con el objetivo del estudio, el sustrato de control y de dilución debe ser un suelo no contaminado comparable a la muestra de suelo que se va a analizar (suelo de referencia) o un suelo estándar.

El porcentaje de mortalidad de las lombrices de tierra adultas (especies: *Eisenia foetida* o *Eisenia andrei*) expuestas al suelo de prueba son comparados con los observados en las muestras expuestas a un suelo de control. Si procede, los efectos basados en la exposición de un suelo contaminado o de un rango de concentraciones de una sustancia de ensayo se determinan después de siete días y 14 días. Las mezclas de ensayo se preparan al inicio del ensayo y no se renuevan durante el período de ensayo.

Los resultados obtenidos en los ensayos se comparan con un control y se utilizan para determinar las concentraciones que no causan efectos sobre la biomasa y la supervivencia (NOEC) y la mortalidad del 50 % de las lombrices de tierra (CL₅₀, 14 días).

La prueba se realiza en dos etapas, una prueba preliminar, que da una indicación aproximada de las diluciones (concentraciones) responsables de la mortalidad total y

de la ausencia de mortalidad, que sirve para determinar la gama de concentraciones para la prueba definitiva; y la prueba definitiva para determinar las diluciones (concentraciones) que causan entre un 10 % y un 90 % de mortalidad, que da el resultado de la prueba (54).

1.6.4 Prueba de evasión a los contaminantes / ISO 17512-1:2008.

En cuanto a las pruebas de evasión, mediante ellas se realiza el análisis de comportamiento, son consideradas como pruebas complementarias en la evaluación de riesgo ambiental en suelos. Este tipo de pruebas se usa comúnmente en investigaciones ecotoxicológicas recientes, ya que permiten mostrar las relaciones de los contaminantes y sus efectos a nivel ecológico.

Esta prueba es usada como un instrumento de monitoreo de alerta temprana de toxicidad de suelos, ya que permite evaluar en corto tiempo (48 h) el efecto de éstos sobre la capacidad de las lombrices para seleccionar un hábitat para sus procesos biológicos y ecológico. La variable respuesta de evasión se basa en la presencia de quimiorreceptores en el prostomio y en el segmento anterior, así como la distribución de tubérculos a lo largo del cuerpo de la lombriz, los cuales las hacen muy sensibles a los agentes químicos en el ambiente y les permiten evitar condiciones ambientales desfavorables gracias a su capacidad locomotriz (55).

Para llevar a cabo el ensayo se mide el número de lombrices que se desplazan desde un suelo contaminado y que, por tanto, evaden la exposición a los agentes químicos que podrían resultar perjudiciales para ellas. Dicho comportamiento se calcula a través de la concentración efectiva media (CE_{50}), que indica la concentración a la que el comportamiento de evasión es el 50 % de los organismos expuestos, comparado con el control. Esta prueba se usa para evaluar si el hábitat es funcional para la lombriz. Al presentarse una migración de las lombrices, se genera una reducción de las funciones benéficas proporcionadas al suelo, y en consecuencia habría una reducción en la calidad de éstos (56).

1.7 Muestreo de suelos contaminados.

Para hacer un correcto monitoreo de las muestras de suelo contaminado se aplicó la “Guía para el muestreo de suelos – 2014” elaborada por el ministerio del ambiente peruano.

Con la aprobación de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelos (D.S.N°002-2013-MINAM) y sus disposiciones complementarios (D.S. N°002-2014-MINAM), el Perú reforzó la base legal para la gestión de los sitios contaminados en su territorio nacional. Para facilitar la aplicación de estas normas, se cuenta con la guía para el Muestreo de Suelos que orienta sobre la estrategia del muestreo para las diferentes fases de investigación en un sitio potencialmente contaminado, así como de técnicas de muestreo, de medidas de calidad y de la seguridad ocupacional durante el muestreo. Debido a la complejidad técnica y científica que pueda darse en el sitio de estudio, es un importante desafío el desarrollo de investigaciones idóneas y la evaluación de los resultados obtenidos, tanto para las empresas que realizan los estudios como para las autoridades competentes que evalúan los informes. La guía en mención aspira apoyar este proceso, que requiere el personal con conocimientos de diferentes ramas de las ciencias naturales y de la ingeniería, así como de conocimientos específicos en materia de sitios contaminados.

La calidad del muestreo en un sitio contaminado es crucial para determinar si un sitio está contaminado o no, y si la magnitud de la contaminación requiere una intervención para proteger la salud humana y la integridad de los ecosistemas. En tal sentido, la estrategia del muestreo, la selección de las técnicas del muestreo y las medidas de calidad a aplicar desempeñan un papel sumamente importante para la adecuada evaluación del sitio y su respectiva gestión (57).

1.8 Evaluación de la exposición al riesgo ambiental.

Una evaluación del riesgo ambiental (ERA) es un proceso, basado en una evaluación de la exposición y de los efectos, este colecta, organiza y analiza información ambiental para estimar el riesgo de contaminación que puedan ocurrir en un sistema ecológico, animales o humanos, como resultado de las actividades antropogénicas; esta evaluación es utilizada como una herramienta en planeamiento de uso de suelos, manejo de recursos, seguridad de productos, entre otros (58).

La ERA tiene origen en Estados Unidos, concebida como un método para evaluar los riesgos de productos químicos para seres humanos, posteriormente fue adaptada al uso en aplicaciones medioambientales (59).

Básicamente un ERA consta de los siguientes pasos (ver **Figura 11**):

1. Identificación de la amenaza.
2. Análisis de caracterización de la exposición (PEC) y efectos ecológicos (PNEC)
3. Caracterización del riesgo (relación PEC/PNEC)
4. Manejo del riesgo

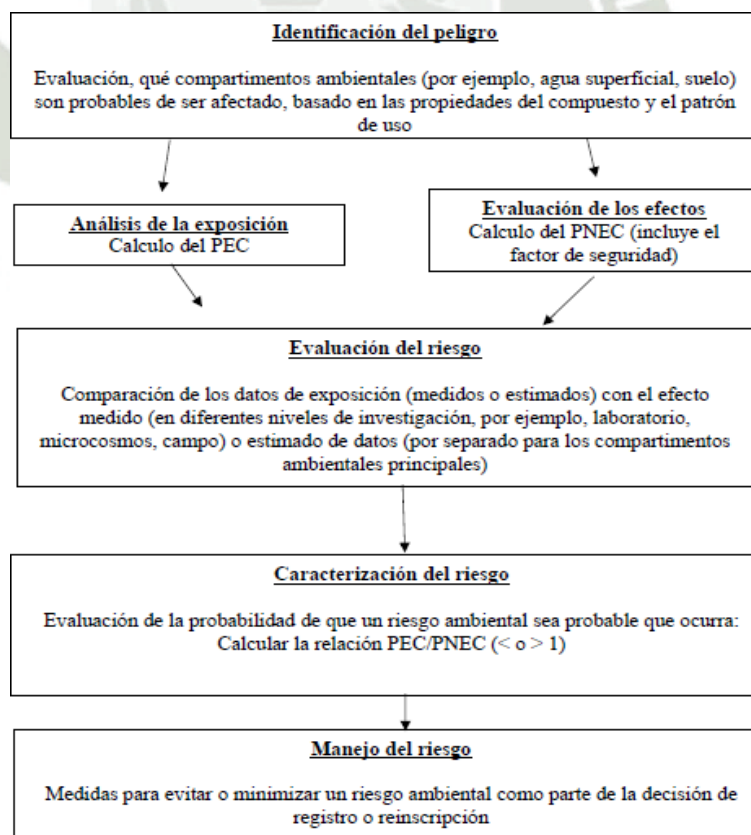
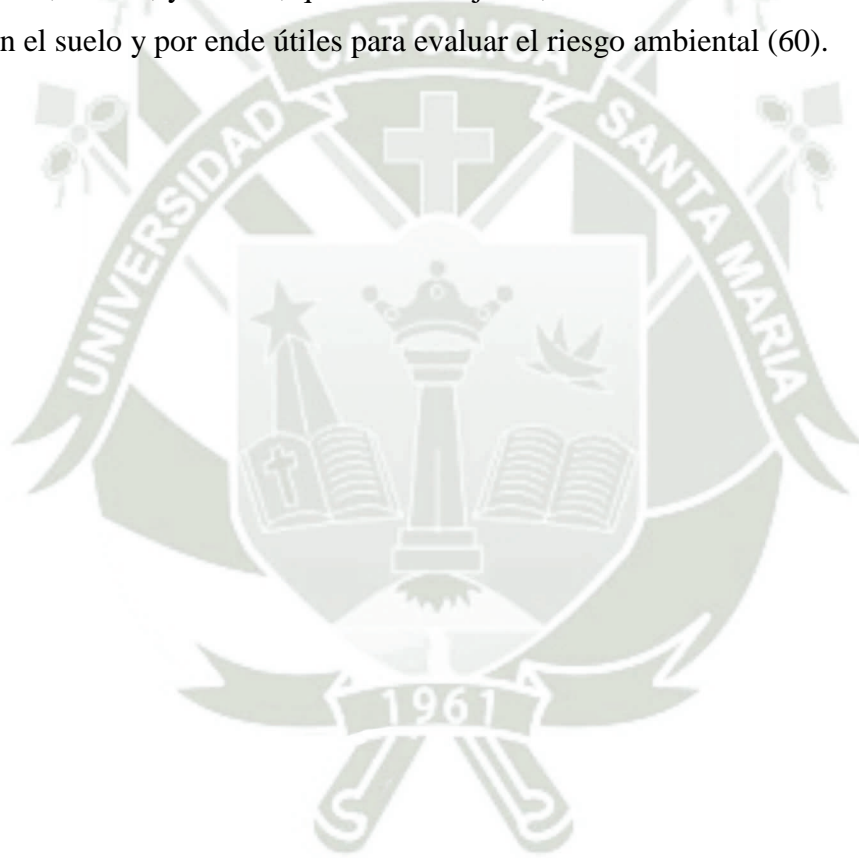


Figura 11. Proceso general de evaluación del riesgo ambiental. Tomado de Peña (53).

ERA integra metodologías toxicológicas y químicas para lograr identificar de la presencia, el destino y los efectos adversos de la liberación de sustancias químicas en el medio ambiente, la valoración de riesgo ambiental de una sustancia nociva se define como la probabilidad de un determinado estrés para producir efectos ecológicamente adversos y está en función de algunos factores como la exposición a la sustancia, las consecuencias resultantes de esta exposición y el tipo de organismo expuesto a la contaminación, es por ello que, las pruebas ecotoxicológicas en suelos que han sido contaminados con agentes externos, son adecuadas para estimar parámetros como DL_{50} , LOEC, y NOEC, que en su conjunto, determinan el efecto de un contaminante en el suelo y por ende útiles para evaluar el riesgo ambiental (60).



CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Lugar de ejecución.

Los bioensayos fueron desarrollados en el área de Investigación y Desarrollo de la empresa RV Soluciones Ambientales en la ciudad de Arequipa – Perú, en el año 2021 y 2022.

2.2. Materiales.

2.2.1. Material biológico.

Eisenia Foetida/ Lombriz roja californiana.

2.2.2. Material de laboratorio.

- Frascos de vidrio.
- Pipetas.
- Pinzas.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Varilla de vidrio.
- Vaso de precipitado.
- Malla N°70

2.2.3. Insumos y reactivos.

- **Alimentación.**
 - Compost.
 - Gránulos de alfalfa.
- **Desinfección de superficies.**
 - Alcohol 90.
- **Medio artificial.**
 - Arena de sílice.
 - Arcilla caolín.
 - Turba de Sphagnum.

- Carbonato de calcio.
- Agua destilada.

2.2.4. Equipos e instrumentación.

- Microscopio Lambomed Lx400
- Termómetro. L/W Germany
- pHmetro. (Hanna HI98103 Checker)
- Balanza analítica Balpesac.
- Autoclave.
- Lámpara de luz blanca Philips.
- Destilador de agua.

2.3. Caracterización fisicoquímica del suelo.

2.3.1. Zona de muestreo.

Para realizar una correcta evaluación de las características particulares de la zona en la cual se vienen generando los problemas medioambientales, fue necesario el empleo del software QGIS, este programa informático se emplea para elaborar un sistema de información geográfico, estos sistemas facilitan la visualización y el análisis; además se hizo uso de otros sistemas de información geográfica del estado peruano como lo es el GEOCATMIN implementado y puesto a disposición por el Instituto Geológico Minero y Metalúrgico (INGEMMET) (61) y el GEOSERVIDOR el cual es una plataforma tecnológica con información geoespacial especializada sobre la situación ambiental del territorio, que el Ministerio del Ambiente, a través de la Dirección General de Ordenamiento Territorial y de la Gestión Integrada de los Recursos Naturales, pone al libre uso.

El procedimiento de caracterización de la zona se desarrolla con detalle a continuación: El primer paso para determinar las características físicas de la zona expuesta a la contaminación constante por efluentes industriales fue acudir de forma presencial al área y con ayuda de la aplicación de GPS satelital “UTM Geo Map” definir puntos con coordenadas específicas, que en su conjunto permitieron establecer el perímetro del área impactada, así como sitios de interés particular como las lagunas de oxidación que vienen siendo empleadas; estas coordenadas se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Puntos de reconocimiento del área.

	Nombre del punto de ubicación	Coordenadas UTM WSG 84 Zona 19k	
		ESTE	NORTE
Área Impactada	1	221725	8189176
	2	221619	8189178
	3	221538	8189134
	4	221453	8189087
	5	221388	8189004
	6	221391	8188910
	7	221430	8188855
	8	221476	8188908
	9	221511	8188991
	10	221596	8189023
	11	221677	8189117
Laguna N°1	a	221789	8189206
	b	221845	8189163
	c	221848	8189078
	d	221783	8189061
	e	221713	8189134
Laguna N°2	f	221688	8189102
	g	221763	8189050
	h	221695	8188970
	i	221626	8189024

Una vez establecidos los vértices de los perímetros de las áreas de interés el paso a seguir fue ubicar estas coordenadas en el software QGIS que muestra de manera satelital la locación y de esta forma se aprecia la extensión de la contaminación en el área de interés.

Ubicado el lugar se procedió identificar el tipo de zonificación que posee, esto hace referencia al conjunto de normas urbanísticas que regulan el uso del suelo en determinadas áreas en función de las demandas físicas, económicas y sociales de la población; la determinación del tipo de zonificación está en potestad de gobierno regional de Arequipa, El departamento de Arequipa inició la zonificación ecológica y económica (ZEE) con la Ordenanza Regional N° 020-2007-AREQUIPA, que declaró

de interés la ZEE, su última actualización se llevó a cabo el en noviembre del año 2020 (Ordenanza Regional N° 437-Arequipa) (62), determinar la ZEE es de relevancia para la comparación con los estándares de calidad ambiental que son específicos para el tipo de uso de suelo.

Para identificar las características geológicas específicas del área se emplearon las cartas nacionales (63), estos son documentos que representan a una determinada escala, los elementos naturales dentro del territorio nacional así como características específicas de las áreas de interés. El Perú se encuentra dividido en un total de 501 Cartas Nacionales (CN); para lograr la caracterización de la zona en la que se lleva a cabo la investigación fue necesario identificar a que cuadrante pertenece, por lo tanto, el mapa de cuadrantes de las CN se cargó en el software QGIS, para luego, superponer las coordenadas de los puntos de reconocimiento que se obtuvieron en el trabajo de campo previo, es así, como se determina que la zona pertenece al cuadrante “33s” como se puede observar en la **Figura 12**.

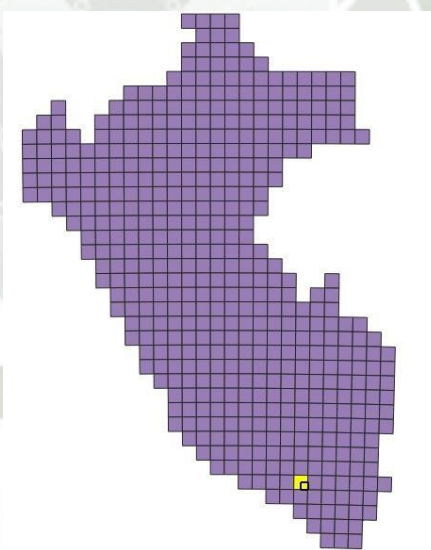


Figura 12. Punto de interés en el mapa de cuadrantes de las Cartas Nacionales del Perú.

Identificado el cuadrante, se recopiló la memoria descriptiva del mismo y a continuación se georreferenció la imagen del mapa, datos que proporciona el INGEMMET; así mismo, también se empleó el mapa de cobertura vegetal puesto a disposición libre por el MINAM con ello se obtuvo la descripción de la vegetación que está presente en la zona de impacto ambiental.

2.3.2. Ubicación de puntos de monitoreo.

Para llevar a cabo el monitoreo de suelo impactado por efluentes industriales se tomaron 4 puntos de monitoreo, como se detalla a continuación:

El primer punto se localiza cerca de una fisura del canal principal que transporta los efluentes (**Figura 13 A**), es en este punto donde comienza de dispersión de los contaminantes sobre suelo natural, debido al constante flujo de efluentes se han formado cúmulos de agua contaminada que se empozan para luego desbordar y seguir su curso (**Figura 13 B**).



Figura 13. Primer punto de monitoreo. (A) Ruptura del canal principal de efluentes industriales, (B) Inicio de la contaminación.

El segundo punto de monitoreo se encuentra en una tercera laguna la cual nunca entro en funcionamiento, pero debido al gran caudal de los flujos eliminados por las industrias y a la saturación de la laguna principal, el suelo de la zona se encuentra cubierto en gran parte por aguas contaminadas las cuales se estancan en algunas partes y a la vez fluyen hacia la quebrada Estanquillo como se aprecia en las fotografías de la **Figura 14**.



Figura 14. Segundo punto de monitoreo. (A) Suelo cubierto por aguas contaminadas, (B) Flujo de los efluentes hacia la quebrada Estanquillo.

El tercer punto de monitoreo está ubicado en la quebrada Estanquillo a 3414 metros del primer punto, es aquí donde los efluentes entran en un primer contacto con la zona agrícola del Cural (ver **Figura 15**), ya que estos fluyen libremente por la geografía del lugar, para posteriormente unirse a otros cursos de agua en el distrito de Uchumayo.

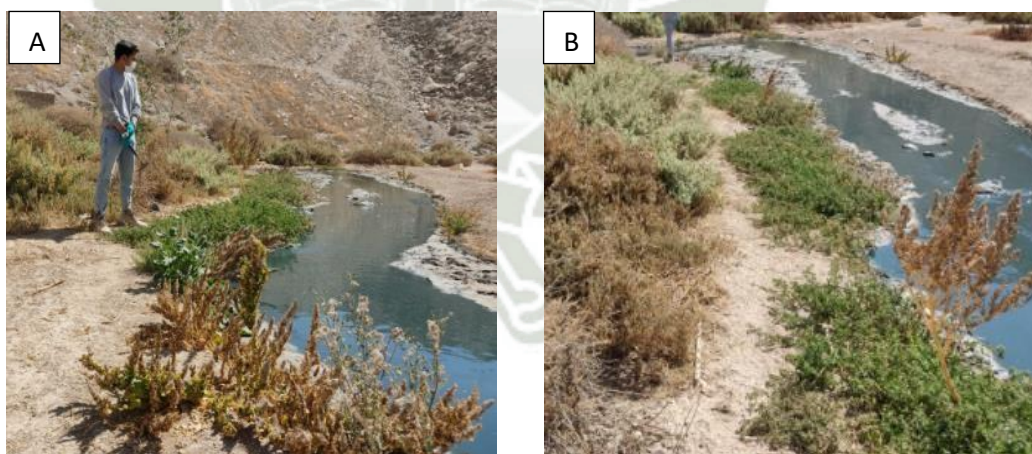


Figura 15. Tercer punto de monitoreo. (A) Aguas contaminadas y zona agrícola, (B) Vegetación en contacto con efluentes.

El último punto que fue muestreado será denominado como blanco, este punto está a 330 metros de la zona impactada y posee el mismo tipo de suelo por lo tanto, alta similitud, este punto será usado para contrastar los niveles de contaminación, y determinar diferencias significativas.

Las coordenadas de los puntos antes mencionados se detallan en la **Tabla 4** y su ubicación geoespacial puede revisarse en el **Anexo 1**.

Tabla 4. Puntos de monitoreo

Descripción del punto de monitoreo	Estación de monitoreo	Coordenadas UTM WSG 84 Zona 19k	
		ESTE	NORTE
Inicio de la dispersión de contaminantes	MSC-1	221624.837	8189092.02
Laguna artificial formada producto de los efluentes	MSC-2	221591.584	8189046.603
Punto de contacto con la zona agrícola de la ciudad	MSC-3	219131.739	8186764.904
Suelo libre de contaminación empleado como blanco	MSB-4	221577.687	8188766.292

2.3.3. Metodología del monitoreo de suelos.

Para llevar a cabo el muestreo de suelos para estos ensayos se tuvieron las siguientes consideraciones:

Trabajo de pre-campo:

Para esta etapa se elaboró un plan de trabajo, de la misma forma se prepararon y alistaron todos los materiales que fueron necesarios para llevar a cabo el monitoreo como buffers, equipos, cadenas de custodia, material de laboratorio, equipos de protección personal, etc. Todo con el objetivo de cubrir todos los requerimientos necesarios para el muestreo de suelos de la forma más eficaz posible.

Así mismo se contó con mapas de la zona y GPS satelital para determinar las coordenadas de los puntos de muestreo, además previamente se hizo un reconocimiento del área para determinar con mayor facilidad los puntos a monitorear.

Trabajo de campo:

Para el monitoreo de suelo impactado por efluentes industriales, se tuvo en consideración especificaciones, las cuales se detallan a continuación.

- Equipos e instrumentación: se verificó que los equipos e instrumentos de medición in situ estuvieran debidamente calibrados y con buen funcionamiento.
- Tipo de recipiente de muestreo: para el muestreo de suelos se verificó que estuvieran completas las botellas de plástico, de color blanco, herméticas brindadas por el laboratorio las cuales son adecuadas para los parámetros a monitorear, todas fueron almacenadas en una caja hermética con su respectivo refrigerante.
- Métodos de Preservación: se verificó el preservante que se aplicó en la toma de muestra para el análisis de sulfuros, el cual fue acetato de zinc 2N, y de esta forma conservar las condiciones fisicoquímicas de las muestras, a fin de garantizar la certeza de los resultados analíticos; para los análisis de metales totales no fue necesario la aplicación de ningún preservante según las indicaciones del laboratorio.
- Verificación de documentos: rótulos, etiquetas y cadenas de custodia, para anotar todo lo prescindible.
- Se contó con todos los EPPs necesarios para llevar a cabo el monitoreo.
- Toma de muestra: se procedió a tomar las muestras siguiendo el protocolo establecido para el monitoreo de suelos del MINAM para la toma de muestras superficiales ya que se requiere poca cantidad de suelo para las pruebas de laboratorio. Por cada punto un gran volumen de muestra fue acumulada en una bandeja de plástico para evitar contaminación cruzada, esta fue sometida a partición, para reducirla y obtener una muestra compuesta representativa. Se dividió en cuadrantes con el fin de cuartear la muestra mezclada (ver **Figura 16**) y se repitió el proceso hasta que se obtuvo la cantidad de material necesario.

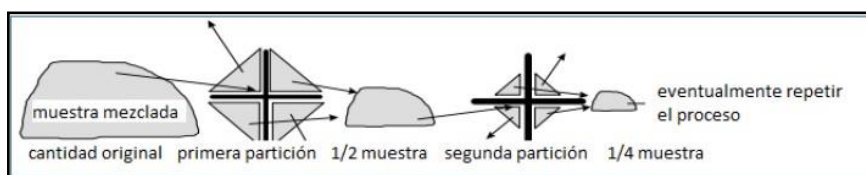


Figura 16. Partición de muestras. Tomado de MINAM (57)

En la **Figura 17** se puede observar el proceso de recolección de muestras de suelo contaminado.



Figura 17. Monitoreo de suelos. (A) Selección del punto a monitorear, - (B) Partición de muestras.

2.3.4. Propiedades químicas de las muestras de suelos.

La principal actividad del PIRS son las curtiembres, es por ello, que según lo revisado en la bibliografía los principales contaminantes de sus efluentes son los metales pesados, sales y sulfuros liberados en grandes cantidades, es por este motivo que se llevaron a cabo los siguientes ensayos a las muestras de suelo mencionadas anteriormente: determinación sulfuros por el método EPA 9030 B. 1996 (sulfuros ácido - solubles y ácido – insolubles), y determinación de metales totales por ICP – MS descrito en el método EPA 6020A. 2007, con el fin de conocer las concentraciones de metales de interés como el cromo, sodio, plomo, mercurio, calcio, entre otros; los ensayos aplicados a las muestras provenientes de las estaciones de monitoreo se detallan en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Ensayos analíticos aplicados a las muestras de suelo.

Estación de muestreo	Determinación (Servicio)	Método de análisis	Matriz	Tipo de envase	Tamaño mínimo de muestra	Preservación	Tiempo de almacenamiento
MSC-1	Determinación de sulfuros	EPA Method 9030 B. 1996. Acid-Soluble and Acid-insoluble sulfides: Distillation	Suelo	Pote de plástico	250g	Acetato de zinc 2N /4°C	28 días
	Metales por ICP-MS	Preparación de muestra: EPA Method 3051A / EPA Method 6020A. 2007. Microwave assisted acid digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils.	Suelo	Pote de plástico	250g	Ninguno	28 días
MSC-2	Determinación de sulfuros	EPA Method 9030 B. 1996. Acid-Soluble and Acid-insoluble sulfides: Distillation	Suelo	Pote de plástico	250g	Acetato de zinc 2N /4°C	28 días
	Metales por ICP-MS	Preparación de muestra: EPA Method 3051A / EPA Method 6020A. 2007. Microwave assisted acid digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils	Suelo	Pote de plástico	250g	Ninguno	28 días

MSC-3	Determinación de sulfuros	EPA Method 9030 B. 1996. Acid-Soluble and Acid-insoluble sulfides: Distillation	Suelo	Pote de plástico	250g	Acetato de zinc 2N /4°C	28 días
	Metales por ICP-MS	Preparación de muestra: EPA Method 3051A / EPA Method 6020A. 2007. Microwave assisted acid digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils	Suelo	Pote de plástico	250g	Ninguno	28 días
MSC-4	Determinación de sulfuros	EPA Method 9030 B. 1996. Acid-Soluble and Acid-insoluble sulfides: Distillation	Suelo	Pote de plástico	250g	Acetato de zinc 2N /4°C	28 días
	Metales por ICP-MS	Preparación de muestra: EPA Method 3051A / EPA Method 6020A. 2007. Microwave assisted acid digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils.	Suelo	Pote de plástico	250g	Ninguno	28 días



2.4. Organismo de prueba.

Se adquirió un inóculo de *Eisenia foetida* conocida con el nombre común de “lombriz roja californiana” de la empresa “Lombrices Californianas AQP” ubicada en el distrito de Miraflores - Arequipa. Usualmente la lombriz roja californiana es comercializada a granel, en el sustrato original de crianza y su venta es por kilogramo. La empresa confirmó la identificación taxonómica de la cepa comparando las características de individuos en estado adulto (cliteliados) obtenidos del vermicompostador central con la carta taxonómica reportada para *Eisenia foetida* esta identificación se basó en la posición y forma de las quetas, el clitelo, y órganos internos como las vesículas seminales entre otras características particulares de la especie (65).

2.4.1. Condiciones de mantenimiento de *Eisenia foetida*.

Las lombrices adquiridas en la compra se aclimataron en el sustrato original durante 2 meses, para ello se colocaron en un contenedor o lecho de 0.5 m de ancho por 0.5 m de largo, en un sitio con sombra, rodeado de tela de mosquitero y una tapa con agujeros para permitir la entrada de aire y a su vez para evitar que otros animales penetren y depreden a las lombrices, además cuenta también con agujeros en la parte inferior para permitir la salida del exceso de agua en los riegos (ver **Figura 18**); luego de transcurrido este periodo fue pertinente renovar el sustrato ya que la materia orgánica presente ya procesada por las lombrices, generalmente tiende a retener una importante cantidad de agua y esto ocasiona la generación de condiciones anaerobias y mal olor en el vermicompostador además de la alteración de las características entre las capas del fondo y las de la superficie

El sustrato empleado para reemplazar el original consistió en una mezcla de compost y virutas finas de madera (aserrín) los cuales se encuentran en una proporción de 60% y 40 % respectivamente, estos materiales fueron sugeridos por el vendedor para promover un adecuado mantenimiento del pie de cría.

Las lombrices necesitan vivir por lo menos a un 70 % de humedad para desarrollarse a cabalidad, por lo que fue necesario humedecer el sustrato constantemente con riegos periódicos cada 3 días con ayuda de un atomizador, evitando en todo momento tener un exceso de agua en el sistema que pueda perjudicar a las lombrices.



Figura 18. Vermicompostador.

2.4.2. Alimento y frecuencia de alimentación.

Como una medida inicial para producir suficientes lombrices se colocó aproximadamente 3 kg de residuos por 1 kg de lombrices en el vermicompostador después de realizado el cambio de sustrato, posteriormente su alimentación fue periódica.

Estas lombrices fueron alimentadas con residuos orgánicos, como cascaras de futas y verduras, así como residuos de jardinería tales como cortes de pasto y sobretodo gránulos de alfalfa humedecidos con agua potable, los cuales comprenden el 60 % de alimento que se entra al vermicompostador por cada nuevo ingreso de comida . Es recomendable administrar en general el mismo tipo de alimento para evitar variaciones en el crecimiento de las lombrices, esto con el fin de obtener una población de individuos homogénea en tamaño y masa.

En cuanto a frecuencia de alimentación, el aporte de restos se realizó de forma periódica cada 5 días, asegurándose de no aportar mucha materia orgánica de una sola vez. Es importante no agregar al sistema demasiados restos al mismo tiempo ya que los organismos pueden sufrir los cambios de temperatura y pH, afectando su desarrollo regular.

2.4.3. Preparación del sustrato artificial.

El suelo artificial (SA) fue preparado siguiendo los lineamientos de la norma internacional ISO-11268, en la **Figura 19** (A, B, C) se presentan los componentes de este.



Figura 19. Componentes del suelo artificial. (A) Turba de Sphagnum, (B) Arena de sílice, (C) Arcilla caolín.

La **Figura 20** muestra la apariencia final del suelo artificial preparado y empleado en los bioensayos.



Figura 20. Suelo artificial.

Se prepararon tres lotes de SA logrando un total de 12kg como se muestra en la **Tabla 6**, con la finalidad obtener una mejor homogenización y además de tener el medio listo ya que los ensayos se realizaron en 3 etapas.

Tabla 6. Cantidad de suelo artificial empleado.

Composición	Porcentaje (%)	Lote 1 (g)	Lote 2 (g)	Lote 3 (g)	Cantidad (g)
Arcilla caolín	20	400	1000	1000	2400
Arena de Sílice	70	1400	3500	3500	8400
Turba/Musgo Sphagnum	10	200	500	500	1200
Total	100	2000	5000	5000	12000

Se realizaron 3 tipos en ensayos los cuales serán descritos con detalle más adelante, la cantidad de SA preparado que fue utilizado en cada etapa de los ensayos se describe en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Cantidad de SA total usado en cada ensayo.

Insumo	Unidad	Etapa			Total
		1	2	3	
Suelo Artificial	g	1275	1125	3000	5400

En cuanto al porcentaje de humedad según la norma OECD 1984 (64), se añade agua destilada para obtener un contenido global de humedad de aproximadamente el 35 % del peso seco, y el medio se mezcla a fondo. La mezcla completa debe estar húmeda, pero no tanto de tal forma que aparezca agua al comprimir el suelo artificial.

A continuación se detallan las propiedades químicas del suelo artificial empleado:

Tabla 8. Propiedades químicas del Suelo Artificial. Adaptado de Del Pilar (65)

Parámetro	Unid.		Resultado
pH			4.8
Carbono orgánico oxidable	CO	%	1.23
Nitrógeno total	N	%	0.11
Bases intercambiables			
Calcio	Ca	meq/100g	3.21
Potasio	K	meq/100g	0.73
Magnesio	Mg	meq/100g	1.94
Sodio	Na	meq/100g	0.5
Acidez intercambiable	AI	meq/100g	0.75
Capacidad de intercambio catiónico	CICE	meq/100g	7.13
Capacidad de intercambio catiónico	CIC	meq/100g	9.91
Fosforo	P	mg/Kg	73.6
Contenido de arcilla		%	22
Contenido de arena		%	72
Contenido de limo		%	6
Textura			Franco-Arenoso

2.4.4. Selección de los organismos de prueba.

Todos los ensayos se llevaron a cabo con las lombrices rojas californianas adultas que fueron adquiridas, para ello se seleccionaron aquellas que poseen un clitelo visible y desarrollado de la especie *E. foetida*, a la cual se le realizó un reconocimiento previo como ya se mencionó para confirmación de su especie. Se tomó únicamente lombrices adultas con un buen estado de salud aparente y con un peso individual promedio que debería oscilar entre los 300 - 600 mg para esta especie siguiendo lo establecido por la norma internacional (**Figura 21 B**).

Se eligieron los gusanos utilizados para la prueba de tal modo que formen, en la medida de lo posible, una población homogénea desde el punto de vista de tamaño y masa. Las lombrices fueron escogidas de un cultivo sincronizado con una estructura de edad (superior a los 3 meses) relativamente homogénea.

Estas lombrices fueron aclimatadas en el suelo artificial durante 24 h antes del comienzo de los bioensayos, posteriormente fueron lavadas con agua destilada y colocadas en placas Petri (**Figura 21 A**), para que de esta forma se pudieran limpiar por sí mismas a través de su movimiento, por un tiempo de tres horas, finalmente se llevó un proceso de secado con papel adsorbente durante tres horas más.

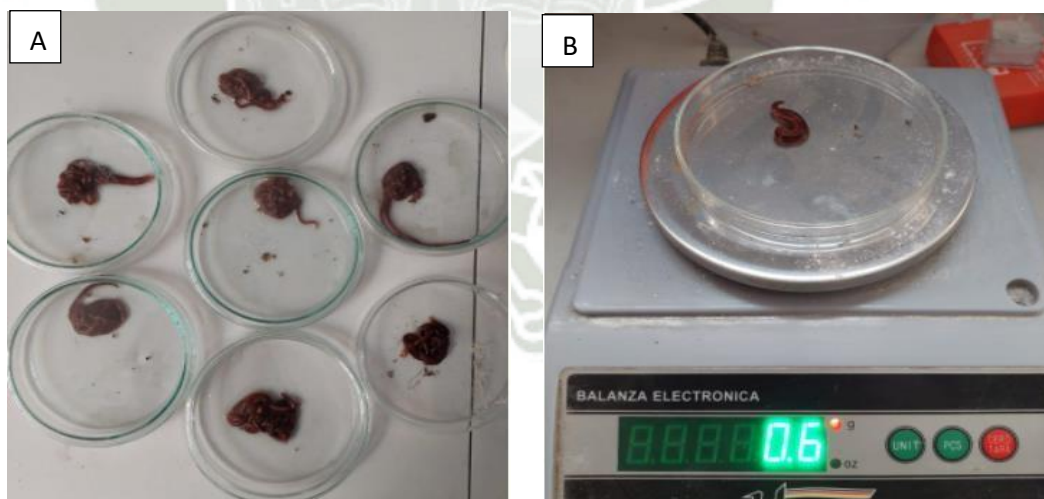


Figura 21. Preparación de los organismos de prueba. (A) Selección de los organismos de prueba, (B) Pesaje de cada individuo.

2.5. Evaluación de los efectos letales de muestras de suelo.

Cada ensayo fue validado de acuerdo con el porcentaje de mortalidad en el control, el cual no excedió en ningún caso el 10 % al final del periodo de exposición, según lo recomendado por los lineamientos de la guía. También, se realizaron controles negativos para estar seguro de que las condiciones empleadas en las pruebas fueran adecuadas y no se presente ningún cambio significativo.

Se realizó un ensayo preliminar, seguido de los bioensayos de toxicidad aguda para cada punto de monitoreo de suelo contaminado, así como ensayos de evasión en los cuales también se empleó el suelo de los puntos de monitoreo en diferentes concentraciones; a continuación se detalla los ensayos llevados a cabo.

2.5.1. Ensayo preliminar.

Debido al que suelo de la zona, contaminado por efluentes industriales no posee una referencia previa de ecotoxicidad, era necesario llevar a cabo un ensayo preliminar con el fin de encontrar el rango de proporciones de mezcla que afectan a las lombrices expuestas a los contaminantes.

La toxicidad preliminar se estimó mediante un experimento de toxicidad aguda durante 14 días, según lo indicado por la ISO -11268-1 este ensayo se lleva a cabo sin replicas, para esto se emplearon recipientes plásticos de capacidad de 1 litro, suelo artificial preparado en el primer lote y suelo contaminado de un punto de monitoreo escogido de manera aleatoria este fue el punto MSC-2.

El SA y el suelo natural contaminado se mezclaron para obtener las concentraciones empleadas para la prueba, estas fueron de 0 %, 5 %, 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. (Ver **Figura 22**)



Figura 22. Ensayo preliminar. (A) Preparación de medio artificial, (B) Unidades experimentales.

Finalizados los 14 días de exposición se determinaron los resultados de la prueba, los cuales se comentarán con detalle más adelante, sin embargo, para continuar con el proyecto, es preciso conocer que el rango de mortalidad osciló entre el 5 % y el 25 % datos que sirvieron para el desarrollo de las pruebas definitivas de toxicidad agua y evasión.

2.5.2. Ensayos de toxicidad aguda.

Se estimó la toxicidad de las muestras provenientes de cada punto de estación de monitoreo mediante un experimento de exposición aguda de 14 días de duración, para ello se emplearon recipientes plásticos de 1 litro de capacidad con tapa rígida del mismo material, la tapa estaba perforada con un caudil eléctrico en una cuadrícula de 1x1 aproximadamente.

Cada unidad experimental se llenó con 500g de suelo total; ya teniendo el resultado de la prueba preliminar, se construyó un diseño experimental con cinco tratamientos y tres repeticiones, además de un control negativo correspondiente a suelo artificial y otro que corresponde a suelo del punto de muestreo MSB – 4 que es empleado como blanco y por su lejanía está libre de contaminación, cada tratamiento correspondió a un valor de concentración de suelo expresado en los siguientes porcentajes 5 %, 10 %, 15 %, 20 % y 25 %, dando un total de 21 unidades experimentales por punto de muestreo (**Figura 23**), para lograr obtener las concentraciones se añadió una primera parte de suelo artificial preparado en el segundo lote, luego se añadió una fracción del suelo real respectivamente y se mezcló de forma manual con una bagueta de vidrio, cuando el material estaba homogenizado se procede a agregar agua destilada para conseguir 30 % de humedad requerido.

Los contenedores de prueba se acomodaron en un espacio con buena iluminación y a temperatura ambiente.

Una vez se tuvieron listos los contenedores con los suelos preparados se inocularon 10 organismos de prueba previamente limpiados, secos y pesados por cada tratamiento y sus respectivas repeticiones, que en el caso de toxicidad aguda fueron tres.

$$\text{Mortalidad corregida}(\%) = \frac{\text{mortalidad en el tratamiento}(\%) - \text{mortalidad en el control}(\%)}{100 - \text{mortalidad en el control}(\%)}$$

Ecuación 1.

Las revisiones o toma de datos se realizaron el primer día registrando datos del inicio del ensayo como lo son: peso de las lombrices y el buen estado de los individuos; la

segunda revisión de las unidades experimentales corresponde al séptimo día de evaluación, en el cual se tomaron datos respecto a la mortalidad, estado de salud aparente de los individuos y posibles huevecillos encontrados, se removieron los restos de organismos caídos; en la tercera y última revisión que corresponde al día 14 se tomó registro de la mortalidad, el peso de la biomasa y las características de los organismos que sobrevivieron. Los cálculos de la mortalidad fueron corregidos mediante el uso de la fórmula Schneider-Orelli's la cual es aplicada a poblaciones uniformes (una sola especie). Ver **Ecuación 1**.

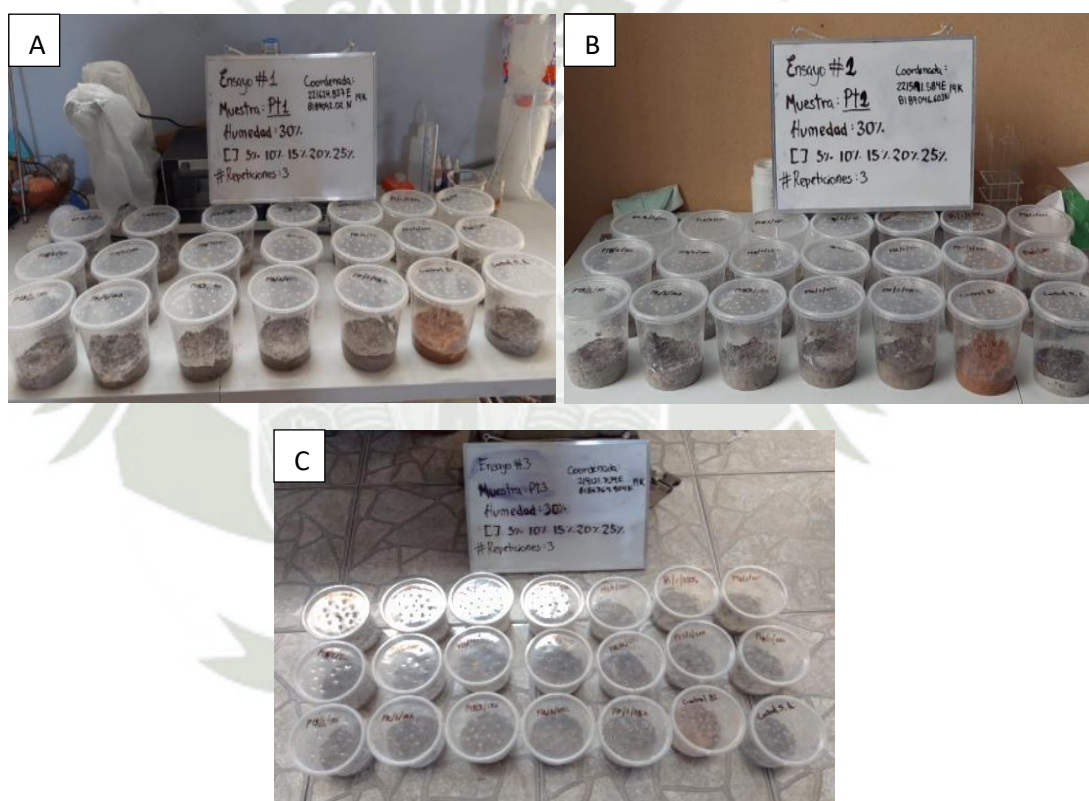


Figura 23. Unidades experimentales finales. (A) Unidades experimentales MSC1, (B) Unidades experimentales MSC2, (C) Unidades experimentales MSC3.

Los bioensayos de ecotoxicidad que se llevarán a cabo en la investigación se muestran a detalle en la **Figura 24** mediante el diagrama de flujo que indica las muestras y concentraciones que serán empleadas en las pruebas.

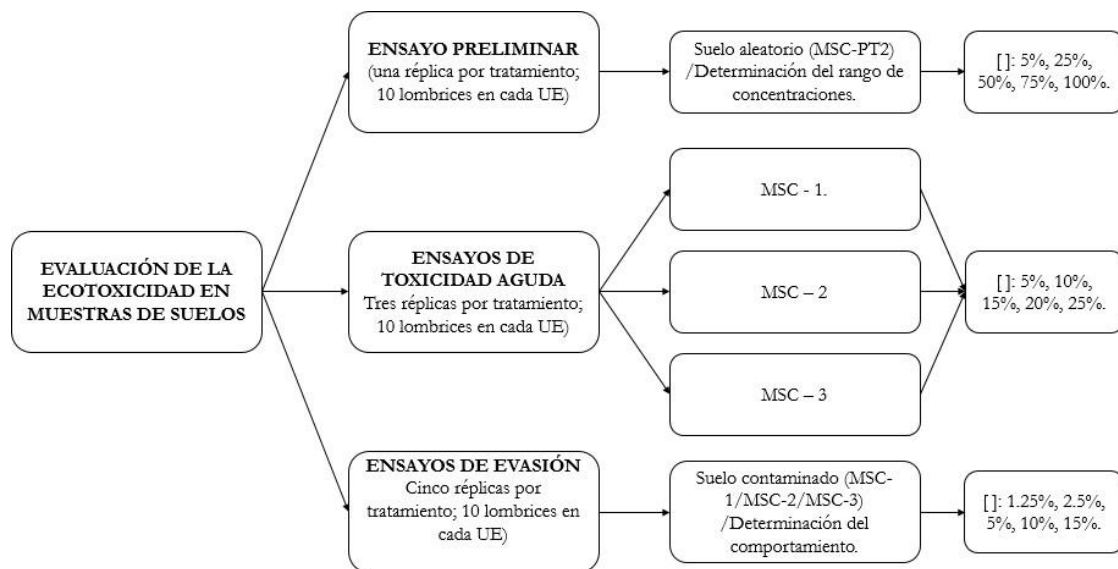


Figura 24. Diagrama de flujo de los bioensayos de toxicidad aguda.

2.6. Evaluación de los efectos subletales de las muestras de suelos.

2.6.1. Ensayos de evasión.

Para el análisis de comportamiento, se empleó el método de doble cámara propuesto por la OECD 1984 (64), se usaron recipientes de plástico de 24 cm de largo y 10 de ancho, estos contenían suelo contaminado y no contaminado (suelo artificial), se colocaron 10 individuos y se tapó el recipiente para dejarlas circular libremente en el contenedor. Después de 48 horas, se separaron ambos suelos usando una barrera y posteriormente se procedió a contabilizar la cantidad de organismos en cada lado. Esta prueba se realizará para el punto de monitoreo que demuestre una mayor tasa de mortalidad en los ensayos de toxicidad aguda, esto se debe a que todas las estaciones de monitoreo cuentan con los mismos contaminantes pero en distintas proporciones, por ello, no será necesario aplicar la prueba de evasión para cada punto, el análisis contó con cinco repeticiones para la evaluación del comportamiento.

Se usaron concentraciones subletales para cada punto, estas fueron de 1.25 %, 2.5 %, 5 %, 10 % y 15 % de mezcla homogénea de suelo contaminado con suelo artificial, dichas concentraciones fueron deducidas a partir de los ensayos de toxicidad.

Para las pruebas de comportamiento de evasión de lombrices empleando concentraciones subletales, de acuerdo con De Silva y Van Gestel (66) la determinación de la evasión usa la **Ecuación 2**:

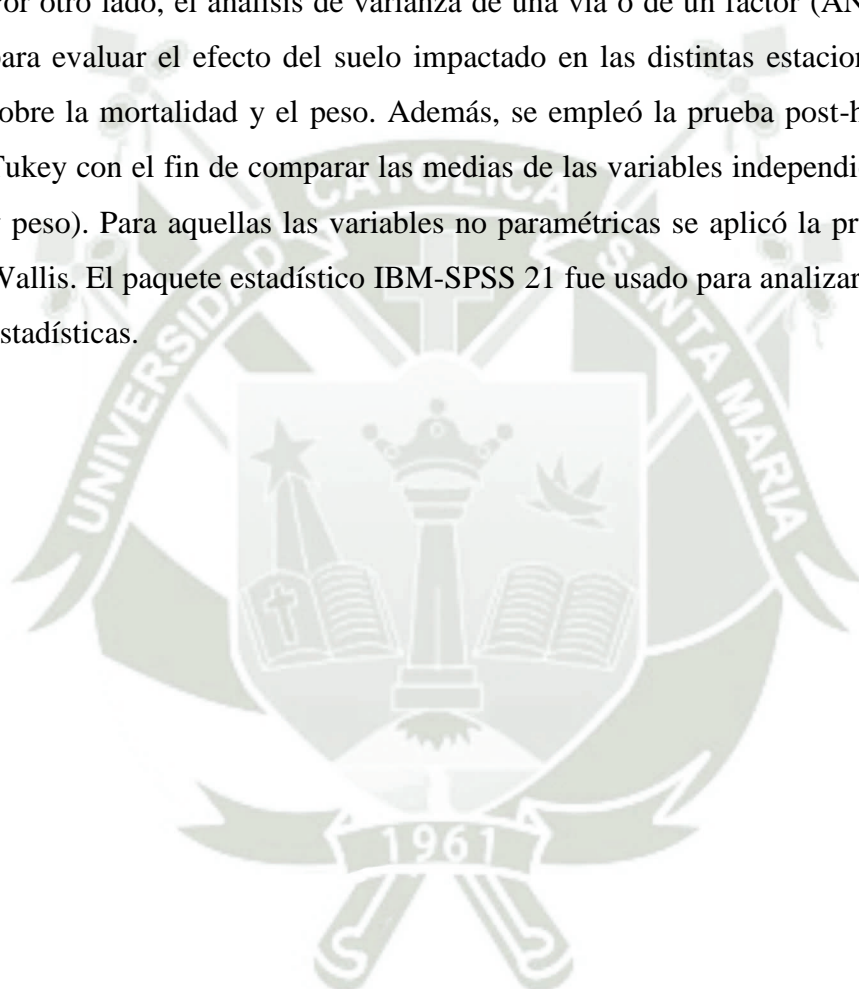
$$\% \text{ Evasión} = \frac{C-T}{N} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde el porcentaje de evasión comprende que, C es el número de lombrices en el suelo control, T es el número de lombrices encontradas en el suelo contaminado y N es el número total de individuos usados al comenzar la prueba. Un porcentaje positivo es indicativo de evasión al suelo contaminado, un porcentaje de cero significa no evasión, y un porcentaje negativo indicaría atracción por los contaminantes en el tratamiento. Finalmente se realizó una prueba de Chi-cuadrado para verificar si existe una dependencia entre la evasión y la presencia de contaminantes en los ensayos.

2.6.2. Análisis de datos.

Los resultados de los ensayos fueron analizados estadísticamente con el objetivo de evaluar su distribución normal mediante la prueba Shapiro Wilk, y la homogeneidad de varianzas fue evaluada con la prueba Levene.

Por otro lado, el análisis de varianza de una vía o de un factor (ANOVA) fue usado para evaluar el efecto del suelo impactado en las distintas estaciones de monitoreo sobre la mortalidad y el peso. Además, se empleó la prueba post-hoc (posterior) de Tukey con el fin de comparar las medias de las variables independientes (mortalidad y peso). Para aquellas las variables no paramétricas se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. El paquete estadístico IBM-SPSS 21 fue usado para analizar todas las pruebas estadísticas.



2.7. Evaluación de la exposición al riesgo ambiental.

La evaluación de riesgo ambiental (ERA) se llevó a cabo siguiendo lo propuesto por la Guía para la Evaluación del Riesgo Ecológico (EPA, 1992 (67) y el Documento de orientación técnica sobre evaluación de riesgos European Commission (68); y se realizó sobre los metales con concentraciones más altas independientemente de la estación de monitoreo a la que pertenecen las muestras de suelo contaminado (ver **Figura 25**).

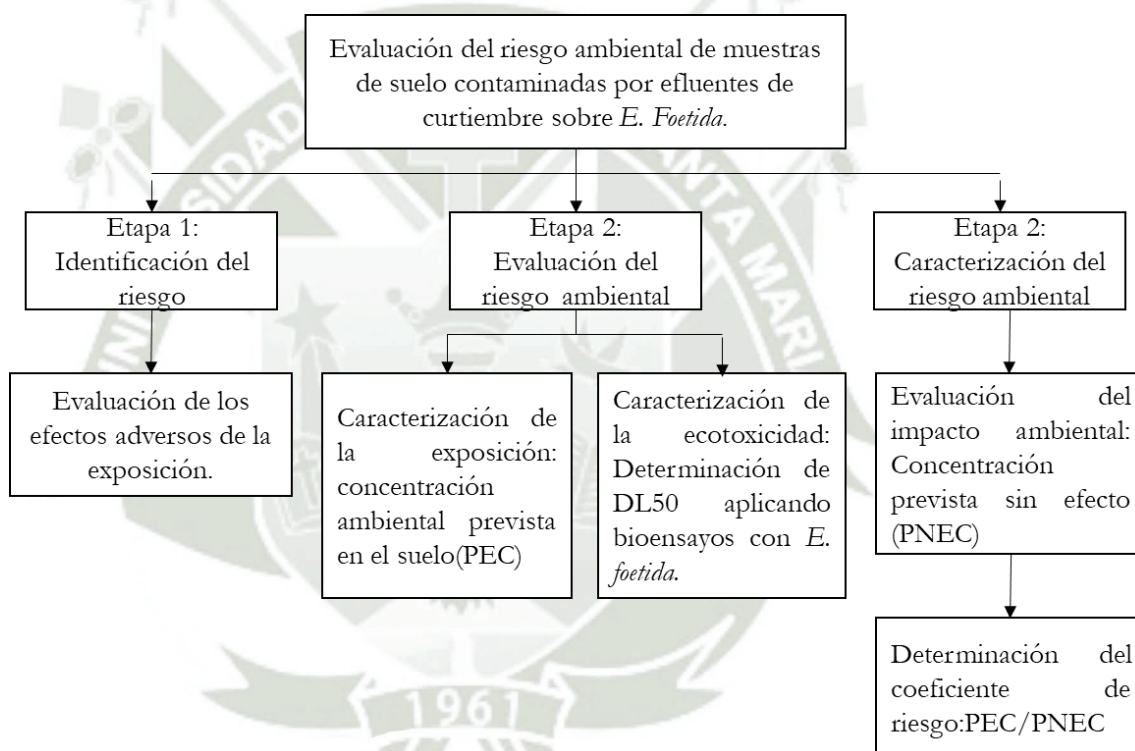


Figura 25. Método de evaluación del riesgo ambiental.

2.7.1. Concentración ambiental prevista (PEC).

Para el establecimiento de una concentración ambiental prevista en el área de estudio, se empleó los resultados del análisis químico de la estación de monitoreo MSB-4, debido a que esta representa la muestra de control comparativa en esta investigación, MSB-4 es un punto alejado de la contaminación pero representativo en lo que respecta a las características fisicoquímicas del terreno ya que expresa las particularidades de la zona en ausencia de polución.

2.7.2. Concentración prevista sin efecto (PNEC).

Se determinó la concentración prevista sin efecto utilizando los resultados de los bioensayos de toxicidad aguda de corta duración, específicamente a partir de los resultados de la DL_{50} . A estos datos se les aplicó un factor de valoración (FV) o factor de seguridad establecidos para ensayos de toxicidad, el cual fue de 1000 (68). El uso de un factor de 1000 en los datos de toxicidad a corto plazo es un factor conservador, protector y está diseñado para asegurar que las sustancias con el potencial de causar efectos adversos se identifiquen en la evaluación de efectos; este factor hace una contribución significativa a la incertidumbre general del análisis del riesgo y es aplicable para cualquier sustancia dada. PNEC es la relación entre parámetros los de toxicidad/Factor de valoración.

$$PNEC = \frac{DL_{50}}{1000}$$

Ecuación 3.

2.7.3. Caracterización del riesgo ambiental.

El coeficiente de riesgo (CR) se calculó usando la ecuación 4, y se clasificó en cuatro niveles: 1. Riesgo nulo ($CR < 0,01$), 2. Riesgo bajo ($0,01 \geq CR < 0,1$) 3. Riesgo medio ($0,1 \leq CR < 1$) y riesgo alto ($CR \geq 1$). La suma de los coeficientes de riesgo para los metales evaluados permitió determinar el riesgo ambiental total y finalmente se cuantificó la contribución de cada uno de ellos.

$$CR = \frac{PEC}{PNEC}$$

Ecuación 4.

CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES.

3.1. Caracterización de la zona.

Ubicados los puntos de reconocimiento sobre un mapa base satelital obtenemos la imagen del área impactada por efluentes industriales provenientes de los procesos de curtido y otros, la dispersión de los puntos de reconocimiento se observa en la **Figura 26**.



Figura 26. Ubicación de puntos de reconocimiento.

Se reconocieron las dos lagunas construidas por el gobierno regional de Arequipa, la laguna N°1 se encuentra en funcionamiento, esta tiene un perímetro de aproximadamente 419 m y un área de 11700 m², es de tipo facultativa y se encuentra al 100 % de su capacidad de almacenaje por lo que los efluentes han sido desviados, mientras que la laguna N°2 con un área de 9560 m² está fuera de uso y parte de los recubrimientos de geomembrana que posee han sido removidos, por lo cual tampoco está habilitado su funcionamiento.

Como se muestra en la imagen anterior en el área impactada se identificó un perímetro de 1014 metros y el área total de afectación es de 42385 m² en los cuales el flujo de aguas residuales que han sido desviadas ha formado pequeñas lagunas debido al

represamiento de los líquidos, el flujo constante de descargas sigue su curso hacia la quebrada Estanquillo para finalmente incorporarse al caudal del río Chili.

En lo que respecta a la zonificación del área de interés (**Figura 27**), los datos informáticos brindados por el gobierno regional de Arequipa y procesados en el software QGIS muestran el siguiente mapa de ZEE (zonificación ecológica y económica).

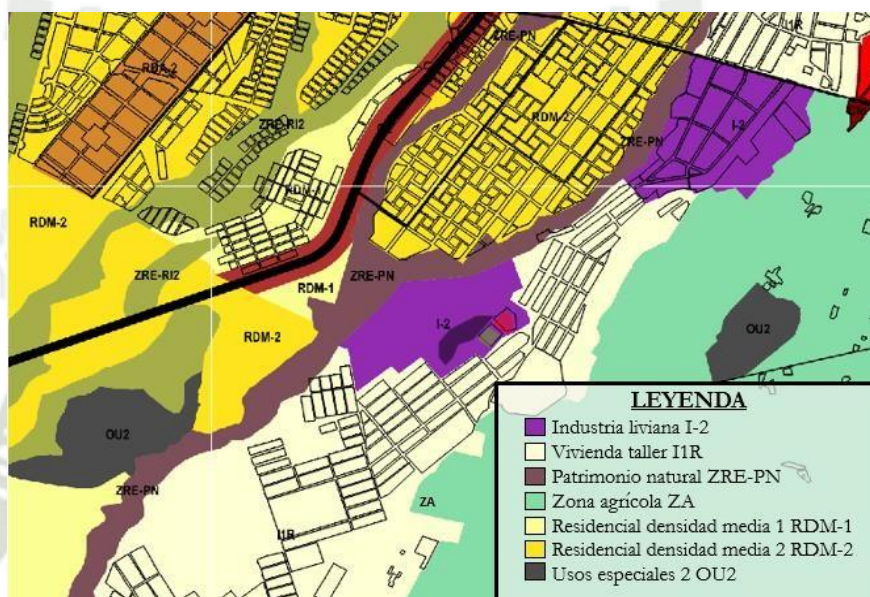


Figura 27. Mapa de zonificación del área de interés.

Como se aprecia en el mapa el área de impacto propiamente dicha, se encuentra en una zona determinada como industria liviana I-2 reconocida por el estado peruano como una “Zona destinada para establecimientos industriales de apoyo, productora de bienes esenciales para la población y de bienes e insumos para las actividades productivas” según la Norma TH.030 que también indica que estas industrias no deberían ser peligrosas ni molestas, esto no se estaría cumpliendo del todo debido a las implicancias ambientales generadas por la acumulación de efluentes. Se aprecia también que directamente al margen derecho de las lagunas y área de impacto, la zonificación establecida es de vivienda taller I1R “Es la zona destinada a vivienda compatible con Industria elemental” es decir compatible con zonas destinadas a establecimientos industriales complementarios, en esta zona se prevé que vivan hasta 900 Hab/Ha y ciertamente existen muchas viviendas establecidas en los alrededores del área de impacto ambiental (ver **Figura 28**).



Figura 28. Zona impactada y viviendas.

Las coordenadas de reconocimiento fueron superpuestas en el mapa de la carta nacional “33s” como se observa en la **Figura 29**, de esta forma se determina que el área pertenece a la unidad geomorfológica denominada “penillanura de Arequipa”, esta es una superficie suavemente ondulada con ligeras desnivelaciones producto de una prolongada erosión y de forma groseramente triangular, comprendida entre las localidades de Arequipa. A su vez está rodeada de cerros altos que forman parte de la Cordillera de Laderas.

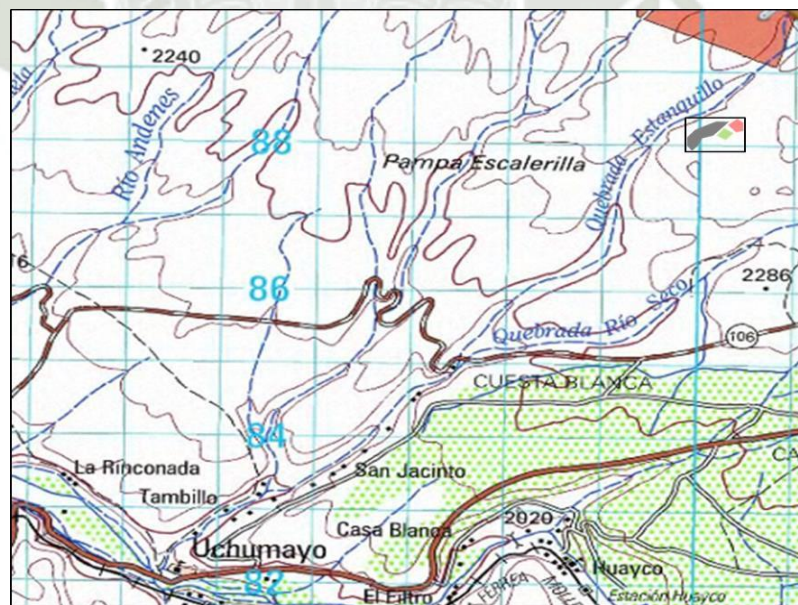


Figura 29. Carta nacional “33s” y área de interés

Además es posible observar que el terreno impactado por efluentes está ubicado muy cerca a la quebrada Estanquillo, y es allí por donde fluyen entrando en contacto con otros cursos de agua de regadío como manantiales y el río Chili en Uchumayo.

En cuanto a la hidrogeología el sistema de información geográfica GEOCATMIN mostro las unidades hidrogeológicas que conforman la zona de interés (**Figura 30**), al superponer el área de impacto se reconoce que está situada sobre un Acuitardo volcánico sedimentario (ATVS), el cual es una formación geológica capaz de almacenar agua, pero que la transmite muy lentamente, además, el área de estudiada se encuentra muy cerca de otra unidad hidrológica de importancia, un acuífero poroso no consolidado (APNCa), en los que el agua circula entre sus poros o espacios existentes entre los granos del terreno, son generalmente acuíferos extensos con productividad elevada y muy permeables; esto quiere decir, que existe la posibilidad de que con el represamiento de los efluentes en la zona de impacto estén contaminando aguas subterráneas ya que estos flujos son liberados de forma constante y sin tratamientos previos al ambiente, esto puede repercutir de forma negativa sobre las aguas de regadío empleadas en la región.



Figura 30. Hidrogeología en la zona impactada.

Finalmente la vegetación de la zona se verificó empleando el mapa de cobertura vegetal del Perú (ver **Figura 31**), en el podemos identificar que el terreno está ubicado en el área perteneciente al “cardonal de Arequipa”, esta unidad de cobertura vegetal está influenciada por las condiciones de aridez, predominan comunidades de suculentas de la familia *Cactaceae*, las cuales se distribuyen de manera dispersa sobre las laderas colinosas y montañosas. Las especies que sobresalen por su porte columnar son: *Neoraimondia arequipensis* y *Browningia candelaris*. Otras cactáceas muy

comunes en esta unidad de cobertura, son las especies del género *Haageocereus*, que crece de manera postrada a semirecta, Se incluye, asimismo, la especie *Melocactus peruvianus*, *Cephalocereus*, *Opuntia sphaerica*, entre otras.

En esta unidad también se encuentran especies arbustales o subarbustos, muchas de ellas espinosas, asimismo, la presencia rala de hierbas menores, principalmente anuales y bulbíferas, que completan todo su ciclo vegetativo durante el corto periodo de lluvia veraniega (69), todas estas especies pueden verse afectas por la liberación de efluentes contaminados provenientes de las actividades industriales en la zona.

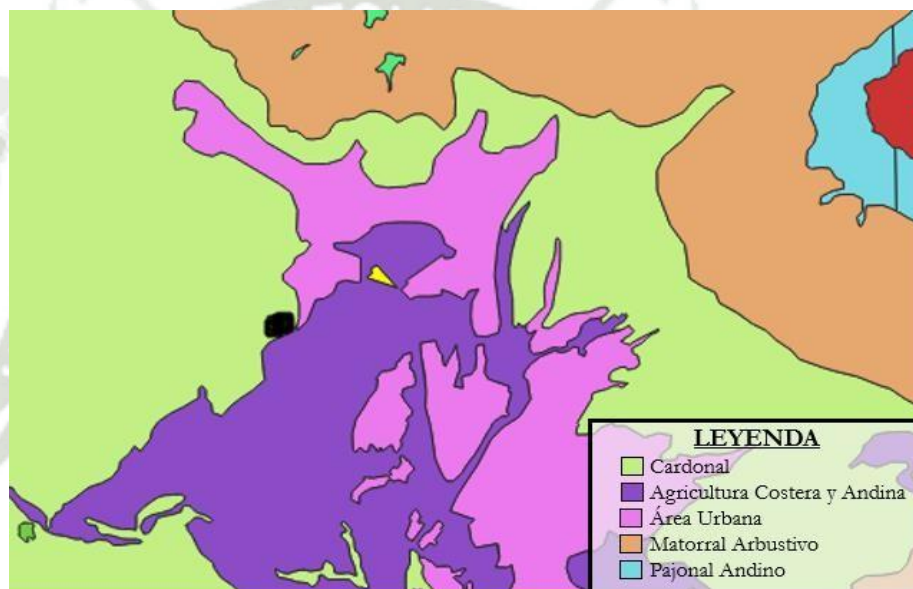


Figura 31. Mapa de cobertura vegetal.

3.1.1. Propiedades químicas de las muestras de suelos.

El análisis de las muestras de suelos provenientes de las estaciones de monitoreo fue realizado por el laboratorio CERPER.SA, el cual se encuentra debidamente acreditado ante INACAL para los métodos de análisis (ver **Anexo 2**).

Es necesario recordar que la estación MSB-4 será considerada como blanco para contrastar diferencias significativas en las concentraciones de los parámetros analizados. En la **Tabla 9** se puede observar los resultados en unidades de mg/Kg de los sulfuros presentes en suelo impactado por los efluentes.

Tabla 9. Concentración de sulfuros en estaciones de monitoreo.

Parámetro	Estación de monitoreo			
	MSC-1	MSC-2	MSC-3	MSB-4
Sulfuros (mg/kg)	12	8	10	3.99

En la **Tabla 10** se puede observar los resultados en unidades de mg/Kg de metales presentes en suelo impactado por los efluentes.

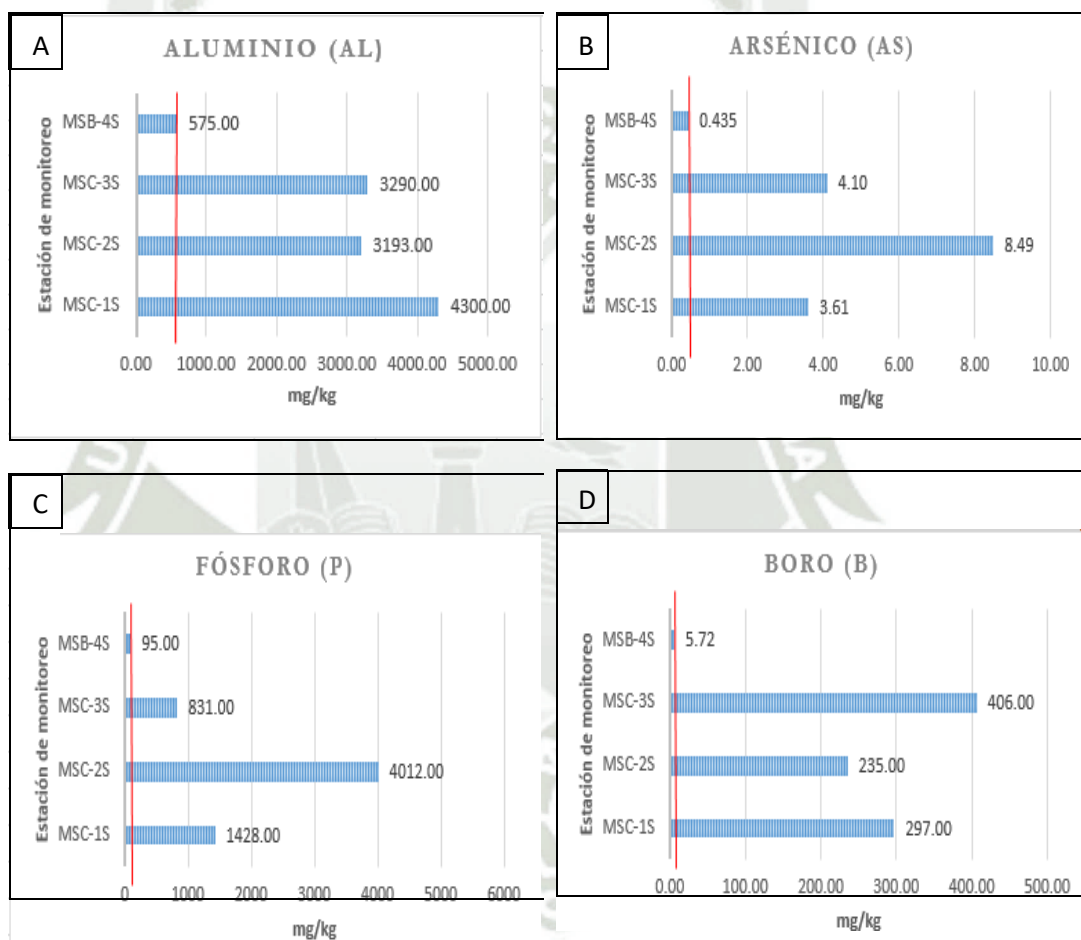
Tabla 10. Concentración de metales en estaciones de monitoreo

Parámetro (mg/kg)	Estación de monitoreo			
	MSC-1	MSC-2	MSC-3	MSB-4
Aluminio (Al)	4300.00	3193.00	3290.00	575.00
Antimonio (Sb)	0.04	0.318	0.0720	0.04
Arsénico (As)	3.61	8.49	4.10	0.435
Bario (Ba)	141.00	206.00	92.90	22.30
Berilio (Be)	0.01	0.01	0.01	0.01
Bismuto (Bi)	0.837	3.11	0.859	0.0674
Boro (B)	297.00	235.00	406.00	5.72
Cadmio (Cd)	0.156	0.478	0.174	0.02
Calcio (Ca)	19827.00	56403.00	14612.00	814.00
Cobalto (Co)	3.48	2.55	2.37	0.54
Cobre (Cu)	42.40	164.00	34.90	5.13
Cromo (Cr)	1717.00	5983.00	1286.00	0.81
Estaño (Sn)	0.32	2.82	0.13	0.16
Estroncio (Sr)	141.00	242.00	90.40	3.31
Fósforo (P)	1428.00	4012.00	831.00	95.00
Hierro (Fe)	6344.00	8097.00	4723.00	1962.00
Litio (Li)	11.80	5.67	5.49	3.29
Magnesio (Mg)	5173.00	3079.00	2220.00	555.00

Manganeso (Mn)	139.00	281.00	155.00	246.00
Mercurio (Hg)	0.03	0.45	0.131	0.03
Molibdeno (Mo)	1.66	13.80	0.778	0.409
Níquel (Ni)	5.70	6.44	3.77	0.45
Plata (Ag)	0.17	0.47	0.22	0.0857
Plomo (Pb)	9.50	93.10	33.20	1.36
Potasio (K)	3485.00	1368.00	1397.00	427.00
Selenio (Se)	0.496	0.475	0.33	0.11
Silicio (Si)	1.00	1.00	1.00	1.00
Sodio (Na)	41497.00	16944.00	10255.00	1377.00
Talio (Tl)	0.02	0.02	0.071	0.02
Telurio (Te)	0.05	0.05	0.05	0.05
Titanio (Ti)	301.00	195.00	324.00	79,35
Uranio (U)	0,127	0,305	0,0956	<0,005
Vanadio (V)	21,2	30,4	17,7	1,99
Wolframio (W)	<0,05	0,0908	<0,05	<0,05
Zinc (Zn)	62,3	174.00	97,0	20,1

Como se puede apreciar en cuanto a la concentración de sulfuros en el área, la estación de monitoreo MSC-1S es casi 3 veces más la concentración del blanco siendo esta la más alta de todas, sin embargo cabe resaltar que las 3 estaciones de monitoreo superan la concentración establecida en el D.S. N° 003-2002- PRODUCE por el estado peruano, en el cual se señala que la concentración permisible es de 3 mg/kg para efluentes de curtiembre, es importante también resaltar que una alta cantidad de sulfuros en suelo se vuelven rápidamente oxidables formándose ácido sulfúrico que produce una baja en el pH de los suelos en donde el crecimiento de plantas no puede ocurrir (43); es posible que las concentraciones de sulfuros tengan variación en función a las interacciones con otros contaminantes como bases fuertes liberadas en distintas etapas de proceso de curtido, a pesar de ello, con este análisis de demuestra la presencia de este contaminante en el suelo del área impactada en niveles que no deberían pasarse por alto.

En cuanto a los metales y metaloides provenientes de las muestras de suelo analizadas por el laboratorio, de los 35 elementos testeados, 10 de ellos fueron de particular interés por su posible riesgo de contaminación y por mostrar diferencias significativas en las concentraciones comparadas con la muestra blanco, los elementos seleccionados fueron aluminio, arsénico, boro, cromo, fosforo, magnesio, plomo, potasio, sodio y calcio. A continuación la **Figura 32** presenta los gráficos de la comparación de las estaciones de monitoreo con la muestra blanco.



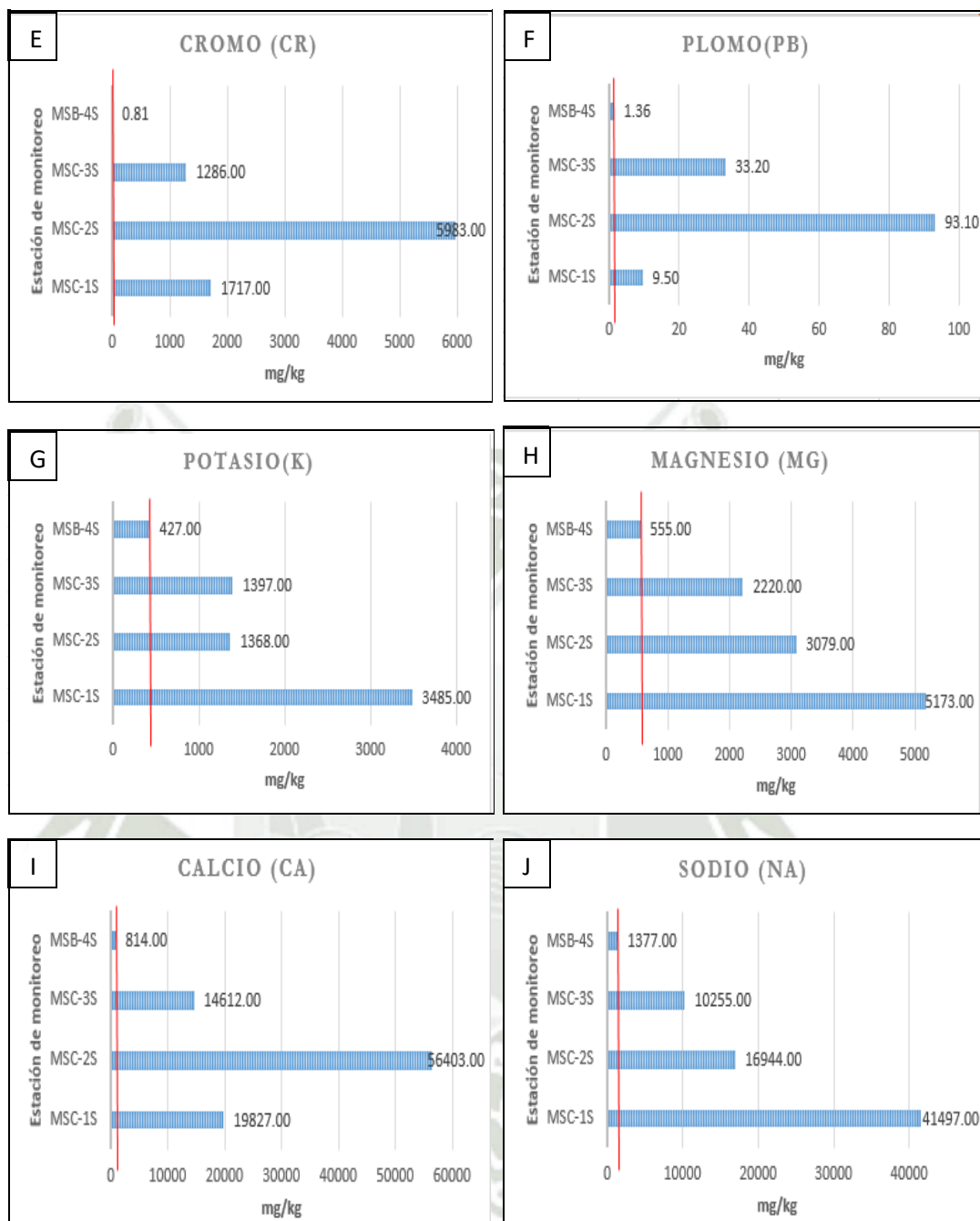


Figura 32. Gráficos de comparación entre estaciones de monitoreo. (A) Comparación de aluminio entre las estaciones de monitoreo, (B) Comparación de arsénico entre las estaciones de monitoreo, (C) Comparación de fósforo entre las estaciones de monitoreo, (D) Comparación de boro entre las estaciones de monitoreo, (E) Comparación de cromo entre las estaciones de monitoreo, (F) Comparación de plomo entre las estaciones de monitoreo, (G) Comparación de potasio entre las estaciones de monitoreo, (H) Comparación de magnesio entre las estaciones de monitoreo, (I) Comparación de calcio entre las estaciones de monitoreo, (J) Comparación de sodio entre las estaciones de monitoreo.

Comenzando con el aluminio, este elemento es incorporado en forma de sales de aluminio para el proceso de curtición, pese a que las concentraciones perjudiciales en suelo de este elemento no están normadas en los ECA del Perú, la EPA (Environmental Protection Agency) establece que una concentración de 110 mg/kg de este elemento resulta causar daños ecotoxicológicos en organismos vivos (49), teniendo en cuenta este referente las concentraciones en los 3 primeros puntos de monitoreo superan ampliamente este parámetro, su presencia genera toxicidad, además es un factor importante que limita el crecimiento de plantas ya que tiende a acumularse en las raíces inhibiendo la elongación radicular y limitando el correcto desarrollo (50).

El arsénico es un elemento altamente nocivo para la salud humana y provoca la destrucción de la clorofila en las plantas expuestas a él (70), sin embargo, el estado peruano establece que una concentración aceptable en suelos es de 50 mg/kg, por lo tanto, las cantidades de As encontradas en el área de impacto no representan peligro para los seres vivos al estar muy por debajo de esta cantidad.

Continuando con el boro que es empleado en el proceso de curtido en forma de ácido bórico, los niveles establecidos en suelos por el CCME son de 2mg/kg (48), por lo tanto las cantidades de 235 mg/kg, 297 mg/kg y 406 mg/kg, deben ser consideradas perjudiciales para los sistemas ecológicos expuestos a este metal en las concentraciones halladas, sobre todo por su afectación al desarrollo de plantas causando necrosis progresiva en cultivos que comienza por el amarilleamiento de las bordes de las hojas y finalmente la muerte de la planta, además está probado que la ingesta de concentraciones altas de este elemento resulta ser perjudicial para órganos tales como riñones, hígado y cerebro para organismos expuestos (71).

El cromo es el elemento que libera la industria de curtiembres con mayor potencial pernicioso para los ecosistemas ya que las sales de cromo empleadas en el proceso de curtición pueden fácilmente estar interactuando con otros componentes en los ambientes que son liberadas transformándose en Cr^{6+} , un componente cuyos efectos nocivos para la salud de los seres vivos ha sido demostrados, los cuales incluyen principalmente el cáncer, daño hepático, problemas reproductivos, entre otras muchas afecciones; mientras que el cromo hexavalente es tóxico, el Cr^{3+} es un elemento esencial de la dieta humana, pero las dos formas pueden transformarse entre sí y

regresar de nuevo en el cuerpo o en el agua, por lo tanto, es necesario determinar las concentraciones de cromo total en el sistema ecológico analizado según Porras (72).

Para el estado peruano el estándar de calidad ambiental de cromo total en suelo es de 400 mg/kg; en los puntos de monitoreo de las estaciones MSC-1, MSC-2, MSC-3 encontramos concentraciones de 1717mg/kg, 5983mg/kg y 1286mg/kg respectivamente, es decir, casi 15 veces más de lo permitido; es por este motivo que se debe poner especial atención a este tipo de contaminación ya que al estar extremadamente cerca de la población aledaña pone en riesgo la salud de la personas y ecosistemas, en un estudio previo de Lazo (73) determinó concentración en efluentes en la zona de 29.18mg/L, se puede asumir entonces que los efluentes impactan en el suelo y este metal se va acumulando en dicha matriz.

La concentración de fosforo en los puntos de monitoreo superan en gran medida los valores naturales hallados en el blanco, estos datos son importantes debido a que la entrada de fosforo a los cuerpos de agua superficiales suele ocasionar la eutrofización de estos (74). El exceso de P es comúnmente un nutriente limitante en sistemas acuáticos, siendo lo mismo para suelos poco fértiles, con la diferencia de que los ecosistemas acuáticos tienen baja capacidad amortiguante, en otras palabras, poca habilidad para almacenar dicho elemento; es entonces que cuando el P entra en contacto con lagos, ríos o cuerpos de agua, se estimula notablemente el crecimiento de algas y otros microorganismos como cianobacterias, las cuáles puede matar animales y exponer a los seres humanos a problemas de salud (75). La posterior descomposición de estas algas consume el oxígeno disuelto y cuando este es escaso o se agota los organismos aeróbicos del ecosistema se ven afectados y comienzan a morir, seguido, la tasa de muerte de estos organismos aumenta y la demanda por el oxígeno en el sistema se incrementa de forma exponencial. Cuanto mayor sea la tasa de mortalidad tendrán como resultado mayor demanda de oxígeno necesario para la descomposición, el sistema pasa de ser aeróbico a uno anaeróbico (75).

En lo que respecta al plomo, la estación de monitoreo MSC-2 es la que presenta los niveles más críticos con 90.1 mg/kg de suelo, 68 veces más que los valores naturales de la estación MSB-4 con 1.36 mg/kg, así mismo, las otras dos estaciones mostraron diferencias significativas comparadas con el blanco, sin embargo, los estándares de calidad ambiental peruanos establecen una concentración permisible de 140 mg/kg

para suelos de uso residencial (76), que según la zonificación se encuentran muy cercanos del punto muestreado, por lo tanto la concentración de plomo en la zona no representa un peligro para la salud de organismos en el sistema ecológico analizado. En lo que respecta el calcio y magnesio son elementos de los cuales no se han reportado estudios de toxicidad para organismos, sin embargo existen muy altas concentraciones de estos 3 en las muestras de suelos enviadas a analizar, alcanzando valores como 56403 mg/kg para Ca (MSC-2), 5173 mg/kg para Mg (MSC-1) y 3485 mg/kg para K (MSC-1), números ciertamente altos y muy por encima de los valores naturales del blanco, es importante tomar en cuenta que aunque es posible que los organismos expuestos no sufran daños de consideración por la exposición a estos elementos, si tienen un impacto directo sobre la flora que tiene contacto con ellos provocando en altas concentraciones, como es el caso, deterioros en el desarrollo, dificultades en la absorción de otros nutrientes y muerte progresiva de los tejidos vegetales tal como lo indica Nova et al. (77).

Finalmente el sodio el cual es agregado en el proceso de curtición en forma de hipoclorito de sodio y sulfuro de sodio, el valor más alto encontrado fue en la estación de monitoreo MSC-1 el cual es de 41497 mg/kg, una concentración que indica altos niveles de salinidad en el suelo del área en estudio, esto acarrea problemáticas ambientales debido a que el elemento afecta la permeabilidad del suelo y causa problemas de infiltración, los ecosistemas expuestos a un constante flujo de sodio sufren rápidamente por la pérdida de vegetación y los organismos en la base del sistema ecológico son los primeros en verse afectados como refiere Piedra et al. (78). En los resultados del análisis de suelos de esta investigación se pueden observar niveles altos de contaminación, los valores obtenidos son ciertamente superiores a los reportados por Lazo (73) en su evaluación de la contaminación ambiental del área, esto se debe a que no ha tomado ninguna medida para el tratamiento previo de las descargas de efluentes y tampoco se han llevado a cabo propuestas de remediación ambiental en la zona.

3.2. Evaluación de los efectos letales de muestras de suelos.

3.2.1. Ensayo preliminar.

Este ensayo se llevó a cabo con las muestras de suelo de la estación MSC-2 para determinar el rango de concentraciones con las cuales trabajó posteriormente las demás muestras de suelo provenientes de las estaciones de monitoreo (**Tabla 11**), su realización fue indispensable para obtener una referencia de las afectaciones del conjunto de contaminantes sobre los organismos vivos.

Tabla 11. Resultados del ensayo preliminar.

Concentración (%)	total individuos	exánime	% mortalidad
100 %	10	10	100 %
75 %	10	10	100 %
50 %	10	10	100 %
25 %	10	10	100 %
5 %	10	0	0 %
0 %	10	0	0 %

A continuación la **Figura 33** muestra la representación gráfica de los resultados del ensayo preliminar.

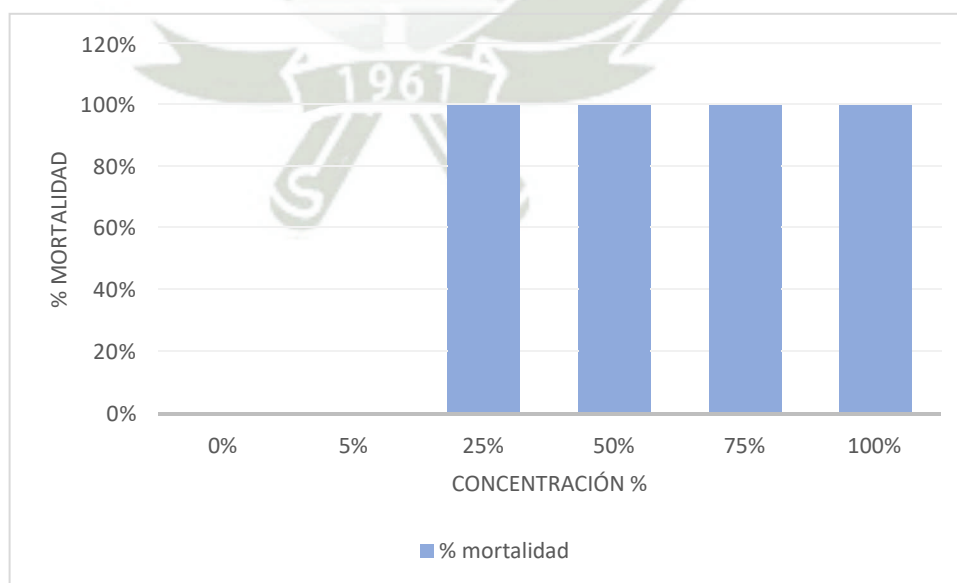


Figura 33. Grafico dosis respuesta – Ensayo preliminar.

Como se aprecia en gráfico anterior, transcurridos los 14 días de duración de la prueba preliminar la mortalidad de los organismos aumenta de 0 % a 100 % entre las concentraciones de 5 % y 25 % de suelo contaminado, esto se debe al amplio intervalo entre concentraciones empleadas, es de esta forma como se obtuvo el rango de trabajo para los subsiguientes ensayos.

3.2.2. Ensayos de toxicidad aguda

Los ensayos de toxicidad aguda fueron realizados por cada estación de monitoreo y cuentan con 3 repeticiones teniendo como punto final la mortalidad de los individuos, además de dos blancos uno de suelo artificial y otro de la estación MSB-4; una vez obtenidos los datos en bruto se llevaron a cabo los análisis estadísticos que fueron fundamentales para procesar la información y obtener la DL_{50} , así como el NOEC y LOEC para las estaciones de monitoreo analizadas de forma individual, los análisis estadísticos pueden revisarse a detalle en el **Anexo 4**; previamente los datos fueron evaluados para verificar la normalidad y la homogeneidad de varianzas de los mismos. Los resultados de la estación MSC-1 se muestran en la **Tabla 12**:

Tabla 12. Mortalidad en MSC-1

MSC-1									
Concentración (%)	Total individuos	Mortalidad 7d			Mortalidad 14d			Prom. 14d	% Mortalidad
		R1	R2	R3	R1	R2	R3		
S.C. 0 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
S.A. 0 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
5 %	10	0	0	0	1	0	0	0.3	3 ± 5.7 %
10 %	10	4	5	5	6	5	6	5.6	56 ± 5.7 %
15 %	10	7	6	6	8	9	8	8.3	83 ± 5.7 %
20 %	10	9	8	9	10	10	10	10	100 ± 0 %
25 %	10	10	10	10	10	10	10	10	100 ± 0 %

SC: Suelo control de la MSC-4, SA: Suelo artificial.

En la **Tabla 13** se presentan los parámetros ecotoxicológicos obtenidos para la muestra de la estación MSC-1.

Tabla 13. Parámetros ecotoxicológicos MSC-1

Parámetros Ecotoxicológicos		
Periodo	7d	14d
PROBIT (SPSS)		
DL₅₀(% de suelo contaminado)	11.722	9.665
LC Inferior (95 %)	10.236	8.44
LC superior (95 %)	13.094	10.801
ANOVA + HSD de TUKEY (SPSS)		
NOEC (%)	5	5
LOEC (%)	10	10

DL₅₀: dosis letal media, LC: límite de confianza, NOEC: concentración más alta de efecto no observado, LOEC: concentración más baja donde se observa efecto.

En la **Figura 34** se presenta el grafico de dosis-respuesta para los periodos de exposición de 7 y 14 días.

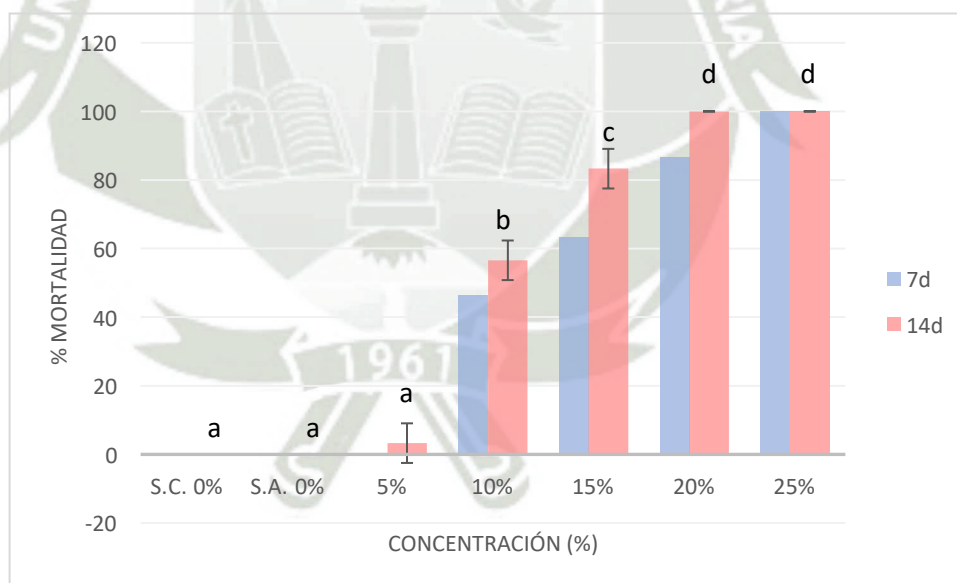


Figura 34. Grafico dosis respuesta (mortalidad) – MSC-1

Las medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Los resultados de los ensayos de toxicidad aguda para la estación MSC-2 se muestran en la **Tabla 14**.

Tabla 14. Mortalidad en MSC-2

MSC-2									
Concentración (%)	Total individuos	Mortalidad 7d			Mortalidad 14d			Prom. 14d	% Mortalidad
		R1	R2	R3	R1	R2	R3		
		S.C. 0 %	10	0	0	0	0		
S.A. 0 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
5 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
10 %	10	0	1	0	1	1	1	1	10 ± 0 %
15 %	10	3	1	2	4	3	3	3.3	33 ± 5.7 %
20 %	10	6	5	5	7	6	5	6	60 ± 10 %
25 %	10	10	10	10	10	10	10	10	100 ± 0 %

SC: Suelo control de la MSC-4, SA: Suelo artificial.

En la **Tabla 15** se presentan los parámetros ecotoxicológicos obtenidos para la muestra de la estación MSC-2.

Tabla 15. Parámetros ecotoxicológicos MSC-2

Parámetros Ecotoxicológicos		
Periodo	7d	14d
PROBIT (SPSS)		
DL ₅₀ (% de suelo contaminado)	18.056	16.544
LC <i>Inferior</i> (95%)	16.739	15.092
LC <i>superior</i> (95%)	19.446	18.074
ANOVA + HSD de TUKEY		
NOEC (%)	10	10
LOEC (%)	15	15

DL₅₀: dosis letal media, LC: límite de confianza, NOEC: concentración más alta de efecto no observado, LOEC: concentración más baja donde se observa efecto.

En la **Figura 35** se presenta el grafico de dosis-respuesta para los periodos de exposición de 7 y 14 días.

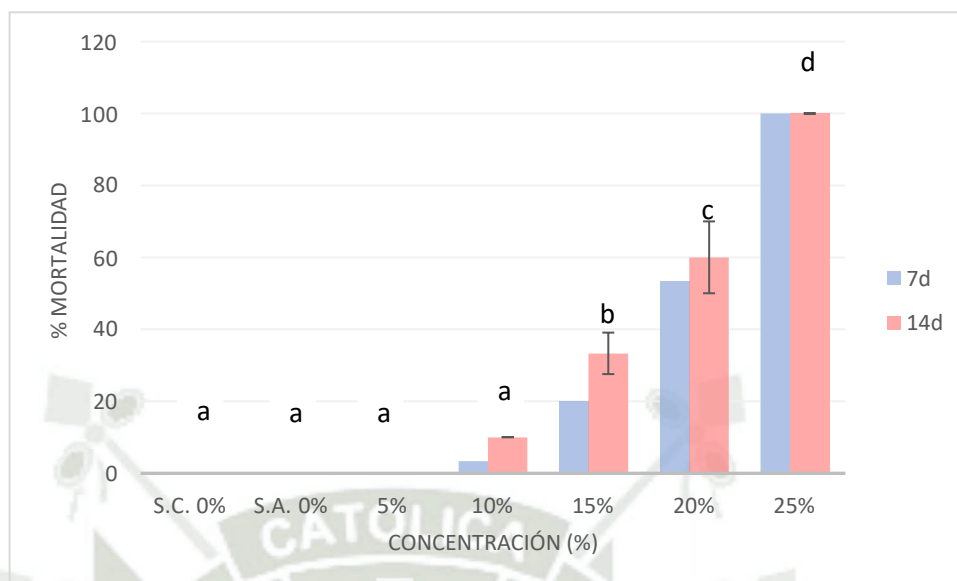


Figura 35. Grafico dosis respuesta (mortalidad) – MSC-2

Las medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Tukey ($P < 0,05$)

Los resultados de los ensayos de toxicidad aguda para la estación MSC-3 se muestran en la **Tabla 16**.

Tabla 16. Mortalidad en MSC-3

MSC-3									
Concentración (%)	Total individuos	Mortalidad 7d			Mortalidad 14d			Prom. 14d	% Mortalidad
		R1	R2	R3	R1	R2	R3		
S.C. 0 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
S.A. 0 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
5 %	10	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0 %
10 %	10	1	0	0	1	0	0	0.3	3.3 ± 5.7 %
15 %	10	3	2	2	3	3	4	3.3	33 ± 5.7 %
20 %	10	4	5	4	7	6	7	6.67	66.7 ± 5.7 %
25 %	10	10	10	10	10	10	10	10	100 ± 0 %

SC: Suelo control de la MSC-4, SA: Suelo artificial.

En la **Tabla 17** se presentan los parámetros ecotoxicológicos obtenidos para la muestra de la estación MSC-3.

Tabla 17. Parámetros ecotoxicológicos MSC-3

Parámetros Ecotoxicológicos		
Periodo	7d	14d
PROBIT (SPSS)		
DL₅₀(% de suelo contaminado)	18.372	16.759
LC Inferior (95%)	16.989	15.457
LC superior (95%)	19.889	18.056
ANOVA + HSD de TUKEY		
NOEC (%)	10	10
LOEC (%)	15	15

DL₅₀: dosis letal media, LC: límite de confianza, NOEC: concentración más alta de efecto no observado, LOEC: concentración más baja donde se observa efecto.

En la **Figura 36** se presenta el grafico de dosis-respuesta para los periodos de exposición de 7 y 14 días.

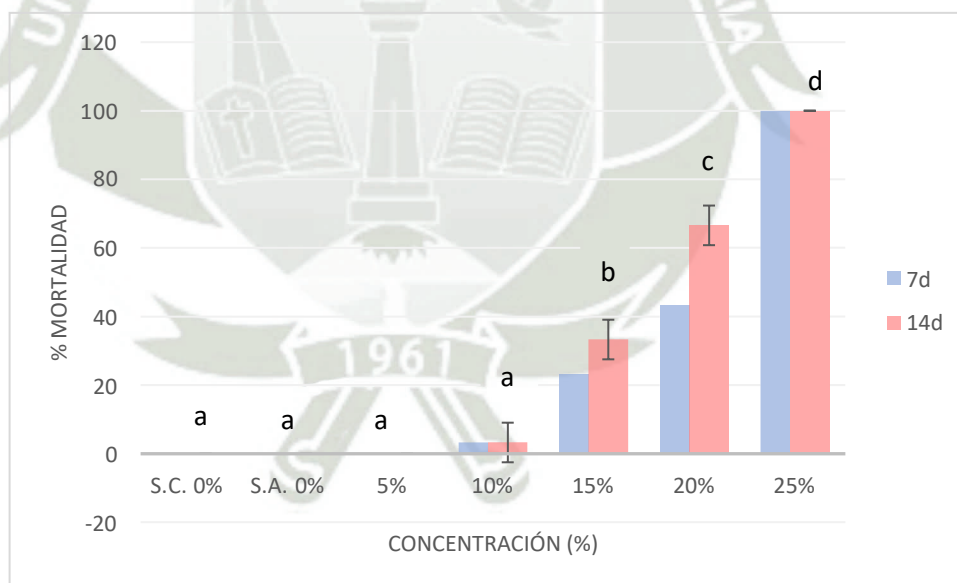


Figura 36. Grafico dosis respuesta (mortalidad) – MSC-3

Las medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Como se puede observar los resultados muestran efectos de la mortalidad del suelo impactado por efluentes sobre las lombrices, evidenciándose una clara relación dosis-

respuesta positiva entre el deceso de los organismos de prueba y el nivel de tratamiento; este biomonitoreo pone en evidencia que el punto de mayor afectación para los organismos es la estación de monitoreo MSC-1 donde comienza la contaminación obteniéndose un valor de DL_{50} de 9.665% así como un NOEC y LOEC de 5 % y 10 % respectivamente, una DL_{50} más baja en MSC-1 indica que es necesario menor cantidad de suelo contaminado para producir la mortalidad organismos representativos como las lombrices de tierra, relacionando esta información con el análisis de suelo, los metales que predominan a diferencia de las otras estaciones son el aluminio, potasio, y sodio, aplicando cálculos matemáticos (**Anexo 3**) se puede determinar que la concentración de aluminio en 9.665 % (DL_{50}) del suelo en MSC-1 es equivalente a 415mg/kg este valor es superior al reportado por Wang et al. (79) de 152 Al mg/kg para *Caenorhabditis elegans* otro organismo de prueba similar a *E. foetida* empleando Al_2O_3 , en lo que respecta al sodio la concentración en la DL_{50} equivale a 4011mg/kg este valor es muy similar al reportado por Klaassen et al. (80) con 4000 mg/kg para cloruro de sodio, lo que hace presumible que sea el sodio, en forma de cloruro de sodio, lo que ocasiona la toxicidad aguda en esta estación de monitoreo; continuando con el potasio, presuntamente agregado como hidróxido de potasio, la concentración en la DL_{50} de MSC-1 es de 336.82mg/kg, siendo cercana a la DL_{50} de 365 mg/Kg, concentración reportada por la ficha de seguridad de dicho producto para evaluaciones con roedores (81).

Por otra parte las estaciones MSC-2 y MSC-3 poseen un valor de DL_{50} de 16.544 % y 16.759 %, estas concentraciones no difieren significativamente entre sí, además, las estaciones comparten los mismos valores de NOEC y LOEC 10 % y 15 % respectivamente, los metales que prevalecen en la MSC-2 son el calcio, cromo y fosforo, con cálculos se determinó que para Ca en una DL_{50} de 16.544 % estaban presentes 9331.31mg/kg, este metal es incorporado en forma de cal al proceso de curtición, por lo tanto, al revisar la hoja de seguridad de la cal está establecida una concentración letal media de 2000 mg/kg para organismos superiores, este valor nos permite suponer que el DL_{50} de cal para *E. foetida* es significativamente superior, ya que no se observa mortalidad de los organismos en función a este componente. Pasando al siguiente metal, la estimación de cromo en la DL_{50} de MSC-2 es de 989.82 mg/kg valor que es superior al encontrado por Haight et al. (82) con CL_{50} de 859 mg/L

para *Panagrellus silusiae* (gusano acuático) y finalmente la concentración de fósforo en MSC-2 estimada es de 663.74 mg/kg, este elemento es agregado en forma de ácido fosfórico en el proceso de curtido y su DL_{50} es considerablemente menor 75.1mg/l demostrada por ensayos de ecotoxicidad con *Oryzias latipes* (83), sin embargo, es muy probable que este compuesto se haya transformado a fosfatos, por lo tanto, la dosis letal media para fosfatos en forma de fosfato de sodio es de 2000 mg /kg indicada por Bello SML (84) para *Rattus norvegicus*, esto hace presumir que este elemento no es el responsable de causar la mortalidad *E. foetida* dada que el valor encontrado en la zona no supera la medida reportada en la bibliografía.

Es necesario precisar que los metales presentes en la estación MSC-2 son ciertamente más elevados que la estación MSC-3, sin embargo, ambas tienen una DL_{50} similar esto indicaría que ninguno de los tres metales mencionados estaría ocasionando la mortalidad de las lombrices, por otro lado, las dos estaciones comparten concentraciones parecidas para elementos como el potasio y aluminio esto puede hacer conjeturar que se trata de dichos elementos los que determinan la toxicidad aguda para *E. foetida* de la zona en estudio; es muy importante tener en cuenta que el ecosistema del suelo es muy complejo, donde la interacción ocurre entre factores bióticos y abióticos y los metales en este estudio se interrelacionan con todo tipo de contaminantes que pueden interferir en factores como la biodisponibilidad de los mismos y la toxicidad potencial (85), es por este motivo que es complicado evaluar de manera puntual e individual las concentraciones del metal y su toxicidad relativa, así mismo un pH ácido como el obtenido en las muestras de suelo puede ocasionar que la solubilidad de los metales aumente así lo refiere Marinussen et al. (85).

3.3. Evaluación de los efectos subletales de las muestras de suelo.

3.3.1. Ensayos de evasión

Los ensayos de evasión se llevaron a cabo con la finalidad de evaluar el comportamiento de los organismos de prueba frente a los contaminantes presentes en el suelo, como sucedería de forma natural en los alrededores del área de impacto, en la **Tabla 18** se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 18. Evasión en MSC-1

[C]	MSC1- EVASIÓN										PROM. 48h	Total de indivi duos	%EVASI ÓN	
	Réplicas													
	R1		R2		R3		R4		R5					
S C	SA	S C	S A	S C	S A	S C	S A	S C	S A	SC	SA			
1.25 %	2	8	6	4	7	3	6	4	4	6	5	5	10	0 ± 40 %
2.50 %	6	4	4	6	4	6	5	5	6	4	5	5	10	0 ± 20 %
5.00 %	3	7	5	5	6	4	5	5	4	6	4.6	5.4	10	8 ± 22 %
10.00 %	3	7	4	6	2	8	2	8	3	7	2.8	7.2	10	44 ± 16 %
15.00 %	0	10	1	9	1	9	0	10	1	9	0.6	9.4	10	88 ± 11 %

[C]: Concentración, SC: Suelo contaminado, SA: Suelo artificial

La **Figura 37** presenta el gráfico de respuesta a la evasión de los contaminantes provenientes de las muestras de suelo de la estación MSC-1.

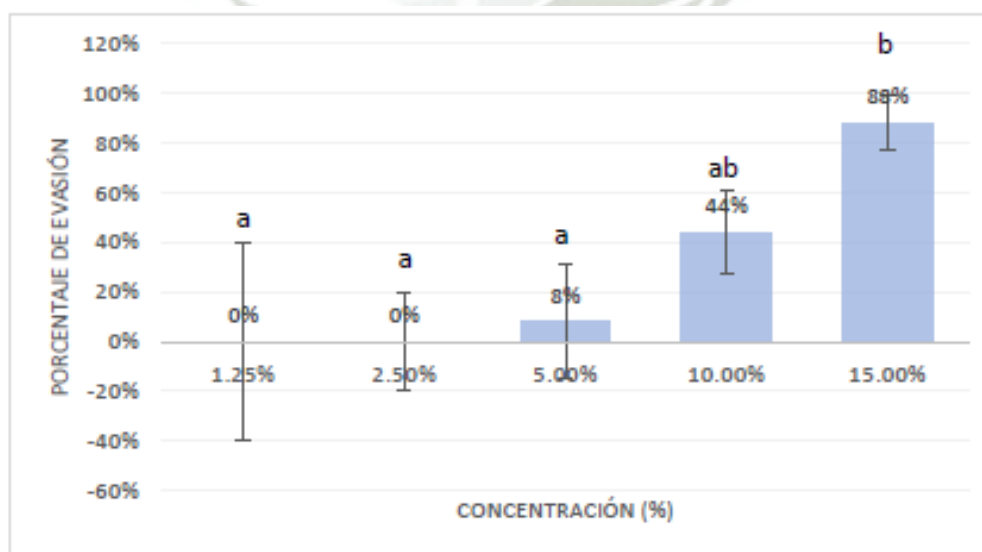


Figura 37. Gráfico de Evasión-Concentración

Las medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Tukey ($P < 0,05$)

Como el punto MSC-1 fue el que demostró mayor mortalidad para los organismos se realizaron los ensayos con suelo impactado proveniente de esta estación; luego de realizados los cálculos, se determinó que en las concentraciones de 1.25 % y 2.5 % se obtuvo una respuesta de 0 %, es decir, no existe la evasión del suelo impactado a dichas concentraciones, por otro lado, los porcentajes restantes resultaron positivos, lo cual, es un indicador del comportamiento de evasión, por parte de las lombrices hacia el suelo contaminado, sin embargo, el análisis estadístico de ANOVA y post hoc Tukey (previa revisión de normalidad y homogeneidad de varianzas) indica que la concentración de 5 % no difiere estadísticamente de las anteriores, como se observa la máxima evasión se obtuvo con la concentración de 15 % dando como resultado un 88 % de comportamiento respuesta al nivel de tratamiento; el análisis del Chi -cuadrado (X^2) arroja un p-value de 0.017 cuando se compara el nivel de tratamiento y la evasión, dado que, el p-value < 0.05 esto indica una correlación positiva, las variables están asociadas en sentido directo.

Ulloa & Bustos (55) reporta entre 92 % y 96 % de evasión para suelos contaminados con altas concentraciones de metales sobre *E.foetida*; el estudio de Sosa - Olivier et al. (86) también confirma un porcentaje de evasión superior al 70 % *E.foetida* para metales pesados, estos resultados se asemejan a los obtenidos en esta investigación, con ello, se ratifica la relación dosis respuesta positiva entre los metales y la evasión por parte de los organismos evaluados, por otro lado, otro estudio sobre la evaluación de la evasión versus la contaminación por metales llevado a cabo por Medina & Iannacone (87) indican solo un 37,5 % de evasión a suelos contaminados empleando la especie *Porcellio Laevis*, en este caso, el organismo no tiende a evadir tanto el suelo impactado; se debe destacar que las especies usadas son diferentes, *E. foetida* es una lombriz epigea y *Porcellio Laevis* es un crustáceo isópodo representativo de los suelos.

3.3.2. Otros puntos finales.

Además de la mortalidad, se trató de determinar otros puntos finales como: fragmentación, necrosis, estado de salud aparente y variación del peso de los organismos de prueba, esto se demostró durante los ensayos de toxicidad aguda. Para los dos primeros parámetros no se evidenció una respuesta relacionada al aumento de concentraciones, en lo que respecta al estado de salud aparente, este parámetro fue analizado cualitativamente, los organismos sometidos a los tratamientos en concentraciones superiores al 10 % del suelo contaminado presentan una pobre respuesta a estímulos exteriores como el tacto y la luz directa, en general, estos individuos padecen aletargamiento, muy pobre movilidad y un comportamiento de enroscamiento, tal como se observa en la **Figura 38**; es posible además, observar un ligero oscurecimiento de los organismos en función a los tratamientos, lo cual, sumado al comportamiento mencionado anteriormente es un indicativo del deterioro de salud de las lombrices expuestas a suelos impactados por efluentes industriales del PIRS.



Figura 38 (A, B). Comportamiento de enroscamiento corporal de *E. foetida* expuesta a suelos contaminados

En lo que respecta a la variación en el peso de la biomasa empleada en los ensayos, los organismos fueron evaluados el primer, séptimo y catorceavo, la biomasa fue pesada en conjunto y el valor fue dividido entre el número de organismos encontrados vivos en cada unidad experimental, esto se llevó a cabo en los tres puntos de monitoreo, de esta forma, se obtuvo un peso promedio de los organismos en las etapas de la evaluación. Los resultados se muestran a continuación, ver **Tabla 19**.

Tabla 19. Variación del peso de la biomasa en MSC-1

Concentración Suelo	Peso Promedio Lombrices (mg)			Porcentaje de Mortalidad	Pérdida de Peso (%)
	Día 1	Día 7	Día 14		
	0 %	500	495		
5 %	514	505	498	3 %	3.20
10 %	472	440	431	56 %	8.71
15 %	503	460	445	83 %	11.54
20 %	471	0	0	100 %	100
25 %	514	0	0	100 %	100

La **Figura 39** presenta el gráfico Peso-Concentración para el periodo de entre 0 y 14 días para MSC-1.

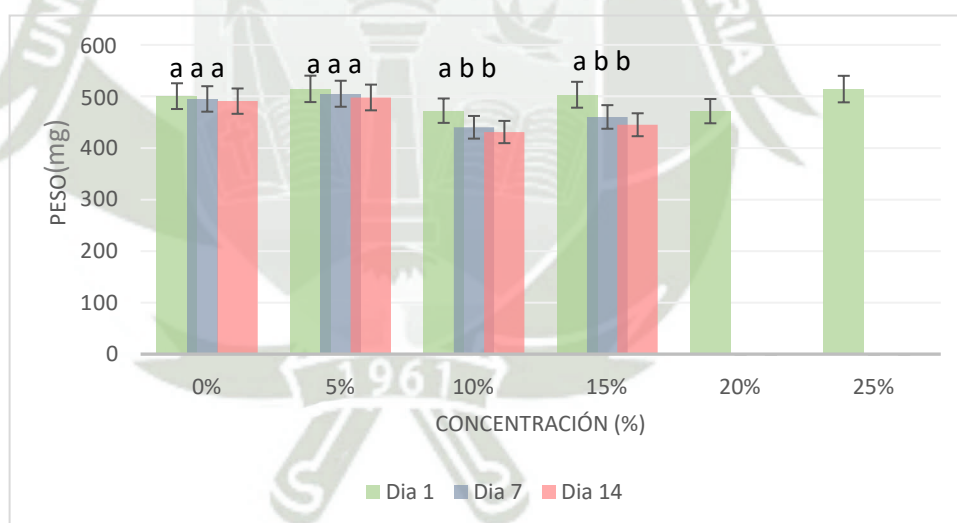


Figura 39. Gráfico de Peso-Concentración MSC-1

En la **Tabla 20** se aprecia la disminución del peso de los organismos de prueba sometidos a las concentraciones de suelo proveniente de la estación MSC-2.

Tabla 20. Variación del peso de la biomasa en MSC-2

Concentración Suelo	Peso Promedio Lombrices (mg)			Porcentaje de Mortalidad	Pérdida de Peso (%)
	Día	Día	Día		
	1	7	14		
0 %	528	521	515	0 %	2.44
5 %	461	456	449	0 %	2.62
10 %	481	465	457	10 %	4.93
15 %	463	442	419	33 %	9.58
20 %	514	475	455	60 %	11.47
25 %	477	0	0	100 %	100

La **Figura 40** presenta el gráfico Peso-Concentración para el periodo de entre 0 y 14 días para MSC-2.

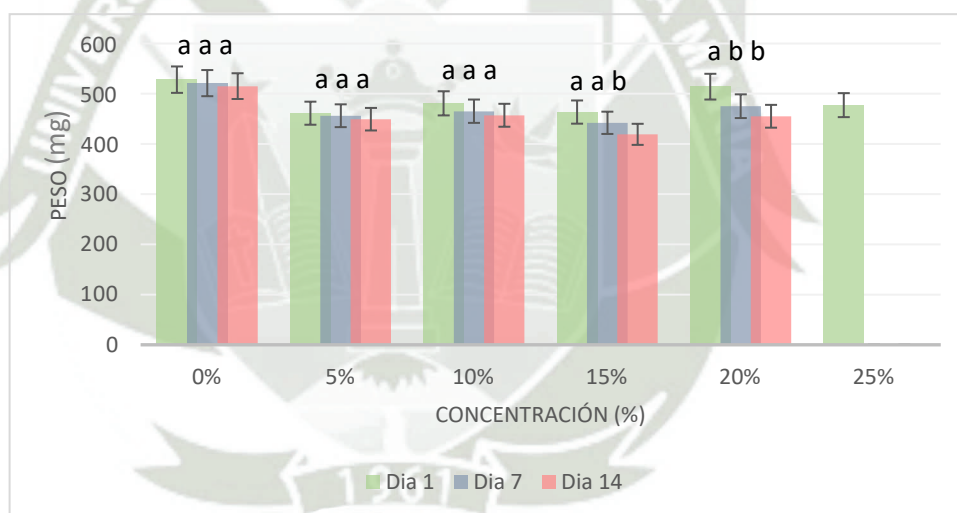


Figura 40. Gráfico de Peso-Concentración MSC-2

En la **Tabla 21** se aprecia la disminución del peso de los organismos de prueba sometidos a las concentraciones de suelo proveniente de la estación MSC-3.

Tabla 21. Variación del peso de la biomasa en MSC-3

Concentración Suelo	Peso Promedio Lombrices (mg)			Porcentaje de Mortalidad	Pérdida de Peso (%)
	Día 1	Día 7	Día 14		
	0 %	467.9	464		
5 %	460.6	452	445	0 %	3.39
10 %	498.9	478	465	3 %	6.80
15 %	484.6	454	430	33 %	11.27
20 %	494.1	451	421	66 %	14.79
25 %	464.5	0	0	100 %	100

La **Figura 41** presenta el gráfico Peso-Concentración para el periodo de entre 0 y 14 días para MSC-3.

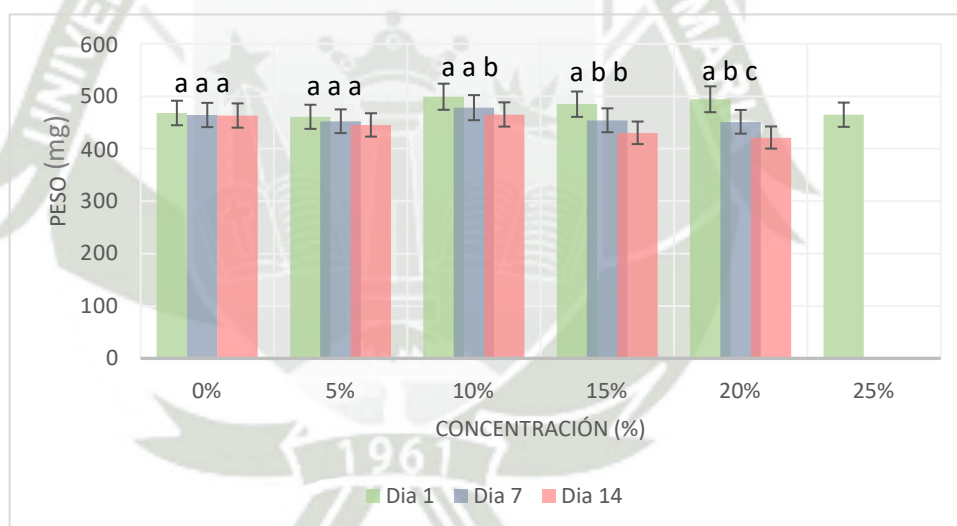


Figura 41. Gráfico de Peso-Concentración MSC-3

Las **Figuras 39, 40 y 41** ilustran mediante gráficos de barras los intervalos de los datos obtenidos para el efecto subletal “peso” en cada nivel de tratamiento y periodo de exposición.

En el punto MSC-1 se evidencia que a concentraciones entre 0 % y 5 % no existe variación estadísticamente significativa entre los organismos analizados entre el primer y catorceavo día, por otro lado, al aumentar la concentración, a 10 % y 15 % se produce una disminución de peso promedio de 8.71 % y 11.54 % respectivamente para

la comparación entre el primer y el último día de análisis; valores más altos de contaminante presentan un 100 % de mortalidad en las unidades experimentales por lo que no es posible llevar a cabo la evaluación, por lo tanto, se considerará un 100 % de variación.

Continuando con la estación MSC-2, a concentraciones 0 % y 5 % se obtuvo un resultado similar a MSC-1 ya que estadísticamente, no hubieron diferencias en el peso de los organismos durante el periodo de prueba. Entre 10 % y 20 % de concentración, la variación del peso fluctuó entre 4.93 % y 11.47 %, estos valores resultan de comparación del día 1 y 14, sin embargo, es importante mencionar que los mayores rangos de variación se dan entre los días 1 y 7, y se mantienen relativamente constantes hasta el día 14.

Para finalizar con la estación MSC-3 la concentración de 5 % no difiere estadísticamente del blanco, y la variación de peso oscila entre 6.8 % y 14.79 % para concentraciones de 10 % y 20 %, a 25 % se obtuvo un 100 % de mortalidad.

Como se observa en todas las muestras analizadas, a una concentración de 5 % p/p los contaminantes en el suelo no evidencian repercusiones subletales para las lombrices de tierra de la especie *E. foetida*, es decir, peso de los organismos se mantiene estable, por el contrario, con valores de concentración superiores al 10 % podemos afirmar que un efecto subletal claramente es la pérdida de masa corporal en los organismos empleados en los ensayos en función a las concentraciones empleadas y al periodo de exposición en los bioensayos (ver **Figura 42**), con respecto al análisis estadístico, al llevarse a cabo la prueba Kruskal-Wallis de la variable peso, se encontró una relación de dependencia entre el peso y nivel de tratamiento para todas las muestras analizadas provenientes de las tres estaciones de monitoreo; estos datos son acordes también con la observaciones subletales previamente mencionadas y en conjunto son un indicador del deterioro en la salud de los individuos.

Del Pilar (65) corrobora la relación directamente proporcional del aumento en la concentración de metales y la disminución del peso de *E. foetida* empleando muestras de suelo provenientes de una refinería, en este estudio se observó una disminución del peso de los organismos de hasta 53.1 % en la concentración de 10.1 % de suelo, la más alta que no presenta el 100 % de mortalidad. Es necesario recordar que las muestras MSC-1, MSC-2 y MSC-3 poseen, en base a sus componentes químicos, altos niveles

de sales con distintos compuestos, Iannacone (26) reitera que el adelgazamiento es el parámetro subletal más sensible a las sales de amonio en ensayos subletales con *E. foetida*, siguiendo esta línea, muchos autores indican que la pérdida de peso de las lombrices está estrechamente relacionada con los niveles de salinidad en suelos, Gūžytė (88) mencionan en su investigación que niveles superiores 2512 mg/kg de sodio tienen influencia negativa en el peso de la biomasa para *E. foetida*, así como Roger et al. (89) reporta que el potasio en forma de sales o hidróxidos es un agente perjudicial en la salud de especies epigénicas de lombrices de tierra, también teniendo efectos adversos en el peso de los organismos.



Figura 42. Comparación de organismos en el control y organismos expuestos al suelo contaminado.

3.4. Evaluación de la exposición riesgo ambiental.

La evaluación del riesgo se determinó en función a los metales con más altas concentraciones en las estaciones de monitoreo, estos fueron sodio (Na), aluminio (Al), potasio (K), cromo (Cr), calcio (Ca); arsénico(As), boro (B), fósforo (P), magnesio (Mg) y plomo (Pb); la concentración de cada uno de ellos se estableció en función a la DL₅₀ encontrada según la estación a la que pertenecen. La **Tabla 22** muestra los resultados del análisis y la determinación de los coeficientes de riesgo.

Tabla 22. Evaluación del riesgo ambiental.

Parámetro	Estación de monitoreo	DL ₅₀	Toxicidad(mg/Kg) (concentración detectada a la DL ₅₀)	Factor	PNEC	PEC (mg/Kg)	CR	LOC	Nivel Riesgo ambiental
Na	MSC-1	9.66 %	4011.1	1000	4.011	1377	343.3	1	Alto
Al	MSC-1	9.66 %	415.6	1000	0.416	575	1382	1	Alto
K	MSC-1	9.66 %	336.82	1000	0.337	427	1263	1	Alto
Cr	MSC-2	16.54 %	989.83	1000	0.989	0.81	0.9	1	Medio
Ca	MSC-2	16.54 %	9331.3	1000	9.331	814	87.2	1	Alto
As	MSC-2	16.54 %	1.4	1000	0.0014	0.435	311	1	Alto
B	MSC-3	16.75 %	68.04	1000	0.068	5.72	84.1	1	Alto
P	MSC-2	16.54 %	663.74	1000	0.664	95	143.1	1	Alto
Mg	MSC-1	9.66 %	499.97	1000	0.499	555	1112	1	Alto
Pb	MSC-2	16.54 %	15.59	1000	0.016	1.36	85	1	Alto

DL₅₀: Dosis letal media, PNEC: Concentración prevista sin efecto, PEC: Concentración ambiental prevista, CR: Coeficiente de riesgo ambiental, LOC: Nivel crítico comparativo.

La ERA en base a la DL₅₀ de las estaciones de monitoreo en esta investigación mostro que los parámetros evaluados deben ser considerados riesgosos para organismos del ecosistema terrestre como las lombrices de tierra, ya que, presentan valores superiores al nivel crítico comparativo (LOC), a excepción del Cr cuyo valor en la concentración prevista sin efecto es cercano a la concentración ambiental esperada, por lo tanto, el coeficiente de riesgo indica que este posee un nivel de riesgo medio para el organismo en estudio, según los datos obtenidos, podemos determinar que los metales analizados, en las concentraciones a las que se encuentran, son particularmente tóxicos en las estaciones MSC-1 y MSC-2, áreas donde el impacto de la contaminación es más

agudo; estos datos son corroborados con los análisis de químicos y ensayos ecotoxicológicos realizados en esta investigación, evidenciándose una clara respuesta de mortalidad de los individuos expuestos al suelo contaminado, los ensayos de laboratorio, mantuvieron condiciones uniformes, siendo únicamente el estrés, la concentración de suelo impactado, sin embargo, la evaluación del riesgo ambiental en este caso puede presentar obstáculos como la biodisponibilidad de los elementos analizados debido a la complejidad de las interacciones en la matriz, es por ello, que estos datos deben ser tomados como indicadores de los posibles repercusiones ambientales que puede tener la liberación de efluentes industriales sin tratamientos previos.

Este tipo de evaluaciones se realizan constantemente para la determinación de afectaciones ambientales, los datos obtenidos, concuerdan con Alvariano et al. (90) que demostraron el riesgo ambiental para metales pesados como Pb, Cd y Hg, entre otros, en sus resultados se confirma que la presencia de estos contaminantes tienen consecuencias adversas para ecosistemas acuáticos, Avalos & Iannacone (91) concuerdan con los métodos utilizados en esta evaluación para la determinación del riesgo ambiental; en este estudio *E. foetida* ha demostrado ser un buen bioindicador de la salud del ecosistema terrestre y análisis ERA así lo confirma Estremadoyro & Iannacone (92) y Hartnik et al. (93) quienes evaluaron el riesgo de pesticidas sobre este organismo, demostrando la amplia aplicabilidad de los ensayos ecotoxicológicos en las evaluaciones ambientales.

CONCLUSIONES.

- PRIMERA: Mediante los sistemas de información geográficos empleados se obtuvo una caracterización específica del terreno impactado por los efluentes del PIRS, información útil para determinar en futuras investigaciones las repercusiones de la contaminación que continúa siendo generada en el área. El análisis de suelos probó que la zona se encuentra contaminada con sulfuros y altos niveles de metales como sodio, calcio, potasio, aluminio, cromo, fosforo, magnesio y boro; que ponen en peligro el sistema ecológico de la región.
- SEGUNDA: Los efectos letales de las muestras recolectadas fueron evidenciados mediante los bioensayos de toxicidad aguda que demostraron que el suelo en los 3 puntos de monitoreo ocasiona una alta tasa de mortalidad para *E. foetida*; es así que, la muestra proveniente de la estación de muestreo MSC-1 manifestó la mayor letalidad de individuos al poseer la concentraciones más altas de metales como el sodio, potasio y aluminio, este resultado es el esperado debido a que la estación se encuentra muy cerca al punto de inicio de la contaminación.
- TERCERA: Los efectos subletales de la exposición fueron documentados, estos fueron cualitativos como la ausencia de respuesta a estímulos, comportamiento de enrollamiento y el oscurecimiento, todos en concentraciones superiores al 10 % en las 3 muestras de suelo; en cuanto a los efectos cuantitativos se evidenció que el peso de *E. foetida* está influenciado directamente con el nivel de tratamiento, obteniéndose hasta un 14.79 % de pérdida de peso promedio en la estación MSC3. En cuanto al análisis de evasión, los resultados obtenidos indican una conducta de repelencia por parte de las lombrices hacia el suelo contaminado, el análisis estadístico refiere que existe una relación entre la evasión y la presencia de los contaminantes en concentraciones superiores al 10 %.
- CUARTA: La evaluación de la exposición al riesgo ambiental logro establecer que los metales analizados en las concentraciones halladas son considerados de alto y medio riesgo para deterioro de ecosistemas terrestres teniendo repercusiones negativas en especies representativas de suelos como *E. foetida*.

RECOMENDACIONES.

- Se recomienda realizar los estudios de toxicidad crónica para determinar los posibles efectos de metales que no se evidenciaron en esta investigación como el cromo, plomo, entre otros, en el desarrollo y reproducción sobre *E. foetida*, además, analizar otros puntos subletales como la actividad enzimática y, de esta manera, ser indicador de otros efectos adversos sobre lombrices epigeas.
- Evaluar el efecto de suelo impactado por efluentes industriales en el PIRS con otras especies de lombrices o animales terrestres como isópodos, colémbolos entre otros y de esta forma determinar el efecto de los contaminantes a la colectividad terrestre.
- Evaluar el efecto de suelo impactado por efluentes industriales en el PIRS sobre material vegetal ya que los contaminantes están en contacto con aguas de regadío y esto podría resultar perjudicial para la población que consume alimentos provenientes de la zona si los agentes tóxicos están biodisponibles para las plantas.
- Llevar a cabo análisis fisicoquímicos, directamente de los efluentes, y realizar bioensayos de toxicidad empleando modelos biológicos propios de sistemas acuáticos, así como, proponer mejoras en el proceso productivo de las curtiembres en la zona y alternativas de tratamientos para los efluentes generados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Fernández AIR. El suelo como ente vivo: Organización y Características [Internet]. Infoagro.com. Disponible en: https://www.infoagro.com/documentos/el_suelo_como_ente_vivo_organizacion_y_caracteristicas.asp.
2. Rodríguez-Eugenio N, McLaughlin M, Pennock D. La contaminación del suelo: una realidad oculta. Roma, FAO; 2019.
3. Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental [Internet]. Gob.pe. [citado el 7 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.gob.pe/oefa>.
4. Benitez-Campo N. Producción limpia y bioremediación para disminución de la contaminación por cromo en la industria de curtiembres. Ambiente sostenibilidad. 2013; 1(1):25.
5. Ávila G, Gaete H, Morales M, Neaman A. Reproducción de *Eisenia foetida* en suelos agrícolas de áreas mineras contaminadas por cobre y arsénico. Pesqui Agropecu Bras. 2007; 42(3):435–41.
6. Diana Corona Vadillo SCH, del Castillo ER. Ensayo de genotoxicidad con la lombriz de tierra *Eisenia andrei*. 1; 2008.
7. Romero PR, Cantú AM. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: la experiencia en México. 1a ed. México D.F.: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Instituto Nacional de Ecología; 2008.
8. Terminology: EC₅₀ (50% Effective Concentration) [Internet]. Zeomic.co.jp. [citado el 7 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.zeomic.co.jp/en/glossary/antibacterial/62>

9. RPubs - NOEC-LOEC [Internet]. Rpubs.com. [citado el 7 de julio de 2021].
Disponibile en: <https://rpubs.com/aafernandez1976/noec>
10. Ministerio del Ambiente. Guía para la Elaboración de Estudios de Evaluación de Riesgos a la Salud y el Ambiente (ERSA) en Sitios Contaminados. 2015
11. El suelo como ente vivo: Organización y Características [Internet]. Infoagro.com. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: https://www.infoagro.com/documentos/el_suelo_como_ente_vivo_organizacion_y_caracteristicas.asp
12. Álvarez-Rodríguez MLF-M. Contaminación del suelo por metales pesados resultante de la aplicación de purines y biosólidos. researchgate. 2014;
13. Casanellas JP. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 1998.
14. Soubie DE. El suelo [Internet]. Todo-argentina.net. Daniel Soubie; 2018. Disponible en: https://www.todo-argentina.net/ecologia/medio_fisico/suelo.php?idpagina=1836. 19
15. Jaramillo J DF. Introducción a la ciencia del suelo. 2002.
16. MAPA (Ministerio de Agricultura P y. AM. El suelo y los fertilizantes. Ediciones Mundi-Prensa. 1989.
17. Otiniano AJ, Florian LM. La materia organica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. IDESIA. 2006; 24(1):49–61.
18. Docampo R. La importancia de la materia orgánica del suelo y su manejo en producción frutícola. INIA Las Brujas – Estación Experimental “Wilson Ferreira Aldunate”. 2017.
19. Serrano RE. Importancia del suelo como recurso natural en los ecosistemas agrarios. UPM. 2018; 1.

20. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México. Importancia de los suelos. gov.mx. 2015. Disponible en: <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/sabes-cual-es-la-importancia-de-los-suelos>
21. Juste I. Contaminación del suelo: causas, consecuencias y soluciones [Internet]. ecologiaverde.com. 2017 [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/contaminacion-del-suelo-causas-consecuencias-y-soluciones-285.html>.
22. Eisenia foetida [Internet]. Ecured.cu. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: https://www.ecured.cu/Eisenia_foetida
23. Shutterstock. Earthworms Eisenia Foetida Called Tennessee Wiggler, [Internet]. Disponible en: <https://www.shutterstock.com/es/video/clip-16845979-earthworms-eisenia-foetida-called-tennessee-wiggler-fishing>.
24. Lombricultura y compostaje I. Ciclo biológico y desarrollo de Eisenia Foetida (lombriz roja) [Internet]. 2011. Disponible en: <https://inversanet.wordpress.com/>.
25. Lombrices californianas [Internet]. Lombricescalifornianas.cl. Disponible en: <https://www.lombricescalifornianas.cl/lombrices-californianas.html>.
26. Iannacone JA. Toxicidad de sales de amonio sobre la lombriz de tierra (Eisenia foetida). URP. 2018.
27. Jurado, M. L. M. (2017). Evaluación de la toxicidad y mortalidad de carbofurán y carbendazim empleando como bioindicador Eisenia andrei. Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra “PUCE-SI”.
28. Agroflor lombricultura. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Anatomia-externa-de-E-fetida-A-Vista-lateral-derecha-B-Vista-dorsal-de-la_fig1_258256901
29. Anatomía y Fisiología de las lombrices [Internet]. Agrobit.com. [citado el 19 de

mayo de 2022]. Disponible en:
[https://www.agrobit.com/Documentos/I_1_6_Lombricu/337_mi000008lo\[1\].htm](https://www.agrobit.com/Documentos/I_1_6_Lombricu/337_mi000008lo[1].htm)

30. Pascal NU. El Celoma y la Metamería. Los Anélidos [Internet]. 2009. Disponible en: https://www.um.es/innova/OCW/diversidad-animal/material_clase/Sesion_Practica.
31. Arévalo FBO. Roles enzimáticos asociados a la anatomía intestinal de la lombriz de tierra Eisenia fetida. ECOSUR. 2016.
32. Zoowiki [Internet]. Bioscripts.net. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.bioscripts.net/zoowiki/temas/8D.html>.
33. Dphuesca, Sistema digestivo en anelidos [Internet]. 2014. Disponible en: http://www.old.dphuesca.es/pub/documentos/documentos_02_09_Gusano_ef578ba5.pdf.
34. García Borrero J. Marco conceptual - la lombriz roja californiana [Internet]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/lalombrizrojacaliforniana/marco-conceptual>.
35. Lombricultivo [Internet]. Sistema reproductor. 2014 [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://lombricesllaneras.wordpress.com/sistema-reproductor/>.
36. Vásquez EMA. Evaluación del riesgo ambiental de la mezcla de alfacipermetrina e imidacloprid sobre la lombriz de tierra (Eisenia fetida). UCSUR. 2016.
37. BotanicaOnline. Anelidos: Lombricultura [Internet]. Disponible en: https://www.usc.gal/export9/sites/webinstitucional/gl/investigacion/grupos/malaterra/publicaciones/IV_Ciclo/Tema_3_Lombricultura.
38. Boulder C. Sensory receptors in Earthworms [Internet]. Reflex arc in Red worms. [citado el 22 de junio de 2022]. Disponible en:

<https://iphy3435fa13mondayamjimgroup2.weebly.com/introduction.html>.

39. Valdivia JFZ. Determinación de parámetros fisicoquímicos en efluentes industriales de curtiembres de la asociación de pequeñas y medianas empresas de curtiembres, fábricas de cola y derivados del cuero (APYMECO) - parque industrial de río seco (PIRS), Cerro Colorado. UNSA. 2013.
40. De Castro Rosas ACR. Recuperación de cromo (III) de efluentes de curtido para control ambiental y optimización del proceso productivo. PUCP. 2013.
41. MAATE. Estudio de potenciales impactos ambientales y vulnerabilidad relacionada con las sustancias químicas y tratamiento de desechos peligrosos en el sector productivo del Ecuador. 2019.
42. Greenpeace A. Cueros tóxicos, nuevas evidencias de contaminación de curtiembres. 2012.
43. Comisión Nacional del Medio Ambiente-Región Metropolitana. Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. 1999.
44. Pinedo Ochoa, R. S. (2012). Impactos ambientales generados por la curtiembre D-Leyse, en el distrito de El Porvenir, provincia Trujillo, región la Libertad". Universidad Nacional Agraria de la Selva.
45. MINAM. Compendio de la legislación ambiental peruana - volumen i marco normativo general. 2018.
46. MINAN. Ley General del Ambiente LEY No 28611. 1997.
47. MINAM. Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM.- Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo. 2017.
48. Canadian council of ministers of the environment [Internet]. Ccme.ca. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://ccme.ca/en/current->

activities/canadian-environmental-quality-guidelines.

49. U.S. Environmental Protection Agency. Choice (Middletown). 2001;38(12):38Sup-245-38Sup – 245.
50. ECOTOX [Internet]. Epa.gov. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://cfpub.epa.gov/ecotox/search.cfm>.
51. Sorí LH. Estudios ecotoxicológicos en diferentes bioindicadores ambientales del bioplaguicida Tricosave-34. UCLV. 2014.
52. MINEM. Estudio de Impacto Ambiental y Social Proyecto Nitratos del Perú. 2015.
53. Peña Córdova KD. Evaluación de riesgo ambiental de los pesticidas metamidofos, alfa-cipermetrina y su mezcla en *Eisenia andrei*". UNALM. 2018
54. International Organization for Standardization. Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* ISO 11268-1. 2012.
55. Ulloa M, Escuela de Ingeniería en Medioambiente, Facultad de Ingeniería, Universidad de Valparaíso, Bustos V, comportamiento de evasión y reproducción de la lombriz *Eisenia foetida* en suelos agrícolas impactados por actividades mineras. Rev Int Contam Ambient. 2018.
56. Alejo AP, Romero ÁHH, Luna JL, del Carmen Cuevas Díaz M. Evaluación de la toxicidad de los suelos mediante bioensayos con lombrices. 2015.
57. MINAM. Guía para el muestreo de suelos. 2014.
58. Ferguson, C., Darmendrail, D., Freier, K., Jensen, B.K. Risk Assessment for Contaminated Sites in Europe. 1998; 1.
59. Fava JA, Adams WJ, Larson RJ, Dickson GW, Dickson KL. Research Priorities in Environmental Risk Assessment. - SETAC Workshop Report. 1987.

60. Carriquiriborde P. Principios de Ecotoxicología. Editorial de la UNPL; 2009.
61. Instituto Geológico, Minero y Metalúrgico [Internet]. Gob.pe. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.gob.pe/ingemmet>.
62. GORE. Zonificación Ecológica Económica del departamento de Arequipa Ordenanza regiOnal no 334-grJ/Cr. 2020.
63. INGEMMET, Escala 1:100,000 - Ingemmet [Internet]. Gob.pe. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://portal.ingemmet.gob.pe/web/guest/carta-geologica-nacional-escala-1-100-000>.
64. Oecd GFTOF. Earthworm, Acute Toxicity Tests. 1984.
65. del Pilar Gómez Hernández A. Evaluación de la Toxicidad de suelos mediante un bio ensayo con la lombriz de tierra Eisenia fetida. UNC. 2014.
66. De Silva P, Gestel V. Comparative sensitivity of Eisenia andrei and Perionyx excavates in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. Chemosphere; 2009.
67. EPA. Guidelines for Ecological Risk Assessment. 1998.
68. European Commission. Technical Guidance Document on Risk Assessment. 1998.
69. MINAM. Mapa Nacional de Cobertura Vegetal; Memoria descriptiva. 2015.
70. United States Department of the Interior. Guidelines for Interpretation of the Biological Effects of Selected Constituents in Biota, Water, and Sediment. 1998.
71. La Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. ToxFAQsTM - Boro (Boron). 2016.

72. Porras ÁC. Descripción de la nocividad del cromo proveniente de la industria curtiembre y de las posibles formas de removerlo. Universidad de Medellín; 2010.
73. Lazo Cuentas EA. Evaluación de la contaminación ambiental generada por efluentes industriales en el proceso productivo de una curtiembre de mediana capacidad del parque industrial de río seco, Arequipa. UNSA; 2017.
74. Ibérica S. Eutrofización: Causas, consecuencias y soluciones [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.iagua.es/noticias/sewervac-iberica/eutrofizacion-causas-consecuencias-y-soluciones>
75. Chelsey IL, Shock CC. El dilema del fósforo. Oregon State University; 2009.
76. Ministerio del Ambiente - MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo. 011-2017-MINAM; 2017.
77. Novoa MA, Miranda D, Melgarejo LM. Efecto de las deficiencias y excesos de fósforo, potasio y boro en la fisiología y el crecimiento de plantas de aguacate (*Persea americana*, cv. Hass). *Rev colomb cienc hortíc* [Internet]. 2018;12(2):293–307. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2018v12i2.8092>
78. Piedra Lanz; González, Alexis Cepero; María C., la salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2013;34(4):31-42. Disponible en : <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193228546005>
79. Huanhua Wang, Robert L. Wick, Baoshan Xing Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans*. 2009.
80. Klaassen, A., Amdur, M. and Foul, J. Casarett and Doull's Toxicology (the basic science of poison). Macmillan Publishing Co., N.Y.; 1986.
81. Seguridad CC. Hoja de datos de seguridad hidróxido de potasio. 2012.

82. M. Haight, T. Mudry, and J. Pasternak. Toxicity of Seven Heavy Metals On Panagrell Us Silusiae: the Efficacy of the Free-Living Nematode as an in Vivo Toxicological Bioassay. 1982.
83. CORQUIVEN. Ficha de datos de seguridad de materiales fosforo. 2000.
84. Bello SML, CIEMTO. Ficha de datos de seguridad Fosfsto trisodico. 2016.
85. Marinussen MPJC, Van der Zee SEATM, De Haan FAM. Ecotoxicology and Environmental Safety. 1997.
86. Sosa-Olivier JA, Laines-Canepa JR, Enríquez-Murguía JF. Evaluación de la toxicidad puntual en un sitio de disposición final de residuos municipales. UADY; 2015.
87. Medina YBB, Iannacone J. Toxicidad del lodo de perforación minera en el bioindicador *Porcellio Laevis*. URC. 2020;10(1).
88. Gūžytė G. Effects of salinity on earthworm (*Eisenia fetida*). Chemistry; 2011.
89. Roger B, Yearley JR, James M. Evaluation of alternative reference toxicants for use in the earthworm toxicity test. Environmental Toxicology and Chemistry; 1995.
90. Alvariano L, Iannacone, Alberto IOJ, Neil SC,. Variabilidad del ensayo ecotoxicológico con *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae) para evaluar cadmio, mercurio y plomo. Ecología Aplicada; 2003.
91. Avalos-Ruiz SI, Iannacone J. Evaluación del riesgo ambiental terrestre de dos gasolinas ecológicas de 90 octanos en la lombriz de tierra *Eisenia Fetida*. UCSUR. 2020.

92. Estremadoyro DFE, Iannacone J. Impacto ecotoxicológico de tres plaguicidas sobre Eisenia fetida (lombriz roja californiana) en el cultivo de allium cepa (cebolla) en el distrito de Lurín, Lima, Perú. LA GRANJA; 2022.
93. Hartnik T, Sverdrup LE, Jensen J. Toxicity of the pesticide alpha-cypermethrin to four soil nontarget invertebrates and implications for risk assessment. Environmental Toxicology and Chemistry. 2008;27(6).



ANEXOS.

Anexo 1: Mapas.

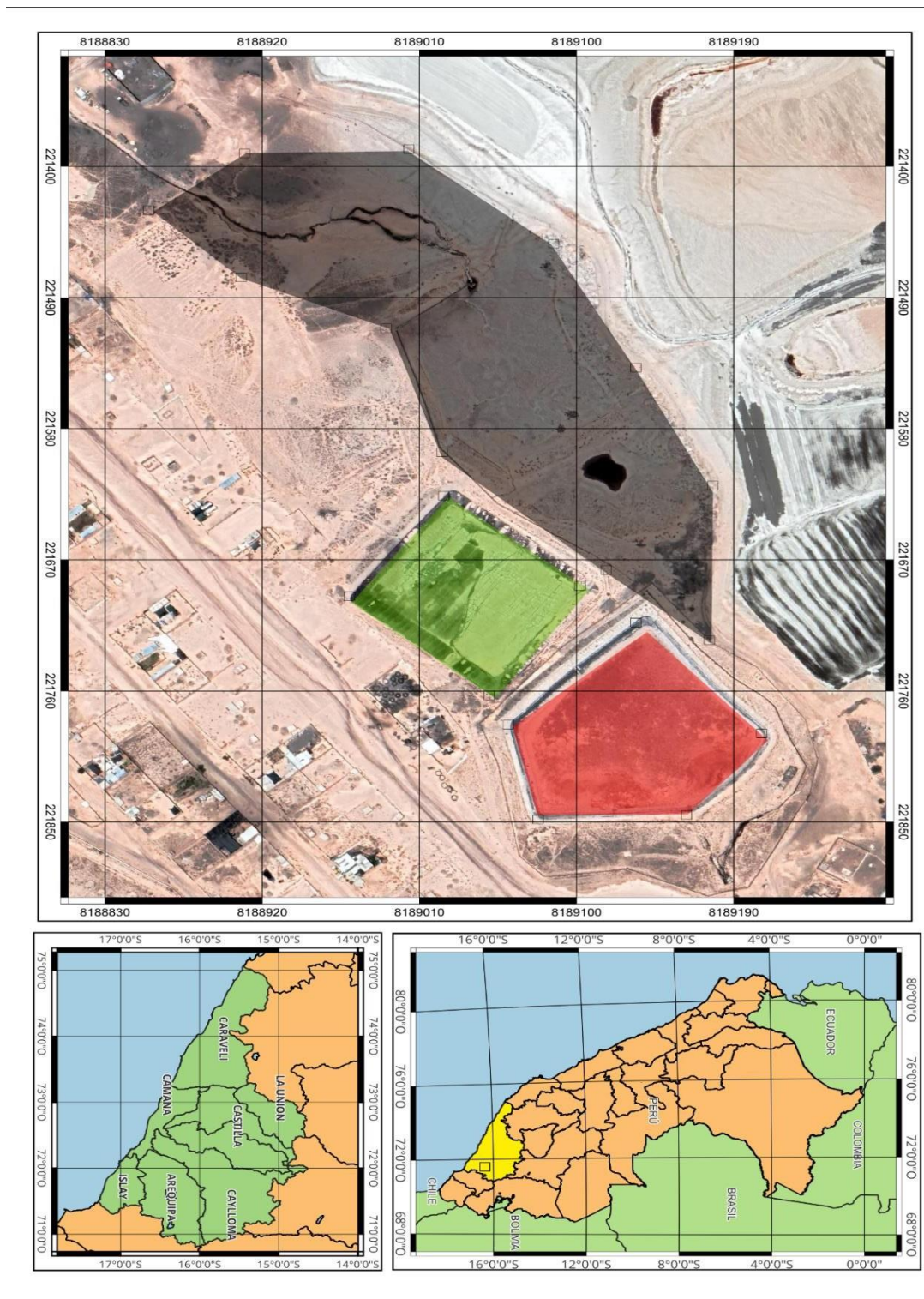


Figura 43. Ubicación satelital del área contaminada.



Figura 44. Ubicación de puntos de monitoreo.

Anexo 2: Resultados del análisis de laboratorio.

INFORME DE ENSAYO N° 2-03078/21

Página 1/4

Solicitante : MEDINA ARIAS, CARLOS AMADOR
 Domicilio legal : AV. BRASIL 652 – ALTO SELVA ALEGRE – AREQUIPA – AREQUIPA
 Producto declarado : SUELO
 Lugar de Muestreo : CERRO COLORADO
 Fecha de Muestreo : 2021-10-27
 Cantidad de Muestras para el Ensayo : 2.0 Kilogramos
 Muestra proporcionada por el solicitante
 Forma de Presentación : Pote
 Identificación de la muestra : Según se indica
 Fecha de recepción : 2021-10-27
 Fecha de inicio del ensayo : 2021-10-27
 Fecha de término del ensayo : 2021-11-11
 Ensayo realizado en : Laboratorio Ambiental Arequipa / Laboratorio Ambiental Aguas Calias
 Identificado con : H8 21008230 (EXMA-13004-2021)
 Validez del documento : Este documento es válido solo para la muestra descrita

Proyecto:				
Puntos de muestreo	Coordenadas UTM WGS 84		Descripción de la Estación de Monitoreo	Observaciones
	ESTE	NORTE		
MSC-1S	19K221624.837	8189092.02	—	—
MSC-1M	19K221624.837	8189092.02	—	—
MSC-2S	19K221591.584	8189046.603	—	—
MSC-2M	19K221591.584	8189046.603	—	—
MSC-3S	19K219131.739	8186764.904	—	—
MSC-3M	19K219131.739	8186764.904	—	—
MSB-4S	19K221577.687	8188766.292	—	—
MSB-4M	19K221577.687	8188766.292	—	—

INFORME DE ENSAYO N° 2-03078/21

Página 2/4

RESULTADOS

Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Estación de Muestreo			
			MSC-1S	MSC-2S	MSC-3S	MSB-4S
Parámetros Organolépticos (Callao)						
(*) Sulfuros	0,4	mg/kg	12,0	8,0	10,0	3,99

Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Estación de Muestreo			
			MSC-1M	MSC-2M	MSC-3M	MSB-4M
Metales ICP-Masa						
Aluminio (Al)	2,0	mg/kg	4 300	3 193	3 290	575
Antimonio (Sb)	0,04	mg/kg	<0,04	0,318	0,072	<0,04
Arsénico (As)	0,02	mg/kg	3,61	8,49	4,10	0,435
Bario (Ba)	0,04	mg/kg	141	206	92,9	22,3
Berilio (Be)	0,01	mg/kg	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
(*) Bismuto (Bi)	0,05	mg/kg	0,837	3,11	0,859	0,0674
(*) Boro (B)	1,0	mg/kg	297	235	406	5,72
Cadmio (Cd)	0,02	mg/kg	0,156	0,478	0,174	<0,02
Calcio (Ca)	10	mg/kg	19 827	56 403	14 612	814
Cobalto (Co)	0,02	mg/kg	3,48	2,55	2,37	0,537
Cobre (Cu)	0,02	mg/kg	42,4	164	34,9	5,13
Cromo (Cr)	0,2	mg/kg	1 717	5 983	1 286	0,809
(*) Estaño (Sn)	0,025	mg/kg	0,323	2,82	0,125	0,162
(*) Estroncio (Sr)	0,045	mg/kg	141	242	90,4	3,31
(*) Fósforo (P)	1	mg/kg	1 428	4 012	831	95,0
Hierro (Fe)	0,05	mg/kg	6 344	8 097	4 723	1 962

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA

INFORME DE ENSAYO N° 2-03078/21

Página 3/4

RESULTADOS (Continuación)

Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Estación de Muestreo	MSC-1M	MSC-2M	MSC-3M	MSB-4M
			Fecha y Hora de Muestreo	2021-10-27 12:30	2021-10-27 13:10	2021-10-27 14:15	2021-10-27 13:50
			Tipo de Muestra	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
			Resultados	Resultados	Resultados	Resultados	Resultados
Metales ICP-Masa							
(*) Litio (Li)	0,025	mg/kg	11,8	5,67	5,49	3,29	
Magnesio (Mg)	1	mg/kg	5 173	3 079	2 220	555	
Manganeso (Mn)	0,03	mg/kg	139	281	155	246	
Mercurio (Hg)	0,03	mg/kg	<0,03	0,450	0,131	<0,03	
(*) Molibdeno (Mo)	0,02	mg/kg	1,663	13,8	0,778	0,409	
Níquel (Ni)	0,01	mg/kg	5,70	6,44	3,77	0,454	
Plata (Ag)	0,02	mg/kg	0,172	0,466	0,222	0,0857	
Plomo (Pb)	0,02	mg/kg	9,50	93,1	33,2	1,358	
Potasio (K)	10	mg/kg	3 485	1 368	1 397	427	
Selenio (Se)	0,03	mg/kg	0,496	0,475	0,328	0,111	
(*) Silicio (Si)	1	mg/kg	<1	<1	<1	<1	
Sodio (Na)	2	mg/kg	41 497	16 944	10 255	1 377	
Talio (Tl)	0,02	mg/kg	<0,02	<0,02	0,0708	<0,02	
(*) Telurio (Te)	0,05	mg/kg	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	
(*) Titanio (Ti)	0,05	mg/kg	301	195	324	79,35	
(*) Uranio (U)	0,005	mg/kg	0,127	0,305	0,0956	<0,005	
Vanadio (V)	0,02	mg/kg	21,2	30,4	17,7	1,99	
(*) Wolframio (W)	0,05	mg/kg	<0,05	0,0908	<0,05	<0,05	
Zinc (Zn)	0,02	mg/kg	62,3	174	97,0	20,1	

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA



INFORME DE ENSAYO N° 2-03078/21

Página 4/4

MÉTODOS

Metales por ICP-MS: (Preparación de muestra: EPA Method 3051A / EPA Method 6020A. 2007. Microwave assisted acid digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. / Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

(*) Sulfuros: EPA Method 9030 B. 1996. Acid-Soluble and Acid-Insoluble sulfides: Distillation

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

Arequipa, 15 de noviembre de 2021



Anexo 3: Cálculo de las concentraciones de metales a la DL₅₀.

MSC-1

100g del suelo en la UE → 100 %

Xg de suelo contaminado → DL₅₀= 9.665 %

X=9.665g

$$9.665g \text{ suelo contaminado} \times \frac{Xmg \text{ del metal}}{1000g \text{ suelo contaminado}} = \frac{Xmg \text{ de metal}}{100g \text{ del suelo en la UE}}$$

Xmg de metal → 100g del suelo en la UE

Xmg de metal → 1000g del suelo en la UE = Xmg/kg a 9.665 % (DL₅₀)

MSC-2

100g del suelo en la UE → 100 %

Xg de suelo contaminado → DL₅₀= 16.544 %

X=16.544g

$$16.544g \text{ suelo contaminado} \times \frac{Xmg \text{ del metal}}{1000g \text{ suelo contaminado}} = \frac{Xmg \text{ de metal}}{100g \text{ del suelo en la UE}}$$

Xmg de metal → 100g del suelo en la UE

Xmg de metal → 1000g del suelo en la UE = Xmg/kg a 16.544 % (DL₅₀)

MSC-3

100g del suelo en la UE → 100 %

Xg de suelo contaminado → DL₅₀= 16.759 %

X=16.759g

$$16.759g \text{ suelo contaminado} \times \frac{Xmg \text{ del metal}}{1000g \text{ suelo contaminado}} = \frac{Xmg \text{ de metal}}{100g \text{ del suelo en la UE}}$$

Xmg de metal → 100g del suelo en la UE

Xmg de metal → 1000g del suelo en la UE = Xmg/kg a 16.759 % (DL₅₀)



Anexo 4: Análisis estadísticos de los ensayos de ecotoxicidad.

MSC1 – DIA 14

Análisis probit

[Conjunto_de_datos0]

Información sobre los datos

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

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	17	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	
PROBIT _a	Concentración	6,447	,924	6,978	,000	4,637
	Intersección	-6,352	,980	-6,480	,000	-7,332

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Intervalo de confianza al 95%	
	Límite superior	
PROBIT ^a	Concentración	8,258
	Intersección	-5,372

a. Modelo PROBIT: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10.000.)

Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	4,949	13	,976 ^a

a. Como el nivel de significación es mayor que .050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

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

Residuos y frecuencias de casillas

	Número	Concentración	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos
PROBIT T	1	,699	10	1	,325	,675
	2	,699	10	0	,325	-,325
	3	,699	10	0	,325	-,325
	4	1,000	10	6	5,380	,620
	5	1,000	10	5	5,380	-,380
	6	1,000	10	6	5,380	,620

7	1,176	10	8	8,908	-,908
8	1,176	10	9	8,908	,092
9	1,176	10	8	8,908	-,908
10	1,301	10	10	9,791	,209
11	1,301	10	10	9,791	,209
12	1,301	10	10	9,791	,209
13	1,398	10	10	9,961	,039
14	1,398	10	10	9,961	,039
15	1,398	10	10	9,961	,039

Residuos y frecuencias de casillas

	Número	Probabilidad
PROBIT	1	,032
	2	,032
	3	,032
	4	,538
	5	,538
	6	,538
	7	,891
	8	,891
	9	,891
	10	,979
	11	,979
	12	,979
	13	,996

14	,996
15	,996

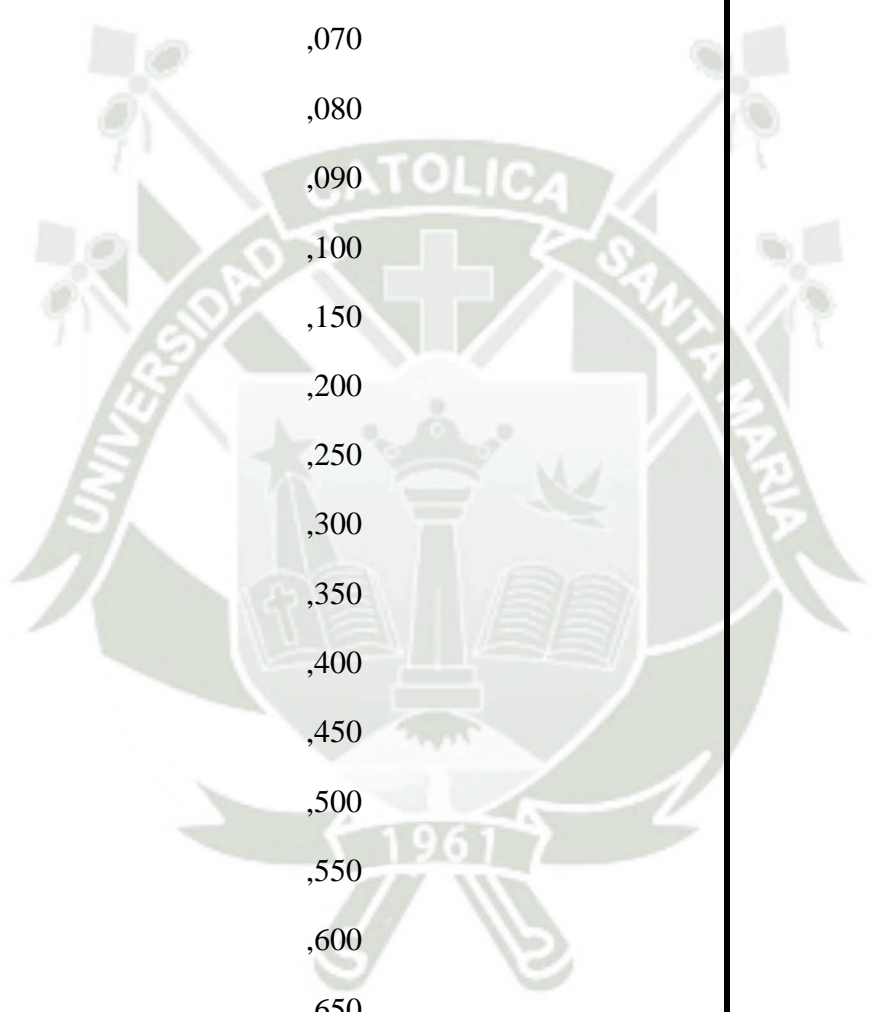
Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para $\log(\text{Concentración})^a$	
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior
,010	4,211	2,818	5,327	,624	,450
,020	4,641	3,219	5,760	,667	,508
,030	4,937	3,502	6,054	,693	,544
,040	5,172	3,731	6,287	,714	,572
,050	5,371	3,927	6,483	,730	,594
,060	5,547	4,102	6,656	,744	,613
,070	5,705	4,262	6,811	,756	,630
,080	5,851	4,409	6,954	,767	,644
,090	5,987	4,548	7,087	,777	,658
,100	6,115	4,679	7,212	,786	,670
,150	6,675	5,260	7,758	,824	,721
,200	7,156	5,768	8,229	,855	,761
,250	7,596	6,237	8,663	,881	,795
,300	8,014	6,685	9,080	,904	,825
,350	8,422	7,123	9,492	,925	,853

,400	8,829	7,558	9,910	,946	,878
,450	9,240	7,995	10,344	,966	,903
,500	9,665	8,440	10,801	,985	,926
,550	10,108	8,898	11,294	1,005	,949
,600	10,580	9,374	11,835	1,024	,972
,650	11,090	9,877	12,443	1,045	,995
,700	11,655	10,416	13,143	1,067	1,018
,750	12,297	11,006	13,973	1,090	1,042
,800	13,053	11,675	14,996	1,116	1,067
,850	13,994	12,470	16,329	1,146	1,096
,900	15,274	13,503	18,238	1,184	1,130
,910	15,600	13,758	18,740	1,193	1,139
,920	15,963	14,039	19,304	1,203	1,147
,930	16,371	14,351	19,948	1,214	1,157
,940	16,840	14,706	20,697	1,226	1,167
,950	17,390	15,117	21,591	1,240	1,179
,960	18,060	15,610	22,697	1,257	1,193
,970	18,919	16,232	24,144	1,277	1,210
,980	20,124	17,090	26,224	1,304	1,233
,990	22,182	18,516	29,902	1,346	1,268

Límites de confianza

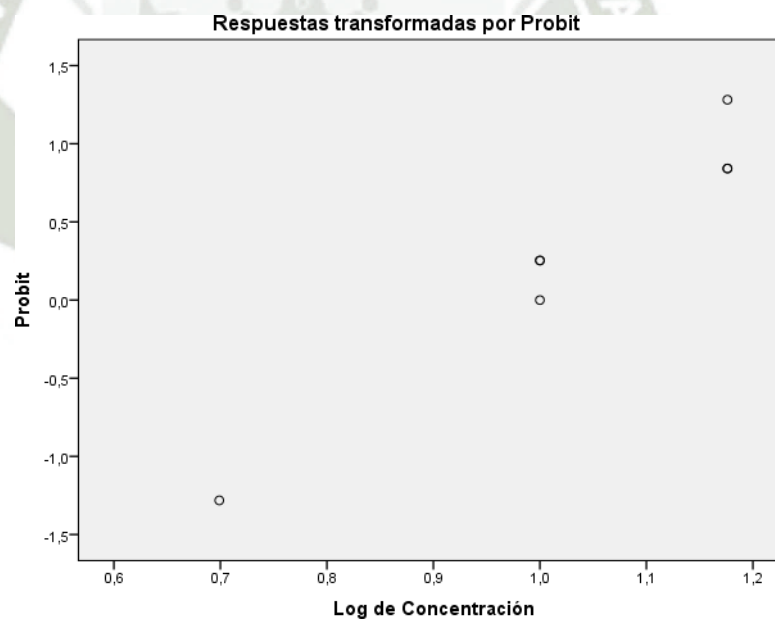
Probabilidad	Límites de confianza al 95% para log(Concentración)
	Límite superior
PROBIT ,010	,726



,020	,760
,030	,782
,040	,798
,050	,812
,060	,823
,070	,833
,080	,842
,090	,850
,100	,858
,150	,890
,200	,915
,250	,938
,300	,958
,350	,977
,400	,996
,450	1,015
,500	1,033
,550	1,053
,600	1,073
,650	1,095
,700	1,119
,750	1,145
,800	1,176
,850	1,213
,900	1,261

,910	1,273
,920	1,286
,930	1,300
,940	1,316
,950	1,334
,960	1,356
,970	1,383
,980	1,419
,990	1,476

a. Base del logaritmo = 10.



ANOVA de un factor

[Conjunto_de_datos0]

Descriptivos

Mortalidad

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%
					Límite inferior
,00	3	,0000	,00000	,00000	,0000
5,00	3	,3333	,57735	,33333	-1,1009
10,00	3	5,6667	,57735	,33333	4,2324
15,00	3	8,3333	,57735	,33333	6,8991
20,00	3	10,0000	,00000	,00000	10,0000
25,00	3	10,0000	,00000	,00000	10,0000
Total	18	5,7222	4,32238	1,01880	3,5728
Modelo Efectos fijos			,40825	,09623	5,5126
Efectos aleatorios				1,87264	,9084

Descriptivos

Mortalidad

	Intervalo de confianza para la media al 95%	Mínimo	Máximo	Varianza entre componentes
	Límite superior			
,00	,0000	,00	,00	
5,00	1,7676	,00	1,00	
10,00	7,1009	5,00	6,00	
15,00	9,7676	8,00	9,00	
20,00	10,0000	10,00	10,00	

25,00		10,0000	10,00	10,00	
Total		7,8717	,00	10,00	
Modelo	Efectos fijos	5,9319			
	Efectos aleatorios	10,5360			20,98519

Prueba de homogeneidad de varianzas

Mortalidad

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
9,600	5	12	,001

ANOVA de un factor

Mortalidad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	315,611	5	63,122	378,733	,000
Intra-grupos	2,000	12	,167		
Total	317,611	17			

Pruebas robustas de igualdad de las medias^b

Mortalidad

	Estadístico ^a	gl1	gl2	Sig.
Welch
Brown-Forsythe

a. Distribuidos en F asintóticamente.

b. No se pueden realizar las pruebas robustas de la igualdad de medias para Mortalidad porque al menos un grupo tiene varianza 0.

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Mortalidad

HSD de Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
					Límite inferior
,00	5,00	-,33333	,33333	,909	-1,4530
	10,00	-5,66667*	,33333	,000	-6,7863
	15,00	-8,33333*	,33333	,000	-9,4530
	20,00	-10,00000*	,33333	,000	-11,1196
	25,00	-10,00000*	,33333	,000	-11,1196
5,00	,00	,33333	,33333	,909	-,7863
	10,00	-5,33333*	,33333	,000	-6,4530
	15,00	-8,00000*	,33333	,000	-9,1196
	20,00	-9,66667*	,33333	,000	-10,7863
	25,00	-9,66667*	,33333	,000	-10,7863
10,00	,00	5,66667*	,33333	,000	4,5470
	5,00	5,33333*	,33333	,000	4,2137
	15,00	-2,66667*	,33333	,000	-3,7863
	20,00	-4,33333*	,33333	,000	-5,4530
	25,00	-4,33333*	,33333	,000	-5,4530
15,00	,00	8,33333*	,33333	,000	7,2137
	5,00	8,00000*	,33333	,000	6,8804
	10,00	2,66667*	,33333	,000	1,5470

	20,00	-1,66667*	,33333	,003	-2,7863
	25,00	-1,66667*	,33333	,003	-2,7863
	,00	10,00000*	,33333	,000	8,8804
	5,00	9,66667*	,33333	,000	8,5470
20,00	10,00	4,33333*	,33333	,000	3,2137
	15,00	1,66667*	,33333	,003	,5470
	25,00	,00000	,33333	1,000	-1,1196
	,00	10,00000*	,33333	,000	8,8804
	5,00	9,66667*	,33333	,000	8,5470
25,00	10,00	4,33333*	,33333	,000	3,2137
	15,00	1,66667*	,33333	,003	,5470
	20,00	,00000	,33333	1,000	-1,1196

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Mortalidad

HSD de Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Intervalo de confianza al 95%
		Límite superior
,00	5,00	,7863
	10,00	-4,5470*
	15,00	-7,2137*
	20,00	-8,8804*
	25,00	-8,8804*
5,00	,00	1,4530
	10,00	-4,2137*
	15,00	-6,8804*

	20,00	-8,5470*
	25,00	-8,5470*
	,00	6,7863*
	5,00	6,4530*
10,00	15,00	-1,5470*
	20,00	-3,2137*
	25,00	-3,2137*
	,00	9,4530*
	5,00	9,1196*
15,00	10,00	3,7863*
	20,00	-,5470*
	25,00	-,5470*
	,00	11,1196*
	5,00	10,7863*
20,00	10,00	5,4530*
	15,00	2,7863*
	25,00	1,1196
	,00	11,1196*
	5,00	10,7863*
25,00	10,00	5,4530*
	15,00	2,7863*
	20,00	1,1196

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Mortalidad

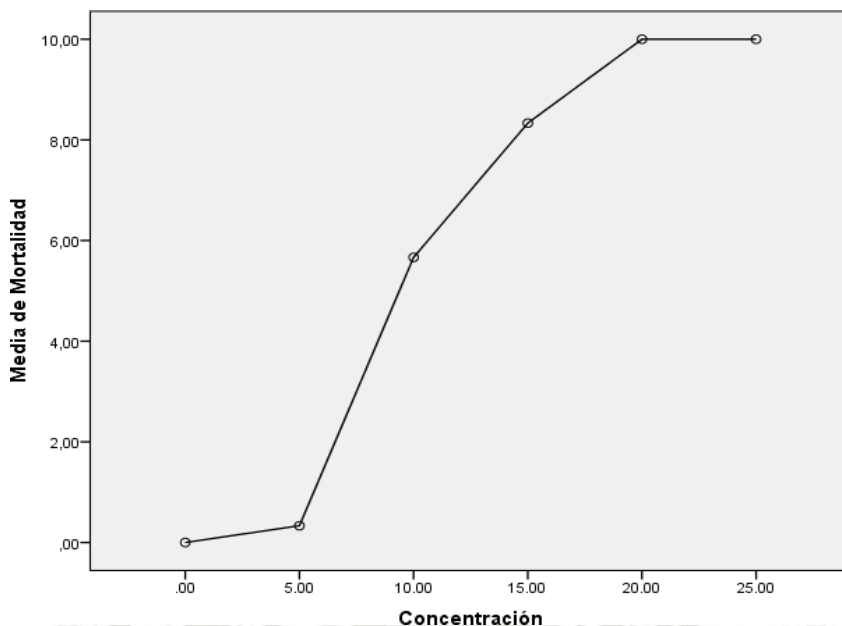
HSD de Tukey^a

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
,00	3	,0000			
5,00	3	,3333			
10,00	3		5,6667		
15,00	3			8,3333	
20,00	3				10,0000
25,00	3				10,0000
Sig.		,909	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Gráfico de las medias



MSC2- DIA14

ANOVA de un factor

[Conjunto_de_datos0]

Descriptivos

Mortalidad

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%
					Límite inferior
,00	3	,0000	,00000	,00000	,0000
5,00	3	,0000	,00000	,00000	,0000
10,00	3	1,0000	,00000	,00000	1,0000
15,00	3	3,3333	,57735	,33333	1,8991
20,00	3	6,0000	1,00000	,57735	3,5159
25,00	3	10,0000	,00000	,00000	10,0000

Total	18	3,3889	3,75952	,88613	1,5193
Efectos fijos			,47140	,11111	3,1468
Modelo Efectos aleatorios				1,62485	-,7879

Descriptivos

Mortalidad

	Intervalo de confianza para la media al 95%	Mínimo	Máximo	Varianza entre componentes
	Límite superior			
,00	,0000	,00	,00	
5,00	,0000	,00	,00	
10,00	1,0000	1,00	1,00	
15,00	4,7676	3,00	4,00	
20,00	8,4841	5,00	7,00	
25,00	10,0000	10,00	10,00	
Total	5,2585	,00	10,00	
Efectos fijos	3,6310			
Modelo Efectos aleatorios	7,5657			15,76667

Prueba de homogeneidad de varianzas

Mortalidad

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,240	5	12	,019

ANOVA de un factor

Mortalidad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	237,611	5	47,522	213,850	,000
Intra-grupos	2,667	12	,222		
Total	240,278	17			

Pruebas robustas de igualdad de las medias^b

Mortalidad

	Estadístico ^a	gl1	gl2	Sig.
Welch
Brown-Forsythe

a. Distribuidos en F asintóticamente.

b. No se pueden realizar las pruebas robustas de la igualdad de medias para Mortalidad porque al menos un grupo tiene varianza 0.

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Mortalidad

HSD de Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
					Límite inferior
,00	5,00	,00000	,38490	1,000	-1,2928

	10,00	-1,00000	,38490	,171	-2,2928
	15,00	-3,33333*	,38490	,000	-4,6262
	20,00	-6,00000*	,38490	,000	-7,2928
	25,00	-10,00000*	,38490	,000	-11,2928
	,00	,00000	,38490	1,000	-1,2928
	10,00	-1,00000	,38490	,171	-2,2928
5,00	15,00	-3,33333*	,38490	,000	-4,6262
	20,00	-6,00000*	,38490	,000	-7,2928
	25,00	-10,00000*	,38490	,000	-11,2928
	,00	1,00000	,38490	,171	-,2928
	5,00	1,00000	,38490	,171	-,2928
10,00	15,00	-2,33333*	,38490	,001	-3,6262
	20,00	-5,00000*	,38490	,000	-6,2928
	25,00	-9,00000*	,38490	,000	-10,2928
	,00	3,33333*	,38490	,000	2,0405
	5,00	3,33333*	,38490	,000	2,0405
15,00	10,00	2,33333*	,38490	,001	1,0405
	20,00	-2,66667*	,38490	,000	-3,9595
	25,00	-6,66667*	,38490	,000	-7,9595
	,00	6,00000*	,38490	,000	4,7072
	5,00	6,00000*	,38490	,000	4,7072
20,00	10,00	5,00000*	,38490	,000	3,7072
	15,00	2,66667*	,38490	,000	1,3738
	25,00	-4,00000*	,38490	,000	-5,2928
	,00	10,00000*	,38490	,000	8,7072
25,00	5,00	10,00000*	,38490	,000	8,7072
	10,00	9,00000*	,38490	,000	7,7072

15,00	6,66667*	,38490	,000	5,3738
20,00	4,00000*	,38490	,000	2,7072

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Mortalidad

HSD de Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Intervalo de confianza al 95%
		Límite superior
,00	5,00	1,2928
	10,00	,2928
	15,00	-2,0405*
	20,00	-4,7072*
	25,00	-8,7072*
5,00	,00	1,2928
	10,00	,2928
	15,00	-2,0405*
	20,00	-4,7072*
	25,00	-8,7072*
10,00	,00	2,2928
	5,00	2,2928
	15,00	-1,0405*
	20,00	-3,7072*
	25,00	-7,7072*
15,00	,00	4,6262*
	5,00	4,6262*
	10,00	3,6262*

	20,00	-1,3738*
	25,00	-5,3738*
	,00	7,2928*
	5,00	7,2928*
20,00	10,00	6,2928*
	15,00	3,9595*
	25,00	-2,7072*
	,00	11,2928*
	5,00	11,2928*
25,00	10,00	10,2928*
	15,00	7,9595*
	20,00	5,2928*

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Mortalidad

HSD de Tukey^a

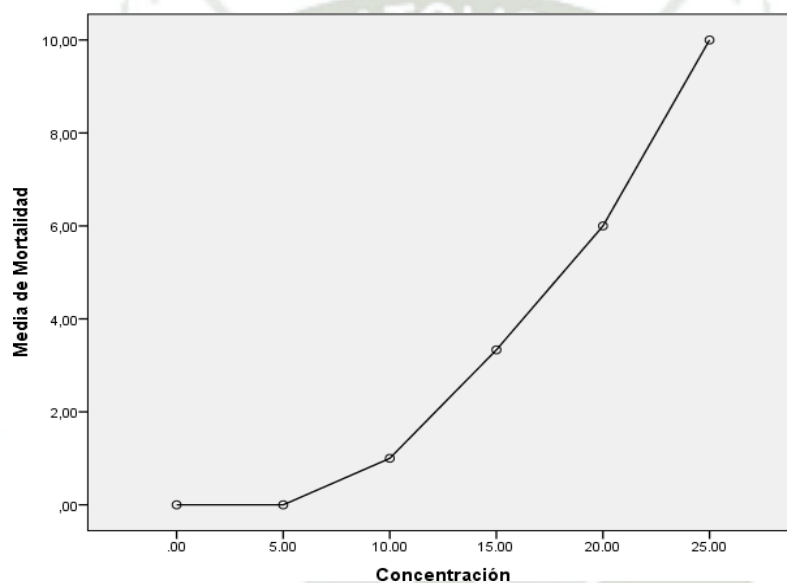
Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
,00	3	,0000			
5,00	3	,0000			
10,00	3	1,0000			
15,00	3		3,3333		
20,00	3			6,0000	
25,00	3				10,0000

Sig.		,171	1,000	1,000	1,000
------	--	------	-------	-------	-------

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Gráfico de las medias



Análisis probit

Advertencia

Las estimaciones de la potencia relativa de la mediana no se muestran porque no existe variable de agrupación en el modelo.

Información sobre los datos

	Nº de casos
Válidos	15
Rechazados Perdidos	0

La transformación log no se puede realizar	0
Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control	3

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	18	Sí

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	
PROBIT ^a	Concentración	7,244	1,103	6,566	,000	5,082
	Intersección	-8,828	1,360	-6,491	,000	-10,188

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Intervalo de confianza al 95%	
	Límite superior	
PROBIT ^a	Concentración	9,406
	Intersección	-7,468

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10.000.)

Contrastes de chi-cuadrado

		Chi- cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBI T	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	8,170	13	,832 ^a

a. Como el nivel de significación es mayor que .050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

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

Residuos y frecuencias de casillas

	Número	Concentració n	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos
PROBI T	1	,699	10	0	,001	-,001
	2	,699	10	0	,001	-,001
	3	,699	10	0	,001	-,001
	4	1,000	10	1	,566	,434
	5	1,000	10	1	,566	,434
	6	1,000	10	1	,566	,434
	7	1,176	10	4	3,789	,211
	8	1,176	10	3	3,789	-,789
	9	1,176	10	3	3,789	-,789
	10	1,301	10	7	7,247	-,247
	11	1,301	10	6	7,247	-1,247
	12	1,301	10	5	7,247	-2,247
	13	1,398	10	10	9,030	,970

14	1,398	10	10	9,030	,970
15	1,398	10	10	9,030	,970

Residuos y frecuencias de casillas

Número	Probabilidad
1	,000
2	,000
3	,000
4	,057
5	,057
6	,057
7	,379
8	,379
9	,379
10	,725
11	,725
12	,725
13	,903
14	,903
15	,903

PROBIT

Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para log(Concentración) ^a	
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior
,010	7,898	5,632	9,550	,898	,751

	,020	8,613	6,361	10,228	,935	,804
	,030	9,099	6,869	10,686	,959	,837
	,040	9,484	7,277	11,045	,977	,862
	,050	9,808	7,626	11,348	,992	,882
	,060	10,093	7,935	11,613	1,004	,900
	,070	10,350	8,216	11,852	1,015	,915
	,080	10,585	8,475	12,071	1,025	,928
	,090	10,804	8,718	12,274	1,034	,940
	,100	11,009	8,946	12,466	1,042	,952
	,150	11,901	9,950	13,299	1,076	,998
	,200	12,661	10,814	14,019	1,102	1,034
	,250	13,352	11,601	14,684	1,126	1,064
PROBI	,300	14,004	12,341	15,329	1,146	1,091
T	,350	14,637	13,050	15,973	1,165	1,116
	,400	15,264	13,740	16,634	1,184	1,138
	,450	15,897	14,418	17,329	1,201	1,159
	,500	16,544	15,092	18,074	1,219	1,179
	,550	17,219	15,767	18,886	1,236	1,198
	,600	17,932	16,452	19,786	1,254	1,216
	,650	18,700	17,158	20,802	1,272	1,234
	,700	19,545	17,903	21,969	1,291	1,253
	,750	20,500	18,710	23,343	1,312	1,272
	,800	21,619	19,617	25,017	1,335	1,293
	,850	23,000	20,695	27,168	1,362	1,316
	,900	24,864	22,095	30,194	1,396	1,344

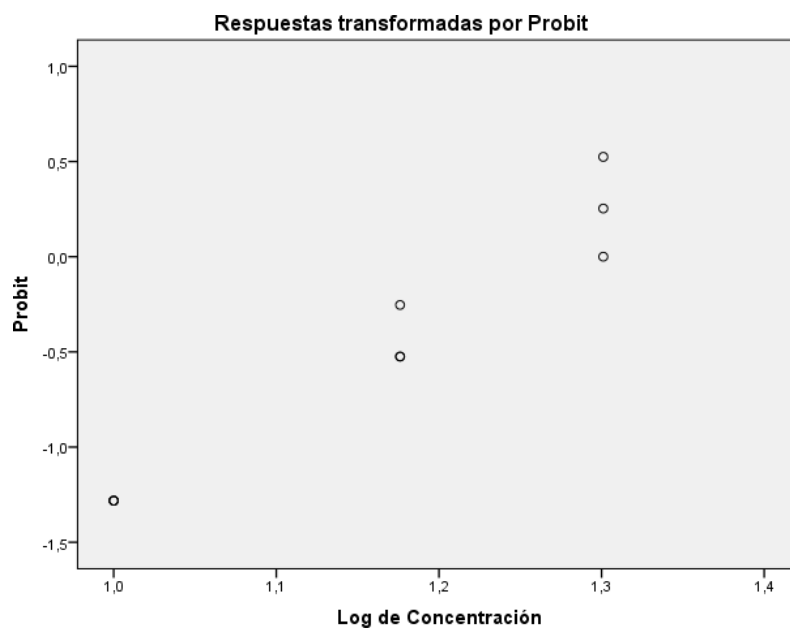
,910	25,336	22,442	30,981	1,404	1,351
,920	25,859	22,823	31,862	1,413	1,358
,930	26,447	23,248	32,863	1,422	1,366
,940	27,120	23,729	34,021	1,433	1,375
,950	27,907	24,287	35,396	1,446	1,385
,960	28,862	24,956	37,088	1,460	1,397
,970	30,081	25,800	39,286	1,478	1,412
,980	31,781	26,959	42,420	1,502	1,431
,990	34,658	28,879	47,898	1,540	1,461

Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para log(Concentración)
	Límite superior
,010	,980
,020	1,010
,030	1,029
,040	1,043
,050	1,055
,060	1,065
,070	1,074
,080	1,082
,090	1,089
,100	1,096
,150	1,124
,200	1,147

,250	1,167
,300	1,186
,350	1,203
,400	1,221
,450	1,239
,500	1,257
,550	1,276
,600	1,296
,650	1,318
,700	1,342
,750	1,368
,800	1,398
,850	1,434
,900	1,480
,910	1,491
,920	1,503
,930	1,517
,940	1,532
,950	1,549
,960	1,569
,970	1,594
,980	1,628
,990	1,680

a. Base del logaritmo = 10.



MSC3-DIA14

Análisis probit

Advertencia

Las estimaciones de la potencia relativa de la mediana no se muestran porque no existe variable de agrupación en el modelo.

Información sobre los datos

		Nº de casos
Válidos		15
	Perdidos	0
Rechazados	La transformación log no se puede realizar	0

Número de respuestas > Número de sujetos	0
Grupo control	3

Información sobre la convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	20	No ^a

a. Las estimaciones de los parámetros no han convergido.

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	
PROBIT ^a	Concentración	9,215	1,405	6,561	,000	6,462
	Intersección	-11,281	1,745	-6,463	,000	-13,027

Estimaciones de los parámetros

Parámetro	Intervalo de confianza al 95%	
	Límite superior	
PROBIT ^a	Concentración	11,968
	Intersección	-9,536

a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10.000.)

Contrastes de chi-cuadrado

		Chi- cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBI T	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	7,666	13	,865 ^a

a. Como el nivel de significación es mayor que .050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

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

Residuos y frecuencias de casillas

	Número	Concentraci n	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos
PROBI T	1	,699	10	0	,000	,000
	2	,699	10	0	,000	,000
	3	,699	10	0	,000	,000
	4	1,000	10	1	,194	,806
	5	1,000	10	0	,194	-,194
	6	1,000	10	0	,194	-,194
	7	1,176	10	3	3,286	-,286
	8	1,176	10	3	3,286	-,286
	9	1,176	10	4	3,286	,714
	10	1,301	10	7	7,604	-,604
	11	1,301	10	6	7,604	-1,604
	12	1,301	10	7	7,604	-,604
	13	1,398	10	10	9,453	,547
	14	1,398	10	10	9,453	,547

15	1,398	10	10	9,453	,547
----	-------	----	----	-------	------

Residuos y frecuencias de casillas

Número	Probabilidad
1	,000
2	,000
3	,000
4	,019
5	,019
6	,019
7	,329
8	,329
9	,329
10	,760
11	,760
12	,760
13	,945
14	,945
15	,945

Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración			Límites de confianza al 95% para $\log(\text{Concentración})^a$	
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior
PROBIT ,010	9,371	7,114	10,945	,972	,852
T ,020	10,032	7,827	11,554	1,001	,894

,030	10,475	8,315	11,959	1,020	,920
,040	10,821	8,700	12,276	1,034	,940
,050	11,111	9,025	12,540	1,046	,955
,060	11,364	9,312	12,771	1,056	,969
,070	11,590	9,569	12,977	1,064	,981
,080	11,797	9,805	13,166	1,072	,991
,090	11,988	10,024	13,341	1,079	1,001
,100	12,166	10,230	13,504	1,085	1,010
,150	12,935	11,121	14,211	1,112	1,046
,200	13,580	11,872	14,813	1,133	1,075
,250	14,159	12,547	15,363	1,151	1,099
,300	14,700	13,173	15,889	1,167	1,120
,350	15,220	13,768	16,408	1,182	1,139
,400	15,731	14,342	16,935	1,197	1,157
,450	16,241	14,903	17,480	1,211	1,173
,500	16,759	15,457	18,056	1,224	1,189
,550	17,293	16,011	18,676	1,238	1,204
,600	17,854	16,570	19,355	1,252	1,219
,650	18,452	17,144	20,112	1,266	1,234
,700	19,105	17,745	20,972	1,281	1,249
,750	19,835	18,389	21,975	1,297	1,265
,800	20,681	19,106	23,182	1,316	1,281
,850	21,712	19,946	24,711	1,337	1,300
,900	23,084	21,019	26,824	1,363	1,323
,910	23,428	21,283	27,367	1,370	1,328

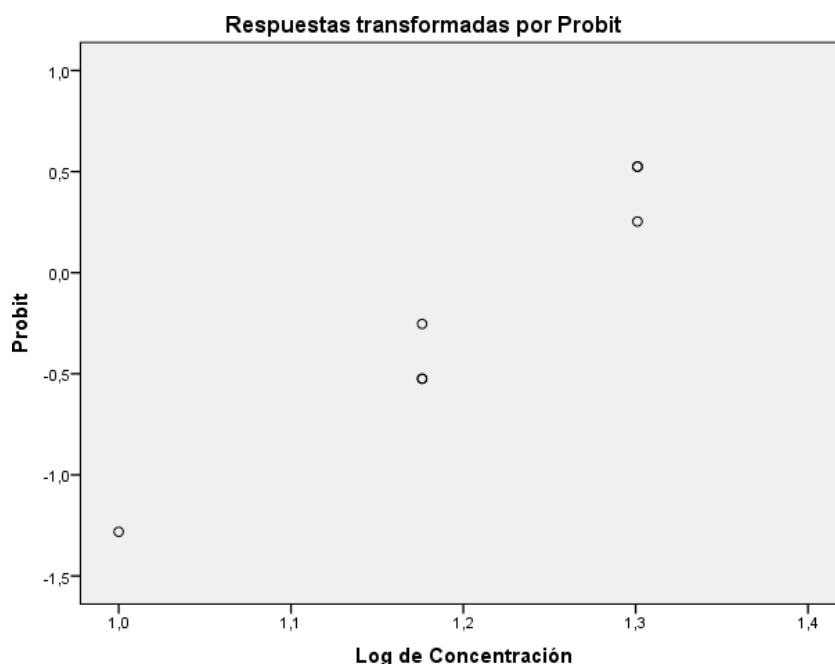
,920	23,807	21,571	27,972	1,377	1,334
,930	24,232	21,890	28,655	1,384	1,340
,940	24,715	22,250	29,440	1,393	1,347
,950	25,277	22,665	30,365	1,403	1,355
,960	25,955	23,160	31,493	1,414	1,365
,970	26,813	23,779	32,943	1,428	1,376
,980	27,997	24,622	34,982	1,447	1,391
,990	29,970	26,000	38,473	1,477	1,415

Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para log(Concentración)	
	Límite superior	
,010		1,039
,020		1,063
,030		1,078
,040		1,089
,050		1,098
,060		1,106
PROBIT ,070		1,113
,080		1,119
,090		1,125
,100		1,130
,150		1,153
,200		1,171
,250		1,186

,300	1,201
,350	1,215
,400	1,229
,450	1,243
,500	1,257
,550	1,271
,600	1,287
,650	1,303
,700	1,322
,750	1,342
,800	1,365
,850	1,393
,900	1,429
,910	1,437
,920	1,447
,930	1,457
,940	1,469
,950	1,482
,960	1,498
,970	1,518
,980	1,544
,990	1,585

a. Base del logaritmo = 10.



ANOVA de un factor

Descriptivos

Mortalidad

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%
					Límite inferior
,00	3	,0000	,00000	,00000	,0000
5,00	3	,0000	,00000	,00000	,0000
10,00	3	,3333	,57735	,33333	-1,1009
15,00	3	3,3333	,57735	,33333	1,8991
20,00	3	6,6667	,57735	,33333	5,2324
25,00	3	10,0000	,00000	,00000	10,0000
Total	18	3,3889	3,92786	,92581	1,4356

	Efectos fijos			,40825	,09623	3,1792
Modelo	Efectos aleatorios				1,70058	-,9826

Descriptivos

Mortalidad

	Intervalo de confianza para la media al 95%	Mínimo	Máximo	Varianza entre componentes
	Límite superior			
,00	,0000	,00	,00	
5,00	,0000	,00	,00	
10,00	1,7676	,00	1,00	
15,00	4,7676	3,00	4,00	
20,00	8,1009	6,00	7,00	
25,00	10,0000	10,00	10,00	
Total	5,3422	,00	10,00	
Modelo	Efectos fijos	3,5985		
	Efectos aleatorios	7,7604		17,29630

Prueba de homogeneidad de varianzas

Mortalidad

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.

9,600	5	12	,001
-------	---	----	------

ANOVA de un factor

Mortalidad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	260,278	5	52,056	312,333	,000
Intra-grupos	2,000	12	,167		
Total	262,278	17			

Pruebas robustas de igualdad de las medias^b

Mortalidad

	Estadístico ^a	gl1	gl2	Sig.
Welch
Brown-Forsythe

a. Distribuidos en F asintóticamente.

b. No se pueden realizar las pruebas robustas de la igualdad de medias para Mortalidad porque al menos un grupo tiene varianza 0.

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Mortalidad

HSD de Tukey

(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
Concentración	Concentración				Límite inferior

	5,00	,00000	,33333	1,000	-1,1196
	10,00	-,33333	,33333	,909	-1,4530
,00	15,00	-3,33333*	,33333	,000	-4,4530
	20,00	-6,66667*	,33333	,000	-7,7863
	25,00	-10,00000*	,33333	,000	-11,1196
	,00	,00000	,33333	1,000	-1,1196
	10,00	-,33333	,33333	,909	-1,4530
5,00	15,00	-3,33333*	,33333	,000	-4,4530
	20,00	-6,66667*	,33333	,000	-7,7863
	25,00	-10,00000*	,33333	,000	-11,1196
	,00	,33333	,33333	,909	-,7863
	5,00	,33333	,33333	,909	-,7863
10,00	15,00	-3,00000*	,33333	,000	-4,1196
	20,00	-6,33333*	,33333	,000	-7,4530
	25,00	-9,66667*	,33333	,000	-10,7863
	,00	3,33333*	,33333	,000	2,2137
	5,00	3,33333*	,33333	,000	2,2137
15,00	10,00	3,00000*	,33333	,000	1,8804
	20,00	-3,33333*	,33333	,000	-4,4530
	25,00	-6,66667*	,33333	,000	-7,7863
	,00	6,66667*	,33333	,000	5,5470
	5,00	6,66667*	,33333	,000	5,5470
20,00	10,00	6,33333*	,33333	,000	5,2137
	15,00	3,33333*	,33333	,000	2,2137
	25,00	-3,33333*	,33333	,000	-4,4530
	,00	10,00000*	,33333	,000	8,8804
25,00	5,00	10,00000*	,33333	,000	8,8804

10,00	9,66667*	,33333	,000	8,5470
15,00	6,66667*	,33333	,000	5,5470
20,00	3,33333*	,33333	,000	2,2137

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Mortalidad

HSD de Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Intervalo de confianza al 95%
		Límite superior
,00	5,00	1,1196
	10,00	,7863
	15,00	-2,2137*
	20,00	-5,5470*
	25,00	-8,8804*
5,00	,00	1,1196
	10,00	,7863
	15,00	-2,2137*
	20,00	-5,5470*
	25,00	-8,8804*
10,00	,00	1,4530
	5,00	1,4530
	15,00	-1,8804*
	20,00	-5,2137*
	25,00	-8,5470*
15,00	,00	4,4530*
	5,00	4,4530*

	10,00	4,1196*
	20,00	-2,2137*
	25,00	-5,5470*
	,00	7,7863*
	5,00	7,7863*
20,00	10,00	7,4530*
	15,00	4,4530*
	25,00	-2,2137*
	,00	11,1196*
	5,00	11,1196*
25,00	10,00	10,7863*
	15,00	7,7863*
	20,00	4,4530*

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Mortalidad

HSD de Tukey^a

Concentraci n	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
,00	3	,0000			
5,00	3	,0000			
10,00	3	,3333			
15,00	3		3,3333		
20,00	3			6,6667	
25,00	3				10,0000
Sig.		,909	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Gráfico de las medias

