

Pruebas preliminares de bioensayos para muestras de agua de ríos afectados por descargas de curtiembres

Mario Alberto Jurado Eraso

Docente del Programa de Ingeniería Ambiental
Universidad Mariana

Jennifer Camila Delgado Sánchez

Jeraldin Rojas Pialejo

Carlos David Viveros Rivera

Estudiantes del Programa de Ingeniería Ambiental
Universidad Mariana

Resumen

En años recientes, ha crecido bastante el interés por los macro y micro-contaminantes que se descargan al ambiente, especialmente en temas ecotoxicológicos, por los problemas sobre la salud humana y los sistemas naturales que se derivan de éstos. Con referencia a lo anterior, los procesos industriales de curtiembres generan sustancias que pueden tener efectos tóxicos (por ejemplo, mutagenicidad, cancerogenicidad o teratogenicidad) y que en la mayoría de los casos no están regulados. Con el desarrollo de este proyecto, se vienen adelantando unas pruebas preliminares de bioensayos con células vivas *in situ*, que se podrían aplicar para evaluar el estado ecotoxicológico de corrientes impactadas, por descargas de diferentes actividades productivas entre ellas, la industria del cuero, especialmente en el Departamento de Nariño, donde este asunto es aún precario. Para ello, se han seleccionado bioensayos con Peces Cebra (*Brachydanio rerio*) y Bulbos de Cebolla (*Allium cepa*), con el fin de reconocer los factores, *confusing factors* y variables de respuesta al trabajar con este tipo de pruebas, con el objetivo principal de aportar al conocimiento práctico y contribuir al desarrollo de estudios al respecto, que se vienen adelantando desde el programa de ingeniería ambiental. Ante la situación planteada, se menciona que, para poder estandarizar los resultados que se obtengan, se va a trabajar con contrapuestas de calibración, inter-laboratorio, con bacterias bioluminiscentes (*Vibrio fischeri*), en un laboratorio certificado (Laboratorio de Investigaciones Ambientales de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali). Finalmente, se menciona que, fue posible poner en marcha, un laboratorio provisional casero, que hasta el momento ha permitido cumplir con los ensayos estándar de los controles positivo y negativo, en concordancia con lo reportado por la literatura técnica.

Palabras clave: agua residual, bioensayos, curtiembres, ecotoxicidad.

Introducción

El agua se constituye como el elemento más importante para la vida en el planeta, pero desafortunadamente, el aumento poblacional y las actividades por mantener la calidad de vida de los se-

res humanos, han derivado en escasez y disminución de la calidad del recurso hídrico. En este contexto, la necesidad de preservar el ambiente ha conducido a la búsqueda de nuevos métodos para la eliminación y monitoreo eficiente de las sustancias que alteran la estabilidad de los recursos naturales (Amaral, et al., 2018; Jurado y Mercado, 2017; Jurado, Eraso, Bravo, Guerrero, 2018; Pantazopoulou y Zouboulis, 2017; Tigrini et al., 2018)

En este orden de ideas, es importante reconocer que los procesos químicos desarrollados por las curtiembres, generan sustancias que se distinguen por tener efectos tóxicos en el ambiente. En consecuencia, los productos generados por dicha industria, son tan perjudiciales, como los de las industrias mineras, farmacéutica o del petróleo; pues como se ha señalado, el espectro de contaminantes liberados al ambiente es muy amplio. Entre éstos se encuentran, metales pesados, sólidos en suspensión, sales inorgánicas, gran cantidad de materia putrescible y diferentes polímeros orgánicos complejos (Montalvão, da Silva Castro, de Lima Rodrigues, de Oliveira Mendes, y Malafaia, 2018; Pantazopoulou y Zouboulis, 2017) the stabilization of tannery sludge, which produced during the physico-chemical treatment of tannery wastewaters, was examined by the addition of ladle furnace slag. Moreover, the simultaneous addition of organoclay and ladle furnace slag for the stabilization of tannery sludge was also examined. Chromium and dissolved organic carbon in the leachate of raw tannery sludge, using the EN 12457-2 standard leaching test, were found to exceed the limit values for disposal in non-hazardous and even in hazardous waste landfills, according to the EU Decision 2003/33/EC. Tannery waste (air-dried sludge).

En relación con lo anterior, vale la pena precisar que, la ecotoxicología y la toxicología ambiental, hacen referencia a los efectos tóxicos sobre los ecosistemas y la salud humana, respectivamente. Entre los asuntos más interesantes del desarrollo de este proyecto está reconocer los factores de estudio, los *confusing factors*, las variables de respuestas y la experiencia práctica que se pueda

alcanzar, con el fin de aplicarla en estudios actuales o futuros en relación con el tema, desde el programa de ingeniería ambiental, con el fin de poder reconocer los riesgos a los que la población en nuestra región puede estar exponiéndose, específicamente y por ahora desde la matriz agua y sedimentos de corrientes superficiales, mediante la aplicación de bioensayos ecotoxicológicos y de toxicología ambiental, con células vivas animales y vegetales *in situ*, para la evaluación de la calidad del agua de ríos impactados, por descargas de aguas residuales derivadas de las actividades productivas de la región.

En este documento, se presenta de manera descriptiva, la experiencia previa sobre los métodos que se vienen aplicando para estandarizar los bioensayos ecotoxicológicos, sobre muestras de agua de ríos impactados por las descargas de la industria de curtiembres, que es bastante importante en el departamento de Nariño.

Metodología

Hasta el momento, se han elaborado procedimientos experimentales (protocolos), aplicables a las condiciones de trabajo, a las que se puede acceder en el contexto local. Para ello, se ha consultado bases de datos científicas como: *ScienceDirect*, *Jurn*, *Virtual LRC*, *HighBeam*, *Google Académico*, *RefSeek*, *Springer*, *Base Bielefeld*, *ERIC*, *Dialnet* o *Teseo*.

Así mismo, para el desarrollo de los ensayos, se ha puesto en marcha un laboratorio casero, que hasta el momento ha permitido cumplir con los requerimientos estándar, reportados por la literatura técnica, en relación con los ensayos de toxicidad aguda para los controles positivo y negativo, ensayos de toxicidad aguda con Peces Cebra (*Brachydanio rerio*) y Bulbos de Cebolla (*Allium cepa*), lo cual ha permitido verificar, que se ha logrado conseguir, como producto final los protocolos experimentales de los ensayos para las condiciones de trabajo (Ramírez y Mendoza, 2008).

Al respecto, vale la pena mencionar que, una vez elaborados los protocolos, se procedió con la adecuación de un espacio casero, en una vivienda del corregimiento de Mapachico, Pasto (Nariño-Colombia), que como ya se ha mencionado, serviría como laboratorio. Posteriormente, se procedió a construir unos hábitats (o microcosmos), para los peces y los bulbos de cebolla, con el fin de realizar un monitoreo continuo durante 15 días de las condiciones ambientales, tanto de hábitats como del laboratorio casero; una vez verificada la variabilidad requerida y estadísticamente significativa, mediante pruebas de hipótesis de Kruskal-Wallis con relación a las variables de interés, se inició con la reproducción de los peces cebra (*Brachydanio rerio*) y los montajes con bulbos de cebolla. Es importante resaltar, que fue necesario realizar limpieza y mantenimiento constante a los hábitats, con el fin de evitar que los resultados pudieran ser influenciados por *confusing factors*, NO identificados.

Para la implementación del laboratorio casero, se escogió un espacio retirado, entre los espacios donde hay mayor tránsito de personas de la familia que habitan el hogar. Igualmente, fue

necesario realizar algunas adaptaciones físicas, para evitar contacto con niños y animales y/o prevenir accidentes. Además, NO se almacenaron sustancias tóxicas que pudieran poner en riesgo la salud de las personas. Éstas fueron manipuladas en los laboratorios de química de la Universidad Mariana sede Alvernia, antes de ser utilizados en las pruebas y posteriormente fueron nuevamente almacenados en el laboratorio de la Universidad Mariana, antes mencionado. Así mismo, se contó con un plan de emergencia y contingencia, frente al uso seguro de las mezclas utilizadas, así como con todos los elementos de seguridad recomendados para su manipulación, como el uso de guantes y gafas de seguridad. Igualmente, se contó con un seguro estudiantil frente a cualquier emergencia. En la figura 1, 2 y 3, se muestran los esquemas para la construcción de hábitats y la adaptación del espacio que sirvió como laboratorio casero.

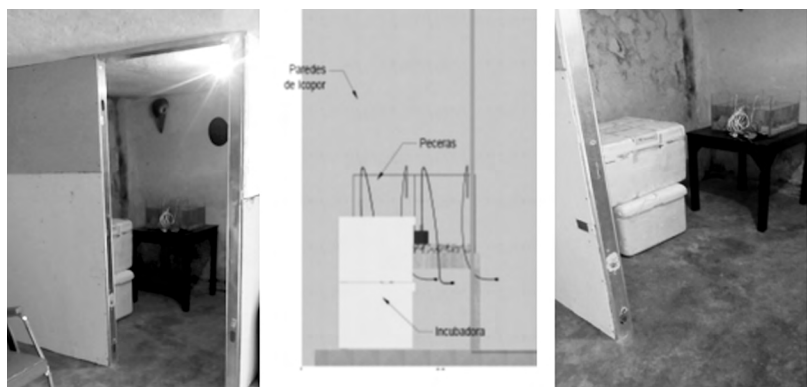


Figura 1. Esquema de construcción y de adaptación de hábitat para Peces Cebra (*Brachydanio rerio*) y Bulbos de Cebolla (*Allium cepa*).



Figura 2. Esquema de adaptación de hábitat de Peces Cebra (*Brachydanio rerio*).



Figura 3. Esquema de adaptación de hábitat de Bulbos de Cebolla (*Allium cepa*).

Por otra parte, se menciona que, entre los parámetros más importantes que se midieron durante el periodo de adecuación del laboratorio y los hábitats, estuvieron: la temperatura ambiente, humedad relativa, conductividad, pH, oxígeno disuelto, temperatura del agua, intensidad lumínica e intensidad de sonido. El registro diario de las variables, se llevó a cabo a través de equipos de fácil adquisición o mediante préstamo del laboratorio de química de la Universidad Mariana.

Además, se han desarrollado ensayos de control positivo y negativo, utilizando dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y agua destilada comercial, respectivamente, utilizando como variable de respuesta la LD50 (concentración letal al 50%) a 96 h y 25 °C y la IC50 (concentración de inhibición al 50%) a 76 h y 20 °C, sobre los peces y los bulbos de cebolla, respectivamente. Estos pruebas se llevaron a cabo considerando la literatura técnica y mediante los métodos matemáticos de Probit y de Litchfield-Wilcoxon (Corrêa Martins, Souza, y Silva Souza, 2016. Li et al., 2018. Ramírez y Mendoza, 2008). Al respecto, vale la pena mencionar que, antes de llevar a cabo los bioensayos se tuvo en cuenta el marco bioético establecido por el Centro de Investigaciones (CEI) de la Universidad Mariana.

Conclusiones

En relación con el control sobre los *confusing factores*, identificados en el laboratorio y en los hábitats, se encontró que la variación de los mismos, no es estadísticamente significativa, a partir de una prueba de hipótesis de *Kruskal Wallis* ($p > 0.05$), es decir, se mantienen las variables dentro del rango necesario para el desarrollo de las pruebas. Así mismo, para el control positivo con relación a Cr^{+6} , se encontró un valor de LD50 a 96 h y 25 °C de 188 mg/L y un valor de IC50 a 76 h y 20 °C de 47 mg/L para los peces cebra y los bulbos de cebolla, respectivamente. Esto último, permite reconocer si los valores no se alejan significativamente de los reportados por la literatura técnica. En este momento, estos valores se encuentran en proceso de verificación y comparación con los reportes de la literatura técnica.

En este contexto, vale la pena mencionar que para llevar a cabo apropiadamente los bioensayos propuestos, éstos deben estar bajo condiciones controladas de laboratorio y debe buscarse la manera más apropiada de controlar la variabilidad sobre los *confusing factors* de interés. Así mismo, estos bioensayos deben ser desarrollados en un laboratorio que cumpla con las condiciones mínimas estándar recomendadas por la literatura técnica, para llevar a cabo pruebas de toxicidad aguda. Por esta razón es muy importante la elaboración con anterioridad y apropiada de los protocolos con respecto a la realidad que se pueda lograr.

Referencias

Amaral, D., do Montalvão, M., Mendes, B., de Souza, J., Chagas, T., Rodrigues, A., y Malafaia, G. (2018). Insights about the toxic effects of tannery effluent on *Lithobates catesbeianus* tad-

poles. *Science of The Total Environment*, 621, 791–801. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29202290>

Corrêa, M., Souza, V., y Souza, T. (2016). Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. *Chemosphere*, 148, 481–486. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.01.071>

Jurado, M., y Mercado, I. (2017). Revisión sistemática de técnicas no convencionales para la evaluación de la calidad del agua de ríos contaminados con plaguicidas. *Entre Ciencia E Ingeniería*, (21), 56–65.

Jurado, M., Bravo, J., y Guerrero, A. (2018). Estudio piloto de la toxicidad de los sedimentos del río Pasto en el tramo La Playita-Puente La Carolina, asociada al uso de pesticidas. *AVANCES: Investigación En Ingeniería*, 14, 194. Recuperado de <https://doi.org/10.18041/avances.v14i1.1297>

Li, C., Chen, Q., Zhang, X., Snyder, S., Gong, Z., y Lam, S. (2018). An integrated approach with the zebrafish model for biomonitoring of municipal wastewater effluent and receiving waters. *Water Research*, 131, 33–44. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2017.12.017>

Montalvão, M., da Silva, A., de Lima, A., de Oliveira, B., y Malafaia, G. (2018). Impacts of tannery effluent on development and morphological characters in a neotropical tadpole. *Science of The Total Environment*, 610–611, 1595–1606. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.06.134>

Pantazopoulou, E., y Zouboulis, A. (2017). Chemical toxicity and ecotoxicity evaluation of tannery sludge stabilized with ladle furnace slag. *Journal of Environmental Management*, 216, 257–262. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2017.03.077>

Ramírez, P., y Mendoza, A. (2008). *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: la experiencia en México*. Mexico: Instituto Nacional de Ecología. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=wdJWUO-j81isC&pgis=1>

Tigini, V., Bevione, F., Prigione, V., Poli, A., Ranieri, L., Spennati, F., ... Varese, G. (2018). Tannery mixed liquors from an ecotoxicological and mycological point of view: Risks vs potential biodegradation application. *Science of The Total Environment*, 627, 835–843. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.01.240>