

CONTAMINACIÓN GENOTÓXICA DE RESIDUALES INDUSTRIALES

Karel. Mena Ulecia¹. Ligia. Baluja², Dailen. Guancho², Ángel Sánchez-Lamar²

1- Departamento de Medio Ambiente, Instituto de Geografía Tropical. Calle F #302
entre 13 y 15. Vedado. La Habana. Cuba, CP-10400.

E-mail: karel@geotech.cu; karelmendaind@yahoo.com

2- Laboratorio de Toxicología Genética, Facultad de Biología, Universidad de la
Habana.

RESUMEN

La contaminación ambiental ha ido ligada al desarrollo industrial en el mundo moderno. Actualmente en nuestro planeta se vierten a ríos y embalses más de 27 millones de toneladas de desechos orgánicos en forma de mezcla compleja contaminando a nuestras aguas con compuestos que son capaces de alterar la estructura del genoma de varias especies incluida el hombre. En Ciudad de la Habana tenemos varias industrias reportadas en el inventario de focos contaminantes, que vierten sus residuales líquidos, a cuencas de interés nacional como la cuenca Almendares-Vento. A la misma vierten aproximadamente 67 entidades de ellas 47 son industrias, 10 de ellas pertenecen a la industria química y 11 a la industria alimenticia, en ninguna de ellas se le ha monitoreado sus residuales desde el punto de vista genotóxico, por lo que se propuso la realización de este trabajo el cual tiene como objetivo fundamental: evaluar, mediante el ensayo de micronúcleos en *Allium cepa L*, la capacidad genotóxica de los residuales de la cervecería Guido Pérez en Ciudad de la Habana y del arroyo Águila Hatuey, cuerpo receptor de los mismos. Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que esta industria vierte a su entorno residuales líquidos con potencialidad genotóxica.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico, el crecimiento demográfico, la industrialización y el uso de nuevos métodos de agricultura tecnificada son factores que contribuyen a que se incorpore al ambiente, de manera continua, cantidades crecientes de un gran número de sustancias químicas, sintéticas y naturales **(Martínez, 1999)**. Los procesos industriales generan desechos que suelen contener contaminantes que son vertidos al medio ambiente, en el cual se concentran o reaccionan con otros elementos produciéndose contaminantes secundarios con potencialidad genotóxica **(Moreno y Carrillo, 2002)**.

En nuestro país, las industrias químicas y alimenticias se encuentran entre las más agresivas al medio ambiente, vertiendo sus residuales a varias cuencas de interés nacional contaminándolas con diversos compuestos químicos **(AMA, 2003)** con potencialidad genotóxica, por lo que se propuso la realización de este trabajo el cual tiene como objetivo evaluar la capacidad genotóxica de los residuales líquidos derivados del proceso productivo de la cervecería Guido Pérez y del arroyo Águila Hatuey, cuerpo receptor de los residuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de residuales industriales y del cuerpo receptor donde vierten.

Se tomaron muestras de residuales líquidos derivados del proceso de producción de la cervecería Guido Pérez del municipio Cotorro y del arroyo Águila Hatuey, cuerpo receptor de dichos residuales. Los puntos de muestreo son los siguientes:

Punto -1: Ubicado 50m antes del vertimiento de agua residual del lavado de las calderas. La toma de muestra fue en el arroyo Águila Hatuey.

Punto-2: Lugar en el Arroyo donde se vierten los residuales de la fábrica sin incluir el residual derivado de las calderas ni del fregado.

Punto-3: Residual derivado de las calderas y parte del servicio social de la fábrica (cocina-comedor, baño, lavamanos).

Punto-4: Lugar en el Arroyo 50m después de donde se vertieron todos los residuales de la fábrica excepto el residual derivado de los toneles que va directamente al alcantarillado.

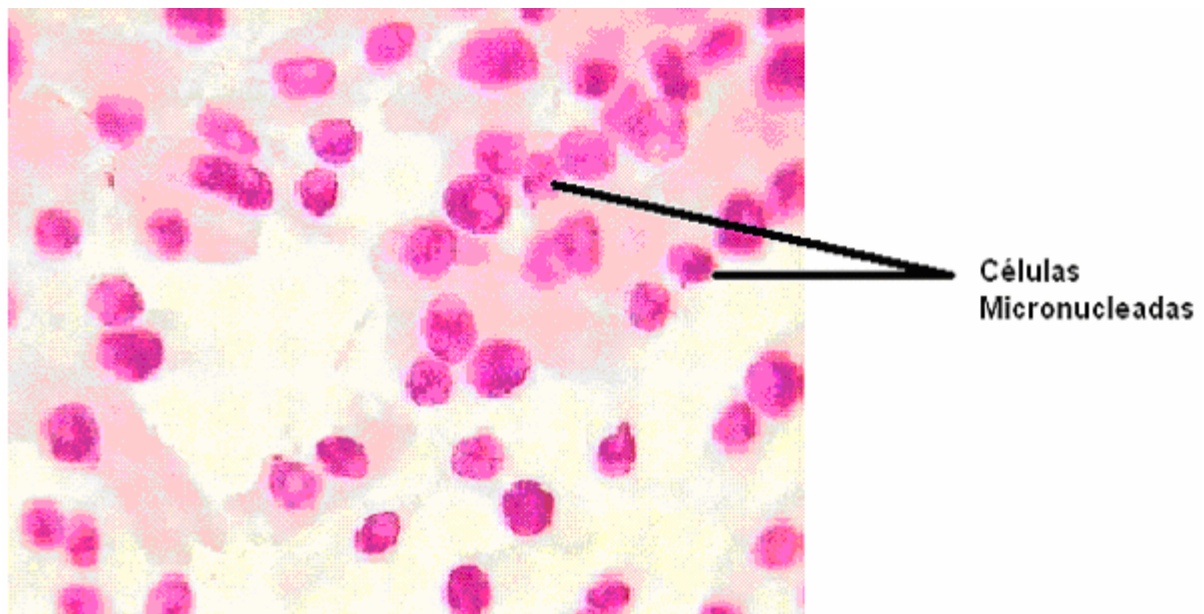
Punto-5: Residual derivado del embotellado de la fábrica.

Punto-6: Residual derivado de la limpieza de los toneles de cerveza dispensada.

Las muestras fueron conservadas a 4°C hasta el momento de ser usadas (no más de 5 días) en el laboratorio.

Ensayo de micronúcleo en *Allium cepa*.

Se emplearon ápices radicales de bulbos de *Allium cepa* L., variedad amarilla americana, los cuales fueron preparados, sometidos a tratamiento y analizados siguiendo las indicaciones reportadas en la literatura (**Ma, 1986**). Las muestras evaluadas fueron pasadas por papel de filtro para eliminar los cuerpos sólidos y esterilizados por filtro-miliporo de 2.5 μ . Como control negativo se usó solución de Hoagland (**Hoagland, 1980**) y control positivo asida de sodio a concentración de 65, 205 y 325 μ g/ml. Los ápices se tiñeron con reactivo de Shifft, y se colocaron 5 en cada lámina portaobjeto por cada muestra a evaluar. Las células micronucleadas (Figura-1) fueron registradas en un total de 1000 células por cada ápice y efectuó a la lectura de las preparaciones.



**Figura-1 "Células Micronucleadas observadas al microscopio óptico"
120 X**

Para el cálculo del índice mitótico se contaron un total de 1000 células de la zona meristemática del ápice (**Grand, 1982**). El análisis estadístico consistió en un análisis de varianza de clasificación simple con un nivel de confiabilidad de un 95%,

el test de Dunnett y un análisis de regresión lineal, todos utilizando el paquete estadístico TONISTAT (Sigarroa, 1987).

RESULTADOS Y DISCUSION

La tabla 1 muestra las materias primas utilizadas durante el proceso industrial. El conocimiento de las mismas nos da información acerca de los posibles componentes de las aguas residuales que se generan en dicha fábrica.

Las aguas residuales de esta industria se generan durante el proceso de elaboración de la cereza y también durante la limpieza de los equipos y tanques que intervienen en la producción, incluido los residuales generados en el área de las calderas. La tabla 2 presenta los valores de los parámetros químicos durante el vertimiento de residuales que han sido monitoreados en cada uno de los puntos de muestreo analizados en este trabajo (Valdez y Palacios, 2003).

Tabla-1. Materia prima utilizada en el proceso de elaboración industrial.

Materias Primas	Fórmula Empírica	Composición Química
Cebada malteada	Fórmula compleja	Almidón (80%) Proteínas (10%) Fibra vegetal (10%)
Lúpulo	Fórmula compleja	Resinas ácidas
Levadura	Fórmula compleja	Composición química compleja
Azúcar refino	$C_{12}H_{22}O_{10}$	Glucosa (50%) Fructuosa (50%)
Hidrato de cal	$Ca(OH)_2$	95 % de pureza
Sulfato de Aluminio	$Al_2(SO_4)_3$	85 % de pureza
Cloruro de sodio	NaCl	80 % de pureza

Hidróxido de sodio	NaOH	80 % pureza

Tabla-2. Valores de los parámetros de vertimiento de residuales evaluados en muestras tomadas en la industria estudiada.

Parámetros	Muestra-3^a	Muestra-4^b	VMP^d	Muestra Arroyo^c	VMCA^e
Flujo	73.4 m ³ /Día	720 m ³ /Día	-	-	-
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	460 mg/ L	616 mg/ L	300 mg/ L	320 mg/L	2 mg/L
Demanda química de oxígeno (DQO)	1122 mg/ L	1552 mg/ L	700 mg/ L	816 mg/ L	7 mg/L
Nitrógeno total (NT)	16.24 mg/ L	19 mg/ L	15 mg/ L	7.8 mg/ L	1.21 mg/L
Fósforo total (FT)	19.3 mg/ L	17.2 mg/ L	10 mg/ L	5.3 mg/ L	1.5 mg/L
Sólidos totales (ST)	1492 ml/L	1103 ml/L	10 ml/L	704 ml/L	3 ml/L
Sólidos sedimentales (Ssed)	25.5 ml/L	38 ml/L	5 ml/L	-	1 ml/L

a: Residual de calderas.

b: Residual general de la industria.

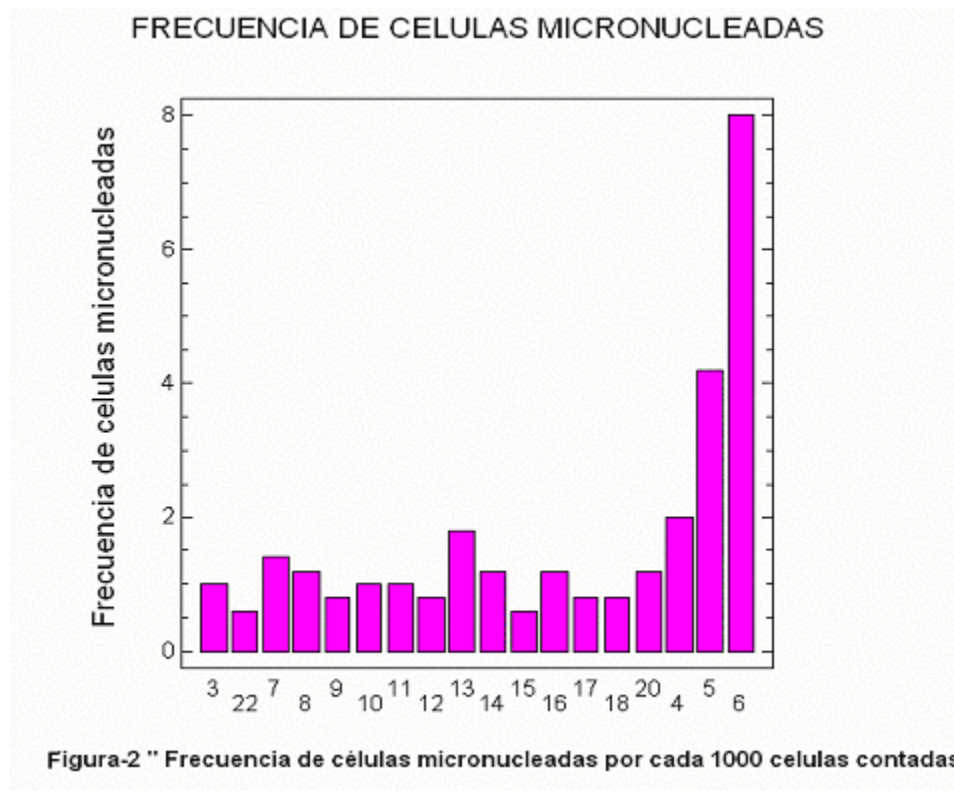
c: Arroyo Águila Hatuey, receptor de los residuales

d: Valores Máximos permisibles según Normas cubanas de vertimiento de residuales NC 27, 1999

e; Valor mínimo a partir de los cuales el cuerpo de agua es de mala calidad NC 25, 1999

En relación a los valores máximos permisibles de vertimiento, según la Norma Cubana **(NC 27, 1999)**, se puede apreciar que todos los parámetros superan los establecidos por la misma tanto para la muestra-3 como para la muestra-4. Lo mismo sucede con la muestra del arroyo donde sus valores medios superan los límites mínimos a partir de los cuales el agua se clasifica de mala calidad para uso pesquero. De las tres muestras analizadas la más contaminante es la muestra del arroyo debido a que los parámetros superan desde 3 veces hasta más de 200 veces el valor establecido por la Norma Cubana **(NC 25, 1999)**. La segunda mas contaminante es la muestra 4 donde los parámetros son el doble de los establecidos por la Norma Cubana **(NC 27, 1999)**, lo que indica que la industria estudiada es un foco contaminante arroyo Águila Hatuey.

Para analizar la genotoxicidad de los residuales de la cervecería Guido Pérez se analizó la frecuencia de micronúcleos en ápices radicales de *Allium cepa L* por cada 1000 células contadas. La siguiente figura muestra el comportamiento de las células micronucleadas durante la etapa de estudio (Figura-2).



Como se observa en la figura-2 de las muestras de residuales que mas frecuencia de células micronucleadas fue la número 13, que corresponde con la muestra-4 al 100% (Anexo-1) con una frecuencia media de 1,8 por cada 1000 células contadas. Esta muestra corresponde al punto de muestreo donde se une todo el residual de la fábrica y es la segunda más contaminada en cuanto a materia orgánica de refiere, evidenciando la presencia de compuestos con capacidad de inducir aberraciones cromosómicas en el material biológico que se encuentre en contacto con estos residuales.

La muestra-2 (100%) también obtuvo valores significativos al tener una frecuencia de células micronucleadas de 1,4 por cada 1000 células contadas. Esta muestra corresponde al lugar del arroyo donde se vierten los residuales de la fábrica sin incluir el residual derivado de las calderas ni del fregado. Este punto de muestreo al igual que el anterior tuvieron los mayores valores de frecuencia de células micronucleadas, puesto que la muestra fue tomada del arroyo Águila Hatuey. Esto significa que en el arroyo y en el agua residual hay presencia de compuestos genotóxicos formados por la materia orgánica que se encuentran en los mismos la cual reacciona con el cloro del agua tratada para consumo humano, formándole

derivados clorados con capacidad de alterar la estructura cromosómica de las raíces expuestas **(Moreno y Castillo, 2002)**.

El índice mitótico se calculó contando la cantidad de células en división entre la cantidad de células contadas según la siguiente fórmula **(Grand, 1982)**:

$$IM \% = \frac{PROFACE + METAFACE + ANAFACE}{1000} \cdot 100$$

El índice mitótico nos da una medida de la capacidad que presenta una sustancia de causar efectos fitotóxicos (toxicidad a nivel celular en plantas), cuanto más bajo es este índice, más letal es la sustancia a nivel célula (Figura-3).

Los resultados obtenidos en los valores de índice mitótico están indicando un claro efecto de fitotoxicidad en los ápices radicales de *A. cepa*. Todas Las muestras analizadas reducen la proporción de células meristemáticas en división, lo cual indica que la fábrica vierte a su entorno ambiental compuestos con potencialidad citotóxica, o sea compuestos capaces de dañar la estructura celular antes de la división de las mismas (Figura-4). Muchos de estos compuestos como las n-nitrosaminas formadas tanto en el residual derivado de los procesos de elaboración de alimentos o los formados el arroyo Aguila Hatuey debido al vertimiento de proteínas degradadas por la microbiota presente en el arroyo han sido reportados por la literatura especializada como compuestos con capacidad mutagénica y con capacidad citotóxica **(Ohe et al., 1999)** y otros compuestos monoclorados, tetrahalogenados que se pueden formar fácilmente en un cuerpo de agua al reaccionar la materia orgánica presente con agua clorada utilizada en el lavado de los reactores y botellas, todos estos compuestos han sido reportados como genotóxico en la literatura internacional **(Mirisawa et al., 2003; Houk, 1992; Claxton et al., 1998)**.

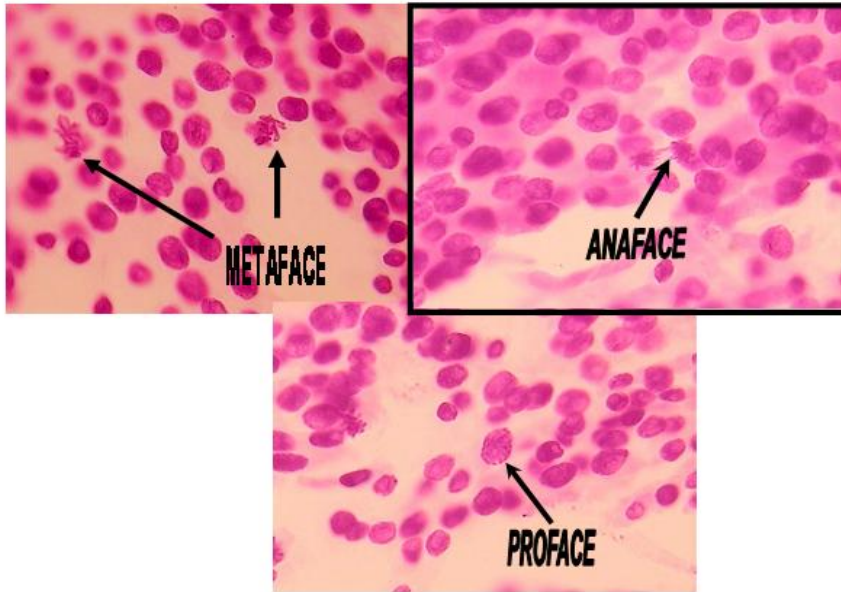
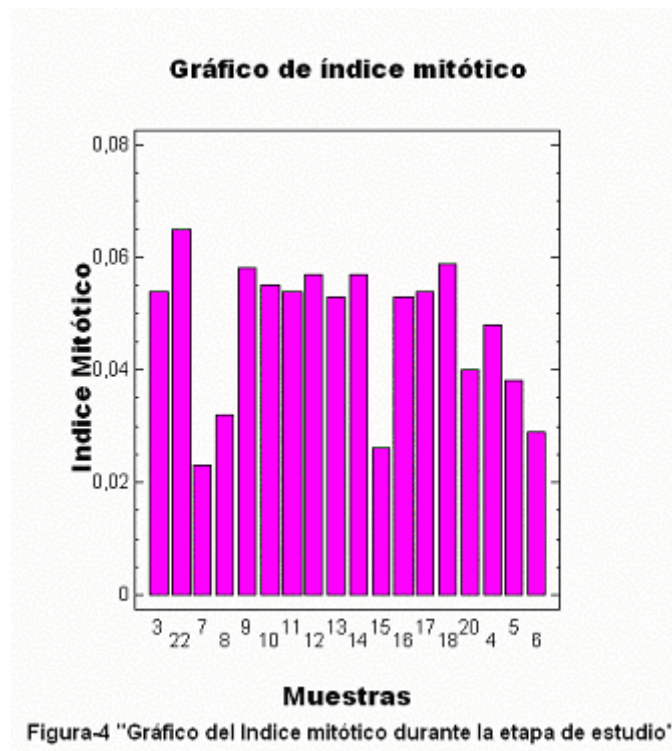


Figura-3 "Fases del ciclo celular observadas al microscopio óptico"
120X



CONCLUSIONES

1. El residual de la fábrica Guido Pérez obtuvo valores elevados de frecuencia de células micronucleadas.

2. El mayor valor de células micronucleadas lo obtuvo el punto de muestreo-4 con un valor de 1,8 cell/1000 contadas a solo 0,2 unidades del control (+) Azida de sodio de 65µg/mL.
3. Los resultados obtenidos en los valores de índice mitótico están indicando un claro efecto de fitotoxicidad en los ápices radicales de *Allium cepa L.*
4. Todas Las muestras analizadas reducen la proporción de células meristemáticas en división, lo cual indica que la fábrica vierte a su entorno ambiental compuestos con potencialidad citotóxica.

ANEXO-1 “Valores medios de la caracterización genotóxica de los residuales de la Guido Pérez”

# de clave	Descripción	MN/ 1000 células	Índice Mitótico
3	Control (-) H₂Ocorr.	1	0,054
22	Control(-)Hougland	0,6	0,065
7	Muestra 2 100%	1,4	0,023
8	Muestra-2 50%	1,2	0,032
9	Muestra- 2 1%	0,8	0,058
10	Muestra- 3 100%	1	0,055
11	Muestra- 3 50%	1	0,054
12	Muestra-3 6,6%	0,8	0,057
13	Muestra-4 100%	1,8	0,053
14	Muestra-4 50%	1,2	0,057
15	Muestra-4 1%	0,6	0,026
16	Muestra 5 100%	1,2	0,053
17	Muestra 5 50%	0,8	0,054
18	Muestra 5 6,6%	0,8	0,059
20	Muestra-6 50%	1,2	0,040
4	Control(+) asida 65	2,0	0,048

5	Control(+) asida 205	4,2	0,038
6	Control(+) asida325	8,0	0,029

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia de Medio Ambiente (AMA) (2003). Situación Ambiental Cubana. Boletín Especial del Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente.
- Grand W.F (1982). Chromosome aberration assay in Allium. Mutation Research, 99, pp 273-291.
- Hoagland R.D, Arnon D.I (1950). The water-culture method for growing plants without soils. Circular No. 347, Univ. Calif. Agric. Exp. Stn., Berkeley, CA. pp 1-39
- Ma T.H, Z. Xu (1986). Validation of a new protocol of the Allium micronucleus test for clastogens. Environ. Mutagen., 8 (Suppl. 6) , 65-66.
- Martínez M (1999). Contaminación marina. III Congreso de ciencias del mar
- Moreno O y Carrillo E.G (2002). Técnicas de estudio de la mutagenicidad. Higiene y Sanidad Ambiental. 2:26-32.
- Morisawa T, Misuno T, Ohe T, Nuyaka H, Tarao Y, Wakabayashi K (2003). Level and behavior of 2-phenil benzotriazole-type mutagen in the effluent of sewage treatment plant. Mutation Research 554: 123-132.
- Norma cubana 27 (1999). Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. Especificaciones, pp 4-10.
- Norma Cubana 25 (1999). Sistemas de normas para la protección del medio ambiente. Especializaciones y procedimientos para la exhalación de los objetos hídricos de uso pesquero. Pág. 5-15.
- Ohe T, P. A. White, D. M. DeMarini (2003). Mutagenic characteristics of river waters flowing through large metropolitan areas in North America. Mutat. Res., 534:101-112.
- Ohe T., N. Takeuchi, T. Watanabe, A. Tada, H. Nukaya, Y. Terao, H. Sawanishi, T. Hirayama, T. Sugimura and K. Wakabayashi (1999). Quantification of two

aromatic amine mutagens, PBTA-1 and PBTA-2, in the Yodo River system, Environ. Health Perspec., 107:701-704.

- Sigarroa, A. (1987):"Programa TONYSTAT". Facultad de Biología, Universidad de la Habana.
- Valdez M, Tur A, Palacios P (2003). Gestión de las aguas residuales en una industria alimenticia. Informe final. Centro de Ingeniería y manejo ambiental de las bahías y costas, pp 6-24.