

Evaluación de la toxicidad letal media por exposición a cianuro libre en efluentes y relaves mineros utilizando los biomodelos *Brachydanio erio* Y *Eisenia andrei*

Evaluation of lethal half toxicity for exposition to free cyanide in outflows and wash again miners utilizing the biomodels *Brachydanio* and *Eisenia andrei*

Recibido: enero 16 de 2015 | Revisado: febrero 10 de 2015 | Aceptado: marzo 17 de 2015

GEORGE ARGOTA PÉREZ¹
NANCY ESPINOZA FLORES²
JOSÉ IANNAcone OLIVER³

ABSTRACT

The objective of present work was to evaluate the lethal half toxicity for exposition to free cyanide in outflows and wash again miners. The study sold off during the period of a little rain, where were selected four representative signs of outflows, those wash again miners, established three replies for each environmental sign for analysis. For the determination of lethal half toxicity, four further treatments of dilution were essays a treatment control, thus the determined under experimental conditions according to recommendations of the Economic Community for Cooperation and Development, *Brachydanio rerio* utilization *re-river* and *Eisenia andrei* like biomodels. It was observed, a mortality of *Brachydanio rerio* 100 % of the individuals' *re-river* to the 24 hours of duration of the essay, whose lethal half concentration¹ corresponded to 0.078mg/L, while than in *Eisenia andrei* the lethal half concentration occurred to the 48 hours of duration of the essay and corresponded to 0.016g of wash again. It was been understood that bioessays indicated effects of immediate toxicity in outflows and wash again miners exposed to free cyanide.

Keywords: lethal half toxicity, exposition, free cyanide, outflows and wash again miners, Brachydanio rerio, Eisenia andrei, Puno-Peru.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la toxicidad letal media por exposición a cianuro libre en efluentes y relaves mineros. El estudio se realizó durante el período poca lluvia, donde fueron seleccionadas cuatro muestras representativas de efluentes, así como relaves mineros, estableciéndose tres réplicas por cada muestra ambiental para el análisis. Para la determinación de la toxicidad letal media, fueron ensayos cuatro tratamientos de dilución más un tratamiento control, así como determinadas bajo condiciones experimentales según recomendaciones de la Comunidad Económica para la Cooperación y el Desarrollo, la utilización de *Brachydanio rerio* y *Eisenia andrei* como biomodelos. Se observó, una mortalidad del 100% de los individuos de *Brachydanio rerio* a las 24 horas de duración del ensayo, cuya concentración letal media correspondió a 0.078mg/L⁻¹, mientras que en *Eisenia andrei* la concentración letal media ocurrió a las 48 horas de duración del ensayo y correspondió a 0.016g de relave. Se concluyó que los bioensayos indicaron efectos de toxicidad inmediata en efluentes y relaves mineros expuestos a cianuro libre.

Palabras clave: toxicidad letal media, exposición, cianuro libre, efluentes y relaves mineros, Brachydanio rerio, Eisenia andrei, Puno-Perú.

1 Dirección General. Centro de Investigaciones Avanzadas y Formación Superior en Educación, Salud y Medio Ambiente "AMTAWI". Puno, Perú.

Correo: george.argota@gmail.com

2 Programa de Maestría en Ciencias Ambientales. Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica. Universidad Nacional Mayor San Marcos (UNMSM). Lima, Perú.

3 Laboratorio Ecofisiología Animal. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú.

Introducción

El cianuro se puede presentar en dos formas, dependiendo del pH del medio en el que se encuentre. Con pH alcalino predomina la forma soluble del cianuro, mientras que con un pH neutro y ácido en el medio, predomina la forma gaseosa: el ácido cianhídrico (Blanco, 2001).

Las tres clasificaciones del cianuro que se estudian, están definidas por un método de análisis químico y son los que se requieren con mayor frecuencia en los monitoreos ambientales: Cianuro total, Cianuro disociable en ácido débil (WAD) y Cianuro libre.

La reacción química que ocurre en el proceso de cianuración es:

- $2 \text{ Au} + 4 \text{ NaCN} + \text{O} + \text{H}_2\text{O} = 2 \text{ AuNa(CN)}_2 + 2 \text{ NaOH}$ (proceso de lixiviación)
- $\text{NaAu(CN)}_2 + 2 \text{ NaCN} + \text{Zn} + \text{H}_2\text{O} = \text{Na}_2\text{Zn(CN)}_4 + \text{Au} + \text{H} + \text{NaOH}$ (proceso de precipitación)

Ambientalmente, el cianuro es encontrado en forma natural en aire y agua y dada su toxicidad al ser humano es un contaminante de prioridad mundial. En aire, el cianuro se presenta, principalmente, como gas (HCN) en concentraciones que oscilan de 0.15 a 0.17ppb (Cacacé *et al.*, 2007). No obstante, las propiedades toxicológicas de HCN y de las sales cianúricas no son diferentes después de haber entrado en el cuerpo. Por eso la toxicología de HCN y de las sales cianúricas se deben discutir juntas.

Todas las consideraciones respecto al mecanismo de acción y de la terapia se refieren a todos los productos que contengan cianuros y liberen cianuro fácilmente o se comporten igual. La velocidad de acción de envenenamiento con cianuros en el cuerpo humano o animales depende intensamente de la forma de entrada. La más rápida es por inhalación de gas de HCN, aunque los síntomas de envenenamiento pueden ocurrir en minutos o segundos (Holland, 1986).

A pesar que se ha descrito que el cianuro es altamente tóxico, sin embargo puede ser sometido a una degradación química, natural o biológica para disminuir su poder contaminante (Wotruba *et al.*, 1998).

Experimentos con animales han demostrado, que existen posibilidades de que sales cianúricas sean absorbidas por la piel (Bellantyne, 1987). Sobre la piel intacta el NaCN seco no resulta en absorción de cantidades suficientes para producir señales sistémicas de toxicidad. Según Dugard (1987), la cantidad y la velocidad de la absorción por la piel humana dependen del área de la piel contaminada, el tiempo de contacto sobre esta y el pH de la sal o de la solución cianúrica. A pH bajos resultan en una absorción rápida mientras que un pH alto en una absorción lenta.

Cuando el cianuro ha entrado en la circulación, es transportado en el plasma y en los glóbulos rojos, hasta que llega a las moléculas meta, sobre todo al sistema de citocromo c-oxidasa. La concentración del cianuro en los glóbulos rojos es diez veces más alta que en el plasma (Bellantyne, 1987).

Los síntomas de intoxicación por cianuros son frecuentemente de una naturaleza no específica, especialmente en las fases iniciales puede provocar irritación de la garganta, palpitaciones del corazón, salivación, dolor de cabeza, náuseas, respiración superficial, mareo (vértigo), somnolencia, debilidad de brazos y piernas. En una fase más seria de intoxicación, la víctima puede mostrar los siguientes síntomas adicionales: colapso, paro respiratorio, desmayo y convulsiones (MSDS, 2008).

Finalmente, la síntesis y desarrollo de reactivos para minería es una de las ramas que más avance ha mostrado en los últimos años. La creciente complejidad de los minerales ha promovido la unión de los talentos del químico y del metalúrgico en la búsqueda de alternativas que le permitan ser eficaces

para la recuperación de los minerales. Pese a lo anterior, el cianuro permanece como un reactivo difícil de “sustituir”, pues el 90% del oro producido mundialmente es por lixiviación con cianuro (Akcil, 2003), es así que las agencias gubernamentales encargadas del medio ambiente trabajan estrechamente a fin de que el impacto de este anión monovalente (CN-) sea mínimo.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la toxicidad letal media por exposición a cianuro libre en efluentes y relaves mineros.

Método

Objeto de investigación y período de estudio

Debido a razones de confidencialidad, no se menciona la entidad minera pero sí se consideró evaluar toxicológicamente sus residuos mineros expuestos a cianuro libre.

El estudio se desarrolló en época de poca lluvia durante el año 2014.

Población y muestra

De los efluentes y relaves mineros, se aplicó un muestreo probabilístico aleatorio para la selección de las muestras ensayo. El método cuantitativo correspondió al empírico por experimentación, utilizándose como técnica analítica la observación estructurada.

Para las baterías de ensayo realizado en *Brachydario erio* se siguió lo recomendado por la guía 203 de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económico (OECD, 1992), mientras que en *Eisenia andrei*, fue basado según lo descrito por la guía 207 (OCDE, 2004).

Se establecieron cuatro tratamientos con réplicas más un control según la Figura 1.

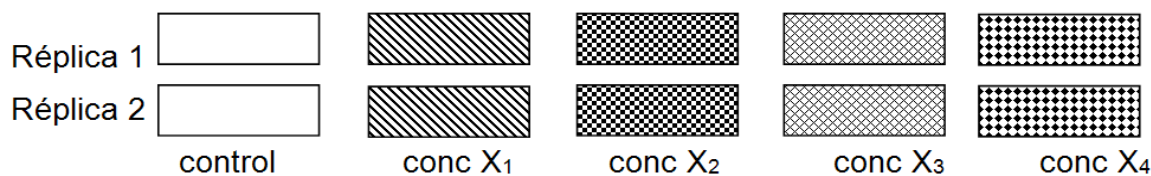


Figura 1. Representación de tratamientos para la curva dosis-respuesta.

Los datos de concentración/mortalidad se utilizan para calcular la concentración letal media (CL₅₀), la cual se puede determinar por el método Probit o Trimmed-Spearman. Para ello, se utilizó el software proporcionado por la USEPA, el cual describe lo siguiente:

$$p = (r/n) \times 100$$

Dónde:

- Número de individuos (n),
- Número de organismos muertos o afectados (r).
- Porcentaje de efecto (p).

La representación gráfica de p vs. d , o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal. Una forma

de abordar este problema es transformando d a una escala logarítmica ($X = \log_{10}(d)$), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea normal.

Posteriormente, mediante las tablas de Probit se transforma p (porcentaje de efecto) a unidades probit (buscando en una tabla de distribución normal el valor de z correspondiente a una probabilidad acumulada igual a p y sumándole a continuación cinco unidades), se obtiene una distribución de puntos en un sistema bivariado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico. Es importante mencionar que el Probit es una transformación sobre la tasa de efecto (p) y la ecuación generada es de la forma: $y = a + bx$

Dónde:

- y (expresado en unidades probit) = $z + 5$
- z = variable normal estándar = z_0 tal que la $\text{Prob}(z \leq z_0) = p$
- a y b son los estimadores de los parámetros de la recta de regresión
- Cuando $p = 50\%$ entonces $y = 5$, por tanto: $x_5 = \log_{10} CL_{50} = 10^{x_5}$

Resultados

En la Figura 2 puede mostrarse la curva dosis-respuesta por exposición a cianuro libre en efluente utilizando el biomodelo *Brachydario rerio*.

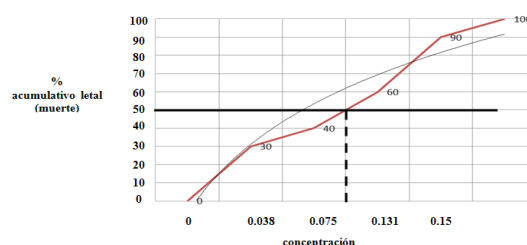


Figura 2. Curva dosis-respuesta en *Brachydario rerio* por exposición a cianuro libre en efluente minero

En la Figura 3, puede mostrarse la curva dosis-respuesta por exposición a cianuro libre en relave utilizando el biomodelo *Eisenia andrei*.

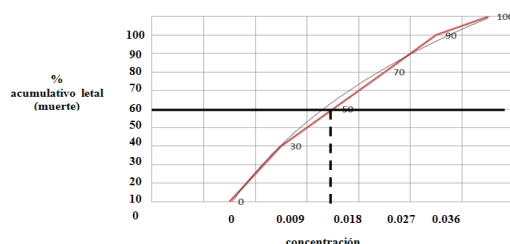


Figura 3. Curva dosis-respuesta en *Eisenia andrei rerio* por exposición a cianuro libre en relave minero

Discusión

Puede mencionarse que la relevancia del empleo de peces como organismos de prueba radica en su ubicación y función en los sistemas acuáticos, ya que además de ocupar diferentes posiciones tróficas en los ecosistemas, al tratarse de organismos vertebrados son normalmente considerados como buenos representantes de organismos

de mayor complejidad y por lo tanto los efectos tóxicos observados en ellos son más fáciles de comprender e interpretar, pues además muchas especies de peces representan pesquerías de importancia comercial o son sujeto de cultivo para la producción de alimentos o como especies ornamentales (Ramírez, 2008).

En este trabajo, las concentraciones ensayadas (0.035, 0.078, 0.131 y 0.15) para *Brachydario rerio*, correspondieron al periodo poca lluvia por ser matemáticamente más bajas, aunque según Argota *et al.*, (2014), no resultan significativas diferentes dichas concentraciones en comparación con el periodo de lluvia.

Al exponer los ejemplares de *Brachydario rerio* a experimentación para cada tipo de efluente (réplica de tratamiento) durante las primeras 24 horas se observó, mortalidad del 100 % de los individuos (CL_{50}) según la curva dosis-respuesta, siendo significativo que este tipo de *test* establece hasta un máximo de duración por 96 horas. Sin embargo, fue relevante observar que al exponer los ejemplares al 50% del efluente diluido, cuya concentración correspondió a 0.078 ppm, produjo el 50% de muerte, lo cual indicó que este efluente es altamente tóxico.

En el caso de poder evaluar toxicidad de un efluente sobre el suelo, por lo general ha sido usado como biomodelo de ensayo la lombriz de tierra, ya que es importante conocer que *Eisenia andrei*, ha sido una de las especies más ensayada debido a su alto desarrollo y reproducción (Domínguez *et al.*, 2005).

Se observó que al comparar las diluciones del cianuro libre obtenido de los relaves cribados, una repelencia de tipo gradual en los tratamientos durante las primeras 24 horas, lo cual indicó que la concentración y toxicidad de los relaves son proporcionales. Sin embargo, después de las 48 horas de duración del ensayo al comparar igualmente

con el control negativo se observó en cada tratamiento, mortalidad en la *Eisenia andrei* donde dicha mortalidad aumentó a medidas que existió mayor cantidad de relave mezclado, encontrándose la CL_{50} a una concentración de 0.016g de relave minero.

Puede indicarse que el monitoreo de efluentes se ha orientado hacia la evaluación del cumplimiento de las reglamentaciones de descarga para la predicción del impacto sobre sitios específicos en el cuerpo receptor, así como evaluar tanto el efecto combinado de mezclas complejas de compuestos tóxicos, además de las mejoras en procesos tecnológicos de control de la contaminación.

La USEPA (1994a), ha desarrollado procedimientos detallados y específicos para limitar las descargas en función de objetivos de calidad que sean aceptables para el cuerpo receptor, basados en ensayos de toxicidad que evalúan efectos letales y subletales de sustancias específicas.

En este estudio para conocer los efectos generados por el impacto de las actividades mineras resulta extraordinariamente importante, el uso de organismos que puedan predecir los posibles daños a suceder en la salud humana. Una de las aplicaciones más extendidas del monitoreo de efectos biológicos con ensayos de toxicidad, ha sido la evaluación de descargas líquidas o efluentes en el marco de programas de control ambiental.

La potencialidad de los bioensayos para evaluar la toxicidad de muestras complejas ha estado mayoritariamente orientada al medio acuático. El ejemplo más notorio es quizás, el de la USEPA que recomienda la utilización de datos de toxicidad para el control de vertidos, e incorpora los llamados métodos WETs (Whole Effluent Toxicity) en el programa NPDES (National Pollutant Discharge Elimination System) estableciendo de esta forma límites de toxicidad permitidos para efluentes (USEPA, 2002). Otros países han

seguido métodos similares al desarrollado por la USEPA como el Reino Unido (Whitehouse *et al.*, 1996) o el de España que ha incorporado el uso de bioensayos para el control de la contaminación, en algún caso a la legislación autonómica (DOGC, 1992; BOCM, 1993). Los bioensayos mono-especie estandarizados por la USEPA no solo se han aplicado al control de vertidos, sino que también han sido adaptados para valorar directamente la toxicidad de muestras ambientales de agua (USEPA, 1994b).

Sin embargo, según Ronco *et al.*, (2002), la calidad del diagnóstico mejora cuando se trabaja con varios ensayos sobre una misma muestra, aumentando la confiabilidad del diagnóstico por la posible aparición de falsos positivos o negativos, por lo que para la garantía de los resultados, fue utilizado durante el presente estudio, dos biomodelos aunque de igual manera puede mencionar que existen pocos estudios referenciales que permitan predecir e interpretar las posibles consecuencias inmediatas de residuales mineros utilizando tanto a *Brachydanio rerio* como la *Eisenia andrei*.

Conclusiones

Los bioensayos de toxicidad letal media en *Brachydanio rerio* y *Eisenia andrei*, mostraron que las concentraciones disponibles de cianuro libre en efluentes y relaves mineros tienen efectos toxicológicos inmediatos.

Referencias

- Akcil, A. & Mudder, T. (2003). Microbial Destruction of Cyanide Wastes in Gold Mining: Process Review. *Biotechnology Letters*, 25: pp. 445-450.
- Argota, P.G., Argota, C.H. & Mamani, V.J. (2014). Determinación analítica por exposición a cianuro libre en efluentes mineros, planta artesanal poderosa Ananea-Puno Revista Cátedra Villarreal. Vol 2(1): pp 11-18. ISSN 2310-4767.

- Ballantyne, B. (1987). Toxicology of cyanides, in: Clinical and experimental toxicology of cyanides, Ballantyne B.; TC Marrs eds., Wright, Bristol.
- Blanco, D. & Rendueles, M. (2001). Reducción del impacto ambiental en el desarrollo de nuevos proyectos de minería de oro. Áreas Técnicas. Consultado: octubre, 2013. Disponible en: <http://www.unizar.es/aeipro/finder/>
- BOCM. (1993). Ley 10/93, de 26 de octubre, sobre vertidos líquidos industriales al sistema integral de saneamiento en la Comunidad de Madrid. Núm. 269 del 12 de noviembre.
- Cacace, D.; *et al.*, (2007). Spectrophotometric Determination of Aqueous Cyanide Using a Revised Phenolphthalin Method. *Analytica Chimica Acta*, 589: pp. 137-141.
- DOGC. (1992). Decret 286/92, 24 de novembre, de modificació del procediment e determinació de l'increment de tarifa de sanejament i cànon de sanejament per mesurament directe de la càrrega contaminant. Núm. 1683.
- Dominguez, J., Velandó, A. & Ferreira, A. (2005). Are *Eisenia fétida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouche (1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species? *Pedobiologia* 49: pp. 81-87.
- Dugard, H.P. (1987). The absorption of cyanide through human skin in vitro from solutions of sodium cyanide and gaseous HCN, in: Clinical and experimental toxicology of cyanides, Ballantyne B., TC Marrs eds. Wright, Bristol.
- Holland, M.A. & Kozlowski, L.M. (1986). Clinical features and management of cyanide poisoning. *Clinical Pharmacy* 5, pp. 737.
- MSDS: Hoja de datos de seguridad de material. (2008). Atención cianuro.
- Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo: OECD. (1992). Fish acute toxicity test. OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 203.
- Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo: OECD. (2004). Earthworm reproduction test (*Eisenia foetida*/*Eisenia andrei*). Guidelines for testing of chemicals. No 222. Paris.
- Ramírez, R.P., Mendoza, C.A.: CONSPILADORAS. (2008). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ed.I.
- Ronco, A., Gagnon, P., Díaz, B.M.C., Arkhipchuk, V., Castillo, G. & Castillo, L.E.; *et al.* (2002). Overview of Results from the WaterTox Intercalibration and Environmental Testing Phase II Program: Part 1, Statistical Analysis of Blind Sample Testing, *Environmental Toxicology*, 17(3): pp 232-240.
- United States Environmental Protection Agency: USEPA. (1994a). Short Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms, 2nd ed., Cincinnati, Report EPA 600/4-91/003.
- United States Environmental Protection Agency: USEPA. (1994b). Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organisms, 3rd ed. EPA/600/4-91/002. Technical Report. Washington DC.
- United States Environmental Protection Agency: USEPA: USEPA. (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Quinta edición. U.S. EPA Office of Water, Washington, D.C. EPA-821-R-02-012. 266.
- Whitehouse, P.; Crane, M.; Redshaw, C.J.; Turner, C. (1996). Aquatic toxicity tests for the control of effluent discharges in the UK- the influence of test precision. *Ecotoxicology*. 5, pp 155-168.
- Wotruba, H., Hruschka, F., Hentschel, T. & Priestel, M. (1998). Manejo ambiental en la pequeña minería. MEDMIN-COSUDE. La Paz, Bolivia. pp. 155.