

Biomonitoreo ambiental y tratamiento de efluentes

Lic. María Eugenia Segretin
CONICET – FECyN/UBA

Junto con el desarrollo acelerado de la industria también ha crecido la cantidad de desechos y compuestos tóxicos que se acumulan en el ambiente. En respuesta, la ciencia se ha interesado cada vez más en conocer y proteger el ambiente, y en elaborar criterios físicos, químicos y biológicos para estimar el impacto de la actividad humana sobre el agua, el aire, el suelo y los ecosistemas en general. En ese contexto, la biotecnología ofrece herramientas que permiten detectar compuestos tóxicos (biomonitoreo) y descontaminar el ambiente empleando microorganismos y plantas ([biorremediación](#)).

¿En qué consiste el biomonitoreo?

El biomonitoreo es un conjunto de técnicas basadas en la reacción y sensibilidad de distintos organismos vivos a diversas sustancias contaminantes presentes en el ambiente. En otras palabras, es la evaluación de los efectos deletéreos de una sustancia tóxica sobre ciertos organismos. Así, la toxicidad de un compuesto se mide a través de diferentes parámetros biológicos, como las alteraciones en el desarrollo y en funciones vitales, entre otros parámetros.

La evaluación de contaminación por biomonitoreo puede realizarse de dos modos:

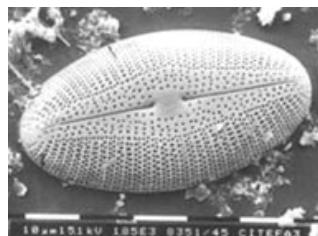
- Mediante el estudio de los efectos sobre los organismos indicadores preexistentes en el ecosistema de interés,
- Mediante la toma de muestras del ambiente de interés y el análisis en el laboratorio de la presencia de contaminantes sobre organismos indicadores modelo.

Estos índices biológicos pueden dar información no sólo de las condiciones momentáneas, sino también de lo sucedido en momentos previos a la toma de las muestras. Junto con la medición de parámetros físicos y químicos, el biomonitoreo permite evaluar el impacto que la actividad humana tiene en el medio ambiente, ya sea en ecosistemas abiertos como en efluentes industriales o cloacales.

Biomonitoreo mediante organismos indicadores presentes en el ecosistema de interés

El organismo indicador seleccionado para el estudio de biomonitoreo depende del ecosistema en estudio y de los compuestos tóxicos a determinar. Los organismos más empleados para realizar biomonitoreo de ambientes acuáticos, que están entre los más afectados por diversas contaminaciones, son:

1- Microalgas: dentro de este grupo se destacan las diatomeas, un grupo de algas unicelulares pertenecientes a la Clase Bacillariophyceae, que poseen un tamaño de entre 50 y 500 μm (microplancton). Constituyen el grupo más importante del fitoplancton debido a que contribuyen con cerca del 90% de la productividad de los sistemas. Se las considera ideales para biomonitoreo dado que son fáciles y rápidas de muestrear en grandes cantidades y sobre pequeñas áreas superficiales. Además, algunas especies de este grupo son muy sensibles a los cambios ambientales ya sea en cortos o largos períodos de tiempo, y esto les otorga a las diatomeas gran importancia en la detección de compuestos vertidos ocasionalmente. Otra característica que las hace ideales como organismos indicadores es que estas algas son particularmente manejables gracias a que sus paredes celulares de sílice son raramente dañadas al ser removidas de los sustratos naturales o artificiales, y son fácilmente cultivables. Además, existe mucha información ecológica referida a sus rangos de tolerancia ambiental.



Microscopías de diatomeas. La imagen izquierda muestra una microscopía óptica y la imagen derecha una microscopía electrónica de diatomeas que revela su estructura exterior (imágenes tomadas del Laboratorio de Diatomeas Continentales-Morfología Vegetal, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEyN – UBA).

2- Macroinvertebrados bentónicos: incluyen, por ejemplo, insectos acuáticos y cangrejos, empleados desde hace más de 100 años para estimar la calidad de cuerpos de agua. Los macroinvertebrados son utilizados como bioindicadores por varias razones, entre ellas: son relativamente abundantes, tienen el tamaño suficiente para ser observados con equipamientos sencillos sin necesidad de microscopios; son muy sensibles a perturbaciones; tienen un ciclo de vida lo suficientemente largo como para ser afectados por las condiciones de la calidad del agua; están relativamente inmóviles; tienden a formar distintas comunidades que están asociadas con condiciones físicas y químicas muy particulares; son fáciles de recolectar; existen métodos de evaluación y conocimiento sobre taxonomía para varias regiones.

Respuestas típicas de las comunidades de macroinvertebrados a diferentes condiciones de estrés ambiental

Estrés	Número/Biomasa	Diversidad
Sustancia tóxica	Se reduce	Se reduce
Cambios de temperatura	Se reduce	Se reduce
sedimentos	Se reduce	Se reduce
pH bajo (acidez)	Se reduce	Se reduce
Enriquecimiento orgánico	aumenta	Se reduce

Tabla: Cambios medidos cuando un sistema acuático es sometido a diferentes alteraciones o tipos de estrés. Parámetros como la diversidad (número de diferentes tipos de organismos) y la abundancia (número total de individuos) de macroinvertebrados en un ecosistema son útiles si se considera la estructura de la comunidad total y los cambios en el tiempo.

Así, en los ríos de montaña de aguas frías, muy transparentes y muy bien oxigenadas, se espera siempre encontrar poblaciones dominantes diferentes a las que existirán en los ríos y quebradas que están siendo contaminados con materia orgánica (de aguas turbias y con poco oxígeno). De hecho, una persona con la suficiente experiencia para reconocer a simple vista todos estos organismos en el campo, en unos pocos minutos después de levantar algunas rocas y troncos sumergidos, y de acuerdo a las características de olor y color de las aguas, puede afirmar con relativa certeza si el ecosistema no está perturbado o, si por el contrario, está siendo impactado por distintos tipos de contaminación (residuos municipales, agrícolas, industriales e impactos de otros usos del suelo sobre los cursos de aguas superficiales).

Biomonitoreo a partir de muestras tomadas de los ecosistemas sobre organismos indicadores modelo

Otra forma de analizar el grado de contaminación y la presencia de compuestos tóxicos en un determinado lugar, es tomar muestras y ponerlas en contacto con organismos o sus derivados y evaluar las alteraciones que en ellos se producen.

La Tabla siguiente compara los resultados de ensayos de sensibilidad de distintos sistemas de biomonitoreo. Es decir, qué concentración de los distintos contaminantes (metales pesados en este caso) es detectada por cada sistema, expresada en algunos casos como EC50 (concentración media efectiva) y LC50 (concentración media letal). La EC50 se define como la concentración de una sustancia en un medio que se espera produzca un cierto efecto en el 50% de los organismos testeados de una población bajo ciertas condiciones (IUPAC, 1993). La LC50 representa la concentración del compuesto tóxico que resulta letal para el 50% de los organismos expuestos durante un período especificado. En otros sistemas no se utilizan valores de EC50 o LC50, sino que se determinan

parámetros propios, como por ejemplo, las alteraciones o aberraciones en el ADN del organismo bioindicador (por ejemplo, los ensayos en cebolla).

Ensayos empleando bioindicadores de diferente naturaleza

Ensayo empleado	Parámetro evaluado	Concentración de metales pesados, EC50 o LC50, para cada metal evaluado				
		Cu ²⁺ (mg/L)	Cd ²⁺ (mg/L)	Pb ²⁺ (mg/L)	Ni ²⁺ (mg/L)	Zn ²⁺ (mg/L)
Ensayos con cultivos celulares, bacterias, invertebrados, peces y mamíferos						
Ensayo con MetPLATE en E. coli	EC50 de actividad galactosidasa	0,2	0,03	10	1	0,1
Microtox	EC50	0,6	40,8	ND*	ND	14,5
Pez Pimephales promelas	LC50	0,02-0,1	0,01-2,2	0,81-5,4	3,4	0,33-1,7
Invertebrado Daphnia magna (pulga de agua)	EC50	0,02-0,54	0,02-4,7	3,6-4,9	7,6-11	0,07-5,1
Ensayos con plantas						
Ensayo en Allium cepa	Formación de micronúcleos (alteración del ADN)	>7,94	>5,6	>0,83	ND	ND
Ensayos de mutación y recombinación en Arabidopsis thaliana	Menor concentración que genera puntos azules	0,05	0,001-0,01	0,5	0,5	6

Los elementos medidos son Cobre, Cadmio, Plomo, Níquel y Zinc. *ND = no determinado.

Según los datos de la tabla se puede interpretar que un valor más elevado de EC50 o LC50 significa que se requiere más metal u otro compuesto que se esté evaluando para que el 50% de los individuos muestren alteraciones o mueran.

Algunos de los ensayos más utilizados para el biomonitoreo son:

i) Microtox®: se basa en la detección de la luminiscencia emitida naturalmente por las bacterias marinas *Vibrio fischeri* como subproducto de la respiración celular. El metabolismo de la bacteria es afectado directamente por agentes tóxicos y, en consecuencia, también la emisión de luminiscencia. Se utiliza para determinar la toxicidad aguda de muestras medioambientales y compuestos puros. En el sistema Microtox®, la toxicidad se expresa como la concentración de agente que produce la reducción del 50% de la luminiscencia inicial (EC50). Este sistema de monitoreo se puede aplicar tanto a muestras sólidas (sedimentos y suelos) como a extractos acuosos. Algunos ejemplos de muestras que pueden analizarse con este bioensayo son:

- Efluentes de plantas de tratamiento de aguas.
- Aguas de bebida.
- Sedimentos.
- Suelos contaminados en procesos de remediación.

- Aguas industriales.

ii) MetPlate®: es específico para detectar metales pesados, aún en presencia de otros agentes tóxicos. Se basa en la inhibición de la enzima b-galactosidasa de la bacteria *Escherichia coli* en muestras acuosas. El resultado se puede evaluar cualitativamente y cuantitativamente. En el primer caso, dado que las muestras cambian su color según la cantidad de metales pesados presentes en ellas, se puede realizar una comparación a simple vista con muestras patrones de composición conocida. Este tipo de procedimiento visual es importante en ensayos de campo, especialmente para sondeos de muestras de gran tamaño. También se pueden realizar mediciones cuantitativas empleando equipamiento adecuado. Este bioensayo tiene, entre sus aplicaciones:

- Búsqueda de desechos municipales e industriales.

- Rastreo de fuentes de metales pesados.

iii) Bioensayo con ratones transgénicos: se basa en el uso de ratones que portan el gen de la hormona de crecimiento humana (hGH) bajo un promotor inducible por estrés. Cuando cultivos primarios de las células de estos ratones son tratados o inyectados con compuestos tóxicos, se evalúa la producción de hGH.

iv) Ensayos con plantas transgénicas: Las plantas también pueden ser usadas como “indicadores” para detectar la presencia de compuestos tóxicos en el medio ambiente, particularmente para la detección de varios metales tóxicos. La estrategia utilizada en el ejemplo que menciona en la tabla, se basa en la transformación de plantas de *Arabidopsis thaliana* con una versión inactiva del gen reportero uidA, alterado de manera tal que la transcripción y, por ende, la síntesis de la proteína GUS, está inhibida. Estas plantas se utilizan para la medir la genotoxicidad inducida por compuestos tóxicos inorgánicos. Con cierta frecuencia, las mutaciones inducidas por estos agentes puede producir la reversión del gen al estado funcional. La tasa de reversión (medible por la aparición de actividad de la proteína GUS) es proporcional a la concentración del agente genotóxico. Esta actividad se puede monitorear colocando la planta en un medio con un sustrato adecuado que es transformado en un producto color azul. Luego de decolorar la planta con alcohol, se pueden visualizar puntos o regiones azules en los lugares donde hubo actividad GUS.

Otros ensayos convencionales utilizan organismos muy sensibles a distintos compuestos tóxicos como indicadores, ya sea porque producen su mortandad o alteraciones genéticas y fenotípicas varias.

v) Los peces, como por ejemplo *Pimephales promelas*, son organismos muy utilizados para valorar la toxicidad de cuerpos de agua. Cuando la concentración del compuesto tóxico provoca su muerte en 96hs o menos, se la llama exposición aguda, mientras que a las exposiciones de mayor duración, con concentraciones sub-letales, se las denomina exposiciones crónicas. Para el caso de los estudios de toxicidad aguda, el parámetro que se evalúa es la muerte de los individuos en estudio, reportándose el valor LC50 (concentración del tóxico que es letal para el 50% de los organismos expuestos durante un período determinado). En estudios fisiológicos y en exposiciones crónicas se miden otras respuestas distintas a la muerte. Entre ellas, se pueden medir la velocidad de ciertas funciones, los niveles de algunas enzimas, y la concentración de algunos metabolitos. Un ejemplo: la tasa de respiración, la velocidad de nado, la tasa de consumo de oxígeno, la concentración de electrolitos o de glucosa en suero, el nivel de glutatión hepático, etc.



Figura 5. Fotografía del pez *Pimephales promelas* utilizado como bioindicador. Fuente: <http://www.nativefish.org/Gallery/>

Qué parámetro se va a determinar depende, en parte, del objetivo del estudio. Si se quiere evaluar la protección medioambiental, se determina la concentración del tóxico que se puede permitir en un

cuerpo de agua, sin que cause un daño significativo a los organismos residentes. Este parámetro normalmente se determina en exposiciones crónicas y es la base para el establecimiento de las normas o criterios de calidad del agua. Si, en cambio, se desea evaluar el impacto ambiental de un compuesto, el parámetro toxicológico más empleado es la toxicidad aguda, expresada como EC50.

A partir de los experimentos que se realizan con exposición crónica en todos los estadios de desarrollo del organismo al tóxico, se identifican los siguientes parámetros:

- la concentración más alta que no produce efectos sobre el crecimiento, reproducción, supervivencia del pez de prueba, éxito de la eclosión y crecimiento de la progenie.
- la concentración más baja que afecta cualquiera de las variables fisiológicas anteriores.

Al rango entre los dos valores se le conoce como la *Concentración Máxima Aceptable del Tóxico (CMAT)*.

¿Cómo se procede luego del análisis de contaminación?

Una vez detectado en un ecosistema la presencia de un compuesto tóxico, existen varios caminos para tratar de eliminarlo. Al principio, la descontaminación consistía en transportar el material contaminado a un lugar donde se lo confinaba o incineraba, con el perjuicio especialmente hacia las comunidades cercanas al lugar de confinamiento/incineración.

En los sucesivos años, se han desarrollado procesos físicos, químicos y biológicos a fin de:

- transformar los tóxicos ambientales en sustancias menos peligrosas para el hombre ya sea porque se los destruye completamente, se disminuye su toxicidad, disminuye su concentración, o se los modifica químicamente
- hacer tolerables los riesgos para la salud durante el proceso de limpieza
- que los riesgos remanentes, en casos de remediación, sean iguales o menores que los establecidos en las metas de restauración.
- que la transformación se lleve a cabo en el sitio donde se encuentran los tóxicos (*in situ*).
- que logren la disminución o eliminación del peligro para la salud en tiempos y costos razonables.

Entre las técnicas biológicas que pueden emplearse para la eliminación de contaminantes en suelo y agua, se encuentra la [biorremediación](#), que consiste en el uso de microorganismos para degradar las sustancias tóxicas convirtiéndolas, de ser posible, en dióxido de carbono, agua y sales minerales, y la fitorremediación, en la cual se emplean plantas o árboles en la limpieza del ambiente.

Tratamiento de efluentes industriales y cloacales

Una de las causas de contaminación ambiental, con perjuicio para la salud humana y animal, son los efluentes industriales y cloacales, problema incrementado por el aumento poblacional y la creciente demanda de industrialización. En el caso de los efluentes de origen industrial y cloacal se requiere de una etapa previa de tratamiento de la contaminación. Esto implica que ningún desecho industrial, por ejemplo, que contenga sustancias tóxicas, debe alcanzar el medio ambiente sin antes haber recibido un tratamiento. El mismo debe servir para reciclar o destruir el compuesto tóxico, o al menos para modificarlo y así poder confinarlo de manera segura y conveniente. Algunas de las tecnologías de biorremediación empleadas para descontaminar ecosistemas, también pueden usarse para tratar los efluentes industriales antes de salir de la planta, y así evitar que liberen tóxicos al ambiente.

Las industrias pueden generar distintos tipos de residuos: líquidos, sólidos y gaseosos. A pesar de ser los residuos gaseosos muy tóxicos en casos como el anhídrido sulfuroso o el ácido cianhídrico, los líquidos y sólidos han sido de mayor interés por la posibilidad de utilizar métodos biológicos para su tratamiento. Los efluentes cloacales están compuestos por una mezcla variable de sustancias y de microorganismos, mientras que los efluentes industriales contienen, en general, muy pocos microorganismos, y a veces una alta cantidad de materia orgánica. A pesar de estas diferencias, se emplea un enfoque similar para resolver ambos problemas:

- los materiales inorgánicos deben ser tratados por procesos físico/químicos
- hay que reducir a niveles mínimos la materia orgánica mediante el tratamiento con microorganismos que la oxidan antes de que se reintroduzcan en una corriente de agua.

En particular para los efluentes industriales, las soluciones para resolver el problema de la contaminación incluyen desde

- disminuir la cantidad de compuestos perjudiciales producidos por las industrias, los volúmenes de efluentes o la cantidad de materia orgánica presente en ellos
- tratar los efluentes con instalaciones adecuadas
- aprovechar total o parcialmente los efluentes en alguna aplicación adicional que lo permita, a fin de recuperar productos valiosos.

Por lo general, en el tratamiento de efluentes se integran procesos físicos, químicos y biológicos, en etapas múltiples:

1) Tratamiento primario: son separaciones físicas en las que se hace pasar agua por una serie de filtros y el efluente se deja reposar para que sedimenten los sólidos suspendidos

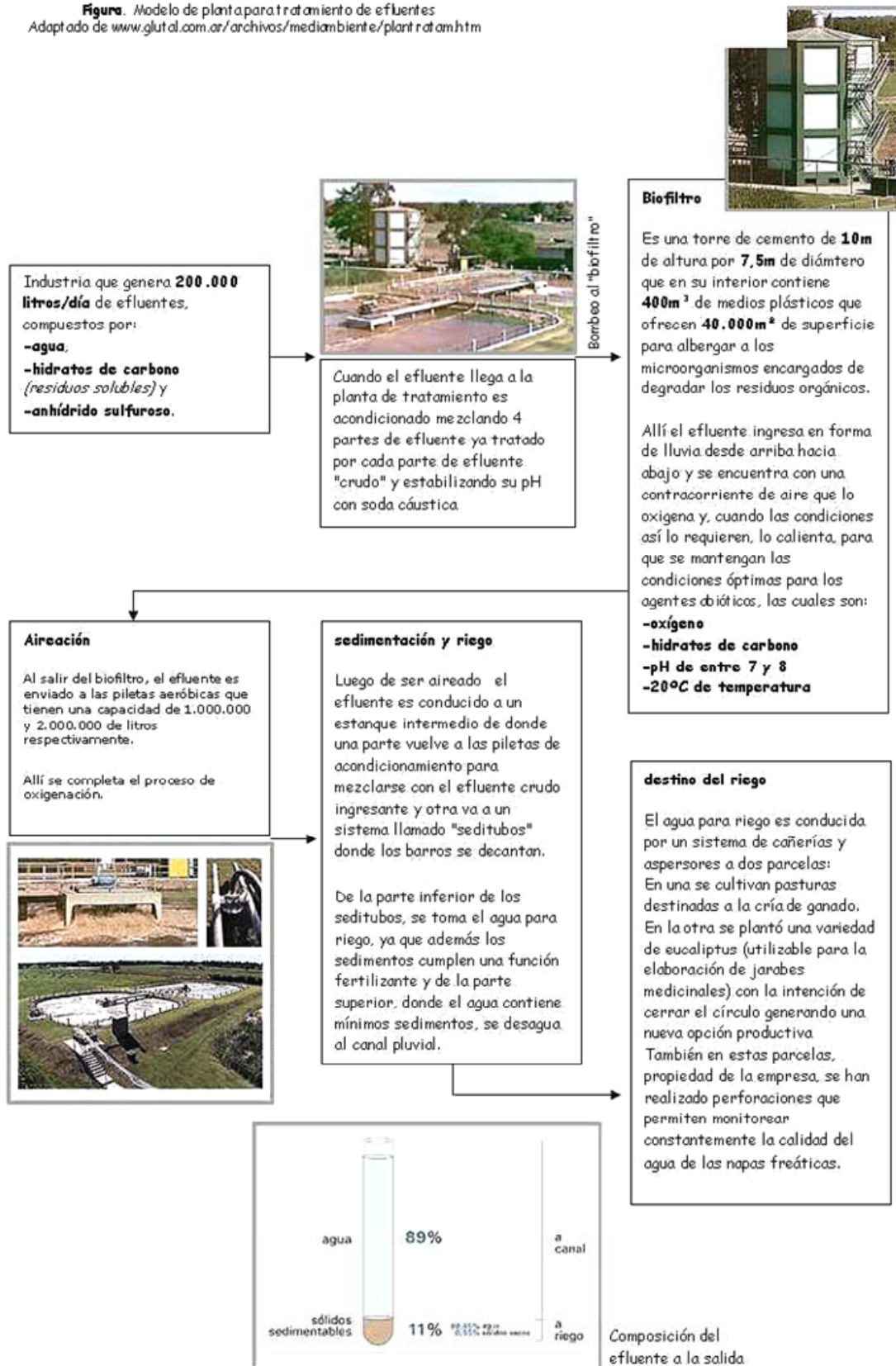
2) Tratamiento secundario: son procesos cuyo objetivo es disminuir la materia orgánica, que se traduce en una demanda bioquímica de oxígeno. Pueden ser de dos tipos:

- **Procesos anaeróbicos:** son procesos de fermentación básicamente, realizados por bacterias. El resultado final el CO₂ y gas metano cuando están presentes bacterias metanogénicas. Este tipo de proceso se suele emplear cuando hay que tratar materiales con mucha sustancia orgánica insoluble como celulosa, etc. Se llevan a cabo en tanques cerrados llamados "digestores". Los restos insolubles se secan y luego se queman o confinan
- **Procesos aeróbicos:** las aguas de desecho se mezclan y airean en grandes tanques abiertos para acelerar los procesos de degradación. Una de las técnicas recibe el nombre de "barros/lodos activados". En ellos se desarrollan hongos y diversos tipos de bacterias.

3) Tratamiento terciario: son procesos de alto costo que incluyen un tratamiento de filtración, precipitación y cloración para disminuir los niveles de fosfatos y nitratos del efluente final.

"Es conveniente conceptualizar la restauración ambiental y la prevención de la contaminación como una estrategia más amplia que engloba a ambos procesos y que tiene, como propósito fundamental, la reducción de riesgos para la salud de la población. La misma técnica, evaluación de riesgos, se usa para decidir la intervención de un sitio contaminado, para establecer las metas de restauración y para diseñar las estrategias de prevención. Lo mismo sucede con las tecnologías para remediar ambientes contaminados que también se pueden usar para tratar efluentes con el fin de prevenir la contaminación" (Programa Superfund, Universidad de Arizona).

Figura. Modelo de planta para tratamiento de efluentes
Adaptado de www.glutal.com.ar/archivos/medambiente/planttratam.htm



Fuentes consultadas:

Scheibler E. "Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de calidad de agua en el Río Mendoza". Disponible en http://www.cricyt.edu.ar/entomologia/Tesis_Scheibler.html

Toro J., Schuster J. P., Kurosawa J., Araya E., Contrera M. "Diagnóstico de la calidad del agua en sistemas lóticos utilizando diatomeas y macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores. Río Maipú (Santiago, Chile). XVI Congreso Chileno de Ingeniería Hidráulica. Disponible en www.conama.cl/rm/568/articles-30399_NOR_01_04_13.pdf

Programa Superfund - Centro de Toxicología – Universidad de Arizona, USA

Desarrollo de planta para tratamiento de efluentes – Empresa Glutal,
<http://www.glutal.com.ar/archivos/medioambiente/plantratam.htm>

Desarrollo práctico para biomonitoreo <http://outreach.ecology.uga.edu/wfl/biomonitoring.htm>