

EVALUACION DE LA TOXICIDAD DE EFLUENTES DEL LAVADO Y DEL TRATAMIENTO INENCOGIBLE DE LA LANA EN PECES: DOSIS LETALES Y OBSERVACIONES HEMATICAS

M. C. Riva*, M.J. Marlasca** y S. Crespo***

0.1. Resumen

La industria lanera genera diferentes tipos de efluentes durante los procesos y tratamientos del vellón desde su obtención hasta su conversión en fibra empleada en el tejido. Dos de los más importantes procesos aplicados a la lana son el lavado y el tratamiento inencogible. La producción de efluentes en el lavado resulta de los siguientes procesos: mojado y desgrasado, y lavado completo del vellón. En algunos de ellos se utilizan agentes tales como bicarbonato sódico y un detergente no iónico. En el tratamiento inencogible es importante resaltar la utilización de compuestos de cloro. En la evaluación de la toxicidad de estos efluentes en peces, se han llevado a cabo ensayos de toxicidad agudos y subcrónicos y se han estudiado los efectos en *Oncorhynchus mykiss* y en *Brachydanio rerio*.

Palabras clave: Dosis letales, contaje de leucocitos, peces, efluentes, proceso de lavado y tratamiento inencogible de la lana.

0.2. Summary. TOXICITY EVALUATION OF THE SCOURING AND SHRINK-PROOFING EFFLUENTS ON FISH: LETHAL DOSES AND HEMATOLOGICAL OBSERVATIONS

The wool industry generates different kinds of effluents throughout the processing and treatment of the fleece from its obtaining to its conversion into the fibre employed in the fabric. Two of the most important treatments applied to wool are the scouring and shrinkproofing processes. The effluent production in the scouring results from the following processes: sweating and degreasing washing, and complete washing of fleece. In some of these processes some agents as builder and nonionic detergent take part. In the shrinkproofing treatment it is important to note the utilization of chloride

compounds. In order to evaluate the toxicity of these effluents to fish, acute and subchronic toxicity tests were carried out, and the effects on *Oncorhynchus mykiss* and *Brachydanio rerio* were studied.

Key words: Lethal doses, blood leucocyte counts, fish, effluents, wool scouring and shrinkproofing processes.

0.3. Résumé. EVALUATION DE LA TOXICITE DES EFFLUENTS DU LAVAGE ET DU TRAITEMENT IRRETRECISABLE DE LA LAINE SUR LES POISSONS: DOSES LETALES ET OBSERVATIONS HEMATOLOGIQUES

L'industrie de la laine génère différents types d'effluents pendant les procédés et traitements du flocon de laine, depuis l'obtention jusqu'à la conversion en fibre ou tissu. Les deux procédés les plus importants appliqués à la laine sont le lavage et le traitement irrétrécissable. La production d'effluents dans le lavage provient des opérations de moullure ou trempage et de dégraissage, et du lavage complet du flocon de laine. Il faut remarquer la présence des agents tels comme le bicarbonate de sodium et un détergent non ionique. Dans le traitement irrétrécissable de la laine est important l'utilisation des composés au chlore. Des essais de toxicité aigüe et subchronique ont été effectués en étudiant les effets sur *Oncorhynchus mykiss* et sur *Brachydanio rerio*.

Mots clef: Doses létales, nombre de leucocytes, poissons, efluentes, lavage et traitement irrétrécissable de la laine.

1. INTRODUCCION

La industria lanera genera diferentes tipos de efluentes durante los procesos y tratamientos del vellón desde su obtención hasta su conversión en fibra empleada en el tejido.

Dos de los más importantes procesos aplicados a la lana son el lavado y el tratamiento inencogible. La producción de efluentes en el lavado resulta de los siguientes procesos: mojado y desgrasado (barca 1), lavado parcial (barca 2) y lavado completo del vellón (barca 3). En algunos de ellos se utilizan agentes tales como bicarbonato sódico (barcas 2 y 3) y un nonyl fenol, detergente no iónico (barca 3). La función de estas sustancias es la de favorecer la eliminación de la lanolina de lana¹. Estos efluentes contienen gran cantidad de materia orgánica degra-

*Dra. en Ciencias Biológicas, M^a Carmen Riva Juan. Investigadora de la Universidad Politécnica de Catalunya. Jefa del Laboratorio de Toxicología Ambiental de este Instituto (INTEXTER, UPC).

**Licenciada en Ciencias Biológicas, M^a Jesús Marlasca Hernández. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

***Dra. en Ciencias Biológicas, Silvia Crespo Giménez. Profesora Titular de Universidad. Laboratorio de Biología de la Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

dada, restos de sangre del animal, materia fecal, polvo, etc. que reflejarán aproximadamente las condiciones del área donde vivía el animal, y en los efluentes de las barcas 2 y 3 encontraremos también grandes cantidades de grasa. Por tanto estos efluentes pueden mostrar gran variabilidad en función del origen del animal.

El tratamiento inencogible de la lana se caracteriza básicamente por el recubrimiento de la lana con una resina sintética lo cual le conferirá las características de inencogibilidad deseadas. También durante este proceso se originan efluentes cuya composición es compleja debido en este caso a la variabilidad de tratamientos a los que se somete la mecha. Desde el punto de vista de la toxicidad cabe destacar la aplicación de compuestos clorados, por lo cual serán de gran importancia los efluentes obtenidos en la fase de ducha (salida continua del efluente) y la fase de aclarado (2º baño) que por su parte origina un efluente con restos de productos clorados. De todo el proceso se obtiene un efluente único o muestra integrada constituida por proporciones fijas de los componentes de las distintas cubas de tratamiento y que representa el vertido real al sistema de alcantarillado o a los ríos.

El propósito de este trabajo es, pues, evaluar el potencial tóxico de los efluentes procedentes de los procesos de lavado y tratamiento inencogible de la lana en organismos acuáticos

2. MATERIAL Y METODOS

Los efluentes del lavado y proceso inencogible de la lana procedían de empresas ubicadas en el Vallés Occidental, siendo recogidos en botellas de vidrio y mantenidos a 4º C. En la Tabla 1 se muestran las características del proceso de lavado de lana y los componentes de los respectivos baños (barcas). Basados en estudios previos realizados en nuestro laboratorio²⁾, fueron consideradas a estudio las barcas 1 y 2 como las de mayor carga contaminante y por lo tanto de mayor interés.

El volumen de la muestra integrada del proceso está en relación 6:1, estando el efluente total mezcla formado por los baños de suavizante, resina, 2º baño, y anticloro (NaOH + NaHCO₃) que en conjunto suponen 6 veces el volumen de reactivos (ácido, cloro y anticloro) vertido como consecuencia de las operaciones finales del proceso y de limpieza del material.

TABLA 1

Características del proceso de lavado de lana efectuado mediante el equipo Fleissner: agua = 10-12 l/Kg. de lana, CO₃ Na₂ = 25g/Kg. de lana, NP = 8g de Nonilfenol 8-10 moles de óxido de etileno por Kg. de lana.

Baño	1	2	3	4	5	6
Función	mojado y desgrasado	desgrasado	enjuagues	final	aclarado	aclarado
Contenido	agua	Na ₂ CO ₃	Na ₂ CO ₃	NP	agua	agua
Tº en C	25	58	58	55	45	40
pH	7-8	9.8	9.8	8.0	7-8	7-8

En la figura 1 se muestran las características del proceso de inencogibilidad de la lana y los componentes de los respectivos baños, considerándose los efluentes de fase ducha, el segundo baño y la muestra integrada de todo el proceso.

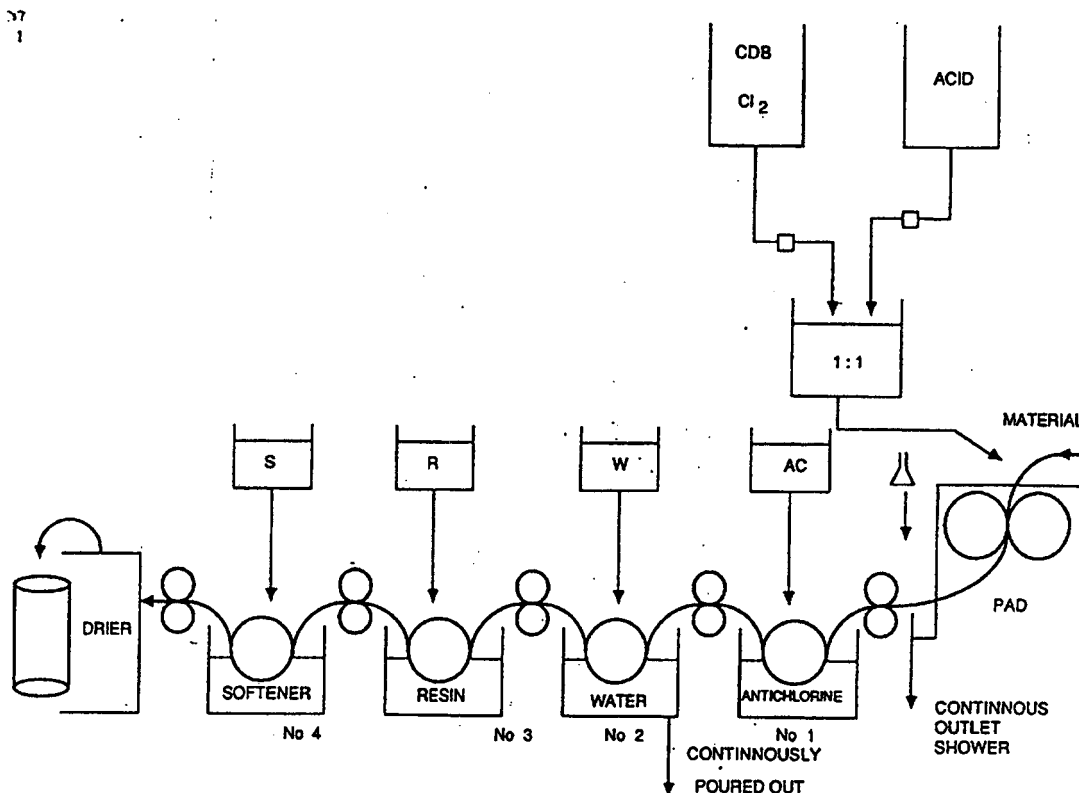


Figura 1. Esquema del proceso de inencogibilidad de la lana

2.1. Animales y ensayos de toxicidad

Fueron estudiadas dos especies de peces: la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* y el pez cebra *Brachydanio rerio*. *O. mykiss* de 10-15 cm de longitud fueron obtenidos de una piscifactoria local y mantenidos en agua bien aireada y flujo semicontinuo, dureza total = 316 mg/l, $T^a = 14 \pm 1^{\circ}$, la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo superior al 90% (saturación), por lo menos dos semanas antes de los experimentos. Los peces fueron alimentados cada dos días con una dieta comercial del 1% de su peso por día en el transcurso del período de aclimatación así como durante el tratamiento. *Br. rerio* de 2,5-4 cm de longitud fueron obtenidos de un expendedor local de animales y mantenidos en un tanque de 200 l. durante el período de aclimatación, siendo la temperatura del agua de $23 \pm 2^{\circ}C$. Los peces cebra fueron alimentados una vez al día "ad libitum". Durante la experimentación los peces fueron trasladados a tanques de 20 l (10 peces en cada uno).

En el ensayo de toxicidad aguda se siguió el método OCDE 203⁹ con ligeras modificaciones. Este ensayo fue de tipo semiestático con un período de renovación del medio cada 48 horas. Las mortalidades durante el período de tratamiento fueron anotadas y se determinaron las CL50 24, 48, 72 y 96 horas mediante los métodos probit y test de regresión.

Las concentraciones probadas para los distintos efluentes fueron las siguientes:

Proceso de lavado de lana, barca 1

O. mykiss: 2, 3, 4, 5, y 6.5 %

B. rerio: 1, 5, 6.5, 8, y 9 %

Proceso de lavado de lana, barca 2

O. mykiss: 1.5, 2, 3, 4, y 5 %

B. rerio: 1.5, 2, 3, 4, y 5 %

Proceso inencogible de la lana, efluente ducha

O. mykiss: 0.25, 0.75, 1.25, y 1.75 %

B. rerio: 0.50, 0.65, 0.8, y 1 %

Proceso inencogible de la lana, 2º baño

O. mykiss: 1, 5, 10, y 15 %

Proceso inencogible de la lana, efluente mezcla

O. mykiss: 0.5, 1, 1.5, 2, y 3 %

El ensayo de toxicidad subcrónica se llevó a cabo con la trucha arcoiris. El efluente testado fue

la muestra integrada del procesado de inencogibilidad de la lana, siendo los peces expuestos a la concentración subletal del 0.3% de la muestra integrada, durante 15, 30, 45 y 60 días, para determinar los efectos histopatológicos.

En el ensayo de toxicidad subcrónica se efectuó la toma de muestras de sangre, previa anestesia de los animales con MS222 (Sandoz). La sangre fue obtenida por sección caudal, de manera que cada gota de sangre fue extendida en un portaobjetos, secada al aire, fijada con metanol y teñida con May-Grünwald Giemsa. Se obtuvieron un promedio de 8 extensiones de sangre por animal, y una media de 4 portas/animal fue utilizada para el contaje diferencial de leucocitos.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de toxicidad obtenidos en los distintos ensayos quedan reflejados en la Tabla 2, donde se presentan los valores correspondientes a las concentraciones letales (CL50) de los distintos

efluentes de proceso, en los distintos períodos de exposición, para O. mykiss y B. rerio.

Se ha podido observar que ambas especies muestran similar sensibilidad a los efluentes de los baños 1 y 2 del lavado de lana. Para el baño 1 se obtuvieron las mismas CL50 para los distintos tiempos de exposición. Este hecho podríamos atribuirlo a las posibles transformaciones ocurridas en estos efluentes en el transcurso del tiempo que hacen que la toxicidad sea inferior o que no aumente con el período de exposición. El pez cebra se mostró ligeramente más sensible frente al efluente ducha del tratamiento inencogible de la lana que la trucha arcoiris, con concentraciones letales (CL) del orden de 0.6% para B. rerio y de 1-1.75% para O. mykiss. En el tratamiento de inencogibilidad, el efluente del 2º baño ocasionó valores de CL50 superiores al 15 %, y la muestra integrada del orden de 1-3 % para la trucha arcoiris, siendo por lo tanto más tóxica ésta última.

Los efluentes ensayados son mezclas de sustancias orgánicas e inorgánicas y resulta muy difícil predecir sus efectos biológicos basándose solamen-

TABLA 2

Toxicidad de los efluentes de lavado y del proceso de inencogibilidad de la lana, en Oncorhynchus mykiss y Brachydanio rerio.

(Tanto en a como en b se han determinado los intervalos de toxicidad ya que los resultados obtenidos en las distintas repeticiones del ensayo eran distintos).

Tipo de efluente	<u>O. mykiss</u> CL 50				<u>B. rerio</u> CL 50			
	24 h.	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Lavado, barca 1	4.47%*	4.37%*	4.37%*	4.2%*	6.85%*	6.85%*	6.85%*	6.85%*
Lavado, barca 2 (a)	3-4% 1.5-2% ¹	4-3% >1.5% ¹	2-3% >1.5% ¹	2-3% >1.5% ¹	3.01%*	3.01%*	2.53%*	2.53%*
T.I. Ducha	1-1.75%	1-1.75%	1-1.75%	1-1.75%	0.69%*	0.66%*	0.65%*	0.62%*
T.J. 2º Baño	>15%	>5%	>15%	15%				
T.J. Muestra Integrada (b)	1-3% 1-2% ^{''}	1-3% 0.5-1% ^{''}	1-3% 0.5-1% ^{''}	1-3% 0.5-1% ^{''}				

(*) Mismo tratamiento

(¹) Lote muestras 1

(^{''}) " " 2

te en los análisis químicos⁴⁾ puesto que: la toxicidad aguda en organismos acuáticos de la mayoría de sustancias o de sus mezclas, no se conoce, y además los organismos muestran gran variedad en las respuestas a los efluentes industriales. En un residuo así de complejo, la bioactividad está relacionada con las interacciones de los componentes entre ellos, sin que una sustancia única muestre un efecto dominante. En el caso del efluente procedente del lavado de lana barca dos y del efluente mezcla del proceso inencogible de lana, se han determinado los intervalos de toxicidad, ya que los resultados obtenidos en las distintas repeticiones del ensayo eran distintos. Estas diferencias, probablemente debidas a cambios en los efluentes con el paso del tiempo, suponen una variación de la toxicidad. En el baño 1 la toxicidad puede atribuirse a la gran cantidad de materia orgánica y a las elevadas concentraciones registradas de NO₂⁻ y NH₃⁺. En el caso de la muestra integrada o mezcla, se utilizaron efluentes de dos tomas distintas y encontramos que aunque fuesen efluentes que procedieron del mismo proceso y a iguales proporciones de las distintas cubas o baños, es posible que existieran diferencias significativas en su composición sobre todo en cuanto a la presencia de compuestos clorados que son volátiles, o también a la presencia de ácidos y álcalis del proceso. Hemos de tener en cuenta que no es lo mismo un proceso de laboratorio en el que están controladas todas las variables que un proceso a escala industrial.

En la Tabla 3 se muestran los resultados relativos al conteo diferencial de leucocitos. El efluente testado fue la muestra integrada del procesado de inencogibilidad de la lana, siendo los peces expuestos a la concentración subletal del 0.3% de la muestra integrada, durante 15, 30, 45 y 60 días, para determinar los efectos histopatológicos.

Los tipos de leucocitos que hemos analizado, y que figuran en la tabla anterior, son los más importantes y representativos entre los visualizados en peces tales como trucha arcoiris, carpas y anguila.

En el transcurso de los últimos 25-30 años se ha prestado gran interés a los efectos de los contaminantes en peces. De los centenares de contaminantes que se ha demostrado que son tóxicos para los peces, puede decirse que los compuestos orgánicos sintéticos y los metales pesados son los dos grupos más importantes. De estudios patrocinados por la agencia americana para la protección del medio ambiente, entre otros, se ha podido conocer que la mayoría de compuestos halogenados insecticidas presentan un efecto letal a concentraciones del orden de partes por billón e incluso por trillón, pudiendo afectar algunos de ellos a la reproducción de los peces. Estudios relativamente recientes parecen indicar que la exposición a compuestos químicos puede inducir principalmente cambios en la relación del número de células sanguíneas^{5,6)}.

En un estudio previo, examinando los efectos que ejercían distintos colorantes de uso textil en

TABLA 3

Porcentaje de los tipos de leucocitos (conteo diferencial) en la trucha arcoiris Oncorhynchus mykiss control y tratada con el efluente muestra integrada del proceso de inencogibilidad de la lana (0.3 %) durante 15, 30, 45 y 60 días de exposición. (Media ± error estandar).

LEUCOCITOS	Tratamiento 15 d	Tratamiento 30 d	Tratamiento 45 d	Tratamiento 60 d
UNFOCITOS Control	59.63 ± 9.82	84.25 ± 3.37	81.10 ± 12.46	84.41 ± 1.53
Tratados	68.78 ± 4.24	79.52 ± 4.15	78.91 ± 3.61	78.19 ± 4.72
MONOCITOS Control	3.40 ± 1.26	1.60 ± 0.57	1.40 ± 0.36	4.54 ± 3.51
Tratados	2.59 ± 0.65	3.23 ± 1.96	1.26 ± 0.25	4.33 ± 3.32
NEUTROFILOS Control	4.71 ± 1.66	2.35 ± 0.31	1.23 ± 0.75	1.78 ± 1.03
Tratados	7.57 ± 2.49	2.28 ± 1.25	1.41 ± 0.42	4.60 ± 2.59
TROMBOCITOS	32.26 ± 10.03	11.80 ± 3.07	16.28 ± 11.93	9.28 ± 2.33
Tratados	21.06 ± 4.30	14.97 ± 4.83	18.43 ± 3.46	12.88 ± 2.67

Control (n=4-5 peces)
 Tratados (n=8 peces)

peces, pudimos observar la existencia de diferencias significativas en el número de leucocitos totales entre las truchas control y las tratadas con los compuestos mencionados⁷⁾, decreciendo el número de linfocitos (linfopenia) y aumentando el número de trombocitos, para las dosis mayores de exposición.

A pesar de que el contaje diferencial de leucocitos ha sido utilizado en este trabajo como un buen índice para determinar el estatus de salud de los peces⁸⁾, no se han obtenido diferencias significativas en este parámetro entre los animales del grupo control y los expuestos al efluente muestra integrada del proceso de inencogibilidad de la lana. Sin embargo no por ello debe despreciarse la posibilidad de aparición de otros efectos toxicológicos ya sea a nivel sanguíneo o en otros tejidos. Todo ello puede ponerse de manifiesto mediante estudios hemáticos e histológicos a nivel ultraestructural que estamos llevando a cabo.

4. BIBLIOGRAFIA

1. Stewart, R.G. Woolscouring and allied technology. ChristchurchWool Research Organisation of New Zealand (WRONZ) cop. [VI], 234 (1983)
2. Riva, M.C.; Cegarra, J.; Crespi, M. Effluents ecotoxicology on wool scouring process. The Science of the Total Enviroment. [En prensa],(1993)
3. OCDE Guideline for testing of chemical: 203 Method: fish acute toxicity test. (1984)
4. Walsh, G.E. ; Bahner, L.H. ; Horning, W.B. "Toxicity of textile mill effluents to freshwater and estuarine algae, crustaceans and fish", Environmental pollution. Series A, **21**,169-179 (1980)
5. Spannhof, L.;Nasev, D.; Kreuzmann, H.L. "Early recognition of metabolic disturbances in trout (Salmo gairdneri) stocks" en Aquaculture, **18**, 317-323 (1979)
- Niimi, A.J. ; Lowe-Jinde, L. "Differential blood cell ratios of rainbow trout (Salmo gairdneri) exposed to methylmercury and chlorobenzenes" en Archives of Environ. Contam. and Toxicol., **13**, 303-311 (1984)
6. Owe-Jinde, L. ; Niimi, A.J. "Influence of sampling on the interpretation of hematological measurements of rainbow trout, Salmo gairdneri", Canadian J. of Zool., **61**, 396-402 (1983)
7. Riva, M.C. ; Flos, R. "Hematologic values of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss W., exposed to premetallized dyes" en Bull. Environ.Contam. and toxicology, **51**, 274-281(1983)
8. Murru, F. Article nº 6 en Continuing educations, **12,4**, 525-533 (1990)

Trabajo recibido en 1993.09.3;

Aceptado en 1993.10.1