
BIODEGRADABILIDAD, TOXICIDAD Y ACUMULACIÓN DEL COLORANTE ACIDO AZUL OMEGACROMO EN LA TRUCHA ARCO IRIS "SALMO GAIRDNERI".

M.C. Riva(*), M. Vilaseca(**), M. Crespi(***)

0.1 Resumen.

Se estudia el impacto ambiental producido por el colorante de tintura Azul Omegocromo B. Se determina: su biodegradabilidad en condiciones aerobias, su toxicidad en la trucha arco iris "Salmo gairdneri" en condiciones agudas y subagudas y la acumulación en varios órganos (branquias, hígado, pancreas y músculo) para las distintas dosis en el tratamiento subagudo.

0.2 Summary.

The environmental impact caused by the Omegachrome Blue B dye is studied. The following parameters have been determined: its biodegradability under aerobic conditions, its toxicity in the rainbow trout "Salmo gairdneri" under acute and subacute conditions and the accumulation in some organs (gill, liver pancreas and muscle) for different doses in the subacute treatment.

0.3 Résumé.

On étudie l'impact ambientale produit par le colorant Bleu Omegachrome B. On détermine la biodegradabilité en moyen aérobie, la toxicité sur la truite arc-en-ciel "Salmo gairdneri" aigüe et subaigüe et l'accumulation dans divers organes (branchies, foie, pancréas et muscle) a plusieurs doses à l'essai subaigu.

(*) Licenciada en Ciencias Biológicas, M^a Carmen Riva Juan. Laboratorio de "Control de la Contaminación Ambiental" de este Instituto.

(**) Licenciada en Ciencias Biológicas M^a Mercedes Vilaseca Vallvé. Laboratorio de "Control de la Contaminación Ambiental" de este Instituto.

(***) Dr. Ing. Martín Crespi Rosell. Jefe del Laboratorio de "Control de la Contaminación Ambiental" de este Instituto. Catedrático de "Química Textil" en la E.U.I.T.I. de Terrassa.

1. INTRODUCCIÓN.

Los colorantes orgánicos sintéticos presentan gran variedad en cuanto a sus propiedades físicas, químicas y biológicas y también en cuanto a su número.

De la producción mundial de colorantes, el 56% son colorantes textiles, y en la mayoría de los países industrializados, el 20% aproximadamente o menos de las pérdidas de los mismos durante su procesado va a para a las aguas⁴⁾.

Dichos compuestos de color absorben la radiación visible e interfieren en la acción fotosintética de la microflora además de cambiar el color natural del río, siendo también contaminantes estéticos.

El deterioro del ambiente no depende únicamente de las cantidades de los colorantes vertidos, sino de las propiedades ecotoxicológicas de cada producto individualmente y de las características de su transporte en el medio ambiente, ya que algunos colorantes son solubles y otros no lo son, por lo cual su toxicidad y su biodegradabilidad (desaparición del medio) pueden ser muy variables.

Generalmente los colorantes orgánicos sintéticos no sufren una pronta degradación aeróbica durante los procesos de tratamiento del efluente, y si dichos productos no son eliminados o reducidos por procesos de adsorción o precipitación, pueden entrar en el medio acuoso.

A pesar de que las cantidades involucradas puedan ser relativamente pequeñas o aún reducirse por la aplicación de una adecuada tecnología y por el tratamiento del efluente, se hace necesario prever su posible impacto ambiental, lo cual lleva implícita la consideración de su tendencia a la Bioacumulación³⁾.

Según la ley japonesa para el control de sustancias químicas (1974) todos los productos que no sean fácilmente biodegradables deben someterse a un test de bioacumulación en peces antes que sean introducidos en el mercado⁵⁾.

El pez es el animal de ensayo más apropiado, debido a su situación en la cadena alimentaria (trófica) y porque, especialmente en algunas comunidades, es un importante constituyente de la dieta humana.

Como propiedades toxicológicas, podemos decir que la más importante es la toxicidad que los colorantes puedan tener respecto al hombre. A este respecto cabe distinguir entre dos grupos de colorantes: los que están en contacto con el cuerpo humano o que lo están en cantidades traza inintencionadamente, y los colorantes que están en contacto directo tales como los de alimentación y cosmética. Ambos grupos deben cumplir unas necesidades muy estrictas objeto de regulaciones legales, siendo estudiados mediante ensayos de toxicidad de corta duración con animales. La experiencia indica que si la dosis es suficiente-

mente elevada, las propiedades tóxicas pueden detectarse mediante ensayos subagudos o subcrónicos.

Por todo ello y con el fin de observar los efectos producidos por un colorante textil (Azul Omegacromo B), hemos elegido como línea de trabajo el estudio de la biodegradabilidad, de la toxicidad y de la acumulación de este producto.

Los objetivos concretos de este trabajo quedan resumidos en los siguientes puntos:

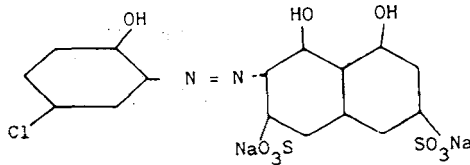
A) Determinación de la biodegradabilidad (desaparición del medio) en condiciones aerobias mediante fangos activos procedentes de una planta depuradora urbana.

B) Estudio de la toxicidad de este producto en la trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) valorando la influencia de la dosis en condiciones agudas y subagudas.

C) Determinación de los niveles de acumulación del Azul Omegacromo B en branquias, hígado, pancreas y músculo, para las distintas dosis de producto en el tratamiento subagudo.

2. EXPERIMENTAL.

El colorante utilizado para este estudio fue el colorante ácido Azul Omegacromo (C.I. Mondant Blue 13 tipo monoazo) cuya constitución química es la siguiente:



(2 Amino - 4 - Clorofenol Acido Cromotrópico)

Se efectuó un estudio biológico sobre este colorante que consiste en determinar los siguientes parámetros:

- toxicidad aguda
- toxicidad subaguda
- bioacumulación y biodegradabilidad.

En el ensayo agudo se trataron 100 ejemplares de trucha arco iris *Salmo gairdneri*, 120 en el ensayo subagudo y 40 animales control. El margen de peso fue de 10-20 gramos aproximadamente.

Fueron mantenidos y aclimatados en el laboratorio durante dos semanas

antes de ser utilizados en los ensayos toxicológicos¹¹⁾ en un medio con las siguientes características: pH = $7,7 \pm 0,2$, Oxígeno disuelto $8,6 \pm 0,3$ mg/l (a 15°C), Cloro libre o_2 , Cloro combinado o_2 , Calcio 100 mg/l, Magnesio 8,5 mg/l, Dureza 270 mg/l, Temperatura $14^\circ\text{C} \pm 1$.

Todos los ensayos se llevaron a cabo con aguas de igual composición añadiendo distintas cantidades de colorante Azul Omegacromo.

La concentración de oxígeno en el agua fue mantenida a nivel de saturación (haciendo burbujear aire constantemente).

Cada grupo de peces dispuso de 20 litros de agua, lo que equivale aproximadamente a 1 pez por cada 2 litros de agua siguiendo el método propuesto por la ETAD (Ecological and Toxicological Association of the Dyestuffs Manufacturing Industry).

Los peces no fueron alimentados durante el tratamiento agudo, mientras que en los tratamientos subagudos y los animales control fueron alimentados una vez al día.

Los ensayos se llevaron a cabo de la siguiente forma:

A) Tratamiento agudo

Se realizó el tratamiento agudo para hacer una estimación de la toxicidad del colorante con el fin de hallar las CL₀, CL₅₀ y CL₁₀₀ (concentraciones letales) a las 48 horas de exposición.

Para observar la influencia de la dosis se hizo un ensayo preliminar con dosis de 50, 100, 200, 300 y 400 mg/l de colorante Azul Omegacromo con el fin de encontrar el margen de tolerancia a dicho producto.

El ensayo definitivo se hizo con dosis de 400, 500, 620, 800 y 1000 mg/l de colorante, con 10 peces para cada concentración.

B) Tratamiento Subagudo

Se efectuó mediante 5 ensayos con dosis de 660, 430, 215, 132 y 66 mg/l de colorante Azul Omegacromo (estas dosis están relacionadas con las CL₀ 48 h. y CL₅₀ 48 h.).

El tiempo de tratamiento fue de 2, 4, 7, 9 y 12 días respectivamente para las dosis señaladas.

Se dispuso de 20 animales en cada grupo incluido el grupo control y de 40

animales para la concentración de 66mg/l.

Los ensayos subagudos se realizaron en idénticas condiciones y con las mismas características en cuanto al agua de dilución ya mencionadas y se han comparado también con el grupo control correspondiente.

Puesto que se trata de un ensayo estático, el medio de dilución fue renovado cada dos días con el fin de eliminar las sustancias excretadas por los animales (ya que al aumentar en concentración podrían ser tóxicas).

C) Determinación de Niveles de Acumulación

Tras la disección y extracción de órganos (branquias, hígado, pancreas y músculo) se procedió al lavado con abundante agua, secado con papel de filtro y pesado para trabajar siempre con peso fresco.

Las muestras fueron homogeneizadas en metanol 100%, sometidas a ultrasonidos 5 minutos para su disgregación. Finalmente fueron centrifugadas a 15.000 rpm durante 10 minutos y filtradas. Los sobrenadantes se recogieron para su posterior cuantificación.

Para la determinación de la acumulación del colorante Azul Omegacromo en trucha arco iris se siguió al principio el método analítico nº 216 de la ETAD sobre la determinación del colorante ácido C.I. Green 108 en carpa, usando la cromatografía líquida de alta resolución.

Sin embargo se encontraron muchas dificultades para la puesta en marcha de este método, y dada la complejidad de esta técnica se optó por la espectrofotometría UV-VIS. Se utilizó un espectrofotómetro SHIMADZU de doble haz modelo 240.

Se efectuaron espectros del colorante en medio acuoso y metanólico para conocer sus máximos de absorbancia.

A la longitud de onda de máxima absorción, se determinó la concentración de colorante en los sobrenadantes de los órganos de los peces.

Los sobrenadantes que presentaron lecturas de colorante cercanas al límite de detección fueron reconcentrados evaporando disolvente y se determinaron de nuevo sus absorbancias.

También se utilizó esta técnica para la comprobación de la degradación de las soluciones en medio acuoso y orgánico, mantenidas a la luz y en la oscuridad, en el transcurso del tiempo. Se hicieron las rectas de calibrado respectivas.

D) Biodegradabilidad

Se determinó la biodegradabilidad inherente utilizando el ensayo modificado de Zahn-Wellens (1974) adoptado por la OECD en mayo de 1981⁹⁾.

Hay que aclarar que este método se basa además de la biodegradación, en la absorción y precipitación del compuesto, de manera que al utilizar la palabra "biodegradabilidad" nos estamos refiriendo a la desaparición del compuesto del medio.

Este ensayo estático es un método reproducible para evaluar la biodegradación de las sustancias orgánicas en agua por los microorganismos en un medio aerobio (según la propia OCDE).

Para utilizar este método, el compuesto a estudiar debe ser soluble en agua y no volátil, y debe utilizarse en concentraciones correspondientes a valores de DOC (carbón orgánico disuelto) del orden de 50-400 mg/l o valores de QOD (demanda química de oxígeno) del orden de 100-1000 mg/l.

La cantidad de degradación obtenida al final del ensayo se llama "Biodegradabilidad en el ensayo estático" y viene dada por la siguiente expresión:

$$DT (\%) = \left[1 - \frac{(CT - CB)}{CA} \right] \times 100$$

donde: DT = % Biodegradación en un tiempo T
CA = Valor inicial (de los valores de COD o DQO de la solución inicial (mg/l)).
CT = Valores de DQO o COD en el momento de la toma de muestra (mg/l).
CB = Valor de DQO o COD del blanco (mg/l)

Para la preparación del inóculo se utilizaron fangos activos procedentes de una depuradora urbana.

La preparación de las soluciones de ensayo consistió en poner 500 ml de agua de ensayo (agua potable con contenido de carbón orgánico menor de 5 mg/l), 2,5 ml/l de solución de nutrientes minerales (38,5 g/l Cloruro amónico, 33,4 g/l Fosfato monosódico, 8,5 g/l Fosfato monopotásico y 21,75 g/l Fosfato dipotásico) y una cantidad de fangos activados correspondientes a 0,2-1 g/l de materia seca en la mezcla final. Se añadió suficiente solución inicial (o agua

residual) para ser analizada con una concentración de COD (Carbón orgánico disuelto) de 50-400 mg/l en la mezcla final, en nuestro caso 271 mg/l. Se llenó con agua de ensayo hasta un volumen de 2 l.

Se hizo un ensayo en blanco que contenía solamente fangos activados y la solución de nutrientes minerales, diluido con agua de ensayo al mismo volumen que la muestra.

Los recipientes de ensayo se dejaron en una habitación débilmente iluminada y a una temperatura de 22°C (± 3) con aireación constante de forma que la concentración de O₂ no bajara de 2 mg/l.

El pH se ajustó diariamente a 7-8 con NaOH. Periódicamente se tomó muestra de la solución de ensayo y de blanco y se analizó el carbón orgánico disuelto, de las muestras previamente filtradas.

Para la determinación del carbón orgánico total se utilizó el TOC (Analizador de carbono orgánico total Modelo 9151 A Beckman).

La degradación en un tiempo T se calculó según la fórmula dada anteriormente.

3. RESULTADOS.

3.1 Características colorimétricas del colorante.

Con objeto de poder determinar la concentración en μg de colorante comercial Azul Omegacromo por g de pez, se hicieron los espectros de absorción desde 280 a 700 nm de soluciones de colorante en agua y en metanol.

Este colorante presenta dos máximos de absorción a 310 y 532 nm.

Se elige la longitud de onda de máxima absorción de 532 nm para la determinación de la recta de calibración en cada uno de los dos medios (agua y metanol).

Los espectros de absorción y rectas de calibración pueden verse en las Figuras 1 a 4 correspondientes a las disoluciones en medio acuoso u orgánico.

Para poder observar la influencia de la luz y del tiempo en el estado del colorante Azul Omegacromo, las soluciones de las rectas de calibrado del colorante, disuelto en metanol y en agua, se dejan bajo la influencia de la luz y se controlan las densidades ópticas de cada una después de 1, 5, 10, 12, 16, y 23 días; asimismo otro conjunto de concentraciones se mantienen en la oscuridad y se determinan sus absorbancias en el transcurso del tiempo.

Estos valores vienen representados en la Tabla 1 en la que puede apreciarse que las soluciones, ya sean en metanol o en agua, en oscuridad o expuestas a la luz, se mantienen en general bastante estables. En algunas de ellas se observa una pequeña variación posiblemente relacionada con una ligera turbidez a partir de los 10 días. Este hecho nos da un amplio margen de trabajo y no interfiere en nuestros ensayos puesto que en los tratamientos el medio se renueva cada dos días con el fin de eliminar los productos de excreción de los animales.

3.2 Biodegradabilidad.

Debido a que el porcentaje de degradación del colorante Azul Omegacromo no llegó al 50%, se repitió el ensayo mediante una 2ª fase partiendo de un carbono orgánico total de 120 mg/l según lo indicado en el método y con las mismas condiciones que en la primera fase de degradación.

Al cabo de los 14 días obtuvimos una degradación del 34%.

Ante este resultado se puede concluir que el colorante Azul Omegacromo es de difícil degradación.

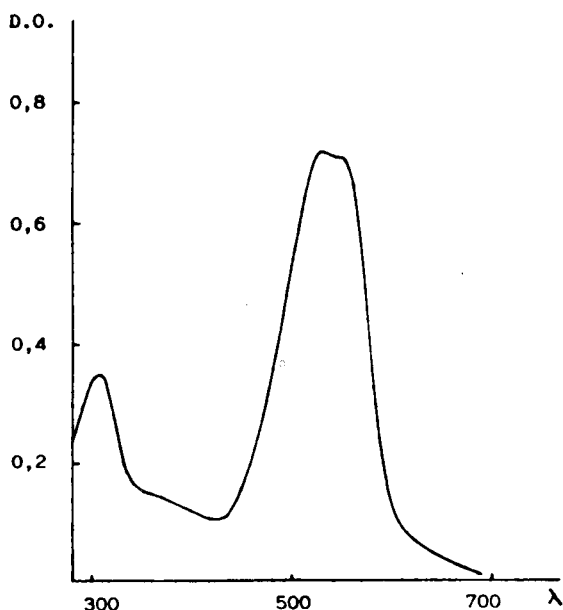


Fig. 1 Espectro de absorción del Azul Omegacromo en medio acuoso. 20 mg/l

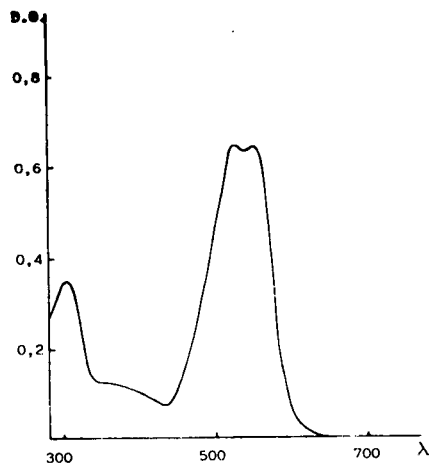


Fig. 2 Espectro de absorción del Azul Omegacromo en medio metanólico. 20 mg/l

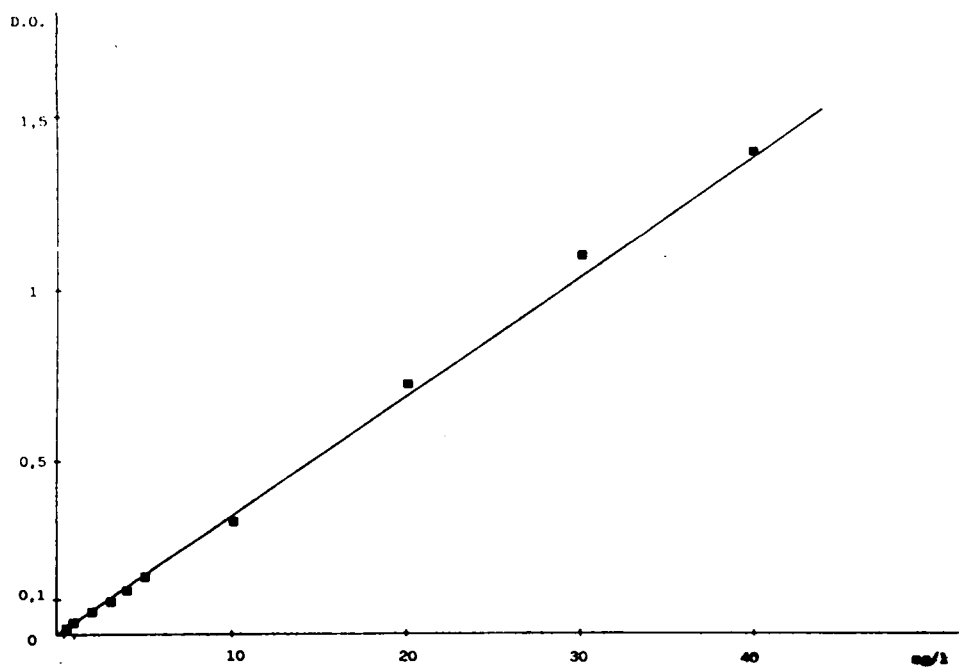


Fig. 3 Recta de calibrado del colorante Azul Omegacromo en medio acuoso.

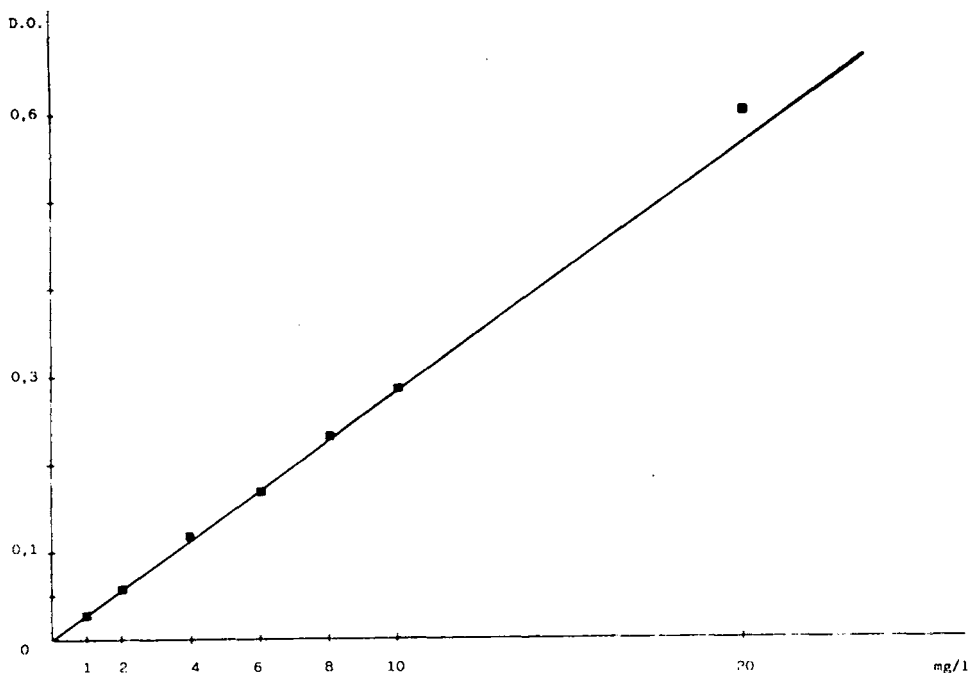


Fig. 4 Recta de calibrado del colorante Azul Omegacromo, en medio metanólico.

L U Z

mg/l	COLORANTE EN AGUA						COLORANTE EN METANOL					
	Tiempo (días)						Tiempo (días)					
	1	5	10	12	16	23	1	5	10	12	16	23
0.5	0.014	0.011	0.015	0.016	0.018	0.014	0.014	0.012	0.013	0.015	0.016	0.016
1	0.027	0.029	0.028	0.023	0.036	0.043	0.028	0.037	0.030	0.032	0.034	0.033
2	0.056	0.052	0.060	0.054	0.060	0.060	0.052	0.045	0.052	0.049	0.041	0.038
3	0.084	0.086	0.090	0.086	0.093	0.094	0.080	0.078	0.079	0.076	0.077	0.078
4	0.117	0.116	0.122	0.116	0.121	0.123	0.115	0.117	0.126	0.125	0.120	0.118
5	0.148	0.144	0.150	0.146	0.152	0.157	0.145	0.144	0.143	0.147	0.147	0.145
10	0.298	0.306	0.319	0.305	0.308	0.299	0.290	0.283	0.286	0.257	0.238	0.211

TABLA 1

D. O. de las soluciones de las rectas de calibrado del colorante Azul Omegacromo, en medio acuoso y orgánico, en presencia de luz y en oscuridad en el transcurso del tiempo.

O S C U R I D A D

	L U Z						O S C U R I D A D					
	1	5	10	12	16	23	1	5	10	12	16	23
0.5	0.019	0.020	0.018	0.019	0.015	0.014	0.015	0.014	0.014	0.015	0.013	0.010
1	0.031	0.028	0.031	0.029	0.029	0.026	0.027	0.028	0.025	0.024	0.023	0.020
2	0.063	0.058	0.060	0.061	0.060	0.057	0.055	0.053	0.053	0.050	0.049	0.045
3	0.092	0.088	0.090	0.088	0.089	0.086	0.090	0.089	0.088	0.084	0.082	0.080
4	0.126	0.129	0.127	0.123	0.122	0.120	0.120	0.117	0.118	0.116	0.115	0.112
5	0.163	0.160	0.165	0.165	0.160	0.158	0.155	0.154	0.153	0.151	0.149	0.147
10	0.328	0.325	0.323	0.324	0.318	0.316	0.316	0.314	0.312	0.311	0.310	0.297

3.3 Toxicidad.

3.31 Tratamiento Agudo

Con el ensayo preliminar hemos podido apreciar que las concentraciones utilizadas no producen mortalidad en un tiempo de 48 horas para dosis de 50, 100, 200, 300 y 400 ppm de colorante.

Mediante el ensayo definitivo podemos ver que la toxicidad del colorante aumenta con la dosis, tal y como se muestra en la Figura 5, en la que se dan los porcentajes de mortalidad respecto de la concentración de colorante en un tiempo de 48 horas, en escala semilogarítmica.

Concentración	%Mortalidad
1000 mg/l	100 %
800 "	80 %
620 "	30 %
500 "	10 %
400 "	0 %

A partir de esta gráfica se calculan los valores de las concentraciones letales (CL) a las 48 horas: CL₀ = 430 mg/l, CL₅₀ = 660 mg/l y CL₁₀₀ = 1000 mg/l.

3.32 Tratamiento Subagudo.

La toxicidad subaguda también aumenta con la dosis como puede verse en la Figura 6, en la que se dan las TL₅₀ (tiempo de tratamiento en el que se da un 50% de mortalidad) en días, para dosis de 660, 430, 215, 132 y 66 ppm de colorante, siendo los TL₅₀ de 2, 4, 7, 9 y 12 días respectivamente.

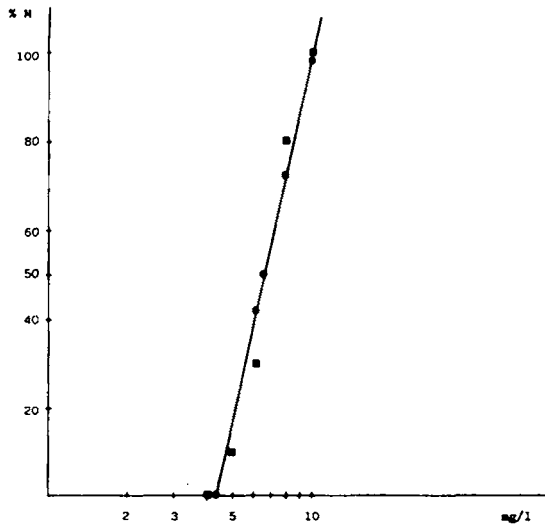


Fig. 5
Porcentaje de mortalidad respecto de la concentración, a las 48 h. de tratamiento.
(■) valores experimentales
(○) valores ajustados

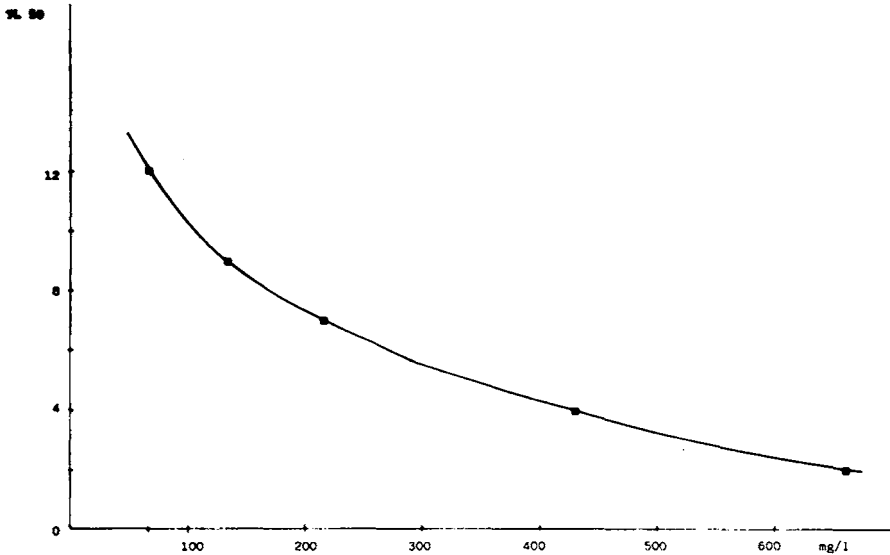


Fig. 6 Valores TL 50 (tiempo de tratamiento en días en el que se da el 50% de mortalidad) para las distintas concentraciones, en el tratamiento subagudo del colorante Azul Omegacromo.

3.4 Acumulación.

En la Tabla 3 se muestran los niveles de colorante Azul Omegacromo en branquias, hígado, pancreas y músculo, para el grupo control y para los grupos tratados con distintas dosis de colorante.

Los niveles de colorante fueron analizados en "pools" en los que los 20 animales vivos de cada grupo tenían aproximadamente el mismo peso (margen de 10-20 g).

TABLA 3

Niveles de colorante expresados en μg de colorante por gramo de peso fresco para los distintos tratamientos.

<u>Organos</u>	<u>mg/l</u>	660	430	215	132	66
<u>Branquias</u>		104.75	231.90	361.51	389.43	446.17
<u>Hígado</u>		12.32	18.0	26.37	29.28	39.14
<u>Páncreas</u>		19.32	26.93	28.41	25.38	23.62
<u>Músculo</u>		5.44	6.87	11.19	11.34	11.53
<u>Duración del trat. en días</u>		2	4	7	9	12

Podemos observar que en todos los órganos de los grupos tratados con distintas dosis de colorante y durante distintos tiempos se produce acumulación en relación a los animales control.

4. DISCUSIÓN.

4.1 Biodegradabilidad.

El conocimiento de las características de biodegradación de un compuesto químico es muy importante para seleccionar posteriormente los ensayos apropiados en vistas a evaluar su posible impacto ambiental⁴⁾. Esto se reconoce por ejemplo en la ley Japonesa de "Control de sustancias químicas" según la cual solamente es necesario proceder a la determinación de la bioacumulación y de la toxicidad en peces, si el producto es poco biodegradable⁵⁾.

Basándonos en esta premisa realizamos el ensayo de "biodegradabilidad inherente". R. ANLIKER²⁾ en un amplio estudio realizado con muchos tipos de colorantes, indica que los colorantes son absorbidos entre el 40-80% por la biomasa y son parcialmente eliminados en plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas.

En nuestro caso hemos obtenido una degradación del colorante Azul Omegacromo del 34 %. Si comparamos la biodegradación de este colorante con la de otros colorantes Omegacromo (resultados no publicados, obtenidos en nuestro laboratorio) podemos decir que hay una característica común a todos ellos, y es que en ninguno se produce una degradación que llegue al 50% a los 14 días.

4.2 Toxicidad

Como aspectos toxicológicos, hemos valorado las toxicidades aguda y subaguda del colorante Azul Omegacromo en la trucha arco iris "Salmo gairdneri".

Un gran número de colorantes presentes en el mercado han sido analizados mediante tests de toxicidad, y se ha encontrado que son ligeramente tóxicos. De los 1.500 colorantes ensayados por R. ANLIKER¹⁾ la mayoría presentaron una CL50 (48 h, en la trucha) superior a 100 ppm, y en algunos casos por encima de 1000 ppm.

La CL50 48 h. del colorante Azul Omegacromo es de 660 ppm, la CL0 48 h. de 430 ppm y la CL100 48 h. de 1000 ppm, en la trucha "Salmo gairdneri". En conclusión, este colorante es ligeramente tóxico y entra dentro de los valores encontrados por ANLIKER. Este resultado difiere bastante de los valores dados por LITTLE-LAMB⁸⁾ cuyas CL50 96 h. en "Pimephales promelas" fueron mayores a 180 ppm en 29 productos, entre 1-180 ppm en 15 productos, e inferiores a 1 ppm

en 2 productos (0,05 ppm Violeta de Metilo y 0,12 ppm Verde Malaquita).

Nuestros resultados con la trucha arco iris "Salmo gairdneri" pueden concordar con valores dados para otras especies, pero no concuerdan con los de "Pimephales promelas".

Existen varias dificultades cuando se intenta generalizar sobre niveles de toxicidad de compuestos químicos en peces. En primer lugar, está el factor especie, puesto que no todas ellas, incluso las más próximas, presentan la misma sensibilidad en idénticas condiciones; en segundo lugar, el medio en que viven, puesto que no poseen el mismo comportamiento las especies marinas que las de agua dulce frente a unos determinados parámetros (por ejemplo la dureza).

En tercer lugar, otro aspecto que explica la gran variedad de muchos resultados descritos en la bibliografía, es la utilización de productos con distintas estructuras químicas, y que no todos ellos presentan el mismo carácter tóxico.

A pesar de que con el tratamiento agudo pueda considerarse que muchos colorantes son ligeramente tóxicos o decirse que los animales son poco sensibles al tóxico, bajas concentraciones pueden tener efectos en el transcurso del tiempo.

Bajo tratamiento subagudo utilizando las dosis de 660, 430, 215, 132 y 66 ppm de colorante Azul Omegacromo, siendo 660 ppm la CL50 48 h., 430 y 215 ppm la CL0 48 h. y la 1/2 de la CL0 48 h., 132 y 66 ppm la quinta y décima parte de las CL50 48 h., se observa aún una toxicidad elevada del colorante para el "Salmo gairdneri". Los TL50 son: 660 ppm 2 días, 430 ppm 4 días, 215 ppm 7 días, 132 ppm 9 días y de 66 ppm 12 días, manteniendo constantes todos los parámetros (T^h, pH, dureza, etc).

A pesar de la cantidad de datos de toxicidad subaguda existentes en la bibliografía, no es posible hacer una comparación con nuestros resultados del tratamiento subagudo, puesto que aquellos se han efectuado generalmente con mamíferos⁶⁾ (ratas, conejos, etc), animales muy distantes de los peces.

4.3. Acumulación.

Puesto que el colorante Azul Omegacromo es poco biodegradable, se ha realizado la determinación de la acumulación de este producto en branquias, hígado, pancreas y músculo de la trucha arco iris "Salmo gairdneri".

Durante el tratamiento subagudo, todos los órganos mostraron acumulación de colorante en relación a los órganos de los animales control.

Los niveles de colorante en branquias mostraron una clara influencia del tiempo, presentando los valores más elevados a los 12 días de exposición (a una

concentración de 66 ppm de producto).

El hígado, al igual que las branquias, pero con niveles menores, también muestra la influencia de la duración de la exposición. Los niveles en el páncreas presentan un pico a los 7 días (a 215 ppm) para luego descender, siendo siempre mayores que en los páncreas control.

En el músculo de los animales expuestos a dosis de colorante de 660, 430 y 215 ppm (2,4 y 7 días de tratamiento) se produce un ligero aumento de los niveles de producto llegando a un valor máximo a los 7 días, permaneciendo este nivel constante en los grupos expuestos a 132 y 66 ppm durante 9 y 12 días respectivamente.

Existen tres posibles vías de entrada de colorante: absorción a través de la superficie del cuerpo, canal de alimentación y branquias.

Las branquias son la vía más importante de entrada de tóxico.

Se ha supuesto que la dosis de contaminante absorbida por los peces es dependiente de la concentración en el agua (excepto en el caso de intoxicación digestiva) y de la duración de la exposición del pez al tóxico⁷⁾.

A pesar de que la absorción esté relacionada con la concentración externa, la concentración en el interior del organismo o en alguna de sus partes, no tiene por qué reflejar en absoluto la del medio circundante. Nuestros resultados indican que un incremento de la concentración de colorante en el medio no implica un aumento de los niveles en los órganos. En las branquias aparece mayor nivel de colorante a las dosis de tratamiento más bajas (66 ppm) pero han tenido un tiempo de exposición al colorante más largo (12 días).

SINGH Y FERNS¹⁰⁾ encontraron que el nivel corporal de ciertos metales (cromo) en la trucha arco iris "*Salmo gairdneri*" aumentaba significativamente hasta los 35 días de tratamiento, luego se mantenía durante algunos días y disminuía al final de la experiencia (70 días). Se alcanzaría un rápido equilibrio entre la tasa de entrada y de salida, y existiría un proceso para regular los niveles corporales dentro de unos límites, aunque se tardaría cierto tiempo para que empezara a funcionar.

En el tratamiento subagudo, teniendo en cuenta lo que ocurre con algunos metales, también podría existir un proceso de regulación de los niveles corporales de colorante. Sin embargo, el tiempo que ha durado el tratamiento es probable que no haya sido suficiente como para que el sistema de regulación se haya puesto en marcha.

5. REFERENCIAS.

- 1) ANLIKER, R. (1977). Color Chemistry and the Environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1,211-237.
- 2) ANLIKER, R. (1979). Ecotoxicology of Dyestuffs - A Joint Effort by Industry. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 3,59-74.
- 3) ANLIKER, R. (1981). Recent Developments Concerning the Ecotoxicology of Dyestuffs. 12th Congress of the International Federation of Associations of Textile Chemists and Colourists, Budapest 10-13 VI 1981.
- 4) CLARKE, E.A., ANLIKER, R. (1980). Organic Dyes and Pigments. The Handbook of Environmental Chemistry, Vol 3/Part A (1980). Edited by O. Hutzinger. Springer-Verlag.
- 5) KUBOTA, Y. (1979). Experience with the chemical Substances control Law in Japan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 3, 256-268 1979
- 6) LEIST, K.H. (1982). Subacute Toxicity Studies of Selected Organic Colorants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 6, 457-463.
- 7) LEYNAUD, G. (1976). Effets toxique des pollutions sur la faune piscicole. *Pollution des eaux continentales*. PESSON P. ed. Gauthier Villars.
- 8) LITTLE, W.L., LAMB, J.C. (1973). Fish bioassay tests. In *Dyes and the Environment*, Vol. 1, Chap. 5. ADMI, New York.
- 9) OECD (1981), GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. Inherent Biodegradability: Modified Zahn-Wellens Test 302 B.
- 10) SINGH, S.M., FERNS, P.N. (1978). Accumulation of heavy metals in Rainbow Trout "Salmo gairdneri" (Richardson) Maintained on a diet containing activated sewage sludge. *J.Fish. Biol.* 13, 277-286.
- 11) SPRAGUE, J.B. (1973). The ABC's of pollutant bioassay using fish. In: *Biological Methods for the Assessment of Water quality*. (J. Cairns and K.L. Dickson eds) American Soc. for testing and Materials Philadelphia Pa. ASTM, STP 528, 6-31.

Recibido: 1987.09.28 Aceptado: 1988.02.12