

Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública

Cyanide residues biotreatment and their relation with public health

Ruth M. Agudelo C¹; Judith Betancur U²; Carmen L. Jaramillo C³.

¹ Ingeniera Sanitaria, magíster en Educación y Desarrollo Comunitario, docente e investigadora de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Correo electrónico: rmagudelo@guajiros.udea.edu.co, rmagudelo123@hotmail.com.

² Bióloga, especialista en Microbiología, Ruhr Universital (Alemania), docente titular del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Correo electrónico: pabetan@une.net.co

³ Estudiante de Biología, Instituto de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Correo electrónico: cjara9@hotmail.com

Recibido: 4 de agosto de 2009. Aprobado: 24 de marzo de 2010

Agudelo RM, Betancur J, Jaramillo CL. Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública. Rev. Fac. Nac. Salud Pública 2010; 28(1): 7-20

Resumen

Objetivo: proponer un biotratamiento para los residuos cianurados generados por procedimientos médico-forenses y a identificar los factores de riesgo procedentes de su manipulación. **Metodología:** los residuos de cianuro, procedentes del Instituto de Medicina Legal, sede Medellín, se caracterizaron según su estado físico y se determinaron su manejo, y los factores de riesgo. Para la degradación de los residuos se realizaron 22 preensayos y 9 bioensayos con *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans* para diferentes concentraciones de cianuro. **Resultados:** se observaron deficiencias en todos los factores de riesgo analizados, siendo el componente químico el que predominó en fuentes de contaminación. En los ensayos de degradación, *Pseudomonas aeruginosa* demostró

un porcentaje de remoción del 87% para una concentración de 50 mg/L y *Thiobacillus ferrooxidans*, un 79% de remoción para una concentración de 500 mg/L. Se realizó una guía técnica para el manejo de los residuos de cianuro. **Conclusiones:** en la evaluación de las rutas del cianuro, desde la incautación hasta su disposición final, se encontró que el Instituto de Medicina Legal no contaba con pautas documentadas sobre la gestión de éstos. Los tratamientos biológicos con bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans* fueron eficientes en la degradación de cianuro.

-----**Palabras clave:** Cianuro, bacterias degradadoras, biotratamiento, riesgos ambientales y ocupacionales

Abstract

Objective: To propose a bio-treatment for cyanide residues generated by medico-legal procedures and to identify risk factors from handling. **Methodology:** cyanide residues, from the Institute of Legal Medicine, Medellín, were characterized by their physical state and identified its management, and risk factors. For the residues degradation 22 pre-essays and 9 bioassays were done with *Pseudomonas aeruginosa* and *Thiobacillus ferrooxidans* at different cyanide concentrations. **Results:** there were failures in all risk factors analyzed, predominating the chemical component which sources of pollution. In studies of degradation, *Pseudomonas aeruginosa* showed a 87% removal

percentage at a concentration of 50 mg / L and *Thiobacillus ferrooxidans*, 79% removal at a concentration of 500 mg / L. We conducted a technical guide for the management of cyanide residues. **Conclusions:** The evaluation of the routes of cyanide from seizure to final disposal, were found that the Institute of Forensic Medicine had no documented guidelines on the management of them. Biological treatment with bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Thiobacillus ferrooxidans* were efficient in the degradation of cyanide.

-----**Key words:** Cyanide, degradation bacteria, environmental and occupational biotreatment risks

Introducción

Los riesgos por contaminación a los que se ven expuestos los seres vivos van en aumento significativo, ya sea por el uso incontrolado de compuestos químicos del sector agrícola y de la industria en general, o por la descomposición incompleta de material orgánico. La acumulación de residuos, las posibilidades de contacto o el comportamiento en el entorno después de su disposición final, incrementan los riesgos y afectan significativamente el ambiente.

El cianuro es un compuesto inorgánico que usualmente se encuentra asociado con otros elementos, formando compuestos como cianuro de hidrógeno o ácido cianhídrico, cianuro de sodio y cianuro de potasio. Algunos de estos compuestos se encuentran en pequeñas cantidades en vegetales que son ingeridos por el hombre en su alimentación y que no llegan a alcanzar concentraciones dañinas para la salud (1).

Los compuestos cianurados han sido empleados en el comercio y en la industria de la galvanoplastia (2), electrólisis de aluminio, producción de fármacos, fibras sintéticas, acerías, química, papel, textil, resinas, minería, medicina, además de fumigación de barcos y revelado fotográfico, entre otros. Los procesos industriales son fuente de contaminación ambiental, liberando al agua o al suelo grandes cantidades de compuestos de cianuro. Sin embargo, dada la alta toxicidad y el efecto inhibitorio sobre la respiración celular, los residuos no pueden ser descargados sin ser sometidos a un tratamiento para reducir su contenido hasta niveles admisibles (2). Se ha reportado que entre 30 y 60 minutos de exposición, la concentración letal por inhalación es de 150 mg/L, mientras que la dosis letal por ingestión es de 2-5 mg/Kg de peso corporal (1).

De otro lado, la exposición breve a altos niveles de cianuro en el aire genera daños cerebrales, cardíacos y puede inducir al coma. Por el contrario, la exposición por largo tiempo a niveles bajos, puede producir dificultad para respirar, dolor coronario, vómito, alteraciones en la sangre, dolor de cabeza y dilatación de la glándula tiroidea. Igualmente, el contacto de la piel con el cianuro, produce irritación y úlceras (3), siendo uno de los riesgos potenciales para las personas que deben manipularlo.

Aunque las concentraciones de cianuro en un medio pueden reducirse en el tiempo por fenómenos de volatilización, precipitación, adsorción y biodegradación mediada por microorganismos nativos (4), numerosas investigaciones se han realizado con el objeto de aplicar metodologías que aseguren la degradación del cianuro o que permitan la detoxificación de desechos y/o efluentes contaminados. Los métodos químicos, además de no garantizar la completa descomposición, implican altos costos y pueden generar efectos no conformes ambientalmente (5).

El cianuro, aunque es altamente tóxico, es de mercado libre. Su uso incontrolado, el almacenamiento y la disposición inadecuada de los residuos, constituye un problema de salud pública y una amenaza para las especies de fauna y flora como consecuencia del vertimiento de relaves al medio.

Los tratamientos biológicos de fuentes contaminadas con cianuro se constituyen en una alternativa eficiente, económica y amigable con el ambiente (6). Muchos autores han documentado la habilidad de ciertos microorganismos para resistir y crecer en cianuro como fuente de nitrógeno y carbono (7). Los métodos de degradación de residuos de cianuro con microorganismos han sido utilizados con éxito por no generar otros productos secundarios tóxicos, como ocurre con muchos de los métodos químicos empleados (8). La degradación microbiana de cianuro y compuestos cianurados es una de las biotecnologías emergentes más importantes de los dos últimos decenios para el proceso de tratamiento y soluciones al problema de desechos en operaciones mineras de metales preciosos. Cientos de especies de plantas y microorganismos (bacterias, hongos y algas) pueden detoxificar cianuro rápidamente hasta niveles ambientalmente aceptables (9).

Los géneros *Thiobacillus* (10) y *Pseudomonas* han sido reportados como degradadores de cianuro siendo este último el más utilizado por su alta diversidad metabólica y capacidad de resistencia a condiciones desfavorables (11). La eficiencia de la degradación depende de factores como la aclimatación progresiva del microorganismo a los niveles de concentración del cianuro, del pH, humedad, tipo de nutrientes y temperatura, factores que son determinantes en la actividad metabólica bacteriana (12-13). *Pseudomonas*, bajo condiciones alcalinas, utilizan el cianuro y lo transforman principalmente en amoníaco (14). Según resultados de algunas investigaciones, los microorganismos aerobios presentan un porcentaje mayor de remoción.

Aplicar un biotratamiento por medio de bacterias para la degradación de estos residuos ayuda a minimizar los riesgos en la salud humana y los efectos negativos al ambiente. En las últimas décadas Brasil, Argentina y Chile, han estado adelantando investigaciones para la descomposición de residuos peligrosos aplicando diferentes biotecnologías (15). En Colombia son muy pocos los estudios que se han desarrollado en este campo. Sin embargo, existen reportes de investigaciones realizadas en la Universidad Nacional (16), sede Medellín, Corporación Universitaria Lasallista (17) y Universidad de Antioquia (18), enfocados principalmente a la degradación de los residuos provenientes de los procesos mineros.

En la ciudad de Medellín, particularmente el río Medellín se ve afectado por los compuestos de cianuro que son descargados al agua en los desechos generados por

la industria o por descargas procedentes del beneficio del oro (19). El decreto 1594 de 1984 y la Resolución 1074 del 28 de octubre de 1997 de la normatividad colombiana, establecen estándares ambientales en materia de vertimientos y determinan que todo vertimiento de residuos líquidos de la red de alcantarillado público a un cuerpo de agua, deberá cumplir con dichos estándares. Para el cianuro, se define un valor máximo permisible de 1.0 mg/L (20).

Para cumplir con las exigencias normativas en el caso de vertimientos, el Instituto Nacional de Medicina Legal, sede Medellín, ha venido trabajando para darle un manejo adecuado a los residuos cianurados que se generan en los procedimientos médico-forenses y en los exámenes post mórtem exigidos en las investigaciones legales por casos de suicidio por ingestión o inyección de cianuro.

El objetivo de esta investigación fue proponer un biotratamiento a los residuos de cianuro acumulados en el Instituto de Medicina Legal, con el fin de minimizar los posibles riesgos para el personal del Instituto por el contacto o inhalación de dicha sustancia y reducir los riesgos potenciales en la salud pública y el impacto ambiental. Para ello se caracterizaron dichos residuos, se realizaron ensayos con bacterias degradadoras de cianuro y se identificaron los factores de riesgo ocupacional y ambiental, dado por la manipulación de cianuro en los laboratorios de toxicología y en la sala de necropsias.

Metodología

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, de corte transversal. Se identificó la situación referente a la manipulación, almacenamiento temporal y disposición final de los residuos cianurados en las áreas de toxicología y sala de necropsias del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Regional Noroccidente, Sede Medellín. Se realizaron ensayos de degradación utilizando métodos biológicos como una alternativa que podrá ser aplicada para disminuir los riesgos generados para el medio ambiente y la salud humana, por este tipo de residuos.

Recolección de la información

Se caracterizaron los residuos de cianuro por su estado sólido o líquido y se determinó el peso en gramos y el volumen en mililitros. Para la identificación de los factores de riesgo ocupacional en cada una de las áreas, se hizo un seguimiento a la generación, rutas y almacenamiento de residuos cianurados. Igualmente se efectuó la descripción de los procedimientos de análisis de laboratorio para los compuestos cianurados y se verificó el uso del equipo de protección que debe ser empleado

por el personal que manipula dichos residuos en la sala de necropsias y en el laboratorio de toxicología. Se determinaron las áreas de mayor riesgo de exposición y se hizo la revisión del panorama de factores de riesgo. Los factores de riesgo ambientales se identificaron por medio de una matriz de identificación de factores de riesgo (21, 22), que se analizó con algunos empleados.

Biodegradación de residuos cianurados

Los aislamientos bacterianos compatibles con *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans*, fueron proporcionados por el laboratorio de Microbiología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia. Se realizaron pruebas bioquímicas específicas para ambas bacterias con el fin de confirmar su determinación (23). Para establecer las mejores condiciones de crecimiento, se realizaron pruebas preliminares de adaptación (24).

Preensayos: Acondicionamiento de las bacterias a las diferentes concentraciones de cianuro

Para cada aislado bacteriano se realizaron pruebas de sensibilidad o resistencia al cianuro y se evaluó su permanencia y actividad metabólica a diferentes concentraciones. Poblaciones de 1×10^6 de cada aislado bacteriano se expusieron a 11 concentraciones diferentes de cianuro (0.001 a 10.000 mg/L en agua destilada). Para observar la viabilidad y persistencia durante 14 días a temperatura ambiente, cada 24 horas se hizo placa húmeda y siembra en superficie de agar específico, con el fin de determinar su movilidad y crecimiento. Como referencia se tomó un control positivo del crecimiento de cada aislado, sin cianuro.

Bioensayos: Pruebas con diferentes sustratos y concentraciones de cianuro.

Para los ensayos de degradación del cianuro, las variables utilizadas fueron pH, temperatura y tiempo. Se emplearon tres sustratos diferentes: bebida de naranja con pH entre 4 y 5, bebida de cola con pH entre 6 y 7 y agua embotellada con pH entre 8 y 10, a los cuales se les adicionó cianuro en concentraciones de 50, 200 y 500 mg/L y 1 ml de cultivo de cada una de las bacterias evaluadas con una concentración de 1×10^6 . La temperatura de incubación fue de 36°C y las lecturas se realizaron a los 8 y 15 días después de iniciado el bioensayo. Se midió pH final, concentración final de cianuro y se hizo placa húmeda.

Mediciones de cianuro: Cromatografía de gases con detector de Nitrógeno- Fósforo (NPD)

Se utilizó un cromatógrafo de gases CG Agilent Technologies® 6840 plus con detector de microcaptura de elec-

trones. Columna Agilent® 19091J-433, 325 °C máximo, HP-5 5% phenyl-Methyl Siloxane. 30mx250µmx0.25µm. Inyector automático, Split/Splitless. Temperatura del inyector, 290 °C. Gas de arrastre, Helio. Presión gas de arrastre, 27,30 psi. Gas auxiliar para Detector Nitrógeno (N₂) a 30 mL / min. Temperatura del detector, 300 °C.

Como reactivo se utilizó una solución estándar de cianuro (1000 mg/L), agua destilada, acetonitrilo, hidróxido de sodio, ácido acético.

Como control positivo se utilizó 1ml de muestra con cianuro y como control negativo 1ml de muestra libre de cianuro.

Resultados y discusión

Inventario y caracterización de los residuos de cianuro

Los residuos cianurados almacenados desde 1998 en el Instituto de Medicina Legal, sede Medellín, totalizaron 9458,71 Kg y 1603 ml. La presentación de dichos residuos en estado sólido se encontró básicamente en polvo y en briquetas en forma pura. En dilución, sólo el 1% del total inventariado, se encontró en agua, bebida de cola, bebida de naranja y diferentes licores. De otro lado, se encontró, cianuro de sodio y de potasio en contenedores plásticos, de vidrio y en bolsas plásticas.

Factores de riesgos ocupacionales

Rutas y almacenamiento del cianuro, análisis cualitativos de laboratorio

En el Instituto de Medicina Legal, el procedimiento en casos de muerte por ingestión de cianuro es el siguiente:

- 1) Incautación en el lugar de los hechos de muestras que se presume contienen cianuro;
- 2) traslado de las muestras y el cadáver a la sala de la morgue;
- 3) necropsia y registro, para identificación del caso;
- 4) estudio analítico de las muestras en el laboratorio de toxicología, utilizando tirillas de papel filtro impregnadas con sulfato de cobre, adición de solución de Benzidina en etanol y exposición a los vapores de cianuro, o el empleo de ácido Pírico en Carbonato de Sodio y
- 5) pruebas de micro difusión para muestras biológicas, reveladas a través de la reacción de óxido reducción con ácido Barbitúrico y Piridina.

En el laboratorio de toxicología se tenían las muestras en un estante para almacenamiento provisional, que no cumplía con las mínimas características de seguridad y señalización para este tipo de residuos. En dicho lugar permanecían hasta definir su disposición final, una vez esclarecido el caso. La cadena de custodia duraba generalmente seis meses, como un tiempo de espera en caso de que fuera necesario retomar el caso y hacer nuevos análisis.

Para los cianuros que llegaban mezclados en alimentos sólidos, sólo se tomaba una pequeña muestra y el resto se entregaba a la ruta hospitalaria (de recolección y disposición final de desechos), marcados previamente como residuos cianurados.

El Laboratorio de Medicina Legal de Medellín es un laboratorio regional al que remiten muestras las seccionales Córdoba, Sucre, Chocó y las 14 unidades locales. Las muestras, que en su mayoría correspondían a casos de suicidio, eran recolectadas por la Fiscalía y el Cuerpo Técnico de Investigación en el lugar de los hechos. Luego de marcarlas especificando el contenido, las muestras eran enviadas en bolsas plásticas, la mayoría de las veces no adecuadas, junto con la documentación del levantamiento. Los análisis respectivos se hacían a submuestras y a la sangre o contenido gástrico que enviaba el patólogo encargado de la necropsia.

Luego de la descripción del manejo del cianuro, se identificaron los siguientes riesgos potenciales mediante el análisis del panorama de factores de riesgo ocupacionales (tabla 1).

- 1) En la recepción y almacenamiento de muestras se encontraron la mayor cantidad de factores de riesgo, tales como: presencia de gases y vapores generados por el material líquido y particulado de las muestras para el análisis, iluminación inadecuada, falta de ventilación y de señalización en las áreas de procedimiento;
- 2) Los factores de riesgo ocupacionales en la manipulación de los residuos de cianuro analizados por área de servicio fueron: físicos, químicos, ergonómicos y locativos, siendo el riesgo químico el más alto, dadas las consecuencias que podían sufrir los empleados, desde intoxicaciones leves hasta muerte;
- 3) Se encontró que las áreas de recepción, sala de necropsias y laboratorio de toxicología fueron las más expuestas a los residuos de cianuro y los de mayor riesgo ocupacional. En el área de cromatografía gaseosa se hallaron riesgos ocupacionales de menor proporción y en las demás áreas no se observaron riesgos de trascendencia para la investigación;
- 4) El almacenamiento de los residuos cianurados se pudo calificar como de alto riesgo, debido a que no cumplía con las características mínimas para este tipo de compuestos altamente tóxicos.

Algunos de los riesgos descritos en la tabla 1 fueron ocasionados por falta de espacios adecuados para un almacenamiento seguro intermedio, temporal y final de los residuos de cianuro. Los demás factores de riesgo pueden disminuirse con una mejor capacitación al personal encargado de la gestión de los residuos y la concientización sobre el alto grado de peligrosidad de los mismos.

Debido a limitaciones técnicas, no fue posible valorar la exposición ambiental de cianuro, por lo que no se determinó si había presencia de esta sustancia en el ambiente

Tabla 1. Factores de riesgo ocupacionales observados por la manipulación de residuos cianurados en tres laboratorios de Medicina Legal de Medellín

Clase de riesgo	Factor de riesgo	Área de servicio	Fuente del factor de riesgo	Métodos de control	Posibles consecuencias
Físico	Ventilación inadecuada	Sala de necropsias Toxicología Almacenamiento del cianuro Cromatografía gaseosa	Pocas corrientes de aire, debido a lo encerrado del lugar.	Extractor Campanas de extracción Ventanas con celosías	Aumento de la temperatura Mayor contaminación en general
Físico	Iluminación inadecuada	Toxicología Sala de necropsias Recepción e información Almacenamiento del cianuro	Lámparas mal ubicadas Falta mayor número de lámparas Lámparas defectuosas	Mantenimiento preventivo y correctivo	Dolor de cabeza Dificultad para el análisis
Químico	Gases y vapores	Sala de necropsias Recepción e información Toxicología Cromatografía gaseosa Almacenamiento del cianuro	Cuerpos intoxicados con cianuro Posibles muestras con cianuro para el análisis Derrames de residuos de cianuro	Uso de protección personal Utilización de campanas de extracción Mascarillas Aseo y orden	Afecciones respiratorias
Químico	Material particulado	Recepción e información Toxicología Almacenamiento de cianuro	Posibles muestras para el análisis de laboratorio	Mascarilla desechable	Afecciones respiratorias
Químico	Líquidos	Recepción e información Toxicología Almacenamiento de cianuro	Muestras para el análisis de laboratorio Reactivos químicos y solventes	Utilización de guantes Campanas de extracción Mascarillas	Irritación Quemaduras Intoxicación por penetración dérmica
Ergonómico	Posiciones inadecuadas	Almacenamiento del cianuro	Mal uso de la mecánica corporal	Sitios de almacenamiento adecuados	Patología lumbar
Locativo	Espacios reducidos e inadecuados	Almacenamiento del cianuro	Gran cantidad de residuos mal almacenados	Sitios de almacenamiento adecuados para estos residuos	Discomfort Golpes
Locativo	Falta señalización y demarcación	Recepción e información Toxicología Sala de necropsias Almacenamiento del cianuro	Poca información sobre el riesgo del área Falta señalización del peligro de los residuos de cianuro	Señalización de peligro Información sobre el grado de peligrosidad del cianuro Lugares de almacenamiento demarcados	Posibles intoxicaciones por contaminación con residuos de cianuro
Locativo	Falta orden y aseo	Sala de necropsias Toxicología Almacenamiento del cianuro	Lámparas y campanas de extracción sucias Residuos de cianuro derramados por mal almacenamiento	Mantenimiento periódico Limpieza y orden de los lugares de almacenamiento	Intoxicación por contacto
Locativo	Almacenamiento inadecuado	Almacenamiento de residuos de cianuro	Lugares adecuados para el almacenamiento de los residuos de cianuro	Acondicionar lugar para almacenar los residuos de cianuro	Intoxicación por contacto con los residuos

Fuente: Información complementada con el panorama de factores de riesgo, 2005

en determinado momento, lo cual podía implicar mayor riesgo para la salud de los empleados. Se debe tener en cuenta que el cianuro es un compuesto altamente tóxico, particularmente en su forma gaseosa, y que aún en concentraciones pequeñas puede causar intoxicaciones.

Riesgo ambiental

Se observó el impacto ambiental en el suelo, el agua y los seres humanos, por medio de la matriz de identificación de factores de riesgo ambiental, cuyo resultado se observa en la tabla 2.

De las áreas analizadas, la sala de necropsias y laboratorio de toxicología, presentaron derrame al suelo, contaminación de mesas, de cubetas en procesos de lavado de cuerpos y toma de muestras, lavado de instrumentos y almacenamiento parcial. Además se encontró vertimiento al alcantarillado de aguas contaminadas con cianuro.

Se observó que durante los procedimientos con cianuro en las áreas evaluadas se puede presentar volatilización de este compuesto. Además, las muestras entregadas a la ruta de desechos hospitalarios no pasaban por un tratamiento previo y tenían la misma disposición final de los demás desechos, aportando un riesgo adicional al ambiente por la posible volatilización del cianuro a la atmósfera.

En todas las áreas evaluadas, las personas entraban en contacto o inhalaban cianuro porque en ocasiones no cumplían con los requerimientos mínimos de protección para la manipulación y realización de análisis de estos residuos.

Como se puede observar, el riesgo ambiental era alto, afectando no sólo las instalaciones del Instituto sino también las aguas del río Medellín, por los vertimientos de aguas contaminadas con cianuro, con lo cual se incumplen los estándares establecidos en el decreto 1594 de 1984 (20). Adicionalmente, los derrames continuos de residuos cianurados constituyen un riesgo de contaminación, dado que éstos permanecen en el agua por un largo tiempo y se volatilizan a la atmósfera (9).

Preensayos de degradación de cianuro con un aislado compatible con *Pseudomonas aeruginosa*

Los resultados de los preensayos para determinar la viabilidad y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* en diferentes concentraciones de cianuro durante 14 días, se presentan en la tabla 3.

Los resultados mostraron viabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* para las concentraciones entre 0,001 y 500 mg/L, durante los 14 días del ensayo. Se demostró resistencia de la bacteria al cianuro y mediante placa húmeda se comprobó que la bacteria es activamente móvil durante todo el tiempo. A concentraciones de 1000 mg/L la viabilidad sólo se detectó durante los cuatro primeros días; a concentraciones de 10.000 mg/L, sólo duran-

te dos días y para concentraciones de 100.000 mg/L la sensibilidad de la bacteria fue notoria, dado que no se presentó crecimiento y las observaciones hasta el día 14 no mostraron recuperación de la bacteria.

Preensayos de degradación de cianuro con un aislado compatible con *Thiobacillus ferrooxidans*

Los resultados de los preensayos para determinar la viabilidad y resistencia de *Thiobacillus ferrooxidans* en diferentes concentraciones de cianuro durante 14 días, se presentan en la tabla 4.

Los resultados indican viabilidad de *Thiobacillus ferrooxidans* para las concentraciones entre 0,001 y 500 mg/L, durante los 14 días del ensayo, lo anterior muestra resistencia al cianuro y mediante placa húmeda se comprobó que la bacteria es activamente móvil durante todo el tiempo. A concentraciones de 1000 mg/L la viabilidad sólo se observó durante los seis primeros días y a concentraciones de 10.000 mg/L, se dio durante cuatro días únicamente. Para concentraciones de 100.000 mg/L la sensibilidad de la bacteria fue notoria, dado que no se observó crecimiento y las observaciones hasta el día 14 no mostraron recuperación de la bacteria.

En pruebas realizadas con *Pseudomonas fluorescens* (16), se obtuvieron resultados similares a los ensayos realizados con *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans*, donde se observa una notable sensibilidad de estas especies al cianuro en concentraciones por encima de 1000 mg/L.

Bioensayos

Resultados de la eficiencia en la degradación de cianuro

Para todos los bioensayos de degradación de cianuro realizados con *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans*, en los sustratos agua y naranjada el pH no varió significativamente, mientras que la bebida de cola el pH pasó de valores neutros a valores ácidos (tablas 5, 6, 7 y 8).

Degradación de cianuro por *Pseudomonas aeruginosa* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, para concentraciones entre 50 y 500 mg/L, en un periodo de ocho días

Para las concentraciones mínima (50 mg/L) y máxima (500 mg/L) de cianuro utilizadas, los resultados de las pruebas de degradación con *Pseudomonas aeruginosa* demostraron una eficiencia del 82% y del 40% respectivamente, en la bebida de cola. Para el agua la eficiencia fue de 43% y 25%, en tanto que para naranjada los porcentajes de eficiencia fueron los menores con un 30% para la mínima concentración de cianuro y 20% para la máxima (figura 1).

Tabla 2. Matriz de identificación de factores de riesgo ambiental

Acciones del hombre que pueden afectar el medio ambiente										
Factores ambientales	Entrada					Procesos				Laboratorio
	Morgue	Recepción	Sala de necropsias	Toma de la muestra	Análisis	Lavado de instrumentos	Almacén			
							Parcial	Final		
Suelo	Derrame al suelo	+	-	+	+	-	-	+	-	
	Contaminación de mesas	-	-	+	+	-	-	-	-	
	Contaminación de pocetas de lavado	-	-	-	+	-	-	+	-	
	Contaminación de cubetas	-	-	+	+	-	-	-	-	
Agua	Derrame al alcantarillado	+	-	+	+	-	-	+	-	
	Vertimiento de las muestras directamente al alcantarillado	+	-	+	+	-	-	+	-	
Aire	Volatilización	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Toma inapropiada de la muestra	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Rotulación deficiente	-	-	-	+	-	-	-	-	
Humana	Contacto con personas	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Inhalación del compuesto	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Contaminación de elementos de protección	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Altera condiciones ambientales internas	+	+	+	+	+	+	+	+	
Afecta la calidad de vida	+	+	+	+	+	+	+	+		

Fuente: adaptada de la matriz de Leopold. LB, Clark FE, Hanshaw BB, Balsje JR. A (26)

Tabla 3. Crecimiento y viabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* en diferentes concentraciones de cianuro

Concentraciones de cianuro (mg/L)	Control positivo	Días de crecimiento													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.000	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.000	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100.000	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Viabilidad - No viabilidad

Tabla 4. Crecimiento y viabilidad de *Thiobacillus ferrooxidans* en diferentes concentraciones de cianuro

Concentraciones de cianuro (mg/L)	Control positivo	Días de crecimiento													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.000	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.000	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100.000	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

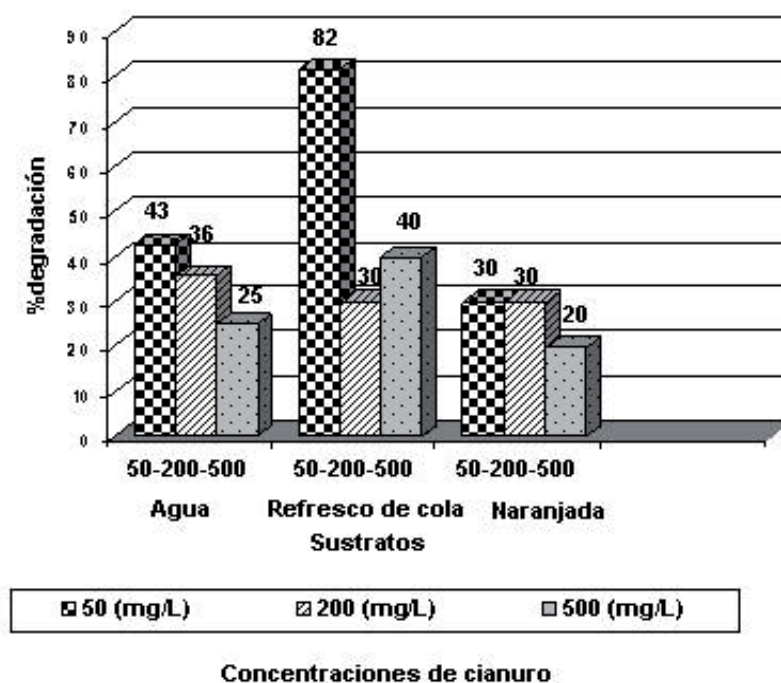


Figura 1. Porcentaje de degradación de cianuro por *Pseudomonas aeruginosa* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada para concentraciones 50, 200 y 500 mg/L, en ocho días

Tabla 5. Eliminación de cianuro y variación del pH en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en ensayos de degradación con *Pseudomonas aeruginosa* durante ocho días

	Concentración inicial de cianuro en p.p.m	pH Inicial	pH Final	Concentración final de cianuro en p.p.m	Eliminación (%)
Agua	50	10	10	14,2	43
	200	11	10	16,1	36
	500	11	10	18,8	25
Bebida de cola	50	6	4	4,6	82
	200	7	5	17,5	30
	500	7	5	15,1	40
Naranja	50	4	5	17,5	30
	200	5	5	17,5	30
	500	5	4	20,0	20

Eficiencia en la degradación de cianuro por *Pseudomonas aeruginosa* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en un período de 15 días

Para las concentraciones mínima (50 mg/L) y máxima (500 mg/L) de cianuro utilizadas, los resultados de las pruebas de degradación con *Pseudomonas aeruginosa* demostraron una eficiencia del 87% y del 50% respectivamente, en bebida de cola. Para el agua la eficiencia fue de 50% y 35%, en tanto que para naranjada los porcentajes de eficiencia fueron los menores con un 40%

para la mínima concentración de cianuro y 35% para la máxima (figura 2). En el período de 15 días, aumenta el porcentaje de degradación de cianuro por *Pseudomonas aeruginosa*.

En los dos tiempos de degradación evaluados (8 y 15 días), la actividad degradadora de *Pseudomonas aeruginosa* fue mayor en concentraciones bajas de cianuro, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Adjei y Ohta (25) para una cepa de *Pseudomonas cepacia* y por Patil y Paknikar (26) para un consorcio bacteriano que incluía varias especies de *Pseudomonas*.

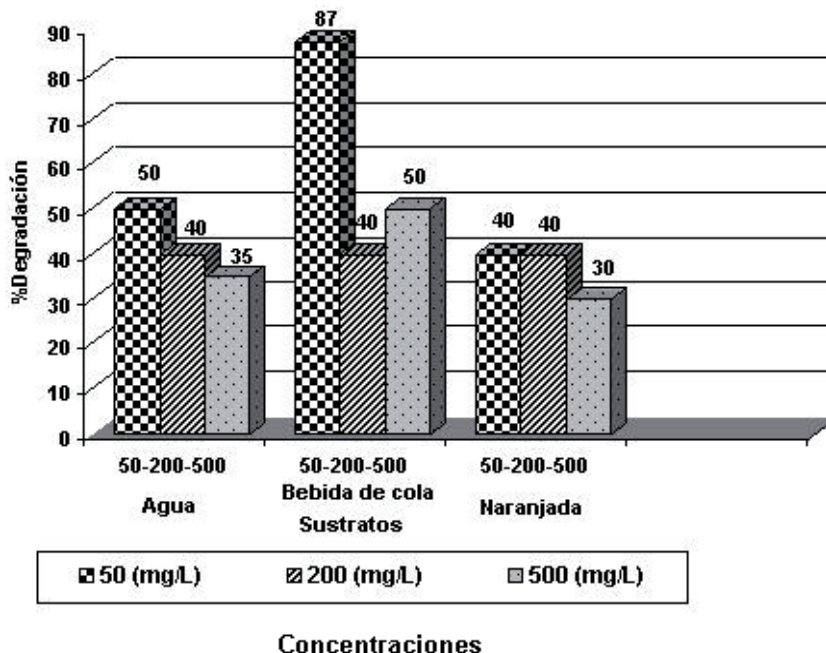


Figura 2. Porcentaje de degradación de cianuro por *Pseudomonas aeruginosa* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada para concentraciones 50, 200 y 500 mg/L, en 15 días

Tabla 6. Eliminación de cianuro y variación del pH en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en ensayos de degradación con *Pseudomonas aeruginosa* durante 15 días

	Concentración inicial de cianuro en p.p.m	pH Inicial	pH Final	Concentración final de cianuro en p.p.m	Porcentaje (%) de Eliminación
Agua	50	10	10	16,5	50
	200	11	11	17,8	40
	500	11	10	25,9	35
Bebida de cola	50	6	5	4,8	87
	200	7	4	23,3	40
	500	7	5	18,8	50
Naranja	50	4	4	23,3	40
	200	5	4	23,3	40
	500	5	5	35,0	35

Eficiencia en la degradación de cianuro por *Thiobacillus ferrooxidans* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en un período de ocho días

Para las concentraciones mínima (50 mg/L) y máxima (500 mg/L) de cianuro utilizadas, los resultados de las pruebas de degradación con *Thiobacillus ferrooxidans* en bebida de cola, demostraron una eficiencia del 20% y del 60% respectivamente; en agua, la eficiencia fue

del 20% y del 40% y en naranjada, fue del 30% y del 20% (figura 3).

Eficiencia en la degradación de cianuro por *Thiobacillus ferrooxidans* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en un período de 15 días

Para las concentraciones mínima (50 mg/L) y máxima (500 mg/L) de cianuro utilizadas, los resultados de las

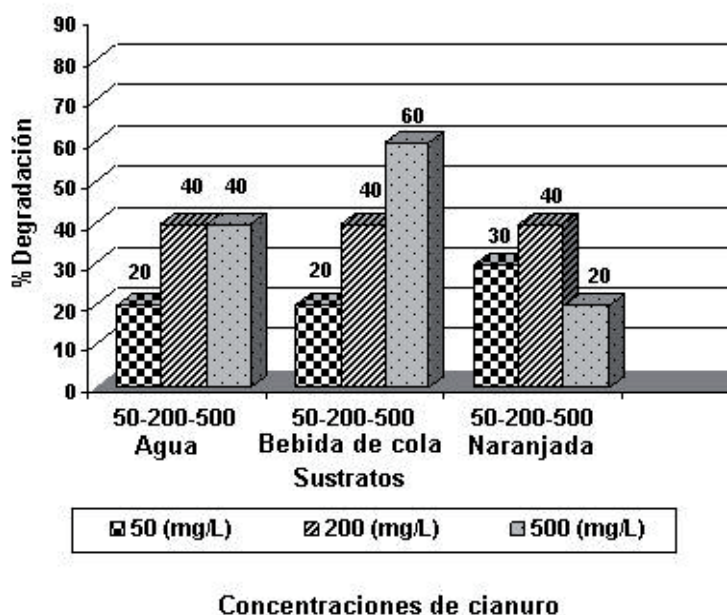


Figura 3. Porcentaje de degradación de cianuro por *Thiobacillus ferrooxidans* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada para concentraciones 50, 200 y 500 mg/L, en ocho días

Tabla 7. Eliminación de cianuro y variación del pH en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en ensayos de degradación con *Thiobacillus ferrooxidans* durante ocho días

	Concentración inicial de cianuro en p.p.m	pH Inicial	pH Final	Concentración final de cianuro en p.p.m	Porcentaje (%) de Eliminación
Agua	50	8	8	8,9	20
	200	10	9	15,4	40
	500	10	10	10,1	40
Bebida de cola	50	6	5	15,0	20
	200	7	4	8,8	40
	500	7	3	3,94	60
Naranja	50	4	4	7,1	30
	200	5	4	8,8	40
	500	5	5	11,0	20

pruebas de degradación con *Thiobacillus ferrooxidans* en bebida de cola, demostraron una eficiencia del 25% y del 79% respectivamente; en agua, la eficiencia fue del 36% y del 50% y en naranjada, fue de 51% y del 31% (figura 4). En el período de 15 días, aumenta el porcentaje de degradación de cianuro por *Thiobacillus ferrooxidans*.

En los dos tiempos de degradación evaluados (8 y 15 días), la actividad degradadora de *Thiobacillus ferrooxidans* fue mayor en concentraciones altas de cianuro y disminuyó en concentraciones bajas.

Conclusiones

- En los últimos ocho años de almacenamiento de residuos cianurados en el Instituto, fueron acumulados 9458,71 kg en polvo y briquetas y 1603 mililitros diluidos principalmente en agua, bebida de naranjada y bebida de cola.
- Los residuos cianurados procedían fundamentalmente del estudio de casos por suicidio de las Seccionales Córdoba, Sucre y Chocó y de 14 unidades locales.

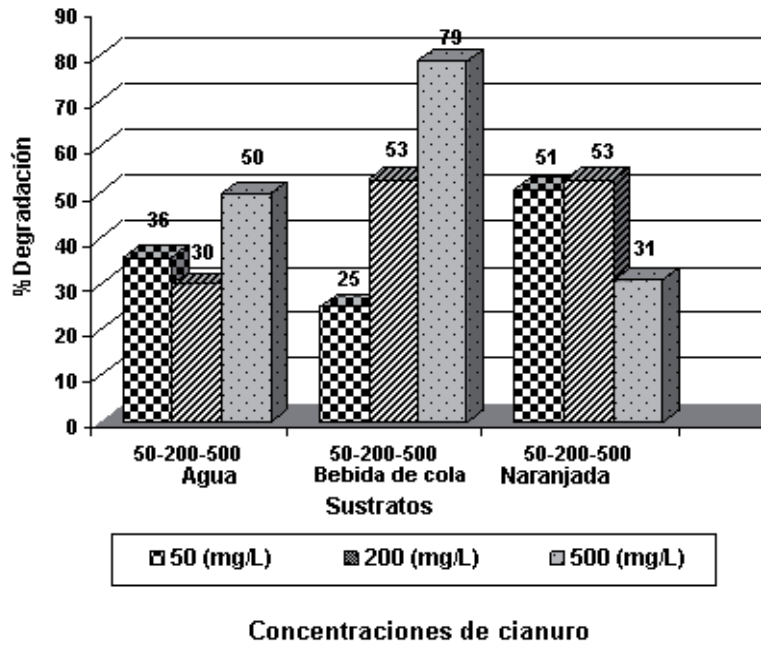


Figura 4. Porcentaje de degradación de cianuro por *Thiobacillus ferrooxidans* en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada para concentraciones 50, 200 y 500 mg/L, en 15 días

Tabla 8. Porcentaje de eliminación de cianuro y variación del pH en los sustratos agua, bebida de cola y naranjada, en ensayos de degradación con *Thiobacillus ferrooxidans* durante 15 días

	Concentración inicial de cianuro en p.p.m	pH Inicial	pH Final	Concentración final de cianuro en p.p.m	Porcentaje (%) de Eliminación
Agua	50	8	8	16,0	36
	200	10	9	11,6	30
	500	10	9	12,6	50
Bebida de cola	50	6	4	18,8	25
	200	7	3	11,7	53
	500	7	5	5,2	79
Naranja	50	4	3	12,2	51
	200	5	5	11,7	53
	500	5	4	17,2	31

- Se observó que el almacenamiento de los residuos cianurados no cumplían las normas mínimas de seguridad.
- No se realizaba ningún tratamiento para la disposición final del residuo cianurado, procedente de los procesos médico legales.
- La ruta hospitalaria de residuos especiales era la encargada de la recolección de los residuos cianurados que llegaban mezclados con alimentos sólidos, una vez se tomaba la muestra para el análisis.
- Los factores de riesgo detectados en los procesos de recepción de muestras, análisis y almacenamiento de las mismas, fueron: iluminación inadecuada, poca ventilación, ausencia de sistemas de protección para los gases y vapores generados y falta de señalización en las áreas de procedimiento.

- En el análisis de los factores de riesgo ocupacionales, el componente químico predominó con mayor número de fuentes de contaminación.
- Las áreas de mayor riesgo por residuos cianurados fueron: recepción, sala de necropsias y laboratorio de toxicología.
- *Pseudomonas aeruginosa* se comportó como una bacteria eficiente en el proceso de degradación del cianuro, con un porcentaje de remoción del 87% en 15 días, a una concentración de 50 mg/L.
- La eficiencia en la degradación del cianuro por *Thiobacillus ferrooxidans* fue de 79% en 15 días, a una concentración de 500 mg/L.
- A medida que aumentó el tiempo de exposición de las bacterias sobre los residuos cianurados, la eficiencia de degradación fue mayor.
- Los resultados mostraron que la eficiencia del biotratamiento aplicado es significativa en un tiempo relativamente corto.
- El biotratamiento ofrece condiciones importantes en su aplicación como son: bajo costo, espacio reducido y una sencilla infraestructura.
- El empleo del tratamiento biológico ayuda a minimizar el riesgo potencial de salud ocupacional de los empleados y los efectos negativos al ambiente.
- Es viable aplicar un tratamiento biológico con *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans* para la degradación de los residuos cianurados generados en instituciones que manejen este tipo de residuos.

Recomendaciones

Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio, se hacen las siguientes sugerencias para el manejo de residuos cianurados:

- Realizar una clasificación cualitativa y cuantitativa de los residuos de cianuro con el fin de hacer una adecuada identificación y segregación de los mismos.
- Destinar lugares seguros para el almacenamiento de los residuos de cianuro, cumpliendo con las especificaciones requeridas.
- Mantener actualizado el panorama de factores de riesgo con relación al cianuro y aplicar la normatividad vigente.
- Realizar nuevos ensayos con las bacterias estudiadas, empleando otras variables que permitan aumentar la eficiencia en la degradación de los residuos cianurados.
- Realizar ensayos con conjugados bacterianos, con el fin de determinar si la remoción es más eficiente.
- Capacitar al personal encargado de la gestión de los residuos en la identificación de los factores de riesgo de alto grado de peligrosidad.

Agradecimientos

Los investigadores expresan su agradecimiento al Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Regional Nor-occidente Sede Medellín, por haber facilitado el apoyo logístico en el desarrollo de la investigación, especialmente al Químico Jorge Fredy Arias, por su colaboración en los análisis químicos.

Al Laboratorio de Microbiología, del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia, por el suministro de recursos en la realización del proyecto.

Al Centro de Investigaciones de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia, por la financiación.

Al grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental - GAIA -, particularmente a la Bióloga Magda Rodríguez López.

Referencias

- 1 Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades. Reseña Toxicológica de Cianuro: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública. Atlanta: ATSDR; 2006. p. 81.
- 2 Dumestre A, Chone T. Cyanide degradation under alkaline conditions by a strain of *Fusarium solani* isolated from contaminated soils. *Applied and environmental microbiology* 1997; 63(7):2729-2734
- 3 Center for disease control and prevention. Emergency preparedness and response: Facts about cyanide. Atlanta: Department of Health and Human Services; 2004.
- 4 Akcil A. Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria *Pseudomonas* sp. *Mineral Engineering* 2008; 16(7):643-649.
- 5 Sharma V. Oxidation of aqueous cyanide. *Environ Sci Technol* 1998; 32:2608-2613.
- 6 Akcil A. Destruction of cyanide in gold mill effluents: Biological versus Chemical Treatment. *Biotechnology Advances* 2003; 21(6):501-511.
- 7 Kunz D, Chen J. Accumulation of α -keto acids as essential components in cyanide assimilation by *Pseudomonas*: *Applied and environmental microbiology* 1998; 64: 4452-4459.
- 8 Bellini M. Degradación microbiana de Cianuros. [Tesis maestría] San Juan: U.N.; 2001. p. 82-87.
- 9 Akcil A, Mudder T. Microbial destruction of cyanide wastes in gold mining: process review. *Biotechnology Letters* 2003; 25:445-450.
- 10 Montoya C. Estudio de la contaminación por cianuro (NaCN) de las Plantas de Tratamiento de Minerales Auríferos en el Municipio de Segovia y Biorremediación de Arenas contaminadas. [Tesis maestría] Medellín: Universidad de Antioquia, 2001. p. 45-51.
- 11 Oudjehani K. Natural attenuation potential of cyanide in microbial activity in mine tailings. *Applied microbiology and biotechnology* 2002; 58:409-415.
- 12 Nutt SG. Treatment of coke plant wastewater in the coupled pre-denitrification fluidized bed process. West Lafayette: Purdue University, 1992. p.7.
- 13 Wang C, Kunz D, Venables B. Incorporation of molecular oxygen and water during enzymatic oxidation of cyanide by *Pseudomonas*. *Applied and environmental microbiology* 1996; 62:2195-2197.
- 14 Luque V. Alkaline cyanide biodegradation by *Pseudomonas*. *Biochemical society transactions* 2003; 33:168-169.

- 15 Guerrero J. Biotecnología en la Disolución y Recuperación de Metales. En: Primer Congreso Peruano de Biotecnología y Bioingeniería; Trujillo 12 al 15 de Noviembre de 1998. Trujillo: sociedad peruana de biotecnología, 1998.
- 16 Restrepo O, Montoya C, Muñoz N. Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de *Pseudomonas fluorescens*. *Dyna Universidad Nacional Colombia* 2006; 73(149):46-51.
- 17 Garcés A, Agudelo L, Macías K, Salinas N. Aislamiento de consorcios de microorganismos degradadores de cianuro. *Revista Lasallista de investigación* 2006; 3(1):7-12.
- 18 Agudelo J, Betancur J, Martínez W, Castañeda C, Castaño M, Largo R. Biolixiviación de minerales sulfurosos. *Revista Facultad de ingeniería U de A* 2002; (27):110-22.
- 19 Instituto Mi Río. Regional de Antioquia. Perfil ambiental del Río Medellín. Medellín: Inderena; 1995. p. 12 – 39.
- 20 Colombia. Unidad de resistencia técnica ambiental. Resolución No. 1074, 28 octubre 1997. Bogotá: Acercar ADAMA; 2003.
- 21 Leopold L, Clark F, Hanshaw B, Balsley J. A procedure for evaluating environmental impact. US Geological sarvery circular 645, D.I. Washington; 1971.
- 22 Figueroa C, Contreras R, Sánchez J. Evaluación de impacto ambiental: un instrumento para el desarrollo. Centro de estudios ambientales para el desarrollo regional CEADES. Cali: Corporación Autónoma de Occidente; 1998. p. 89-90.
- 23 MacFaddin J. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2003. p. 632-634.
- 24 Apha-American Public Health Association. Standard methods for the examination for water and wastewater. 20th ed, Washington; AWWA; WPCF; 2002.
- 25 Adjei M, Ohta Y. Isolation and characterization of a cyanide-utilizing *Burkholderia cepacia* strain. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 1999; 15:699-704.
- 26 Patil Y, Paknikar K. Development of a process for biot detoxification of metal cyanides from wastewaters. *Process Biochemistry* 2000; 35: 1139–1151.