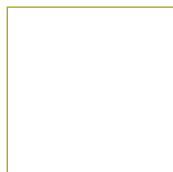


# Cobre, Medio Ambiente y Salud

## Aportes de la Ciencia

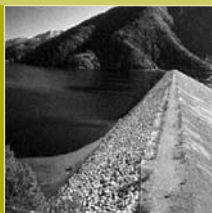


Editado por

Juan Carlos Torres P.

Instituto de Innovación en Minería y Metalurgia, IM2





2005

## El Contexto

Cobre y Salud Humana: Desafío Estratégico Presente y Futuro para Chile

El Escenario Regulatorio Ambiental en Europa: Oportunidades y Desafíos para la Industria del Cobre

## La Investigación

Importancia del Cobre en la Nutrición Infantil

Efectos Agudos del Cobre en el Ser Humano

Desequilibrios Genéticos en la Homeostasis de Cobre

El Pez Cebra como Modelo para el Estudio de la Homeostasis del Cobre

Cobre y Excitabilidad Neuronal: Una Mirada a Tres Niveles

Exposición Humana a Cobre en Agua Potable

Las Propiedades Antimicrobianas del Cobre y sus Aplicaciones Potenciales como Material Higiénico

Modelo del Ligando Biótico: Principios y Validación en Aguas Superficiales Chilenas

Techos de Cobre y Toxicidad de Aguas Lluvia

Biodisponibilidad de Metales y Efectos Ambientales del Cobre en Suelos Agrícolas

Incorporación de Desechos y Productos de la Minería del Cobre a Suelos: Biodisponibilidad y Efectos sobre Cultivos

## CONTENIDOS

### *Prólogo*

Patricio Cartagena Díaz

Vicepresidente Ejecutivo, Comisión Chilena del Cobre

Presidente Comisión Técnica Asesora del Presidente de la República  
para la revisión del cobre en la Guía sobre la Calidad del Agua

Potable de la Organización Mundial de la Salud 7

### *Introducción*

Santiago Torres Espina

Gerente Corporativo de Desarrollo Sustentable, Codelco 11

## **Parte I**

### **El Contexto**

1. *Cobre y Salud Humana: Desafío Estratégico Presente y Futuro para Chile*  
Ricardo Uauy & María Soledad Santa Ana 16
2. *El Escenario Regulatorio Ambiental en Europa: Oportunidades y Desafíos para la Industria del Cobre*  
Katrien Delbeke, Ilse Schoeters & Thierry Gerschel 36

## **Parte II**

### **La Investigación**

1. *Importancia del Cobre en la Nutrición Infantil*  
Manuel Olivares, Fernando Pizarro & Magdalena Araya 56
2. *Efectos Agudos del Cobre en el Ser Humano*  
Magdalena Araya, Manuel Olivares & Fernando Pizarro 66
3. *Desequilibrios Genéticos en la Homeostasis de Cobre*  
Al Lewis 78

4.	<i>El Pez Cebra como Modelo para el Estudio de la Homeostasis del Cobre</i>	
	Miguel L. Allende & Ariel E. Reyes	98
5.	<i>Cobre y Excitabilidad Neuronal: Una Mirada a Tres Niveles</i>	
	Ricardo Delgado, Francisco Morera, Felipe Aedo, Daniel Wolff & Cecilia Vergara	114
6.	<i>Exposición Humana a Cobre en Agua Potable</i>	
	Gustavo Lagos	126
7.	<i>Las Propiedades Antimicrobianas del Cobre y sus Aplicaciones Potenciales como Material Higiénico</i>	
	Al Lewis	148
8.	<i>Modelo del Ligando Biótico: Principios y Validación en Aguas Superficiales Chilenas</i>	
	Patricio H. Rodríguez & Juan C. Torres	176
9.	<i>Techos de Cobre y Toxicidad de Aguas Lluvia</i>	
	Nikolaos P. Nikolaidis	190
10.	<i>Biodisponibilidad de Metales y Efectos Ambientales del Cobre en Suelos Agrícolas</i>	
	Rosanna Ginocchio, Juan C. Torres & Patricio H. Rodríguez	204
11.	<i>Incorporación de Desechos y Productos de la Minería del Cobre a Suelos: Biodisponibilidad y Efectos sobre Cultivos</i>	
	Rosanna Ginocchio & Patricio H. Rodríguez	218



## PRÓLOGO

El 21 de Diciembre de 1993, se creó la Comisión Técnica Asesora designada por el Presidente de la República (CTA) para la revisión del tema cobre en la “Guía sobre Calidad del Agua Potable” de la Organización Mundial de la Salud (OMS), debido a las nuevas normas que regulaban al cobre en el agua potable, por razones de significación para la salud humana. Esta Comisión asumió un múltiple desafío de evaluar el potencial riesgo del cobre en el agua potable, y preparar un conjunto de antecedentes, con un fundado aporte científico, ante los organismos internacionales correspondientes. De improviso, se advirtió que ese escenario ambiental podía afectar la competitividad y sustentabilidad ambiental de nuestro principal producto de exportación.

El Decreto del Ministerio de Minería N° 296/1993 de ese entonces, le entregó a la Comisión Chilena del Cobre la responsabilidad de coordinarse con las instancias de Gobierno concernidas, con la comunidad académica, y con la industria del cobre, para acometer la respuesta a la OMS, y ello innegablemente implicó un trabajo de investigación sostenido.

El respaldo del Gobierno de Chile contribuyó positivamente a que la CTA examinara acuciosamente las tendencias regulatorias ambientales relacionadas con el cobre y a encauzar esfuerzos de investigación interdisciplinarios en esa dirección, recurriendo a capacidades de alto nivel científico existentes en los centros de investigación nacionales.

Es así que, importantes evaluaciones al cobre fueron respondidas, por parte de Chile, en los años 1996, 1998, 2002 y 2004 ante el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS), entre ellas el reconocimiento al cobre como un elemento traza esencial para el ser humano. Varios artículos resumidos en esta publicación, dan cuenta del esfuerzo de investigación en que se sustentó.

Esta labor continúa hoy plenamente vigente. Con todo, y a pesar de que hemos favorecido que las bases metodológicas para evaluar el riesgo de este tipo de sustancias sean, hoy en día, mejor comprendidas y sean más apropiadas a las características que detentan los metales, las interrogantes ambientales y de salud atinentes al cobre han ido cambiando.

## **Primera Fase Regulatoria (1993-2004)**

Entre los años 1993 al 2004, la investigación científica en el tema cobre-salud humana-agua potable-sistemas acuáticos, fue entregada a disposición de organismos regulatorios mundiales, para su análisis y discusión con grupos de expertos, que fueron convocados por la OMS, el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS) y otras agencias regulatorias internacionales.

Con esta evidencia científica, se completó exitosamente la *Primera Fase* de investigación ligada a la defensa del cobre en el agua potable. Esto condujo a eliminar la provisionalidad (*p*) del valor guía para el cobre en el agua potable y confirmar un valor definitivo y seguro para la salud humana de 2mg/l con la publicación de la 3ª. Guía sobre Calidad del Agua Potable de la OMS en el año 2004.

Hay un conjunto de estudios publicados, cuidadosamente realizados en Chile y otros países. En este libro hemos reunido parte de las investigaciones realizadas en la última década, todas ellas debidamente reconocidas en publicaciones internacionales, cuyos resultados fueron debatidos ante la comunidad internacional regulatoria, respecto a cómo debían valorarse y medirse los efectos del cobre en el agua potable y en ambientes acuáticos, a la vez de proteger la salud humana y el medio ambiente.

## **Segunda Fase para la Defensa e Investigación del Cobre**

Nos enfrentamos en adelante a un nuevo escenario regulatorio químico internacional para el cobre y otros metales, con interrogantes cada vez más complejas por resolver. Los minerales y metales fueron parte importante de la agenda ambiental internacional de la última década y lo seguirán siendo en los próximos años.

Estamos convencidos de que, tras la experiencia de 12 años cumplida, Chile debe responder estratégicamente a las nuevas interrogantes del rol del cobre, e impulsar áreas más complejas, como el desarrollo de biomarcadores por toxicidad y déficit de cobre en el ser humano y modelos predictivos de exposición al metal, para prevenir toxicidad ante las distintas condiciones del agua potable a nivel mundial. En las secciones de este libro, se indican también diversas líneas de investigación que a la CTA debería desarrollar en esta Segunda Fase de defensa del cobre.

En lo que respecta al tema regulatorio ante la OMS, una vez normada la calidad que deben tener las sustancias en contacto con el agua potable, los expertos mundiales



están dirigiendo su atención hacia un segundo tipo de objetivos, esto es cómo abordar la situación de aquellas localidades o regiones, donde las condiciones del agua no alcanzan a cumplir con los valores recomendados.

Otra interrogante que no está resuelta, por falta de antecedentes científicos, donde la Academia de Ciencias de los USA se dividió ante la forma de regular al cobre, es referente a si debiera fijarse un valor diferente para asegurar que las condiciones del agua potable resguarden la situación de las poblaciones sensibles, quienes no se encuentran dentro del rango normal de la población.

Dentro de los nuevos temas de investigación, será necesario también aplicar un modelo predictivo para la biodisponibilidad ambiental del cobre en ambientes acuáticos, cuyas bases científicas fueron desarrolladas en la Primera Fase.

### **Un Nuevo Desafío y Responsabilidad**

Al respecto, el discurso del Presidente de la República, Sr. Ricardo Lagos, ante la industria del cobre el 2 de Diciembre de 2003 señalaba: *“En el mundo global en el cual participamos, tenemos que reconocer la responsabilidad que implica colocar en los mercados aproximadamente un tercio de la producción de cobre del mundo. Y esta responsabilidad exige desarrollar el conocimiento que permite el uso de productos elaborados en base a cobre en forma segura para las personas y para el medio ambiente”*.

En consecuencia, la Segunda Fase representa un nuevo desafío y responsabilidad. Como desafío, mantener la vanguardia científica en el tema cobre en el mediano a largo plazo, y responder ante las contrapartes mundiales, las prioridades de la agenda ambiental y de salud.

Esto demandará el concurso de antecedentes científicos de nuevas redes externas científicas que resulten propicias en la defensa regulatoria del cobre, gracias a la línea base de investigaciones arriba descritas, de relevancia para el futuro mercado del cobre.

Esta Segunda Fase requiere también de un mayor compromiso de recursos, con financiamiento público, y en asociación con la industria mundial del cobre —a través del Programa de Investigación de la Asociación Internacional del Cobre—, parte de cuyos trabajos de investigación también se han reunido en este libro.

Para nuestro país, es igualmente una responsabilidad responder a las nuevas interrogantes del consumo seguro del cobre a nivel mundial, y disponer de un serio contingente de investigación, con universidades prestigiadas que nos puedan apoyar en esta respuesta. Sólo así podremos reforzar los criterios ambientales, aceptados por la OMS y la comunidad mundial en el 2002, que permitieron ubicar al cobre como un elemento traza esencial para el ser humano.

En esta dirección es clave, instaurar una línea de investigación nacional y estratégica para el cobre, con fines de sustentabilidad ambiental y salud humana, y afianzar los grupos científicos nacionales interesados en colaborar en políticas públicas de salud y medio ambiente del cobre.

La conformación de la Comisión Técnica Asesora ha dado garantías de independencia científica ante la OMS, como ante nuestras autoridades de salud y expertos nacionales, y por ello volvemos a hacer presente nuestro compromiso ético del Estado de Chile con el cobre en el sentido de velar por el principal producto minero que pone en los distintos mercados del mundo.

PATRICIO CARTAGENA DÍAZ

Vicepresidente Ejecutivo, Comisión Chilena del Cobre

Presidente Comisión Técnica Asesora del Presidente de la República para la revisión del cobre en la Guía sobre la Calidad del Agua Potable de la Organización Mundial de la Salud

## INTRODUCCIÓN

Hubo un tiempo en que la minería podía desarrollarse sin mirar más allá de sus puertas y su presente. Con excepción de la fluctuación de precios en los mercados, todo lo que ocurría una vez que el producto era entregado, no pertenecía al dominio propio de la gestión empresarial de la minería. Esta condición de responsabilidad limitada a la planta era particularmente predominante en la industria de *commodities*, por el alto grado de estandarización de sus productos. A fines del siglo XX, el surgimiento explosivo de los temas de responsabilidad medioambiental, en una primera etapa, y de sustentabilidad y responsabilidad social corporativa, en la siguiente, pusieron término irreversible a ese estado de cosas (y más temprano que tarde pondrán fin al concepto mismo de *commodity*).

Para la industria del cobre en general, y Codelco en particular, la expansión creciente de su ámbito de responsabilidad sobre el producto, fue gatillada por consideraciones, en un principio, puramente comerciales. Así, mientras a comienzos de los años 90, Codelco empieza a incorporar la gestión ambiental como parte de su quehacer, llegan señales inquietantes desde nuestros mercados en el mundo desarrollado. Por una parte, organismos gubernamentales e internacionales empiezan a adoptar decisiones normativas basadas en supuestos efectos dañinos del cobre sobre la salud humana y el medio ambiente en general. Tales regulaciones podían actuar como barreras no arancelarias para el cobre en los mercados externos. Por otra, sectores productores de materiales competitivos con el cobre, hacen uso ocasional de estos supuestos efectos para posicionar mejor sus productos. La industria del cobre, agrupada en la Asociación Internacional del Cobre, se encontró enfrentada a una situación que simplemente no sabía cómo manejar.

Mirado con la ventaja del tiempo, el problema era simple en su naturaleza, aunque muy complejo en su solución: el conocimiento del comportamiento de los metales en el medio ambiente y al interior de los organismos vivos era escaso e insuficiente. Mientras que en el caso de los compuestos orgánicos sintéticos, las presiones normativas habían estimulado, desde los años 70, el desarrollo de la investigación de sus efectos sobre la vida, así como herramientas para su control, los metales permanecieron en un cómodo segundo plano. Ahora, esa brecha actuaba en su contra, afectando las filosofías regulatorias a través de dos principios muy simples.

Conforme al primero, ante la incertidumbre, se debe actuar respecto del peor escenario posible y, por lo tanto exagerar la protección. Conocido hoy ampliamente como el principio precautorio, esta receta implicaba que en presencia de una brecha de conocimiento científico como la que se daba para los metales, lo más seguro era aumentar las restricciones, reduciendo los límites normativos y desincentivando el uso.

Segundo, si se tiene un instrumento que funciona, es mejor usar el mismo que intentar desarrollar uno nuevo. En otras palabras, si se habían desarrollado herramientas y criterios normativos ambientales para los compuestos orgánicos sintéticos, ¿por qué no aplicar los mismos a los metales?

Pronto la industria también comprendió que había una sola manera de enfrentar estos desafíos: fomentar la generación de conocimiento científico sobre el cobre en su interacción con los seres vivos, particularmente en aquellas áreas de preocupación normativa: toxicidad en el medio acuático, suelos y sedimentos, así como efectos sobre la salud de las personas.

Pronto la industria también comprendió que una agenda de esta naturaleza sólo podía funcionar sobre la base de la plena transparencia y la prescindencia del sector en el quehacer científico mismo. Desde un principio, se estableció que el criterio fundamental de calidad de la investigación apoyada sería la publicación de los resultados en revistas de prestigio internacional sometidas a revisión por pares.

Pero es necesario precisar dos aspectos en relación a esta orientación. Primero, como es lógico, la industria no está interesada en financiar cualquier investigación científica sobre aspectos ambientales o médicos del cobre. Los recursos, aunque importantes, son limitados, y el ámbito de interés queda definido por los desarrollos, normativos o de otro tipo, que puedan constituir una amenaza al producto en sus usos relevantes. Aplicar esta condición exitosamente requiere una visión que abarque desde la urgencia al largo plazo, equilibrando los esfuerzos para asegurar la viabilidad del metal de manera sostenible.

Segundo, si bien la publicación científica es un criterio de calidad y relevancia intransable, no es necesariamente suficiente desde el punto de vista de la industria. Para que una contribución al conocimiento tenga efecto regulatorio, a nivel de normativas de salud por ejemplo, se requiere que ese conocimiento llegue a los estamentos técnicos y políticos que desarrollan y adoptan tales decisiones. Para lograr esto, la industria equilibra su presupuesto de investigación básica y aplicada

con esfuerzos para posicionarse en las instancias que legalmente le correspondan en el desarrollo de estas normativas. Igualmente, destinamos recursos y capacidades a mantener una vigilancia permanente, a nivel global, para detectar desarrollos que puedan constituirse en barreras injustas de acceso para el cobre.

En poco más de una década desde que nos embarcamos en esta agenda, se han hecho progresos muy relevantes, los que se reseñan en algunos de los artículos que siguen. Revisar la lista completa de artículos y desarrollos científicos que, en un amplio rango de temáticas, se han generado gracias al apoyo de la Asociación Internacional del Cobre, de Codelco directamente, o de la Comisión Técnica Asesora, sería impracticable. El presente volumen abarca una muestra representativa de la amplitud de este esfuerzo, recorriendo temáticas tan disímiles como la ecotoxicidad del cobre en suelos agrícolas, la relevancia del cobre como micronutriente esencial y sus propiedades antimicrobianas. La intención ha sido dar al lector interesado, aunque no especialista, un “sabor” de la complejidad y diversidad de esta particular agenda de la industria, que esperamos asegure el futuro del metal rojo, hoy más que nunca, un patrimonio crucial de Chile.

Sin lugar a dudas lo avanzado en el conocimiento científico hasta la fecha, siendo significativo, es aún insuficiente. Este volumen es una muestra de los hitos alcanzados, en un camino que tenemos que seguir recorriendo por la vía de: aportar con más ciencia a la tarea regulatoria de modo de proteger efectivamente lo que se tiene que proteger; sin imponer cargas innecesarias a la industria, e identificar, en ese mismo conocimiento, oportunidades para nuevos y más usos del cobre que permitan ampliar responsablemente nuestros mercados. De allí que estamos seguros que este segundo volumen de la línea de publicaciones Cobre, Medio Ambiente y Salud, no será el último.

SANTIAGO TORRES ESPINA

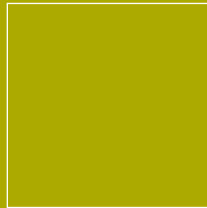
Gerente Corporativo de Desarrollo Sustentable, Codelco





# PARTE I

## EL CONTEXTO





## **COBRE Y SALUD HUMANA: DESAFÍO ESTRATÉGICO PRESENTE Y FUTURO PARA CHILE**



**Ricardo Uauy<sup>a,b</sup> & María Soledad Santa Ana<sup>c</sup>**

<sup>a</sup>Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),  
Universidad of Chile. Macul 5540, Casilla 138-11, Santiago,  
Chile y;

<sup>b</sup>London School of Hygiene and Tropical Medicine London  
University, 49 Bedford Square, London, WC1B 3DP United  
Kingdom.

<sup>c</sup>Comisión Chilena del Cobre (Cochilco), Comisión Técnica  
Asesora Presidencial (CTA) para la Revisión del tema cobre  
en las Guías sobre Calidad del Agua Potable, Agustinas 1161,  
4° piso, Santiago, Chile.



## **DESAFÍOS PLANTEADOS POR EL MARCO REGULATORIO INTERNACIONAL DE LA OMS Y DEL IPCS<sup>1</sup> SOBRE CALIDAD DEL AGUA POTABLE EN 1993: CONSECUENCIAS DE UNA AUSENCIA**

En 1992, y sin que el Gobierno de Chile estuviera enterado, ni su Ministerio de Salud lo alertara, el cobre fue incluido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la Lista de Elementos con Significación para la Salud Humana, con un valor provisional guía de 2 mg/l. En este caso, la aplicación del principio precautorio podía tener consecuencias serias para Chile, ya que frente a un riesgo que estaba mal definido y no cuantificado se regulaba el cobre de forma tal que se le consideraba un peligro para la salud humana.

Tomando en consideración un peso promedio de 60 kg para un adulto, se obtenía que 30 mg de cobre por día era el máximo aceptable. Además, se estimaba que una fracción del 10% del cobre total podía ser consumido a través del agua (un adulto promedio tiene una ingesta de 2 litros por día), lo cual implicaba una norma que ponía la concentración límite en 1,5 mg de cobre por litro. Para simplificar esta cifra, la OMS lo aproximó a un valor de 2 mg/l, como valor guía provisional basado en los efectos sobre la salud humana. Esto generó de inmediato la preocupación de la industria, ya que anteriormente el cobre estaba sólo condicionado a sus efectos sobre el color y sabor del agua, y la posible tinción de loza o artefactos.

El informe del Programa Internacional de Seguridad Química (International Program for Chemical Safety-IPCS) hacía referencia a un estudio en perros que no había sido publicado, en el cual se encontraron efectos transitorios como necrosis (destrucción de células) y aumento de la fibrosis en el hígado de algunos animales, al consumir diariamente 5 mg de cobre por kg de peso corporal. La recomendación no estaba avalada por estudios epidemiológicos o clínicos en seres humanos, ni en estudios válidos en animales. No existía análisis de riesgo poblacional, ni consideraciones sobre la duración de la exposición.

Ante esta situación, el Gobierno de Chile se movilizó, convocando a un grupo de expertos nacionales para examinar los antecedentes y elaborar un documento de posición. La Comisión Chilena del Cobre solicitó al Ministerio de Salud la convocatoria de este grupo, y luego se le encargó de coordinarlo.

---

<sup>1</sup> Organización Mundial de la Salud (OMS); Programa Internacional de Seguridad Química (International Program for Chemical Safety-IPCS), que es un programa conjunto de la OMS-OIT-PNUMA.

Los argumentos presentados por Chile a la OMS en 1993 se resumen en los siguientes tres puntos:

1. Los elementos esenciales como el cobre no pueden ser regulados con un enfoque que considere sólo el riesgo por exceso, ya que los riesgos por déficit de cobre son más frecuentes y de mayor significado para la salud humana, en cuanto al impacto en la salud pública de la población.
2. Los efectos crónicos no puede ser definidos en base a un estudio realizado en unos pocos animales de una sola especie, más aún si éste no fue publicado, ni estuvo sometido a la revisión sistemática por pares.
3. El riesgo del exceso por exposición crónica al cobre no puede ser definido tomando como base la ocurrencia anómala de cirrosis de causa desconocida o de defectos genéticos del metabolismo del cobre como la enfermedad de Wilson, sino que debe estar basado en consideraciones de impacto en la salud a nivel poblacional.

Finalmente, se planteó que no se debía ignorar el hecho que sólo una fracción del cobre ingerido es absorbido, por esto se debía considerar la biodisponibilidad y los mecanismos de adaptación a ingestas altas o bajas que modifican los efectos de un determinado nivel de exposición. Estos planteamientos iniciales han servido de línea matriz para los trabajos de investigación y las posturas técnicas defendidas en los últimos 10 años.

## **PRINCIPALES ORIENTACIONES TÉCNICO-ESTRATÉGICAS QUE HAN DEFINIDO LAS ACCIONES NACIONALES EN EL TEMA COBRE Y SALUD DURANTE LA ÚLTIMA DÉCADA**

Desde 1993, fecha en que la Comisión Chilena del Cobre (Cochilco) tomó la responsabilidad de coordinar las acciones del Gobierno en el tema cobre/salud/agua potable, se definieron orientaciones técnicas y estratégicas para asesorar las acciones a ser adoptadas por Chile en esta materia.

En un comienzo, se definieron los objetivos estratégicos y las acciones iniciales que debían ser tomadas para alcanzar dichos objetivos.

### **Objetivos Estratégicos Planteados**

Los objetivos planteados, de manera secuencial y en orden de prioridad, fueron los siguientes:

- a) Sacar el Cobre de la Lista de elementos con significación para la salud humana.
- b) Aceptar que el cobre pudiera tener efectos sobre la salud a concentraciones más altas de las que se encuentran normadas en el agua, definiendo claramente tales efectos, y cuidando la percepción favorable de los consumidores.

Para alcanzar el objetivo a) se requería que:

**1. Los datos científicos sobre efectos gastrointestinales (GI) demostrasen que éstos solo ocurren cuando se exceden significativamente los niveles en que se encuentra el Cobre en el agua potable en forma habitual.** La evidencia de los estudios realizados en Chile y otros a nivel internacional demuestran que con niveles > de 4 mg/l de cobre, alrededor del 10% de la población manifiesta náuseas y una proporción menor tiene vómitos (efectos gastrointestinales). Los vómitos se manifiestan en forma más prevalente con niveles > de 6 mg/l. Si el contenido de cobre considerado crítico para los efectos gastrointestinales subiera a más de 5 mg/l y de establecerse que las náuseas son un signo de irritación gástrica, no constituyendo un efecto adverso sobre la salud, podría haber sido factible retrotraer la regulación al estado previo a 1993.

**2. Que un gran porcentaje de la población fuera capaz de percibir el gusto del cobre, antes de que se manifestaran síntomas adversos gastrointestinales y, de**

esta forma, advertir tan sólo que no beba agua con gusto a cobre. La evidencia empírica señala que los efectos gastrointestinales van estrechamente ligados a la percepción del gusto, sin embargo sólo un 40-50% de la población es capaz de detectar 3 mg/l. Por lo tanto para un grupo importante, el riesgo de efectos GI no puede ser evitado.

**3. Que los estudios en curso y otros pendientes confirmaran el supuesto de que el cobre no tiene efectos crónicos significativos sobre la salud, a niveles de exposición alcanzables con agua y alimentos en niños y adultos. Las evaluaciones de riesgo realizadas por el IPCS favorecieron este punto, pero la evidencia científica era incompleta.**

Para alcanzar el objetivo b) se requería:

**1. Proponer modificaciones a la metodología de evaluación de riesgo de los elementos químicos sobre salud y ambiente.** Esto incluía definir un rango de INGESTIÓN DIARIA ACEPTABLE total, rango de homeostasis donde el sujeto regula los posibles déficit o excesos sin consecuencias para la salud, los límites aceptables para dicho rango donde se minimice el riesgo de déficit o exceso, así como conocer la distribución de la respuesta frente al exceso o déficit, basado en marcadores biológicos de ambos fenómenos.

**2. La propuesta de una lista de elementos esenciales como parte de la calidad del agua, era una etapa que seguía al punto anterior. No bastaba que se aceptara un nuevo paradigma de evaluación de riesgo de los elementos traza esenciales, sino que también se aceptara como útil para definir la calidad del agua por parte de los reguladores.**

Finalmente, se consideró necesario que Chile, específicamente el Ministerio de Salud, como punto focal en Chile, fuera capaz de incorporarse plenamente como socio confiable al programa del IPCS, máximo referente técnico para la OMS en materia de seguridad química, y a la dinámica del Programa de Salud Ambiental de la OMS, incluyendo la Calidad del Agua Potable. Esto implicaba la necesidad de participar con ciencia, que diera confiabilidad y solidez a los argumentos científicos a nivel país, contar con recursos humanos especializados y recursos financieros en dichos procesos, lo cual tampoco podía improvisarse, ya que se requería mantener una relación sistemática de pares con los miembros del IPCS.

## Orientaciones Técnico Estratégicas

La presentación que el Gobierno de Chile realizó ante la OMS en el año 1993, justificó una revisión del status provisional del cobre en la "Guía sobre Calidad del Agua Potable", y su re-examen en los procesos regulatorios siguientes de la OMS. En otras palabras, la OMS respondió que no era un proceso regulatorio cerrado, y el Gobierno de Chile, con el respaldo de su comunidad científica, contribuirían a la demostración de cómo deben entenderse los efectos del cobre en la salud humana.

1. Coordinación de esfuerzos. Se estableció una Comisión Técnica Asesora del Presidente de la República<sup>2</sup> en materia de los efectos del cobre sobre la salud humana, con la responsabilidad de colaborar y asesorar las negociaciones del Gobierno de Chile que estuvieran vinculadas al tema cobre ante la OMS, gobiernos extranjeros y otras organizaciones internacionales, para revisar la Guía sobre Calidad del Agua Potable y los criterios de salud ambientales relacionados con los posibles efectos para la salud que se le atribuyan.
2. El cobre como elemento esencial. El cobre, por ser esencial, no puede ser evaluado igual que los elementos tóxicos, en los cuales prevalece invariablemente el criterio de una menor exposición.
3. Es necesario apoyar un nuevo enfoque a nivel mundial para regular los elementos esenciales que considere el riesgo de déficit y exceso.
4. Los efectos agudos pueden ser precisados a nivel individual y poblacional, considerando una graduación progresiva de efectos gastrointestinales
5. Los estudios crónicos en animales no permiten definir una dosis segura para los seres humanos.

---

<sup>2</sup> Ello se oficializó mediante el Decreto del Ministerio de Minería N° 296, del 21 de Diciembre de 1993. Su legalidad ha sido mantenida por sucesivos Decretos: N° 213, del 12 de Septiembre de 1995, Decreto N° 215, del 8 de Septiembre de 1997, Decreto N° 125, del 18 de Abril de 2000, Decreto N° 48, del 10 de Abril de 2002 y Decreto N° 23, del 21 de Abril de 2004.

## **Avances y Logros en los Objetivos Técnico-Estratégicos**

Desde 1994 hasta la fecha, Cochilco ha tenido la responsabilidad de presidir esa Comisión Técnica Asesora, con una Secretaría Técnica, y de convocar a este grupo experto asesor; que se abocó a una estrategia activa de inserción científica en el tema cobre/salud humana y a una participación influyente en el ámbito de los organismos regulatorios a nivel mundial.

### *1. Coordinación de esfuerzos.*

Los logros están reflejados en una serie de hitos regulatorios mundiales, como los que se describen a continuación, donde la participación de Chile, en este período, es capaz de mostrar el desarrollo de una línea de investigación continua respecto a los posibles efectos del cobre en el agua potable, y una defensa estratégica conducida a través de esa Comisión Técnica Asesora.

#### **a) Documento sobre “Criterios de Salud Ambiental para el Cobre” del IPCS (EHC 200 Copper, 1998).**

Como primer paso, el Gobierno de Chile solicitó una exhaustiva revisión bibliográfica sobre el cobre, bajo el marco metodológico de la serie IPCS conocida como Criterios de Salud Ambiental (en inglés EHC), para evaluación de riesgos de sustancias químicas, acción impulsada a través de la CTA.

Al respecto, cabe destacar especialmente la incorporación de científicos chilenos en la elaboración y discusión del libro EHC 200 del Programa Internacional de Seguridad Química que fuera publicado en 1998, documento de referencia a nivel mundial sobre los efectos ambientales y de salud del metal.

#### **b) Revisión del cobre en el Adendum de la “Guía sobre Calidad del Agua Potable” OMS (Adendum al Volumen I de la Guía de la OMS, 1998).**

En Diciembre 1996, la CTA recomendó a nuestra Cancillería y al Ministerio de Salud que apoyaran la designación del Dr. Ricardo Uauy en el Grupo de Trabajo de Subsancias Químicas, siendo así Chile invitado por primera vez al Comité Internacional convocado por la OMS, aunque en una calidad de observador. La revisión del cobre fue defendida con los antecedentes científicos disponibles, más los resultados del documento EHC 200. Se reconoció la esencialidad del cobre y se dejó en evidencia que la norma de 2 mg/l atendía a posibles efectos gastrointestinales,

con una nota al pie indicando este carácter (el cual es reversible y leve, a diferencia de los efectos crónicos). El cobre mantuvo su clasificación provisional, en atención a los estudios en curso en Chile y en otros países que ayudarían a disminuir la incertidumbre en los niveles causa-efecto del cobre.

### **c) Revisión del cobre en la Directiva de Agua para el Consumo Humano de la Unión Europea (1998).**

A partir de 1995, la Comisión Europea propuso una modificación de su Directiva 80/778 sobre Agua para el Consumo Humano a su Consejo de Ministros, dejando al cobre clasificado dentro de la Lista de Parámetros Químicos, junto a otras sustancias de reconocida toxicidad, pero sin asignarle el carácter provisional que mantenía la Guía de Calidad del Agua Potable (1993), y que fue reiterado por el Adendum OMS (1998).

Con el trabajo activo de la CTA y una acción diplomática conjunta con los Ministerios de Relaciones Exteriores y de Salud, Chile dio seguimiento al proceso de discusión y aprobación de la nueva Directiva, desde que se conoció la propuesta de Directiva, unos meses antes del 1995 hasta su aprobación en 1998. Al respecto, se entregó información científica en las distintas instancias europeas; la Comisión Europea (en los años 1994 y 1995), el Parlamento Europeo (1996 y 1998) y en los Grupos Técnicos del Consejo de Ministros (1997 y 1998) cuya decisión final ocurrió en Octubre de 1998.

Las múltiples gestiones ante las instancias europeas fueron consultadas, informadas y coordinadas al más alto nivel con Cancillería, quien designó un Asesor del Ministro, con el fin de coordinar las Embajadas de Chile en distintos países europeos para el tema cobre, contando además con el apoyo de la Misión Permanente de Chile en Bruselas, de la Dirección de Política Multilateral (DIMULTI) como miembro de la CTA, en consulta con la Dirección Europea (DIREUROPA).

Hubo varios resultados positivos, como los siguientes:

- El Comité Científico Consultivo de la Comisión Europea denegó la información sobre supuesta toxicidad del cobre en agua potable, usando los antecedentes entregados por Chile, aunque no opinó sobre su reclasificación
- El Parlamento Europeo aprobó por mayoría, en primera y segunda lectura, la enmienda para cambiar la clasificación del cobre a la lista de parámetros indicadores.

- Francia, España y Portugal respaldaron declaraciones para revisar la clasificación del cobre cuando la OMS terminara su proceso de revisión, como parte de los acuerdos del Consejo de Ministros de la Unión Europea que aprobó la Directiva de Agua para el Consumo Humano.

En la nueva Directiva, la Comisión Europea y una mayoría del Consejo de Ministros no aceptaron la reclasificación del cobre, ni la provisionalidad del parámetro cobre, pese a que el Parlamento Europeo votó en favor de ello en sus dos lecturas legislativas. Sin embargo, quedó comprometida una futura revisión del parámetro cobre en la nueva Directiva.

#### **d) Documento sobre “Evaluación de Elementos Traza Esenciales” del IPCS (EHC 228, 2002).**

Entre 1996-2002, otro Comité internacional de expertos convocados bajo el mismo IPCS, se abocó a elaborar un nuevo enfoque metodológico para caracterizar los riesgos de los elementos esenciales (cobre, hierro, zinc, yodo, cromo trivalente, cobalto, molibdeno, selenio) que a la vez son nutrientes, y que pueden tener un umbral de riesgo menor sobre la salud humana. Estas reuniones internacionales se efectuaron en Chile (1998 y 2000), por invitación del Gobierno, donde la CTA puso a disposición sus recursos, bajo la organización del Ministerio de Salud, y articulando la colaboración de científicos nacionales quienes formaron parte del Comité.

#### **e) Guía de Calidad del Agua Potable, OMS (2004).**

Chile también solicitó a la OMS la revisión del cobre en la nueva Guía de Calidad del Agua Potable, como parte de su tercera edición (2004). Expertos chilenos hicieron llegar a la OMS un documento sobre los avances científicos logrados en Chile relacionados a los efectos sobre la salud del Cobre en el agua potable, siendo convocados a una primera reunión efectuada en Tokio en Mayo 2002.

De allí, se derivó un informe sobre Criterios de Salud y Ecológicos del Cobre, encargado por la OMS a la Agencia de Medio Ambiente de EEUU (USEPA), que reconoció en plenitud el aporte de los investigadores del INTA. Más tarde, un Comité de Expertos convocado por la OMS en Abril 2004, con participación del Dr. Uauy por parte de Chile, acometió la tarea de revisar y dar el visto bueno al voluminoso texto de la nueva Guía sobre Calidad del Agua Potable.

Hoy en día, la Tercera Edición de la Guía (2004) está finalizada y publicada en su



sitio Web. En lo medular, esta publicación acordó remover la provisionalidad (p) del cobre que se había mantenido desde la Guía 1998, confirmando un valor guía definitivo de 2 mg/l para el cobre en el agua potable, como un margen adecuado de seguridad y protección respecto a efectos agudos o gastrointestinales.

#### **f) Generación de base científica sólida para el proceso regulatorio**

Entre 1995-2004, se han llevado adelante programas de investigación científica en los temas más relevantes, y se han publicado más de 30 artículos sobre aspectos genéticos y ambientales determinantes del metabolismo del cobre en revistas científicas internacionales, por parte del equipo de científicos nacionales, en consorcio con universidades extranjeras (como la Universidad de California en Davis).

En particular, cabe destacar los resultados de la investigación epidemiológica sobre los efectos gastrointestinales del cobre (1998-2001). Con respaldo de la CTA y del Ministerio de Salud, se logró el concurso oficial de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en Washington D.C. y la designación de un Grupo Técnico Internacional para supervisar el proyecto –el que suscribió los términos de referencia y el seguimiento metodológico del mismo. Estos resultados fueron decisivos para sustentar la evidencia científica que fue utilizada en la reunión de Tokio 2002, para la nueva Guía OMS 2004.

**2. El cobre como elemento esencial no puede ser evaluado igual que los elementos tóxicos**, en los cuales prevalece invariablemente el criterio de una menor exposición. Este punto ha sido apoyado por múltiples trabajos realizados en Chile, en otros países en América Latina y también a nivel internacional.

En 1994-1995, como primer esfuerzo, se solicitó a más de veinte investigadores de todo el mundo que dieran una visión actualizada de los efectos del cobre sobre la salud humana. Este informe fue publicado como un suplemento a la revista más importante de Nutrición Humana, AJCN 1996. Fue el primer paso en generar un soporte científico para la postura de Chile, apoyándose en la ciencia existente.

En Marzo 1996, en un esfuerzo conjunto con el National Institute of Health (NIH) y la Universidad de Chile, con financiamiento compartido, se convocó a los mejores investigadores del mundo a Bethesda, realizándose en el *Stone House*, Centro Internacional Foggarty del NIH, una conferencia internacional para discutir los

factores genéticos y ambientales que contribuyen a la regulación del metabolismo del cobre. Las deliberaciones incluyeron la evaluación de los efectos sobre la salud, tanto por déficit como por exceso. La reunión abordó los aspectos nutricionales y toxicológicos del cobre y las implicancias para definir un rango de exposición que permitiera evitar tanto el exceso como el déficit de cobre.

Las investigaciones reportadas en dicha reunión fueron publicadas en un número especial del AJCN en 1998. Se delinearon también las prioridades para una agenda de investigación que contribuyera a dar una mejor base científica para la evaluación de los efectos agudos y crónicos del cobre sobre la salud humana a futuro. Esto sirvió para orientar la agenda de investigación sobre cobre y salud humana apoyada desde la CTA-Cochilco, Fondecyt-Conycit y la industria del cobre (ICA).

**3. Es necesario apoyar un nuevo enfoque a nivel mundial para regular los elementos esenciales que considere el riesgo de déficit y exceso.** A partir del nuevo enfoque de la postura de Chile, se planteó a la OMS la necesidad de revisar las bases científicas de las regulaciones del cobre y salud humana. Estas bases se encuentran normalmente resumidas en un volumen llamado Criterios de Evaluación de Salud Ambiental (EHC, Environmental Health Criteria).

A estas alturas, el tema de cobre estaba siendo manejado a nivel internacional con la colaboración de otros gobiernos interesados que compartían la postura chilena. Esto llevó a que el Ministerio de Salud de Chile, solicitara oficialmente a la OMS que se revisara el EHC sobre el Cobre, a la luz de los nuevos enfoques y estudios realizados en forma reciente en Chile y en otros países. El Gobierno de Australia no sólo apoyó la iniciativa, sino que ofreció el apoyo financiero a la OMS para realizar dicha reunión, la que fue convocada por el IPCS-OMS en 1996 en la ciudad de Brisbane.

El informe despejó una serie de interrogantes sobre el cobre como micronutriente esencial y de la evaluación de riesgo del cobre, que hasta ese entonces, no habían sido debidamente examinados:

- Por tratarse de un elemento esencial, existen riesgos por deficiencias asociados a bajas ingestas y riesgos por toxicidad asociados a altas ingestas.
- Debido a los riesgos de deficiencia de cobre, se recomendaron valores de ingesta mínimos, particularmente en la población infantil.



- No hay riesgos establecidos, a nivel de salud pública, por exceso de cobre que deriven en posibles efectos crónicos.

En cuanto a la toxicidad por exceso de cobre, se determinó que era poco frecuente en poblaciones normales; si bien ésta podía darse, por deficiencias en el metabolismo del cobre o por ingestas excesivas.

Algunos desórdenes en el metabolismo del cobre tienen una base genética bien definida, como la enfermedad de Wilson (1:30.000), debido a una incapacidad de excreción de cobre, existiendo terapias efectivas para su tratamiento. Menos comunes son la cirrosis infantil de la India (ICC) y la toxicidad idiopática del cobre (ICT), que afectan a niños a muy temprana edad, y cuyas causas genéticas o por exposición ambiental son indefinidas. La causa más frecuente de acumulación de cobre en el hígado ocurre con la enfermedad crónica al hígado asociada con la colestasis crónica; no obstante, está claro que el cobre no es el principal responsable del daño hepático.

Respecto de la ingesta excesiva de cobre, el Informe del IPCS reconoció que era un riesgo infrecuente en humanos. Usualmente, es una consecuencia de la contaminación de bebidas (incluyendo el agua potable), accidentes, o ingestas deliberadas de sales de cobre, afectando el tracto gastrointestinal, en los niveles más bajos (náusea, vómito, diarrea), mientras las dosis y causas de los síntomas no están adecuadamente caracterizadas. La enfermedad gastrointestinal parece estar asociada al consumo de agua potable, cuando los contenidos de cobre sobrepasan muchos miligramos por litro de cobre, sin poderse precisar el número. Finalmente, se destacó que no hay evidencia de que el cobre desempeñe ningún papel en el desarrollo del cáncer en humanos ni que sea genotóxico.

Considerando la necesidad de efectuar un examen del marco regulatorio que tomara en cuenta la situación especial de los elementos esenciales, el Gobierno de Chile también solicitó a las OMS la necesidad de revisar la *Guía 170 sobre "Riesgos para la Salud Humana de los Químicos y Derivación de Valores Guía basados en Límites de Exposición"* (IPCS). La Guía 170 es una metodología general para las monografías de Criterios de Salud Ambiental (EHC), que indica cómo se derivan valores guía para la exposición humana a las sustancias químicas que están presentes en alimentos, agua potable, aire y otros ambientes, tomando en cuenta la variabilidad humana, factores de incertidumbre, relación dosis-respuesta y la ingesta tolerable.

En el caso del cobre, al aplicarse la metodología de la Guía 170 a la Guía OMS sobre

Calidad del Agua Potable (en el Adendum 1998), se demostraron inconsistencias, y que los valores guías usados en el agua potable no se sustentaban. La situación generada en relación al cobre en el agua potable, en cuanto a la aplicabilidad de la Guía 170, estaba circunscrita a otras situaciones:

- Esta era aplicable a la exposición crónica a los químicos, pero debía revisarse cómo podía aplicarse a la exposición por efectos agudos (como los efectos gastrointestinales)
- La metodología estaba diseñada para estimar los riesgos derivados de químicos o elementos que no son esenciales (a diferencia del cobre), y que tienen potenciales efectos tóxicos. Esto determinaba que se usaran factores de incertidumbre para proteger la salud humana, que no pueden aplicarse en el caso de los esenciales, que también tienen riesgo por su ingesta baja.

Chile ofreció apoyo financiero y técnico a dicha iniciativa a la OMS, quien a su vez contó con el apoyo de la Agencia de Medio Ambiente de USA, de modo que se pronunciara sobre los nuevos conceptos sobre Elementos Traza Esenciales, y su aplicación dentro de la Guía 170 y en la regulación del contenido de metales esenciales en el agua. En suma, con la colaboración del Gobierno de Chile, se planteó al IPCS, generar un nuevo paradigma de evaluación de riesgo para los elementos esenciales, los cuales pueden tener un umbral de riesgo menor sobre la salud humana y que además se caracterizara apropiadamente el riesgo por efectos agudos menores (como náusea) hasta efectos agudos tóxicos.

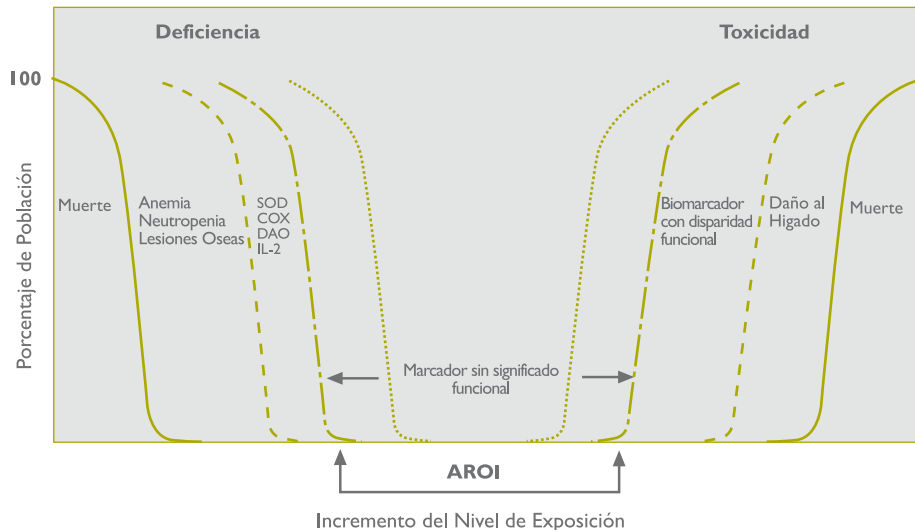
Se realizaron 3 reuniones, la primera en Washington D.C., U.S.A. (1997) y las dos restantes en Santiago (1998) y Marbella (2000), Chile, bajo la organización del Ministerio de Salud, cuyo Comité contó con la participación de 15 expertos mundiales. Este esfuerzo llevó a generar una Guía especial de Evaluación de Riesgos para los Elementos Traza Esenciales (IPCS 228). El nuevo enfoque difiere del enfoque toxicológico tradicional aplicado previamente al cobre, ya que analiza no sólo los riesgos por exceso, sino que considera los riesgos del déficit. Más aún, establece la necesidad de valorar el impacto sobre la salud poblacional de los posibles efectos del déficit y exceso sobre la salud humana. A la luz de los nuevos enfoques científicos, incluye la necesidad de valorar la biodisponibilidad del elemento químico, la forma de la exposición, ajustando las dosis de exposición a la cantidad del material que, está en realidad, bioactivo.

También establece la necesidad de tener biomarcadores específicos y sensibles

a los efectos del déficit y exceso y que los rangos de exposición aceptables sean basados en efectos biológicos comparables. Es decir, si se toma como rango mínimo aceptable el nivel de exposición necesario para evitar la anemia, en el caso del hierro, se toma al igual como límite máximo aceptable, el nivel necesario para evitar la hemocromatosis (enfermedad por exceso de hierro). Por otro lado, si se toman marcadores bioquímicos más sensibles que la enfermedad clínica, se utilizan de igual forma para el déficit como para el exceso. Tomando el caso del hierro como ejemplo, se mide la ferritina (índice de reservas de hierro en el organismo) tanto para señalar el déficit como el exceso.

Finalmente, luego de definir los biomarcadores relevantes para estimar la curva dosis respuesta frente al déficit y exceso, se debe evaluar un número suficiente de sujetos para derivar el riesgo a nivel poblacional, usando un modelo estadístico con parámetros definidos. Esto permite efectuar una evaluación de riesgo, con base en un modelo, con un sustento científico sólido. Ver Figura 1.

**Figura 1. Porcentaje de población en riesgo de déficit o exceso de cobre como función del nivel de exposición.**



El eje de la figura corresponde al porcentaje de la población (0-100%) que está sujeta al riesgo de sufrir un déficit o exceso de cobre, dependiendo del nivel de exposición al metal. Las curvas con líneas semejantes corresponden a efectos

equivalentes en cuanto a la severidad de los efectos, tanto del déficit como del exceso. Las curvas de los extremos (línea más sólida) representan los niveles en los cuales la exposición se asocia al riesgo de muerte por déficit o exceso. Las curvas más internas (punteado) representan riesgo de cambios en biomarcadores, sin significado funcional o implicancias para la salud humana. Los marcadores del déficit de cobre son: superóxido dismutase (SOD), citocromo oxidasa (COX), diaminoxidasa (DAO), e interleukina 2 (IL-2). No existen marcadores equivalentes para detectar el exceso de cobre. El rango de ingesta oral adecuada (ARO) corresponde al rango de exposición en el cual el riesgo de déficit o exceso es mínimo.

Este enfoque define en la actualidad el marco regulatorio para los elementos esenciales e incluye la necesidad de evaluar los riesgos tanto por déficit como por exceso. Requiere de un análisis de la evidencia para establecer una equivalencia de riesgos, en cuanto a los efectos sobre la salud, considerando la edad, sexo, y la condición fisiológica. El valor del ARO se define para una población normal, no se pretende que sea usado para individuos con alteraciones genéticas. En el caso que grupos poblacionales importantes tengan necesidades especiales, se establecerán recomendaciones o valores especiales para proteger la salud de dichos grupos, de acuerdo con la relevancia de salud pública del problema.

#### ***4. Los efectos agudos pueden ser precisados a nivel individual y poblacional, considerando una graduación progresiva de efectos gastrointestinales.***

La estrategia técnica del esfuerzo chileno descansaba en la posibilidad de mejorar sustancialmente la base científica de la medición de los efectos gastrointestinales agudos del cobre. Al regularse con base en los efectos agudos, hay varias ventajas, ya que el efecto es gradual, empezando por el sabor, la sensación de aversión frente a una carga mayor, luego, en el caso de ingerir una cantidad excesiva, la náusea, como signo de irritación gástrica, y finalmente el vómito o dolor abdominal en caso de que se ingiera una concentración aún mayor. Estos efectos podían ser evaluados en un número grande de personas y podía modelarse el riesgo de una población frente a exposiciones controladas, usando biomarcadores definidos y criterios estadísticos establecidos. Los efectos de mal gusto, aversión, y náusea corresponden más bien a efectos sensoriales; pero, el vómito y dolor abdominal constituyen síntomas de irritación gástricos, fácilmente reversibles y sin consecuencias permanentes para la salud.

En la reunión del IPCS en que se revisó el documento de Criterios de Salud Ambiental para el Cobre (Brisbane, Australia, Junio 1996) se concluyó que el cobre era un micronutriente esencial, que existía mayor riesgo de déficit que de exceso, y que no había base científica suficiente para establecer un NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) para el cobre basado en efectos crónicos. Además señaló que la exposición oral por agua potable podía acarrear efectos gastrointestinales (náusea, vómitos y diarrea). También, indicó que esta ingesta/exposición oral podía ser mayor que varios mg por día, pero no ser de muchos, basado en la necesidad de prevenir los efectos gastrointestinales (se entiende por varios una concentración de cobre en el agua entre 2 y 3 mg/l, pero no de muchos más mg/l).

Con base en estos antecedentes, y a cinco años de la decisión de la OMS de incluir al cobre en la Lista de Sustancias con Significación para la Salud Humana, la reevaluación de la postura OMS debía hacerse valer en la reunión de Ginebra 1998.<sup>3</sup>

El documento base para examinar los criterios de salud ambiental para la reunión de Ginebra 1998, preparado por la USEPA, reafirmó la ausencia de efectos crónicos como base para regular el cobre en el agua, pero señaló que el límite para evitar efectos gastrointestinales en poblaciones sensibles era de 3-4 mg/l en base a datos no del todo aceptables. Se concluyó que el cobre debería mantenerse con el valor provisional de 2 mg/l en la Lista de Sustancias con Significación para la Salud Humana, hasta que existiera una base más sólida para definir un valor diferente o reafirmar el existente como permanente.

Posteriormente, un proyecto de investigación de la CTA desarrollado entre 1998 y el 2002, dirigido por un Comité Científico Externo OMS-OPS se centró en avanzar en cada aspecto de este enfoque. Esto implicó desarrollar una investigación para determinar el nivel de no-efecto gastrointestinal del cobre en la ingesta de agua potable, a nivel prospectivo poblacional, el cual se encargó al INTA, bajo la coordinación del CIMM.

Las actividades del proyecto se iniciaron en Noviembre de 1998, con el apoyo financiero de la CTA, quien también respaldó a la estructura que más tarde se conformó para el proyecto. El proyecto analizó la curva de exposición al cobre, las áreas de déficit y toxicidad de cobre (debido a deficiencias genéticas), y el

---

<sup>3</sup> Proceso de revisión que finalizó con el Addendum a la Guía sobre Calidad del Agua Potable, OMS, 1998.

sector intermedio de la curva (de 'normalidad') en que operan normalmente los mecanismos de absorción y excreción del organismo.

Este proyecto debía responder al compromiso adquirido por Chile ante la Organización Mundial de la Salud (OMS) de aportar a la definición internacional de seguridad química sobre sustancias, como el cobre, en el agua potable, en la siguiente revisión de la Guía OMS (que se inició el año 2001). Por ello, para su ejecución, se nombraron dos comités: un Comité Asesor nacional del proyecto, patrocinado por el Ministerio de Salud de Chile, al cual se integraron científicos nacionales y un Comité Asesor Externo del proyecto, bajo la OPS. Este Comité se reunió por primera vez en mayo 1999. La convocatoria de este grupo de expertos y reguladores internacionales, por parte de la OPS, fue una señal técnica importante y una respuesta a la interacción lograda por el Gobierno de Chile con el Programa Internacional de Seguridad Química.

### *5. Los estudios crónicos en animales no permiten definir una dosis segura para los seres humanos.*

Los efectos crónicos son difíciles de precisar en cuanto a exposición, dosis respuesta de los efectos y susceptibilidades especiales (genéticas y epigenéticas). Es necesario plantear un nuevo marco conceptual para evaluar el riesgo individual y poblacional, con un conocimiento más actualizado de las bases de la susceptibilidad genética, fundamentado en el nuevo paradigma impuesto por el conocimiento detallado del genoma humano. Un programa de investigación nacional/internacional se encuentra en etapa de desarrollo.

Estos estudios son críticos para caracterizar la regulación, que ocurre a nivel molecular y celular, en los procesos de almacenamiento y transporte de cobre dentro del organismo humano, y comprender mejor los mecanismos que regulan el balance de este micro-nutriente esencial, mediante diseños clínicos y estudios de población. Con este conocimiento, se pueden desarrollar bio-marcadores que prevengan los riesgos por una exposición al exceso y déficit de cobre.



## REFERENCIAS

Araya M, Olivares M, Pizarro F, Llanos A, Figueroa G, Uauy R. Community-based randomized double-blind study of gastrointestinal effects and copper exposure in drinking water. *Environ Health Perspect.* 2004 Jul;112(10):1068-73. PMID: 15238279 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Arredondo M, Cambiazo V, Tapia L, Gonzalez-Aguero M, Nunez MT, Uauy R, Gonzalez M. Copper overload affects copper and iron metabolism in Hep-G2 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004 Jul;287(1):G27-32. Epub 2004 Feb 26. PMID: 14988066 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Pizarro F, de Pablo S, Araya M, Uauy R. Iron, zinc, and copper: contents in common Chilean foods and daily intakes in Santiago, Chile. *Nutrition.* 2004 Feb;20(2):205-12. PMID: 14962688 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Tapia L, Gonzalez-Aguero M, Cisternas MF, Suazo M, Cambiazo V, Uauy R, Gonzalez M. Metallothionein is crucial for safe intracellular copper storage and cell survival at normal and supra-physiological exposure levels. *Biochem J.* 2004 Mar 1;378(Pt 2):617-24. PMID: 14627437 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Araya M, Koletzko B, Uauy R. Copper deficiency and excess in infancy: developing a research agenda. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Oct;37(4):422-9. Review. PMID: 14508211 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Araya M, Olivares M, Pizarro F, Gonzalez M, Speisky H, Uauy R. Gastrointestinal symptoms and blood indicators of copper load in apparently healthy adults undergoing controlled copper exposure. *Am J Clin Nutr.* 2003 Mar;77(3):646-50. PMID: 12600855 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Araya M, Olivares M, Pizarro F, Gonzalez M, Speisky H, Uauy R. Copper exposure and potential biomarkers of copper metabolism. *Biometals.* 2003 Mar;16(1):199-204. Review. PMID: 12572679 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Lonnerdal B, Abrams SA, Pizarro F, Uauy R. Age and copper intake do not affect copper absorption, measured with the use of stable isotopes. *Am J Clin Nutr.* 2002 Sep;76(3):641-5. PMID: 12198012 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Pizarro F, Olivares M, Araya M, Gidi V, Uauy R. Gastrointestinal effects associated with soluble and insoluble copper in drinking water. *Environ Health Perspect.* 2001 Sep;109(9):949-52. PMID: 11673125 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Araya M, Pizarro F, Uauy R. Nausea threshold in apparently healthy individuals who drink fluids containing graded concentrations of copper. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2001 Jun;33(3):271-5. PMID: 11407930 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Zacarias I, Yanez CG, Araya M, Oraka C, Olivares M, Uauy R. Determination of the taste threshold of copper in water. *Chem Senses*. 2001 Jan;26(1):85-9. PMID: 11124219 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Araya M, Uauy R. Copper homeostasis in infant nutrition: deficit and excess. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000 Aug;31(2):102-11. Review. No abstract available. PMID: 10941959 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Arredondo M, Uauy R, Gonzalez M. Regulation of copper uptake and transport in intestinal cell monolayers by acute and chronic copper exposure. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Apr 6;1474(2):169-76. PMID: 10742596 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Uauy R, Icaza G, Gonzalez M. Models to evaluate health risks derived from copper exposure/intake in humans. *Adv Exp Med Biol*. 1999;448:17-28. Review. No abstract available. PMID: 10079812 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Pizarro F, Olivares M, Uauy R, Contreras P, Rebelo A, Gidi V. Acute gastrointestinal effects of graded levels of copper in drinking water. *Environ Health Perspect*. 1999 Feb;107(2):117-21. PMID: 9924006 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Uauy R, Olivares M, Gonzalez M. Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr*. 1998 May;67(5 Suppl):952S-959S. Review. PMID: 9587135 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Pizarro F, Speisky H, Lonnerdal B, Uauy R. Copper in infant nutrition: safety of World Health Organization provisional guideline value for copper content of drinking water. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998 Mar;26(3):251-7. PMID: 9523857 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Uauy R. Limits of metabolic tolerance to copper and biological basis for present recommendations and regulations. *Am J Clin Nutr*. 1996 May;63(5):846S-52S. Review. PMID: 8615373 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Olivares M, Uauy R. Copper as an essential nutrient. *Am J Clin Nutr*. 1996 May;63(5):791S-6S. Review. PMID: 8615366 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Castillo-Duran C, Vial P, Uauy R. Oral copper supplementation: effect on copper and zinc balance during acute gastroenteritis in infants. *Am J Clin Nutr*. 1990 Jun;51(6):1088-92. PMID: 2349923 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Castillo-Duran C, Vial P, Uauy R. Trace mineral balance during acute diarrhea in infants. *J Pediatr*. 1988 Sep;113(3):452-7. PMID: 3411389 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Castillo-Duran C, Uauy R. Copper deficiency impairs growth of infants recovering from malnutrition. *Am J Clin Nutr*. 1988 Apr;47(4):710-4. PMID: 2451417 [PubMed - indexed for MEDLINE].



Uauy R, Castillo-Duran C, Fisberg M, Fernandez N, Valenzuela A. Red cell superoxide dismutase activity as an index of human copper nutrition. *J Nutr*. 1985 Dec;115(12):1650-5. PMID: 3934352 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Castillo-Duran C, Fisberg M, Valenzuela A, Egana JI, Uauy R. Controlled trial of copper supplementation during the recovery from marasmus. *Am J Clin Nutr*. 1983 Jun;37(6):898-903. PMID: 6405607 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Castillo Duran C, Fisberg M, Uauy R. [Copper as an essential mineral for human nutrition]. *Rev Chil Pediatr*. 1982 May-Jun;53(3):262-8. Spanish. No abstract available. PMID: 7156439 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Puentes R, Uauy R, Castillo C. [Copper deficit in infants]. *Rev Chil Pediatr*. 1982 Mar-Apr;53(2):144-9. Spanish. No abstract available. PMID: 6817392 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Fisberg M, Castillo Duran C, Egana JI, Uauy R. [Conditioning factors in hypocupremia in marasmic children]. *Rev Chil Pediatr*. 1981 Sep-Oct;52(5):410-4. Spanish. No abstract available. PMID: 6806871 [PubMed - indexed for MEDLINE].



## **EL ESCENARIO REGULATORIO AMBIENTAL EN EUROPA: OPORTUNIDADES Y DESAFÍOS PARA LA INDUSTRIA DEL COBRE**



**Katrien Delbeke, Ilse Schoeters & Thierry Gerschel\***

European Copper Institute, Tervurenlaan 168, B-1150  
Brussels, Belgium.

---

\* [kmd@eurocopper.org](mailto:kmd@eurocopper.org); [isc@eurocopper.org](mailto:isc@eurocopper.org); [teg@eurocopper.org](mailto:teg@eurocopper.org).

## INTRODUCCIÓN

En el curso de su continua expansión, la Unión Europea ha enfrentado oportunidades y desafíos ambientales críticos. En su estructura original de 15 miembros (UE-15), abarcaba 3 millones de km<sup>2</sup>, que se extendían desde el Círculo Ártico hasta las cálidas aguas del Mediterráneo, con hábitats naturales que iban desde ambientes alpinos hasta el nivel del mar. Con sus ecoregiones altamente diversas, Europa es al mismo tiempo el continente más urbanizado, y junto a Asia, el más densamente poblado en el mundo.

De acuerdo a estadísticas de la Agencia Ambiental Europea, cada ciudadano de la UE produce 3,5 toneladas de residuos sólidos y usa cerca de 50.000 litros de agua al año. Es evidente que su continua expansión en superficie, diversidad cultural, densidad poblacional, riqueza económica y nivel de vida, trae consigo nuevos desafíos (<http://europa.eu.int>).

Uno de los motores claves del marco regulatorio de la Comisión Europea es asegurar un equilibrio adecuado entre consideraciones económicas, sociales y ambientales, estimulando al mismo tiempo el crecimiento sustentable y el bienestar de las futuras generaciones. En el área de políticas ambientales, ha habido una explosión de regulaciones dirigidas a proteger a las personas y el medio ambiente de la contaminación química, el calentamiento global, los residuos inaceptables, etc. (Tabla 1). Estas políticas se han convertido en grandes desafíos para la industria, que busca mantener su competitividad en los mercados del mundo.

La industria europea del cobre ha seguido estos desafíos muy de cerca y ha determinado que, para poder asegurar la viabilidad de sus mercados, necesita asegurarse que se disponga de la información científica más actualizada para su incorporación a las normativas europeas. Para lograr este objetivo, recientemente la industria del cobre tomó la iniciativa voluntaria de realizar una evaluación de riesgo amplia para entender mejor el impacto potencial que puede tener el cobre y algunos compuesto de cobre sobre la salud humana y el medio ambiente.

Esta revisión echa una mirada breve a algunas tendencias clave de política ambiental en Europa, con relevancia para el cobre, y describe cómo está respondiendo la industria a estos desafíos.

**Tabla I. Áreas de política de la Comisión Europea, agrupadas por temas ambientales (las siglas se han mantenido en su versión en inglés).**

<b>Temas Ambientales</b>	<b>Programas regulatorios claves</b>
Sustancias Químicas	Clasificación y etiquetado Evaluación de riesgo REACH Productos de Protección de Plantas, Pesticidas Sustancias químicas orgánicas persistentes, compuestos orgánicos volátiles, sustancias disruptoras endocrinas Dioxinas, mercurio
Biotecnología	Trazabilidad y etiquetado de organismos modificado genéticamente
Cambio climático	Programa Europeo de Cambio Climático Esquema Europeo de Mercado de Emisiones Programa Europeo de Monitoreo de CO <sub>2</sub>
Industria: producción y productos	Control y Prevención Integrada de la Contaminación (IPPC) Registro Europeo de Contaminación (EPER) Eco-gestión y Esquema de Auditoría (EMAS) Ecoetiquetado europeo de productos Política Integrada de Productos (IPP)
Ruido	Directiva sobre Ruido Ambiental
Salud	SCALE
Aire	Aire Limpio para Europa (CAFE)
Agua	Directiva Marco del Agua Descarga de sustancias peligrosas Directiva de Tratamiento de Aguas Urbanas Residuales Calidad del agua para baño Calidad del agua de bebida
Suelos	Estrategia temática para protección de suelos
Uso de tierras	Evaluación de Impacto Ambiental (EIA) Infraestructura para la Información Espacial en Europa (INSPIRE) Monitoreo Global del Medio Ambiente y Seguridad (GMES) Estrategia de ambiente urbano Manejo Integrado de Zona Costera (ICZM)
Naturaleza y biodiversidad	Natura 2000 Estrategia de biodiversidad Cacería sustentable



Residuos	Directiva de residuos peligrosos Residuos biodegradables Lodos de aguas servidas Fin de vida de vehículos Residuos eléctricos y electrónicos Rellenos sanitarios Aceites residuales Minería Baterías
Desarrollo Sustentable	Uso sustentable de recursos naturales Estrategia temática sobre el medio ambiente urbano
Economía Ambiental	Base de datos sobre instrumentos ambientales en políticas ambientales
Medio Ambiente & ampliación	Programa Regional de Reconstrucción Ambiental

## EL PLAN DE ACCIÓN AMBIENTAL DE LA UNIÓN EUROPEA 2001-2010

En 2001, la evaluación del programa existente identificó la necesidad de introducir mejoras a través de (1) implementación y control efectivo de la legislación; (2) integración de las políticas ambientales con las políticas económicas y sociales; (3) estimular la participación y la acción por parte de la empresa, los ciudadanos y las ONG; y (4) mejorar las medidas para abordar preocupaciones emergentes y persistentes.

Sobre la base de esta evaluación, el Parlamento y el Consejo Europeo desarrollaron el sexto Plan de Acción Ambiental Comunitario, que proporciona orientación estratégica a la política ambiental de la Comisión durante la siguiente década. Se considera este Plan como el componente ambiental de la estrategia comunitaria para el desarrollo sustentable. Subraya la necesidad de una participación amplia de las partes interesadas y reconoce que se requerirá información ambiental actualizada, junto con el uso de indicadores y evaluación económica, para sentar las bases sobre las cuales se diseñe, implemente y evalúe la política ambiental.

El Plan de acción Ambiental (2002) identificó cuatro áreas claves a mejorar: i) cambio climático, ii) protección de la naturaleza y la biodiversidad; iii) medio ambiente y salud en relación a calidad de vida y, por último, iv) el uso sustentable de recursos naturales y el manejo de residuos.

## TENDENCIAS E IMPULSOS IMPORTANTES EN LA ESTRATEGIA AMBIENTAL DE LA UNIÓN EUROPEA

### Armonización de Criterios de Calidad

En Europa, el cobre es en general reconocido como nutriente esencial para el hombre y todos los organismos vivos. Esto está presente en diversos documentos a los niveles nacionales, de la Unión Europea e internacionales (e.g., Uso del cobre para nutrición animal [SCA, 2003]; Guías para la calidad del agua potable - valor guía del cobre [WHO, 1998 y 2004]). Como consecuencia de la esencialidad del cobre, las políticas de la UE generalmente no consideran la exposición humana a cobre como un tema preocupante. La normativa europea más importante relativa a cobre y salud es la Directiva para Agua de Consumo Humano (98/83/EC). Su objetivo es proteger la salud humana de efectos adversos de cualquier contaminante en el agua potable y ha fijado valores límites, aplicables a toda la UE, para parámetros microbiológicos y límites para parámetros químicos (e.g. hidrocarburos aromáticos policíclicos 0,1 µg/L, Cu, 2 mg/L [promedio semanal]). La directiva también incluye valores indicadores para asegurar que el agua no sea agresiva. Al implementar la directiva, los Estados Miembros deben informar la calidad de su agua potable a la Comisión Europea. La UE está ahora desarrollando un programa de aceptación para productos en contacto con el agua potable. La evaluación de las propiedades microbiológicas de los diferentes productos será un elemento clave en el proceso de toma de decisión. Las propiedades antibacterianas del cobre en cañerías de agua potable deberían considerarse un beneficio para la salud humana.

La mayoría de los criterios de calidad, e.g. para aguas superficiales o suelos, aún son fijados a nivel nacional de cada Estado Miembro. Se usan enfoques nacionales muy diferentes, lo que puede resultar en criterios de calidad muy diferentes. Para cobre, los valores límites pueden variar en 2 órdenes de magnitud en la UE-15. La comparación de los datos de monitoreo con estos criterios resulta, obviamente, en diferentes niveles de cumplimiento en los diferentes estados, llevando a percepciones de riesgo y políticas ambientales muy diversas.

Estas diferentes políticas ambientales de los Estados Miembros pueden causar distorsiones de mercado, al introducir restricciones inapropiadas de uso para los productos de cobre, particularmente en el sector de la construcción. En el plan de acción ambiental europeo, la armonización de criterios de calidad, el criterio para identificar sustancias prioritarias, y su monitoreo y control, se han convertido en





altísimas prioridades. El resultado será muy importante para la industria europea del cobre.

### **Estrategias Temáticas**

Dentro del sexto plan de acción ambiental, se han identificado programas de estrategia temática, los que debido a su complejidad requieren un enfoque holístico. La adopción de una estrategia temática permitirá la integración de acciones legislativas por sobre directivas individuales y posiblemente la integración y simplificación de las directivas existentes. Un ejemplo es la Directiva Marco para Agua (WFD 2000/60/EC) que apunta a un plan mejorado de gestión de agua para Europa. Dentro de la WFD, se han fijado o se están fijando criterios de calidad para toda la UE, para una lista de sustancias prioritarias y fuentes de emisión en los diversos ciclos de vida de productos identificados. Para su futura implementación, se están organizando campañas de monitoreo químico (agua, sedimentos, aguas subterráneas) y biológico en toda Europa. Aunque el cobre no está incluido en la primera lista de sustancias prioritarias, en el marco de prioridades nacionales, varios Estados Miembros están en proceso de revisar sus criterios de calidad para cobre, usando la metodología acordada bajo la WFD.

Otras estrategias integradas, similares a la WFD, están siendo desarrolladas en cuatro programas prioritarios – aire limpio para Europa; protección de suelos; protección del ambiente marino y el uso sustentable de pesticidas.

Estos programas estratégicos crean una necesidad crítica de armonizar los criterios de calidad ambiental, y su correcta implementación requiere muestreo extenso y armonizado, así como técnicas de medición. Por lo tanto, para sustancias prioritarias (incluyendo metales pesados, pero también un gran número de sustancias orgánicas), están apareciendo bases de datos mucho más amplias sobre concentraciones ambientales en agua, sedimentos, suelos, lodos, aire, aguas subterráneas y compartimientos biológicos (sangre, orina), las que serán usadas para implementar medidas de reducción de emisiones. Aunque el cobre a menudo no está en las listas prioritarias, las técnicas de monitoreo usadas para medir metales prioritarios a menudo son multi-metálicas, y por lo tanto están apareciendo, y aparecerán más, datos para metales (incluyendo cobre) en compartimientos ambientales.

Otros programas de estrategia temática incluyen prevención y reciclaje de residuos, ambientes urbanos y el uso sustentable de recursos naturales. Los contenidos del primero han ido evolucionando muy rápidamente, con acciones claves relacionadas

con aumentar la calidad y el re-uso de lodos de aguas servidas y bioresiduos (bajo el programa de suelos) y la discontinuación de sustancias peligrosas (e.g., plomo y cadmio) en equipos eléctricos, electrónicos y automotrices y, probablemente dentro de un tiempo, en residuos de construcción y demolición. Un ejemplo de la prevención de residuos es la directiva sobre fin de vida de vehículos, que apunta a lograr una tasa de reciclaje de 85% del peso del vehículo para el 2006 y de 96% para el 2015.

### **Gestión Química: De la Identificación del Peligro a la Caracterización del Riesgo**

Actualmente en Europa las sustancias químicas son manejadas por medio de 4 legislaciones claves: la Directiva de Sustancias Peligrosas (Directiva 67/548/EEC), la Directiva de Preparaciones Peligrosas (Directiva 88/379/EEC), la Regulación de Sustancias Existentes (Regulación 793/93/EEC) y la Directiva de Restricciones del Uso y la Comercialización (Directiva 76/769/EEC).

La gestión química se inició en 1967 con la adopción de la Directiva de Sustancias Peligrosas. El objetivo de la directiva es la identificación de sustancias con propiedades físico-químicas peligrosas, el etiquetado de estas sustancias para informar a usuarios y consumidores y la implementación de requerimientos específicos de envasado para proteger a las personas y el medio ambiente de potenciales peligros. Todas las sustancias que entran al mercado de la UE están sujetas a esta normativa de auto-clasificación. Las sustancias particularmente preocupantes son evaluadas por un comité técnico que propone categorías armonizadas. Las categorías armonizadas que se acuerden, son listadas en el anexo a la directiva, que tiene vigencia legal. La lista contiene más de 3500 sustancias, incluyendo varios compuestos de cobre para los que se identificaron propiedades peligrosas. Vale la pena mencionar que los metales en forma masiva no requieren etiquetado. Además, no se pudo aplicar el sistema clásico de clasificación ambiental a metales y compuestos metálicos de moderada solubilidad. Gracias a la cooperación entre expertos de la OECD, reguladores de la UE, científicos y expertos de la industria, se ha logrado generar métodos específicos para metales, los que están siendo evaluados a nivel de la OECD.

Desde 1967, la Directiva ha sido cambiada muchas veces. Uno de los cambios importantes estableció que las sustancias colocadas en el mercado antes del 18 de septiembre de 1981 sean puestas en una lista llamada EINECS (European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances). Las sustancias de esta lista son

denominadas "sustancias existentes" y ella contiene 100.106 categorías, incluyendo metales y muchos compuestos metálicos. Las sustancias que no están en la lista, y comercializadas por primera vez después de esa fecha, se llaman "sustancias nuevas". Actualmente hay unas 3.000 sustancias nuevas comercializadas en la UE. Sobre estas últimas se impusieron requerimientos estrictos, i.e. deben ser sometidas a pruebas y ensayos por parte de la industria para determinar su riesgo para la salud humana y el medio ambiente *antes* de ser comercializadas.

En 1976 se implementó una directiva (Directiva 76/769/EEC) para proteger a los consumidores y el medio ambiente de las preparaciones y sustancias más peligrosas. En general, se trata de sustancias o preparaciones que son carcinogénicas, mutagénicas, tienen efectos sobre la reproducción o presentan riesgo para el medio ambiente. Las medidas aplicables van desde restricciones de mercado a prohibición total. En 1988, se implementó una directiva que exige la clasificación, etiquetado y el envasado seguro de las preparaciones peligrosas que ingresan al mercado europeo. La directiva fue revisada en 1999 (Directiva 1999/45/EEC) e incluye un artículo sobre aleaciones que reconoce las propiedades especiales de las aleaciones (no son mezclas normales) y la necesidad de un método específico para su clasificación. Para el año 2008, tanto la Directiva de Sustancias Peligrosas como la de Preparaciones Peligrosas habrán sido reemplazadas por el Sistema Global Armonizado de las Naciones Unidas.

En 1993, la regulación de Sustancias Existentes (793/93/EEC) requirió la evaluación de los riesgos de "sustancias existentes" para el hombre, incluyendo trabajadores y consumidores, y el medio ambiente, para asegurar un mejor manejo de tales riesgos. Bajo esta norma, Los Estados Miembros deben realizar evaluaciones de riesgo según las metodologías establecidas en el Documento de Orientación Técnica (TGD). Se da prioridad a las sustancias que suscitan mayor preocupación, y la evaluación estará basada en información proporcionada por la industria, como también en información disponible en los Estados Miembros. Para las Sustancias de Alto Volumen de Producción, el establecimiento de prioridades se basa en el Método de Ranking de Riesgo de la UE (EURAM) un instrumento simple para clasificar sustancias sobre la base de principios de evaluación de riesgo. Usando este método, se han identificado 4 listas de sustancias prioritarias en los últimos 12 años, incluyendo 140 sustancias, entre ellas varios metales (Cd, Zn, Cr, trióxido de antimonio). Toda estas sustancias están siendo sometidas a una evaluación de riesgo para toda la UE.

En estas evaluaciones de riesgo, se recolecta la información sobre la peligrosidad, y las relaciones de dosis-respuesta, desarrolladas para diferentes objetivos ambientales y de salud humana, forman la base de la evaluación de efectos. Esta evaluación de efectos es posteriormente comparada con la información sobre exposición, para evaluar la probabilidad de riesgo a nivel local (emisiones industriales) y regional (fuentes difusas de emisión) de la UE. Si se identifican riesgos potenciales, la evaluación puede refinarse por medio de un análisis en profundidad de las exposiciones o los efectos. En casos de sustancias para las cuales se han identificado riesgos, se deben tomar medidas de reducción de éstos. Estas pueden incluir reducciones de emisiones en sitios de producción o restricciones a mercados y usos. En el proceso de gestión de riesgos, generalmente se prefieren las reducciones de emisión en la fuente por sobre los controles al final de la tubería (e.g., plantas de tratamiento de aguas servidas). El proceso de evaluación de riesgo es muy intenso en uso de tiempo y datos y, por lo tanto, de las más de 100 mil sustancias existentes, sólo 140 están siendo evaluadas, de las cuales 70 han completado el proceso.

### **Gestión Química: el Peso de la Prueba pasa a la Industria - REACH**

A fin de los noventa, los ministerios ambientales europeos evaluaron la efectividad de la política europea para sustancias químicas. Se identificaron varias áreas en que la política no estaba cumpliendo sus objetivos. Hay una falta generalizada de conocimiento a disposición del público sobre las propiedades y usos de las sustancias existentes. El proceso de evaluación de riesgo es lento, intenso en uso de recursos y poco efectivo. La distribución de responsabilidades es inadecuada, pues se tiene a las autoridades públicas convertidas en responsables de la evaluación, en vez del sector que produce, importa y usa las sustancias. La legislación actual sólo exige informar a importadores y fabricantes de sustancias, pero no impone obligaciones similares a los usuarios posteriores. Las decisiones sobre ensayos adicionales sólo pueden tomarse por medio de un extenso procedimiento. Por último, la introducción de medidas de gestión es lenta. El Consejo Europeo por lo tanto concluyó que era necesaria una reforma.

Esto ha llevado al desarrollo de una nueva política de gestión de sustancias químicas, REACH - Registro, Evaluación y Autorización de Sustancias Químicas. Una característica clave de esta propuesta de política es que el peso de la prueba para el uso y manufactura seguros en la UE caerá sobre la industria. Los importadores y fabricantes de sustancias estarán obligados a registrar las que se introduzcan a la UE. Sin registro no habrá ingreso al mercado. El registro exige la entrega de

un documento técnico con propuestas de clasificación, un informe de seguridad química de evaluación de riesgo de todas las etapas del ciclo de vida de la sustancia y, en los casos en que se identifiquen riesgos, la implementación de medidas de gestión de riesgo que garanticen la producción y uso seguro de la misma. Los reguladores evaluarán si la información exigida ha sido recolectada y el informe de seguridad química. Si no se demuestra el uso seguro, se establecerán restricciones. Las sustancias de alta preocupación, es decir sustancias que son carcinogénicas, mutagénicas, que tienen efectos sobre la reproducción (CMR) o son persistentes, bioacumulativas o tóxicas (PBT) sólo serán permitidas a través de un procedimiento de autorización.

Ponerse al día en la caracterización de riesgo para los miles de sustancias actualmente presentes en el mercado europeo implicará un enorme desafío de costos y recursos en la próxima década. Para el cobre, la mayor parte de la inversión se ha puesto en la Evaluación Voluntaria de Riesgo del Cobre. Este informe será la base para un futuro registro del cobre y 4 compuestos de cobre que se comercializan en Europa.

La regulación REACH aún está en desarrollo. Tras una primera lectura de la propuesta por el Parlamento y Consejo, el siguiente borrador de la Comisión se espera para principios del 2006. Además se espera que el proceso REACH culmine en 2007.

### **Desde la Evaluación/Control de Emisiones Industriales a la Evaluación/Control de las Emisiones en el Ciclo de Vida**

Históricamente, la Comisión Europea se ha centrado en las emisiones industriales. Estas son controladas, a nivel de la UE, por la política de Control y Prevención Integrada de la Contaminación (IPPC). Bajo el marco de las estrategias integradas (aire, agua, suelos y ambientes marinos) el monitoreo, evaluación y control de emisiones incluye, o incluirá, no sólo las emisiones industriales, sino también las emisiones durante el uso del producto y su disposición de fin de vida.

Los programas de Política Integrada de Productos y de Evaluación de Riesgo también abarcan la evaluación de las emisiones a lo largo de todo el ciclo de vida del producto (desde producción a eliminación).

El cambio regulatorio desde el control de emisiones de producción al control de emisiones de usos y disposición del producto tiene el potencial de influenciar los mercados de la UE y es por lo tanto muy relevante para la industria de la UE.

## DESAFÍOS Y OPORTUNIDADES PARA LA INDUSTRIA DEL COBRE

### La Evaluación de Riesgo Voluntaria - Una Oportunidad

Adelantándose a la publicación de la cuarta lista prioritaria de evaluaciones obligatorias, la Comisión implementó un enfoque más estructurado para el desarrollo de estas listas. Esto incluyó el desarrollo de una lista preliminar de sustancias que podrían ser prioritarias, a ser actualizada periódicamente. A la industria se le dio la oportunidad de argumentar a favor de sacar su producto de la lista preliminar, sobre la base de una evaluación voluntaria de riesgo. A fines del 2000, el cobre y diversos compuestos de cobre estaban en la lista prioritaria y el sector fue invitado a iniciar un proceso voluntario. La industria respondió positivamente a la solicitud de la Comisión y se comprometió a realizar una Evaluación Voluntaria de Riesgo (EVR) de manera exhaustiva, transparente y oportuna (la industria del plomo también se comprometió a una acción similar). Los Servicios de la Comisión y los Estados Miembros expresaron su satisfacción por esta iniciativa, pues se la consideró como una experiencia muy valiosa como ejercicio de aprendizaje y prueba para los principios de la nueva propuesta REACH.

Durante el período 2001-2002, la industria del cobre, la Comisión y algunos Estados Miembros cooperaron para sentar las bases del proceso. El objetivo conjunto era desarrollar una base científica sólida para la toma futura de decisiones en Europa y, eventualmente en otras partes del mundo. La EVR fue por lo tanto compilada en cooperación con consultores expertos, siguiendo el Documento de Orientación Técnica (TDG) en el contexto de la Regulación 793/93, haciendo al mismo tiempo uso de nuevas y rigurosas metodologías científicas más apropiadas para evaluar el riesgo de elementos esenciales naturales. La EVR ha sido extensamente revisada por un grupo de expertos científicos independientes (paneles de revisión por pares) como también de expertos del Instituto Superior de Sanidad de Italia, país que actuó como revisor.

En mayo de 2005, el documento de la EVR fue entregado a las autoridades de la UE y está actualmente siendo revisado a nivel de la Comisión y por expertos de los estados Miembros. Informes de evaluación, escritos por los paneles de revisión por pares y los expertos italianos, concordaron que la EVR cumplía con lo establecido en el TDG, incorporando a la vez técnicas analíticas y datos científicos actualizados.

Las principales conclusiones del borrador de EVR pueden resumirse de la siguiente manera. Para la población general en la UE, no existen riesgos de salud humana de

exposición a cobre. De hecho, la EVR concluye que, especialmente, las personas mayores tienen un riesgo potencial de deficiencia de cobre y recomienda realizar estudios para evaluar los riesgos de deficiencia en otras subpoblaciones sensibles. La evaluación de riesgo ambiental concluye que no existen riesgos ambientales regionales por exposición a cobre en aguas, sedimentos, suelos o plantas de tratamiento de aguas servidas. A nivel de producción local, aunque para la mayoría de las compañías no se identificaron riesgos, algunas requieren refinar sus análisis y/o reducir sus niveles de exposición.

### **Ciencia versus el Principio Precautorio**

Uno de los motores clave del programa ambiental europeo es la necesidad de información actualizada y confiable, junto con el uso de indicadores y evaluaciones ambientales, como base para la implementación y posterior evaluación de los beneficios de la política. Sin embargo, en ausencia de datos confiables se aplicará el principio precautorio. El TDG proporciona orientación sobre cómo se deben usar "factores de seguridad" para extrapolar de exposiciones agudas a crónicas, de efectos seguros en animales a efectos seguros en el hombre y de datos de ecotoxicidad en una especie a niveles ambientales seguros. El uso de datos científicos apropiados sobre efectos, junto con metodologías de calidad, aumentan la relevancia y certidumbre de las caracterizaciones de riesgo para la salud humana y el medio ambiente, reduciendo la necesidad de factores de seguridad.

Para cobre, existe una enorme cantidad de datos de efecto y exposición ambiental en la literatura científica, informes de Estados Miembros y de la industria. Por lo tanto, los Estados Miembros a menudo han fijado criterios nacionales de calidad ambiental, u orientaciones, aplicando un factor de seguridad al nivel más bajo de efectos informado. Sin embargo, un análisis de los datos disponibles revela que sólo una parte de los datos tienen la calidad científica y relevancia ambiental requeridas para su uso en este contexto. Para la derivación de los umbrales seguros en aguas superficiales, por ejemplo, después de analizar todos los datos sobre efectos, respecto de las prácticas estándar de la UE, cerca de la mitad de los datos tuvo que ser excluida de la base de datos de la EVR. A pesar de esto, se lograron rescatar 125 concentraciones de no efecto observado para cobre crónico (NOEC), que representaban a 22 especies.

Sin embargo, un examen más acucioso de estas bases de datos reveló algunas incertidumbres remanentes que aún impedían derivar un umbral seguro y ambientalmente relevante para cobre en aguas superficiales europeas. La

incertidumbre crucial se relacionaba con las enormes variaciones observadas en los NOECs dentro de una especie. Estas variaciones podían explicarse por los diferentes medios de ensayo de toxicidad usados, y por lo tanto por los diferentes niveles de biodisponibilidad del cobre en los distintos sistemas de ensayo. La caracterización inicial de riesgo también reveló claros traslapes entre toxicidad de cobre, deficiencia de cobre y niveles naturales del metal. Por ende, esta caracterización inicial de riesgo, siguiendo estrictamente las orientaciones técnicas, no era aplicable a cobre. Por lo tanto, se realizó una EVR refinada, y basada en datos científicos, tomando en cuenta información sobre biodisponibilidad, niveles naturales y deficiencia, para todos los compartimientos, lo que finalmente permitió definir umbrales seguros confiables para el cobre en aguas superficiales, sedimentos, plantas de tratamiento de aguas servidas y suelos. Este ejemplo demuestra que el gran volumen de información disponible sobre cobre fue una oportunidad para evitar factores de seguridad injustificados. Para asegurar una interpretación adecuada y un uso correcto de la EVR, fue necesario completar e integrar un amplio programa de investigación sobre biodisponibilidad de cobre en agua, sedimentos y suelos.

### **La EVR de Cobre y sus Usos - Un Desafío para el Futuro**

La meta de la EVR fue establecer una sólida plataforma científica para la toma de decisiones normativas en Europa. La información presentada en el documento, incluyendo los umbrales seguros estimados, debería ser la base para la elaboración de criterios de calidad ambiental en toda Europa. Esta armonización debería incluir la fijación de estándares sitio-específicos para agua, sedimentos y suelos, dependiendo de las características físico-químicas locales. Por ejemplo, para el agua, la EVR concluye que niveles de cobre de hasta 8 microgramos por litro no implicará riesgo para las aguas superficiales. Un agua superficial típica de la UE tiene muchas sustancias que actúan reduciendo la biodisponibilidad del cobre, encontrándose que niveles de hasta 30 microgramos por litro pueden ser perfectamente seguros. Por lo tanto, la fijación de criterios de calidad ecológicamente relevantes, requiere tener en cuenta la biodisponibilidad y la aplicación de los modelos más recientes de biodisponibilidad de cobre.

### **Desarrollo Sustentable - Una Oportunidad Real**

Recientemente la industria del cobre ha expandido sus actividades en temas de desarrollo sustentable. La EVR y un análisis de ciclo de vida son las piedras angulares de este esfuerzo. Para estar preparada para los futuros Programas de Política Integrada de Productos, es claro que la industria necesitará reforzar una amplia conciencia



entre las partes interesadas sobre la disponibilidad y credibilidad de esta labor. Esto deberá incluir los clientes de la industria, ONGs y las autoridades reguladoras locales, nacionales y regionales. Al mismo tiempo, se necesita información adicional relacionada con el reciclaje de cobre. En esta área, el hecho que los productos de cobre puedan reciclarse en un 100%, sin pérdida de rendimiento, es un beneficio sustentable real que fundamenta el amplio uso del cobre.

### **Cambio Climático y Eficiencia Energética - Una Oportunidad Real**

El cambio climático global es a menudo considerado el mayor desafío ambiental en todo el mundo. La Comisión Europea ha ratificado el Protocolo de Kyoto, que exige reducir los gases de efecto invernadero en un 8%, en relación a 1990, para 2008-2012 y en 70% a largo plazo. En esta área, la notable conductividad eléctrica del cobre, con un claro primer lugar entre los metales no preciosos, le proporciona claros beneficios ambientales, al aumentar la eficiencia de los cables eléctricos, de motores y transformadores de voltaje.

## REFLEXIONES FINALES Y CONCLUSIONES

El actual escenario regulatorio ambiental en Europa presenta serios desafíos para la industria y su competitividad global. Sin embargo, la industria del cobre enfrenta importantes oportunidades en Europa. El cobre es claramente considerado un nutriente esencial para el hombre y todas las formas de vida. Dentro del marco normativo, hay una aceptación creciente del hecho que la unión natural del cobre a otros componentes del medio reduce su biodisponibilidad. La amplísima información científica disponible, recolectada y publicada en la Evaluación Voluntaria de Riesgo, ha permitido abordar la mayoría de las preocupaciones existentes respecto a exposición a cobre. Algunos de los desafíos que quedan son una aceptación más amplia por parte de Estados Miembros de los modelos científicos para biodisponibilidad de cobre y su integración a legislaciones relacionadas (Directivas Marco para Agua y Suelos) junto con el desarrollo de modelos de biodisponibilidad marino en el marco de trabajo de la UE relativo al mar.

Por último, el cobre tiene propiedades cada vez más importantes para el desarrollo de programas fuertes de desarrollo sustentable en Europa. El cobre es 100% reciclable, sin pérdida de rendimiento, y actualmente un 40% de la demanda en Europa es abastecida a través del reciclaje y la disposición final de productos de cobre. La reciclabilidad del cobre y sus notables características (e.g., conductividad eléctrica) lo convierten en el material ideal en un amplio campo de aplicaciones, permitiendo que Europa genere, distribuya y use de forma más eficiente la energía eléctrica.

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a John Schonenberger por sus comentarios al borrador de este trabajo.

## REFERENCIAS

<http://europa.eu.int> ; European Commission web site - Environment.

SCAN, 2003. Opinion of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the use of copper in feedstuff.

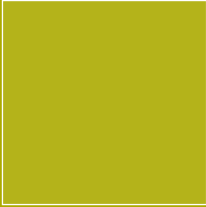
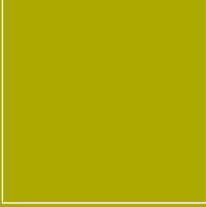
WHO, 2004. WHO Guidelines on Copper in Drinking Water - 3rd edition.

WHO, 1998. Environmental Health Criteria 200 - Copper.

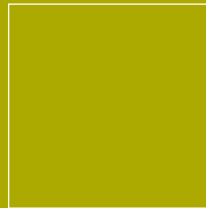
European Council, 2001. European Council Policy statement of 09.03.200. Guidelines on Metals and Alloys used as Food Contact Material.

ECI, 2005. Draft report of the copper Voluntary RA submitted to the European Commission.





## PARTE II LA INVESTIGACIÓN



## UN REQUERIMIENTO VITAL

Muchas personas ignoran que el cobre es un micronutriente esencial, es decir un elemento químico que debe estar presente, en cantidades muy pequeñas, en la dieta para asegurar un buen estado de salud. De hecho, existe una patología heredable, la enfermedad de Menkes, en que fallan los mecanismos de distribución del cobre a los órganos del cuerpo, y que en la mayoría de los casos resulta fatal.

Como ocurre con todos los nutrientes (por ejemplo hierro y zinc) la mantención de niveles adecuados de cobre en el organismo es particularmente crítica durante el desarrollo temprano. Aunque normalmente los lactantes reciben un aporte adecuado del metal a través de la leche materna, no ocurre necesariamente lo mismo cuando se les proporciona leche de fórmula o de vaca, y hay casos en que puede requerirse enriquecer estos alimentos con cobre. Es adecuado recordar la conclusión a la que llegó el Programa Internacional de Seguridad Química de la Organización Mundial de la Salud en su estudio Criterios de Salud Ambiental 200 sobre el cobre: "Los datos disponibles a nivel mundial, pero particularmente en Europa y las Américas, indican que hay un riesgo mayor de efectos de salud debido a deficiencia de ingesta de cobre que debido a exceso de ingesta."

Algún lector podría justificadamente preguntarse qué hace la industria del cobre financiando investigación en el campo de la nutrición humana. Después de todo el cobre presente en los alimentos no fue colocado allí por una empresa del sector, y seguirá estando allí aunque la industria del metal rojo dejara de existir. Tampoco parece muy plausible que un mayor conocimiento sobre el papel del cobre en la nutrición infantil vaya a aumentar las ventas de cátodos del metal. Entonces, ¿por qué? Posiblemente hayan muchas respuestas a esta pregunta dentro del sector, incluyendo algunas voces que dirán que no tiene sentido. Mi respuesta es que se trata de una cuestión de equilibrio. Por muchos años, la imagen pública de los metales no ha sido buena, se los identifica como venenos peligrosos, contaminantes generados por el hombre que dañan al ser humano y la naturaleza, y en general, calificados con el adjetivo de "pesados", como sustancias que se deben eliminar del medio. Situaciones trágicas de gran impacto que involucraron a algunos metales (particularmente plomo y mercurio) han contribuido a esta percepción. Contribuir al conocimiento del otro aspecto de algunos metales, su condición de elementos nutricionales esenciales, no es más que ayudar a restablecer el equilibrio con que debemos considerar el papel que desempeñan los metales en la naturaleza y el fenómeno de la vida.

El siguiente trabajo es una breve aunque ilustrativa revisión del papel del cobre en la nutrición infantil, realizada por un grupo del INTA que ha trabajado por muchos años en este campo y en otros aspectos relacionados con el cobre en alimentos y agua potable.



# 1

## IMPORTANCIA DEL COBRE EN LA NUTRICIÓN INFANTIL



**Manuel Olivares, Fernando Pizarro & Magdalena Araya.**

Laboratorio de Micronutrientes, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.  
Av. El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile.



El cobre es un nutriente esencial para los humanos, necesario para la función de numerosas enzimas. Estudios en animales y humanos han demostrado que este mineral se requiere para un crecimiento normal, mecanismos de defensa, fortaleza ósea, maduración de glóbulos rojos y glóbulos blancos, transporte de hierro y desarrollo cerebral. La esencialidad del cobre para los humanos fue demostrada durante los años 60 en niños peruanos desnutridos y, en la década de los 70, en niños desnutridos chilenos. Estos niños presentaban una anemia refractaria al tratamiento con hierro, disminución de los glóbulos blancos (leucopenia) y alteraciones óseas, todo lo cual se normalizaba con la suplementación por cobre. Las causas principales de la deficiencia de cobre adquirida en los niños son depósitos disminuidos de cobre al nacer (niños prematuros), una ingesta insuficiente de cobre, un aumento de los requerimientos impuestos por el crecimiento y aumento de las pérdidas por diarreas a repetición. En los niños desnutridos se asociaban muchas de estas causas.

Un consumo insuficiente de cobre se puede observar en niños que reciben leche de vaca como fuente exclusiva de leche, ya que esta leche tiene un menor contenido de cobre y menor absorción de este mineral comparada con la leche humana. Es por ello que muchas de las fórmulas lácteas están enriquecidas con cobre. En Chile, a partir de 1999, la leche en polvo entregada gratuitamente a los lactantes por el Ministerio de Salud está enriquecida con cobre, hierro y zinc (Leche Purita Fortificada).

Por otra parte, muchos nutrientes consumidos en exceso pueden ser tóxicos. Una ingesta excesiva de cobre puede ser la consecuencia de la contaminación de los alimentos o bebidas, incluyendo el agua, con este mineral. El niño es uno de los grupos poblacionales más vulnerables tanto respecto a la deficiencia como al exceso de cobre. La deficiencia de cobre constituye la mayor preocupación, debido al mayor riesgo determinado por el aumento de los requerimientos de cobre en este período de la vida; sin embargo, también existiría un aumento del riesgo de toxicidad, en niños pequeños, debido a eventuales limitaciones en su capacidad de manejar una cantidad elevada de cobre, por inmadurez de las funciones gastrointestinales y hepáticas. Es por ello que asegurar una ingesta segura de cobre en los niños, suficiente para prevenir la deficiencia, evitando los riesgos de un exceso de este mineral, es un importante punto a considerar en la nutrición infantil.

El cobre es absorbido preferentemente a nivel del duodeno y es excretado principalmente por la bilis. La absorción de cobre es influenciada por la ingesta y el estado nutricional respecto a cobre. Cuando el aporte de cobre de la dieta es

bajo, aumenta el porcentaje de cobre absorbido y disminuye la excreción de cobre. Lo contrario se produce cuando la ingesta de cobre es excesiva. El aumento de la absorción de cobre es el mecanismo más importante cuando la ingesta es baja y un aumento de la excreción de cobre es el mecanismo predominante cuando la ingesta es elevada.

Cuando el aporte de cobre de la dieta es bajo y los mecanismos compensatorios antes mencionados no son suficientes, se produce la deficiencia de cobre, que puede llegar a ser severa. La deficiencia puede ir desde alteraciones muy leves, en las que sólo se aprecia una disminución de la actividad de algunas enzimas cobre dependientes, pasando por deficiencia moderada a severa, en la que se agrega una disminución de la concentración de cobre y de ceruloplasmina (proteína transportadora de cobre) en el plasma, hasta llegar a deficiencia severa, en la que se añaden las manifestaciones clínicas anteriormente descritas.

Estudios realizados en Chile en la década de los 80 mostraron que la deficiencia de cobre en el niño también alteraba la capacidad de los neutrófilos de fagocitar elementos extraños a nuestro organismo, lo que unido a alteraciones de la inmunidad descritas en esta carencia, explicarían la mayor frecuencia de infecciones respiratorias severas observadas en esta condición. Por otra parte, se demostró que la deficiencia de cobre era capaz de disminuir la ganancia de peso de niños que se estaban recuperando de un episodio de desnutrición.

Más recientemente, nuestro grupo de investigación ha estudiado varias interrogantes respecto a la importancia del cobre en la nutrición infantil. En Chile, hasta hace poco no conocíamos el contenido de cobre de los alimentos más consumidos en nuestro país y cual era el aporte de cobre de la dieta a distintas edades y género. Para estos efectos se analizó el contenido de cobre de 108 alimentos y se realizaron cuatro encuestas de consumo de alimentos en una muestra representativa de la población de Santiago, constituida por 252 sujetos. Las cantidades de cobre ingeridas diariamente fueron  $0,5 \pm 0,3$  mg en lactantes,  $0,8 \pm 0,5$  mg en niños de 1 a 10 años,  $1,4 \pm 0,7$  mg en hombres de 11-19 años,  $1,2 \pm 0,3$  mg en mujeres de 11-19 años,  $0,9 \pm 0,4$  mg en hombres de 20-64 años,  $1,0 \pm 0,4$  mg en mujeres de 20-64 años,  $1,1 \pm 0,3$  mg en hombres mayores de 64 años y  $0,9 \pm 0,4$  mg en mujeres mayores de 64 años. Las ingestas diarias de cobre recomendadas por el Instituto de Medicina de USA se muestran en la Tabla I.



**Tabla 1. Ingestas diarias recomendadas de cobre para ambos sexos**

<b>Grupo</b>	<b>Cobre (mg/diarios)</b>	<b>Grupo</b>	<b>Cobre (mg/diarios)</b>
<i>Lactantes</i>		<i>Adultos</i>	
0-6 meses	0,20 *	>18 años	0,90
7-12 meses	0,22 *		
<i>Niños</i>		<i>Embarazo</i>	1,00
1-3 años	0,34	<i>Lactancia</i>	1,30
4-8 años	0,44		
9-13 años	0,70		
14-18 años	0,89		

\* Ingesta adecuada.

Al calcular el porcentaje de sujetos que consumían menos del promedio de la recomendación estimada por el Instituto de Medicina de USA, se encontró que existía un número no despreciable de sujetos en riesgo de presentar una deficiencia de cobre (Tabla 2). Para los lactantes, este riesgo no se pudo estimar, ya que para esta edad el Instituto de Medicina no provee una recomendación.

**Tabla 2. Porcentaje de sujetos, por grupo de edad y género, que tiene una ingesta diaria de cobre menor al requerimiento estimado promedio\*.**

<b>Edad (años)</b>	<b>Sexo</b>		
	<b>Hombres</b>	<b>Mujeres</b>	<b>Ambos</b>
1 - 10			2,3% (n=43)
11 - 19	8,7% (n=23)	6,3% (n=16)	
20 - 64	16,4% (n=55)	33,3% (n=66)	
>64	7,7% (n=13)	21,1% (n=19)	

\* en paréntesis el número de sujetos estudiados.

Cuando el aporte de cobre por la dieta no es capaz de cubrir los requerimientos se produce una deficiencia de cobre la que según la duración y severidad del menor aporte dietario tiene un espectro de manifestaciones. Existe poca información

de la incidencia de la deficiencia de cobre, especialmente en los países en vías de desarrollo. La mayoría de los estudios han sido realizados en un número pequeño de sujetos y utilizando la medición de cobre y ceruloplasmina séricos, por lo que no hay información sobre la frecuencia de la deficiencia leve de cobre. Estudios efectuados en el marco del proyecto "Latin-American Network Program on Copper and Health Research" aportan nueva información sobre la frecuencia de deficiencia de cobre moderada en nuestra región. En Perú, la frecuencia de sujetos con cobre sérico bajo lo normal fue de 22,7% (n=238) a los 6 meses de edad, 17,4% (n=236) a los 9 meses, 17,1% (n=234) a los 12 meses y 19,9% (n=236) a los 15 meses. En México un 4% de un grupo de lactantes (n=25) presentó cobre sérico bajo lo normal, mientras en Chile la frecuencia de valores de cobre bajo en 320 lactantes de 12 meses fue de un 16,7%. Cabe señalar que en el estudio chileno, este análisis se realizó en muestras de sangre obtenidas antes de la introducción de la leche fortificada con hierro, zinc y cobre. En Argentina, un 8,5% de 209 niños de 4 a 10 años presentó valores bajos de cobre sérico.

Como ya mencionamos, la regulación de la absorción de cobre juega un papel muy importante en el control de su metabolismo, constituyendo un mecanismo de ajuste destinado a minimizar la posibilidad de una deficiencia o exceso. El niño pequeño, por inmadurez de su aparato gastrointestinal, podría tener limitada la capacidad de regular la absorción de cobre. Para tratar de dilucidar esa interrogante, evaluamos la absorción de cobre utilizando un isótopo estable de cobre ( $^{65}\text{Cu}$ ) en 19 lactantes de 1 mes y 20 lactantes de 3 meses de edad, en los que la mitad de ellos recibió 80 mg/kg de cobre administrado por vía oral durante los 15 días previos. El porcentaje de absorción fue bastante alto, cercano al 80%, no existiendo diferencias en la absorción de cobre en los niños de acuerdo a la edad o si habían recibido o no suplementación con cobre. Estos resultados sugerían que los lactantes pequeños no eran capaces de regular la absorción de cobre, o bien que las dosis utilizadas en la suplementación con cobre no fueron lo suficientemente altas como para producir un ajuste de la absorción. Como por razones éticas no se podía aumentar la cantidad de cobre administrada, se realizó un estudio de absorción de cobre utilizando un isótopo radioactivo ( $^{67}\text{Cu}$ ) en monos Rhesus, a los que se administró desde el nacimiento y hasta los 5 meses una fórmula láctea con o sin el agregado de 6 mg de cobre por litro.

La ingesta de cobre del grupo que recibió la leche enriquecida con cobre fue aproximadamente 10 veces mayor que la administrada a los lactantes suplementados con cobre en el estudio en humanos. En los monos que recibieron la fórmula

enriquecida con cobre, la absorción de cobre fue la cuarta parte de la observada en los monos que no recibieron cobre, lo que comprobó que el ajuste de la absorción de cobre se produce cuando la ingesta de cobre es suficientemente alta.

En el primer año de vida la leche es una de las principales fuentes de nutrientes. Existen diferencias importantes en la composición de la leche humana y la leche de vaca, así como en la absorción de los minerales. En el estudio anteriormente señalado, realizado en lactantes, la absorción de cobre fue de alrededor de un 80% en leche humana y de 58,6% en la leche de vaca. En otro estudio realizado en lactantes de 6 a 13 meses de edad, utilizando  $^{65}\text{Cu}$ , la absorción de cobre de una fórmula láctea fue de 48,5%.

Más del 90% del cobre ingerido diariamente proviene de los alimentos y el remanente es proporcionado por el agua. En el niño, especialmente el lactante, la proporción de la ingesta de cobre aportada por el agua es mayor debido al mayor consumo de agua por este grupo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció el límite máximo de 2 mg de cobre por litro de agua potable. Con la finalidad de estudiar cuan seguro era este límite máximo de cobre en el agua para los lactantes, realizamos un estudio en 128 lactantes los que a los 3 meses de edad fueron asignados al azar a un grupo que utilizaba el agua potable de Santiago, la que contiene <0,01 mg de cobre por litro, o agua a la que se le añadió cobre para llegar a una concentración de 2 mg/litro. Las aguas eran utilizadas para preparar la leche en polvo que ellos recibían, así como para la preparación de los alimentos y diferentes bebidas que pudieran recibir. Los niños fueron seguidos durante 9 meses, registrándose la morbilidad, crecimiento y a los 6, 9 y 12 meses de edad se realizaron exámenes de laboratorio para evaluar la nutrición de cobre. No se encontraron diferencias entre ambos grupos en la evolución del peso corporal, frecuencia de diarrea o cuadros respiratorios. Los análisis de laboratorio mostraron que ambos grupos no presentaban desde el inicio evidencias de deficiencia de cobre y que tampoco se apreciaron diferencias en estos indicadores de laboratorio durante el curso del seguimiento. Este estudio demostró la seguridad para el lactante del valor máximo de cobre en el agua de la OMS. Por otra parte los resultados de los análisis de laboratorio pueden ser interpretados como una evidencia de una respuesta adaptativa a la ingesta aumentada de cobre, mediante una disminución de la absorción, aumento de la secreción biliar como también por un aumento en los depósitos de cobre hepático.

## **AGRADECIMIENTOS**

La información presentada en este capítulo fue generada por proyectos financiados por CORFO, International Copper Association (ICA), CODELCO, Minera Escondida Ltda, Compañía Minera Zaldivar y Compañía Minera Quebrada Blanca.

## REFERENCIAS

Olivares M, Uauy R. Copper as an essential nutrient. *Am J Clin Nutr* 1996;63: 791S-796S.

Olivares M, Pizarro F, Speisky H, Lönnerdal B, Uauy R. Copper in infant nutrition: safety of WHO provisional guideline value for copper content of drinking water. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 26:251-257.

Uauy R, Olivares M, González M. Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:952S-959S.

Olivares M, Araya M, Uauy R. Copper homeostasis in infant nutrition: deficit and excess. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:102-111.

Olivares M, Lönnerdal B, Abrams S, Pizarro F, Uauy R. Effects of age and copper intake on copper absorption in young infants measured using <sup>65</sup>Cu as a tracer. *Am J Clin Nutr* 2002;76:641-5.

Olivares M, Araya M, Pizarro F, De Pablo S, Uauy R. The risk assessment model and copper exposure from food and water. In: Lagos GE, Warner AEM, Sánchez M., eds. *Copper 2003*. Montreal: Canadian Institute of Mining, Metallurgy and Petroleum, v.2, Health, environment and sustainable development, 2003:317-332.

Uauy R, Gonzalez M, Olivares M, Araya M. Copper and human health: effects of deficit and excess. In: Lagos GE, Warner AEM, Sánchez M., eds. *Copper 2003*. Montreal: Canadian Institute of Mining, Metallurgy and Petroleum, v.1 Plenary Lectures, Economics, and Applications of Copper, 2003:7-31.

Olivares M, Pizarro F, de Pablo S, Araya M, Uauy R. Iron, zinc and copper: contents in common Chilean Foods and daily intakes in Santiago, Chile. *Nutrition* 2004;20(2)205-212.

## **COBRE EN AGUA POTABLE: EFECTOS AGUDOS Y UMBRALES**

Uno de los usos del cobre es la manufactura de cañerías destinadas a conducir agua para el consumo humano. Aunque el cobre es un nutriente esencial, sabemos que en exceso puede tener algún grado de toxicidad. Por esta razón, en muchos países el nivel máximo de cobre en el agua potable está normado por ley. En Chile, éste es de 2 mg por litro (mg/L) mientras que en Estados Unidos es de 1,7 mg/L (curiosamente, el valor máximo recomendado por la Organización Mundial de la Salud es mayor: 2 mg/L). Estos valores se fijan sobre la base de estudios que buscan determinar la concentración de la sustancia en agua que no produce ningún efecto adverso. Hasta hace pocos años existía un grado importante de incertidumbre sobre este nivel para el cobre, así como sobre el tipo de efectos y su severidad. Cuando hay incertidumbre, se encienden las luces de alarma de los organismos reguladores y en tales casos, por precaución, se tiende a establecer límites máximos permitidos tan bajos como sea posible. Aunque las cañerías de cobre en presencia de agua potable químicamente normal (es decir no agresiva) liberan cantidades muy pequeñas de cobre al agua, el establecimiento de niveles normados muy bajos podría tener impactos relevantes para los mercados del metal, además de contribuir a una imagen injustificadamente riesgosa del material. Por otra parte, si efectivamente hubiera evidencia de efectos severos del cobre en agua potable sobre la salud de los consumidores, sería un deber de la industria enfrentar tal realidad.

El trabajo que sigue sintetiza años de estudio por un grupo del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) en Chile, para acotar las incertidumbres que existían tanto sobre la naturaleza de los efectos como el nivel de cobre en agua potable al que comienzan a darse tales efectos. Los resultados obtenidos por este grupo han desempeñado un papel crítico en contribuir a que organismos internacionales definan sus recomendaciones en esta área sobre la base de evidencia científica.







## 2

# EFFECTOS AGUDOS DEL COBRE EN EL SER HUMANO



**Magdalena Araya, Manuel Olivares & Fernando Pizarro**

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos,  
Universidad de Chile; Av. El Líbano 5524, Casilla 138-11,  
Santiago, Chile.

## INTRODUCCIÓN

La ingesta dietaria de cantidades suficientes de proteínas, grasas y azúcares por parte de grandes grupos de seres humanos en el mundo ha puesto de manifiesto que los minerales, contenidos en cantidades ínfimas (microgramos) en la dieta habitual, juegan un papel fundamental en la salud del ser humano. Dentro de estos elementos, el cobre es especial porque es esencial y al mismo tiempo puede ser tóxico, dependiendo de la cantidad que se ingiere. Que sea esencial significa que obligatoriamente debe ingerirse en ciertas cantidades desde la concepción del embrión o el individuo muere, de ahí su nombre, esencial para la vida. Su presencia se necesita para múltiples funciones, por ejemplo, para que se produzca el crecimiento normal del niño, para que los mecanismos de defensa sean eficientes, para que se logre buena calidad en los huesos, que las células de la sangre sean normales, el transporte de hierro sea adecuado y que el desarrollo del cerebro sea normal.

## EL COBRE EN EL AGUA

Desde hace más de una década se despertó el interés a nivel internacional por la posibilidad de que el cobre contenido en el agua de bebida (o sea, el agua ya tratada y lista para ser consumida por las personas), que en general contiene pequeñas cantidades del metal, pudiera tener efectos tóxicos en el ser humano. Entender este fenómeno resulta un problema complejo ya que las aguas naturales difieren bastante en su contenido de cobre. En ellas el cobre está asociado a la materia particulada del agua, en concentraciones de microgramos por litro. Se ha descrito que la concentración típica es de 0,0075-0,066 mg/L en América del Norte, 0,0008-0,010 mg/L en Asia y 0,003-0,019 en los ríos del Reino Unido. El agua de bebida contiene concentraciones un poco mayores a las observadas en aguas naturales. Esto obedece a varios factores, por ejemplo: las variaciones del pH, la dureza, el oxígeno disuelto y los agentes oxidantes capaces de acomplejar el cobre contenidos en el agua, y la corrosión de las cañerías de cobre con que se transportan estas aguas. Por ejemplo, las concentraciones de cobre varían entre 0,005 y 18 mg/L en aguas corrientes y estancadas en EEUU. En Holanda, se han medido concentraciones de 0,2 a 3,8 mg/L en aguas de cañerías que se dejan estancadas hasta por 16 horas. Hasta hace poco no existían estudios que establecieran los efectos del cobre en el tubo digestivo.

## LOS EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN AGUDA DE COBRE

Cuando el cobre llega al estómago unido a diversos componentes de la dieta (proteínas, lípidos, otros) está menos disponible para interactuar con la pared del estómago que cuando está en estado iónico, como cuando se ingiere en solución. El organismo posee potentes mecanismos de homeostasis que regulan la absorción de cobre en un amplio rango de ingestas. Esto explica porqué la toxicidad por ingestión de comidas ricas en cobre es rara, y es más frecuente cuando se ingiere como sales de cobre disueltas en agua. Dado que el cobre en solución tiene un fuerte gusto metálico, desagradable, la ingesta de cantidades excesivas ocurre muy rara vez. Desde muy antiguo se pensó que el gusto metálico representaba una buena característica ya que alertaba a la persona. Más adelante se analizan estudios realizados en Chile que evaluaron este aspecto.

Buena parte de las publicaciones sobre toxicidad de cobre se refieren a casos de suicidas (que ingieren hasta 100 o más gramos de cobre) o a la ingestión accidental de bebidas contaminadas (te o café preparados con agua hervida en hervidores de cobre o bebidas de máquinas con el dispensador hecho de cobre). En la mayoría de los casos el cobre induce náusea, vómitos, diarrea y dolor abdominal; cuando la ingestión es masiva se ha descrito falla de múltiples órganos y sistemas, shock y muerte. La primera respuesta a la ingesta aguda de cobre se origina en el estómago; allí, los iones de cobre estimularían receptores que a su vez van al nervio vago, el cual induce la respuesta de vómito. No es claro como se origina la respuesta de diarrea.

### Estudio de los Efectos Agudos del Cobre

Hace alrededor de 10 años, considerando que el agua que consume la población debe ser segura, que la información contenida en la literatura era anecdótica y científicamente rebatible, y que la práctica de auto administrarse suplementos de (vitaminas y) minerales es cada vez más frecuente en la sociedad occidental, un equipo de investigadores del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) de la Universidad de Chile realizó una serie de estudios clínicos controlados que permitieron definir los efectos precoces de la exposición aguda a bajas concentraciones de cobre. La serie de estudios que describiremos a continuación permitieron la caracterización de estos síntomas, en un rango que representa los efectos adversos precoces sin alcanzar el rango de la toxicidad. Los estudios se realizaron en adultos aparentemente sanos de nivel socioeconómico medio-bajo, que vivían en Santiago, que tenían por lo menos 8 años de escolaridad, que no tenían experiencia como sujetos de estudio previamente, que recibieron información detallada sobre el protocolo que se realizaría y dieron su consentimiento informado

por escrito antes de iniciar los ensayos. El Comité de Ética para Investigación en seres Humanos del INTA (el cual es aceptado por el National Institute of Health (NIH) de EEUU), aprobó el protocolo de estudio previo a su realización.

Para estos estudios se utilizó lo que se llama un diseño de “peor escenario”, es decir, que el ensayo se realiza en las condiciones en que los factores que pueden influir en el resultado están dados de la manera más intensa, de manera que es más probable observar el fenómeno. La ventaja de este diseño es que permite definir la relación entre el fenómeno que se mide (respuesta digestiva) y la condición que lo produce (concentración de cobre a que se expone el individuo) de manera estricta y controlada, lo que hace posible construir una curva dosis-respuesta. La desventaja es que la situación que crea no necesariamente representa cómo se da el fenómeno en la realidad. En el caso que nos interesa esto significó que los participantes ayunaron toda la noche para que cuando se hiciera la prueba, consistente en tomar un vaso de 200 ml de agua con la concentración de cobre a evaluar, el estómago estuviera libre de resto alimenticios que pudieran unirse al cobre y, al mismo tiempo, que el pH del estómago fuera bajo. De esta manera se conseguía que el cobre tuviera la oportunidad de interactuar con la pared gástrica sin que una parte de la dosis fuera retenida por alimentos.

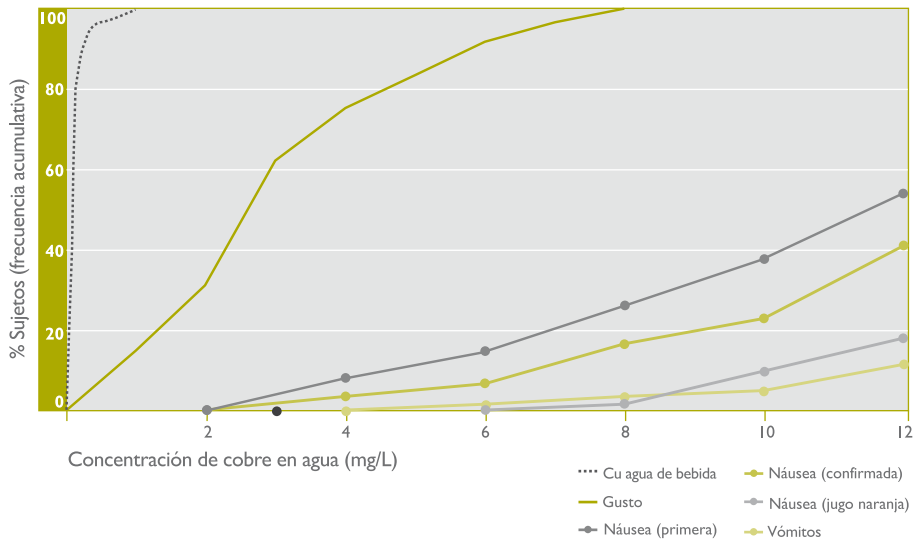
Los estudios evaluaron entre 0 y 12 mg/L de cobre entregado como sales solubles (sulfato de cobre) e insolubles (óxido de cobre) de cobre. Desde los primeros estudios se hizo claro que la primera y más frecuente respuesta a la exposición a dosis bajas de cobre es la náusea, generalmente de baja intensidad y transitoria. La solubilidad de la sal utilizada no mostró diferencias en los resultados. Asimismo, los resultados fueron semejantes cuando se utilizó agua destilada, agua desmineralizada, agua de la llave o agua comercializada como “agua de manantial”. La concentración de cobre a la cual el número de individuos que decían experimentar náusea aumentó significativamente en comparación al grupo que tomaban agua sin cobre, fue 4 mg/L. Esta concentración se definió como la dosis “umbral” para náusea.

La sensibilidad de los individuos participantes en los estudios fue bastante variable, ya que a esa misma concentración un 5% de los participantes vomitaron poco después de sentir la náusea. La diarrea y el dolor abdominal fueron poco frecuente a las concentraciones evaluadas (0-12 mg Cu/L). Cuando se estudió la capacidad de gustar el sabor del cobre, se encontró que sólo la mitad de los individuos fueron capaces de gustar el cobre contenido en solución a concentraciones que van de 2,6 a 3,4 mg Cu/L. Por lo tanto, la antigua creencia de que estaríamos “protegidos” de ingerir cantidades excesivas de cobre por su mal sabor, demostró no ser correcta, ya que la otra mitad de los sujetos podía alcanzar la dosis umbral para náusea (4 mg Cu/L) sin degustar el cobre.

Dado que la náusea es un fenómeno inespecífico, que podría responder a numerosos factores ajenos al cobre, se hicieron estudios adicionales para caracterizar mejor la respuesta que se obtenía en los estudios. Se evaluó la “reproducibilidad” de las respuestas, observándose que el 87,5% de los individuos confirmaron sus respuestas cuando éstas se dieron entre 10 y 12 mg Cu/L. En cambio, sólo 44,4% de ellas fueron confirmadas cuando la primera respuesta se dio entre 4 y 6 mg Cu/L. Por otra parte, se encontró que la capacidad de gustar el cobre en solución, que tiene un rango bastante alto de variabilidad, no guardaba relación con la capacidad de experimentar náusea.

Es evidente que en la vida diaria es poco frecuente que los individuos beban un vaso de agua pura como primer alimento en la mañana. Por este motivo se repitió el protocolo usando una bebida con sabor a naranja, bebida frecuentemente consumida como primer alimento del desayuno, como vehículo para entregar la dosis de cobre; así, a 200 ml de jugo de naranja se le agregó la concentración de cobre a la cual el individuo había experimentado náusea. En estas condiciones, se observó que la frecuencia con que los individuos reportaron náusea bajó a más de la mitad, y ninguno tuvo vómitos o diarrea. La Figura 1 muestra la familia de curvas que se pudo construir con la serie de estudios descritos.

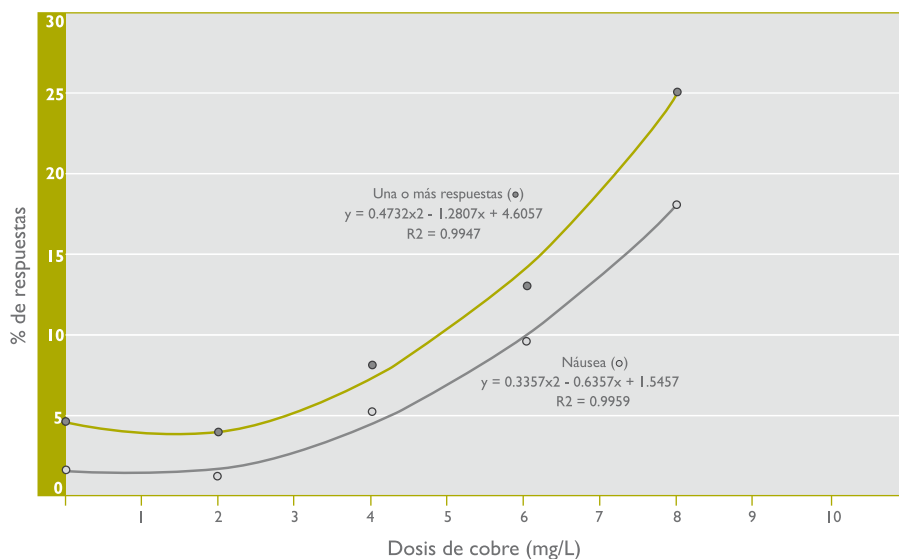
**Figura 1. Curvas de aparición de respuesta (náusea) a distintas dosis de cobre.**



Otro punto de discusión era la calidad de la sal de cobre que se ingeriera. Como se mencionó, las sales insolubles de cobre mostraron un efecto semejante al de las sales solubles, sugiriendo que al pH tan bajo del estómago las sales se disuelven y por lo tanto tienen un comportamiento similar. Por otro lado, el estudio de poblaciones de culturas y hábitos muy distintos (provenientes de EEUU, Irlanda del Norte, China y Chile) mostraron que la curva de dosis de respuesta era semejante, lo que permitió calcular un “Nivel de cobre sin efecto observable” (No Observed Effect Level o “NOEL”) para agua (Figura 2).

En otra serie de estudios se demostró que el efecto náusea se relaciona al volumen y a la concentración ingerida, a mayor volumen menor efecto y a mayor concentración mayor efecto. Finalmente, el efecto del cobre a dosis bajas en la mucosa digestiva resultó específico para el estómago. Estudios en este sentido mostraron que la presencia de cobre hacía variar significativamente la permeabilidad de la mucosa gástrica, pero no modificaba la del intestino delgado.

**Figura 2. Individuos que experimentaron uno o más síntomas gastrointestinales (náusea, vómito, diarrea y/o dolor abdominal) (●) o sólo náusea (○), en función de la concentración de cobre.**



## Confirmación de los Resultados en un Estudio de Comunidad

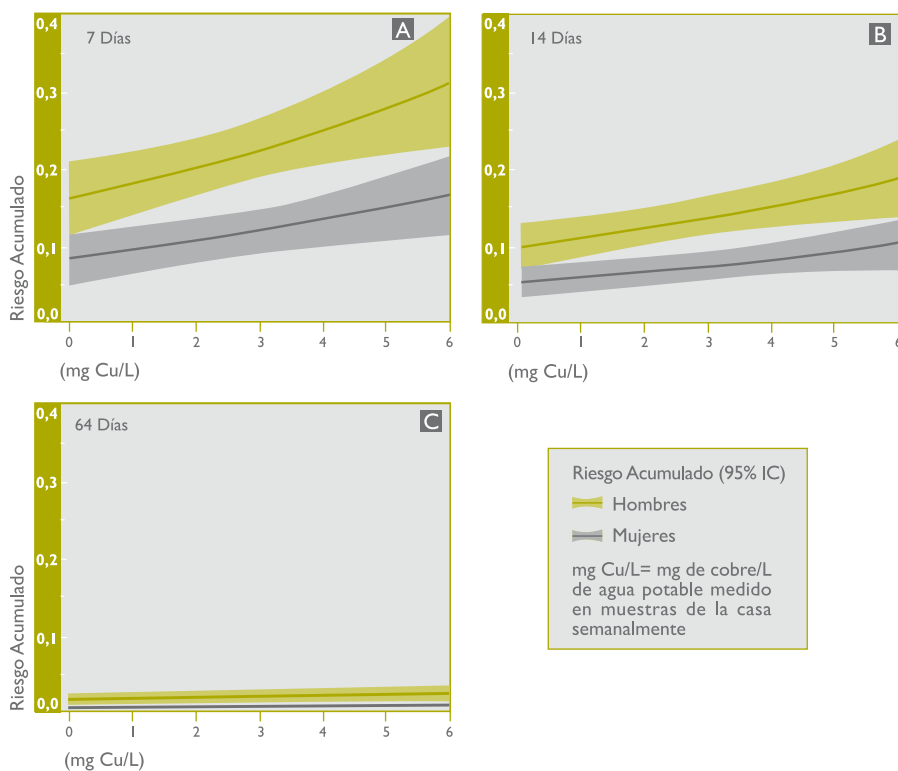
Como se dijo anteriormente, el diseño del “peor escenario” es discutible porque controla los factores que intervienen en el fenómeno hasta tal punto que la situación de estudio no representa necesariamente la realidad. En el caso que analizamos esto significa que había que cambiar de diseño de estudio e investigar hasta qué punto la curva dosis-respuesta que se había construido se podía observar en la vida real, cuando los individuos bebieran las aguas habitualmente consumidas, el cobre se ingería como las diversas sales que se dan naturalmente en el agua, y además se ingería no sólo como una solución de cobre en agua sino como realmente ocurre, como te, café, sopas, etc. Este tipo de estudio requiere evaluar un grupo grande de personas que durante el período de observación mantengan sus actividades cotidianas lo más cercanas a su vida real posible. Esto se logró llevando a cabo un ensayo de dos meses de duración en una comunidad del sector sureste de Santiago. Desde el punto de vista de diseño, se eligió un ensayo aleatorio en doble ciego. Las más de 400 familias participantes aceptaron preparar todos los días el agua que consumiría la familia durante la jornada diaria. Estas aguas “de estudio” se prepararon de manera tal que hubiera cuatro grupos; uno consumiría muy poco cobre ( $<0,01$  mg Cu/L, la concentración habitual del agua de cañería en Santiago), o bien concentraciones conocidas, de 2, 4 o 6 mg Cu/L (como sulfato de cobre). Al mismo tiempo, todos los días se llenaba un diario de vida, llevado individualmente, que registraba la cantidad y tipo de líquidos que se había consumido en el día y los síntomas que hubiera experimentado el dueño del diario. Para medir el efecto se definieron los cuatro síntomas identificados previamente como los más frecuentes (náusea, vómito, diarrea y dolor abdominal). Una persona de la familia (generalmente la madre) supervisaba todas las noches que los diarios estuvieran completos; personas especialmente entrenadas trabajaban en la comunidad todos los días, visitando las casas para verificar cuánta agua “de estudio” había en ese momento, revisar el registro de información, tomar muestras periódicas del agua que se estaba consumiendo ese día, identificar problemas y solucionarlos, etc.

Tanto organismos internacionales y nacionales reconocieron la relevancia que tendrían los resultados de este estudio, por lo que la Organización Panamericana de la Salud (OPS), a petición del gobierno de Chile, formó una Comisión de Expertos Técnicos (*International Technical Advisory Group, ITAG*) que revisó y aconsejó al equipo que ejecutaba el estudio tanto en aspectos de diseño como de su conducción y análisis de resultados.



El análisis de resultados mostró que 222 de los 1365 individuos (16,3%) evaluados reportaron alguna molestia, por lo menos una vez. Las personas que dijeron sufrir molestias fueron más frecuentemente mujeres (64,2%,  $p=0,000$ ); las molestias reportadas por los individuos de 60 años o más representaron 2,6%. Usando la prueba de  $\chi^2$  la frecuencia con que se reportaron síntomas aumentó significativamente a la concentración de 4 mg/L, confirmando los resultados de los ensayos anteriores. El reporte de síntomas disminuyó significativamente a lo largo de los dos meses de estudio ( $\chi^2=486,909$ ;  $p=0,0000$ ). La Figura 3 muestra la curva de riesgo de sufrir síntomas a lo largo del tiempo para hombres y mujeres, obtenida mediante el sistema estadístico llamado "counting process analysis". La posibilidad de sufrir náusea es mayor entre las mujeres; tanto para hombres como para mujeres disminuye a lo largo del tiempo, probablemente debido a un fenómeno de acostumbramiento a la exposición.

**Figura 3. Curva de riesgo de sufrir síntomas a lo largo del tiempo en hombres (verde) y mujeres (gris) en los días 7 (panel A), día 14 (panel B) y día 64 (panel C) de exposición a cobre en el agua. Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza (95% por encima y por debajo del promedio).**



En resumen, la serie de estudios controlados de tipo experimental y de seguimiento comunitario que hemos presentado permitieron establecer los efectos más frecuentes y precoces derivados de la exposición aguda a cobre en agua. Estos estudios constituyeron buena parte de la base científica analizada recientemente por la OMS, que confirmó el nivel de 2 mg Cu/L en agua como una cifra de ingesta segura para los seres humanos.

## **AGRADECIMIENTOS**

La información presentada en este capítulo fue generada por proyectos financiados por Cochilco (CTA), ICA y Fondecyt (1040797).

## REFERENCIAS

Araya M, Olivares M, Pizarro F, Llanos A, Figueroa G, Uauy R. Community-based randomized double-blind study of gastrointestinal effects and copper exposure in drinking water. *Environ Health Perspect*. 2004 Jul;112(10):1068-73.

Araya M, Bingheng Ch, Klevay LM, Strain JJ, Johnson L, Robson P, Shi W, Nielsen F, Zhu H, Olivares M, Pizarro F, Poirier KA. Confirmation of an Acute No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) and Low-Observed-Adverse-Effect Level (LOAEL) for Copper in Bottled Drinking Water in a Multi-site International Study. *Regul Toxicol Pharmacol* 2003;38:389-99.

Araya M, Koletzko, Uauy R. Copper deficiency and excess in infancy: Developing a research agenda. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Oct;37(4):422-9.

Araya M, Peña C, Pizarro F, Olivares M. Gastric response to acute copper exposure. *Sci Total Environ* 2003 Mar 1;303(3):253-7.

Araya M, McGoldrick MC, Klevay L, Strain JJ, Robson P, Nielsen, Olivares M, Pizarro F, Johnson L, Baker S, Poirier K. Determination of an Acute No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL) for Copper in Water. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2001;34:137-45.

Olivares M, Araya M, Pizarro F, Uauy R. Nausea threshold in apparently healthy individuals who drink fluids containing graded concentrations of copper. *Reg Tox Pharmacol*, 2001;33:271-5.

Zacarias I, Yáñez CG, Araya M, Oraka C, Olivares M, Uauy R. Determination of the taste threshold of copper in water. *Chemical Senses* 2001;26:85-9.

Gotteland M, Araya M, Pizarro F, Olivares M. Effect of Acute Copper Exposure on Gastrointestinal Permeability in Healthy Volunteers. *Dig Dis Sci* 2001;46:1909-14.

Pizarro F, Olivares M, Araya M, Gidi V, Uauy R. Gastrointestinal effects associated with soluble and insoluble copper in drinking water. *Env Health Perspect* 2001;109:949-52.

F. Pizarro, M. Olivares, R. Uauy, P. Contreras, A. Rebelo, V. Gidi. Acute gastrointestinal effects of graded levels of copper in drinking water. *Environ Health Perspect* 1999;107:117-121.

## EL COBRE Y SU LUGAR EN LA CÉLULA VIVA

Como otros metales, el cobre ha sido parte integral de la maquinaria de la vida desde el inicio de la evolución. Al interior de cada célula, desde la más simple bacteria a las neuronas del cerebro humano, el cobre desempeña funciones de cofactor, o elemento accesorio clave para el funcionamiento de ciertas proteínas. En todos los casos conocidos, esta función se basa en una misma propiedad que este metal comparte con otros elementos: su gran capacidad para actuar flexiblemente, de acuerdo a las condiciones del entorno, ya sea como donante o receptor de electrones. Las transferencias de electrones entre moléculas están en la base de la mecánica molecular de la vida, y se las conoce técnicamente como reacciones de oxido-reducción.

Todo componente de la célula es funcional a su mantención, crecimiento y reproducción, mientras su concentración intracelular o tisular se mantenga dentro de ciertos rangos. Por sobre el máximo del rango, el elemento puede alterar el curso normal de reacciones vitales, causando enfermedad o intoxicación. Por debajo del mínimo, su carencia puede implicar el deterioro o detención de reacciones vitales, causando síntomas de deficiencia que pueden llevar a enfermedad o muerte. Dada esta restricción, los seres vivos han desarrollado complejos sistemas de regulación para mantener la concentración interna de estos elementos dentro del rango adecuado. Por ejemplo, si la concentración sube demasiado, se activan mecanismos que aceleran la eliminación del elemento y retardan su absorción. Si baja demasiado, lo inverso. Este tipo de mecánica, con algunas variantes que apuntan al mismo fin, se conoce como homeostasis.

Como todo mecanismo complejo, la regulación homeostática puede fallar. La causa más simple que uno puede imaginar para esto es que una de las piezas del mecanismo esté fallada. En la célula, estas piezas corresponden a proteínas cuya función es atrapar o liberar cobre, dejarlo pasar entre regiones separadas de la célula o desde el intestino a la sangre y viceversa. Estas proteínas son codificadas por genes, y los genes están sujetos a cambios, que llamamos mutaciones. Aunque tengan un efecto parcial sobre la regulación de los niveles de cobre en el cuerpo, si estas mutaciones se expresan en un individuo que lleva una versión normal del gen en el otro cromosoma del par, pueden pasar de generación en generación sin efectos nocivos notorios. Si en un individuo se encuentran dos mutaciones similares, en él se expresará la falla que, como veremos, puede ser incluso letal.

La siguiente revisión, realizada por el Dr. Al Lewis, hace un recorrido sumario pero contundente por nuestro entendimiento actual de los mecanismos homeostáticos del cobre en seres humanos, así como de las enfermedades genéticas que han hecho posible y urgente ese conocimiento.



3

## DESEQUILIBRIOS GENÉTICOS EN LA HOMEOSTASIS DE COBRE



Al Lewis\*

Environmental Marketing & Communications Inc.

---

\* AlewisEMCI@aol.com

## INTRODUCCIÓN

El rápido progreso tecnológico que está ocurriendo en laboratorios de investigación médica en todo el mundo está expandiendo nuestro conocimiento de los mecanismos homeostáticos que regulan la absorción, distribución, metabolismo y excreción de cobre en el cuerpo humano. Este conocimiento es esencial para entender las causas, la prevención y, en último término, el tratamiento de condiciones patológicas asociadas al cobre —ya sea por exceso o deficiencia, y sean éstas genéticas o no.

A la base de los problemas del metabolismo del cobre hay defectos genéticos. Por ello, actualmente la investigación se centra en el nivel genético molecular. Estudiando sitios de expresión de dos genes conocidos (los genes Menkes y Wilson) y diversas enzimas y proteínas transportadoras de cobre, y buscando nuevos genes, proteínas y enzimas involucradas en el control y acción del cobre, estamos empezando a entender los efectos adversos que se dan cuando estas moléculas fallan, están en exceso o son deficientes.

## HOMEOSTASIS DE COBRE

El cobre es un micronutriente que es absorbido desde el tracto digestivo (primordialmente en el intestino delgado) y distribuido por la sangre a órganos claves (hígado, riñones, cerebro, placenta) y tejidos en general. El cobre en exceso sale del cuerpo a través de secreciones biliares que llevan el cobre de vuelta al intestino delgado.

Actualmente la ciencia está estudiando los mecanismos que controlan la absorción, distribución, metabolismo y excreción del cobre. Un punto crítico es entender cómo el organismo usa el cobre como cofactor en reacciones esenciales catalizadas por enzimas.

La funcionalidad del cobre en la actividad enzimática está asociada a su alto potencial de oxidación-reducción. Esto implica que el cobre puede donar o aceptar fácilmente electrones dependiendo de lo que requiera una cupro-enzima específica en un entorno celular particular. El cobre puede experimentar reacciones de óxido-reducción reversibles, una propiedad muy útil para controlar enzimas (o sea, activarlas y desactivarlas).

Cuando se une a ciertas enzimas, el cobre ayuda a neutralizar radicales libres, impidiendo así el daño oxidativo que éstos pueden causar a las células de organismos vivos. La relevancia de esto es que actualmente se piensa que los radicales libres están asociados a enfermedades neuro-degenerativas, como la enfermedad de Alzheimer; las enfermedades asociadas a priones, como la Enfermedad de Creutzfeld-Jacob y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (la enfermedad de Lou Gherig). Sin embargo, debido a su alta reactividad, el cobre también puede favorecer el desarrollo de radicales libres cuando no está unido a enzimas. Por estas razones, se ha intensificado el interés en alcanzar un mejor entendimiento de los mecanismos que controlan el metabolismo del cobre y en cómo se desarrollan enfermedades cuando estos mecanismos dejan de funcionar:

A partir del estudio de pacientes con enfermedad de Wilson (una condición de cobre en exceso) y de Menkes (una condición de deficiencia de cobre) los científicos se dieron cuenta que el control del cobre en humanos tiene una base genética. En 1993, los genes involucrados en ambas enfermedades fueron aislados.

Los genes normales producen proteínas que controlan la homeostasis del cobre. Estas proteínas son responsables de transportar cobre y hacerlo accesible cuando se lo necesita. Sin embargo, el efecto de un gen defectuoso es menos evidente, aunque sea claro que afectan adversamente el metabolismo del cobre en distintos grados. Como algunos genes son más importantes para el metabolismo del cobre que otros, el metabolismo anormal del cobre es una función de qué genes en particular están funcionando defectuosamente. Un gen defectuoso puede producir muy poca o demasiada proteína, o puede generar una proteína que no es eficiente o incapaz de unir cobre y llevarlo al lugar donde es requerido. Aún queda mucho por aprender acerca del comportamiento de los genes defectuosos y sus proteínas y enzimas asociadas.

Con esta información, se podrían entender mejor las disfunciones homeostáticas asociadas a una serie de patologías.



## ENFERMEDAD DE MENKES - DEFICIENCIA DE COBRE

La enfermedad de Menkes es una patología de deficiencia de cobre muy infrecuente, que casi siempre causa la muerte a una edad muy temprana. La enfermedad, que es primordialmente transmitida a los hijos varones por madres portadoras no afectadas, afecta a uno de cada cien mil a ciento cincuenta mil niños al año. Estos padres están condenados a ver a sus hijos convertirse de bebés aparentemente sanos en niños incapaces de controlar la cabeza, que sufren ataques y deformidades, con la piel suelta, huesos debilitados y numerosas deficiencias en su desarrollo. Estos niños mueren casi siempre antes de los tres años.

Normalmente, la enfermedad de Menkes sólo ocurre en hombres que la heredan de sus madres. Curiosamente, una mujer con Menkes fue la clave para identificar el gen. Su enfermedad se debía a la disrupción del gen por un cambio cromosómico que permitió a los investigadores ubicar con precisión el gen en el cromosoma. En base a esta información, se pudo clonar el gen.

### El Papel de “ATP7A” en la enfermedad de Menkes

La enfermedad de Menkes es una condición genética causada por un defecto en un gen, del cromosoma X, que codifica una proteína llamada ATP7A, una ATPasa transportadora de cobre. Esta proteína, que tiene 1500 aminoácidos, es una bomba de cobre ubicada en la membrana, que bombea cobre del interior de la célula al medio externo. Mutaciones en este gen causan la enfermedad cuando alteran la función de la proteína o impiden su producción. Por ejemplo, anomalías cromosómicas tales como deleciones o translocaciones (cambios de posición) del gen impiden la producción de la ATP7A.

Los estudios han revelado que la ATP7A hace posible el transporte (i.e., bombeo) de cobre de los alimentos digeridos en el intestino delgado, a través de las paredes intestinales, y hasta el torrente sanguíneo. Más específicamente, la ATP7A facilita el paso del cobre desde el interior de las células que tapizan el intestino delgado (i.e., enterocitos) al torrente sanguíneo.

Como la ATP7A es defectuosa en pacientes con Menkes, ellos no pueden absorber el cobre que necesitan desde el alimento que ingieren. Esto resulta en una deficiencia de cobre en todo el organismo.

La ATP7A también es responsable de transportar cobre a través del epitelio hematoencefálico al cerebro. Esto explica la marcada deficiencia de cobre y consecuentes

anormalidades neurológicas observadas en pacientes con Menkes. Las investigaciones han revelado que el cobre se acumula en los astrocitos y el epitelio vascular de la barrera hemato-encefálica, no pudiendo atravesarla para llegar al cerebro. Esta observación sugiere que se necesita la ATP7A para transferir cobre a través de la barrera, pero aún se desconocen detalles de su participación en este proceso.

La ATP7A también es importante en el transporte de cobre desde la placenta al feto. En pacientes con enfermedad de Menkes, este transporte está severamente restringido. Estudios en ratones mutantes, con el mismo defecto que humanos con Menkes, revelan que el cobre se acumula en la placenta, pero no están claros los detalles de este efecto. Como el cobre es críticamente importante en el desarrollo temprano, es muy posible que una verdadera cura para esta enfermedad requiera reparar la deficiencia fetal.

La Tabla I muestra los tejidos afectados por la enfermedad de Menkes. Aunque los efectos patológicos de la enfermedad se deben a una deficiencia severa de cobre, muchos tejidos de hecho acumulan cobre, ya que el metal queda atrapado en las células, dejando de estar disponible para el resto del cuerpo.

**Tabla I. Contenido de Cobre de Tejidos Afectados en Pacientes con Menkes**

Tejidos	Pacientes con Menkes
Mucosa intestinal (superficie interna)	Exceso
Epitelio intestinal (superficie externa)	Deficiente
Cerebro	Deficiente
Feto	Deficiente (el cobre fetal puede estar mal distribuido en la enfermedad de Menkes, pero es probable que el cobre total sea similar al de un feto normal)
Hígado	Deficiente
Riñones	Exceso
Bazo	Exceso
Páncreas	Exceso
Músculo esquelético	Exceso
Placenta	Exceso



## **Desequilibrios Homeostáticos de Proteínas Dependientes de Cobre**

Investigaciones en levadura y mosca de la fruta han proporcionado información crítica sobre chaperonas y proteínas de transporte de cobre. Curiosamente, algunas de estas moléculas tienen formas similares en humanos y en organismos más simples, lo que indica que los mecanismos de homeostasis del cobre se han conservado a lo largo de cientos de millones de años de evolución.

Estudios recientes para identificar la ubicación precisa de la ATP7A dentro de las células y saber cómo se desplaza (i.e., “trafica” cobre) han revelado los mecanismos responsables de entregar cobre a cuproenzimas involucradas en la respiración metabólica, la generación de energía, la defensa a antioxidantes, el refuerzo de la elastina y el colágeno, y la mantención del cobre celular dentro del rango seguro.

La Tabla 2 muestra algunas de las proteínas que están “en desequilibrio” en pacientes de Menkes. La Tabla 3 muestra algunas de las proteínas transportadoras de cobre más conocidas.

Los desequilibrios en algunas de estas proteínas se están usando como biomarcadores para detectar la enfermedad de Menkes, tanto en fetos como en recién nacidos. También pueden resultar útiles para encontrar posibles tratamientos para ésta y otras enfermedades.

**Tabla 2. Chaperonas y Enzimas Dependientes de Cobre “en Desequilibrio” en Pacientes con Menkes.**

<b>Proteínas/ Enzimas</b>	<b>Función</b>	<b>Pacientes con Menkes</b>
<i>Citocromo c oxidasa (CCO)</i>	Transporte de electrones requerido para respiración y generación de energía en cerebro; oxidasa terminal ubicada en mitocondrias.	Deficiente. <i>La deficiencia probablemente es responsable por la mayoría de los efectos neurológicos severos de pacientes con Menkes, así como de hipotermia y debilidad muscular.</i>
<i>Cu/Zn superóxido dismutasa</i>	Defensa a antioxidantes (detoxificación de radicales libres).	Deficiente o parcialmente deficiente. <i>La deficiencia puede reducir la protección contra radicales libres, tener efectos citotóxicos y desempeñar un papel en las deficiencias neurológicas.</i>
<i>Lisil oxidasa (LO)</i>	Estructuración de elastina y colágeno.	Deficiente. <i>Da cuenta de fragilidad del tejido conectivo (aneurismas aórticos, piel suelta, huesos frágiles) y anomalías vasculares en pacientes con Menkes.</i>
<i>Tirosinasa</i>	Requerida para pigmentación (síntesis de melanina).	Deficiente. <i>Causa cabello y piel hipopigmentada.</i>
<i>Dopamina-beta-monooxigenasa (DBH)</i>	Participa en producción de catecolaminas.	Deficiente. <i>Deficiencia puede desempeñar un papel en los efectos neurológicos.</i>
<i>Peptidilglicina-alfa-amidante monooxigenasa</i>	Amida hormonas neuroendocrinas, lo que es necesario para su normal actividad.	Deficiente. <i>Deficiencia puede desempeñar un papel en los efectos neurológicos, aunque es incierto.</i>
<i>Ceruloplasmina plasmática (CP)</i>	Importante en metabolismo del hierro; posible proteína transportadora de cobre; participa en defensa a antioxidantes.	Deficiente. <i>Se refleja en bajos niveles de cobre en suero; sin embargo, niños normales tienen niveles bajos de ceruloplasmina y no puede diferenciárselos de niños con Menkes sobre esta base.</i>
<i>Metalotioneinas de cobre</i>	Protección contra toxicidad por metales pesados.	<i>En pacientes con Menkes, pueden estar a niveles elevados en tejidos que acumulan cobre.</i>

**Tabla 3. Algunas Proteínas Transportadoras de Cobre**

Proteína/Enzima	Función
<b>Crt11</b>	Proteína de membrana transportadora de cobre que opera en la mayoría de los tejidos; permite que el cobre entre a células pasando a través de membranas. En teoría puede estar defectuosa, pero no se ha observado aún una Crt11 defectuosa.
<b>Cox17</b>	Chaperona de cobre; factor soluble de levadura que entrega específicamente cobre a la citocromo oxidasa en el mitocondria.
<b>Atox 1</b>	Chaperona de cobre que transporta cobre en el citoplasma.

### **La Búsqueda de Tratamientos para Corregir Desequilibrios Homeostáticos en la Enfermedad de Menkes**

Actualmente, el pronóstico para pacientes con Menkes es malo, debido a que frecuentemente es demasiado tardío para impedir el daño cerebral causado por la deficiencia, que ocurre dentro de los 3 meses posteriores al nacimiento. Incluso con tratamiento temprano, muchos pacientes no responden a la terapia estándar con cobre histidina. No se conocen las causas de esto.

Sin embargo, los investigadores se han embarcado en una estrategia en varios frentes en búsqueda de tratamientos. Los tratamientos potenciales se basan en:

- Desbloquear la absorción intestinal de cobre.
- Facilitar el paso del cobre a través de la barrera hemato-encefálica.
- Recibir tratamiento muy temprano en la vida para impedir neurodegeneración irreparable.

Actualmente, los estudios están enfocados en la administración de inyecciones de cobre-histidina para restaurar los niveles de cobre en ceruloplasmina y plasma, experimentos con complejos quelantes lipo-solubles para aumentar el transporte a través de la barrera hematoencefálica, aumento intratecal de cobre en el fluido cerebroespinal, y terapia génica.

Las inyecciones de cobre histidina tienen algún potencial para restaurar los niveles de cobre en la ceruloplasmina y el plasma. Estas inyecciones, que intentan corregir la deficiencia de citocromo oxidasa c, una importante cupro-enzima, resultan en una mejoría clínica neurológica del 15% en pacientes con Menkes, si se administran en etapas tempranas. Sin embargo, actualmente, las inyecciones de cobre no ayudan a la mayoría de los pacientes. Incluso en pacientes que responden a ellas, nunca se corrigen los defectos del tejido conectivo.

Recientemente se ha descubierto que complejos solubles en lípidos pueden aumentar el transporte de cobre a través de membranas, como por ejemplo la barrera hemato-encefálica. Se encontró que el agente quelante, dietiltiocarbamato (DEDTC) aumentaba el cobre cerebral en ratas y ratones maculares.<sup>1</sup> Además, se encontró que las tasas de sobrevivencia de los ratones estaban correlacionadas con los niveles de cobre en el cerebro macular; lo que sugiere que el DEDTC se salta el bloqueo de absorción de cobre en el cerebro macular. Aunque el DEDTC puede ser tóxico para seres humanos, esta categoría de complejos solubles en lípidos merece ser estudiada como potenciales agentes terapéuticos.

Otra avenida de terapia neurológica es el llamado tratamiento de cobre intratecal, que entrega la medicación con cobre directamente al fluido cerebroespinal que rodea la espina dorsal. Los investigadores esperan que este tratamiento facilitará la captura normal de cobre en las neuronas, saltándose la barrera hemato-encefálica, y proveyendo intracelularmente el cobre a cupro-proteínas claves. Dos ejemplos prominentes son la cobre-zinc superóxido dismutasa y la citocromo oxidasa.

También se están explorando alternativas de terapia genética. Una corrección completa requeriría proveer el gen a la mayoría de las células pero no a las del hígado. Esta es una tarea compleja, pero recientemente se ha logrado corregir el defecto de Menkes en ratón usando el gen humano.

### **Prevención y Diagnóstico Molecular**

Como el gen de Menkes es transmitido por mujeres asintomáticas, el diagnóstico y consejería genética a familias en riesgo es absolutamente crucial. Afortunadamente, gracias a que el gen ha sido aislado y a que se han identificado mutaciones en familias, ahora es posible hacer un diagnóstico molecular rápido de mujeres portadoras del gen Menkes defectuoso, como también de sus fetos en riesgo. Este es un desarrollo muy importante que está reemplazando el análisis de fibroblastos en cultivo, una técnica que demora varias semanas en dar resultados, poniendo en riesgo la salud de los neonatos. La técnica de diagnóstico molecular rápido es un ejemplo de cómo el estudio de los desequilibrios bioquímicos que ocurren en la enfermedad puede proporcionar herramientas más efectivas para la detección temprana de la misma.

---

<sup>1</sup> Los ratones maculares son un modelo animal para la enfermedad de Menkes.

## ENFERMEDAD DE WILSON - UNA CONDICIÓN DE EXCESO DE COBRE

La enfermedad de Wilson es una condición progresiva que afecta a aproximadamente 1 de cada 30 mil personas. Como la de Menkes, la enfermedad de Wilson es una condición genética que afecta el metabolismo del cobre, pero en este caso los pacientes sufren de toxicidad de cobre debido a que el cuerpo no puede excretar el metal.

En la enfermedad de Wilson, el cobre se acumula en el hígado y sistema nervioso central, independientemente de la ingesta dietaria de cobre. Esto crea una condición de toxicidad que a veces puede ser fatal antes de los 30 años, a menos que se administre continuamente tratamiento durante toda la vida del paciente. También son característicos de pacientes con Wilson niveles excesivos de cobre en riñones y córneas (Tabla 4).

**Tabla 4. Contenido de Cobre de Tejidos afectados en Pacientes con Enfermedad de Wilson**

Tejidos	Pacientes con Wilson
Cerebro	<i>En exceso</i>
Hígado	<i>En exceso</i>
Riñón	<i>En exceso</i>
Córnea	<i>En exceso</i>
Expresión Genética	<i>El gen se expresa en células del hígado, riñón y sistema nervioso</i>

Los síntomas de la enfermedad incluyen cirrosis hepática crónica (que puede ser letal), falla renal, anillos verde-dorados en la membrana de las córneas (conocidos como anillos Keiser-Fleischer) y una serie de anomalías neurológicas motrices, incluyendo temblores, distonía, disartria, disfagia, corea, salivación descontrolada y falta de coordinación. Esta enfermedad es diagnosticada por exceso de cobre en el hígado (en promedio unas 20 veces más de lo normal) junto con deficiencia de ceruloplasmina de cobre en el plasma (alrededor de 30% bajo lo normal). Una diagnosis adecuada requiere la presencia de ambos síntomas.

## **El Papel de la “ATP7B” en la Enfermedad de Wilson**

El gen de Wilson, conocido como ATP7B, fue descubierto y aislado pocos meses después de que se aisló el gen de Menkes. Los investigadores están recién empezando a desentrañar algunas diferencias funcionales entre estas dos moléculas, que están muy relacionadas (tienen un 67% de sus aminoácidos en común).

Como la ATP7B es responsable de retirar el cobre del hígado, los investigadores la consideran la bomba que regula la excreción de cobre desde el hígado a la bilis y de allí al intestino delgado. En pacientes con la enfermedad de Wilson, los defectos en ATP7B impiden la remoción de cobre desde el hígado, lo que resulta en acumulación gradual de cobre, lo que causa cirrosis hepática y toxicidad fatal por cobre.

La ATP7B también es responsable de entregar cobre a la ceruloplasmina, una proteína de la sangre que participa en el balance de hierro y el transporte de cobre al suministro sanguíneo. Se cree que los defectos en la ATP7B son responsables de la deficiencia severa de cobre en esta proteína.

Afortunadamente, los pacientes con Wilson pueden sobrevivir con tratamientos quelantes de cobre, un procedimiento que elimina el cobre excesivo del hígado. Para un 95% de los pacientes, la droga preferida es la penicilamina. Otras alternativas de tratamiento que eliminan el exceso de cobre o bloquean la absorción de cobre en el intestino son la trientina y el acetato de zinc.

## **OTRAS CONDICIONES DE EXCESO DE COBRE**

Además de la enfermedad de Wilson, se han reconocido cinco toxicosis relacionadas con cobre en niños de diferentes partes del mundo:

1. Cirrosis Infantil India (ICC)
2. Cirrosis Infantil-No-India (NICC)
3. Toxicosis Idiopática de Cobre (ICT)
4. Cirrosis Infantil Tirolesa Endémica (ETIC)
5. Cirrosis Infantil Asociada a Cobre (CACC)

La nomenclatura para estas raras enfermedades ha sido, por decir lo menos, confusa. Es muy posible que varias de estas enfermedades sean de hecho una sola. También



es posible que entre ellas existan más diferencias que las que se han descubierto hasta ahora. La mayoría de los expertos piensan que estas condiciones son recesivas autosómicas y que implican mutaciones en un gen no identificado requerido para la excreción hepática de cobre en niños pequeños.

### **Cirrosis Infantil India (ICC) y Cirrosis Infantil Tirolesa Endémica (ETIC)**

Es útil empezar esta discusión comparando dos cirrosis infantiles muy similares que se han observado en India y la región del Tirol en Austria.

Cirrosis Infantil India es el término usado para describir la condición sufrida por niños en India que desarrollan una cirrosis hepática progresiva y fatal, en los primeros seis meses a cuatro años de vida. Se encontró que esta condición era causada por una combinación de dos factores cruciales:

1. Alto nivel de cosanguinidad en las comunidades en que vivían los niños afectados.
2. Exposición a exceso de cobre, asociada a que los niños recibían leche almacenada y hervida en recipientes de latón sin revestir, lo que contaminaba la leche con niveles de cobre hasta 15 veces superiores a los de la leche materna normal.

Estas observaciones, junto con el hecho que no todos los hermanos de una familia se enfermaban (sólo se veía afectado un 22%) despertó la sospecha de que estaban involucrados factores genéticos y ambientales. Afortunadamente, esta condición fue virtualmente eliminada al eliminarse los recipientes de latón usados en las aldeas afectadas.

Cirrosis Infantil Tirolesa Endémica (ETIC) es el término usado para describir la condición sufrida por 138 niños de la región del Tirol de Austria, los que fallecieron entre 1900 y 1974 con síntomas idénticos a los de la ICC. Hay similitudes notables entre la ETIC y la ICC en términos de historia alimenticia, epidemiología y características clínicas, incluyendo altas tasas de agrupamiento endémico en una zona restringida, cosanguinidad de padres clínicamente normales, y alimentación diaria con leche guardada y hervida en recipientes de cobre sin revestir. Al igual que en el caso de India, en el Tirol sólo algunos hermanos presentaban toxicosis. Por último, la reducción de los cruzamientos cosanguíneos diluyó el pool genético, y el reemplazo de los recipientes de cobre por materiales alternativos redujo la exposición infantil a cobre. La combinación de estas medidas virtualmente eliminó la enfermedad. Por lo

tanto, se concluyó que la ICC y la ETIC eran ambas resultado de la confluencia de factores ambientales (alta exposición a cobre) y factores genéticos comunitarios.

Pero, ICC y ETIC pueden tener distinto origen genético. La ICC afectó predominantemente a niños hombres, mientras que ETIC afectó a ambos sexos por igual. Aunque esta diferencia es significativa, queda por ver si la diferencia tiene un origen genético (i.e., si el locus en el gen responsable por ICC es diferente del de ETIC) o cultural (i.e., si a los niños, por privilegio, recibieron leche preparada en artefactos especiales de latón, mientras que las niñas no.)

Los expertos concuerdan en que tanto la ETIC como la ICC no están relacionadas con el gen defectuoso de Wilson. Hay varias líneas de razonamiento que apoyan esta postura:

A diferencia de la enfermedad de Wilson, en que la intoxicación por cobre se presenta con independencia de la ingesta de cobre, la ETIC y la ICC se pueden prevenir normalizando la ingesta del metal.

1. Los síntomas, edad de aparición, y bioquímica de estas condiciones son muy diferentes a las de Wilson.
2. Un análisis genético realizado en un niño ICC de padres cosanguíneos descartó el gen de Wilson.
3. De 70 familias con enfermedad de Wilson y más de 400 casos identificados de ICC en un hospital de Pune, India, no se encontró ninguna familia que tuviera ambas enfermedades. Si las enfermedades estuvieran relacionadas, se habría esperado encontrar varias familias con incidencia de ambas enfermedades.
4. Análisis molecular diferencial de probables genes defectuosos revela que no son un mismo gen.

Pero, similar al caso de Wilson, se cree que la ETIC es una condición autosómica (i.e., el defecto no está ligado a un cromosoma sexual) recesiva causada por un par de genes mutantes. La evidencia de condición autosómica recesiva para la ETIC incluye padres saludables, incidencia familiar de la enfermedad, alta incidencia de cosanguinidad, el hecho que no todos los hermanos son afectados, y el que la condición se da en niños de ambos sexos.

El mapeo genético en la región del Tirol apunta a una mutación fundadora de origen único, que habría entrado al pool genético hace unas 10 a 20 generaciones.

Actualmente se están haciendo intentos para localizar y aislar el gen causante de la ETIC. Cuando este gen sea eventualmente identificado, los investigadores esperan que pueda codificar una proteína requerida para la homeostasis de cobre en el hígado joven. Actualmente se están evaluando genes candidatos para la ICC.

### **Toxicosis Idiopática de Cobre**

Fuera de India y El Tiro, en los últimos 25 años se han descrito unos 30 casos de personas afectadas por condiciones de toxicosis por cobre en Alemania, Australia, Italia, Kuwait, México, Singapur, Reino Unido y EEUU. Para fines de esta revisión, las ICT, NICC y CACC se han consolidado bajo el término ICT, ya que las causas en estos casos son desconocidas.

Los expertos estiman que entre 1 en 500 y 1 en 1000 personas pueden ser portadoras de genes ICT y que la enfermedad afecta aproximadamente a 1 entre 1 millón de personas. Los síntomas se resumen en la Tabla 5.

#### **Tabla 5. Síntomas de ICT**

- Los síntomas aparecen entre 2 meses y 10 años de edad.
- Los pacientes tienen niveles anormalmente altos de cobre en el hígado (190 a 3360 microgramos/g de peso seco; lo normal es menos de 50) y alto cobre en la orina.
- Los niveles de cobre y ceruloplasmina en plasma son normales o levemente elevados.
- En el sistema hepático se evidencian marcadores bioquímicos anormales (aminotransferasa, fosfatasa alcalina, bilirubina, albúmina, prototrombina).
- Biopsias hepáticas revelan fibrosis, degeneración de hepatocitos, y abundancia de cuerpos de Mallory.
- Sólo en unos pocos casos se ha aplicado detección de proteínas involucradas en el metabolismo del cobre (histoquímica enzimática para Mg-ATPasa, citocromo oxidasa c, fosfatasa ácida).

Un importante grupo de casos de ICT fue descrito para una comunidad social y geográficamente aislada del norte de Alemania, encontrándose ocho casos de cirrosis hepática infantil en cinco familias. Investigaciones posteriores revelaron la ocurrencia de exposiciones dietarias elevadas de cobre a partir de agua de pozo usada para preparar fórmula infantil. El agua era transportada por cañerías de cobre, las que, debido a la acidez del agua, causaban niveles elevados del metal en ella. Una vez más, como en los casos de la ICC y la ETIC, se atribuyó la toxicosis a un pool génico limitado (las relaciones de ancestro se remontaban a la Edad Media) y la cosanguinidad ocasional entre padres. Como en la ETIC (y Wilson) el grupo de ICT en Alemania sugería herencia autosómica recesiva a partir de un ancestro común que habría introducido el gen en la comunidad hace varias generaciones.

La incidencia de cirrosis infantil en el norte de Alemania plantea la pregunta de si se puede desarrollar ICT a partir de niveles de cobre elevados en el agua potable sin haber base genética para la enfermedad.

Se cree que en ausencia de una enfermedad genética, es extremadamente improbable que la ingestión de cobre por la comida y el agua potable pueda causar problemas de salud. El cuerpo reacciona tempranamente ante la ingestión de cobre en exceso —el individuo generalmente desarrolla náusea como primer síntoma. En el raro caso que el consumo sea suficientemente elevado como para provocar una reacción tóxica aguda, el cuerpo se protege expulsando el exceso a través de vómito o diarrea. Esta respuesta impide que el exceso de metal sea absorbido y pase a los tejidos. Cuando una persona consume niveles elevados de cobre por un tiempo prolongado, se puede desarrollar una condición de toxicidad crónica. Antiguamente, la toxicidad crónica estaba generalmente asociada a ambientes laborales. Más recientemente, debido al creciente control global de las emisiones, la incidencia de toxicidad crónica por cobre ha virtualmente desaparecido.

Se ha publicado una media docena de casos en el mundo en que la ICT se ha asociado a la ingestión de alrededor de 6 mg/L de cobre en agua potable. Sin embargo, en tres pueblos de Massachusetts, no se observaron muertes relacionadas con ICT a pesar de concentraciones de cobre muy altas en el agua potable (8 mg/L). Esto sugiere que el consumo de agua con niveles elevado de cobre no lleva ineludiblemente a enfermedad.

Los expertos están intentando entender los factores causales de ICT y sus implicancias para su epidemiología y los niveles de exposición a cobre que podrían llevar a ella. Actualmente, lo poco que se sabe de la ICT se basa primordialmente



en evidencia indirecta inferida de la ICC y ETIC y de unos casos esporádicos que indican susceptibilidad genética y/o exposición ambiental a cobre.

Se espera que la respuesta a la cuestión de si la ICT se debe a un error innato aún desconocido o a un fenómeno agravado por el exceso dietario de cobre, venga de estudios de mapeo genético y posterior identificación de los respectivos defectos genéticos. Como aún no se han desarrollado pruebas moleculares para detectar a los portadores del gen ICT, la evaluación continua de los parientes de niños afectados en El Tirol podría ayudar a resolver algunas de estas dudas.

### **Condiciones Latentes**

Actualmente se desconocen las consecuencias de niveles marginalmente elevados o deprimidos de cobre a largo plazo. Los investigadores médicos y la industria del cobre están preocupados de aquellos individuos que, a niveles de exposición a cobre relativamente normales en agua potable, puedan ser susceptibles a condiciones de toxicidad o deficiencia. Actualmente, no hay forma de identificar fácilmente estas poblaciones "latentes". Sin embargo, debido a la naturaleza heterocigótica de ICT, ICC y ETIC, hay razones para creer que existen condiciones latentes de este tipo.

Sobre la base de la frecuencia de la enfermedad de Wilson, los expertos han postulado que aproximadamente un 1% de la población humana tiene riesgo de portar rasgos genéticos de la enfermedad, y que hasta un 5% de la población humana puede tener genes defectuosos que podrían causar toxicosis "latente" por cobre. En estas poblaciones sensibles, los individuos pueden no tener síntomas aparentes, o los síntomas pueden aparecer en períodos más tardíos de la vida, dependiendo de si uno o más genes tienen fallas, o si hay múltiples fallas en un gen, y de las exposiciones ambientales al cobre.

En EEUU, Singapur, Italia y el Reino Unido han surgido casos de ICT en que no se han identificado fuentes aparentes de cobre dietario elevado. En algunos de estos casos, se considera que las toxicosis tienen un origen genético debido a la alta consanguinidad entre padres e incidencia entre parientes.

La industria del cobre, junto con expertos médicos de todo el mundo, está tratando de desarrollar un conjunto de pruebas diagnósticas sensibles para identificar personas que puedan ser sensibles a excesos y deficiencias marginales de cobre. La identificación de individuos sensibles permitirá un diagnóstico temprano y la adopción de medidas de prevención y tratamiento, mejorando el pronóstico para estos individuos.

La investigación experimental que se realiza actualmente para identificar y tratar diversas condiciones genéticas asociadas al cobre está haciendo posible entender las bases moleculares de la homeostasis del cobre, cómo se ubican entre ellas las ATPasas y chaperonas, cómo captan el cobre las células, cómo lo entregan a moléculas que lo requieren, cómo es sacado de las células por ATPasas transportadoras de cobre y cómo la exposición a exceso del metal impacta las interacciones genéticas.

Los progresos en estos frentes, que involucran avances en genómica, proteómica y metabolómica, han comenzado a rendir fruto en el desarrollo de biomarcadores moleculares sensibles para identificar portadores e individuos en riesgo, y para tratar síntomas clínicos de diversas enfermedades relacionadas con el cobre. Es de esperar que estas herramientas algún día permitan a la medicina aplicar estrategias de intervención para proteger a todas las personas y fetos por nacer, de estas alteraciones de la homeostasis del cobre.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a Scott Baker, ICA, por sus comentarios al borrador de este trabajo.

## REFERENCIAS

8<sup>th</sup> International Conference on Wilson Disease and Menkes Disease, Leipzig, Germany (2001), *Z Gastroenterol*, Vol 39, pp. 237-252.

Bardoel, A.F.J, Muller, T., et al (1998), The Role of the Gene Involved in Non-Indian Childhood Cirrhosis in Mammalian Copper Metabolism, *Am. Jour. of Human Genetics*, Vol. 63, No. 4, p. A-280.

Brewer, George J. (2000), Editorial: Is Heterozygosity for a Wilson's Disease Gene Defect an Important Underlying Cause of Infantile and Childhood Copper-Toxicosis Syndromes?, *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, Vol. 13, pp. 249-254.

Dieter, H.H., Schimmelpfennig, W., Meyer, D., and Tabert, M. (1999), Early Childhood Cirrhosis in Germany Between 1982 and 1994 with Special Consideration of Copper Etiology, *European Journal of Medical Research*, Vol. 4, pp. 233-242.

Hadorn, H.B. (1999), Copper Associated Liver Diseases in Infancy and Childhood – Letter to the Editor, *European Jour. of Medical Research*, Vol. 4, p. 416.

Hadorn, H.B., (1999), Copper-Associated Liver Diseases in Children: Introduction, *European Journal of Medical Research*, Vol. 4, pp. 212-213.

Kaler, Stephen G. (in press), Menkes Disease: Clinical, Molecular, and Therapeutic Aspects.

Llanos, R.M., and Mercer, J.F.B. (2002), The Molecular Basis of Copper Homeostasis and Copper-Related Disorders, in *DNA and Cell Biology*, Vol. 21, No. 4, pp. 259-270.

Lockitch, Gillian (1998), Iron and Copper-Associated Cirrhosis in Infants: Acquired Metal Toxicity or Genetic Disorder?, in *Clinics in Laboratory Medicine*, Vol. 18, No. 4, pp. 665-671.

Müller, T, Schafer, Hansjörg, et. al (1999), Familial Clustering of Infantile Cirrhosis in Northern Germany: A Clue to the Etiology of Idiopathic Copper Toxicosis, *Jour. of Pediatrics*, August, pp. 189-196.

Müller, T., Müller, W, and Feichtinger, H. (1998), Idiopathic Copper Toxicosis, *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol. 67, pp. 1082S-1086S.

Scheinberg, Herbert and Sternlieb, Irmin (1996), Wilson Disease and idiopathic Copper Toxicosis, *Am. Jour Clin Nutr*, Vol 63, pp 842S-845S.

Walker-Smith, John and Blomfield, Jeanette (1972), Wilson's Disease or Chronic Copper Poisoning?, *Archives of Disease in Childhood*, Volume 48, p. 476-479, with letter to the editor by Protman, B., Walker-Smith, J.A., and Tanner, M.S. (1980), Vol. 55, No. 2, pp. 163-164.

## ENTENDIENDO LA HOMEOSTASIS

Como ya lo hemos mencionado en otras secciones, el nivel de cobre al interior de los organismos vivos parece estar finamente regulado. Esto ocurre gracias a los mecanismos homeostáticos que caracterizan a los seres vivos, y que permiten mantener la concentración de una sustancia o elemento dentro de un rango limitado de fluctuaciones. Estos mecanismos pueden operar a niveles muy diferentes. Por ejemplo, un animal puede reducir la absorción de cobre a nivel intestinal, impidiendo así que el cobre ingrese a su sistema y contribuyendo a reducir o mantener constante el nivel de metal en el plasma. A nivel celular, en cambio, pueden requerirse reducciones temporales de la concentración del metal, involucrando mecanismos moleculares de captura y remoción del cobre por proteínas específicas, por ejemplo.

La mantención homeostática de los niveles de cobre está íntimamente ligada a la potencial toxicidad del metal, ya que esta última se gatilla cuando la primera es superada en su capacidad de control. De allí que es crucial para la evaluación de la toxicidad de cobre, particularmente la crónica, entender cómo funciona la maquinaria fisiológica y celular que permite, normalmente, mantener los niveles de cobre variando en torno a concentraciones que son fisiológicamente óptimas. Desafortunadamente, aunque conocemos muchos de los protagonistas de esta historia (enzimas y receptores que usan o unen cobre) quedan muchos aspectos de la trama aún por develar. Se trata aquí de entender, en el sentido de la investigación científica básica, o sea de adquirir los conocimientos que se requieren para en etapas posteriores poder darles una aplicación, por ejemplo, en el desarrollo de modelos normativos. Es el tipo de investigación que la industria financia con mayor renuencia.

El trabajo que sigue es una revisión concisa de los conocimientos que se tienen sobre la regulación, a nivel celular, del cobre en vertebrados, así como la presentación de resultados preliminares en el establecimiento del pez cebra como modelo de estudio del metabolismo de cobre en estos organismos. La importancia de poder establecer este modelo reside en que tratándose de un organismo vertebrado complejo, ofrece una amplia versatilidad experimental, incluyendo la manipulación a nivel de genética molecular, y el poder acceder a las diferentes etapas del desarrollo del animal.







# 4

## EL PEZ CEBRA COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA HOMEOSTASIS DEL COBRE



Miguel L.Allende<sup>1</sup> & Ariel E. Reyes<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Núcleo del Milenio en el Desarrollo de la Biología, <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Universidad de Chile y <sup>2</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales.

## INTRODUCCIÓN

Los estudios de homeostasis (acumulación, distribución y excreción) del ión cobre han sido hasta ahora complejos y dificultosos debido a la falta de buenos modelos experimentales. En particular, existe una carencia de estudios a nivel del organismo completo ya que la mayoría de los análisis han sido realizados en células en cultivo o en organismos unicelulares (bacterias y levaduras). Esto es especialmente relevante para los vertebrados, donde el modelo de mayor trascendencia ha sido el ratón, un animal genéticamente dócil, pero de difícil acceso durante la gestación y en el cual los experimentos de exposición a cobre requieren complejas manipulaciones de la alimentación, no siempre reproducibles.

Hemos iniciado un programa de investigación sobre el metabolismo del cobre usando un pez teleosteo, el pez cebra (*Danio rerio*), al cual proponemos como una alternativa apropiada para este análisis en vertebrados. Más aún, proponemos que las etapas más tempranas del desarrollo (embriones y larvas de peces) son ideales para realizar estudios de homeostasis en organismos completos. El pez cebra es un pez tropical de agua dulce de fácil mantención en el laboratorio; es extremadamente fecundo y tiene un tiempo de generación de sólo tres meses. El desarrollo de esta especie es muy rápido: luego de 5 días, la larva nada, se alimenta y presenta todos los órganos que poseerá de adulto. Se han realizado experimentos de mutagénesis y se posee una colección amplia de mutantes en genes esenciales para el desarrollo temprano. Asimismo, es posible la transgénesis (la introducción de DNA foráneo en el genoma del pez). Nuestros resultados permiten concluir que el pez cebra es un modelo extremadamente apropiado para comprender los mecanismos moleculares que regulan la homeostasis de cobre en el organismo, resultados que son ampliamente extrapolables a organismos más complejos como el hombre.

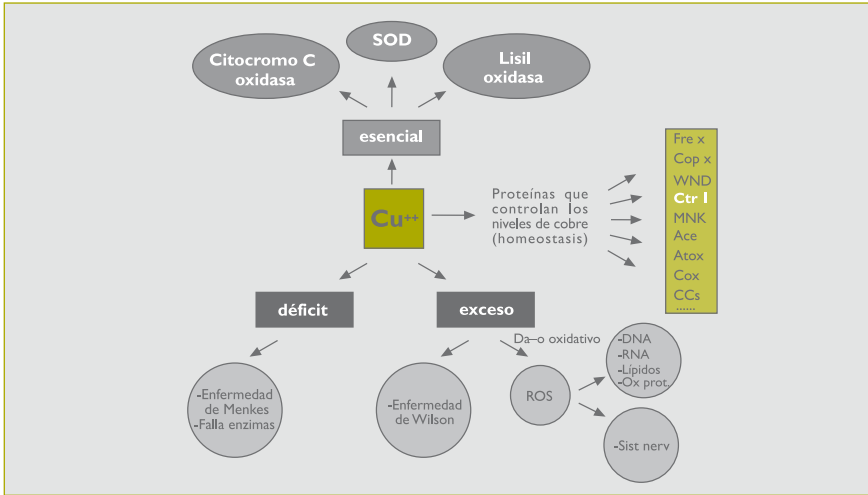
La dualidad del ión cobre —esencial para la vida y a la vez tóxico en exceso— ha causado durante la evolución biológica la generación de mecanismos precisos de homeostasis celular. Es así como el cobre ingresa a la célula eucariótica, vía transportadores de alta afinidad y es almacenado dentro de la célula por proteínas especializadas (quelantes y chaperonas de cobre) las cuales entregan el metal a sus destinos con absoluta precisión. Este nivel de protección se debe a la alta capacidad del cobre de donar y aceptar electrones. Por lo tanto, este ión en exceso tiene la capacidad de generar especies tóxicas que dañan a las células o al material genético de éstas.

Gran parte de los estudios genéticos dirigidos a dilucidar los efectores responsables de

la homeostasis de cobre provienen de estudios utilizando a levaduras como modelo. Sorprendentemente, estudios en organismos superiores como los vertebrados han mostrado conservación, tanto en los mecanismos como en las funciones de los efectores de la respuesta, que mantienen estabilizados los niveles de cobre dentro de la célula. Es así como se sabe que existe un control en la incorporación de cobre a las células, la distribución intracelular del metal para formar cupro-proteínas y del secuestro o eliminación del exceso del ión. Estos efectores parecen estar regulados por la concentración de cobre presente en el medio intracelular. De estos datos se extrae que un organismo completo debe ser capaz de, primero, mantener el cobre dentro del rango de concentración considerado fisiológico; segundo, regular las proteínas encargadas de mantener estos niveles o de detectar la carencia y/o el exceso del metal; y tercero, poseer los mecanismos de comunicación dentro de la célula que permitan adquirir o excretar el metal.

En humanos, los defectos en el metabolismo de cobre se presentan como patologías asociadas a la deficiencia y al exceso del ión en el organismo (Figura 1). La enfermedad de Wilson se produce por alteración en un transportador celular de cobre responsable de la excreción biliar de este ión, produciendo acumulación del metal principalmente en el hígado. Por otra parte, en la enfermedad de Menkes, existen alteraciones en otro transportador de cobre encargado de absorber el cobre desde el intestino, por lo que no se puede incorporar el cobre que proviene de los alimentos. Finalmente, existe una afección en humanos debida a la disfunción de la enzima llamada Cu-Zn superóxido dismutasa (Cu-Zn SOD) cuyo defecto está asociado a la esclerosis lateral amiotrófica o ALS.

**Figura 1. Efecto del cobre en el organismo. Los niveles de cobre son finamente regulados por proteínas específicas para mantener los niveles necesarios para la vida. No obstante, alteraciones en las proteínas que regulan el nivel intracelular de cobre resultan en un exceso o déficit del metal y se manifiestan como patologías.**



En el intestino ocurre la absorción de cobre desde los alimentos. Se han descrito en el enterocito (célula del epitelio intestinal) dos transportadores de cobre localizados hacia el lumen del tubo digestivo, uno de ellos es el transportador específico de cobre llamado CtrI y el otro es el transportador de metales divalentes, DMT1. En humano y ratón, el transportador CtrI se expresa en todo el organismo pero se encuentra enriquecido en hígado, riñón, intestino –órganos considerados primarios en el metabolismo y reabsorción de cobre– siendo la expresión menor en el cerebro y músculo. Estudios utilizando ratones mutantes demostraron que este gen es esencial para el desarrollo embrionario. Estos ratones (CtrI<sup>-/-</sup>), mueren *in utero* en la mitad del período de gestación, exhibiendo defectos tanto en el crecimiento como el desarrollo embrionario. Datos provenientes de las secuencias y ensayos en células humanas con el transportador CtrI de diferentes organismos muestran que esta proteína es muy conservada en su función, encontrándose muy regulada su localización dentro de la célula.

En levaduras, los mecanismos descritos en la regulación de algunas de las proteínas que participan en la homeostasis de cobre son tres: (1) aumentando la cantidad de proteínas en condiciones de escasez de cobre, (2) estabilización de proteínas por un tiempo más prolongado que el habitual en condiciones de escasez del

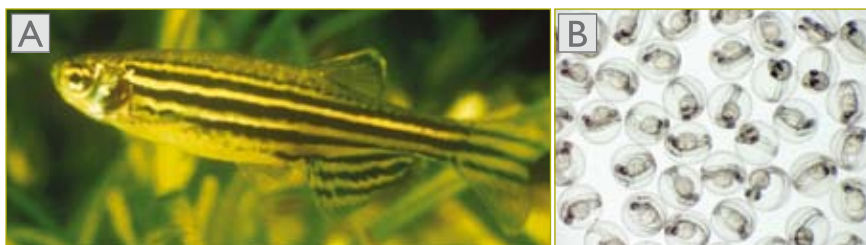
metal y (3) la destrucción o redistribución de las proteínas cuando aumentan los niveles de cobre dentro de la célula. Experimentos en líneas celulares humanas con el transportador Ctrl sugieren que estas funciones estarían conservadas, lo que sugiere que mecanismos similares funcionarían *in vivo* para regular la incorporación de cobre en un organismo completo. Sin embargo, no existen evidencias que esto ocurra en el animal intacto y con niveles de expresión normal de Ctrl.

Estos y otros antecedentes demuestran la complejidad de la respuesta de los genes encargados de la regulación de los niveles fisiológicos de cobre. Hoy en día sabemos muy poco a cerca de los mecanismos que regulan estos procesos en eucariontes superiores y menos aún en el organismo completo. Por este motivo es de gran importancia identificar tanto las proteínas que participan en la homeostasis de cobre y los factores que regulan la expresión de los genes respectivos, como el efecto que tienen exposiciones de cobre elevadas en un organismo completo.

El pez cebra (*Danio rerio*, Figura 2) ha sido tradicionalmente utilizado como un organismo animal modelo, tanto en genética molecular del desarrollo así como un biosensor de contaminación por metales pesados. Sin embargo, aún no se conocen cuáles son los factores responsables de la respuesta a metales en el medio. Estos animales presentan una gran ventaja para estos estudios ya que, al vivir en un ambiente acuoso, es fácil exponerlos a diferentes concentraciones de cobre o de otros metales. Por otra parte, debido a su fertilidad y tamaño es posible trabajar con un gran número de individuos por experimento. Sumado a esto, el desarrollo de los embriones de estos peces es externo, fuera de la madre, por lo que se tiene acceso a todos los estados del desarrollo y es posible observar fácilmente los cambios morfológicos que ocurren producto de la exposición a metales en el medio. Esta característica también nos permite estudiar efectos agudos (períodos cortos) o crónicos (períodos prolongados) de la exposición de cobre en concentraciones sub-letales (que no maten al individuo por intoxicación) cuyo posible efecto en el crecimiento es desconocido. Con este tipo de aproximaciones podríamos conocer los mecanismos por los cuales el cobre en el medio ingresa al organismo en etapas tempranas de su desarrollo, y si los niveles alcanzados en éste afectan el desarrollo de estructuras específicas en el pez, como por ejemplo huesos, sistema nervioso o vasos sanguíneos. Junto con esto y debido a las ventajas que presenta el pez cebra como modelo genético, es posible aproximarse a identificar las moléculas o proteínas que afectan finalmente estos procesos. Estos hallazgos serían inmediatamente aplicables a la fisiología humana, ya que como se menciona arriba, los genes responsables de la homeostasis de cobre se encuentran muy conservados en todos los organismos multicelulares.



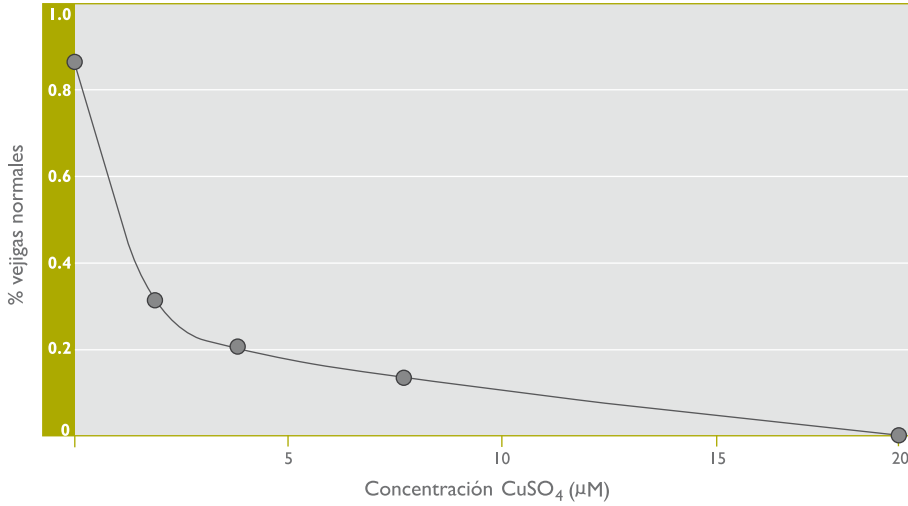
**Figura 2. A) Pez cebra (*Danio rerio*) adulto, B) Larvas de pez cebra a dos días post fertilización. Se observan larvas pigmentadas y albinas dentro del corion, una membrana transparente.**



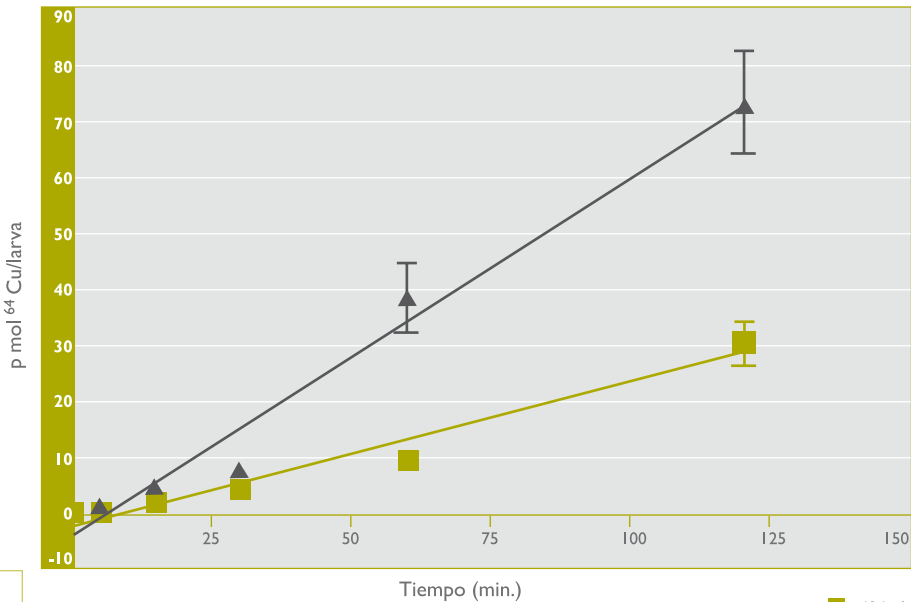
## RESULTADOS

Hemos estudiado el efecto de la presencia de cobre externo en los embriones y larvas de pez cebra durante su desarrollo. Mientras los estudios usando células en cultivo muestran que es necesario aplicar cobre en un altísimo exceso para observar cambios fisiológicos, los peces son mucho más sensibles a la presencia del metal. En células, se usan concentraciones cercanas a los 100  $\mu\text{M}$  o más, mientras que los embriones y larvas de pez presentan efectos muy notorios desde concentraciones menores a 1  $\mu\text{M}$ . En efecto, una curva de letalidad (medida por la formación de la vejiga natatoria, un órgano esencial para la vida del pez, véase en la Figura 3) muestra que exposiciones de 2  $\mu\text{M}$  causan una letalidad del 50%. Las curvas de letalidad que hemos generado muestran que el efecto es dependiente de la concentración de cobre, del tiempo de la exposición y de la edad de los peces. Así, los peces son cada vez más sensibles con la edad, resultando los adultos sensibles a concentraciones del rango nanomolar. En experimentos en que hemos usado cobre radioactivo, hemos demostrado que el cobre presente en el medio ingresa al cuerpo del pez y que este cobre se acumula en el organismo de manera proporcional al tiempo de exposición al metal en el medio externo (Figura 4). Hemos aprovechado la disponibilidad de líneas de peces transgénicos que nos han permitido observar los efectos del cobre en exceso, que ingresa al cuerpo a nivel de respuestas en expresión génica. Una línea muy útil ha sido aquella que regula la expresión de una proteína fluorescente (GFP) en respuesta al estrés celular. Hemos observado que la exposición a cobre de embriones transgénicos de tres días producen una fuerte respuesta en tejidos como el hígado, el intestino y el riñón, que en efecto son los órganos que participan en la detoxificación del metal en exceso (Figura 5). Por otro lado, estudios de exposición crónica de cobre resultan en la muerte de los peces al día 15 post fertilización a concentraciones muy bajas del metal, sin embargo, no se conoce la causa de la muerte de estos animales.

**Figura 3. Efecto de concentraciones crecientes de cobre en el medio y el desarrollo de la vejiga natatoria en el pez cebra. En el gráfico se aprecia que al aumentar la concentración de cobre en el agua en que viven los peces, éstos no forman su vejiga natatoria, una observación que indica deficiencias en el desarrollo.**

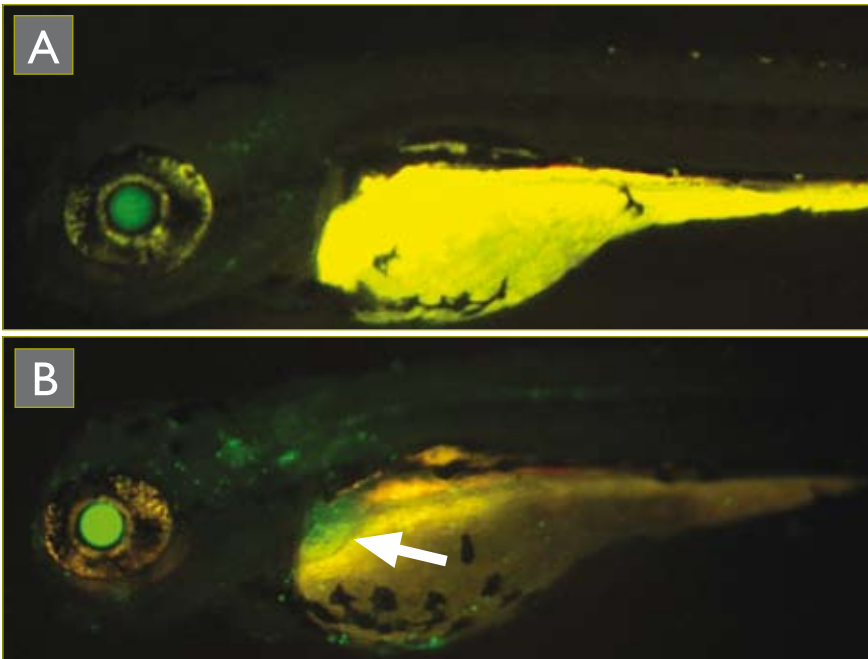


**Figura 4. Larvas de pez cebra incorporan Cu en su organismo de manera dependiente de la concentración externa. Se realizaron ensayos de incorporación de cobre radiactivo en larvas de dos etapas del desarrollo (48 y 72 horas post fertilización (hpf)). Se incubaron los embriones con 10 mM de <sup>64</sup>Cu y se mantuvieron por 2 horas a 28 °C, luego de esto se midió el cobre incorporado en cada individuo.**





**Figura 5. Embrión de pez cebra transgénico HSP70:GFP expuesto a concentraciones altas de cobre por un período corto de tiempo. Se observa en B que el pez expuesto a cobre expresa más proteína fluorescente verde que el control en A, especialmente en tejidos como el hígado (flecha). Esto indica que el cobre en el medio produce estrés tejido específico, el que se expresa por la aparición de fluorescencia verde en distintos territorios dentro del pez. (Nota: la fluorescencia amarilla corresponde a la autofluorescencia del vitelo).**

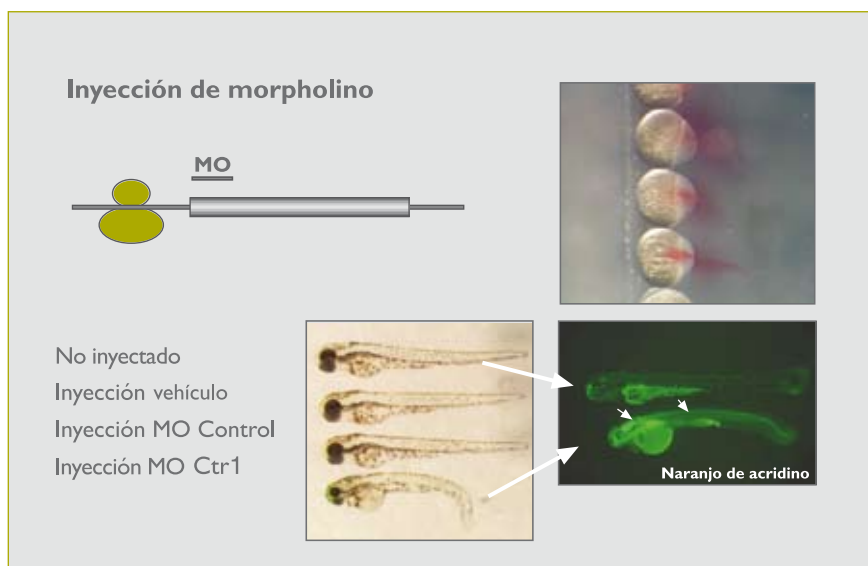


En nuestro laboratorio hemos clonado el gen del transportador de cobre de alta afinidad de pez cebra, Ctr1 (Mackenzie et al., 2004). Este gen tiene una estructura génica similar a la descrita en humano y ratón (alrededor del 70% de la secuencia de aminoácidos es idéntica). Demostramos que es efectivamente un transportador de cobre ya que la expresión heteróloga del gen Ctr1 de pez cebra en levaduras mutantes para Ctr1 y Ctr3 (que no son viables) es capaz de rescatar el fenotipo mutante. La expresión de Ctr1 durante el desarrollo del pez cebra se correlaciona con los tejidos que son importantes en la regulación de la entrada de cobre al organismo, como son las agallas, el intestino, el hígado y el riñón. Aprovechando las tecnologías disponibles en el pez cebra, pudimos generar embriones y larvas de peces que carecen de la función de Ctr1. Usamos la técnica del DNA antisentido

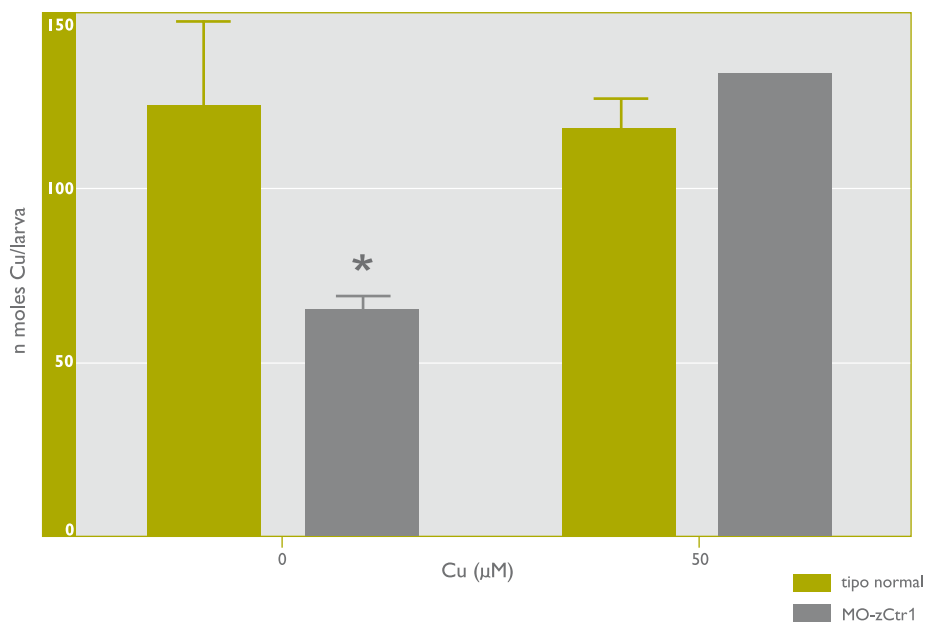
para inhibir la traducción de la proteína Ctrl y observamos que las larvas mueren al tercer día de vida (Figura 6). Al igual que en los mutantes de *Ctrl* de ratón, los defectos son variados y se concentran principalmente en el sistema nervioso. El tubo neural sufre una necrosis fulminante e irreversible debido a la pérdida de este gen, lo que sugiere o que el tejido neural es el más sensible a la falta del ión cobre, o que la función transportadora es irremplazable en estas células. Importantemente, mostramos que los embriones que no poseen la función Ctrl acumulan menos cobre desde el medio comparado con las larvas silvestres (Figura 7), lo que demuestra que el cobre presente en el medio acuático es indispensable para la sobrevivencia de los peces durante su desarrollo, previo a que puedan acceder a las fuentes alimenticias del metal.

Actualmente se piensa que Ctrl representa la primera barrera de defensa de entrada de cobre en exceso a la célula y al mismo tiempo, dada su alta afinidad por el metal, representa la manera en que las células aseguran la captación de este metal cuando es escaso. Sin embargo, hay resultados contradictorios en la literatura acerca de cómo se regula la expresión y la función de Ctrl. En levaduras, parece haber una combinación de mecanismos a nivel transcripcional y de destinación celular de la proteína, mientras que en mamíferos, parece operar sólo el segundo mecanismo. Resultados recientes muestran sin embargo, que en mamíferos pueden haber cambios a nivel de expresión lo que deja abierta la pregunta acerca de la posible multiplicidad de mecanismos regulatorios. Con los peces, estamos efectuando experimentos que puedan ayudar a comprender más cabalmente la situación en los vertebrados.

**Figura 6. Falta de función del transportador de cobre de alta afinidad (Ctr1) de pez cebra. Utilizando técnicas de antisentido (inyección de morpholino, MO) se elimina la función del transportador de cobre Ctr1 de pez cebra por la inhibición de la producción de la proteína, produciendo fallas en el desarrollo y muerte celular (observada con la tinción de naranja de acridino).**



**Figura 7. Inyección de antisentido (MO) de Ctrl disminuye la incorporación de cobre al embrión. Embriones de pez cebra inyectados con MOCtrl en estadio de una célula, posteriormente se incubaron a las 48 horas en medio normal o en medio suplementado con 50  $\mu\text{M}$  de Cu por 6 horas a 28 °C. La carga de cobre se midió por espectroscopía de absorción atómica (AAS).**



## CONCLUSIÓN

Las aproximaciones destinadas a comprender los complejos mecanismos que regulan la homeostasis de cobre nos han proporcionado interesantes hallazgos, pero muestran a la vez el gran desconocimiento que aún tenemos en el tema. A pesar de la avanzada caracterización que se ha realizado en levaduras, los mecanismos moleculares de regulación en organismos superiores presentan algunas diferencias, a pesar de la conservación filogenética de las funciones de las proteínas asociadas a este proceso. Igualmente, los estudios realizados *in vitro* con líneas celulares han sido de gran ayuda para comprender los diferentes factores que intervienen en la regulación de los niveles de cobre en el organismo, los que parecen ser individuales para distintos tipos celulares. No obstante, existe muy poca información de cómo está ocurriendo este proceso en un organismo completo. La indagación de los factores involucrados en la homeostasis de cobre podría tener aplicaciones biomédicas directas, ayudando a comprender los efectos que podría tener este metal respecto a su biodisponibilidad, así como su exceso en el organismo. En este sentido, el pez cebra aparece como un modelo muy atractivo para realizar estudios de homeostasis de cobre, ya que tiene un doble impacto desde el punto de vista ambiental y genético.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo realizado tuvo financiamiento de la International Copper Association y los proyectos ICM P02-050, Fondecyt 1031003 y VRA Universidad Diego Portales. Agradecemos a los integrantes de nuestros laboratorios Natalia Mackenzie, Pedro Hernández, Viviana Gallardo, Cristián Undurraga y Marcia Gaete.

## REFERENCIAS.

Harris E.D. 2001. Copper homeostasis: the role of cellular transporters. *Nutr. Rev.* 59:281-285.

Lee J., Prohashka J.R. and Thiele D.J. 2001. Essential role for mammalian copper transporter Ctr1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:6642-6647.

Mackenzie, N., Reyes, A.E., Brito, M. and Allende, M.L. 2004. Cloning, expression and function of the high affinity copper transporter (Ctr1) gene in the zebrafish. *Gene* 328:113-120.

Rees, E.M. and Thiele D.J. 2004. From aging to virulence: forging connections through the study of copper homeostasis in eukariotic microorganismn. *Curr. Opin. Microbiol.* 7: 175-184.



## COBRE Y SISTEMA NERVIOSO

Como todo nutriente esencial, el cobre es altamente ubicuo dentro del organismo, tanto en términos de tejidos como de funciones. Lo que ocurre es que el cobre participa en muchas reacciones asociadas a diversas funciones, todas dependientes de la capacidad del cobre para capturar y liberar electrones (participando en reacciones de oxidación-reducción). Es por ello que en casos de deficiencia severa de cobre, los síntomas son muy variados, desde disfunción nerviosa hasta anomalías estructurales en el cabello. En otras palabras, las proteínas dependientes de cobre desempeñan funciones muy diversas al interior de la célula: su único rasgo común es que requieren cobre para llevarlas a cabo adecuadamente.

En los últimos años la idea que el cobre participa de alguna manera en los fenómenos de excitabilidad neuronal ha tomado fuerza sobre la base de diversas evidencias indirectas. La primera de ellas es que aunque el cobre asociado a las enzimas del proceso respiratorio se encuentra homogéneamente distribuido en todas las neuronas del Sistema Nervioso Central (SNC), hay también ciertas regiones donde se encuentra acumulado en los terminales sinápticos. La sinapsis es una zona de contacto entre dos neuronas, donde se liberan los neurotransmisores que permiten la transmisión de señales entre neuronas. En los terminales sinápticos, los neurotransmisores se encuentran almacenados en vesículas y en zonas del SNC, como el bulbo olfatorio, la corteza o el hipocampo. Dichas vesículas también contienen cobre, generalmente acompañado de zinc. Durante los eventos sinápticos, ambos iones son liberados junto con el neurotransmisor. La distribución no homogénea de cobre sugiere que podría tener una función particular en aquellas zonas del SNC donde se acumula.

Otra evidencia proviene de la observación de que existen algunas patologías genéticas humanas asociadas a fallas en las proteínas que transportan cobre a través de la membrana y que tienen como consecuencia ya sea una acumulación de cobre en el SNC (enfermedad de Wilson y distonía idiopática) o una disminución de los niveles de este ión (enfermedad de Menkes). En estas tres patologías, los pacientes presentan problemas neurológicos y alteraciones psicológicas. Estos problemas están determinados por un funcionamiento neuronal alterado y desafortunadamente aún no conocemos las bases celulares de esta disfunción. Por otra parte, en los últimos años han aparecido evidencias de que el cobre también desempeña una función en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o variantes humanas de la llamada enfermedad de la "vaca loca". Se han desarrollado modelos animales de



estas enfermedades y hasta el momento es controversial si aumentar los niveles de cobre en el SNC de estos animales sería una ayuda o una desventaja para estas patologías.

Todas estas evidencias indican que el ión cobre afecta la función de las neuronas pero no han dado mayores luces sobre que parámetros específicos neuronales está actuando. El siguiente trabajo sintetiza los aportes de un grupo de investigadores de la Universidad de Chile en esta área pionera, en que queda mucho por saber.



5

## **COBRE Y EXCITABILIDAD NEURONAL: UNA MIRADA A TRES NIVELES**



**Ricardo Delgado, Francisco Morera, Felipe Aedo, Daniel  
Wolff & Cecilia Vergara**

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad  
de Chile.

## INTRODUCCIÓN

El cobre es un ión esencial para las células eucariontes. Es un componente de proteínas que participan en el proceso de respiración celular; de manera que los mamíferos en particular no somos viables en ausencia de este ión. Por otra parte, es un elemento que posee un gran potencial para oxidar algunos grupos químicos de proteínas y/o de lípidos celulares. En el curso de la evolución las células han desarrollado mecanismos que les permiten captar el cobre necesario para sus funciones básicas y también mecanismos que le permiten controlar su potencial oxidativo. La captación la realizan mediante proteínas ubicadas en la membrana plasmática que transportan el cobre desde el medio externo al intracelular y la protección la realizan manteniendo al ión cobre ligado a algunas proteínas “quelantes” como ciertas chaperonas o metalotioneínas.

Las neuronas, así como otras células excitables (células musculares y endocrinas) presentan una diferencia de potencial eléctrico a través de su membrana. Este potencial se conoce como potencial de reposo y alcanza un valor cercano a 0,1 voltios, siendo el interior de la célula negativo respecto del medio externo. En respuesta a un estímulo, la magnitud y polaridad del potencial de trans-membrana cambian transitoriamente generándose una señal eléctrica, el potencial de acción, que se propaga y se transmite entre células en los contactos sinápticos. La capacidad de generar potenciales de acción se debe a que las células excitables poseen en sus membranas canales de iones, que son proteínas que en ciertas condiciones permiten el flujo selectivo de distintos iones entre el interior y el exterior de la célula, lo que constituye una corriente eléctrica. Los canales dependientes de potencial se abren al paso de iones cuando el potencial de reposo de la célula disminuye hasta un cierto valor umbral y los canales-receptores de neurotransmisores lo hacen cuando ligan el neurotransmisor correspondiente. Clave para la generación de un potencial de acción es la apertura de canales de sodio dependientes de voltaje cuando la célula se despolariza. El potencial de acción tiene dos fases: en la primera, el potencial de membrana disminuye su valor negativo y finalmente se hace positivo; en la segunda, el potencial de membrana vuelve al valor de reposo. La primera fase se genera por la apertura de canales selectivos a iones sodio. Debido a que la concentración de sodio es mayor en el medio extracelular, se produce un flujo de entrada de estos iones que incrementa la despolarización, y con ello produce la apertura de más canales de sodio. Estos canales, después de algunos milisegundos pasan a un estado inactivado no conductor.

La segunda fase es generada por la apertura de canales de potasio activados más tardíamente por la despolarización. Dado que este ión está más concentrado en el interior celular se produce un flujo de salida de cargas positivas que vuelve el potencial de membrana al valor de reposo. La magnitud y rapidez con que se desarrolla la corriente de sodio es clave para determinar si la neurona disparará o no un potencial de acción. Cuando se genera un potencial de acción en una neurona, el experimentador no tiene ninguna manera de controlarlo. Por esto, se desarrolló un sistema electrónico de registro que permite fijar externamente el valor del potencial de membrana y medir la magnitud de la corriente que se necesita hacer pasar por la membrana para mantener ese potencial. Con registros en esta condición de voltaje controlado o "voltage clamp" es posible determinar que tipo de canales de iones participan en las fases de subida y recuperación del potencial de acción en los distintos tipos de neuronas.

Para investigar cómo afecta el ión cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) la excitabilidad neuronal, se puede determinar el efecto de distintas concentraciones de este ión sobre las corrientes que participan en el potencial de acción. Para ello, sería importante utilizar concentraciones de cobre equivalentes a las que se alcanzan en el espacio sináptico, ya que si se acoge la idea de usar moléculas quelantes de cobre en patologías como las de Wilson y de Alzheimer; se podría causar un desbalance en la modulación basal que aparentemente tiene el cobre sobre la excitabilidad neuronal en ciertas regiones del SNC y causar alteraciones neurológicas como las que se observan en la enfermedad de Menkes.

Los valores reportados de concentración de cobre en el espacio sináptico alcanzan hasta  $100 \mu\text{M}$ , sin embargo, la concentración del ión libre debe ser mucho más baja dado que éste se encontraría mayoritariamente ligado a moléculas hasta ahora desconocidas.

La caracterización inicial de la acción del cobre sobre la excitabilidad neuronal la realizamos a 3 niveles de organización diferente usando dos sistemas modelos cuyas características basales conocemos muy bien y que nos permiten evaluar los efectos de cobre sobre ellas. El primer sistema son neuronas del epitelio olfatorio de sapo o de rata, en las que podemos medir las corrientes iónicas macroscópicas y la tasa espontánea de disparo de potenciales de acción. El otro sistema es un canal de potasio activado por calcio cuya actividad podemos evaluar a nivel de corrientes unitarias. Las neuronas del epitelio olfatorio se obtienen fácilmente por disociación mecánica y se pueden hacer registros de células aisladas o de grupos de células en

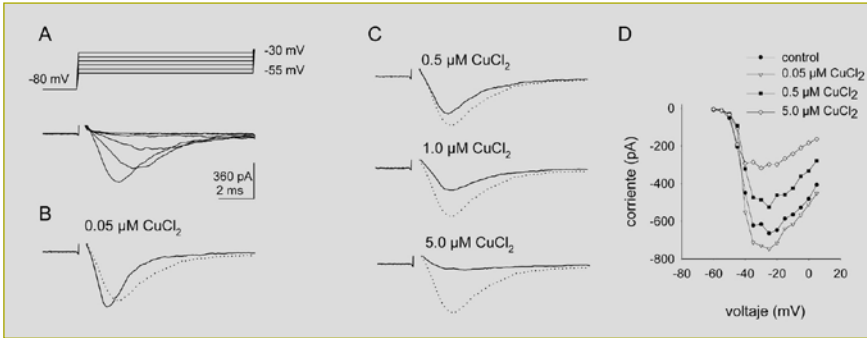
el epitelio sin disociar. Con respecto a los registros en células, en este artículo nos referiremos solo al efecto del cobre sobre la corriente de entrada de sodio y como esto afecta la excitabilidad de las neuronas.

### **Primer Nivel: Efecto Diferencial de Concentraciones Nano y Micromolar de Cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) sobre la Corriente de Entrada de Sodio y el Disparo de Potenciales de Acción Inducido por Despolarización en Neuronas Olfatorias Disociadas**

Las corrientes de sodio de estas células fueron registradas en condiciones de potencial controlado con una familia de pulsos despolarizantes de 10 ms de duración entre valores de potencial de -80 a +10 mV y tienen el comportamiento típico. Se activan a potenciales despolarizantes desde -50 mV y se inactivan de manera convencional. La Figura 1A muestra un protocolo de pulsos simplificado y las corrientes asociadas. Cuando agregamos cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) en el rango nanomolar; las corrientes se activan a los mismos potenciales que en la situación control pero la magnitud de la corriente para cada potencial aumenta. También se acelera la velocidad de activación y la de inactivación, es decir, las corrientes se establecen más rápido y entran al estado inactivado también más rápidamente que en la situación control. En la Figura 1B, se muestran sobrepuestos los trazos obtenidos para una despolarización desde -80 a -30 mV en la condición control (línea punteada) y en presencia de cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) 50 nM (trazo continuo).

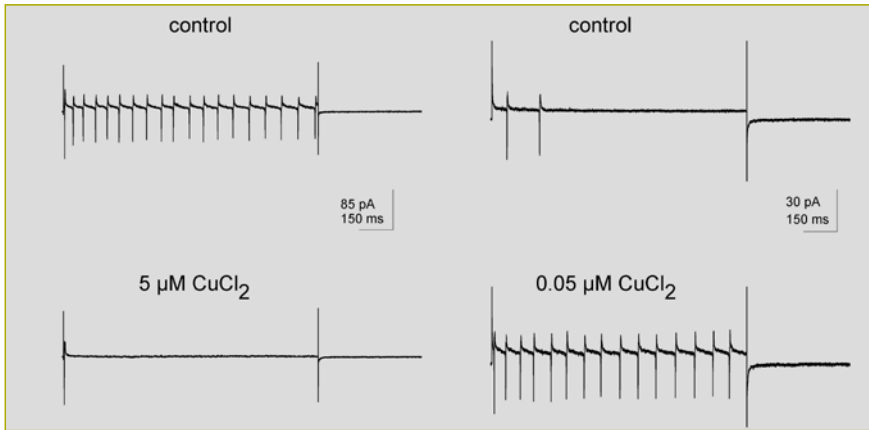
Por otra parte, al agregar concentraciones crecientes de cobre, entre 0,5 y 10  $\mu\text{M}$ , la magnitud de la corriente de sodio y su curso temporal disminuye. Registros sobrepuestos de las corrientes obtenidas para despolarizaciones desde -80 a -30 mV en condiciones control (línea punteada) y expuestos a distintas concentraciones de cobre (trazo continuo) se muestran en la Figura 1C. Un resumen de estos experimentos que cubre dos órdenes de magnitud de concentraciones de cobre (0,05 a 5  $\mu\text{M}$ ) se muestra en las curvas corriente-voltaje de la Figura 1D.

**Figura 1. Efecto de cobre sobre corrientes de sodio de células registradas en condiciones de potencial controlado.**



Como ya se mencionó, la magnitud y el curso temporal de las corrientes de sodio es básico para determinar si una neurona disparará un potencial de acción. Por lo tanto, el efecto de concentraciones nanomolares de cobre en la corriente de sodio predice que neuronas expuestas a ese rango de concentraciones deberían ser más excitables. Por el contrario, las neuronas expuestas a concentraciones micromolares de Cu<sup>2+</sup>, deberían ser menos excitables. Para probar esta predicción registramos el efecto de distintas concentraciones de cobre en la tasa de disparo de potenciales de acción en estas neuronas. Debido a que la tasa espontánea es bastante baja en estas células, indujimos un aumento en la frecuencia de potenciales de acción haciendo pasar una corriente basal. La Figura 2 muestra que con la misma corriente basal que se logra una alta tasa de disparo en la situación control, se logran muy pocos disparos en presencia de 5 μM cobre y para otra célula en que la corriente basal genera pocos potenciales de acción, se logra aumentar la tasa de disparo al exponerla a una baja concentración de cobre (0,05 μM).

**Figura 2. Efecto de Cu sobre potenciales de acción.**

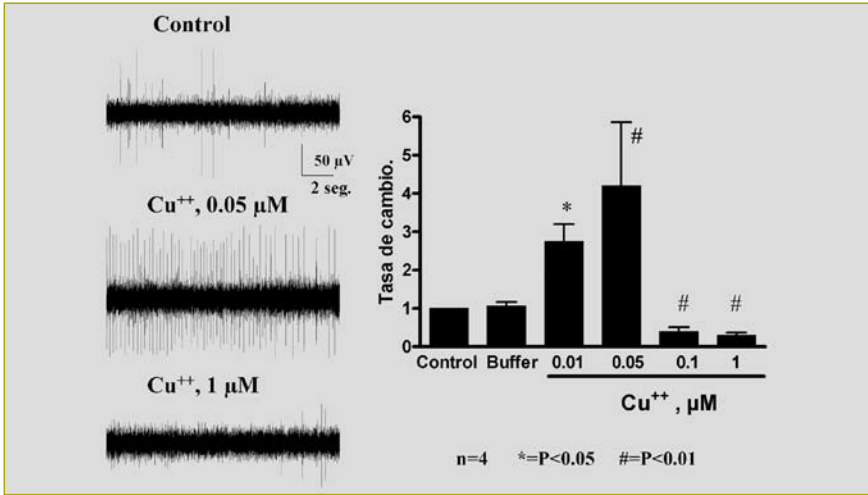


Estos efectos de cobre no se revirtieron al sacar el ión del medio extracelular o al agregar un quelante. Sí pudimos revertirlos al agregar un agente reductor (5 mM ditioneitol, DTT) de manera que pensamos que el cobre media la modulación de la corriente de sodio al oxidar algunos grupos del canal.

### **Segundo Nivel: Efecto Diferencial de Concentraciones Nano y Micromolar de Cobre sobre la Tasa de Disparo Espontánea de Células del Epitelio Olfatorio no Disociadas**

El resultado de la Figura 2 está de acuerdo con la predicción de que la excitabilidad neuronal es modulada de manera diferencial por distintas concentraciones de cobre. Sin embargo, este efecto no fue sobre la tasa espontánea de disparo de potenciales de acción, sino sobre una frecuencia inducida. Para medir tasas espontáneas de potenciales de acción, hicimos registros extracelulares sobre la actividad de un grupo de neuronas del epitelio sin disociar. El resultado de un experimento se muestra en el panel izquierdo de la Figura 3 y la cuantificación de varios experimentos en el panel derecho. Se considera la tasa de disparo en condición control como valor unitario y se expresa el aumento o disminución inducidos por cobre en relación a este valor. La barra marcada Buffer es un control de que el cambio de soluciones *per se* no induce un cambio en la tasa.

**Figura 3. Efecto de Cu sobre tasas espontáneas de potenciales de acción en un grupo de neuronas del epitelio sin disociar.**



### **Tercer Nivel: Efecto de Cobre sobre las Propiedades de Canal Único del Canal de Potasio Activado por Calcio y Potencial de Alta Conductancia (BK<sub>Ca</sub>) Medido en Bicapas Artificiales**

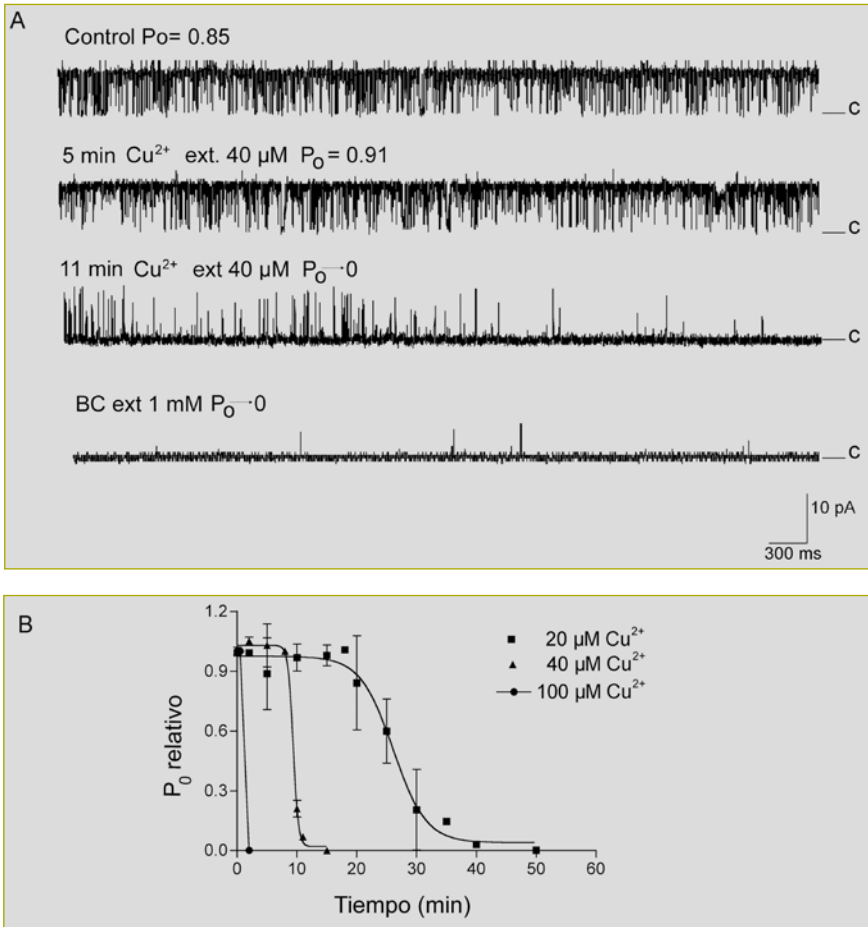
El canal BK<sub>Ca</sub> se encuentra presente en prácticamente todos los tejidos de mamíferos. En los terminales sinápticos neuronales su actividad puede regular la duración local del potencial de acción, modulando de esta manera el tiempo durante el cual se libera el neurotransmisor desde las vesículas sinápticas. Estudiamos el efecto de cobre sobre las propiedades del canal BK<sub>Ca</sub> del músculo esquelético incorporado en membranas artificiales.

Encontramos que Cu<sup>2+</sup> en el rango micromolar expuesto al lado extracelular del canal causa una disminución en la fracción del tiempo que el canal permanece abierto (P<sub>o</sub>) que es función del tiempo de exposición y de la concentración de cobre. Al exponer el canal a Cu<sup>2+</sup> 100 μM, éste pasa a un estado cerrado permanente luego de unos pocos segundos. Si las concentraciones de cobre son menores (e.g. 40 μM) el canal disminuye la fracción de tiempo en el estado conductor en un 50% luego de aproximadamente 5 minutos. También encontramos que una vez que el canal llega a un estado de bajo P<sub>o</sub>, no se recupera al lavar el cobre ni ligarlo al



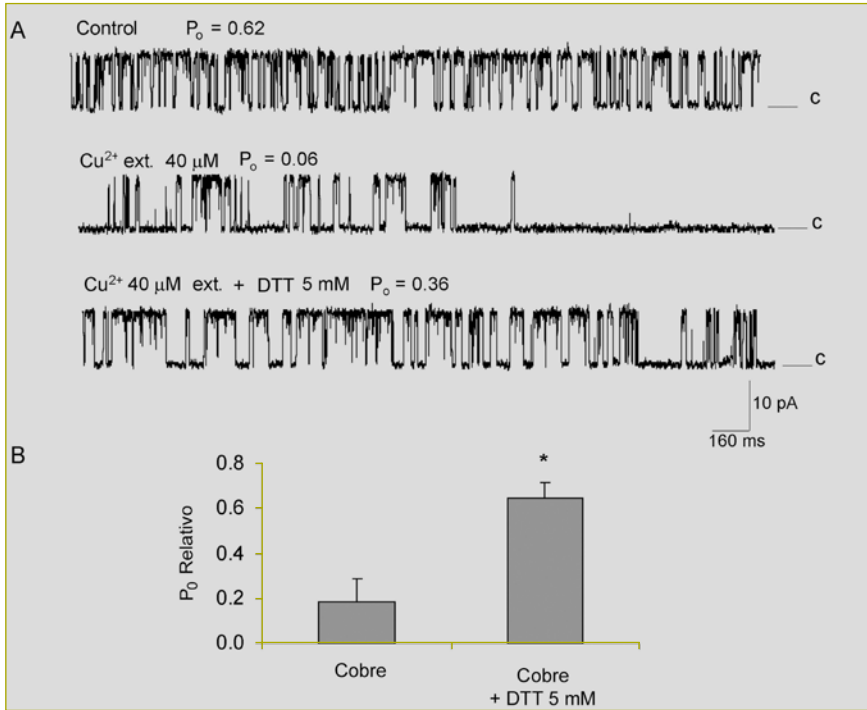
quelante batocupreína. La Figura 4A muestra los registros de canal único para una concentración de cobre y la 4B es el resumen de todos los experimentos.

**Figura 4. A) Efecto de Cu sobre parámetros de apertura del canal (registro de un experimento); B) Resumen de resultados.**



Al igual que lo observado en las células, un agente reductor como el DTT puede revertir parcialmente el efecto de cobre como se muestra en la Figura 5.

**Figura 5. Reversión parcial del efecto del Cu por un agente reductor (DDT).**



## DISCUSIÓN

Hasta el momento, en mamíferos se han descrito 9 genes que codifican para canales de sodio y aunque las corrientes portadas por los distintos canales muestran algunas diferencias, tienen el mismo comportamiento general respecto a su dependencia de potencial para la activación. Por esto creemos que el efecto de cobre será muy similar en todas las neuronas. Los resultados descritos muestran claramente que el cobre tiene la capacidad de modular el grado de excitabilidad neuronal y que la posibilidad de que el cobre liberado sinápticamente afecte el grado de excitabilidad de las neuronas en la vecindad del sitio de liberación es muy alta. Nuestros resultados sugieren que un posible mecanismo mediante el cual cobre ejercería su acción sería mediante modificaciones de tipo óxido-reducción. Para que esto pueda funcionar; se necesita un agente que pueda revertir los efectos de cobre. En el medio extracelular que baña a las neuronas existen al menos dos moléculas con “capacidad reductora” de manera que el modelo es posible. Nuestro próximo desafío es probar si esto se repite en rebanadas de cerebro que es un sistema modelo mucho más cercano a la realidad.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este proyecto fue financiado con un proyecto CIMM-ICA y Fondecyt 1040681.

## **REFERENCIAS**

Kardos J., Kovacs I., Hajos F., Kalman M., Simonji M. Nerve endings from rat brain tissue release Copper upon depolarization. A possible role in regulating neuronal excitability. *Neurosci Lett* 103: 139-144, 1989.

Horning MS., Trombley PQ. Zinc and Copper influence excitability on rat olfactory bulb neurons by multiple mechanisms. *J Neurophysiol* 86: 1652-1660, 2001.

Morera FJ., Wolff D., Vergara C. External Copper inhibits the activity of the large conductance, Ca and voltage sensitive K channel from skeletal muscle. *J Membrane Biol* 192: 65-72, 2003.

## COBRE Y CAÑERÍAS

El nivel seguro de exposición a cobre en agua para consumo humano fue definido categóricamente por la OMS en el año 2002. Este tema se venía discutiendo desde 1993, cuando esta organización colocó por primera vez el cobre en la lista de sustancias del agua potable que generan efectos sobre la salud. En 2002, la OMS definió el nivel de 2 miligramos por litro (mg/L) como el nivel al cual no se observan efectos agudos, esto es efectos gastrointestinales reversibles, como náusea, diarrea y vómitos. El objetivo de las entidades reguladoras es que la población no se exponga a agua potable que contenga sustancias a concentraciones tales que generen efectos adversos de salud. Por lo tanto, es crítico poder predecir bajo qué condiciones se pueden exceder tales concentraciones, cuál es el riesgo asociado a esos eventos y cómo se pueden prevenir:

Las aguas superficiales y subterráneas generalmente no contienen niveles altos de cobre, y actualmente se sabe que la mayor parte del cobre en el agua potable proviene de la disolución y corrosión de cañerías de cobre y piezas de bronce de los sistemas de distribución. Se estima que más de 150 millones de hogares y edificios en todo el mundo tienen cañerías de cobre para distribución de agua. Más del 70% de los hogares en países como Estados Unidos, Reino Unido y Chile tienen cañerías de cobre. Es entendible entonces que las agencias internacionales preocupadas de la salud y el medio ambiente hayan puesto al cobre bajo la lupa.

Y si bien el tema de los efectos agudos parece despejado por el momento, aún persisten incertidumbres sobre posibles efectos crónicos, es decir efectos más severos, irreversibles y de largo plazo. Esto enfatiza la importancia de contar con modelos predictivos adecuados. Desgraciadamente, actualmente no existen herramientas para predecir exposición a cobre en agua potable. En la ausencia de tal instrumento, se puede aplicar el principio precautorio para regular la exposición y proteger a un número indefinido de individuos genéticamente susceptibles, lo que representa una clara amenaza para los mercados del metal.

El siguiente artículo realiza una exhaustiva revisión del progreso alcanzado en este campo durante los últimos diez años, examinando de pasada las contribuciones hechas por el autor; investigador con amplia experiencia en el tema desde los puntos de vista técnico y normativo.





6

## EXPOSICIÓN HUMANA A COBRE EN AGUA POTABLE



**Gustavo Lagos**

Centro de Minería, Escuela de Ingeniería, Pontificia  
Universidad Católica de Chile; Vicuña Mackena 4860, Macul,  
Santiago, Chile.

## INTRODUCCIÓN

Cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó la revisión de sus Guías para Agua Potable en 1993, ya existía el conocimiento para predecir termodinámicamente cuál sería la concentración de cobre en aguas con diversas composiciones en contacto con cañerías de cobre. Se había descrito en la literatura que cuando el cobre ingresaba al agua, lo hacía de forma disuelta y que el cobre particulado era una fracción menor, generalmente inferior a 5% del cobre total. Y era sabido que la concentración de cobre en el agua debía obedecer las ecuaciones que estiman la solubilidad de un sólido en equilibrio con el agua. Los sólidos correspondían a los compuestos formados debido a las reacciones de corrosión y precipitación del cobre dentro de la cañería.

Se aceptaba entonces, al igual que ahora, que la mayor parte de la corrosión se debía a la “agresividad” del agua y que esto, a su vez, se correlacionaba con su acidez y la concentración de sales como bicarbonatos, carbonatos, sulfatos, cloruros, nitratos y fosfatos. También se sabía que la temperatura tenía un efecto importante debido a su efecto sobre la solubilidad de los diferentes sólidos que se forman en el interior de la cañería. Pero aún no se sabía que la temperatura podía desempeñar un papel tan importante en la determinación de la estabilidad de la disolución del cobre en cañerías, como se discutirá más adelante.

Como resultado de este conocimiento, se sabía que las mediciones relevantes de cobre en agua potable debían hacerse en la llave de salida y no en la fuente del agua. Después de unas pocas horas de estancamiento en la cañería, el agua se carga con cobre y en cuanto se abre la llave el flujo lava el cobre y se restablece la concentración de cobre a su nivel base,<sup>1</sup> la que era de alrededor de 29 ug/L para los EEUU a comienzos de los años 90, igual concentración que la observada en Santiago de Chile a fines de la misma década.

También era un hecho aceptado que la manufactura no era responsable de generar diferencias importantes en la corrosión de cañerías de cobre. Esto aún es aceptado actualmente a pesar que, especialmente en Europa, no ha sido fácil alcanzar buenos niveles de reproducibilidad del fenómeno de corrosión.

Una de las cosas que se sabe actualmente y que no era plenamente comprendida en

---

<sup>1</sup> También denominado “concentración de cobre en agua corriente”.

1993 es que las concentraciones elevadas de cobre generadas en agua potable no estaban relacionadas con casos de corrosión de picadura (pitting corrosion) sino con corrosión uniforme o generalizada. La corrosión de picadura consiste en la reacción electroquímica localizada de especies químicas presentes en el medio de corrosión, con un sitio específico en la superficie de la cañería. Debido a que la corrosión es localizada, generalmente conduce a ruptura de la cañería. Este fenómeno constituía una preocupación importante para los fabricantes debido a la inconveniencia que causaba a los consumidores.

La teoría de corrosión uniforme había establecido que habían varios sólidos que podían formarse o precipitarse en la superficie interna de la cañería, incluyendo óxido cuproso y cúprico, diversos compuestos a base de carbonato, incluyendo malaquita, varios cloruros, sulfatos, fosfatos y otros compuestos inorgánicos de cobre. Lo que no se había determinado era el orden temporal de formación de dichos compuestos. Hoy es claro que algunas transiciones pueden ocurrir, pero otras son aún desconocidas. Por ejemplo, cuando se forma hidróxido cúprico en la superficie en alcalinidad alta y pH intermedio, uno debería esperar que se forme malaquita. Pero si hay altas concentraciones de sulfato o cloruro, ¿deberían formarse también sólidos de cloruro y sulfato de cobre? En el tiempo, deberían predominar los sólidos de más baja solubilidad. Por lo tanto, si entendemos el envejecimiento como el proceso por el cual una cañería de cobre genera el compuesto de más baja solubilidad posible en su superficie –para una temperatura y composición de agua determinadas– entonces el envejecimiento debería tender a minimizar la liberación de cobre al agua.

Sin embargo, el envejecimiento ocurre principalmente cuando el agua está estancada y, por lo tanto, el patrón de uso de agua en hogares y edificios también determina la tasa de envejecimiento. Un agua que está siempre corriendo no permitirá el envejecimiento de la cañería porque la mayor parte de los subproductos liberados escurrirán y no podrán precipitar. Ahora sabemos que tiempos de estancamiento más largos favorecen el envejecimiento, mientras no excedan las 24 horas. Pasado ese tiempo, otros procesos pueden ocurrir que alteran la lógica expuesta. También es importante la frecuencia de estancamiento. Por lo tanto, en una casa cuyos habitantes pasan la mayor parte del tiempo en ella, sacando agua, las cañerías deberían envejecer más lentamente.

También se sabía que el diámetro de la cañería también la velocidad de envejecimiento, debido a procesos de difusión. En una cañería de mayor diámetro en régimen



de estancamiento, los sólidos que se disuelven en la superficie demoran más en llegar al centro del volumen de la cañería que en una cañería menor. Por ende, el envejecimiento es generalmente más rápido en cañerías más pequeñas.

Lo que no se había comprendido en 1993 es que la materia orgánica presente en agua potable podía tener un impacto tan grande sobre la concentración de cobre en agua, a pesar que un investigador británico había descrito hace 4 décadas algunos efectos de la materia orgánica sobre la corrosión. La mayoría del agua en todo el mundo contiene un poco de materia orgánica y algunas aguas alcanzan niveles muy elevados. La materia orgánica secuestra el cobre que se disuelve de las superficies e impide su precipitación. Por lo tanto, agua con materia orgánica puede aumentar mucho la concentración de cobre en comparación con agua en que sólo hay compuestos inorgánicos. Pero el efecto de la materia orgánica no es tan simple, pues existen varios mecanismos por los cuales la materia orgánica puede reducir el potencial de envejecimiento de una cañería de cobre. Aunque nuestro entendimiento de estos fenómenos ha aumentado mucho en la última década, aún está por verse si este conocimiento puede convertirse en modelos que puedan predecir con precisión los niveles de cobre en agua potable en presencia de sustancias orgánicas.

Dado que la velocidad de envejecimiento de la cañería depende en gran medida del patrón y extensión del periodo de estancamiento, se hizo evidente que era crucial estudiar el patrón de uso para entender la exposición a cobre en agua potable. Esto se discute en la siguiente sección.

## NIVEL DE EXPOSICIÓN A COBRE EN AGUA POTABLE Y MÉTODOS PARA MEDIRLO

En la literatura se han identificado al menos cuatro métodos para estimar la exposición humana a cobre en agua potable, los que se discuten brevemente a continuación.

Cualquier método que estime exposición debe medir al menos dos variables. La primera es la concentración de cobre en agua potable, y la segunda es la ingesta de agua potable. El enfoque adoptado por el autor está basado en la definición del National Institute of Health, NIH, de EEUU, que considera que el agua potable es consumida directamente como agua fresca, en café, en té y otras bebidas calientes, incluyendo sopas, o en bebidas frías preparadas con agua corriente, por ejemplo jugos. El agua contenida en alimentos, agua embotellada, bebidas, leche, y alcohol no se considera parte del agua corriente.

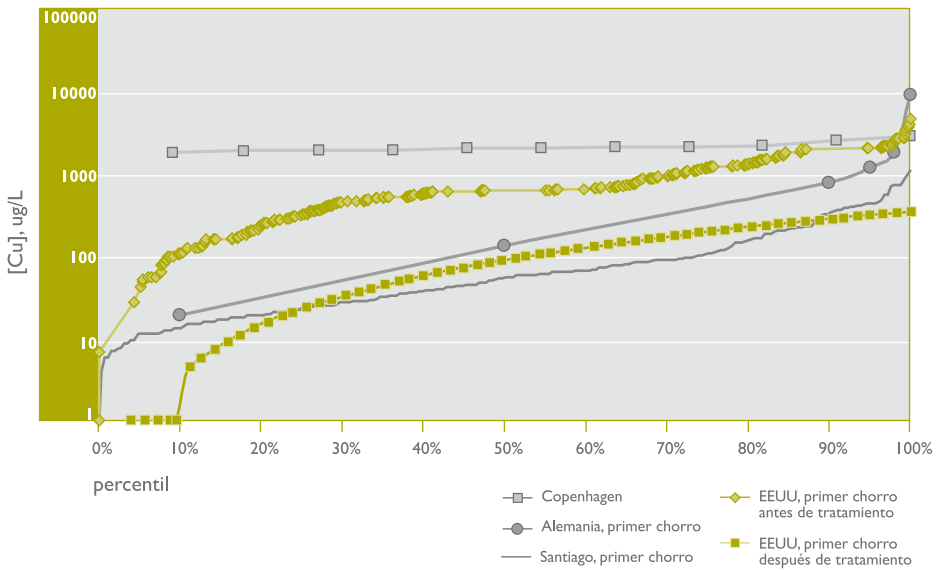
Un estudio en una muestra representativa de la población de Santiago, Chile, realizado en 1997 demostró la importancia de los hábitos de consumo para la determinación de la exposición. Este método se denominó el Modelo de Exposición de Hábito de Consumo (MEHC) y se basa en un cuestionario de hábitos de consumo de agua y en la medición de concentraciones de cobre en agua estancada, corriente y muestras al azar en hogares y lugares de trabajo o estudio. El método MEHC puede estimar exposiciones mínima, promedio y episódica, como también máxima exposición potencial. El modelo supone que la mayoría de los individuos beben agua con concentración máxima de cobre sólo dos veces en 24 horas, generalmente temprano en la mañana y al volver a casa en la tarde, suponiendo que nadie usó el agua en la casa en el día. Se completa el cuestionario para cada individuo cuya exposición se va a estimar. Los datos de la encuesta se usan, junto con las mediciones de cobre, para estimar la exposición.

El estudio de Santiago –basado en el método descrito aplicado a 250 hogares con cañerías de cobre– encontró que en esta ciudad el consumo de agua era mayor en verano, y que las concentraciones de cobre medidas tras aproximadamente 8 horas de estancamiento eran bastante menores, como se muestra en la Figura 1. El método identificó exposiciones individuales, el tipo de individuos más propensos a consumir agua con altas concentraciones de cobre y las razones para exposiciones bajas, medias y elevadas.

En la Figura 1 se observa que la concentración más alta de cobre (con estancamiento

de 8 horas) detectada en Santiago fue apenas superior a 1 mg/L, muy inferior a las concentraciones medidas en los EEUU, Alemania y Dinamarca.

**Figura 1. Cobre en agua potable, distribución en cuatro países: Copenhagen (cuadrados grises); EEUU, primer chorro antes de tratamiento (rombos); Santiago, primer chorro (línea sola); EEUU, primer chorro después de tratamiento (cuadrados verdes); Alemania, primer chorro (círculos).**



La Figura 1 presenta la distribución de la concentración de cobre en agua potable estancada, medida en la llave de la cocina en diversos lugares. La curva superior se obtuvo antes que el agua fuera tratada para controlar la corrosión y corresponde a un subconjunto del estudio de la American Water Works Association, AWWA, que tiene datos de 284 compañías proveedoras de agua que abastecían a una población de 105,8 millones. Estas compañías tomaron un total de 27.407 muestras en cumplimiento de la normativa de la Environmental Protection Agency (EPA) de EEUU sobre cobre y plomo en agua potable. La base de datos tenía una medida por cada compañía por parámetro, o sea 284 medidas de concentración de cobre en agua estancada (la más alta en cada compañía), 284 medidas para la concentración percentil 90 (también la más alta) y 284 medidas de la concentración en agua corriente (también la más alta). Por lo tanto, la distribución de concentración de cobre en agua corriente y estancada para EEUU que se muestra en la Figura 1 no es representativa de la población total muestreada, ya que esto supondría que

cada compañía tiene la misma distribución estadística en todo su universo. Esto es muy improbable, debido a diferencias en la composición del agua, el diseño de la red de cañerías y otros factores. Un gráfico con las 27.407 mediciones sí sería representativo.

La concentración más baja de la Figura 1 corresponde al dato de una compañía que abastecía de agua a 175 mil personas y que, después de haber excedido los límites normativos, empezó a tratar el agua para reducir la liberación de cobre y plomo. Antes del tratamiento, el percentil 90 de concentración de cobre en el primer chorro era de 2,26 mg/L, con un máximo de 4,56 mg/L y un mínimo cercano a cero. El pH antes del control de corrosión era 7,1 y la alcalinidad 268 mg/L como  $\text{CaCO}_3$ . Para cumplir la norma, la compañía subió el pH a 7,4 y bajó la alcalinidad a 98 mg/L. Tratamiento similares en otras compañías en EEUU probaron ser eficientes en la reducción de la liberación de cobre desde las cañerías al agua, pero esto tuvo un costo económico relevante para los consumidores. Es importante señalar que en Europa muy pocos países tratan el agua con fines de controlar la corrosión.

La Figura 1 muestra la distribución de concentración de cobre en el primer chorro para Alemania<sup>2</sup> y para Santiago,<sup>3</sup> Chile. Las muestras alemana y de Santiago fueron representativas de las respectivas poblaciones. También se muestra la distribución para 12 hogares de un vecindario de Copenhagen en 1999. Cada hogar fue muestreado dos veces, en días diferentes, para agua con estancamiento de 12 horas. Muchas áreas de Dinamarca extraen su abastecimiento de agua potable desde pozos de aguas agresivas para las cañerías de cobre, y este vecindario fue elegido debido a reclamos por síntomas gastrointestinales. En 2004 se estableció que las altas concentraciones de cobre en agua potable podrían deberse al alto contenido de materia orgánica disuelta del agua (8,6 mg/L).

La Figura 1 enfatiza el hecho que uno de los factores que determinan la concentración de cobre en agua potable es la composición del agua, como puede verse también en la Tabla 1. Los datos de Copenhagen muestran que una alcalinidad elevada es determinante en la generación de niveles altos de cobre en el agua, mientras que en el caso de EEUU parecería que los niveles de cobre son producidos por un efecto mixto de alto pH y alcalinidad. Santiago tiene concentraciones muy moderadas de cobre en el agua, asociadas a niveles muy moderados de pH y alcalinidad. Cuando la composición del agua varía poco, la distribución es casi horizontal. Ese fue el caso en la muestra de Copenhagen.

---

<sup>2</sup> Alemania Oriental y Alemania Occidental.

<sup>3</sup> Población de aproximadamente 5,5 millones.



Un segundo método para medir exposición a cobre en agua potable es el Método de Muestreo Proporcional Compuesto, MMPC, establecido en Holanda en los 90. El método consiste en instalar un circuito de agua paralelo en la llave de la cocina e instruir a la familia a que use el agua de la llave sólo al beber agua o preparar bebidas como sopas, jugos, café, etc. Un porcentaje del volumen usado por la familia, generalmente un 5%, es desviado automáticamente a un frasco que puede almacenar hasta varios litros. Después de algunos días, o incluso una semana, se muestrea el frasco y se mide la concentración de cobre. Este método, a pesar de ser directo, tiene varias desventajas. La primera es que es muy caro de implementar. La segunda, y más importante, es que establece un promedio para todas las personas que viven y puedan visitar la casa en un periodo de tiempo. Por lo tanto no establece exposición individual.

Un tercer método, creado originalmente para estudiar exposición a elementos traza en alimentos y bebidas, y después aplicado por varios autores e instituciones a agua potable, consiste en muestrear cada vez que un individuo bebe un líquido que contiene agua de la llave, registrando el volumen que se bebe. Este método fue denominado el método de bebida/muestra. Este enfoque puede incorporar el uso complementario de un cuestionario. Este método se aplicó al estudio realizado en Copenhagen (Figura 1).

Un cuarto método –desarrollado conjuntamente por varias instituciones europeas a fines de los años 90– se basa en una muestra diaria aleatoria, tomada durante horas de oficina de una llave de agua potable, sin hacer correr el agua previamente. Este método toma una muestra, en un lugar, que debería representar la exposición promedio de las personas que viven o trabajan allí. El estudio europeo concluyó que “la técnica de muestreo aleatorio no produce necesariamente datos representativos de la concentración de metales en una llave definida y la ingesta semanal del consumidor”. La técnica aleatoria fue usada (dos medidas en cada lugar) en el estudio de Santiago para medir exposición en el trabajo, y los resultados se correlacionaron bien con la evaluación por el método de encuesta. Se puede mostrar que varias medidas en un lugar mejoran significativamente la estimación de la exposición promedio, pero esto sube el costo de muestreo por instalación. El estudio europeo reveló que el tiempo entre usos de la llave de agua disminuye con el número de personas que viven en la casa, y se puede inferir que el muestreo aleatorio debe diseñarse teniendo esto en cuenta.

En síntesis, durante los años 90 se desarrollaron varios métodos para estimar la exposición a cobre en agua potable –pero obviamente estos métodos no son equivalentes en términos de la información que proporcionan. Estos deben ser usados teniendo en cuenta sus metas, fortalezas y debilidades. También, las mediciones de concentraciones de cobre en 4 países de la Figura 1 muestran que es extremadamente infrecuente encontrar concentraciones en el primer chorro por sobre 5 mg/L, y que los promedios en general son inferiores a 1 mg/L. Debe señalarse que en ninguno de estos estudios se tuvo información sobre las concentraciones de carbono orgánico total para los hogares individuales.

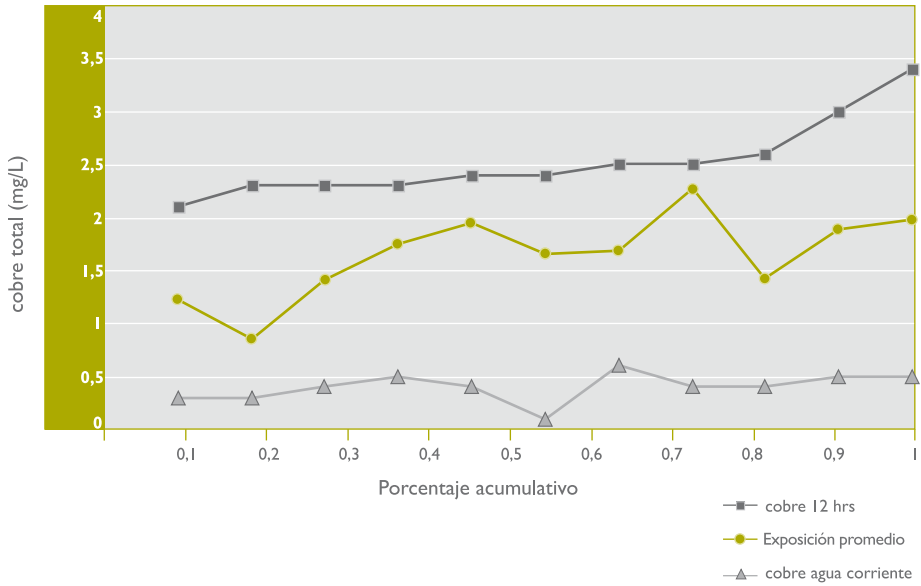
**Tabla I. Algunas variables de las mediciones de cobre en agua potable realizadas en diferentes sitios de EEUU, Alemania, Chile y Dinamarca.**

	EEUU antes de tratamiento	EEUU después de tratamiento	Santiago	Alemania	Copenhagen
Número de casas medidas	27.407 <sup>(1)</sup>	-	245	4.767	10
Población representada en mediciones (millones de personas)	105,8	0,175	5,5	82	0,025
Concentración promedio en primer chorro (µg/L)	983 <sup>(7)</sup>	133	124	341	2.530
Concentración máxima de cobre en primer chorro (µg/L)	5.600	399,6	1.195	11.000	3.400
Concentración promedio de cobre en agua corriente (µg/L)	28	-	29	-	400
Tiempo de estancamiento a primer chorro (horas)	6	6	7,85 <sup>(5)</sup>	Ver nota <sup>(4)</sup>	12
pH promedio	7,95	7,4	7,7	-	7,8
pH mínimo	5,6	-	6,4	-	7,7
Alcalinidad máxima (mg/L como CaCO <sub>3</sub> )	433	-	260	-	580
Alcalinidad promedio (mg/L como CaCO <sub>3</sub> )	84	98	84	-	556
Ingesta promedio de cobre por persona por día (µg/persona/día)	-	-	93,5 <sup>(3)</sup>	88 <sup>(6)</sup>	1.312 <sup>(2)</sup>
Ingesta promedio de agua potable por persona por día (ml)	1.200	-	1.585 <sup>(3)</sup>	700	800

(1) número de muestras analizadas; (2) Ingesta en casa; (3) Durante el invierno. En el verano la ingesta de cobre es 26% más alta; (4) Estancamiento durante la noche; (5) Tiempo de estancamiento promedio durante la noche en invierno; (6) Estimado sobre la base de concentración de cobre en primer chorro; (7) Este valor representa el promedio del valor más alto de la concentración de cobre estancado para las 284 compañías, y, por lo tanto, no debe compararse con otros valores para cobre estancado en esta tabla.

¿Se puede predecir la concentración de exposición? La Figura 2 muestra la distribución acumulativa de cobre en agua estancada por 12 horas, agua corriente, y la exposición promedio en cada hogar muestreado en el estudio de Copenhague.

**Figura 2. Distribución acumulada de cobre en agua estancada por 12 horas, agua corriente y exposición promedio en los hogares del estudio de Copenhague.**



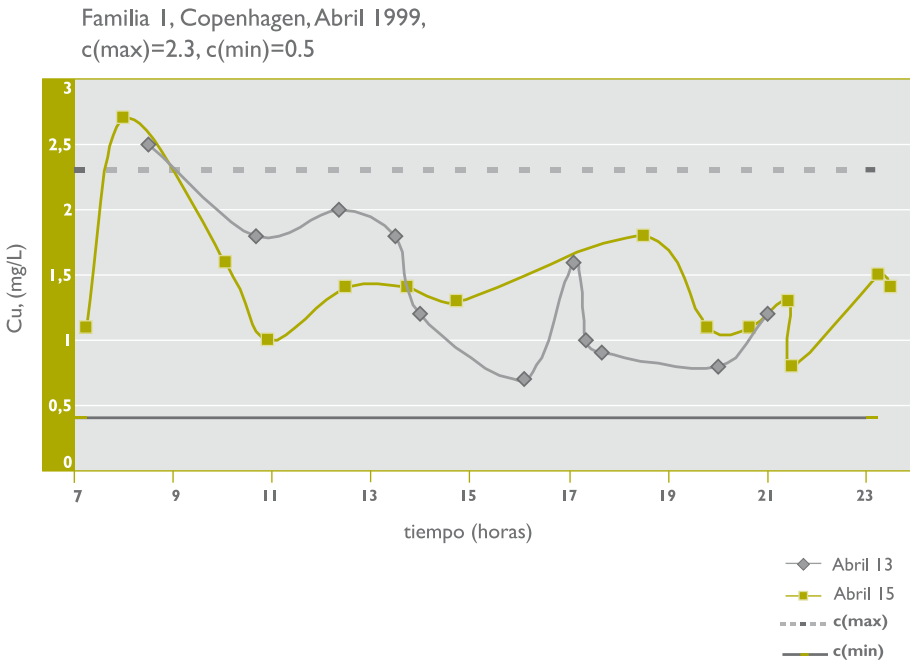
Las tres curvas de distribución de la Figura 2 siguen diferentes tendencias. De hecho, el coeficiente de correlación,  $R^2$ , entre la concentración de exposición y la concentración de cobre de estancamiento por 12 horas es 0,24. Esto indica que virtualmente no hay correlación entre las dos variables. Se observa lo mismo entre la distribución de la concentración de exposición y la distribución de la concentración de cobre en agua corriente. Es evidente, entonces, que las estimaciones de exposición deben tener en cuenta los hábitos de consumo, tomando  $c_{max}$  y  $c_{min}$  como meras condiciones de borde.

La Figura 3 muestra la exposición de una familia de una de las casas del estudio de Copenhague, obtenida por el método de bebida/muestra. La casa fue muestreada durante dos días, y se observó que la concentración de cobre varía aleatoriamente



cada vez que alguien saca agua para su consumo personal. En los dos días, se encontró una muestra en que la concentración de exposición excedió la concentración de cobre de estancamiento por 12 horas. Una causa de esto puede ser que el tiempo para llegar al equilibrio (que lleva a generar la máxima concentración potencial) se logra sólo para períodos mayores que 12 horas en cañerías de gran diámetro, como las usadas en este complejo en particular. Esta conducta se observa para varias de las casas estudiadas. Si ocurre esto con tiempos de estancamiento de 12 horas, puede ocurrir muy frecuentemente con tiempos más cortos de estancamiento usados por entidades reguladoras. Esto muestra que la concentración potencial máxima a la que se puede exponer la población no es generalmente detectada en estudios en que sólo se miden concentraciones de cobre para un tiempo particular de estancamiento. Como conclusión, las distribuciones de concentración de cobre en estancamiento deben corregirse o estandarizarse por diámetro de cañería y tiempo de estancamiento para obtener la concentración potencial máxima de cobre.

**Figura 3. Exposición de una familia en Copenhagen, 1999, en dos días casi consecutivos. Las líneas rectas paralelas muestran los valores correspondientes a  $c_{max}$  (línea punteada), y  $c_{min}$  (línea continua).**



Una vez realizada la corrección, la concentración de exposición debería caer entre la concentración potencial máxima y la del agua corriente.

La Figura 3 indica que para realizar estimaciones de concentraciones promedio y máxima de cobre en la llave se debe tener un patrón promedio de uso de agua para hogares y edificios durante 24 horas, en días de semana y fines de semana.

## **VARIABLES REQUERIDAS PARA ESTIMAR EXPOSICIÓN**

Se ha establecido que para poder estimar la concentración de cobre en la llave de agua como función del tiempo es necesario medir las siguientes variables físicas y químicas:

1. Temperatura del agua (en el lugar)
2. pH (en el lugar)
3. alcalinidad (en el lugar)
4. concentración de calcio
5. concentraciones de sulfato, cloruro, nitrato y fosfato
6. concentración de materia orgánica –y posiblemente materia orgánica disuelta
7. concentración de cobre en la fuente
8. diámetro de cañería
9. largo de cañería
10. edad de cañería

La mayoría de las compañías de agua miden las variables 1 a 5. La variable 6 debe ser incorporada a estas mediciones en el futuro, si aún no se hace. El diámetro y largo de cañería deberían tener un valor típico para la mayoría de los hogares de un país. La edad puede estimarse a partir de información municipal de la edad de las construcciones. Sin embargo, en cada caso se debe determinar el material de las cañerías. Otro aspecto que se puede averiguar es la última reparación del sistema. En algunos casos estas reparaciones pueden incluir una parte importante de la casa y, por lo tanto, afectar mucho la estimación de edad. La concentración de cobre en la fuente debe medirse porque no hay forma de estimarla, a menos que se la asocie a la presencia de cobre en ríos y agua subterránea. Por último, se puede adoptar un valor de 30 ug/L, pero esto podría variar significativamente en lugares en que el contenido natural de cobre en suelos superficiales es elevado.



Medidas estas variables, debería ser posible establecer la concentración potencial máxima de cobre en la llave de agua, como también la exposición potencial máxima de los individuos que ocupan la instalación.

Las siguientes variables deben estimarse para predecir la concentración promedio de cobre.

11. patrón de uso de agua para días de la semana y fines de semana
12. número de habitantes por hogar o gente que trabaja en un lugar dado
13. edad y género de los habitantes
14. ocupación de los habitantes

La variable número 11 puede estimarse en promedio por persona para hogares y edificios en un país dado para invierno y verano. Se pueden usar patrones promedio de uso de agua. La concentración promedio de cobre que el modelo debe ser capaz de predecir debería ser la concentración promedio de exposición para las personas que viven en un hogar dado.

Las variables 12 a 14 pueden obtenerse de censos nacionales o encuestas específicas. El número de personas que viven en una casa, como también su edad y ocupación, son importantes para establecer el consumo de agua. La cantidad de agua ingerida en un día depende de la edad, el género y la ocupación. Los trabajadores de la construcción, atletas y vendedores callejeros pueden ingerir hasta el doble de agua que los oficinistas. Con la información de las variables 11 y 13, se puede modificar el patrón de uso de agua. Para muchos países no existe información detallada sobre consumo de agua por edad, género y ocupación, y sería necesario obtenerla.

Debe señalarse que no se requieren métodos caros, como el de bebida/muestra o el método MEHC, para estimar exposiciones potenciales máximas y promedio. Si se requiere información de exposición individual, entonces es muy probable que se requiera aplicar uno de esos métodos.

Una meta –establecida por un grupo de expertos en Europa– sería predecir la concentración de cobre  $\pm$  un error de 10%. Esto sería como lograr medir la concentración de cobre por el método aleatorio por ejemplo. Por lo tanto, es una meta muy difícil cumplir con este valor. Un valor más realista sería una estimación con un error de 20%.

## **INFLUENCIA DEL CAMBIO DE COMPOSICIÓN Y TEMPERATURA DEL AGUA SOBRE LA LIBERACIÓN DE COBRE**

En muchas ciudades de todo el mundo el abastecimiento de agua a áreas específicas cambia con frecuencia. Por ejemplo en Santiago, Chile, abastecido primordialmente con aguas superficiales tratadas, los embalses son alimentados con aguas subterráneas y en un día dado esta agua es mezclada con el agua superficial o entregada directamente a ciertas zonas. En el estudio de 1997 en Santiago, la concentración promedio de sulfatos de las aguas superficiales fue 184 mg/L, contra 303 mg/L para aguas subterráneas, de acuerdo a mediciones en un periodo de dos años. La concentración promedio de cloruros en aguas superficiales fue de 73 mg/L, versus 238 mg/L en aguas subterráneas. La dureza promedio de aguas superficiales, medida como equivalentes de  $\text{CaCO}_3$ , fue de 266 mg/L, contra 765 mg/L para subterráneas. Por último, el pH de aguas superficiales fue 7,7 contra 7,2 en aguas subterráneas.

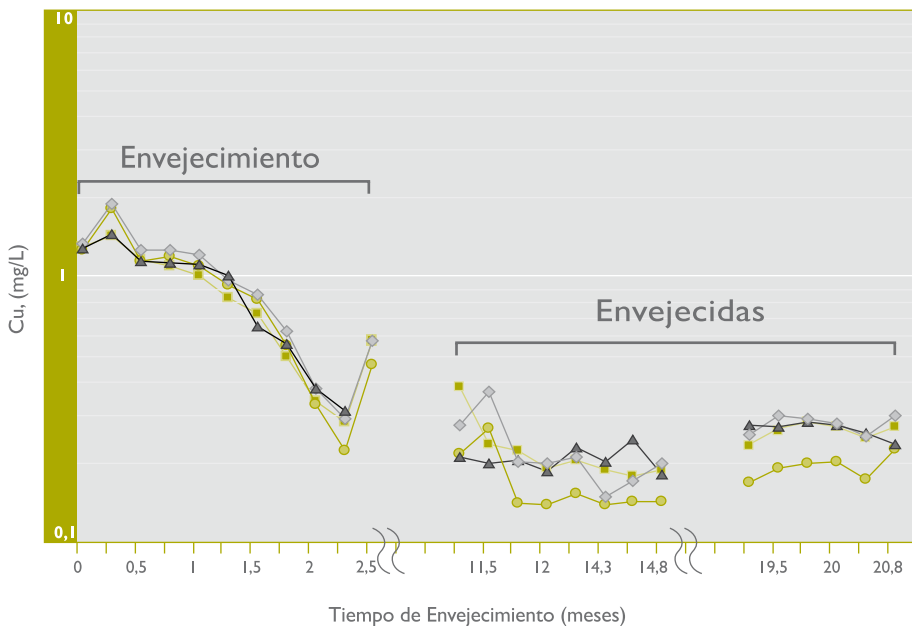
La liberación de cobre de aguas subterráneas de Santiago puede ser hasta 8 veces mayor que de aguas superficiales, porque el sólido estable para estas últimas es la malaquita, mientras que el de las subterráneas es langita, un compuesto mucho más soluble. Por lo tanto, cuando una casa ha recibido aguas superficiales durante unas semanas, la malaquita tiende a cubrir las superficies internas de las cañerías de cobre, y cuando el abastecimiento es cambiado a aguas subterráneas, la langita empieza a precipitar sobre la malaquita.

La temperatura puede desempeñar un papel similar al de la composición del agua, especialmente entre verano e invierno. Para una serie de compuestos sólidos a base de cobre, como el hidróxido cúprico, la langita y la tenorita, la liberación de cobre aumenta al disminuir la temperatura, mientras que el efecto inverso se observa para la malaquita. Se estimó que la temperatura del agua entregada a los hogares en el invierno fue de 13,8 °C, que puede subir hasta 17 °C o más en verano. Este aumento podría reducir la liberación de cobre en hasta un 50% si hay langita, tenorita o hidróxido cúprico, y podría aumentarlo en una proporción algo menor si hay malaquita en las paredes de las cañerías. En conclusión, en un lugar en que el abastecimiento de agua varía marcadamente, ya sea en composición o temperatura, puede que nunca se establezca un verdadero envejecimiento de la cañería. Se consideraría verdadero envejecimiento cuando hay revestimiento casi completo de la superficie por un compuesto que se mantiene estable en el tiempo.

## UN ENFOQUE PARA EL MODELAMIENTO PREDICTIVO DE LA EXPOSICIÓN HUMANA AL COBRE EN AGUA POTABLE

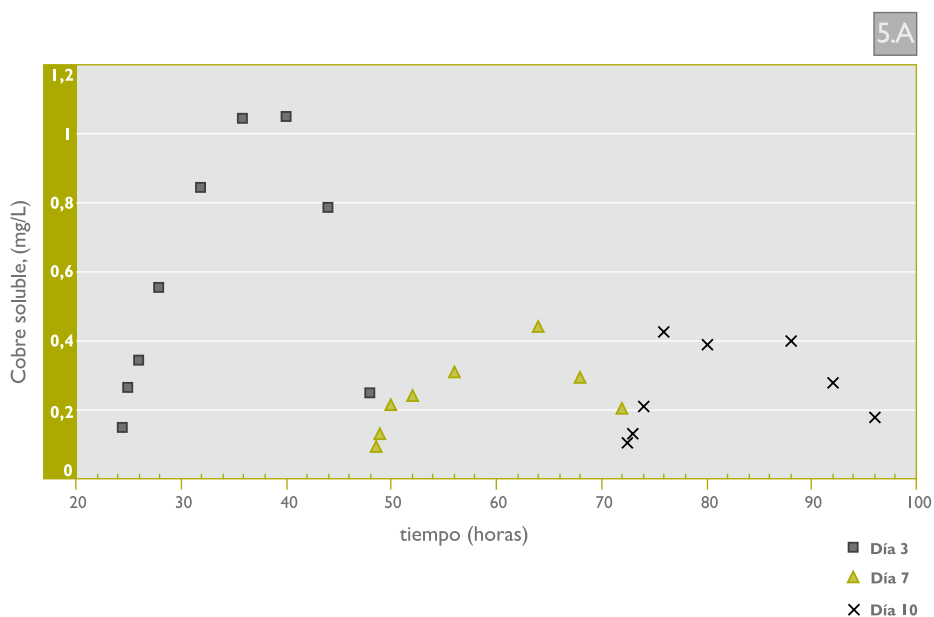
Se pueden distinguir dos situaciones principales para cañerías de cobre envejecidas. La primera es cuando hay más de un compuesto en contacto con el agua. A esto lo denomino el periodo de envejecimiento de la cañería. Si hubieran, por ejemplo, dos compuestos cúpricos, entonces cada vez que el agua está estancada ambos compuestos se disuelven, pero uno lo hace más rápido porque su solubilidad es mayor. En esta situación, ambos compuestos precipitan pero el menos soluble precipita más rápido que el otro. Por lo tanto, después de un tiempo, la cobertura de la superficie ha disminuido para el compuesto más soluble e incrementado para el menos soluble. Esta situación se puede apreciar al lado izquierdo de la Figura 4. Al pasar varios meses, para las condiciones de la Figura 4, la superficie alcanza la estabilidad pues está en su mayoría cubierta por un compuesto. Esto se denomina plenamente envejecida y se puede observar que cañerías envejecidas por unos pocos meses alcanzan ese estado en la Figura 4.

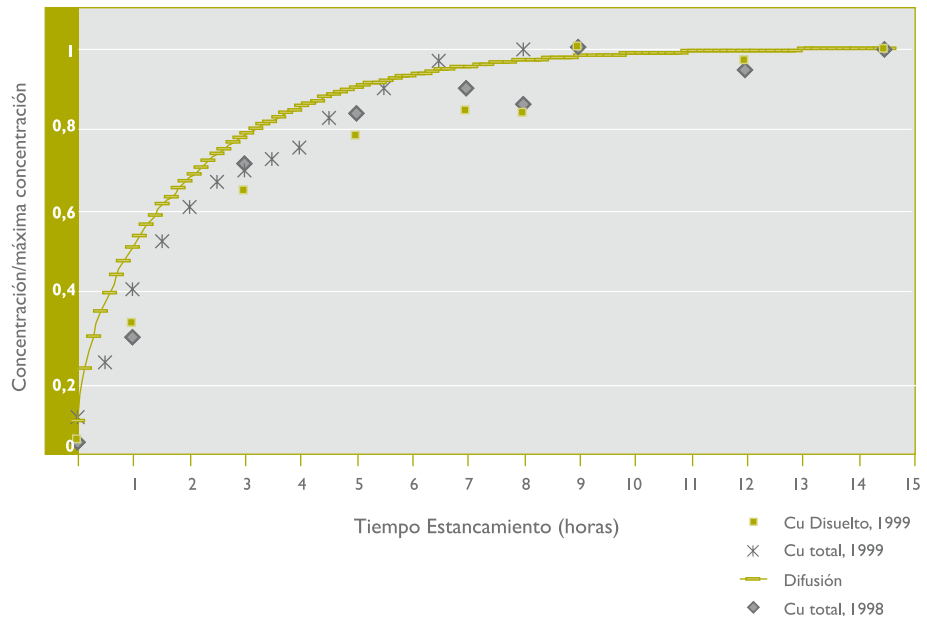
**Figura 4. Experimento de laboratorio, pH 7.2, alcalinidad 300 mg/L equivalentes de  $\text{CaCO}_3$ , cloruros 70 mg/L, calcio 40 mg/L, el agua se mantuvo estancada por periodos consecutivos de 48 horas excepto en fines de semanas (72 horas). Los puntos que se muestran corresponden a después de fines de semana.**



Independientemente de si la cañería está plenamente envejecida o no, cada vez que se abre la llave, se genera una concentración transitoria de cobre, como se muestra en las Figuras 5a y 5b. Para una cañería que está envejeciendo, el sólido más soluble se disuelve rápido y cuando la concentración alcanza un valor alto, cercano al máximo, el segundo sólido empieza a precipitar rápido. "arrastrando" cobre desde la solución, como se muestra en la Figura 5a. Este experimento fue realizado con agua de pH 7,2, alcalinidad de 300 mg/L, cloruro 70 mg/L y calcio 40 mg/L. Para una cañería plenamente envejecida, la concentración transitoria de cobre es la indicada en la Figura 5b, porque el único compuesto sobre la superficie interna se disuelve y re-precipita. Por lo tanto, cada vez que se abre la llave, un modelo predictivo debería poder estimar la concentración de cobre como función del tiempo, sin importar si la cañería está envejeciendo o está plenamente envejecida.

**Figura 5. a) Proceso de envejecimiento transitorio; b) Cañería plenamente envejecida.**





Entonces el modelo predictivo consiste en una serie de cálculos que toman en cuenta todos los equilibrios termodinámicos posibles, deciden qué clase de secuencia del proceso de envejecimiento va a darse y calculan un número elevado (generalmente diez o más) de ecuaciones diferenciales para estimar curvas del tipo 5a, tantas veces como lo indique el patrón de uso de agua de cada casa. Al hacer estos cálculos, el modelo estima concentraciones potenciales máximas y promedio, y cuando llega a un estado en que la cobertura superficial es mayor que un número dado (generalmente más del 80%) entonces supone que se ha dado envejecimiento pleno.

Si estos valores estimados coincidirán en  $\pm 20\%$  con los medidos es una pregunta aún sin respuesta. Hay investigaciones en curso para lograr esta meta, y se piensa que en el año 2009 podría contarse con un modelo plenamente validado, si se cuenta con financiamiento adecuado de este tipo de estudios.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración de un amplio grupo de personas en la Comisión Chilena del Cobre, del Centro de Minería de la Universidad Católica de Chile, del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Chile, de la Corporación del Cobre de Chile, de la Asociación Internacional del Cobre, Académicos de varias universidades extranjeras, y del Centro de Investigación Minero Metalúrgico, CIMM.

## REFERENCIAS

The Biotic Ligand Model: Technical Support Document for Its Application to the Evaluation of Water Quality Criteria for Copper; USEPA Document 822R03027, November 2003, Washington D.C., USA.

The Biotic Ligand model addresses effects of water chemistry on metal toxicity, by Herbert E. Allen, Ph.D., Department of Civil and Environmental Engineering, University of Delaware, Newark, DE (USA), Fact Sheet on Environmental Risk Assessment, Published by the International Council on Mining and Metals (ICMM), January, 2002

J. Samet, M. Araya, P. Arens, S. Baker, K. Delbeke, J. Donohue, J. Forslund, K. Helleman, G. Lagos, G. Rupp., A Technical Guide for the study of acute gastrointestinal effects of copper in drinking water: methods for public health investigators, Monograph series, International Copper Association, ICA, NY, USA, 2000.

H.C. Frey, Quantitative analysis of uncertainty and variability in environmental policy making, Dept. of Engineering And Public Policy, Carnegie Mellon University: Pittsburgh, PA, 1992.

L. Landner and L. Lindstrom, Copper in Society and in the Environment (2<sup>nd</sup> Ed). Swedish Environmental Research Group (MFG), 1999.

G.E. Lagos, "Population Exposure to Copper in Drinking Water", Nat. Env. Health Forum, Metal Series N°3, South Australian Health Commission, 1997, pp. 52-59.

G.E. Lagos, L.C. Maggi, D. Peters, and F. Reveco, "Model for the Estimation of Human Exposure to Copper in Drinking Water", The Science of the Total Environment, Vol 239, Issue 1-3, 1999, pp 49-70.

D. Dodrill, and M. Edwards. 1995. Corrosion Control on the basis of utility experience, JAWWA, V.89, No 7, 74-85.

M. Edwards, M.R. Schock, and T.E. Meyer, "Alkalinity, pH, and Copper Corrosion by Product Release", JAWWA, Vol 88(33), pp 81-94, July, 1996.





World Health Organization, "Guidelines for Drinking Water Quality", Second Edition, Geneva, 1993, pp 46 and 174.

World Health Organization "Guidelines for Drinking Water Quality, Volume 2", 1996.

World Health Organization, "Guidelines for Drinking Water Quality, Second Edition, Addendum to Volume 2", 1998, pp 30-44.

USEPA, "National Primary Drinking Water Regulations, Environmental Protection Agency". 40 CFR Part 141. Fed. Reg. 50:46967, 1985.

USEPA, "Maximum Contaminant Level Goals and National Primary Drinking Water Regulations for Lead and Copper; Final Rule". 40 CFR Parts 141 and 142. Fed. Reg. 56:110, 1991.

## EN BUSCA DE NUEVAS PROPIEDADES, USOS Y MERCADOS

En otras secciones de este libro se habla bastante de temas relacionados con cobre y salud humana, particularmente desde la perspectiva de la esencialidad del metal y los potenciales efectos de su exceso sobre la salud. En esta sección, los dos temas se vuelven a encontrar, pero en un contexto muy diferente. Pues las mismas propiedades del cobre que subyacen a su condición de micronutriente, y también de potencial toxicidad para el organismo en cantidades superiores a lo normal, son las que dan cuenta de su potencial para eliminar microorganismos dañinos. Y es ésta la propiedad que hoy la industria del cobre busca convertir en un nuevo nicho de mercado para el metal.

En general, el ser humano convive diariamente con millones de microbios que nos rodean en el ambiente, casi siempre sin que este contacto tenga ninguna consecuencia relevante. En gran medida esto se debe a que para muchos de estos microorganismos el cuerpo humano no es un medio adecuado para su propagación, y para aquéllos que sí lo es, contamos con un sistema inmune que nos protege constantemente del pleno desarrollo de un proceso infeccioso. Sin embargo, sabemos que este equilibrio pacífico se rompe ocasionalmente, y las enfermedades infecciosas son parte aceptada de nuestra agenda de salud pública. En un mundo que se enorgullece permanentemente de su grado de avance tecnológico, bacterias, virus y hongos microscópicos, las formas de vida que consideramos más “primitivas”, siguen siendo una de las causas principales de enfermedad y muerte.

Para un microorganismo cuyo hábitat óptimo es el cuerpo humano, es crítico poder trasladarse entre cuerpos, lo que denominamos transmisión o contagio. Este traslado requiere necesariamente un medio en el cual verificarse exitosamente, es decir que no mate al microorganismo. Desafortunadamente, nuestro mundo está lleno de superficies y espacios que cumplen esa condición. Curiosamente, la búsqueda moderna por materiales más “inertes”, que dan una mayor sensación de limpieza y se mantienen intactos en el tiempo, tiene una consecuencia que sólo hoy estamos apreciando. Los materiales inertes también lo son para los microorganismos, lo que para muchos de ellos, capaces de resistir largos períodos sin alimento o en estado desecado, es una ventaja. Sólo deben ser capaces de esperar allí, hasta que el contacto de una mano (girando, por ejemplo, el pomo de una puerta) los rescata y devuelve a su hábitat ideal.

Es aquí donde entra el cobre, que aunque es suficientemente inerte como para ser práctico como material de construcción y en accesorios de edificios, es también suficientemente bioactivo como para afectar de manera importante a algunos microbios de indudable relevancia en la salud pública. El siguiente artículo, preparado por el Dr. Al Lewis, revisa los avances realizados en el estudio de esta novedosa aplicación del cobre, un posible mercado cuyas potencialidades aún están por desarrollarse.



## **LAS PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DEL COBRE Y SUS APLICACIONES POTENCIALES COMO MATERIAL HIGIÉNICO**



Al Lewis\*

Environmental Marketing & Communications Inc.

---

\* AlewisEMCI@aol.com

## HISTORIA

Antes que se reconociera la existencia de microorganismos, los antiguos egipcios, griegos, romanos y aztecas usaron compuestos de cobre para el tratamiento de enfermedades y con fines de higiene. Los egipcios usaron cobre como agente esterilizante para el agua potable y para tratar heridas. El médico griego Hipócrates trataba heridas abiertas e irritaciones cutáneas con cobre. También los romanos, aztecas, persas e indios usaron cobre como parte de preparaciones médicas.

El uso del cobre como agente fungicida en agricultura se inició, por accidente, en el siglo XVIII, al descubrirse que el tratamiento de semillas en soluciones de sulfato de cobre inhibía el crecimiento de hongos. Pronto, este tratamiento se convirtió en práctica estándar para controlar hongos del trigo. Más tarde, en el siglo XIX, el científico francés Millardet observó que plantas de vid tratadas con una pasta de sulfato de cobre y cal (con el fin de hacerlas menos atractivas a ladrones) parecían librarse del añublo. Esto llevó a desarrollar una cura para esta enfermedad e inauguró la era del rociado protector de cultivos. Ensayos con diferentes mezclas de cobre revelaron que pequeñas cantidades del metal podían prevenir el desarrollo de muchas enfermedades de plantas. Actualmente se usan preparaciones modernas en base a cobre, como el cobre-8-quinolato, el octoato de cobre, etc., para combatir hongos en cultivos, textiles y madera.

Cuando se descubrió que bacterias, hongos, virus y otros microbios eran la causa de diversas infecciones y enfermedades, los científicos empezaron a estudiar las propiedades antimicrobianas del cobre y cómo podían usarse para beneficio de la sociedad. Hoy en día, los usos antimicrobianos del cobre se han expandido para incluir medicinas antimicrobianas, productos de higiene oral, aparatos de higiene médica, antisépticos, artículos para limpieza de cocina, textiles antimicrobianos y pinturas anti-incrustantes (que reducen las poblaciones bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa* en un 99,9975% en 24 horas).

El éxito de los productos a base de cobre como agentes antimicrobianos efectivos llevó a los científicos a explorar la eficacia antimicrobiana del cobre y sus aleaciones en medios que son particularmente apropiados para las infecciones. Los ambientes más relevantes que se están estudiando actualmente incluyen sistemas de aire acondicionado y superficies de contacto en instalaciones públicas (hospitales, escuelas, etc.) así como lugares de procesamiento de alimentos. Las investigaciones recientes se centran en microbios como *E. coli*, *Legionella*, MRSA, *Listeria*, *Salmonella*, y *Campylobacter*. A continuación se revisan los resultados de estos estudios.

## INVESTIGACIONES ANTIMICROBIANAS EN COBRE

A comienzos de los años 70, investigadores de los Laboratorios Battelle Columbus realizaron una amplia búsqueda de literatura, patentes y tecnologías sobre las propiedades bacteriostáticas y sanitarias de las superficies de cobre y de aleaciones del mismo. Los estudios Battelle demostraron claramente que el cobre, en pequeñas cantidades, tiene la capacidad de controlar una amplia gama de microbios dañinos. Las investigaciones revisadas describen la eficacia del cobre y soluciones de cobre para inactivar *Actinomucor elegans*, *Aspergillus niger*, *Bacterium linens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium erythrogenes*, *Candida utilis*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus niveus*, *Saccharomyces mandshuricus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis utilis*, *Tubercle bacillus*, *Achromobacter fischeri*, *Photobacterium phosphoreum*, *Paramecium caudatum*, poliovirus, y otras especies microbianas.

En 1983, un estudio realizado por un médico de un hospital en Pensilvania, EEUU, mostró que microorganismos Gram positivos y una serie de Gram negativos, incluyendo *Proteus*, sobrevivían sobre acero inoxidable –un material de contacto común en muchos hospitales. Sin embargo, un escaso crecimiento bacteriano se observó en los pomos de latón (una aleación de cobre) de las puertas. Esto llevó a este médico a publicar un artículo en *Diagnostic Medicine* señalando que el latón es bactericida y no así el acero inoxidable. Se prepararon cultivos líquidos de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* grupo D, y *Pseudomonas* para inocular acero inoxidable, latón, aluminio y cobre, y comparar sus efectos antimicrobianos. Los resultados fueron impactantes. El aluminio y el acero inoxidable produjeron fuerte crecimiento de todas las especies bacterianas en 8 días, y los microbios permanecían en estas superficies metálicas tres semanas más tarde, cuando se puso fin al estudio. De hecho, aparentemente el cobre empezó a desinfectarse a los quince minutos.

Debido a la eficacia antimicrobiana del cobre y el latón, el autor sugirió que los hospitales no cambiaran sus antiguos implementos de latón por alternativas de aspecto más moderno de acero o aluminio. Además propuso que aquellos hospitales que tenían pomos o placas de puertas de acero o aluminio, deberían hacerlas revestir con latón o desinfectarlas a diario para impedir la propagación de los contaminantes.

Este tipo de estudio se ha expandido enormemente en años recientes, en que los expertos se han mostrado cada vez más interesados en encontrar maneras efectivas de reducir la exposición a microbios mortales, particularmente en instalaciones de procesamiento de alimentos, de salud, y sistema de aire acondicionado.



## **Microbios en Instalaciones de Procesamiento de Alimentos**

En la mayoría de los países las provisiones alimenticias se consideran seguras; sin embargo, las enfermedades asociadas a alimentos se han convertido en un problema serio en todo el mundo. Ningún país, incluido los más avanzados tecnológicamente, está inmune a las enfermedades causadas por patógenos alimenticios. El Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los EEUU anunció en 1999 que 76 millones de estadounidenses (un 25% de la población) sufren envenenamiento alimenticio cada año. De los que son infectados, 325 mil son hospitalizados y 5 mil fallecen. Como se sabe que las enfermedades alimenticias son fuertemente sub-declaradas y como los casos más leves se pueden confundir con otras enfermedades, la incidencia real de este tipo de enfermedades en los EEUU podría ser mayor que lo estimado por el CDC.

Los alimentos de plantas procesadoras contaminadas pueden tener un enorme impacto en la cadena alimenticia, especialmente si se considera que las instalaciones más grandes, y altamente mecanizadas, distribuyen alimentos a nivel nacional e internacional. Si bien las autoridades sanitarias toman medidas para limpiar las instalaciones de procesamiento de alimentos, aún ocurren brotes y retiros masivos de productos, incluso en las grandes plantas procesadoras.

Como los alimentos están en contacto físico constante con diversas superficies (e.g., mesas, equipo de transporte, mataderos) durante su procesamiento, se ha hecho evidente la importancia de las superficies de contacto antimicrobianas como herramientas sanitarias en el control de la propagación de este tipo de enfermedades.

### **Investigaciones de las Propiedades Antimicrobianas del Cobre Contra *E. coli* O157**

*E. coli* O157 es un patógeno altamente infeccioso reconocido como un serio problema de salud pública. Se cree que es suficiente ingerir 10-50 organismos para causar diarrea, dolores severos y náusea. Los síntomas de infecciones severas incluyen colitis hemolítica, síndrome hemolítico urémico y muerte.

Una de las vías más frecuentes para contraer esta infección es la contaminación fecal proveniente de los intestinos de los animales durante su procesamiento. Otras vías incluyen el consumo de agua contaminada, frutas y verduras crudas, embutidos, aliño de ensaladas, jugos y productos lácteos no pasteurizados. El contacto directo con una persona infectada también es una vía de infección.

Los expertos en salud están concientes que la contaminación cruzada es un problema importante en la industria alimenticia. Cuando se mata una vaca con carne contaminada en un matadero, las superficies de la planta se pueden contaminar fácilmente. Después, esas superficies contaminan la carne de otros animales en la secuencia del proceso. Por eso es importante que las superficies de contacto no se conviertan en conductos para contaminar productos alimenticios.

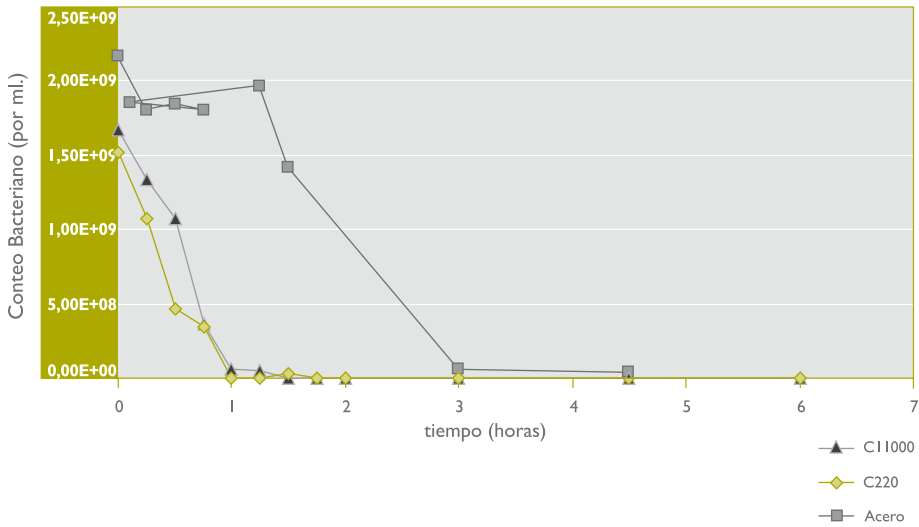
El acero inoxidable es la superficie de contacto más usada en la industria de procesamiento de alimentos. El material no es tóxico, se ve limpio y es fácil de desinfectar si se siguen los procedimientos correctos. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que *E. coli* sobrevive varias semanas en estado desecado sobre acero inoxidable. El cobre y las aleaciones de cobre (latón), por otra parte, tienen fuertes efectos bactericidas que pueden combatir la infección bacteriana con rapidez y eficacia.

Investigadores del Centro de Microbiología e Investigación Aplicada del Reino Unido, encontraron que a 20 °C (temperatura ambiental) se observan organismos de *E. coli* O157:H7 por hasta 34 días. El cobre, en cambio, fue capaz de inactivar la misma variedad de bacterias después de 4 horas (Figura 1). Sobre latón, los patógenos sobrevivieron 4 días.



**Figura 1. Bacterias *E. coli* O157 tóxicas sobreviven por mucho menos tiempo sobre superficies de aleaciones de Cu (C11000 y C22000) que de acero inoxidable (S304) a temperatura ambiente (20 °C). Sobre las aleaciones, se necesitó apenas 1 hora para que las bacterias aeróbicas murieran. Sin embargo, sobre acero inoxidable, se requirieron 3 horas para que las bacterias murieran.**

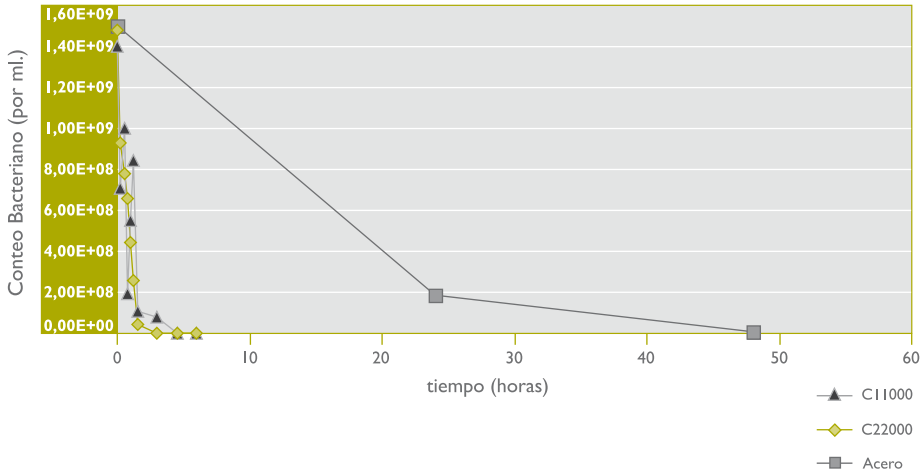
Sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 en Superficies de C11000, C22000 y S304 a 20 °C



A 4 °C (temperatura típica para almacenar alimentos) se observaron *E. coli* O157:H7 sobre acero por varios meses. Sobre cobre, sin embargo, los organismos fueron eliminados completamente en apenas 14 horas (Figura 2). El latón inactivó los organismos en 12 días.

**Figura 2. Bacterias *E. coli* O157 tóxicas sobreviven por tiempos mucho más breves sobre superficies de aleaciones de Cu (C22000 y C11000) que en acero inoxidable (S304) a temperatura de refrigeración (4 °C). Antes de 5 horas, todas las bacterias murieron sobre las aleaciones. Sin embargo, en el mismo período de tiempo, la mayoría de las bacterias estaban vivas sobre acero inoxidable.**

Sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 en Superficies de C22000, C11000, y S304 a 4 °C



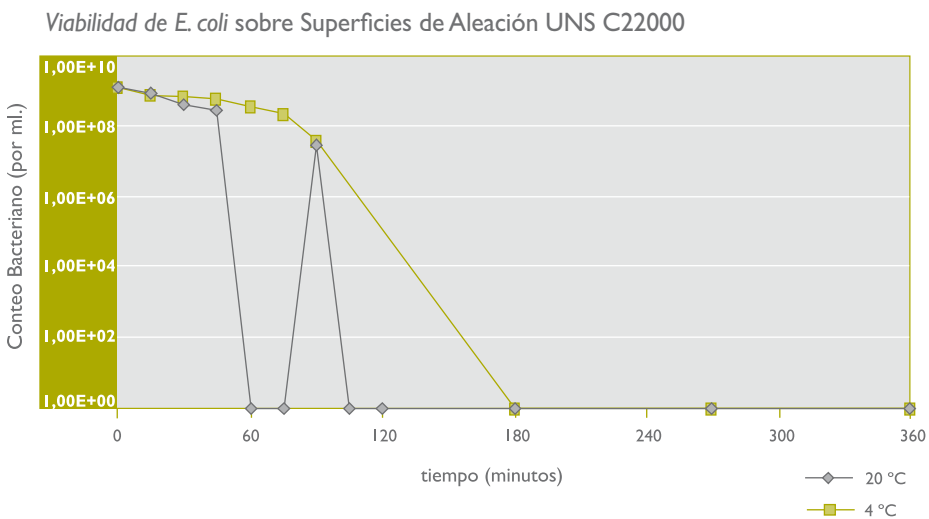
Estos resultados confirman que, a pesar que el acero inoxidable se “ve” limpio, este material no tiene propiedades intrínsecas para combatir *E. coli* O157 y por lo tanto es una fuente potencial de contaminación cruzada. Los estudios también confirman que el cobre y el latón tienen poderosas propiedades biocidas que inactivan a estos patógenos.

Es interesante resaltar que las superficies de aleaciones de cobre deslustradas no pierden su eficacia antimicrobiana. De hecho, se ha demostrado que estas superficies tienen una eficacia mayor contra bacterias *E. coli* que superficies pulidas y brillantes. A 20 °C, el conteo de *E. coli* sobre aleación deslustrada (C19700, con un 99% de cobre) cayó de aproximadamente 32 millones de microbios a 160 microbios en apenas 60 minutos, una disminución de 99,99%. En una superficie limpia, la viabilidad de *E. coli* disminuyó de 32 millones de microbios a 10 mil, una caída de 99,97%. Si bien la disminución es substancial en ambos casos, estos resultados indican que los materiales de cobre no requieren ser pulidos para retener su eficacia antimicrobiana.

En un estudio sobre las propiedades bactericidas de las superficies de cobre, latón y acero inoxidable en ambientes ácidos representativos del procesamiento de jugos de fruta, se encontró que *E. coli* O157 sobrevivió apenas 45 minutos en cobre, contra 2 días en acero. Y en ambientes que contenían fecas animales con bacterias *E. coli* O157 anaeróbicas, el cobre y el latón mostraron efectos bactericidas superiores al acero inoxidable. Estos estudios indican que es posible lograr importantes beneficios de salud pública simplemente reemplazando el acero inoxidable por cobre y aleaciones de cobre.

En un estudio de 25 aleaciones diferentes de cobre, se encontró que el efecto bactericida aumentó con el contenido de cobre de la aleación. Los latones presentaron propiedades bactericidas con una dinámica temporal un poco más lenta que la del cobre. Sin embargo, todos los latones fueron completamente bactericidas a 20 °C, con tiempos para un “conteo cero” (destrucción total de las bacterias) de entre 60 y 270 minutos. Muchos de los latones fueron completamente bactericidas a 4 °C, con tiempos a conteo cero de 180 minutos (Figura 3).

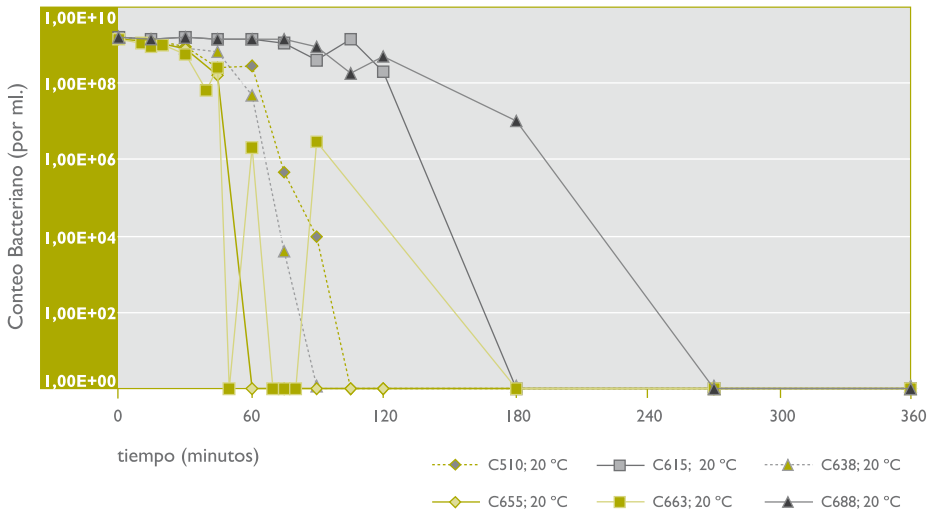
**Figura 3. Viabilidad de *E. coli* a 20 °C y 4 °C sobre Superficies de Aleación de Latón UNS C22000.**



El tiempo de inactivación bacteriana para las aleaciones de bronce varió entre 50 y 270 min a 20 °C, y entre 180 y 270 min a 4 °C. Sólo dos de las ocho aleaciones de bronce fueron incapaces de inactivar todas las bacterias a temperatura baja. En la Figura 4 se muestran las tasas de inactivación sobre diversas aleaciones de bronce a 20 °C.

**Figura 4. Viabilidad de *E. coli* a 20 °C en Superficies de Seis Aleaciones de Bronce.**

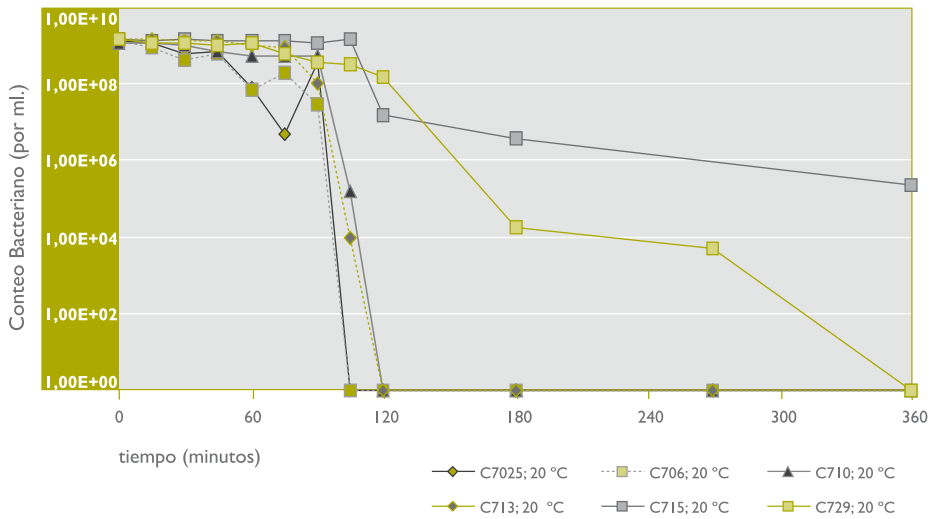
Viabilidad de *E. coli* sobre Superficies de Bronce



La velocidad de inactivación *E. coli* O157 sobre seis aleaciones de cobre-níquel aumentó claramente con el aumento del contenido de cobre (Figura 5). Cero conteo bacteriano se alcanzó, a temperatura ambiente, después de 105-360 minutos en cinco de las aleaciones. A baja temperatura, el tiempo a conteo cero varió entre 270 y 360 minutos para 3 de las aleaciones.

**Figura 5. Viabilidad de *E. coli* a 20 °C en Superficies de Seis Aleaciones Cobre-Níquel.**

Viabilidad de *E. coli* en Superficies de Aleaciones Cu-Ni

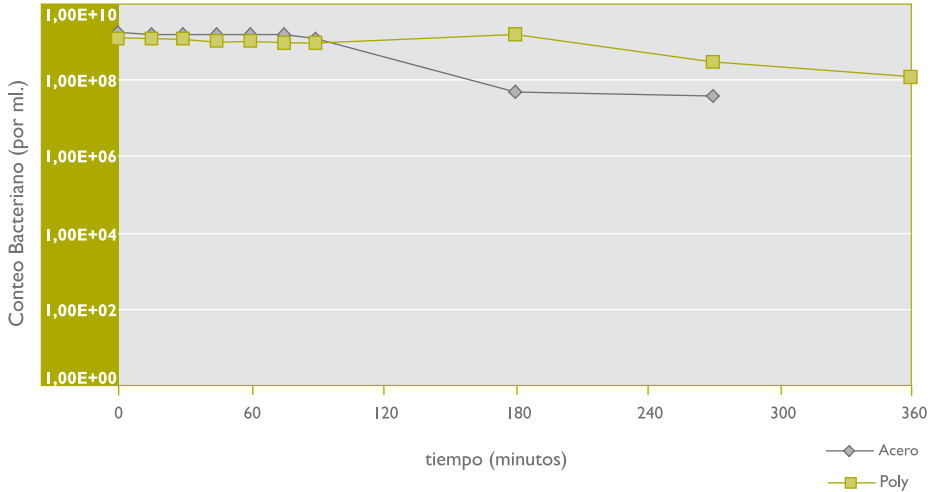


Para el grupo de aleaciones cobre-níquel-zinc (también conocidas como las aleaciones níquel-plata debido a su color plateado) la tasa de inactivación aumentó con el contenido de cobre –igual que las aleaciones cobre-níquel. A temperatura ambiente el conteo cero se alcanzó después de 90 a 105 minutos para dos de las aleaciones. Sin embargo, a baja temperatura, no se observaron conteos cero para este grupo.

También se hizo un estudio de inactivación en superficies de polietileno. La Figura 6 muestra claramente que ni el polietileno ni el acero inoxidable pueden inactivar las bacterias *E. coli* O157.

**Figura 6. Viabilidad de *E. coli* a 20 °C en Superficies de Acero y Polietileno.**

Viabilidad de *E. coli* sobre Superficies Aleación S30400 y Polietileno a 20 °C



Los resultados de éstos y otros estudios indican que como el acero inoxidable y el polietileno no tienen propiedades antimicrobianas intrínsecas, las superficies de estos materiales no reducen la contaminación cruzada de *E. coli* O157. Sin embargo, las aleaciones tienen el potencial para empezar a inactivar el patógeno *E. coli* O157 "al contacto". La eficacia antimicrobiana de las superficies de contacto de aleaciones de cobre, en conjunto con procedimientos de higiene en plantas procesadoras de alimentos, pueden proporcionar la medida necesaria para reducir la incidencia de contaminación cruzada de *E. coli* O157 en nuestros alimentos.

### **Investigaciones de las Propiedades Antimicrobianas del Cobre Contra *Listeria monocytogenes***

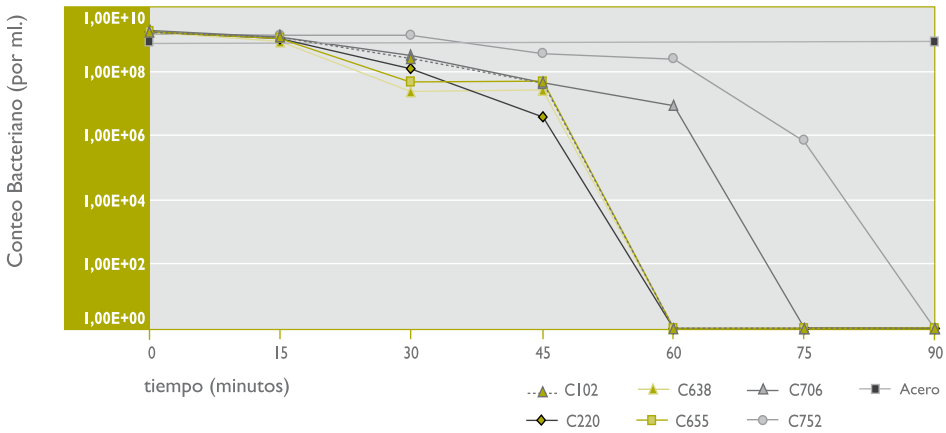
*Listeria monocytogenes* es considerado uno de los patógenos alimenticios más peligrosos. Para alimentos no se ha establecido un nivel seguro para esta bacteria. Los síntomas de la infección incluyen fiebre, dolores musculares, náusea y diarrea, y las infecciones severas pueden causar meningitis, encefalitis, infecciones intrauterinas o cervicales y muerte. Para mujeres embarazadas, incluso una infección leve puede causar pérdida o enfermedad letal para el recién nacido.

*Listeria monocytogenes* prospera en muchas condiciones ambientales, incluyendo

bajos niveles de oxígeno y bajas temperaturas. La bacteria puede prosperar por períodos extendidos en condiciones refrigeradas. Por ello, es que las carnes listas para consumir, tales como las rebanadas de jamón, pollo, pavo y las vienas, como también el paté, las ensaladas preparadas, los mariscos ahumados, y los quesos blandos son un terreno fértil para el crecimiento de este patógeno.

**Figura 7. Tiempos de sobrevivencia de *Listeria monocytogenes* sobre diferentes aleaciones de cobre y acero inoxidable a temperatura ambiente.**

Viabilidad de *L. monocytogenes* en Aleaciones de Cu a 20 °C



El cobre, el latón, el bronce aluminio y el bronce alto en silicón limitaron la sobrevivencia a 60 minutos, seguidos de cerca por el cobre níquel y el níquel plata. En acero inoxidable los tiempos de sobrevivencia pueden ser de varios días.

En 2003, un equipo de investigadores midieron la viabilidad de *Listeria monocytogenes* sobre 28 aleaciones metálicas. Se encontró que la bacteria sobrevivió en forma desecada por 60-90 minutos sobre cobre y aleaciones de cobre a 20 °C en condiciones aeróbicas, mientras que sobre acero inoxidable lo hizo durante varios días (Figura 7).

Las tasas de inactivación para *Listeria monocytogenes* en aleaciones de cobre aumentaron con el contenido de cobre de la aleación, similar a lo observado con *E. coli*.

Aleaciones con más de un 90% de cobre inactivaron *Listeria* en apenas una hora. Una aleación cobre níquel con 87% de cobre eliminó todas las bacterias en 75 minutos. Una aleación de níquel-zinc con 65% de cobre eliminó todas las bacterias en 90 minutos.

Por lo tanto, las aleaciones de cobre tienen el potencial para reducir la incidencia de contaminación cruzada con el poderoso patógeno *L. monocytogenes*, lo que no ocurre con acero inoxidable.

### **Propiedades Antimicrobianas del Cobre Contra *Campylobacter* y *Salmonella***

Los síntomas de infección con *Campylobacter jejuni*, un patógeno comúnmente asociado a alimentos, incluyen diarrea, dolor muscular y abdominal, fiebre, calambres y vómitos. Las fuentes comunes de infección en humanos incluyen carnes crudas o poco cocidas, leche o jugos no pasteurizados, huevos, quesos, frutas, verduras y aguas contaminadas. Los síntomas de la infección con *Salmonella* incluyen diarrea, fiebre, calambres abdominales y vómito.

Es un hecho que el riesgo de contaminación cruzada por *Salmonella* enteritidis y *Campylobacter jejuni* en alimentos, cocinas e instalaciones procesadoras es un problema serio de salud pública. En un estudio sobre la eficacia antibacteriana de superficies de cobre, acero inoxidable y polímero, tanto *Salmonella entérica* como *Campylobacter jejuni* se redujeron continuamente sobre cobre a 25 °C. Tras apenas 4 horas, el conteo bacteriano disminuyó en más de un 99%. Sin embargo, cuando se dejaron carnes sobre superficies de acero o polímero, el conteo de *Salmonella* incluso aumentó. A baja temperatura (10 °C) el cobre retuvo sus propiedades antimicrobianas, aunque disminuyó la tasa de reducción del conteo bacteriano.

Ahora que se conocen mejor los efectos antibacterianos de las aleaciones de cobre, se necesitan más estudios para investigar la combinación más deseable de propiedades para la industria de los alimentos. De las 28 aleaciones estudiadas para *Listeria monocytogenes* y las 25 para *E. coli* O157, se especula que las aleaciones cobre-níquel y cobre-níquel-zinc podrían ser las más útiles –debido a la combinación de su fuerte efecto antibacteriano y características anti-corrosivas y anti-manchas.

El desafío actual es involucrar a las autoridades de salud, fabricantes de equipos, reguladores y otras partes interesadas para dar el paso siguiente de investigar las aleaciones más compatibles para las diversas superficies de contacto en instalaciones de procesamiento de alimentos. Esto requerirá equilibrar la eficacia antimicrobiana



de las aleaciones de cobre con otros atributos requeridos, tales como maleabilidad, durabilidad, facilidad de fabricación, atractivo estético, terminado de superficies, resistencia a corrosión, resistencia a las manchas y reactividad a alimentos, desinfectantes y soluciones de limpieza.

## **MICROBIOS EN INSTALACIONES DE SALUD (Y APLICABLES A OTRAS INSTALACIONES PÚBLICAS)**

Hay abundante evidencia de que prácticas de higiene inadecuadas en instituciones de salud han contribuido de manera dramática al aumento de la incidencia de infecciones hospitalarias en los últimos 20 años –a pesar del enorme progreso en el conocimiento de cómo los microbios patógenos causan enfermedad y muerte. Dado que las restricciones económicas en la salud han reducido el cuidado con que se aplican prácticas esenciales de higiene, y dado que hay pocos antibióticos disponibles para combatir las cepas resistentes que plagan nuestro sistema de salud, se hace cada vez más importante implementar nuevas técnicas para reducir la exposición a patógenos.

### **Legionella Pneumophila en Instalaciones de Salud**

*Legionella pneumophila* es la cepa de bacteria identificada en 1976 durante el brote de neumonía (enfermedad de los Legionarios) en una convención de la Legión Americana en Filadelfia. *Legionella* está presente en sistemas de distribución de agua y torres de enfriamiento de muchos hospitales.

Se ha demostrado que *L. pneumophila* puede colonizar materiales comúnmente usados en sistemas de abastecimiento de agua fría y tibia, como acero inoxidable, acero dulce, polipropileno, polietileno, cloruro de polivinilo no-polimerizado (uPVC), cloruro de polivinilo clorinado (cPVC) y los compuestos usados para adherir piezas, látex y copolímero etileno-propileno. Sin embargo, el microbio no sobrevive en cobre (Tabla 1). Aunque la microflora total sobre cobre disminuyó 70 veces más que sobre acero dulce, el factor para *Legionella* fue de más de 600 veces.

**Tabla I. Comparación de materiales de gasfitería en cuanto a colonización por *L. pneumophila* a 30 °C en agua potable de dureza mediana.**

Materiales	Colonización Máxima		Razón de Colonización <sup>a</sup>	
	No-Legionellae	<i>L. pneumophila</i>	No-Legionellae	<i>L. pneumophila</i>
Cobre	70	0,7	1,0	1,0
Vidrio	150	1,5	2,1	2,1
Polibutileno	180	2,0	2,6	2,9
Acero inoxidable	210	10,0	3,0	14,3
Polietileno	960	23,0	13,7	33
uPVC	1070	11,0	15,3	15,7
cPVC	1700	78,5	24,3	112,1
Acero	4900	450	70	642
Etileno-Propileno	27000	500	386	714
Látex	89000	550	1271	785

<sup>a</sup>Las unidades de colonización son 1000 por centímetro cuadrado. La razón de colonización se obtiene dividiendo el número de unidades de flora total o *Legionella* de cada material por el número en cobre.

Observaciones directas en cañerías de agua de hospitales alemanes reveló que sólo un 2% de las superficies de cobre recuperadas tenían *L. pneumophila*, mientras que 65% y 90% de las de polietileno y acero, respectivamente, dieron positivas para el patógeno. Es claro que el uso de cobre en sistema de abastecimiento de agua y de aire acondicionado sería particularmente benéfico en ambientes hospitalarios en que muchos de los pacientes están con su sistema inmune comprometido, y por lo tanto más susceptible a infección por patógenos oportunistas.

### **MRSA en Instalaciones de Salud**

Hace ya unos 60 años que la penicilina, el primer antibiótico, fue usada para tratar una variedad de infecciones bacterianas. Pero, esta droga y sus sucesoras más potentes se han enfrentado en años recientes a todo un mundo nuevo de bacterias resistentes.

Una cepa de *Staphylococcus aureus* descubierta en los años 60, llamada *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (MRSA), ha desafiado a casi todos los antibióticos. Desde su descubrimiento, se han identificado casi 10 mil casos de MRSA –convirtiendo a esta bacteria en una “amenaza muy seria a la salud pública”.



Típicamente, el MRSA se contrae en hospitales. La incidencia de MRSA en hospitales de EEUU ha aumentado en 40% entre 1994 y 1999, y actualmente es responsable por un 52% de todas las infecciones nosocomiales por *S. aureus* en ese país.

Las infecciones por MRSA causan un amplio espectro de síntomas, dependiendo de la parte del cuerpo infectada. A menudo, MRSA coloniza la piel humana, produciendo abscesos superficiales localizados. Neumonías e infecciones severas de piel y hueso son síntomas comunes de la infección.

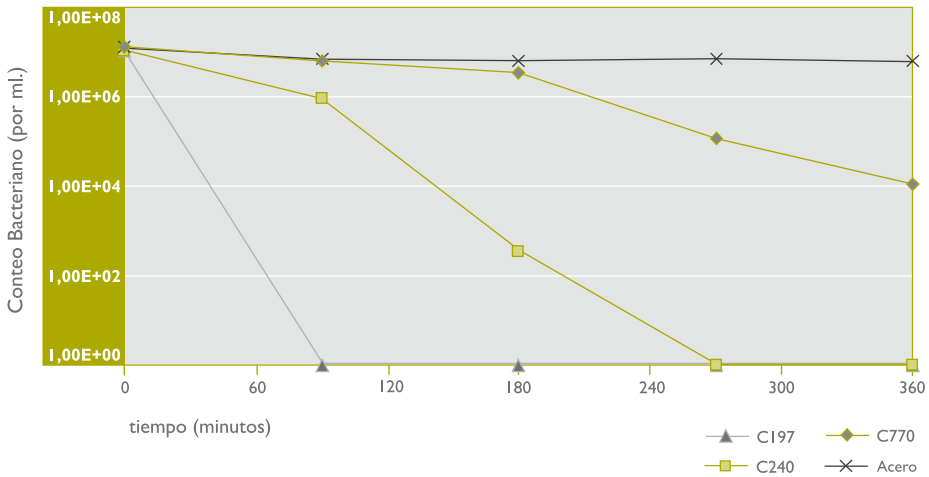
MRSA generalmente se propaga a través de contacto directo con las manos de trabajadores de la salud. Las bacterias están asociadas a polvo, ropa de cama y cortinas de hospitales o uniformes de enfermeras, y se las ha aislado de perillas de TV, teclados de computador, lápices, estetoscopios, manos y rejillas de ventilación. Una vez dentro de un sistema de salud, MRSA es extraordinariamente difícil de erradicar. Actualmente endémica en muchos hospitales, MRSA se ha convertido en una de las causas principales de neumonía, infecciones quirúrgicas e infecciones sanguíneas en hospitales.

La capacidad del cobre de inactivar MRSA fue demostrada en 2004. Un equipo de la Universidad de Southampton (Reino Unido) comparó las tasas de sobrevivencia de MRSA en acero inoxidable y en diversas aleaciones de cobre (Figura 8). Los resultados fueron dramáticos:

- A temperatura ambiental, MRSA fue capaz de persistir y permanecer viable en depósitos secos sobre acero (S304) por períodos de hasta 72 horas (3 días).
- Sobre aleaciones de cobre –C19700 (99% cobre), C24000 (80% cobre), y C77000 (55% cobre)– se lograron reducciones significativas de viabilidad tras 1,5, 3,0 y 4,5 horas, respectivamente.
- Mientras mayor el contenido de cobre de la aleación mayor fue el efecto antimicrobiano (ver Figura 8).
- Las aleaciones con alto contenido de cobre eliminaron totalmente la viabilidad de la bacteria en 90 minutos.
- El latón amarillo eliminó totalmente la viabilidad de la bacteria en 270 minutos.

**Figura 8. Tiempos de sobrevivencia de MRSA sobre tres aleaciones de cobre y acero inoxidable (S304) a temperatura ambiental. C19700 (99% cobre) limitó la sobrevivencia a 1.5 horas. C24000 (80% cobre) mostró una reducción significativa tras 3 horas y plena inviabilidad tras 4.5 horas. C77000 (55% cobre) mostró un grado importante de reducción tras 4.5 horas. En acero inoxidable, el tiempo de sobrevivencia fue mayor que 72 horas.**

Viabilidad de MRSA sobre aleaciones de Cu y Acero a 20 °C



Es evidente que las infecciones con MRSA pueden reducirse usando aleaciones de cobre. Es por esta razón que se está sugiriendo a los hospitales que cambien las superficies de contacto de acero inoxidable a aleaciones de cobre en áreas críticas en que los pacientes tienen mayor riesgo de infectarse.

**E. Coli O157:H7 en Instalaciones de Salud**

*E. coli* O157 es un patógeno común en instalaciones públicas de salud. La eficiencia del cobre para inactivar *E. coli* O157:H7 ya fue descrita en la sección previa sobre procesamiento de alimentos y también es relevante como material higiénico en instalaciones de salud.

**Oportunidades para Superficies de Contacto Antimicrobianas en Instalaciones de Salud**

Pomos, manijas y placas de puerta son los componentes con mayor probabilidad de convertirse a aleaciones de cobre, tanto en renovaciones como en construcciones

nuevas. Estos artículos representan la superficie de contacto más común para pacientes, visitas y empleados. Además, los accesorios de puertas son los artículos más fáciles y baratos de reemplazar dentro de los presupuestos de los hospitales.

Las llaves de agua son un excelente ambiente para la transmisión bacteriana debido a que la mayoría son revestidas en cromo para dar la ilusión de limpieza. El cambio de llaves a aleaciones de cobre ayudaría a mejorar la bioseguridad. Otra posibilidad la representan las barras de cobre en baños.

Las barandillas de escaleras y pasamanos de hospitales están generalmente recubiertas con plástico sobre un soporte de acero o son de madera o plástico. Si bien los objetos de estos materiales pueden ser estéticamente agradables y fácil de mantener limpios, no ofrecen las mismas calidades antibacterianas de las aleaciones de cobre.

Las fuentes de agua en pasillos vienen disponibles en acero forrado en vinilo o acero inoxidable. Sin embargo, las llaves y el tazón deberían ser de material antibacteriano.

El acero inoxidable es el material primordial para todo tipo de equipamiento e instrumental quirúrgico. Los productos incluyen mesas de operación, pisos, carros y bandejas. Estos artículos de acero inoxidable pueden ser desinfectados, esterilizados, sanitizados y fregados, lo que es esencial para el control del crecimiento bacteriano y su dispersión. Sin embargo, a menudo no son esterilizados entre usos, y en consecuencia, se debería considerar el uso de materiales antibacterianos.

Las siguientes tablas muestran una lista de artículos médicos (Tabla 2) y superficies domésticas (Tabla 3) que se podrían beneficiar de las propiedades higiénicas de las aleaciones de cobre.

**Tabla 2. Usos Potenciales de Aleaciones de Cobre para Artículos Médicos**

- Manillas de instrumentos
- Carros de equipos
- Percha Intravenosa
- Bandejas
- Cazoletas
- Andadores
- Planchas de estiramiento
- Teclados de computadores
- Equipos de rehabilitación y ejercicio

**Tabla 3. Usos Potenciales de Aleaciones de Cobre para Superficies de Contacto Doméstico**

- Barandas de cama, pasamanos
- Placas de puerta
- Lavaderos, llaves y drenajes
- Jaboneras
- Manijas y pomos de puertas
- Barras de baño
- Barras de pánico en puertas de emergencia
- Regaderas de ducha
- Cubiertas de mesas
- Bisagras, chapas, pestillos y rebordes
- Topes de puertas, tirapuertas y seguros
- Barras de protección
- Interruptores de luz
- Sillas
- Tapas de termostatos
- Teléfonos
- Superficies de cocinas
- Pisos
- Muros
- Textiles (uniformes, cortinas, sábanas, fundas, etc.)

El desafío actual es involucrar a las autoridades de salud, fabricantes de equipos, reguladores y otras partes interesadas para dar el paso siguiente de investigar las aleaciones más compatibles para las diversas superficies de contacto en instalaciones de procesamiento de alimentos. Esto requerirá equilibrar la eficacia antimicrobiana de las aleaciones de cobre con otros atributos requeridos, tales como maleabilidad, durabilidad, facilidad de fabricación, atractivo estético, terminado de superficies, resistencia a corrosión, resistencia a las manchas y reactividad a alimentos, desinfectantes y soluciones de limpieza.

### **Microbios en Sistemas de Ventilación, Calefacción y Aire Acondicionado (VCAA)**

Diversos microbios, en especial ciertas especies de hongos y bacterias, prosperan en los ambientes húmedos y oscuros de los sistemas de VCAA. Una vez que una colonia se establece, los organismos se pueden dispersar por todo un edificio a través del sistema. Si bien la mayoría de los microorganismos de los sistemas de VCAA son benignos, algunos están asociados a enfermedades severas, como las alergias y otras afecciones respiratorias. En individuos con el sistema inmune comprometido, por ejemplo, la exposición a microorganismos presentes en estos sistemas puede causar infecciones graves.

Ciertas especies de hongos pueden producir micotoxinas que provocan irritaciones, alergias, olores y malestar. En ambientes interiores, las concentraciones de hongos pueden alcanzar hasta  $10^7$  unidades formadoras de colonias por metro cúbico (CFU/m<sup>3</sup>). Las concentraciones fúngicas más elevadas se encuentran frecuentemente a poca distancia del espiral de enfriamiento del sistema de VCAA. También se han encontrado bacterias, como *Blastobacter*, en aletas de intercambio térmico de espirales de enfriamiento.

A menudo los hongos y bacterias son transportados como bioaerosoles en ambientes interiores para terminar depositándose en espirales e intercambiadores de calor. Las aletas de los intercambiadores de aluminio generalmente contienen poblaciones microbianas que pueden causar problemas de calidad de aire. Los espirales de enfriamiento pueden contaminarse incluso cuando las poblaciones bacterianas en el aire son relativamente bajas. Esto se debe a que el volumen de aire que pasa por los espirales es muy alto, y las poblaciones microbianas se acumulan. Como la mayoría de las veces estas piezas no son accesibles a la limpieza, durante su mantenimiento pueden liberar microorganismos alérgicos al ambiente.

## **Oportunidades para el Cobre en Sistemas de VCAA**

Cada vez hay mayor conciencia pública acerca de la infiltración por microbios en sistemas de control ambiental, y los consumidores se muestran cada vez más interesados en productos que destruyan los microorganismos asociados a estos artefactos.

La introducción de un nuevo revestimiento de plata antimicrobiano en sistemas de VCAA ha estimulado el interés en revestimientos de cobre y productos antimicrobianos. Aunque tanto el cobre como la plata presentan fuertes propiedades antimicrobianas, el precio del cobre es 10 veces más bajo que el de la plata. De manera que la introducción de revestimientos de cobre ya implicaría ahorros substanciales para el consumidor. Pero si se usaran componentes de cobre en vez de revestir los sistemas con cobre o plata, los beneficios a largo plazo serían aún más substanciales. Al usar componentes de cobre puro, no habría necesidad de una labor adicional y gastos misceláneos asociados a la aplicación, mantención y reemplazo de materiales de revestimiento. Los componentes de cobre serían antimicrobianos durante toda la vida del sistema de VCAA, mientras se los mantenga de la forma apropiada.

## **Filtros de Cobre Antimicrobianos para Sistemas de VCAA**

La filtración de aire es un mercado potencial primordial para el cobre. Aunque hoy en día existen filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air) a base de cobre, otros materiales inertes aún dominan el mercado. Esto podría cambiar pronto. En un estudio reciente se encontró que los filtros de cobre reducían un aerosol de estreptococos hemolíticos en 95,5%, mientras que el acero inoxidable exhibió menos de la mitad de ese efecto. Un filtro a base de óxido de zirconio redujo el conteo bacterial en apenas un 32,4%. Los a base de cobre produjeron una reducción de 89,2% en el número de colonias bacterianas. Tras 30 minutos de uso, no se detectaron bacterias en el aire.

En otro experimento se encontró que entre quince materiales con propiedades similares a materiales de filtración, el cobre tuvo un efecto bactericida extraordinario sobre *E. coli* O157:H7: la reducción de unidades formadoras de colonias fue del orden de 100 mil veces en apenas 20 minutos. Después de 18 horas, las poblaciones bacterianas sobre materiales a base de cobre fueron de entre  $10^1$  a  $10^2$  unidades, mientras que en controles el valor fluctuó entre  $10^5$  y  $10^8$  unidades.



## **Aletas y Tubos Antimicrobianos de Cobre para Sistemas VCAA**

Un amplio cuerpo de investigaciones, al igual que abundante experiencia en el mercado de sistemas de VCAA, indican que las aletas y tubos de cobre para intercambio de calor son incomparables en términos de rendimiento térmico, durabilidad, eficiencia y costos de ciclo de vida. Estos factores bastan para demostrar los beneficios del uso de cobre en estos sistemas. Pero las propiedades higiénicas del cobre dan aún más fuerza a estos argumentos. Los intercambiadores de calor de cobre pueden controlar las poblaciones bacterianas en un amplio rango de temperaturas y humedades. En aluminio, en cambio, los microorganismos pueden sobrevivir por meses a estas temperaturas. Es interesante destacar que los fabricantes de unidades refrigeradas de estanterías para supermercados conocen las propiedades antimicrobianas del cobre. Para inhibir la contaminación de alimentos y reducir las emisiones de malos olores, a menudo se usan aletas y tubos de cobre.

## **Cobre Antimicrobiano en Acondicionadores de Aire de Sistema Split**

En acondicionadores de aire de sistema *split*, el tubo evaporador casi siempre es de cobre, aunque las aletas a menudo son de aluminio como alternativa más barata. Sin embargo, las aletas de cobre tienen un rendimiento técnico superior bien conocido en el sector. Pero, el argumento a favor de las aletas de cobre es reforzado por sus propiedades antimicrobianas, a temperatura baja y normal, propiedad que no presentan las de aluminio.

La combinación de tubos de cobre, aletas de cobre y filtros a base de cobre en unidades evaporadoras de sistemas *split* ofrece un mecanismo triple de defensa contra microorganismos. Como las aletas y los filtros tienen la mayor área, y el aire acondicionado y recirculado debe pasar a través de ellos, estos componentes ofrecen las oportunidades más importantes para atrapar e inactivar microorganismos.

## **Ductos Antimicrobianos de Cobre en Sistemas VCAA**

Generalmente, los ductos en los sistemas de VCAA están hechos de una aleación no higiénica de acero galvanizado. Los microorganismos pueden poblar y propagarse en los ductos de acero galvanizado, eventualmente colonizando los conductos de circulación de aire de los edificios, especialmente cuando los sistemas VCAA no son mantenidos rutinariamente. El resultado puede ser exposición insalubre a microbios patogénicos, que puede causar infecciones bronquiales, enfermedad, e incluso la muerte. El cobre ofrece diversas soluciones para inhibir microorganismos en sistemas VCAA. El cobre puede ser aplicado a los ductos con aerosoles químicos, o usado

para revestir ductos con pinturas a base de cobre y novedosas fórmulas a base de resinas. Aunque las tecnologías se ven prometedoras, se deben estudiar aspectos como su efectividad antimicrobiana, duración del efecto, y costos de aplicación antes de recomendarse su uso.

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a Harold Michels, CDA, por sus comentarios al borrador de este trabajo.

## REFERENCIAS

Babich, H. and Stotzky, G. (1980), Environmental Factors that Influence the Toxicity of Heavy Metal and Gaseous Pollutants to Microorganisms, *CRC Crit. Rev. Microbiol.* Vol 8, (2), p. 99.

Bures, S., Fishbain, J.T., Uyehara, C.F.T., Parker, J.M., Berg, B.W., (2000), Computer Keyboards and Faucet Handles as Reservoirs of Nosocomial Pathogens in the Intensive Care Unit, *American Journal of Infection Control*, December issue, pp. 465-471.

Center for Disease Control [a.k.a. U.S. Department of Health & Human Services' National Centers for Disease Control and Prevention], (2000), Press Release titled: "Hospital Infections Cost US Billions of Dollars Annually," March 6, 2000.

Copper Development Association (2003), New Study Shows Copper Could Control *Listeria* Contamination, May 15, 2003 Press Release, [www.copper.org](http://www.copper.org).

Dancer, S.J., (1999), Mopping Up Hospital Infection, *Journal of Hospital Infection*, Vol. 43, pp. 85-100.

Dick, R.J., Wray, J.A., and Johnston, H.N. (1973), A Literature and Technology Search on the Bacteriostatic and Sanitizing Properties of Copper and Copper Alloy Surfaces, Phase I Final Report, INCRA Project No. 212, June 29, 1973, contracted to Battelle Columbus Laboratories, Columbus, Ohio, USA.

Dick, R.J., Gieseke, J.A., Johnston, H.N., Litchfield, J.H., Margard, W.L., Vaughan, D.A., Wray, J.A. (1975), Evaluation of the Feasibility of Bacteriostatic Filters Bases on Copper and Copper Alloy Surfaces, April 23, 1975, INCRA Project No. 212A Final Report, Battelle Columbus Laboratories, Columbus, Ohio, USA.

Hugenholz, P. and Fuerst, J. (1992), Heterotrophic Bacteria in an Air Handling System, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 58, (12), pp. 3914–3920.

Hosokawa, I. and Kamiya, A. (2002), Contamination of Room Door Handles by Methicillin-Sensitive/Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Jour. of Hospital Infection*, Vol. 51, pp. 140-143.

Keevil, C.W. (1999), Pathogens and Metabolites Associated with Biofilms. in *Biofilms in the Aquatic Environment* (eds. Keevil, C.W., Godfree, A., Holt, D., and Dow, C.S.) pp. 145-152 (Royal Society of Chemistry, Cambridge).

Keevil, C.W. (2001), Continuous Culture Models to Study Pathogens in Biofilms. *Methods Enzymol*, Vol. 337, pp. 104-22.

Keevil, C.W. (2001), Use of Copper Materials in Food Preparation Industry Can Reduce Risk of Bacterial Contamination, *Metals in the News*, Spring 2001 (published by the New York Mercantile Exchange Inc.).

Keevil, C.W., Walker, J.T., and Maule, A. (2000), Copper Surfaces Inhibit *Escherichia coli* O157, *Seminario Cobre y Salud*, Nov. 20, 2000, CEPAL/Comision Chilena del Cobre/ICA, Santiago, Chile).

Kuhn, P.J. (1983), Doorknobs: A Source of Nosocomial Infection? *Diagnostic Medicine*, Nov/Dec 1983.

Lewis, A. and Keevil, C.W. (2004), The Viability of Antimicrobial Copper as a Hygienic Material for HVAC System Components – A White Paper for the Copper Development Association Inc. and International Copper Association Inc.

Malmström, B.G. (1965), The Biochemistry of Copper, *Z. Naturwiss. Med. Grundlagenforschung*, Vol. 3, (3) pp. 259-266.

McBrien, D.C.H. and Hassall, K.A. (1967), The Effect of Toxic Doses of Copper Upon Respiration, Photosynthesis, and Growth of *Chlorella, Vulgaris*, *Physiol. Plant.*, Vol. 20, (1) pp. 113-117.

Michels, H.T., Wilks, S.A., and Keevil, C.W., (2003), The Antimicrobial Effects of Copper Alloy Surfaces on the Bacterium *E. coli* O157:H7, (presented in Santiago, Chile, November 30-December 3, 2003).

Michels, H.T., Wilks, S.A., and Keevil, C.W., (In Preparation, 2004) Effects of Copper Alloy Surfaces on the Viability of Bacterium, *E. coli* O157:H7.

Morey, P.R. (1988), Microorganisms in Buildings and HVAC Systems: A Summary of 21 Environmental Studies, *ASHRAE IAQ '98*, pp. 10-24.

Muysshondt, A., Nutter, D., and Gordon, M. (1998), Investigation of a Fin and Tube Surface as a Contaminant Sink, *ASHRAE IAQ '98*, pp. 207-211.

Noyce, J.O, Keevil, C.W. (2004), The Antimicrobial Effects of Copper and Copper-Based Alloys on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the Annual General Meeting of the American Society for Microbiology, 24–27 May 2004, New Orleans*.

Pongratz, A. et al. (1994), The Effect of the Pipe Material of the Drinking Water System on the Frequency of *Legionella* in a Hospital, *Zentralbl Hyg Umweltmed*, Vol. 195, pp. 483–488.

Prohaska, J. R., Gybina, A.A. (2004), Intracellular Copper Transport in Mammals. *Nutr.*, Vol. 134, pp. 1003–6.

Robine, E., Boulangé-Peterman, L. and Derangère, D. (2002), Paper I: Assessing Bacterial Properties of Materials: The Case of Metallic Surfaces in Contact with Air, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 49, pp. 225–234.

Rogers, J., Dowsett, A.B., Dennis, P.J., Lee, J.V., and Keevil, C.W. (1994), The Influence of Plumbing Materials on Biofilm Formation and Growth of *Legionella pneumophila* in Potable Water Systems Containing Complex Microbial Flora. *Appl. Environ Microbiol.*, Vol. 60, pp. 1842–1851.

Sagripanti, J. (1992), Metal-Based Formulations with High Microbial Activity, *Applied and Environmental Microbiology*, September, pp. 3157–3162.

Sakaguchi, T. and Sakaguchi, S. (2000), Availability of Antibacterial Towels and Fabrics Against Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Nippon Koshu Eisei Zasshi*, Vol. 47 (5), pp 404–410, 2000) (in Japanese).

Samuni, A., Aronovitch, J., Godinger, D., Chevion, M., and Czapski, G. (1983), On the Cytotoxicity of Vitamin C and Metal Ions, *Eur. J. Biochem.*, Vol. 137, p. 119.

Sterritt, R.M. and Lester, J.N. (1980), Interactions of Heavy Metals with Bacteria, *Sci. Total Environ.*, Vol 14, p. 5.

Suyama, Y., Muramatsu, J., Takaku, S., Yamada, Y., and Nakane, T. (No Date), Preventive Method of Environmental Pollution by Air-Borne Bacteria in Dentistry Clinic, in Japanese.

Thurman, R.B. and Gerba, C.P. (1989), The Molecular Mechanisms of Copper and Silver Ion Disinfection of Bacteria and Viruses, *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, Vol. 18, Issue 4, pp. 295–315.

Walker, J.T., Rogers, J., Keevil, C.W. (1993), The Influence of Plumbing Tube Material, Water Chemistry and Temperature on Biofouling of Plumbing Circuits with Particular Reference to the Colonization of *Legionella pneumophila*. ICA Project 437A Annual Report.



Wilks, S.A., and Keevil, C.W. (2003a), Improved Work Surfaces to Prevent Cross-Contamination and Spread of *Listeria monocytogenes*, Environmental Health Care Unit, School of Biological Sciences, University of Southampton, UK; paper Y-013. In Proceedings of the Annual Meeting of the American Society for Microbiology, Washington 19–22 May, 2003.

Wilks, S.A. and Keevil, C.W. (2003b), The Survival of *Escherichia coli* NCTC 12900 on a Range of Different Metal and Plastic Materials at Two Different Temperatures. Report to CDA.

Wilks, S.A. and Keevil, C.W. (submitted for publication, 2004), Survival of *Listeria monocytogenes* Scott A<sub>[H]</sub> on a Range of Metal Surfaces: Implications for Cross-Contamination.

## EL COBRE EN EL AGUA: HACIA NORMATIVAS MÁS EFICIENTES

Como ya lo hemos dicho, el cobre es un elemento natural y un micronutriente esencial para todas las formas de vida. Esto significa que es parte de la composición química de los organismos vivos, incluyendo los microorganismos, las plantas, los animales y el ser humano. Como es necesario para mantener la vida, los organismos poseen mecanismos para asegurar que sus niveles sean los adecuados. Sin embargo, estos mecanismos pueden ser superados en ciertas condiciones, por ejemplo cuando las concentraciones del metal en el medio externo son demasiado elevadas. En tales casos, el cobre puede tener efectos tóxicos, los que pueden ser, breves, reversibles o severos, y afectar diversos aspectos de la vida del organismo, tales como su conducta éxito reproductivo, etc.

Dado que el cobre puede ser tóxico (como todo elemento presente en el ambiente) y dado que las actividades humanas liberan cobre al medio, se deben establecer reglas sobre cuánto cobre puede emitirse con seguridad. La vida acuática es especialmente sensible a los contaminantes, y muchos países tienen criterios de calidad de agua para el cobre y otros elementos, que al ser sobrepasados gatillan procesos de descontaminación, restricciones y penalidades.

Las restricciones normativas pueden afectar las decisiones de consumidores respecto a materiales o procesos alternativos. Por ejemplo, un criterio de calidad de agua muy bajo para cobre puede desincentivar el uso del metal en arquitectura, sobre la base de que el cobre arrastrado por la lluvia pueda contribuir a la carga de metal de un río cercano. Lejos de ser situaciones puramente especulativas, este tipo de cosas ha ocurrido realmente en países europeos: en Estocolmo, las autoridades prohibieron el uso del cobre en techos, por razones de este tipo.

Por otra parte, por muy legítimos que sean los intereses de la industria del cobre en promover sus productos, debe operar en un marco ético de protección de las personas y el medio, entre otras cosas. Esto implica que la industria debe tratar de asegurarse que las normativas: i) sean lo suficientemente restrictivas como para proteger la vida; e ii) no sean innecesariamente restrictivas, i.e. que impidan las actividades productivas sin proteger más que normativas menos restrictivas.

Es en este contexto que a la industria le interesa apoyar la investigación de los mecanismos de la toxicidad del cobre, y de los factores a tomar en cuenta en el

desarrollo de límites normativos. El siguiente artículo describe una de las historias de éxito de la agenda de investigación del cobre: el desarrollo de una herramienta para asegurar que los criterios de calidad de agua para cobre se formulen teniendo en cuenta las características sitio-específicas que pueden modificar el efecto biológico del metal.



8

## **MODELO DEL LIGANDO BIÓTICO: PRINCIPIOS Y VALIDACIÓN EN AGUAS SUPERFICIALES CHILENAS**



**Patricio H. Rodríguez & Juan Carlos Torres**

<sup>a</sup>Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM,  
Av. Parque Antonio Rabat 6500, Vitacura, Santiago.

<sup>b</sup>Instituto de Innovación en Minería y Metalurgia, IM2,  
Av. del Valle 738, Ciudad Empresarial, Huechuraba,  
Santiago.



## INTRODUCCIÓN

La protección del medio ambiente ha ido tomando un papel relevante desde la segunda mitad del siglo XX. En los países industrializados se ha creado un conjunto de normativas que conforman el marco legal para la protección de los distintos compartimentos ambientales. En el caso de las aguas continentales superficiales estas normativas han tomado la forma de valores guías, criterios de calidad, valores críticos..etc., es decir, niveles que no deben ser sobrepasados para asegurar la protección deseada.

En el caso específico de los metales, la toxicidad a los organismos que habitan en las aguas naturales es una función compleja de la composición química de la columna de agua y la sensibilidad de la biota que la habita. Sin embargo, la falta de herramientas analíticas para describir estas relaciones ha llevado a que los organismos estatales encargados de la protección ambiental produzcan normativas que son excesivamente restrictivas o que en algunos casos, por el contrario, fallan en proteger el medioambiente acuático.

Recientemente, se ha desarrollado una nueva herramienta analítica, el Modelo del Ligando Biótico (BLM por sus siglas en inglés), que es capaz de describir la respuesta de las comunidades acuáticas a la toxicidad de los metales en función de la composición química de la columna de agua. En el presente artículo se describirán los conceptos de especiación de metales en aguas naturales, las bases del BLM y se presentará como caso de estudio, la validación del modelo en aguas superficiales chilenas.

## ESPECIACIÓN DE METALES

La fracción biodisponible de un metal depende de las condiciones químicas de la solución. Los metales en aguas naturales pueden encontrarse en una diversidad de formas o especies, incluyendo iones hidratados libres, complejos con ligandos inorgánicos y orgánicos, o adsorbidos a superficies de partículas. Los ligandos orgánicos pueden ser macromoléculas naturales o moléculas pequeñas de origen antrópico o natural, o ligandos presentes en las superficies de un organismo vivo directamente expuestas al medio. Estos factores presentan una alta variabilidad entre distintos cuerpos de agua, y sectores dentro de un mismo cuerpo, dependiendo de condiciones tales como las características geoquímicas del terreno, el origen de las aguas, el tipo de cuerpo de agua (río, embalse, lago...), el tipo de emisiones que recibe,

las características climáticas, el grado de eutroficación...etc. Por lo tanto, la fracción del total de un metal que está en forma biodisponible, y en consecuencia su toxicidad potencial, variará correspondientemente entre cuerpos de agua y sectores.

Consideremos las condiciones en que se llevan a cabo los ensayos toxicológicos de laboratorio, de donde se derivan los valores de  $LC_{50}$  o  $EC_{50}$  (concentración de sustancia que produce un 50 por ciento de la mortalidad o efecto) en que se basan los valores máximos regulados o criterios de calidad de agua. Estos ensayos se realizan en agua de laboratorio dosificada con una sal altamente soluble del metal (por ejemplo; cloruro de cobre). Aparte de contener una concentración formulada de nutrientes básicos para permitir la mantención de los organismos de ensayo, la solución no contiene la heterogénea mezcla de sustancias orgánicas e inorgánicas que contienen los efluentes antropogénicos y las aguas naturales. Por lo tanto, al usar sales altamente solubles y medios con mínima capacidad de adsorción y acomplejamiento, los ensayos toxicológicos estándar minimizan la diferencia entre metal total y metal biodisponible.

En consecuencia, la forma convencional para obtener los datos toxicológicos encierra la premisa no explícita que la fracción biodisponible es muy cercana a la fracción disuelta y ésta, a su vez, es casi igual al metal total recuperable. Sin embargo, eso no corresponde a la realidad de cuerpos de aguas naturales y efluentes de origen humano, los que son física y químicamente muy heterogéneos.

En reconocimiento a esta realidad, las normativas en Estados Unidos introducen un importante componente de "sitio-especificidad" en su enfoque regulatorio para metales. La Agencia de Medio Ambiente de los Estados Unidos, USEPA además de introducir la dureza del agua como parámetro modificador para algunos metales, considera la aplicación de criterios de especificidad local, como la Razón del Efecto de Agua (Water Effect Ratio). Esta opción se aplica en casos en que hay fundadas razones para considerar que las características del agua en un sitio específico pueden modificar significativamente la biodisponibilidad del metal. En tales casos, la aplicación de un Criterio de Calidad de Agua General, derivado de una medición toxicológica realizada en agua de laboratorio, puede resultar innecesariamente restrictiva. Por esto, la USEPA permite derivar datos toxicológicos a partir de ensayos simultáneos con agua del sitio en cuestión y agua de laboratorio. La Razón se obtiene dividiendo  $LC_{50}$  o  $EC_{50}$  en el agua del sitio por la del  $LC_{50}$  o  $EC_{50}$  en agua de laboratorio. El Criterio de Calidad corregido se obtiene multiplicando dicha Razón por el Criterio General.

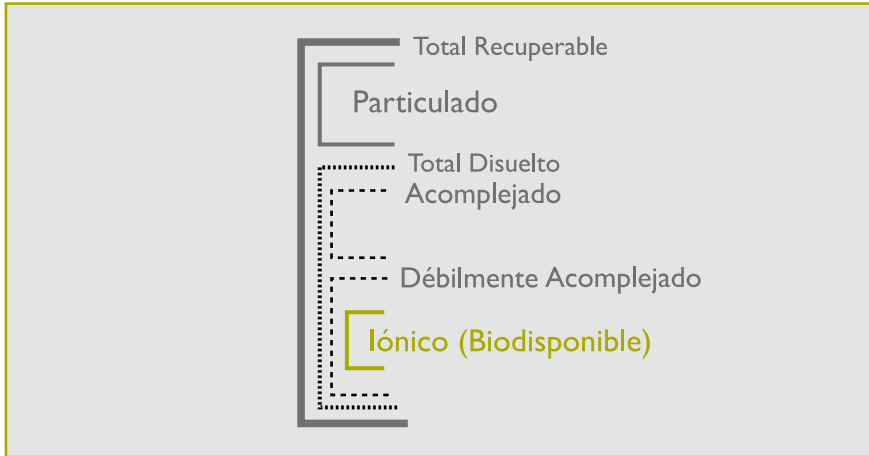


Australia y Nueva Zelanda, por otra parte, enfatizan fuertemente el componente sitio-específico como un fundamento de toda su política normativa de calidad de agua.

La mayoría de los parámetros que rigen la relación entre factores fisicoquímicos ambientales y especiación son conocidos, y se han desarrollado programas de computación que permiten estimar las concentraciones de las diferentes especies para una configuración dada de factores (e.g. MINEQL). Por lo tanto, una vez identificadas las especies que pueden interactuar con el organismo, este tipo de estimaciones podrían usarse para evaluar la biodisponibilidad de los metales en condiciones específicas.

Existen aproximaciones metodológicas que permiten obtener estimaciones que, aunque muy conservadoras, permiten estimar la fracción biodisponible del metal en condiciones definidas. La más simple de ellas se basa en considerar uno de los aspectos físicos de la especiación: el grado de disolución de la especie. Si bien desconocemos exactamente cuáles son las especies de los metales biodisponibles en agua, es claro que aquel metal que está adsorbido a partículas en suspensión no es biodisponible, como tampoco el que forma complejos inorgánicos u orgánicos.

**Figura 1. Relación entre Metal Total Recuperable, Metal Total Disuelto, Metal Acomplejado y Metal Iónico. La definición de estas categorías es operacional, ya que se definen por un procedimiento metodológico que permite medirlas. La fracción biodisponible es el metal en forma iónica.**



En la Figura 1, se muestra la especiación de metales de un modo esquemático. El Metal Total Recuperable es aquel que se mide en la muestra tras digerirla con un ácido fuerte, lo que solubiliza al máximo el metal que se encuentra acomplejado o adsorbido a partículas. El Metal Total Disuelto es aquel que se mide tras digerir con ácido un filtrado de la muestra total, es decir; aquello que pasa por un filtro de aproximadamente media milésima de milímetro (0,45  $\mu\text{m}$ ). Incluido en esta fracción, está el metal fuerte o débilmente acomplejado a otras moléculas y partículas pequeñas, así como el metal en forma iónica (un átomo con carga eléctrica). Este metal en forma iónica es la aproximación más precisa a lo que está biodisponible en un cuerpo de agua. El Metal Total Disuelto incluye muchas especies que por su tamaño o características químicas no son biodisponibles. De allí que podemos afirmar que el uso de esta fracción en un protocolo regulatorio es un enfoque conservador; que se adopta como un “mejor estimador” a falta de un método barato y de fácil aplicación para medir, por ejemplo, la fracción iónica.

En 1993 la USEPA, que había desarrollado los criterios de vida acuática para metales usando medidas de metal total recuperable (MTR), analizó las potenciales ventajas de incorporar la fracción disuelta en la regulación ambiental, y reconoció que:

1. La fracción disuelta es un mejor estimador de la fracción biodisponible.
2. La fracción biodisponible refleja mejor la toxicidad potencial del metal.

Indicando que estas conclusiones son “apoyadas por la mayoría de la comunidad científica dentro y fuera de la Agencia...” declara que: “Es ahora la política de la Oficina de Aguas que el uso del metal disuelto para establecer y medir cumplimiento de los estándares de calidad de agua es el enfoque recomendado...” Junto con esta decisión, la Oficina de Aguas revisó la literatura existente y generó factores de corrección para estimar el metal disuelto a partir del metal total, los que se incorporaron a las ecuaciones respectivas para calcular el criterio de calidad de agua.

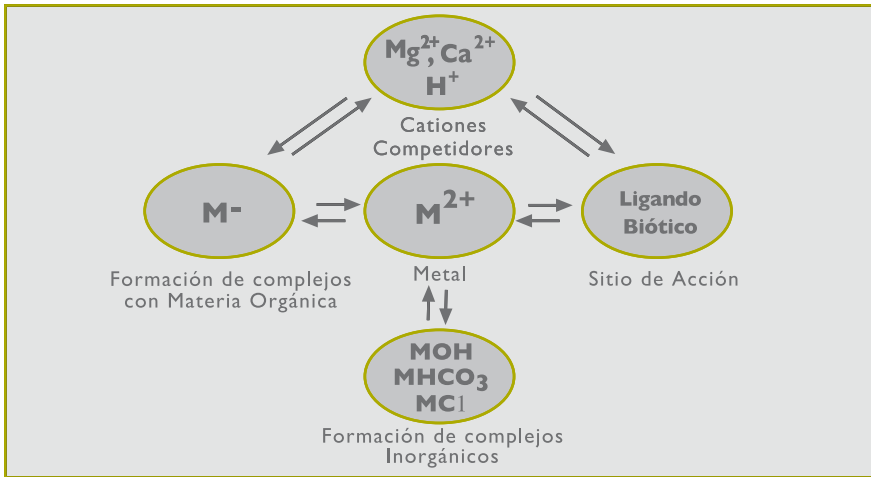
El metal disuelto también es función de diversos parámetros fisicoquímicos, tales como sólidos totales en suspensión, la cantidad de materia orgánica particulada o disuelta, el pH...etc. Si bien los factores de corrección de la USEPA son muy cercanos a 1, esto se debe a que se derivaron de una base de datos seleccionada de acuerdo al criterio de que las condiciones fueran semejantes a aquellas en que se realizan los ensayos toxicológicos de laboratorio. En aguas naturales, sin embargo, la situación es muy diferente.

## **FUNDAMENTOS DEL MODELO DEL LIGANDO BIÓTICO**

Como ya se indicó, la toxicidad de los metales en ambientes acuáticos está íntimamente relacionada con su biodisponibilidad. La toxicidad de los metales ha sido exitosamente correlacionada con la concentración de metal en su forma iónica libre a través del Modelo de Actividad Iónica Libre (FIAM), sin embargo, este modelo no es capaz de explicar los efectos mitigantes de la toxicidad producidos por altas concentraciones de calcio (dureza) y materia orgánica. Por lo tanto, se ha propuesto un nuevo modelo, el Modelo del Ligando Biótico, en que se introduce como ligando, en los modelos de equilibrio, al sitio de acción toxicológico (ligando biótico), y en que los cationes como calcio son tomados en cuenta como competidores, no tóxicos, por los sitios de acción del metal. También, se incorpora el efecto protector de la materia orgánica, como un ligando que por medio de mecanismos de acomplejación disminuye la actividad de los iones libres del metal.

## Principales Factores Considerados por el Modelo de Ligando Biótico

**Figura 2. Interacciones químicas consideradas en el Modelo del Ligando Biótico.**



Los factores que se consideran en el modelo (Figura 2) se pueden separar en dos grupos. Primero, los factores que mitigan la toxicidad por el mecanismo de atrapamiento del metal iónico: materia orgánica y acomplejantes que dan origen a complejos inorgánicos (Carbonatos, cloruros y hidróxidos). Segundo, los cationes que compiten con el metal por el sitio de acción (ligando biótico). Además, se considera el sitio de acción en la especie biológica (ligando biótico) como un ligando más. Al tomar en cuenta estos factores, el modelo del ligando biótico es capaz de calcular la concentración de complejo ligando biótico-metal y por lo tanto, se puede correlacionar la concentración del metal en el sitio de acción con el efecto tóxico. Esto último, implica que el modelo posee un valor predictivo ecotoxicológico.

Supuestos sobre los que funciona el Modelo del Ligando Biótico:

- El ligando biótico no es capaz de interactuar con los complejos de metal, tanto orgánicos como inorgánicos
- La unión de cationes competidores, como calcio y protones, al ligando biótico, no produce efecto tóxico.

El modelo hace estas suposiciones basado en los resultados empíricos que surgen

de la extensa base de datos ecotoxicológica para un gran número de especies biológicas y calidades de aguas, colectados por la USEPA en los últimos 50 años.

Operacionalmente el Modelo del Ligando Biótico comprende la interacción de 2 modelos de especiación: CHESS (Chemical Equilibrium in Soils and Solutions) es un modelo para el cálculo de especiación de metales sin la intervención de ligandos orgánicos y WHAM (Widmermere Humic Aqueous Model) que es un modelo que describe la formación de complejos de metales con ligandos orgánicos.

Sin embargo, para completar el Modelo del Ligando Biótico es necesario introducir la constante de afinidad del metal y los cationes competidores por el ligando biótico en los modelos antes mencionados. Estos valores son obtenidos determinando experimentalmente la capacidad y cantidad de sitios de interacción de cationes en branquias de peces.

Actualmente, los valores para la norma de metales en aguas superficiales es ajustada por dureza. Este parámetro cumple la función de corregir los valores para metal total disuelto introduciendo el efecto protector de calcio y magnesio.

En el caso del Modelo del Ligando Biótico la composición de la química del agua se hace preponderante, y además de medir las concentraciones de los principales cationes, Ca, Mg, Na y K, es necesario medir pH, los principales aniones ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ ), materia orgánica disuelta, materia inorgánica disuelta ( $\text{HCO}_3^-$ ), metal total disuelto y la cantidad y capacidad de los sitios de acción toxicológicos del metal.

### **Validación del BLM en Aguas Naturales Chilenas**

Uno de los principales obstáculos para la adopción del BLM en un contexto normativo, ha sido la falta de estudios detallados de validación. Estos estudios consisten en la colección de diferentes tipos de calidades de aguas naturales, su caracterización química y la realización de ensayos de toxicidad para el metal en cuestión con especies biológicas sensibles. Luego, los resultados de toxicidad obtenidos experimentalmente se comparan con los predichos por el modelo.

Durante el período 2002-2003, el Centro de Investigación Minera y Metalúrgica realizó un ejercicio de validación, que implicó la recolección de muestras de aguas naturales, desde la IV a la X regiones incluyendo la Isla de Chiloé. Las muestras fueron tomadas en sitios sin historia de intervención antrópica. Un total de 37 muestras, entre ríos y lagos, fueron caracterizadas química y usadas para hacer ensayos toxicológicos con cobre. Las especies biológicas utilizadas fueron *Daphnia magna*, *Daphnia pulex* y *Daphnia obtusa*, ésta última nativa de los ríos y lagos chilenos.

**Tabla 1. Estadísticas de las propiedades químicas de los 37 cuerpos de aguas analizados.**

Parámetro		Promedio	Mediana	Min	Max
pH		7,86	7,83	7,00	8,62
Cu <sup>2+</sup>	(µg/L)	2,58	0,63	0,26	19,44
DOC	(mg/L)	1,62	0,60	0,07	9,40
Ca <sup>2+</sup>	(mg/L)	15,13	6,40	1,34	66,24
Mg <sup>2+</sup>	(mg/L)	3,55	2,39	0,56	15,72
Na <sup>+</sup>	(mg/L)	8,47	5,55	2,07	55,90
K <sup>+</sup>	(mg/L)	0,98	0,80	0,28	3,02
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	(mg/L)	23,02	10,10	1,40	141,20
Cl <sup>-</sup>	(mg/L)	6,80	2,80	0,29	100,10
Alcalinidad	mg/L equiv. de CaCO <sub>3</sub>	42,03	29,00	8,00	154,00
Dureza	mg/L equiv. de CaCO <sub>3</sub>	60,24	28,00	8,00	271,00

**Tabla 2. Estadísticas de los parámetros medidos para la toxicidad aguda asociada a Cobre en las distintas aguas naturales colectadas.**

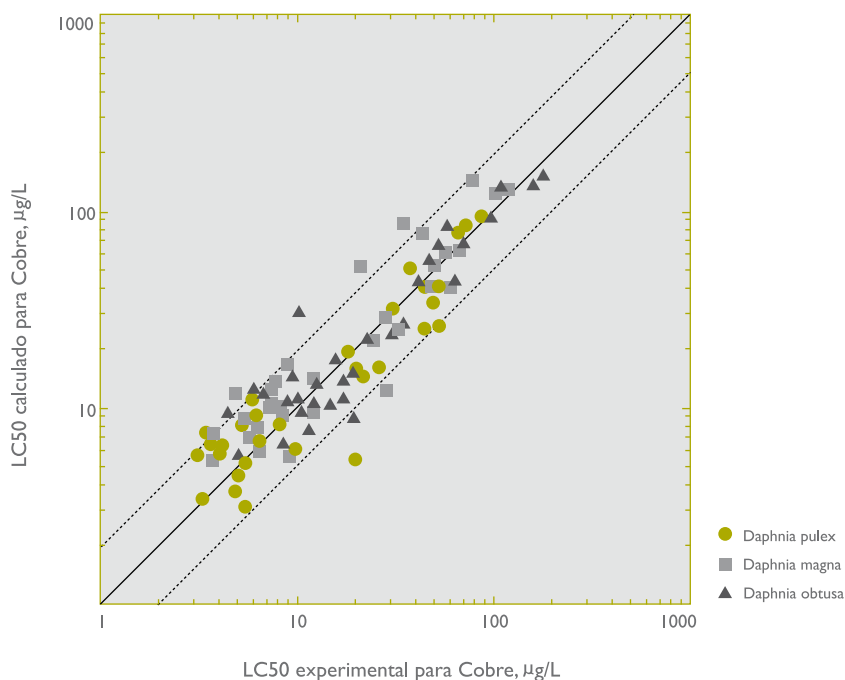
Especie		Promedio	Mediana	Min	Max
<i>Daphnia magna</i>	LC50 para Cobre (µg/L)	27,26	11,50	3,40	117,90
<i>Daphnia pulex</i>	LC50 para Cobre (µg/L)	22,14	8,30	2,30	85,40
<i>Daphnia obtusa</i>	LC50 para Cobre (µg/L)	34,69	15,60	4,00	176,10

La Tabla 1 muestra la variabilidad de las calidades de las aguas estudiadas. La Tabla 2 muestra la distribución de valores experimentales obtenidos para la toxicidad de cobre en las distintas calidades de agua analizadas. Se observa que la sensibilidad a cobre varía en al menos tres órdenes de magnitud.

Utilizando el BLM, se modeló la toxicidad de cobre para las tres especies de dáfidos en cada una de las aguas del estudio. Las toxicidades predichas fueron comparadas con las toxicidades medidas experimentalmente, encontrándose que el modelo es capaz de predecir correctamente la toxicidad de cobre para *Daphnia pulex*, *magna* y *obtusa* en un 93, 88 y 89% respectivamente de las aguas estudiadas. La Figura 3 muestra el desempeño del modelo en cuanto a su capacidad predictiva en aguas naturales chilenas.



**Figura 3. Validación del BLM en aguas naturales chilenas. Gráfico logarítmico de la toxicidad por cobre calculada (modelada con el BLM) versus la determinada experimentalmente. La toxicidad se expresa como la cantidad del metal que es capaz de producir un 50% de la mortalidad (LC50). La línea continua corresponde a una perfecta identidad entre el valor calculado y el medido experimentalmente, las líneas punteadas indican el intervalo de desviación aceptado.**



En conclusión, este trabajo muestra que el Modelo del Ligando Biótico para cobre es una herramienta robusta para predecir toxicidad en un amplio intervalo de calidades de aguas presentes en la mayor parte de Chile y que posee un gran potencial para ser aplicado en procesos normativos relacionados con permisos de descargas y criterios de calidad.

## AGRADECIMIENTOS

El proyecto resumido en este artículo fue financiado con apoyo de la International Copper Association (ICA), el Fondo de Desarrollo e innovación de CORFO, la Comisión Chilena del Cobre (Cochilco) a través de la Comisión Técnica Asesora y Codelco Chile.

## REFERENCIAS

Paquin, PR, Farley K, Santore RC, Kavvas CD, Mooney KG, Winfield RP, Wu K y Di Toro DM. (2003) Metals in Aquatic Systems: A review of Exposure, Bioaccumulation, and Toxicity of Metals. Pensacola, FL. SETAC Press. 140 p.

Gorsuch JW, Jenssen CR, Lee CM y Reiley MC. Eds. (2002) Special Issue: The Biotic Ligand Model for Metals, Current research, Futures directions and regulatory implications. Comp Biochem and Physiol C Pharmacol Toxicol 133: 1-343.

Bergman HL y Dorward-King EJ Eds. (1996) Reassessment of Metals Criteria for Aquatic Life Protection: Priorities for Research and Implementation. Pensacola, FL. SETAC Press. 114 p.

Villavicencio G, Urrestarazu P, Carvajal C, De Schampelaere KAC, Janssen CR, Torres JC y Rodriguez PH (2005) Biotic Ligand Model Prediction of Copper Toxicity to Daphnids in a Range of Natural Waters in Chile. Environ Toxicol Chem 24: 1287-1299.



## TECHOS DE COBRE Y TOXICIDAD DE AGUAS LLUVIA

Por siglos, el cobre y sus aleaciones han sido usadas como material en arquitectura, incluyendo usos en estructuras a la vista. Su enorme versatilidad, facilidad de uso, resistencia a las condiciones climáticas y belleza lo han convertido en una aplicación de gran nobleza en techos, revestimientos de fachadas y canaletas de desagüe, entre otros. En muchos edificios institucionales de Europa y Estados Unidos, es la pátina típica que se forma, con los años, sobre el metal la que les proporciona ese matiz verdoso que solemos asociar con lo antiguo. Esta pátina es considerada tan atractiva que hoy existen proveedores de planchas de cobre que las ofrecen con la pátina artificialmente inducida por tratamiento químico. Si bien desde un punto de vista comercial, estos usos arquitectónicos del metal dan cuenta de una fracción pequeña del mercado, la industria los promueve por su gran impacto en términos de imagen del metal, así como por su potencial de expansión.

La preocupación creciente por la calidad medioambiental ha traído consigo un interés cada vez mayor por identificar las potenciales fuentes de los elementos o compuestos que contaminan cuerpos de agua, es decir que alcanzan en ellos concentraciones consideradas riesgosas para la vida silvestre. Para el caso de los metales en general, y el cobre en particular, éstas pueden ser múltiples y muy diversas; por ejemplo, el cobre es usado en cañerías de diversos tipos, cables y alambres para conducción eléctrica, como componente de pastillas de freno en automóviles, fertilizantes, pesticidas, algicidas en piscinas y acuarios, pintura de cascos de embarcaciones, etc. En muchos de estos usos, el metal entra en contacto con agua y puede terminar contribuyendo a la carga de cobre en un río o lago. Además, por tratarse de un nutriente para los seres humanos, los animales y las plantas, todos los desechos de tipo orgánico que se eliminan al medio contribuyen a la carga ambiental de cobre. Debido a esta heterogeneidad de fuentes potenciales, y a su naturaleza muchas veces difusa, al intentar tomar medidas normativas para reducir la carga medioambiental del metal, resulta muy complejo determinar cuáles de esas fuentes son en verdad relevantes. Sin embargo, es crucial poder realizar confiablemente este tipo de evaluaciones, pues en su ausencia prevalecen los enfoques precautorios, aplicables especialmente a las fuentes más visibles o percibidas como más artificiales, que pueden no ser necesariamente las que más contribuyen.

El estudio que sigue aborda una situación de terreno que casi parece un experimento de laboratorio: un campus universitario con algunos edificios con techo de cobre, de distinta antigüedad, y las condiciones adecuadas para hacer un seguimiento al dedillo del destino del cobre arrastrado por la lluvia desde esos techos. Raras veces se cuenta con condiciones de casi total control de otras variables en un estudio de campo. El estudio tiene el valor adicional de haberse planificado en respuesta a un interés normativo específico de una autoridad regulatoria, en el Estado de Connecticut, EEUU, y representa un modelo de colaboración entre autoridades y un sector de la industria.



9

## TECHOS DE COBRE Y TOXICIDAD DE AGUAS LLUVIA



**Nikolaos P. Nikolaidis**

Departamento Ingeniería Ambiental, Universidad Técnica de  
Creta, Chania, Grecia.

## INTRODUCCIÓN

El cobre es un elemento extraído principalmente desde el mineral llamado calcopirita, para ser usado en la producción de materiales arquitectónicos (techos, tapajuntas, desagües), cojinetes y fluidos de frenos de automóviles, monedas, aparatos electrónicos, materiales galvanizados, fertilizadores, fungicidas, productos domésticos, insecticidas, componentes de terminaciones metálicas, pigmentos de pintura, materiales de gasfitería, cables y alambres (Odnevall Wallinder and Leygraf, 1997; Mason et. al., 1999).

La amplia aplicación del cobre en el mundo moderno se debe a su versatilidad, facilidad de uso, fiabilidad y reciclabilidad. El uso abundante de productos a base de cobre ha llevado a mayores concentraciones de cobre en los sistemas de agua dulce. Un tema particularmente preocupante es el flujo cada vez mayor de cobre en efluentes de aguas lluvia debido al desarrollo del sector urbano (Odnevall Wallinder and Leygraf, 1997; Mason et. al., 1999; Boller, 1997; Odnevall Wallinder and Leygraf, 1999). La mayoría de los ríos en Connecticut (un Estado altamente poblado) presentan niveles de cobre por sobre el Criterio de Calidad para el metal en varios puntos, y varias veces en el año. En 1996, el Departamento de Protección Ambiental (DPA) de Connecticut se embarcó en un esfuerzo muy relevante para entender la relación entre estos niveles de cobre y su toxicidad en agua dulce. Por ejemplo, en el caso de niveles elevados de cobre en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, es bien sabido que el cobre (que viene de corrosión de cañerías caseras) no implica una amenaza relevante para la vida acuática, pues está fuertemente unido a compuestos orgánicos e inorgánicos en el agua residual (Nikolaidis and Anderson, 1994). Además, un estudio en que se modeló el comportamiento del cobre en el Río Nagatuck (Nikolaidis and Nelson, 1997) reveló que los complejos de cobre son muy estables aguas abajo, hasta llegar a la Bahía de Long Island.

Por otra parte, el monitoreo de aguas lluvia emitidas desde instalaciones industriales había mostrado que un 10% de los sitios exceden el criterio total de desempeño de 0,2 mg/L y muchas de estas muestras presentaron toxicidad para especies de ensayo (Dunbar, Kiritsis, and Papp, 1997). Aunque el DPA no puede atribuir esta toxicidad sólo al cobre, tomó la iniciativa de minimizar la toxicidad acuática por medio de esfuerzos de prevención. En general, el DPA ha definido seis metas para cobre en su Plan de Prevención de la Contaminación para Connecticut (1996):

1. Reducir la cantidad de cobre que ingresa a los ríos de Connecticut,

2. Minimizar el uso de material externo de cobre de construcción,
3. Aplicar la prohibición del uso de aditivos de cobre en sistemas de alcantarillado,
4. Reducir o eliminar el uso de algicidas a base de cobre,
5. Desincentivar el uso de radiadores de cobre e investigar el uso de cobre en cojinetes de frenos, e
6. Investigar alternativas al uso de cobre en sistemas de cañerías, eléctricos y de enfriamiento.

El lograr estos objetivos para cualquier sustancia química acarrea costos que impactan al consumidor, la industria y agencias regulatorias. El cobre no es una excepción. La decisión de embarcarse en acciones para alcanzar tales metas debe basarse en ciencia sólida y datos de calidad. Esto es esencial para determinar, en una primera instancia, que las metas son necesarias, prácticas y económicamente justificadas. Se debe hacer una evaluación de riesgos y beneficios sobre la base de un análisis de ciclo de vida antes de recomendar la sustitución del cobre por materiales alternativos.

Al iniciarse este proyecto, había una carencia de información en la literatura científica sobre los orígenes del cobre de diversas fuentes y sus contribuciones a la toxicidad acuática en aguas superficiales. El objetivo general de nuestra investigación fue determinar la contribución de materiales arquitectónicos en base a cobre a las concentraciones y toxicidad del cobre en efluentes de aguas lluvia. Específicamente, buscábamos abordar los siguientes puntos:

- Seguirle la pista a las fuentes de cobre en efluentes de aguas lluvia hasta el curso de agua receptor; y determinar la contribución del uso de cobre en aplicaciones arquitectónicas.
- Determinar la especiación del cobre en aguas lluvia de techos de cobre.
- Desarrollar un modelo matemático para simular destino, especiación, y transporte de cobre desde el momento en que la lluvia cae sobre el techo al momento en que llega al cuerpo de agua receptor.
- Determinar la toxicidad del efluente de aguas lluvia y la contribución de diversas fuentes de cobre a la toxicidad observada.



## METODOLOGÍA

La cuenca en estudio (Figura 1) estaba ubicada en el campus de la Universidad de Connecticut, en Storrs, Connecticut, y cubría un área de 0,47 Km<sup>2</sup>. La distribución del uso de la tierra en la cuenca era: prados (55,8%), caminos y estacionamientos (27,4%), y techos (17,8%). Establecimos una red de seis estaciones que cubrían todos los tipos de uso de la tierra. Los sitios monitoreados incluyeron un techo de cobre con forma de arco instalado en 1992 (área total = 1.800 m<sup>2</sup>), una superficie con pasto (red de drenaje bien definida con un área de 7.869 m<sup>2</sup>), un estacionamiento pavimentado (área = 10.405 m<sup>2</sup>) y el arroyo receptor de la cuenca. En una cuenca vecina se muestreó un techo de cobre instalado en 1931 (área = 12,6 m<sup>2</sup>) para evaluar el efecto del envejecimiento sobre las concentraciones en el escurrido y para proyectar futuras concentraciones de cobre en techos envejecidos. El muestreo de calidad de agua y caudal se hizo en cada estación usando monitores automatizados. También, se monitoreó el flujo de caudal en el arroyo receptor; así como la precipitación. En las muestras recolectadas se midieron metales totales y disueltos (Cu y Zn), cationes disueltos y totales (Ca, Mg y Fe) aniones disueltos (Cl<sup>-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>), NH<sub>3</sub> total, carbón orgánico disuelto, alcalinidad, concentración del ión cúprico, y toxicidad aguda a *Daphnia pulex* (ensayos de LC<sub>50</sub>).

Como los criterios de calidad de agua son fijados por concentración disuelta del contaminante, y no por ensayos de toxicidad, algunas municipalidades (como la de San Francisco) y países (como Suecia y Suiza) han estado desincentivando el uso de materiales arquitectónicos a base de cobre para reducir la toxicidad en aguas lluvia (Zobrist et. al., 2000). Este puede ser un enfoque inadecuado. Un mejor método sería evaluar (y regular) la cantidad de cobre biodisponible presente en el agua, pues es el cobre biodisponible el que causa la toxicidad (Cabaniss and Shuman, 1988; Anderson and Morel; 1978, Sunda and Guillard., 1976; Sunda and Hanson. 1979). Cada cuenca tiene una capacidad de asimilación, que convierte al cobre a una condición no biodisponible. La capacidad de predecir la cantidad de cobre biodisponible en el cuerpo de agua receptor permitiría a los reguladores y autoridades evaluar el efecto de adiciones de cobre a un sistema antes de embarcarse en un proyecto de desarrollo.

En este estudio desarrollamos un sistema que incorporó un modelo de balance de masas, acoplado con un software estadístico, para predecir las concentraciones de cobre total y disuelto en la salida de un sistema de aguas lluvia. Los resultados se incorporaron a un modelo toxicológico (Modelo de Ligando Biótico) para predecir

la cantidad de cobre biodisponible en el agua lluvia. Posteriormente, el sistema fue usado para estimar la máxima carga de cobre de la cuenca que no causaría toxicidad aguda en un sistema receptor.

## RESULTADOS

Las estaciones de monitoreo fueron muestreadas durante 16 episodios de lluvia en un periodo de 2 años. La Tabla 1 presenta las concentraciones promedio de especies de cobre ponderadas por caudal (cobre total, disuelto e iónico) para cada estación, como también los resultados de los ensayos de toxicidad y el pH. Se puede observar que las concentraciones de cobre disminuyen dramáticamente entre el techo de cobre y la salida de la cuenca. La concentración de la Estación 1 (el techo de cobre) disminuyó en 63% (de 3.630 a 1.340 microgramos por litro) al pasar a través de las cañerías del edificio. Se estimó que el efecto de dilución de la porción del techo que no era de cobre fue de 18%. Se estima que el 45% restante de la disminución observada entre las Estaciones 1 y 2 se debió a la interacción del cobre con las superficies internas de cañería de hierro y concreto del edificio. Este fenómeno tiene importantes consecuencias en la mitigación del escurrimiento de cobre. Se ha demostrado que la cementación de cobre sobre la superficie del hierro es responsable por altos niveles de remoción de cobre en cortos períodos de tiempo (Shokes et.al., 1999). Las concentraciones de cobre provenientes de los otros usos de la tierra fueron de dos órdenes de magnitud inferiores. La concentración resultante a la salida de la cuenca fue de 46 µg/L, la mayor parte del cual estaba en forma particulada.

La concentración de carbón orgánico disuelto (DOC), el pH y la dureza permiten entender las variaciones en toxicidad aguda del cobre en las aguas del estudio. El DOC reduce la cantidad de ión cúprico en solución al formar complejos con el metal. El calcio y el magnesio, que contribuyen a la dureza, compiten con el cobre por sitios de unión en las branquias de los peces, también disminuyendo su toxicidad. Por último, el pH afecta la cantidad de ión cobre libre en solución. A pH mayor que 6, el ión cúprico forma complejos hidróxidos estables en agua y por lo tanto, hay menos cobre biodisponible.

En las Estaciones 3, 4 y 5, el pH fue mayor que 6, la dureza fue cuatro a ocho veces mayor que en las Estaciones 1 y 2, y las concentraciones de DOC fueron altas. Debido a estos factores geoquímicos, las concentraciones de iones cúpricos

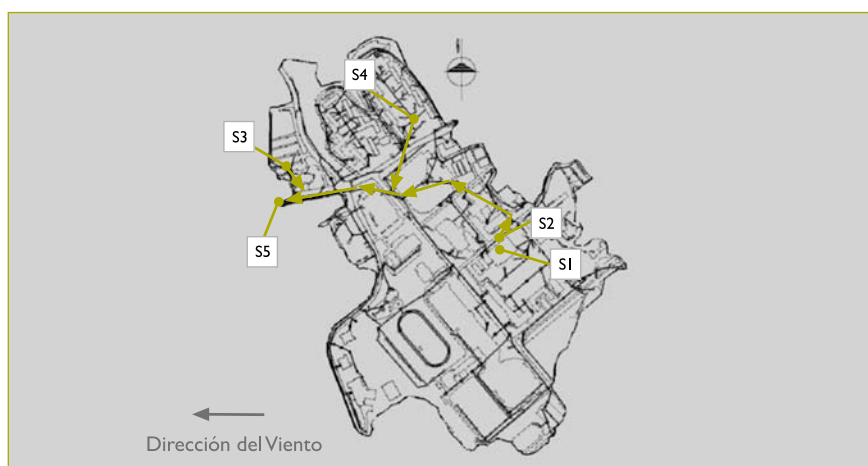


para estas estaciones fueron extremadamente bajas, implicando cero toxicidad aguda en muestras recolectadas en estas estaciones. En cambio, las Estaciones 1 y 2 tenían aguas muy suaves y también los pH más bajos. Esta combinación de factores determinó que se encontrara toxicidad aguda en estas estaciones.

### **Determinación de Longevidad del Techo**

Nuestros datos nos permitieron determinar la longevidad del techo. Suponiendo una precipitación anual para Connecticut de 1,4 m/año, se estimó una tasa total de pérdida de masa de cobre de 5,1 g/m<sup>2</sup> al año para el techo instalado en 1992, observándose una tasa de pérdida de 2,0 g/m<sup>2</sup> al año para el techo instalado en 1931. Las planchas de cobre para techo tienen una masa de 6.100 g/m<sup>2</sup> y una pureza del 99%. Un techo nuevo de cobre demoraría un mínimo de 1.196 años en disolverse (usando una tasa de pérdida de 5,1 g/m<sup>2</sup> al año) asumiendo disolución y tasa de pérdida uniformes. En realidad, demoraría mucho más en disolverse, debido a la reducción observada de la tasa de pérdida en el tiempo.

**Figura 1. Bordes de la Cuenca de la Universidad de Connecticut y Ubicación de las Estaciones. S1 = Esgurrido Directo desde Techo de Cobre, S2 = Esgurrido Total de edificio con Techo de Cobre, S3 = Esgurrido de Area Pavimentada, S4 = Esgurrido de Area de Prado, y S5 = Salida del Sistema de Aguas Lluvia, Ubicación del Cuerpo de Agua Receptor.**



**Tabla I. Concentraciones y Toxicidad Promedio Ponderadas por Caudal de Cobre**

Parámetro (ug/L)	Estación					
	S1	S2	S3	S4	S5	Lluvia
Total Cu	3.630	1.340	16	20	46	3,5
Cu Disuelto	3.340	1.210	8	9	14	3,5
Cu <sup>2+</sup>	1730	802	< 0,05	0,39	< 0,05	< 0,05
Toxicidad - LC <sub>50</sub> % sobrevivencia	<,62	<0,62	100	100	100	100
pH	6,2	6,0	6,3	6,9	7,2	4,7

### Determinando Excedencias de la Calidad del Agua

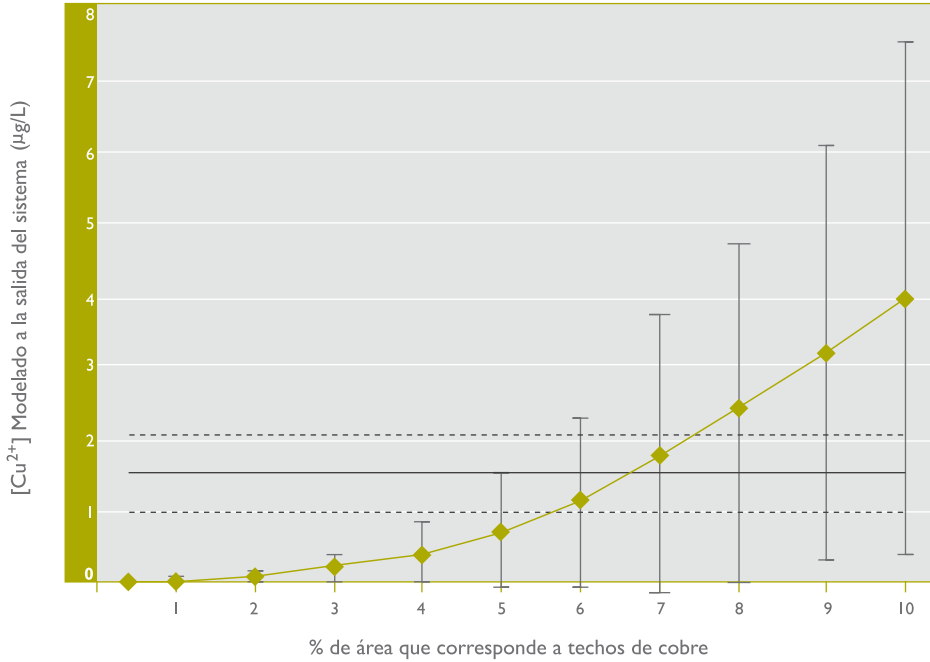
El DPA de Connecticut fijó sus criterios de calidad de agua para cobre basándose en estudios de terreno que realizaron para relacionar concentraciones de cobre disuelto con toxicidad aguda (Dunbar et al., 1997). Los criterios tienen como objetivo proteger a *Daphnia pulex* de efectos de exposición aguda y crónica. El criterio de efecto agudo (14,3 µg/L de cobre disuelto) sólo puede ser superado un 5% de los días en un año, y el criterio de efecto crónico (4,8 µg/L de cobre disuelto) sólo puede ser excedido 50 % de los días en un año (CTDEP, 1997).

Usando la ley de probabilidades totales y las concentraciones de cobre disuelto ponderadas por caudal en el flujo base (en períodos sin lluvia) y en el escurrimiento en exceso (durante lluvias), se calcularon las excedencias del criterio de calidad. Considerando las distribuciones indicadas de cobre disuelto y las ocurrencias de lluvias, el criterio agudo fue superado 12% de las veces. En otras palabras, esta situación estaría en violación del criterio de calidad del Estado. Concentraciones de cobre inferiores al criterio crónico se observaron muy rara vez en las muestras tomadas durante episodios de lluvia. El criterio crónico fue superado 93% del tiempo, una vez más en violación de la normativa estatal. A pesar de que las concentraciones de cobre en el sistema fueron superiores a los criterios de calidad, la concentración de ión cúprico permaneció por debajo de 0,05 µg/L en todas las lluvias analizadas, y no se midió toxicidad aguda en las muestras del arroyo.

## Capacidad de Asimilación de la Cuenca

Se desarrolló un sistema de modelación para gestionar el escurrimiento del cobre en cuencas urbanas que incorpora la caracterización de calidad del agua, áreas de uso de tierra, datos hidrológicos, un simulador estadístico, un Modelo de Ligando Biótico para caracterizar la toxicidad aguda, y un método estadístico para determinar la carga específica de cobre de una cuenca. El modelo incorporó coeficientes de exportación derivados de parámetros de calidad de agua e información hidrológica medida en un sistema de aguas lluvia de una cuenca urbana. Para simular el efecto de carga máxima de cobre en el sistema, el área de pastos, que proporciona ligandos que unen el cobre y disminuyen su biodisponibilidad, fue reemplazado con área techada de cobre en el modelo. El modelo se usó para simular un cambio incremental de 1% en el desarrollo de techos de cobre. La química predicha del cuerpo de agua receptor se introdujo entonces al Modelo de Ligando Biótico para predecir el cambio en cobre especiado resultante de alterar el patrón de uso de tierra. La Figura 2 muestra el promedio y la desviación estándar de las predicciones del modelo y la concentración promedio, y desviación de ión cúprico que viola el nivel umbral de toxicidad LC50 para *Daphnia pulex* ( $1,53 \pm 0,55 \mu\text{g Cu}^{2+}/\text{L}$ ). Usando una metodología estadística, se determinó que cuando un 6% de la cuenca es desarrollada con techos de cobre, el criterio será superado.

**Figura 2. Capacidad de Asimilación de la Cuenca. Promedio  $\pm$  una desviación estándar de las predicciones del modelo para los escenarios de desarrollo y promedio  $\pm$  una desviación estándar de concentración crítica del ión cúprico que causaría toxicidad aguda a *Daphnia pulex*.**



## IMPLICANCIAS AMBIENTALES

El uso abundante de productos a base de cobre ha resultado en una frecuencia mayor de violaciones del criterio de calidad de agua en efluentes de sistemas urbanos de aguas lluvia. Este estudio tuvo por objeto entender la movilidad y toxicidad del cobre en una cuenca urbana y asignar el cobre que ingresa a un cuerpo de agua dulce receptor desde diferentes áreas, utilizando un enfoque de balance de masas. Se analizaron 16 eventos de precipitación en muestras recolectadas de una cuenca en la Universidad de Connecticut entre Agosto de 1998 y Septiembre de 2000, para estimar el flujo del cobre en un sistema urbano de aguas lluvia. Las concentraciones de cobre disuelto, ponderadas por flujo, observadas para el escurrimiento desde el material arquitectónico de cobre, en área permeable, área impermeable y cuerpo receptor fueron de  $1210 \pm 840$ ,  $9 \pm 3$ ,  $8 \pm 2$ , y  $14 \pm 7$  µg/L respectivamente. Las concentraciones promedio de cobre disuelto en el arroyo receptor excedieron los

criterios de calidad del Estado de Connecticut. A pesar de ello, las concentraciones de ión cúprico en la salida del sistema permanecieron por debajo de los 0,05  $\mu\text{g/L}$  en todos los casos, y no se detectó toxicidad aguda (con *Daphnia pulex*) en muestras recolectadas del arroyo.

Además, se desarrolló un sistema de modelamiento que puede usarse para evaluar concentraciones químicas y flujos en la salida de un sistema de aguas lluvia y determinar el impacto de instalaciones de cobre sobre los ambientes cercanos antes de construir. El sistema puede ser usado para predecir no sólo las cargas de cobre esperables con las instalaciones propuestas, sino también la incertidumbre de la predicción. Dado un escenario de uso de la tierra, el sistema puede usarse para establecer un máximo de carga de cobre que puede usarse antes de observar toxicidad en el cuerpo receptor.

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por la Copper Development Association Inc. (CDA) y la International Copper Association (ICA). Bryan Boulanger trabajó en este proyecto en la Universidad de Connecticut para su grado de MS. Quisiera agradecer a Dale Peters, Dan Sternthal, Harold Michaels, y Ray Arnold de CDA; Chris Lee de ICA; Tom Morrissey y Lee Dunbar de la DPA de Connecticut; y al equipo del Environmental Research Institute de la Universidad de Connecticut por sus consejos en la ejecución del proyecto.

## REFERENCIAS

Anderson, D.M. and F.M. Morel, 1978. Copper Sensitivity of *Gonyaulax Tamarensis*. *Linnological Oceanography* 23:283-295.

Boller, M., 1997. Tracking Heavy Metals Reveals Sustainability Deficits of Urban Drainage Systems. *Water Science and Technology* 35(9): 77-87.

Boulanger, B. and N.P. Nikolaidis, 2003. Modeling Framework for Managing Copper Runoff in Urban Watersheds, *Journal American Water Resources Association*, 39(2): 325-336.

Boulanger, B. and N.P. Nikolaidis, 2003. Mobility and Aquatic Toxicity of Copper in an Urban Watershed, *Journal American Water Resources Association*, 39(2) 337-345.

Cabaniss, S.E. and M.S. Shuman, 1988. Copper Binding by dissolved organic Matter: I. Suwannee River Fulvic Acid Equilibria. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52:185-193.

Dunbar, L.E., J. Kiritsis, and C. Papp, 1997. Storm Water Monitoring at Industrial Sites in Connecticut. Internal Connecticut Department of Environmental Protection Document, 6 pp.

Mason, Y., A.A. Ammann, A. Ulrich, and L. Sigg, 1999. Behavior of Heavy Metals, Nutrients, and Major Components during Roof Runoff Infiltration. *Environmental Science and Technology* 33(10):1588-1597.

Nikolaidis, N.P. and T.W. Nelson, 1997. Modeling the Fate and Transport of Copper in the Naugatuck River, *Technical Report, ERI, University of Connecticut*.

Nikolaidis, N.P. and Anderson, M.S. 1994. Development of a Framework for Chemical Speciation Based Water Quality Criteria for Copper, Final Report, Contract No.14-08-0001-62009, US Geological Survey, Washington, D.C.



Odnevall Wallinder, I., and C. Leygraf, 1997. A Study of Copper Runoff in an Urban Atmosphere. *Corrosion Science* 39(12): 2039-2052.

Odnevall Wallinder, I. and C. Leygraf, 1999. Corrosion Rates and Runoff Rates of Copper - a Comparison. *In: Proceedings of the 14<sup>th</sup> International Corrosion Conference*, Cape Town, South Africa.

Odnevall Wallinder, L., P. Verbiest, W. He and C. Leygraf. 2000. Effects of exposure direction and inclination on the runoff rates of zinc and copper roofs. *Corrosion Science* 42(8):1471-1487.

Shokes, T. and G. Moeller, 1999. Removal of Dissolved Heavy Metals from Acid Rock Drainage Using Iron Metal. *Environmental Science and Technology* 33(2):282-287.

Sunda, W.G. and R.R. Guillard, 1976. The Relationship Between Cupric Ion Activity and the Toxicity of Copper to Phytoplankton. *Journal of Water Resources* 34:513-529.

Sunda, W.G. and P.J. Hanson, 1979. Chemical Speciation of Copper in River Water. *In: Chemical Modelling in Aquatic Systems*. Editor E.A. Jenne. *ACS Symposium Series 93*, Washington, D.C., 147-180 pp.

State of Connecticut Department of Environmental Protection, 1997. Connecticut Water Quality Criteria. Effective April 8. Connecticut Department of Environmental Protection Document, Hartford, CT.

Zobrist, J., S.R. Mueller, A. Ammann, T.D. Bucheli, V. Mottier, M. Ochss, R. Schoenenberger, J. Eugster, and M. Boller, 2000. Quality of Roof Runoff for Groundwater Infiltration. *Water Research* 34(5):1455-1462.

## COBRE Y SUELOS: UNA RELACIÓN COMPLEJA

El cobre (Cu) es un elemento presente naturalmente en la corteza terrestre. El contenido típico de cobre en los suelos varía entre alrededor de 0,3 y 250 mg por Kg (mg/Kg) de suelo seco, pero ocasionalmente alcanza niveles de hasta 30.000 mg/Kg, como en los afloramientos de yacimientos de cobre. La actividad humana ha contribuido a aumentar el contenido de cobre de algunos suelos, tanto en zonas urbanas como en áreas agrícolas y silvestres. Por ejemplo, se han registrado contenidos de cobre de hasta 2.000-3.000 mg/Kg en suelos cercanos a fundiciones y plantas de extracción y procesamiento de minerales. Estos niveles han despertado preocupación debido a los efectos potenciales sobre la producción agrícola y la salud humana. Es así como algunos países de la Comunidad Europea y Estados Unidos generaron normativas para regular el contenido total de metales en los suelos. Sin embargo, para que un metal produzca un efecto nocivo no es suficiente que la concentración total del mismo presente en el suelo sea alta, sino que éste debe encontrarse en una forma química/física que pueda interactuar o que esté disponible para los seres vivos (biodisponible). En general, sólo una fracción del cobre en el suelo está biodisponible, y ésta depende de diversos factores, como la solubilidad intrínseca del compuesto, la capacidad del suelo para interactuar con la fracción soluble de cobre y el tipo de receptor biológico (e.g. microorganismos del suelo, plantas, animales, etc.) Por esta razón, las normativas basadas en el contenido total de cobre en el suelo son inadecuadas, ya que no consideran las características propias de los compuestos ni las complejas interacciones de ellos con los distintos componentes físicos y químicos del suelo. Sin embargo, mientras no exista conocimiento físico-químico suficiente de las interacciones suelo-metal, las entidades encargadas de dictar normativas seguirán utilizando enfoques preventivos como el de normar metal total.

Desde el punto de vista de la industria, los enfoques regulatorios precautorios o preventivos sobre la base del desconocimiento representan una situación a evitar, pues generalmente llevan a normativas más restrictivas, y con ello a posibles limitaciones del uso del mismo en la sociedad, sin necesariamente implicar mayor protección.

El siguiente artículo ilustra los esfuerzos de un grupo de investigadores chilenos para abordar el problema de los factores que determinan la mayor o menor biodisponibilidad del cobre presente en suelos para plantas de interés agrícola. Su

principal conclusión de aplicación práctica es que el contenido de cobre en tejidos de plantas de cultivo no necesariamente guarda relación con el nivel de cobre total del suelo en que crecen.

# 10

## BIODISPONIBILIDAD DE METALES Y EFECTOS AMBIENTALES DEL COBRE EN SUELOS AGRÍCOLAS



Rosanna Ginocchio<sup>a</sup>, Juan C. Torres<sup>b</sup> &  
Patricio H. Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM,  
Av. Parque Antonio Rabat 6500, Vitacura, Santiago.

<sup>b</sup>Instituto de Innovación en Minería y Metalurgia, IM2,  
Av. del Valle 738, Ciudad Empresarial, Huechuraba,  
Santiago.

## INTRODUCCIÓN

En Chile, es frecuente encontrar niveles elevados de cobre en suelos agrícolas, en comparación con otras regiones del mundo. Esto se debe, en parte, a la geoquímica natural de la Cordillera de Los Andes, rica en cobre, pero también a factores antrópicos, tales como la larga historia de explotación y procesamiento del cobre, la aplicación prolongada de fungicidas cúpricos por parte de los agricultores y la descarga histórica de riles industriales y agropecuarios a cursos naturales de agua usados para riego.

Entre 1998 y el 2001 el CIMM realizó varios estudios de campo y de laboratorio en el Valle del Cachapoal, ya que en esta zona se habían descrito suelos agrícolas con concentraciones de cobre anormalmente elevadas. Los objetivos de estos estudios fueron caracterizar los niveles de cobre total y biodisponible en los suelos agrícolas del Valle y evaluar el grado de exposición de algunos cultivos destinados al consumo humano.

## COBRE EN SUELOS AGRÍCOLAS DEL VALLE DEL CACHAPOAL

El Valle del Cachapoal se ubica en la depresión intermedia del extremo norte de la VI Región de Chile. En este valle se han desarrollado históricamente diversas actividades agropecuarias, siendo importantes los cultivos de hortalizas y frutales. También, ha existido una larga historia de explotación y producción de cobre al este del valle, en la parte alta de la Cordillera de Los Andes, donde se ubican la mina El Teniente y la fundición de cobre de Caletones.

En un primer estudio, se determinó el contenido de cobre en los suelos agrícolas del valle, en un área geográfica ubicada aproximadamente entre las latitudes 34°00' y 34°30' sur y las longitudes 70°45' y 70°00' oeste. Para ello, se recolectaron 150 muestras de suelos superficiales (hasta 20 cm de profundidad). Cada muestra fue caracterizada física y químicamente, particularmente en cuanto al contenido de cobre total y extraíble. Posteriormente, se analizó el contenido de cobre en el perfil del suelo, desde la superficie hasta los 55 cm de profundidad, y las formas químicas dominantes en las que se encuentra el cobre en los suelos del valle, utilizando análisis mineralógicos.

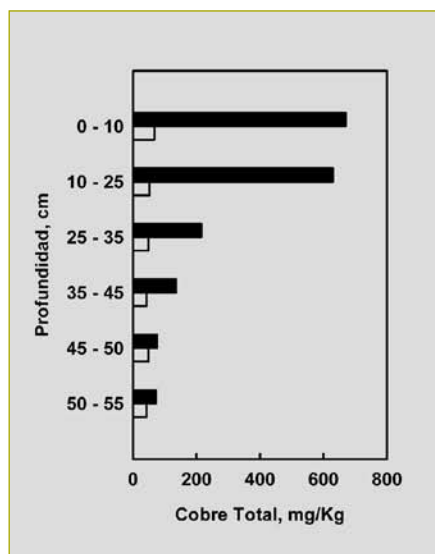
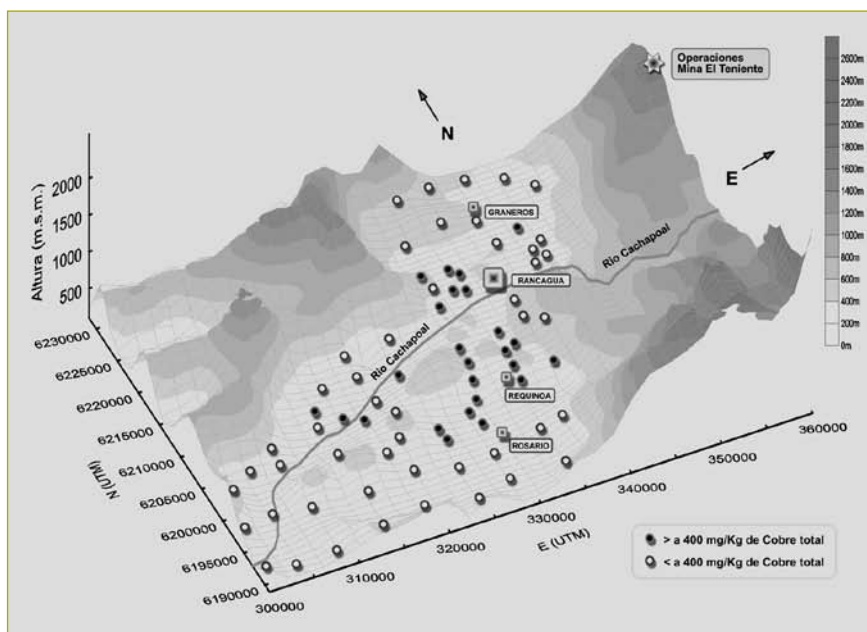
Actualmente, no existen metodologías estándares para la determinación del contenido biodisponible de cobre o de otros metales en un suelo, pero se han usado

las extracciones de cobre con agua (extracto de saturación) y con una solución de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), para estimar la biodisponibilidad. Sin embargo, sólo una parte de la fracción disuelta es la que potencialmente puede interactuar con las plantas y otros organismos y, por lo tanto, tener un efecto biológico (biodisponible).

Los resultados de estos estudios indicaron una amplia variación en los contenidos totales de cobre en el valle, entre 26 y 1.600 mg/Kg, y permitieron definir dos zonas en base al contenido total de cobre (Figura 1). Una zona alta en cobre, orientada de norte a sur en la parte baja del valle, con contenidos totales de cobre mayores a 400 mg/Kg y un valor promedio de 751 mg/Kg, y otra zona en la periferia del valle con valores de cobre total menores a 400 mg/Kg y un contenido promedio de 162 mg/Kg, la que se denominó zona de suelos con contenidos normales. Los estudios posteriores nos permitieron sugerir que los altos niveles de cobre total de la zona alta se deberían a eventos superficiales de contaminación antrópica, más bien que a un origen natural, ya que los valores altos de cobre se restringen a la capa superficial del suelo (0 a 20 cm de profundidad), específicamente a la zona de influencia de los arados, donde ocurre mezcla mecánica del suelo. A 35 cm de profundidad, el contenido de cobre total alcanza niveles que pueden considerarse como basales (Figura 1). En la zona de suelos normales, la concentración de cobre total permanece baja y constante con la profundidad, incluso hasta los 55 cm (Figura 1).

Los procedimientos de extracción de cobre por agua y solución de cloruro de calcio solubilizaron aproximadamente el doble de cobre en los suelos altos en cobre que en los suelos normales (Tabla 1); sin embargo, la fracción de cobre soluble fue menor del 0,02% en ambas zonas. El análisis mineralógico indicó que el cobre presente en los suelos altos en cobre se encuentra en formas químicas de baja solubilidad (Tabla 2), tales como diversos minerales de cobre (e.g. calcopirita o  $\text{CuFeS}_2$ , calcosita o  $\text{Cu}_2\text{S}$  y covelita o  $\text{CuS}$ ) y desechos de fundición (e.g. escoria y eje). Estos resultados indican que el cobre presente en los suelos con altos niveles de cobre es más bien insoluble y, por lo tanto, los efectos potenciales sobre los cultivos y el ser humano deberían ser más bien bajos. Estos resultados también apoyan un origen antrópico del metal en la zona de altos niveles.

**Figura 1. Zonas con contenidos normales (círculos blancos) y con contenidos altos (círculos negros) de cobre total en suelos agrícolas del Valle del Cachapoal. A la derecha se muestra la variación en el contenido total de cobre en el perfil del suelo para ambas zonas (barras negras, suelos con contenidos altos de cobre; barras blancas, suelos con contenidos normales de cobre).**



Estos estudios, sin embargo, no descartan otras fuentes potenciales de incorporación de cobre a los suelos del valle, tales como la aplicación de fungicidas ricos en cobre y la contaminación de las aguas de riego del Río Cachapoal con aguas servidas de la ciudad de Rancagua, entre otras fuentes difusas.

**Tabla 1. Cobre extraído con distintos solventes en muestras de suelo de las zonas alta en cobre y normal del Valle del Cachapoal. Se muestra el valor promedio y la desviación estándar; entre paréntesis se indica el porcentaje de cobre extraído del total.**

Zona	Cu Extraído con agua (mg/Kg)	Cu Extraído con CaCl <sub>2</sub> (mg/Kg)
Normal	0,04 ± 0,02 (0,02%)	0,10 ± 0,07 (0,06%)
Alta en Cu	0,14 ± 0,08 (0,02%)	0,22 ± 0,06 (0,03%)

**Tabla 2. Composición mineralógica de algunas muestras representativas de suelos altos en cobre y normales del Valle del Cachapoal.**

Zona	Cobre Total (mg/Kg)	Cobre en Escoria (mg/Kg)	Cobre en Eje (mg/Kg)
Normal	32	---	---
	60	---	---
	131	---	---
	212	40	80
Alta en Cu	513	---	---
	865	1640	1290
	998	770	480
	1390	150	420



## Toxicidad y Acumulación del Cobre en Cultivos

Para evaluar los riesgos potenciales de la zona con suelos altos en cobre sobre los cultivos y la salud humana, se realizaron estudios de campo y de laboratorio. En el caso del estudio de campo, se seleccionaron 50 puntos de muestreo en campos con cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y 50 puntos de muestreo en campos con cultivo de cebolla (*Allium cepa*). La mitad de cada conjunto de puntos se ubicaban en la zona alta en cobre y la otra mitad en la zona normal. Se colectó en cada punto plantas completas al estado estándar de cosecha. Las plantas fueron lavadas, para eliminar las partículas de suelo adheridas a sus tejidos, y separadas en estructuras comestibles y no comestibles. Posteriormente, se analizó el contenido de cobre de las distintas partes.

El contenido típico de cobre en bulbos de cebolla y frutos de tomate de plantas crecidas en suelos no contaminados varían entre 3 y 16 mg/Kg para bulbos de cebolla y entre 4 y 28 mg/Kg para frutos de tomate. Nuestros resultados indicaron que los contenidos de cobre de las estructuras comestibles (bulbo y fruto) de plantas cultivadas en la zona alta en cobre son similares a los de la zona normal y están dentro del rango normal descrito en la literatura para suelos no contaminados (Tabla 3). En otras palabras, el contenido de cobre de estas estructuras es independiente del contenido total de cobre del suelo. Los contenidos de cobre en las estructuras vegetales no comestibles (tallos y hojas) fueron mayores en las plantas de cebolla y de tomate cultivadas en la zona alta en cobre (Tabla 3). Sin embargo, las plantas no evidenciaban síntomas de toxicidad por cobre, incluso en los suelos con contenidos totales de cobre de 1.000 mg/Kg. Estos resultados refuerzan los resultados descritos en el punto anterior; en cuanto a que la mayor parte del cobre total presente en el suelo de la zona alta en cobre se encuentra en formas insolubles y, por lo tanto, no disponibles para las plantas.

El estudio de laboratorio consistió en cultivar plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) y de tomate (*Lycopersicum esculentum*) en suelos del valle con distintos niveles de cobre. Se colectaron tres suelos en la zona alta en cobre y otros tres en la zona normal y se los colocó en macetas de 2 Kg. Se transplantó almácigos de lechuga y de tomate a las macetas y se las mantuvo en un invernadero con condiciones ambientales y de riego controladas, hasta que alcanzaron la madurez. Al igual que en el estudio de campo, las plantas fueron cosechadas y separadas en sus partes comestibles y no comestibles, lavadas con agua y analizadas en cuanto a contenido de cobre.

**Tabla 3. Contenido de cobre en estructuras comestibles y no comestibles de plantas colectadas en el campo en zonas normal y con altos contenidos de cobre del Valle del Cachapoal. Se muestra el promedio y la desviación estándar.**

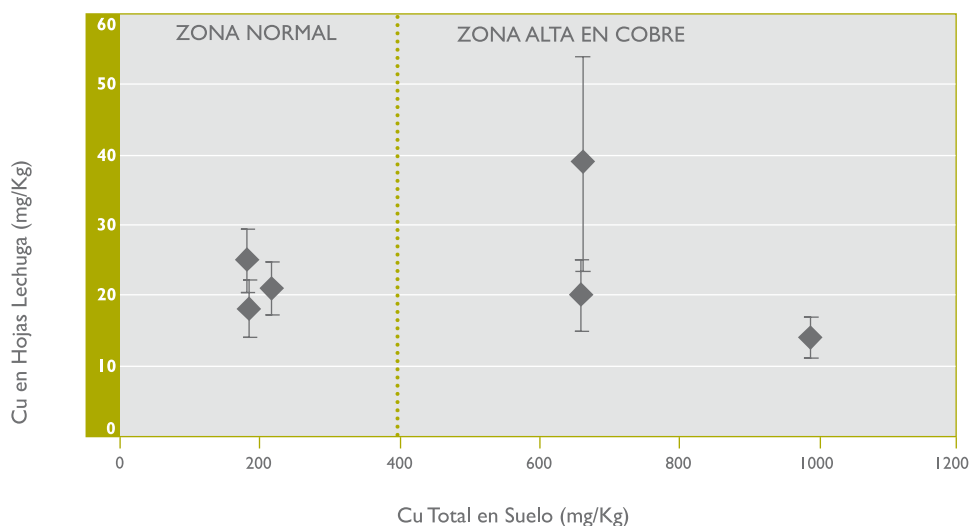
Cultivo Estructura	Zona Normal (mg/Kg)	Zona Alta en Cu (mg/Kg)
Cebolla		
Bulbo	7,1 ± 1,2	8,2 ± 3,0
Tallo	6,4 ± 2,1	10,2 ± 2,6
Hojas	6,6 ± 2,2	10,9 ± 2,1
Tomate		
Frutos	14,7 ± 4,1	15,8 ± 3,4
Tallos	19,5 ± 4,5	26,2 ± 4,2
Hojas	35,7 ± 9,3	64,4 ± 11,8

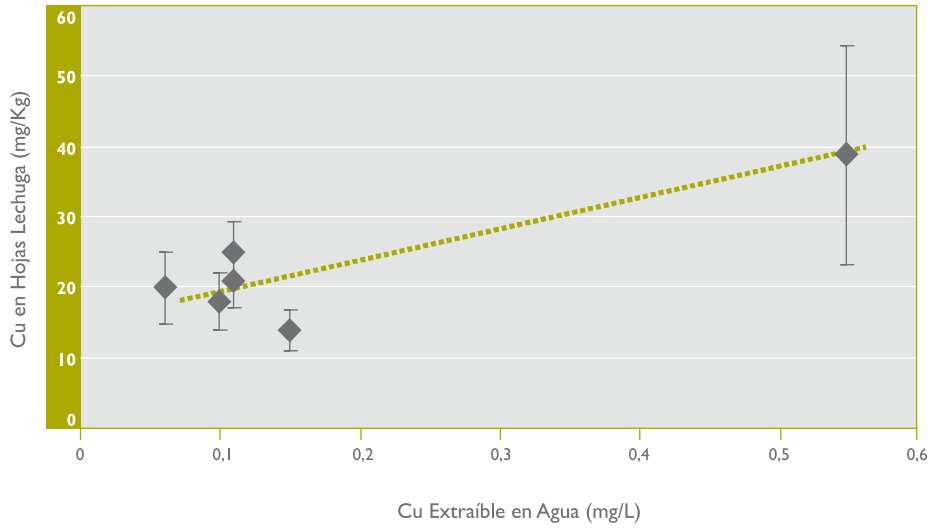
La Tabla 4 muestra las principales características físicas (textura) y químicas de los suelos usados en el estudio de laboratorio. Los suelos eran bastante similares en cuanto a textura y contenido de materia orgánica (MO), pero variaron en cuanto a pH, contenido de carbono orgánico disuelto (COD), salinidad (conductividad eléctrica o EC), contenido total de cobre (Cu total) y cobre extraíble en agua (Tabla 4). Estas características son relevantes, ya que determinan la capacidad neutralizadora del suelo a la incorporación de compuestos exógenos y, por ende, influyen en el grado de solubilidad del cobre incorporado a los suelos de la zona alta en cobre. Suelos con bajo pH (ácidos), con bajo contenido de MO y COD y alta salinidad (CE) tienen baja capacidad neutralizadora, por lo que el cobre mostrará mayor solubilidad. Esta capacidad neutralizadora de los suelos complementa la solubilidad intrínseca de los compuestos con cobre que han sido incorporados a los suelos de la zona alta en cobre del valle y aporta en determinar la intensidad de los efectos de toxicidad y de acumulación de cobre en las plantas.

Al igual que el estudio de campo, los contenidos de cobre de las estructuras vegetales comestibles (hojas de lechuga y frutos de tomate) fueron similares en los suelos de las zonas normal y alta en cobre y estuvieron dentro del rango normal en el caso de los frutos de tomate (Tabla 5). Las hojas de lechuga para plantas crecidas en suelos normal mostraron contenidos de cobre un poco más altos que el rango típico indicado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, USDA,

lo que podría deberse a los contenidos naturalmente más altos de este elemento en los suelos chilenos que en los de EEUU, y a que las hojas de las plantas normalmente acumulan contenidos más altos de minerales que los frutos. El contenido de cobre en las hojas de las lechugas fue independiente del contenido de cobre total del suelo (Figura 2), pero se relacionó positivamente con el cobre extraíble con agua o del extracto de saturación (Figura 2). Un ejemplo interesante de destacar, en cuanto a la capacidad neutralizadora de los suelos, se relaciona con los suelos 4 y 5 de la zona alta en cobre. Aunque ambos suelos presentan valores similares de cobre total, pH y MO, la mayor salinidad y contenido de COD del suelo 5 determinan una extractabilidad de cobre 2,4 veces mayor que la del suelo 4 (Tabla 4).

**Figura 2. Variación del contenido de cobre en hojas de lechuga en función del contenido total de cobre del suelo y del cobre extraíble con agua para plantas cultivadas en invernadero en suelos normales y con altos contenidos de cobre del Valle del Cachapoal.**





**Tabla 4. Principales características de los suelos del Valle del Cachapoal usados en el estudio de cultivo de plantas en condiciones de laboratorio.**

Suelo	ph	%	(mg/L)	(mmhos/cm)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(% del total)
Normal							
1	5,2	2,1	173	5,7	181	0,11	0,06
2	4,6	3,1	280	10,6	185	0,22	0,12
3	5,0	2,3	91	6,7	216	0,14	0,06
Alta en Cu							
4	5,1	1,4	39	4,7	659	0,56	0,09
5	5,1	1,5	326	9,7	662	1,35	0,20
6	4,9	2,1	65	6,1	985	1,39	0,14

**Tabla 5. Contenido promedio de cobre en estructuras comestibles y no comestibles de plantas cultivadas en condiciones de laboratorio en suelos del Valle del Cachapoal.**

Cultivo Estructura	Zona Normal (mg/Kg)	Zona Alta en Cu (mg/Kg)	Rango normal según USDA (mg/Kg)
Lechuga Hojas	21	24	0,8 – 18,0
Tomate Frutos	11	13	4,0 – 28,0
Tallos	11	23	
Hojas	9	17	

## CONCLUSIONES

Los resultados de los estudios realizados en el Valle del Cachapoal permiten concluir que contenidos altos de cobre total en suelos agrícolas no constituyen un riesgo ambiental, tanto para la producción agrícola como para la salud humana, cuando los vegetales cultivados son de consumo humano. Para que se produzcan efectos de toxicidad por cobre en plantas de cultivo y acumulación elevada de este elemento en las estructuras comestibles, el cobre debe encontrarse en concentraciones altas, pero en una forma biodisponible. La biodisponibilidad del cobre depende, sin embargo, de diversos factores, siendo los más importantes la solubilidad intrínseca de cobre del compuesto que es incorporado al suelo, de la capacidad neutralizadora del suelo y del grado de sensibilidad del receptor vegetal.

## AGRADECIMIENTOS

El proyecto resumido en este artículo fue financiado con apoyo de la International Copper Association y del Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico, FONDEF.

## REFERENCIAS

Adriano DC. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability, and risk of metals. Springer-Verlag, New York, USA.

Badilla-Ohlbaum R, Ginocchio R, Rodríguez PH, Céspedes A, González S, Allen HE & Lagos GE. 2001. Effect of soil copper content on copper load of selected crop plants in central Chile. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20: 2749-2757.

Fernández JC & Henríques FS. 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Review* 57: 246-273.

Ginocchio R, Rodríguez PH, Badilla-Ohlbaum R, Allen HE & Lagos GE. 2002. Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 1736-1744.

González S. 1994. Estado de la contaminación de los suelos en Chile. En: Espinoza G, Pisani P, Contreras L & Camus P (eds). *Perfil Ambiental de Chile*, CONAMA, Santiago, Chile. pp 199-234.

McGowen SL & Basta NT. 2001. Heavy metal solubility and transport in soil contaminated by mining and smelting. En: Selim HM & Sparks DL (eds). *Heavy metals release in soils*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA. pp 89-107.

McLaughlin MJ. 2002. Bioavailability of metals to terrestrial plants. En: Allen HE (ed). *Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes, and plants*. SETAC Press, Pensacola, USA. pp 39-87.

Sauvé S. 2001. Speciation of metals in soils. En: Allen HE (ed). *Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: Importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes, and plants*. SETAC, Metals and the Environment Series U.S.A. pp. 7-38.

## SUELOS Y DESECHOS DE LA MINERÍA DEL COBRE

El procesamiento de minerales sulfurados de cobre es complejo, ya que el cobre debe ser separado de otros elementos presentes en menores cantidades en el mineral y de la roca que los contiene. El proceso de producción de cobre genera una gran cantidad de desechos: por cada tonelada (1.000 kilogramos, Kg) de mineral extraído, sólo alrededor de un 1% (10 Kg) corresponde a cobre. El 99% restante, o sea 990 kilogramos, es desechado en distintas etapas del proceso. Esta gran diversidad y volumen de desechos debe ser dispuesta en forma adecuada en el medio ambiente, según las distintas normativas vigentes.

A pesar que los materiales de desecho y los productos intermedios como el concentrado de cobre se manejan de forma de minimizar su dispersión, han ocurrido eventos ocasionales y aislados que han causado la dispersión de algunos de ellos en el medio ambiente. Tal es el caso del vaciamiento de arenas de relaves desde algunos tranques a ríos y suelos aledaños en las zonas norte y central de Chile, ya sea por la ocurrencia de lluvias intensas, aluviones o fuertes terremotos. Por otra parte, una gran cantidad de polvo de fundición y de gases sulfurados fueron históricamente emitidos por las chimeneas de las fundiciones de cobre y dispersados a sus alrededores, antes del establecimiento de las regulaciones medio ambientales en nuestro país. Actualmente, los gases son capturados y procesados en plantas generadoras de ácido y el polvo de fundición es retenido con filtros especiales antes de que salga por la chimenea.

El siguiente trabajo presenta un estudio pionero en su género, realizado en Chile, en que se busca caracterizar la relación entre el nivel de cobre en una planta de cultivo, el tipo y cantidad de compuesto de cobre con el cual se ha contaminado experimentalmente el suelo, y las características del suelo utilizado. El trabajo ilustra las complejidades de trabajar con mezclas de este tipo, y su principal conclusión de aplicación práctica es que el tipo de compuesto que aporta el cobre al suelo es determinante de su disponibilidad y efecto sobre las plantas.







# 11

## **INCORPORACIÓN DE DESECHOS Y PRODUCTOS DE LA MINERÍA DEL COBRE A SUELOS: BIODISPONIBILIDAD Y EFECTOS SOBRE CULTIVOS**



Rosanna Ginocchio & Patricio H. Rodríguez

Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM,  
Av. Parque Antonio Rabat 6500, Vitacura, Santiago.

## INTRODUCCIÓN

La dispersión accidental de desechos y productos intermedios mineros en suelos ha sido históricamente percibida por la población como intrínsecamente dañina para el medio ambiente y, específicamente, para los cultivos agrícolas, debido a la supuesta alta toxicidad por metales de estos materiales mineros. Esta percepción, sin embargo, no siempre se sustenta en información científica objetiva y relevante. Es por ello que durante los últimos cuatro años el Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM, ha estado investigando los efectos de estos materiales al ser incorporados a suelos agrícolas. Los resultados de estos estudios han indicado que, a pesar de los altos contenidos de metales en los desechos y el concentrado, particularmente de cobre, (Tabla I), en comparación a un suelo típico de la zona central de Chile, sus efectos potenciales en ambientes terrestres dependen de:

- La biodisponibilidad de los metales presentes en el material.
- La capacidad amortiguadora del suelo al que son incorporados.
- El grado de sensibilidad de las especies vegetales presentes.

A continuación se aborda cada uno de estos tres aspectos.

## BIODISPONIBILIDAD DEL COBRE EN DESECHOS Y PRODUCTOS DE LA MINERÍA DEL COBRE

Del contenido total de cobre presente en los distintos desechos y productos generados por el procesamiento de minerales sulfurados de cobre, sólo una parte se encuentra biodisponible. El grado de biodisponibilidad varía entre los distintos materiales, pudiendo diferenciarse en varios órdenes de magnitud. La biodisponibilidad del cobre no está relacionada directamente con el contenido total de este elemento en el material; más bien depende del grado de acidez del medio en que se encuentra, siendo mayor a menor valor de pH (mayor acidez) y de la solubilidad intrínseca de las formas químicas de metal presentes. Esto puede ser demostrado al realizar extracciones con agua o con una solución diluida de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ). Al determinar estas características en algunos materiales mineros (Tabla I), se encuentra que los materiales con alta biodisponibilidad de cobre son el polvo de fundición y la arena de relave, tanto por su acidez (valores bajos de pH), como por su alta solubilidad. Los otros materiales poseen muy baja solubilidad de cobre y son más bien neutros (pH cercano a 7,0).

Aunque el concentrado de cobre tiene un contenido total de cobre muy alto, similar al del polvo de fundición (Tabla 1), la solubilidad de esta forma sulfurada es muy baja, por lo que la biodisponibilidad ambiental del cobre es baja. Esta diferencia se explica por los diferentes pH entre ambos materiales (el polvo de fundición es ácido y el concentrado es alcalino), pero también porque el cobre se encuentra en distintas formas químicas. La mayor parte del cobre presente en el polvo de fundición se encuentra como calcantita (sulfato de cobre,  $\text{CuSO}_4$ ), un compuesto altamente soluble en agua; sin embargo, en el concentrado, el cobre se encuentra en diversas formas minerales, tales como calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), covelita ( $\text{CuS}$ ) y calcosita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), las que tienen muy baja solubilidad en agua e incluso en soluciones ácidas.

**Tabla 1. Contenido de cobre total, pH y porcentaje de cobre solubilizado desde desechos y productos mineros al ser extraídos con agua o con una solución de cloruro de calcio.**

Material	pH	Cu Total (mg/Kg)	Cu Extraído con Agua (%)	Cu Extraído con $\text{CaCl}_2$ (%)
Mineral de Cu sulfurado	7,5	32.150	< 0,01	< 0,01
Concentrado de Cu	8,0	284.600	< 0,01	< 0,01
Arena de relave	3,7	3.996	51	61
Polvo de fundición	2,2	214.000	21	37
Escoria	7,4	9.044	< 0,01	< 0,01

No obstante lo anterior, las características químicas, en cuanto a pH, contenido total de cobre y porcentaje de solubilización, varían para un mismo desecho o producto intermedio dependiendo de su origen. Esto se debe a diferencias en el tipo de mineral de cobre sulfurado presente en distintas zonas del yacimiento, al tipo de proceso industrial usado para obtener cobre de alta pureza y a alteraciones químicas secundarias (oxidación) que pueden sufrir algunos desechos mineros al ser expuestos por largos períodos de tiempo al aire y el agua del ambiente. Por ejemplo, al comparar las características químicas de arenas de relaves generadas por distintas faenas mineras, se encuentra que los contenidos totales de cobre, los porcentajes de solubilización de cobre y el grado de acidez varían ampliamente (Tabla 2).

Aunque es difícil hacer generalizaciones sobre el grado de biodisponibilidad de cobre desde un mismo tipo de desecho o producto generado por la minería de sulfuros

de cobre, es posible indicar en términos generales que la biodisponibilidad del cobre es muy alta en el polvo de fundición y las arenas de relave ácidas, mientras que la biodisponibilidad del cobre es muy baja en las arenas de relave neutras/alcalinas, la escoria, el concentrado y el mineral sulfurado. Sin embargo, cada desecho y producto intermedio generado en una planta minera debe analizarse por separado, para obtener valores objetivos de biodisponibilidad del cobre.

**Tabla 2. Contenido total de cobre, pH y porcentaje de cobre extraído de arenas de relaves de distintos orígenes.**

Arena de Relave	pH	Cu Total (mg/Kg)	Cu Extraído con Agua (%)	Cu Extraído con CaCl <sub>2</sub> (%)
Depósito 1	6,9	419	< 0,01	< 0,01
Depósito 2	3,9	1.709	34	38
Depósito 3	3,7	264	64	77
Depósito 4	4,3	1.713	9	10
Depósito 5	3,7	3.996	51	61

## CAPACIDAD AMORTIGUADORA DE LOS SUELOS

Los suelos están constituidos básicamente por una matriz de material particulado de distintos tamaños y tipos minerales (arcilla, arena y limo) y una cantidad variable de materia orgánica aportada por los seres vivos. En esta matriz difunde oxígeno de la atmósfera e infiltra agua de las precipitaciones y del riego. Por ello, los suelos son reactivos químicamente y reaccionan a la incorporación de diversos desechos industriales, tales como los desechos y productos intermedios de la minería del cobre sulfurado. En general, los suelos son capaces de neutralizar en forma natural los efectos de una gran diversidad de compuestos, siempre y cuando sean incorporados en cantidades moderadas. Sin embargo, la capacidad neutralizadora de los suelos es variable, ya que depende de ciertas características físicas y químicas propias, tales como la textura (gruesa o fina), el pH (ácidos, neutros, alcalinos), el contenido de materia orgánica y la cantidad y el tipo de minerales de arcilla. Todas o algunas de estas características pueden variar entre suelos ubicados ya sea a kilómetros o a metros de distancia.

En el caso de suelos suplementados con desechos mineros, el grado de biodisponibilidad del cobre variará de acuerdo a la capacidad neutralizadora del

suelo al que sean incorporados. Por ejemplo, al agregar cantidades crecientes de polvo de fundición a dos suelos agrícolas con pHs diferentes, pero similares en otras características, se observa que la solubilidad de cobre es mucho mayor en el suelo ácido que en el suelo neutro, a una misma concentración total de cobre en la mezcla de suelo con polvo de fundición (Figura 1). Aunque este efecto también se produce al agregar cantidades crecientes de escoria a los mismos suelos agrícolas, el efecto es mucho menos marcado, debido a la baja solubilidad intrínseca del cobre presente en este desecho (Figura 1).

### **EFFECTOS SOBRE UNA PLANTA SENSIBLE: LA LECHUGA**

Todas las plantas necesitan de elementos minerales para su crecimiento normal, pero muchos de ellos los necesitan en pocas cantidades, tal como el cobre y el zinc. Estos elementos los obtienen del suelo, a través de sus raíces, pero sólo son capaces de absorber la fracción de metal biodisponible. Sin embargo, las plantas varían en cuanto a su grado de sensibilidad al ser expuestas a cantidades crecientes de metales biodisponibles en el suelo. La lechuga es una especie sensible, la que responde rápidamente al ser expuesta a niveles crecientes de metal biodisponible, incluido el cobre. El grado de sensibilidad se expresa a través de la disminución en el tamaño de la parte aérea, pudiendo incluso morir al ser expuesta a contenidos muy elevados de metal biodisponible. Por ello, es una planta adecuada para evaluar el grado de toxicidad potencial de los distintos desechos y productos generados por la minería del cobre sulfurado, en caso de ser mezclados con suelos agrícolas.

Al cultivar plantas de lechuga en los mismos dos suelos agrícolas de la sección anterior, a los que se les agregó cantidades crecientes de polvo de fundición o de escoria, hasta alcanzar contenidos totales de cobre de 5.000 mg/Kg, es posible observar el grado de toxicidad de estos desechos al ser incorporados a suelos agrícolas. El contenido original de cobre total de estos suelos era de 50 - 70 mg/Kg, considerado como normal. A un mismo contenido elevado de cobre total, las plantas de lechuga mostraron efectos muy distintos al ser cultivadas en suelos mezclados con polvo de fundición y de escoria (Figura 2), evidenciando el grado de biodisponibilidad del cobre contenido en ambos desechos puros (Tabla 1) y al ser incorporados a suelos (Figura 1). Específicamente, la adición de escoria no tuvo efectos en el tamaño de la parte aérea de las lechugas, incluso a contenidos muy elevados de cobre total, debido a la baja disponibilidad del cobre (Figura 1); sin embargo, el tamaño de la parte aérea de las lechugas se redujo en forma proporcional a la cantidad de polvo de fundición

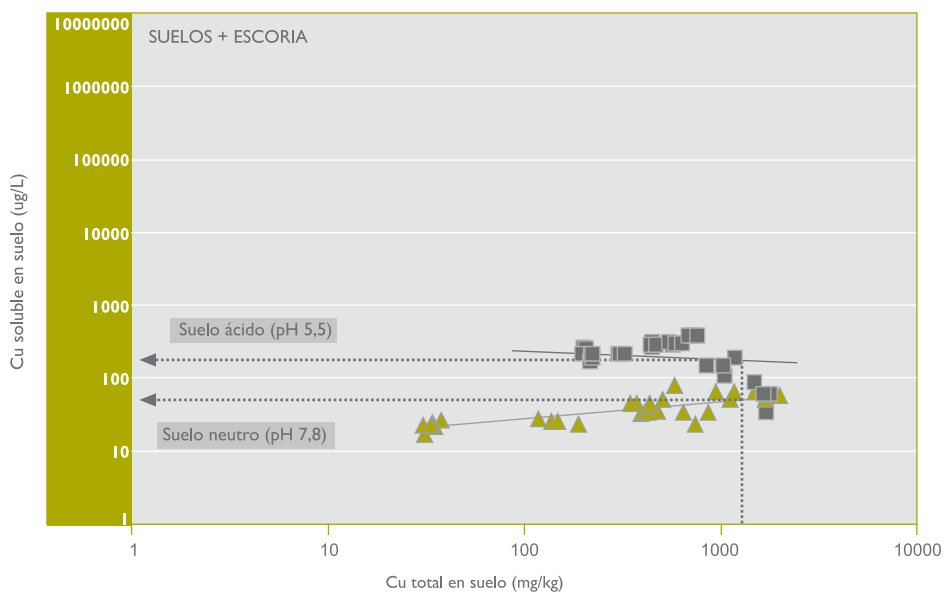
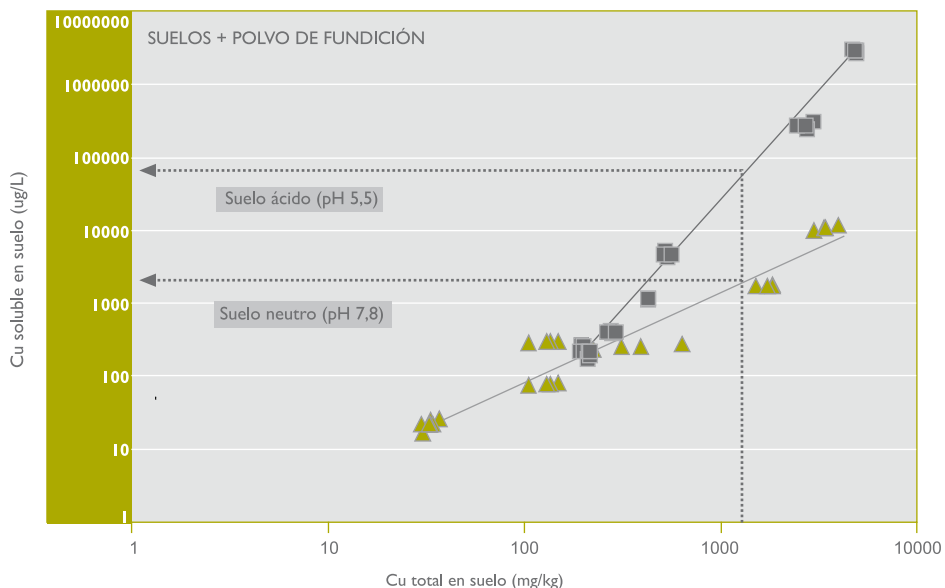


agregado a los suelos (Figura 2), debido a la alta biodisponibilidad del cobre en este desecho (Figura 1). En este caso, el efecto fue siempre mayor en el suelo ácido que en el neutro, debido a la mayor solubilidad, y por ende biodisponibilidad, de cobre en los suelos ácidos (Figura 1).

## CONCLUSIONES

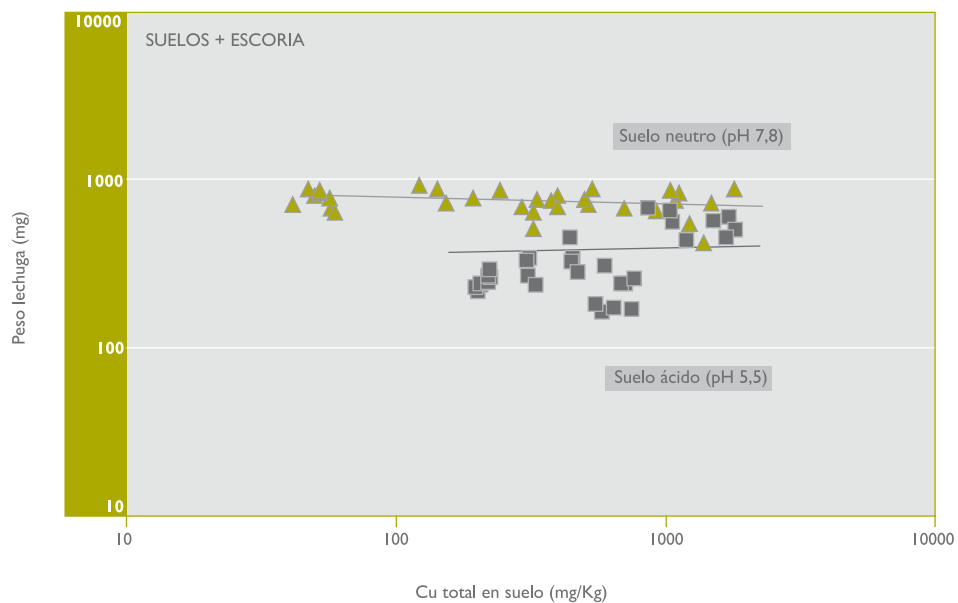
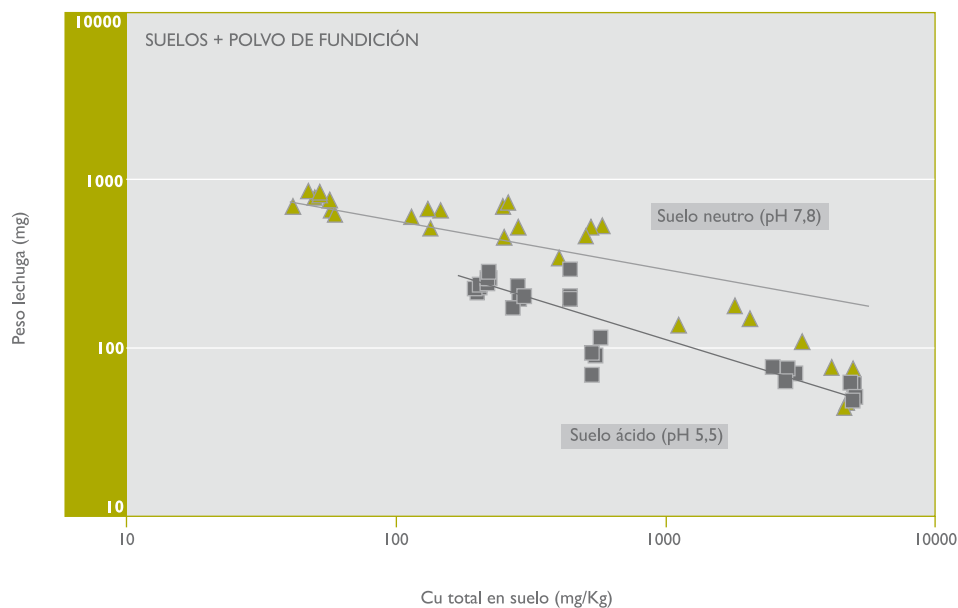
Los desechos y productos intermedios generados por la producción de cobre a partir de minerales sulfurados de cobre pueden poseer contenidos elevados de metales, especialmente cobre. Sin embargo, la biodisponibilidad de este elemento varía grandemente entre ellos, dependiendo de la forma química en que se encuentre y del grado de acidez del material. Esto determina que, al ser incorporados a suelos agrícolas, sus efectos sobre plantas sensibles, como la lechuga, varíen ampliamente entre ausencia de efectos negativos (ej. escoria, concentrado) y marcados efectos negativos (ej., polvo de fundición, arenas de relave ácidas). Sin embargo, la intensidad de los efectos también depende de la capacidad neutralizadora del suelo. Suelos ácidos y con bajo contenido de materia orgánica, entre otros parámetros, determinan mayor biodisponibilidad de metales como el cobre que suelos neutros y con contenidos altos de materia orgánica. De esta forma, la dispersión de desechos y productos intermedios mineros en suelos no es intrínsecamente dañina para el medio ambiente, sino que depende del grado de biodisponibilidad de los metales, del tipo de suelo receptor y de los cultivos presentes.

**Figura I. Solubilidad del cobre en el agua del suelo en función del contenido de cobre total, para dos desechos mineros mezclados en cantidades crecientes con distintos suelos agrícolas (▲ suelo 1; ■ suelo 2).**





**Figura 2. Variación del peso de lechugas en función del contenido de cobre total, para dos desechos mineros mezclados en cantidades crecientes con distintos suelos agrícolas ( ▲ suelo 1; ■ suelo 2).**



## AGRADECIMIENTOS

Los resultados presentados en este artículo se obtuvieron en un proyecto financiado con el apoyo de la International Copper Association, el Fondo de Desarrollo e Innovación y Codelco-Chile.

## REFERENCIAS

Adriano DC. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability, and risk of metals. Springer-Verlag, New York, USA.

Cobb GP, Sands K, Waters M, Wixson BG & Dorward-King G. 2000. Accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine wastes. *Environmental toxicology and Chemistry* 19: 600-607.

Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA). 1994. Propuesta. Plan Nacional de Conservación de Suelos. Comisión Nacional del Medio Ambiente y Ministerio de Agricultura, Chile.

Dudka S & Adriano DC. 1997. Environmental impacts of metal ore mining and processing: a review. *Journal of Environmental Quality* 26: 590-602.

Fernández JC & Henríques FS. 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Review* 57: 246-273.

Ginocchio R. 2000. Effects of a copper smelter on a grassland community in the Puchuncaví Valley, Chile. *Chemosphere* 41, 15-23.

Ginocchio R, Rodríguez PH, Badilla-Ohlbaum R, Allen HE & Lagos GE. 2002. Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 1736-1744.

González S. 1994. Estado de la contaminación de los suelos en Chile. En: Espinoza G, Pisani P, Contreras L & Camus P (eds). *Perfil Ambiental de Chile*, CONAMA, Santiago, Chile. pp 199-234.

Lagos G & Andía M. 2000. Recursos mineros e hidrocarburos. En: Informe país. Estado del medio Ambiente en Chile, 1999. Centro de Análisis de Políticas Públicas, Universidad de Chile. LOM Ediciones, Santiago, Chile. pp 289-324.

McGowen SL & Basta NT. 2001. Heavy metal solubility and transport in soil contaminated by mining and smelting. En: Selim HM & Sparks DL (eds). Heavy metals release in soils. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA. pp 89-107.

McLaughlin MJ. 2002. Bioavailability of metals to terrestrial plants. En: Allen HE (ed). Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes, and plants. SETAC Press, Pensacola, USA. pp 39-87.

Sauvé S. 2001. Speciation of metals in soils. En: Allen HE (ed). Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: Importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes, and plants. SETAC, Metals and the Environment Series U.S.A. pp. 7-38.

Inscripción N° 151.459.  
ISBN: 956-8242-04-X  
Editores: Comisión Chilena del Cobre  
Diseño y diagramación: Mira Diseño Ltda.  
Impresión: Maval Ltda.

No se permite la reproducción total o parcial de este libro, ni su transmisión en cualquier forma o por cualquier medio sin prebío aviso y sin permiso escrito del editor.